

# Twist Human Methylome Panel

## メチル化プロファイリングにおける発見

### 主な利点

#### 一貫性のある優れた性能 設計とワークフローの効率

- エンドツーエンドのワークフローで最適化されたパフォーマンス
- ライブラリの複雑性の増大
- Spike-inコンテンツが容易に追加可能

#### 一般的なマイクロアレイに比べてより広範なカバレッジ

- 全CpG部位の約4倍のカバレッジ
- CpGアイランド塩基のカバレッジの拡大
- 更新された参照データベースに基づく

#### 一般的なマイクロアレイに対する優位性

- メチル化が異なる領域領域での高いコールド率
- 隣接するCpG部位の上流および下流のカバレッジの拡大

### 概要

Twist Human Methylome Panelは、生物学的に意義のあるメチル化マーカーを狙った398万箇所のCpG部位をカバーした123Mbを標的としています。広範なコンテンツによって、このパネルはがん転移、ヒト発生、機能ゲノミクスといった多様な分野でメチル化分画を探索する研究者にとっての理想的な選択肢となります。

このパネルは、Twist NGSメチル化検出システムとの使用のために最適化および検証されており、業界をリードする性能を備えた完全なエンドツーエンドのワークフローを実現します。高いキャプチャ効率により、エピゲノムの領域全体で検出感度が向上する一方で、シーケンシングコストが低減されます。このパネルは、コホート検体のスクリーニングおよびメチル化が異なる領域の探索に理想的です。

### ターゲットメチル化の利点

### 設計とワークフローの効率

Twist Targeted Methylation Systemは、メチル化解析用の非常に複雑かつ均一なシーケンシングリードを生成する完全なソリューションを提供します。エンドツーエンドのプロトコルが、革新的な酵素変換プロセス、最適化されたターゲットエンリッチメントワークフロー、および高度に開発されたパネルデザインプロセスを組み合わせることで、これを達成します。

Twist Bioscienceは、New England Biolabsとの提携により、Twist Targeted Methylation Systemの一部としてNEBNext® EMseq (酵素法によるメチル化シーケンス) ライブラリ調製を提供しています。この革新的な酵素プロセスは、キャプチャのための複雑なライブラリライブラリを調製する際に、バイサルファイト処理と比較して、同等な (またはそれ以上の) メチル化変換を化学的変換による分解を伴わずに達成することができます。ハイブリダイゼーションの条件、Bufferおよびエンハンサーは、パフォーマンスが最大となるように最適化され、検証されています。ワークフローの軽微な変更だけで、Methylomeに二次パネル (またはSpike-In) を追加することができ、エピジェネティック研究の新しい応用や分野の検討に役立ちます。

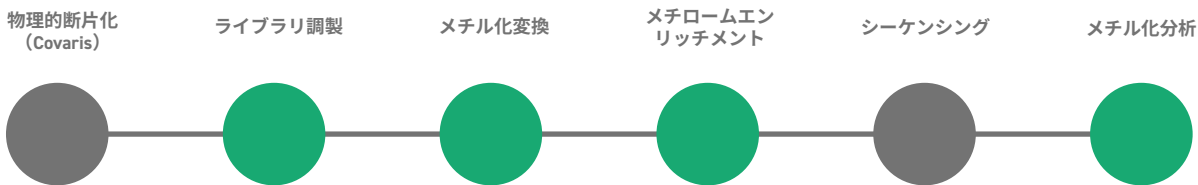


図1: Twist NGSメチル化検出システムのワークフロー。Twistが供給する試薬とユーティリティを緑色で示しています。

## 一般的なマイクロアレイに比べてより広範なカバレッジ

Twist Human Methylomeには、生物学的に意義のあるメチル化マーカーを狙った398万箇所のCpG部位をカバーする123 Mbが含まれています (図2)。このパネルは、ゲノムに含まれる最新かつ注釈付きの、関連するCpGメチル化領域のキャプチャおよび検出を高度にターゲットとしています。ゲノムのCpGアイランドの84% (17,915,988) が、このパネルによるエンリッチメントで同定されます。また、それに続くShore、Shelfおよびopen seaのCpGならびに塩基対の105,288,339塩基もカバーしています (図3)。

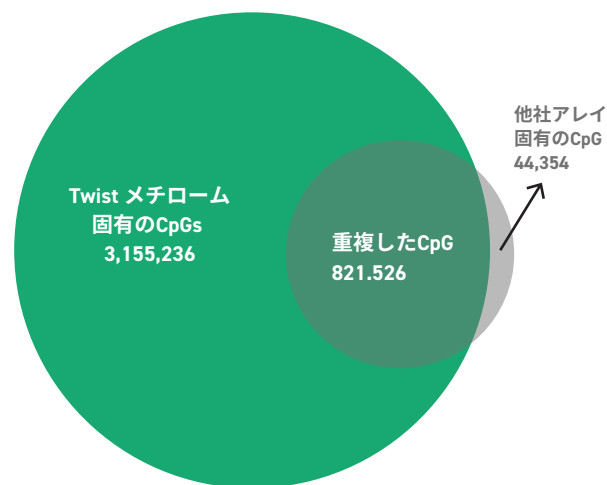


図2: Twist Human Methylomeと他社製品のCpG部位のターゲット空間を比較したベン図。カバレッジの94.9%が重複している一方で、固有のCpG部位が3.15M多く含まれています (出典: 社内データ)。

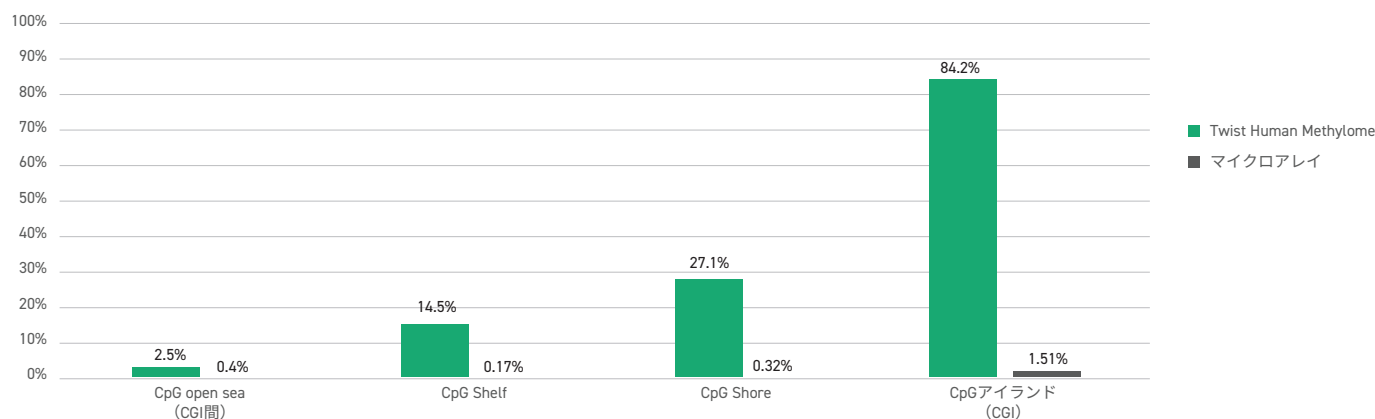


図3: Twist Human Methylomeと他社製品（一般的なマイクロアレイ）の全ゲノムに対するCpG部位のカバレッジ。ハイブリッドキャプチャパネルにより、シーケンシングの読み取り全体での一塩基分解能を介してエンドユーザーの調査対象を大幅に拡大します（出典：社内データ）。

## 一般的なマイクロアレイに対する優位性

マイクロアレイは、簡便で低コストのワークフローを提供します。しかし、静的なコンテンツデザインは、新たに注目されるエピジェネティクスのターゲット発見の妨げとなる可能性があります。現在市販されているアレイでは、エピゲノム全体でのメチロームのカバレッジも限られており、メチル化CpG部位の大部分は未測定のままです。Twist Human Methylomeのターゲットエンリッチメントアプローチは、NGSプラットフォームが提供するシーケンス全体にわたり、コンテンツの拡張と一塩基分解能を可能にするハイブリッドキャプチャパネルで、これらの限界に対処します。

マイクロアレイは、ローエンドの高いバックグラウンドノイズとハイエンドのシグナル飽和に起因する、メチル化検出の両端における特有の限界があります。NGSによりダイナミックレンジが広がるため、Twist Human Methylome Panelは、特にメチル化分画のローエンドとハイエンドの両方において、より正確にメチル化が異なる領域（DMR）をコールできます（図4）。

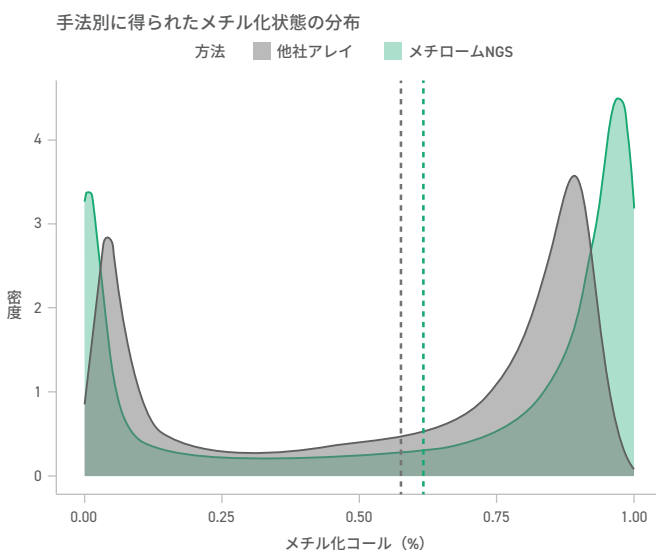


図4: 手法別に得られたメチル化状態の分布。NGSデータは、メチル化分画の両端で感度が高く、シグナルコールのダイナミックレンジがより高くなります（出典：社内データ）

## パフォーマンス

Twist Human Methylome Panelは、正確かつ高感度でハイパフォーマンスなハイブリッドキャプチャの効率性が得られるよう設計され、ウェットラボに最適化されています。得られた内部データをPicard Metricsを用いて解析するとTwist Human Methylome Panelは30xのカバレッジで塩基の90%の深度を達成し、オンターゲット率95%の高いプローブ特異性を示しました。また、このパネルは、標的領域中、リードが重なり合ったベースコール可能なピーク領域とそうでない谷間の領域の差を減らすことで、高い均一性を示すFold-80 1.54を達成しました。逆に、150xのrawカバレッジという高いシーケンシング深度において4%未満のduplicate率によりライブラリの複雑性が示されました。ここで得られた全体的なパネルキャプチャ効率の指標は、メチル化分画全体での検出における高い信頼度を最小限のシーケンシングコストで提供します。

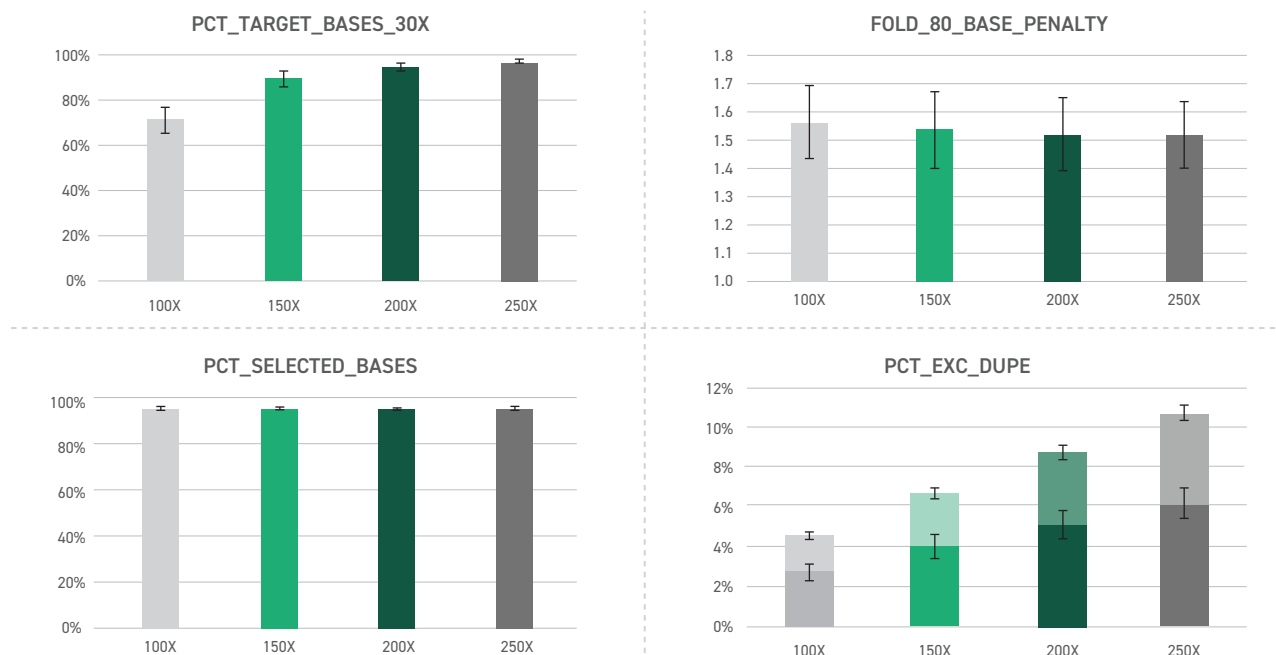


図5: ハイブリダイゼーションキャプチャ効率の主要なPicardパフォーマンス指標。シーケンシングデータを、NovaSeq装置で100x~250xのRAWカバレッジまでダウンサンプリングしました。左上: 30xのカバレッジでのターゲット塩基の割合 - 30xのカバレッジの深度は90%; 左下: 特異性を示すターゲット領域の塩基の割合、オンターゲット率95%; 右上: 均一性を示すFold-80 1.54、右下: Optical Duplication rate (濃)、NonOptical Duplication Rate (薄) は3.9%。

### お問合せ先

twistbioscience.com

sales@twistbioscience.com

customersupport@twistbioscience.com

### 製品SKU

**105517: Twist Human Methylome Panel, 2 Reactions**

**105520: Twist Human Methylome Panel, 12 Reactions**

**105521: Twist Human Methylome Panel, 96 Reactions**

Twistカスタムパネルは別途ご注文いただくことができます。詳細については、販売担当者までお問い合わせください。