

# AmpliSeq™ for Illumina ターゲットリシーケンスソリューション

少量インプットの DNA と RNA サンプルから信頼度の高いデータを取得できる拡張性のある効率的なアンプリコンシーケンスソリューション。

## 特長

- さまざまなサンプルタイプにわたる正確なデータ**  
 実績のある AmpliSeq ケミストリーおよびイルミナのシーケンス技術が組み合わせることで、FFPE 組織のような比較的低品質の出発物質からでも高いデータ品質を達成
- 包括的なコンテンツサポートフォリオ**  
 検証済みのデザイン済みコンテンツとカスタムデザイン用のオプションから選択可能な幅広いメニュー
- 迅速かつシンプルなワークフロー**  
 ハンズオン時間が 1.5 時間未満の迅速なライブラリー調製ワークフローでラボ効率を向上
- 拡張性のあるソリューション**  
 ほぼすべてのスループットニーズを満たすシーケンサー、データ解析、およびサポートのための複数のオプション

得られた結果からは、低頻度バリエーションの検出に必要な、高いオンターゲットかつ均一なカバレッジを一貫して確実に得られます。高性能の AmpliSeq ケミストリーを使用することにより、AmpliSeq for Illumina を使って特定の遺伝子、領域、または目的バリエーションに高い精度でフォーカスすることができます。ユーザーは、デザイン済みのカタログパネルまたはコミュニティパネルに含まれる専門家が選択したコンテンツを活用することも、特定のニーズに合わせて独自のパネルをカスタマイズすることもできます。PCR ベースのライブラリー調製アッセイでは、一塩基多型 (SNV)、挿入 / 欠失 (indel)、コピー数多型 (CNV)、および遺伝子融合を調べるために、目的の領域を増幅するオリゴヌクレオチドを使用します。12 ~ 24,000 以上のアンプリコンのマルチプレックスが可能のため、1 回の反応で複数のターゲットを同時にキャプチャーできます。AmpliSeq for Illumina は RNA と DNA サンプルで使用でき、高品質の DNA または RNA であれば必要量はわずか 1 ng で、保存された腫瘍組織などのホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) サンプルに対応できる柔軟性があります。

## はじめに

AmpliSeq for Illumina は、DNA または RNA からバリエーションコールまでを 2.5 日で完了できる迅速かつ正確なターゲットリシーケンスを実現します。対応ソリューションには、キュレーション済みのパネルコンテンツ、PCR ベースのライブラリー調製アッセイ、実績のあるイルミナ次世代シーケンス (NGS) 技術、および使いやすいデータ解析が含まれます (図 1、表 1)。

この AmpliSeq for Illumina ソリューションは、イルミナの 1 塩基合成 (SBS) ケミストリーと併用するように最適化されています。調製されたライブラリーは、iSeq™ 100、MiniSeq™、MiSeq™、および NextSeq™ システムなどすべてのイルミナシーケンサーでシーケンスできます。

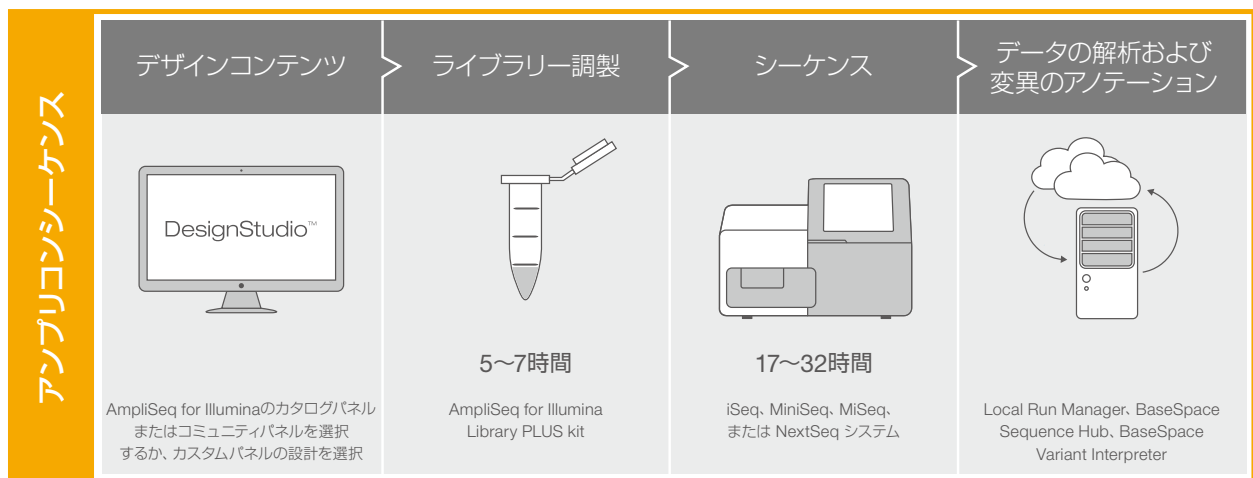


図 1 : AmpliSeq for Illumina ターゲットリシーケンスソリューション

表 1 : AmpliSeq for Illumina の概要

パラメーター	仕様
アッセイ	PCR ベースのワークフロー
シーケンス	SBS ケミストリー
サンプルタイプ	FFPE 組織、血液
インプットタイプ	DNA、RNA
インプット量	1 ~ 100 ng、プール当たり 10 ng を推奨
バリエーションタイプ	SNV、indel、CNV、遺伝子融合 <sup>a</sup>
ハンズオン時間 (アッセイ)	< 1.5 時間 <sup>b</sup>
合計時間 (アッセイ)	5 ~ 7.5 時間 (パネルにより異なる)
コンテンツのオプション	
カタログパネル	特定の目的領域をターゲットとしたデザイン済みパネル
コミュニティパネル	各アプリケーション分野をリードする研究者から得られた情報に基づいたデザイン
カスタムパネル	特定のアプリケーションニーズに合わせた目的領域をターゲットしてカスタマイズできるパネル。ほとんどのデザインは 1 ~ 4 つのプールに収容されており、プール当たりのアンプリコンは 3072、パネル当たりのアンプリコンは 12,288 まで。
通常納期	受注生産 (カスタムパネルおよびコミュニティパネル): 3 ~ 4 週間 在庫品 (カタログパネル、Library PLUS、インデックス): 在庫から入手可能
対応シーケンサー	イルミナの全シーケンサー

a. SNV: 一塩基多型、Indel: 挿入 / 欠失多型、CNV: コピー数多型

b. ハンズオン時間はライブラリー調製のみを表すものであり、ライブラリー定量、ノーマライゼーション、プーリングなどは含まれません。

AmpliSeq for Illumina のオンライン注文はこちら: [jp.illumina.com](https://jp.illumina.com)

## 迅速かつシンプルなワークフロー

AmpliSeq for Illumina ソリューションは、腫瘍研究および遺伝性疾患研究において関連が疑われるバリエーションを解析するための迅速かつ効率的な方法です。ライブラリー調製にかかる時間はわずか 5 時間 (DNA から始めた場合) で、ハンズオン時間は 1.5 時間未満です。シーケンスおよびデータ解析にかかる時間は、使用するパネルとサンプル数により異なります。パネルを注文して、PCR ベースのワークフローであるライブラリー調製、シーケンス、および解析を行うだけです (図 1)。

## パネルデザイン

カタログパネル、コミュニティパネル、およびカスタムパネルなど、増え続けるコンテンツデザインのメニューから選ぶことができます。

## カタログパネル

カタログパネルでは、目的の領域で最も多く見られるバリエーションをターゲットとしたデザイン済みコンテンツをご利用いただけます。バリエーションは、その分野の専門家、キュレーション済みデータベース、および専門家によるレビュー済み論文からの情報に基づいて選択されています。これらのパネルは、ターゲットを選択し、性能を最適化する時間と労力を削減します。現在、がん研究および遺伝性疾患用のパネルをご利用いただけます。パネルのメニューは拡大し続けています。カタログパネルは、拡張性のある研究のために便利な小さなバックサイズ (通常、24 反応分) でご利用いただけます。

本製品の使用目的は研究に限定されます。診断での使用はできません。

AmpliSeq for Illumina カタログパネルの詳細

[jp.illumina.com/products/by-brand/ampliseq/ready-to-use-panels.html](https://jp.illumina.com/products/by-brand/ampliseq/ready-to-use-panels.html)

## コミュニティパネル

コミュニティパネルには、分野をリードする研究者からの情報に基づいて選択され、デザインされたコンテンツが含まれます。これらのパネルは、特定の疾患領域においてターゲットリシーケンス研究を開始できる簡単かつ迅速な方法をもたらします。最大限の柔軟性を達成するため、パネルは完全にカスタマイズ可能です。コミュニティパネルは受注生産で、大きなバックサイズでご提供しています。

AmpliSeq for Illumina コミュニティパネルの詳細

[jp.illumina.com/products/by-brand/ampliseq/community-panels.html](https://jp.illumina.com/products/by-brand/ampliseq/community-panels.html)

## カスタムパネル

カタログパネルやコミュニティパネルで使用できるコンテンツがお客様のニーズに対応していない場合には、DesignStudio™ ソフトウェアを使ってカスタムコンテンツを簡単に設計し、ご注文いただけます。DesignStudio ソフトウェアは使いやすい無料オンラインツールで、目的のターゲットまたは特定のゲノムコンテンツに対して最適化されたパネルを作成できます。ターゲットは、事前にロードされた複数のリファレンスゲノムに基づいて選択できます。各自のアカウントにログインした後、目的のゲノム領域をターゲットとして位置情報を選択することができます。GC コンテンツ、特異性、およびカバレッジなどさまざまな要素を考慮する最適化アルゴリズムが自動的にアンプリコンを設計します。アンプリコン候補は可視化され、予測成功スコアを用いて評価されます。アンプリコンはフィルタリングした後にデザインに追加したりデザインから削除することができます。可視化と QC の後、パネルを注文できます。DesignStudio ソフトウェアはコンテンツのカスタマイズにも使用できます。

カスタムパネルの設計方法のデモはこちらから

<https://jp.illumina.com/products/by-brand/ampliseq/custom-panels.html>

## アンプリコンアッセイとライブラリー調製

AmpliSeq for Illumina ソリューションにおけるライブラリー調製は迅速かつシンプルです。マルチプレックスでの特異性の高い PCR ベースのワークフローからは、オンターゲットアライメント率とカバレッジ均一性の高いライブラリーが得られます (図 2)。1 回のアッセイで 24,000 個までのアンプリコンをマルチプレックスできるため、複数の遺伝子を同時に評価して、時間を節約できます。

ライブラリー調製は、DNA または cDNA インプットにおいて特定の領域を増幅することから始まります。残ったプライマー配列は消化され、得られたアンプリコンにシーケンスアダプターが付加されます。ライブラリーは増幅され、シーケンスの前に定量、ノーマライゼーション、およびプーリングできるようになっています。この方法に従えば、複数のライブラリーをわずか 5 時間で調製することができます。

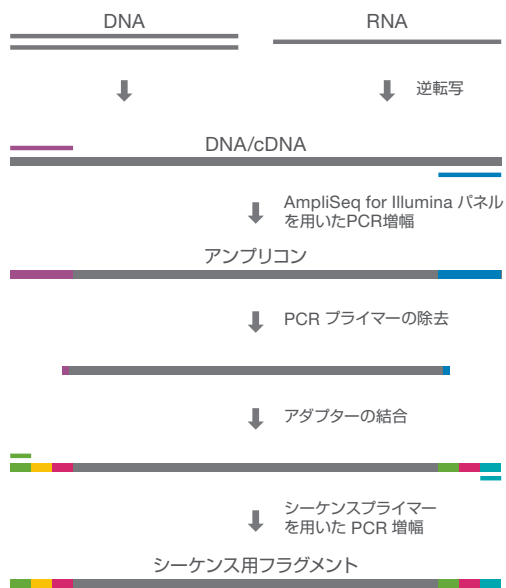


図 2: AmpliSeq for Illumina ライブラリー調製 高度にマルチプレックスされた PCR ベースのワークフローでは、1 回のアッセイで 24,000 個までのアンプリコンを増幅できます。

## シーケンス

世界中のシーケンスデータの 90% 以上がイルミナの 1 塩基合成 (SBS) ケミストリーにより得られています。\* 独自の可逆的ターミネーターを用いる方法を使った大量の同時シーケンスにおいて、SBS は塩基が DNA 鎖へと取り込まれる際に 1 塩基ごとに検出することができます。各 dNTP が付加されるたびに蛍光標識されたターミネーターの画像が取得されます。その後このターミネーターは切断されるため、次の塩基が結合できるようになります。可逆的ターミネーターに結合した 4 種類すべての dNTP が各シーケンスサイクル中に存在するため、自然法則により結合バイアスは最小限に抑えられます。その結果、ホモポリマーなどの難しい領域であっても非常に高精度なデータを得るための塩基ごとのシーケンスが得られます。



SBS 技術を確認できるビデオはこちら  
<https://jp.illumina.com/science/technology.html>

## 拡張性のあるスループットのための複数のシステム

イルミナシーケンサーは、すべてのシーケンス規模でのランセットアップと操作を簡単にするために、使いやすい直感的なインターフェイスが搭載されています (図 3)。

## データ解析

AmpliSeq for Illumina で生成されたデータの解析はシンプルで、高度な訓練を受けたバイオインフォマティクスの専門家によるサポートや専用のコンピューター処理基盤は不要です。シーケンス生データを処理して意義のある結果にするために、DNA と RNA のアンプリコンパネル用インフォマティクスソリューションをご利用いただけます。DNA アンプリコンパネルでは、二次解析ワー

クフローでリファレンスゲノムに対するリードのアライメントと小さなバリエーションのコールが行われます。アノテーションを提供し、レポートを作成するために、ヒトデータからのバリエーションに対して追加解析を行うことができます。RNA アンプリコンパネルでは、二次解析ワークフローで発現差解析および遺伝子融合コールが行われます。どちらの解析ワークフローでも、さらに下流の解析およびサードパーティーツールを用いた処理で使用できる出力ファイルが生成されます。

## BaseSpace™ Informatics Suite

シーケンスデータをシーケンサーからクラウド型ゲノミクスコンピューティング用イルミナプラットフォームである BaseSpace Sequence Hub へと直接ストリーミングした後、生シーケンスデータを DNA アンプリコンまたは RNA アンプリコン用の BaseSpace アプリにより解析します。解析結果は、保管することができ、他の研究者と共有することも簡単です。最大限の操作効率を達成しながら、ゲノムデータから生物学的洞察を得るための時間と労力を削減するために設計された解釈とレポート作成のプラットフォームである BaseSpace Variant Interpreter を使えば、バリエーションコールに対してさらなる解析を行うこともできます。

## 装置付属ソフトウェアによる解析

BaseSpace Sequence Hub ユーザーではない研究者には、同じ二次解析ワークフローを Local Run Manager ソフトウェアを用いてローカルで使用していただくことができます。Local Run Manager は、ランの作成、状況のモニタリング、およびシーケンスデータの解析で使用される装置内蔵ソフトウェアです。Local Run Manager は、一部のシーケンスシステムでは装置内で使用していただくことができ、別のコンピューターにインストールして装置外で使用していただくこともできます。



BaseSpace Sequence Hub の詳細はこちら  
[jp.illumina.com/products/by-type/informatics-products/basespace-sequence-hub.html](http://jp.illumina.com/products/by-type/informatics-products/basespace-sequence-hub.html)



イルミナのインフォマティクスソリューションの詳細はこちら  
[jp.illumina.com/products/by-brand/ampliseq/informatics.html](http://jp.illumina.com/products/by-brand/ampliseq/informatics.html)

## 高品質データ

AmpliSeq for Illumina ターゲットリシーケンスソリューションの性能を明らかにするため、11 種類の AmpliSeq for Illumina カスタムライブラリーを作製し、Coriell サンプルおよび Horizon Discovery (HD) サンプルを用いて評価しました。さまざまなサイズ (アンプリコン数) のパネルは、オンラインの DesignStudio ソフトウェアを使って設計しました。シーケンス用ライブラリーは Coriell サンプルと HD サンプルを用いて AmpliSeq for Illumina Library PLUS プロトコルに従って調製し、MiSeq システムでシーケンスしました。データ解析は DNA アンプリコン解析ワークフローを用いて実行しました。結果から、すべてのマルチプレックスレベルでアライメントされたリードの高いカバレッジ均一性とオンターゲット率が示されました (図 4)。

\*\* 社内資料 Illumina, Inc. 2015.



	iSeq 100 システム	MiniSeq システム	MiSeq システム	NextSeq 550 システム
最大出力	1.2 Gb	7.5 Gb	15 Gb	120 Gb
最大リード数 (ペアエンド)	800万	5,000万	5,000万	8億
ラン当たりのサンプル数 <sup>a</sup>	3	6-20	12-20	104-320

a. 1000 アンプリコンを含むパネルを平均 1000x カバレッジの場合

図 3: イルミナシーケンサー あらゆるアプリケーション、サンプルタイプ、およびシーケンス規模に対応するソリューション。詳細はこちら [jp.illumina.com/systems](http://jp.illumina.com/systems)

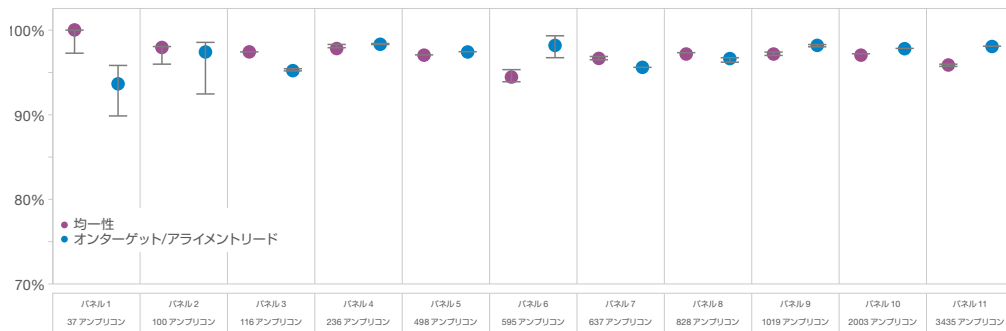


図 4: AmpliSeq for Illumina カスタムパネルにおける高いカバレッジ均一性とオンターゲットアライメント Coriell DNA サンプルおよび Horizon Discovery DNA サンプルを用いて、さまざまなサイズ (アンプリコン数) の AmpliSeq for Illumina カスタムパネル 11 種類の性能を評価しました。ライブラリーは MiSeq システムでシーケンスしました。エラーバーは技術的反复のばらつきを示します。

## まとめ

AmpliSeq for Illumina では、FFPE 組織を含めたさまざまなサンプルタイプにわたり、異なるバリエーションが迅速かつ正確に報告されます。この包括的ソリューションでは、大量のゲノム情報を発見する研究者をサポートするために、AmpliSeq パネルの設計しやすさと広範なメニュー、高度にマルチプレックスされた PCR ベースのライブラリー調製アッセイ、実績のあるイルミナシーケンス、およびシンプルなバイオフィーマティクスオプションが組み合わされています。

## 詳細はこちら

AmpliSeq for Illumina に関する詳細はこちら  
[jp.illumina.com/products/by-brand/ampliseq.html](http://jp.illumina.com/products/by-brand/ampliseq.html)

## 製品情報

AmpliSeq for Illumina カスタムパネルのご注文はこちら  
<https://jp.illumina.com/products/by-brand/ampliseq/custom-panels.html>

### より高度なソリューション

デザインのサポートやデータ解析からバイオフィーマティクスやトレーニングまで、イルミナは目標を達成する研究者をサポートするために、さまざまなサポートオプションをご提供しています。イルミナコンシェルジュサービスでは、カバレッジを改善し、アドオンやヒト以外の種のデザインの使用を可能にするための高度なコンテンツデザインを提供しています。購入前にイルミナシーケンサーにおいて AmpliSeq for Illumina を評価していただくためのサポートもご提供しています。バイオフィーマティクスの専門家がカスタムアプリやパイプラインのデザインをサポートし、訓練を受け認定されたアプリケーションサイエンティストがお客様のラボでライブラリー調製トレーニングをご提供します。

## イルミナ株式会社

〒108-0014 東京都港区芝 5-36-7 三田ベルジュビル 22 階  
 Tel (03) 4578-2800 Fax (03) 4578-2810  
[jp.illumina.com](http://jp.illumina.com)

 [www.facebook.com/illuminakk](https://www.facebook.com/illuminakk)

販売店

本製品の使用目的は研究に限定されます。診断での使用はできません。 販売条件 : [jp.illumina.com/tc](http://jp.illumina.com/tc)

© 2018 Illumina, Inc. All rights reserved.  
 すべての商標および登録商標は、Illumina, Inc または各所有者に帰属します。  
 商標および登録商標の詳細は [jp.illumina.com/company/legal.html](http://jp.illumina.com/company/legal.html) をご覧ください。  
 予告なしに仕様および希望販売価格を変更する場合があります。