

病原微生物や 環境試料サンプルの 網羅的定量検出に



瀬川 高弘 先生

山梨大学 総合分析実験センター

先生のご研究内容を教えてください。

極地や高山域から採取されたアイスコア試料は、まるでタイムマシンのように時をさかのぼる事ができるので、そこに閉じ込められている DNA 情報を用いた過去の地球環境の解析や、氷河生態系の分子生態学的研究などをおこなってきました。また北極や南極を含む地球上の広範囲の雪氷圏から抗生物質耐性遺伝子を網羅的に解析し、人間の社会活動が環境に与えたインパクトの評価をおこなっています。

Fluidigm の製品をどのように使われていますか？

氷河やアイスコア、堆積物からの抗生物質耐性遺伝子の定量検出や、河川や湖沼、下水処理場などで病原微生物（細菌・ウイルス）の定量検出や病原ウイルスの遺伝子のタイピング、環境試料中の各種マーカー遺伝子群の網羅的定量検出やアンプリコンを回収したシーケンスを目的に使用しています。

Fluidigm 製品を選択された理由は？ どんなところに利点や魅力がありますか？

Biomark HD System は僅かな DNA から多数の標的遺伝子の定量検出や、アンプリコンライブラリ作製をおこなうことができる事に魅力があります。また、テンプレートとプライマーの混合作業から増幅・定量までを1枚の閉鎖されたディスポーザブルプレート上で完結させることができるため、human エラーのみならず、コンタミネーション対策にもよいです。

今後の研究ビジョンを教えてください。

抗生物質耐性遺伝子や病原微生物の全球レベルでの定量評価や、社会問題にもなっている家畜や野生動物の流行性病原体の感染ネットワークの解明もおこなっていきたいと考えています。さらに、最近では絶滅した大型動物からの古代 DNA 研究も推進させているため、数万年前に日本で絶滅したナウマンゾウや大型オオカミなどから DNA 解析をおこない、系統推定や分子進化を解明していきたいと考えています。

同分野の研究者へのアドバイスをお願いします。

アンプリコンシーケンスは、解析ツールが普及しているので、比較的簡単にデータ解析が可能ですが、定量値に疑問・問題が生じる場合が多く、追加で qPCR をおこない定量値を算出するケースが多いです。そのため多数サンプルからの定量を一度に分析でき、またアンプリコンライブラリも作製することができる Biomark HD System は便利な装置であると思います。

CUSTOMER FOCUS | October 2019

アプリケーション

定量検出
アンプリコンライブラリ作製

フリューダィムテクノロジー

Biomark™ HD System
IFC Controller AX



Figure 1. 瀬川先生と Biomark HD System

References

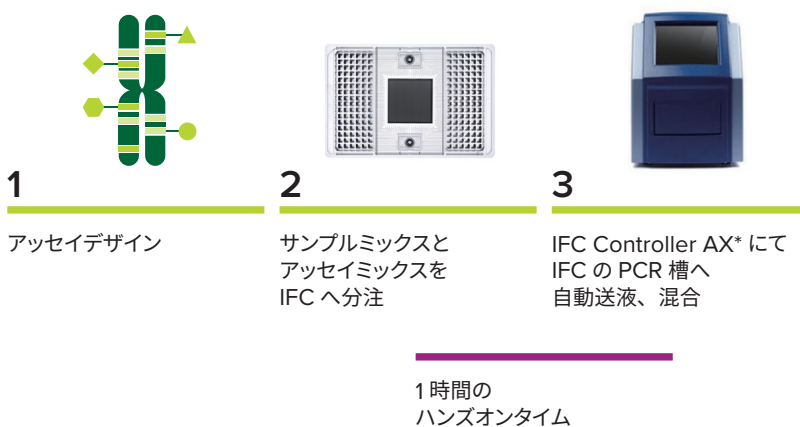
- Segawa T. et al. "Genomic Analyses of *Bifidobacterium moukalabense* Reveal Adaptations to Frugivore/Folivore Feeding Behavior." *Microorganisms* 7 (2019):99
- Segawa T. et al. "Bipolar dispersal of red-snow algae." *Nat Commun.* 9 (2018):3094.
- Oshiki M. et al. "Microfluidic PCR Amplification and MiSeq Amplicon Sequencing Techniques for High-Throughput Detection and Genotyping of Human Pathogenic RNA Viruses in Human Feces, Sewage, and Oysters." *Front Microbiol.* 9 (2018):830

Workflows

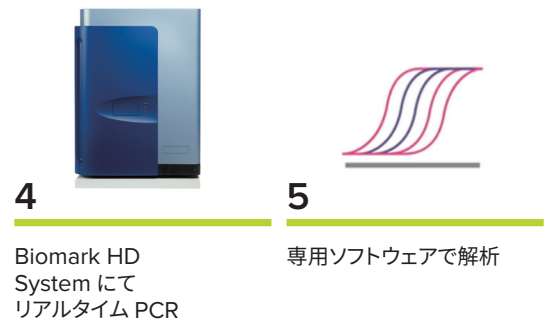
自動化された IFC Controller AX と Biomark HD System を使用して、一度に 48 サンプル×標的遺伝子 48 個の解析を効率的に、アンプリコンライブラリーを自動作製します。反応に使用するプライマーセットを最大 10 のプライマーペアでマルチプレックスも可能です。一般的には、IFC Controller AX での送液後に増幅のみの機能をもつ FC1™ Cyclor (IFC 専用のサーマルサイクラー) にてライブラリー作製を行います。瀬川先生らは、Biomark HD System を使用してアンプリコンの増幅を行いながらリアルタイムの情報を得ることで、シーケンスする前のライブラリーのコピー数を推定しています。配列情報は、Biomark HD System で増幅されたライブラリーをシーケンスして確認します。反応量はナノリットルレベルであるため、大量サンプルにおけるランニングコストが大幅に削減可能です。また、一度にアンプリコンライブラリーを作製しながら、定量データを取得できることは実験効率を上げることとなります。

Flexible platforms for agricultural genomics workflows

Biomark HD System は、多くの動植物、農業ゲノミクス研究で使用される遺伝子検査ワークフローの重要なコンポーネントです。サンプルとアッセイは集積流体回路 (IFC) にロードされ、そこで正確な試薬の混合と反応が可能です。多種類の IFC から選択することができ、実験スケールを調整可能です。当社のマイクロフリューディクスベースのプラットフォームは、サンプルコストを削減し、ハンズオンタイムを最小限に抑え、時間とリソースを節約出来ます。



Gene expression by qPCR



Targeted library preparation for genotyping by sequencing

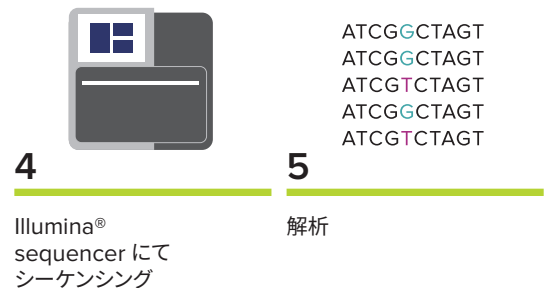


Figure 2. IFC Controller AX と Biomark HD System を使用したアンプリコンライブラリー作製のワークフロー

* IFC Controller AX は、マイクロフリューディクス技術を利用し、NGS 用アンプリコンライブラリーを作製する自動調製システムです。このワークフローでのハンズオンタイムは、1 時間ほどで、サンプルからシーケンス前まで約 10 時間でライブラリーの作製が完了します。

Biomark HD System

マイクロフリューディクス技術によりナノリットルスケールで、多検体を一度に解析可能です。リアルタイム PCR、SNP ジェノタイピング、デジタル PCR のアプリケーションが利用可能です。

製品名	製品コード
Biomark HD System	BMKHD-BMKHD

IFC Controller AX

IFC へサンプルやアッセイを送液するための専用コントローラです。AX は、LP 48.48 IFC を使用することができ、イルミナシーケンサーおよびイオントレントシーケンサーに対応したアンプリコンライブラリーを作製することが可能です。

製品名	製品コード
IFC Controller AX	AA-IFC-AX

Learn more at fluidigm.com
fluidigm.com/applications/ag-genomics

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.

Information in this publication is subject to change without notice. Patent and license information: fluidigm.com/legalnotices. Fluidigm, the Fluidigm logo, Biomark, D3, Dynamic Array and Juno are trademarks and/or registered trademarks of Fluidigm Corporation in the United States and/or other countries. All other trademarks are the sole property of their respective owners. © 2019 Fluidigm Corporation. All rights reserved. 09/2019