

新製品ウェビナー
全ゲノムシーケンス対応
デスクトップ型次世代シーケンサー
NextSeq 500

イルミナ株式会社
マーケティング部
2014年2月4日



すべての規模にシーケンスのパワーを

デスクトップ型

大型

フォーカスした
パワー

柔軟な
パワー

生産性のある
パワー

集団規模の
パワー



MiSeq

ターゲット、小さいゲノム
のためのスピードと
簡易性



NextSeq

日々のゲノム解析のため
のスピードと簡易性



HiSeq 2500

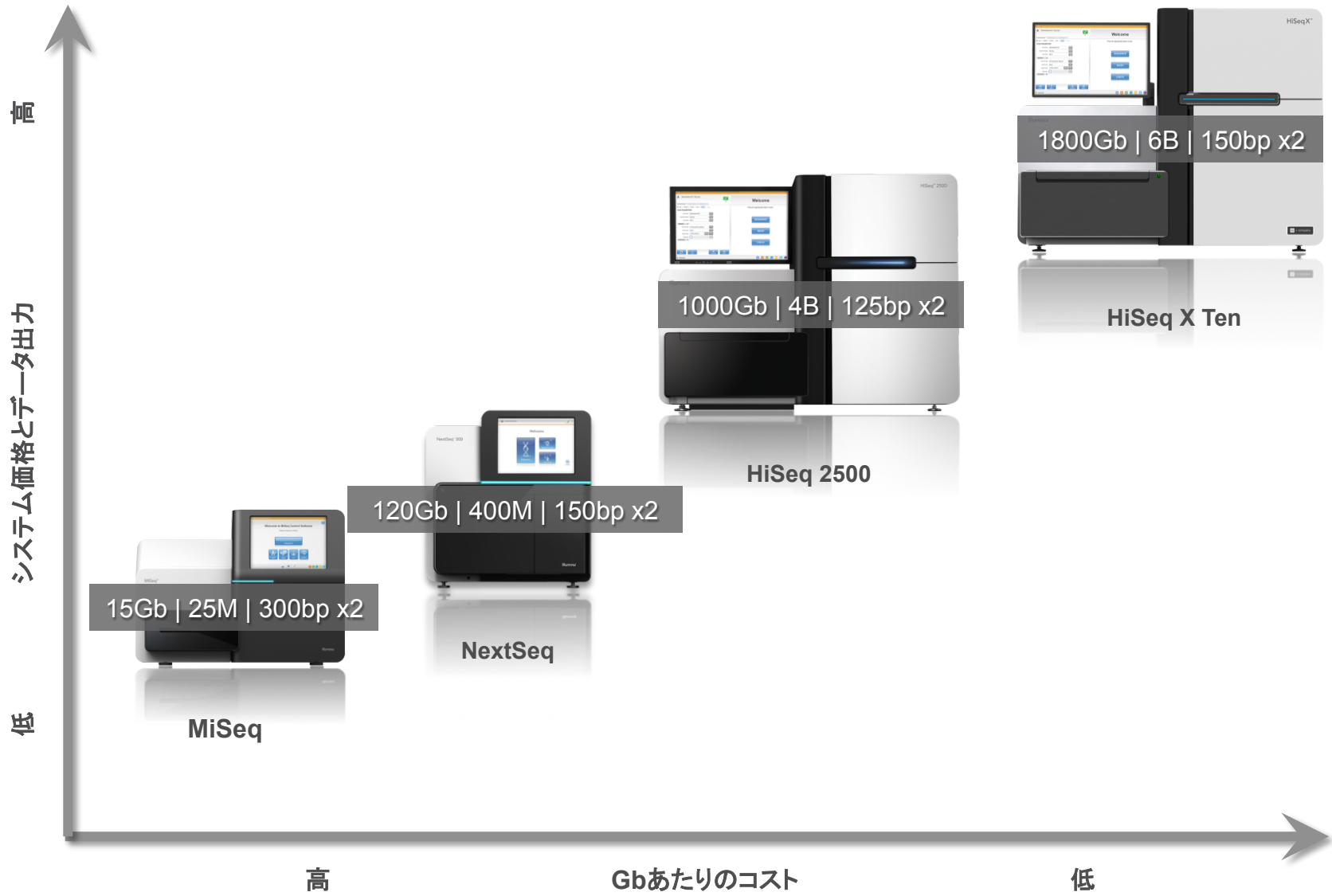
大規模プロジェクトに適した
パワーと効率性



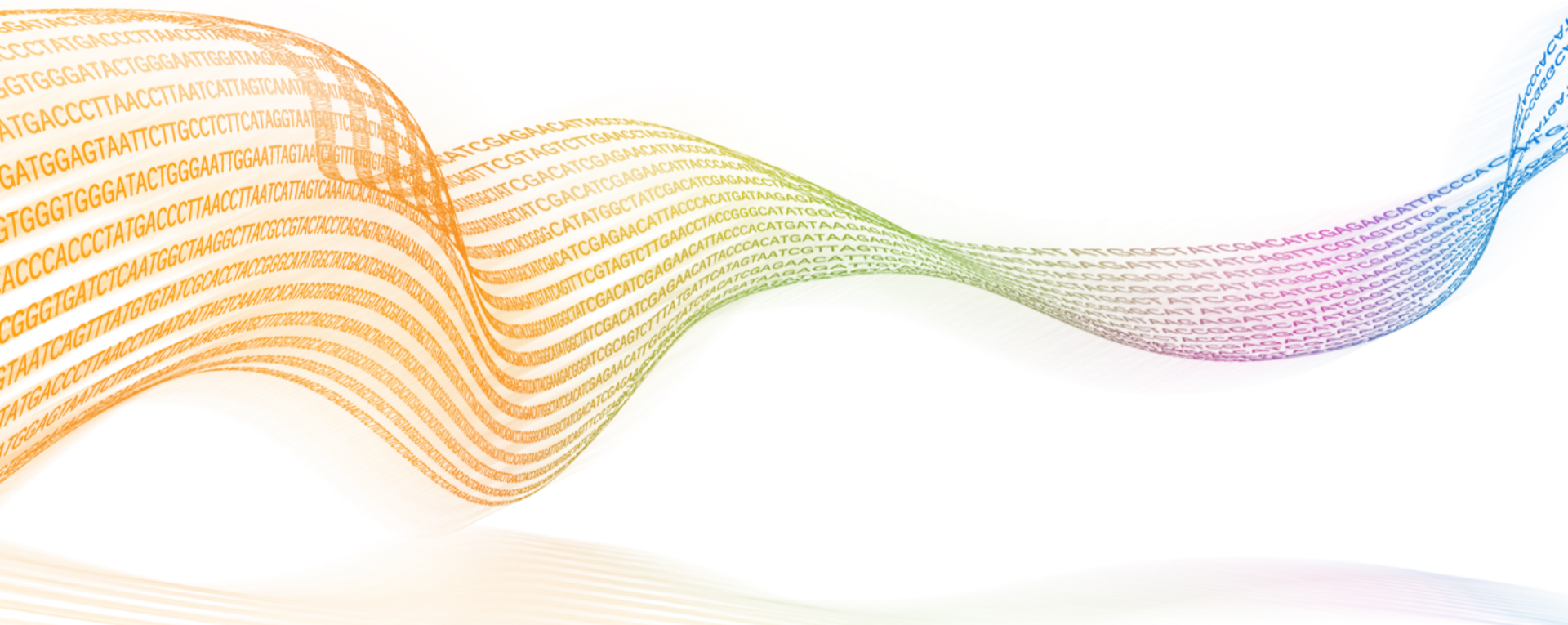
HiSeq X Ten

1000ドルゲノムと集団規模シーケ
ンスのための超スループット

1000ドルゲノム登場!!



集団規模のパワーで1000ドルゲノムを可能に HiSeq X Ten



HiSeq X Ten – 1000ドルゲノムの壁を打ち破る

- ▶ ランあたり 1.8 Tbのデータを産出
 - 60億リード
 - フローセル2枚
- ▶ ランあたり 16ゲノムを解析
 - 3日以内
- ▶ データクオリティ
 - ペアエンド 150bp x2
 - 75%以上の塩基がQ30以上

- 4倍スピードのケミストリー
- 6倍スピードのスキャン処理
- 10倍のデータスループット
 - 600Gb / 日
 - 1.8 Tb / ラン



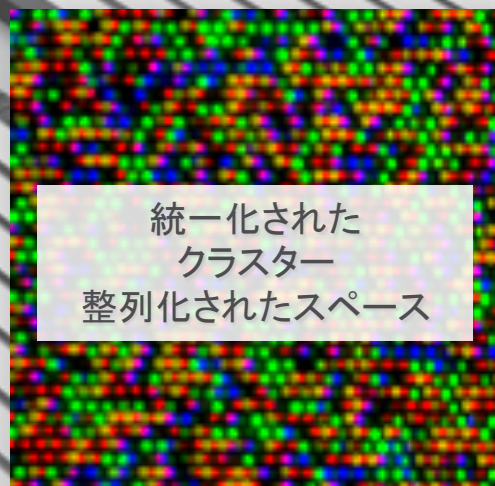
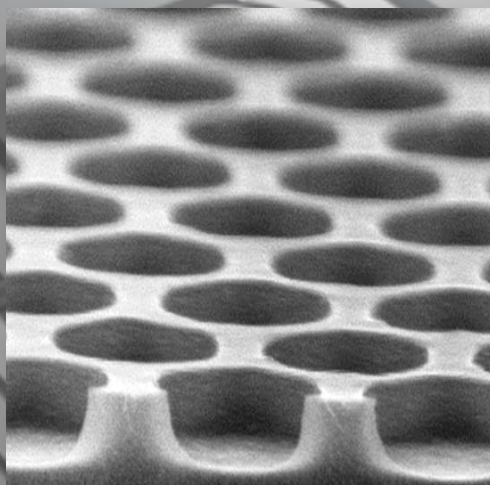
新しくパターン化されたフローセルとケミストリー

ナノウェルの基盤を採用

- 数十億の整列化されたウェル
- クラスタサイズを統一
- 最適化されたクラスタ間のスペース

増幅に工夫

- ウェルあたりシングルテンプレートが存在
- 全て同時にシーディングと増幅を実施

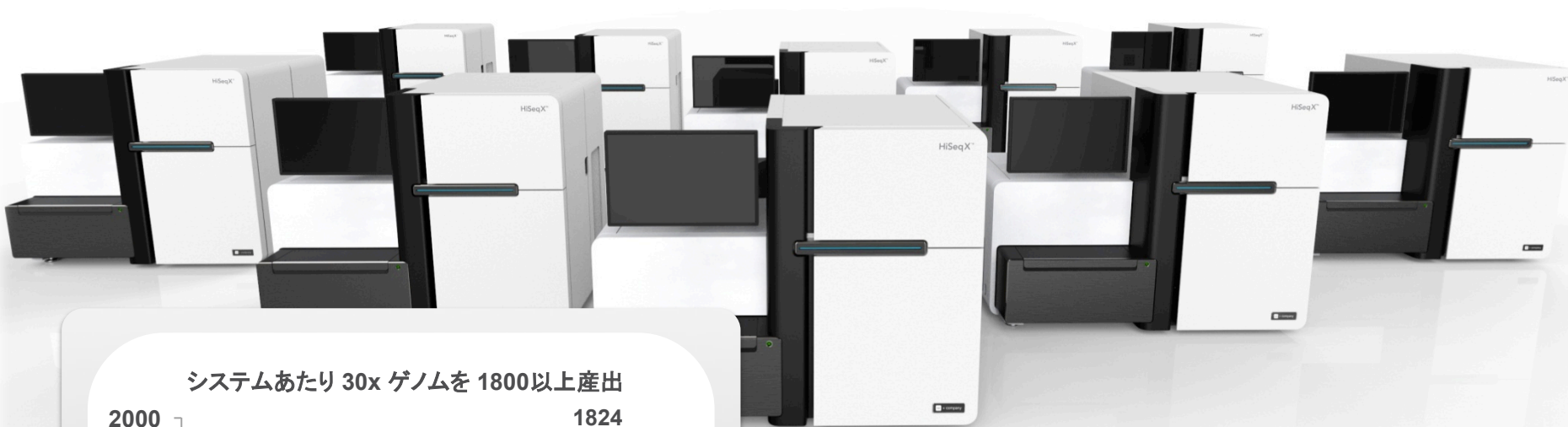


統一化された
クラスタ
整列化されたスペース

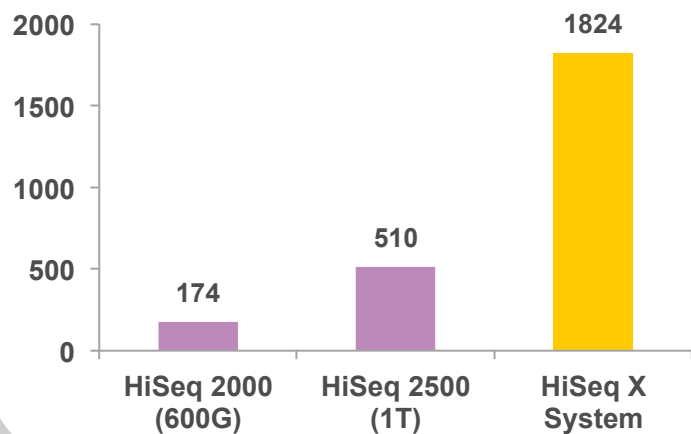


バラバラの
クラスタ
ランダムなスペース

1000ドルゲノムを可能にする超スループット



システムあたり 30x ゲノムを 1800以上産出

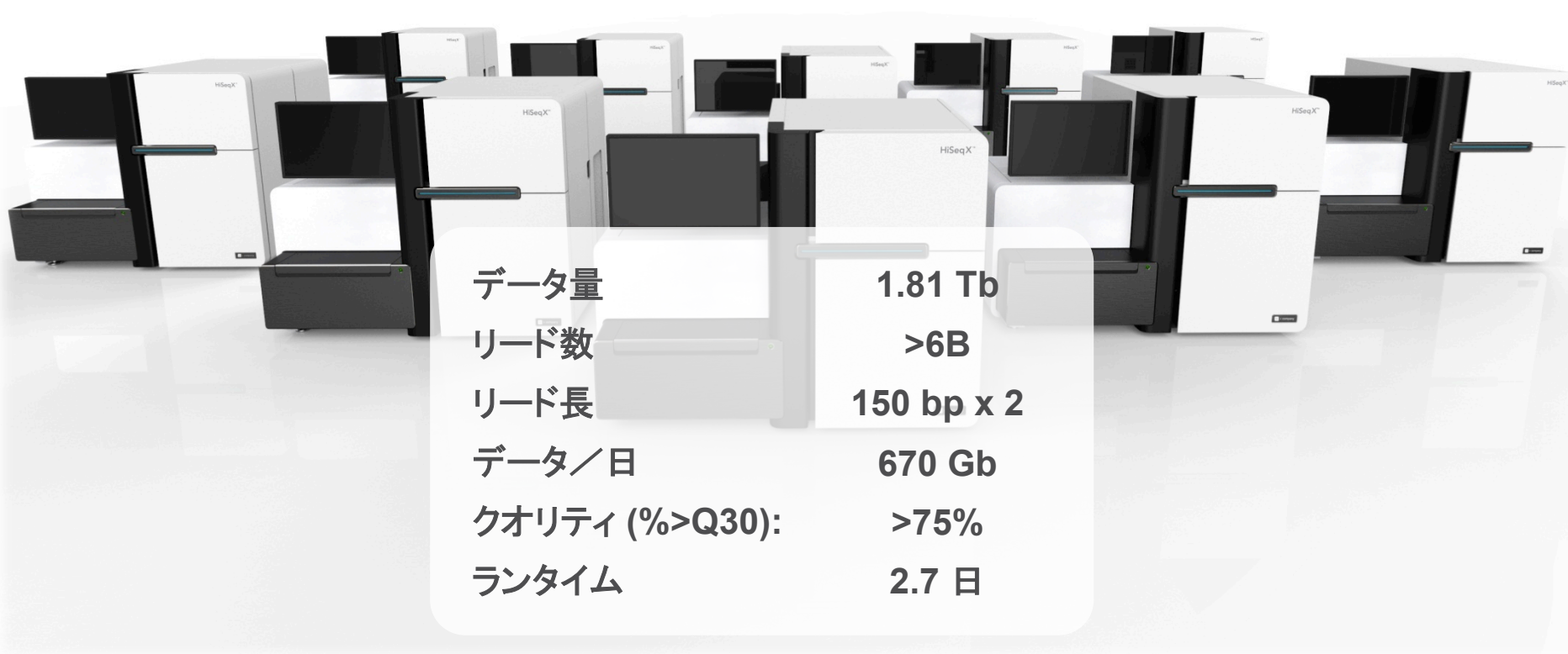


18,000 ゲノム／年間／X TEN

1000ドルゲノム(下記を含む)

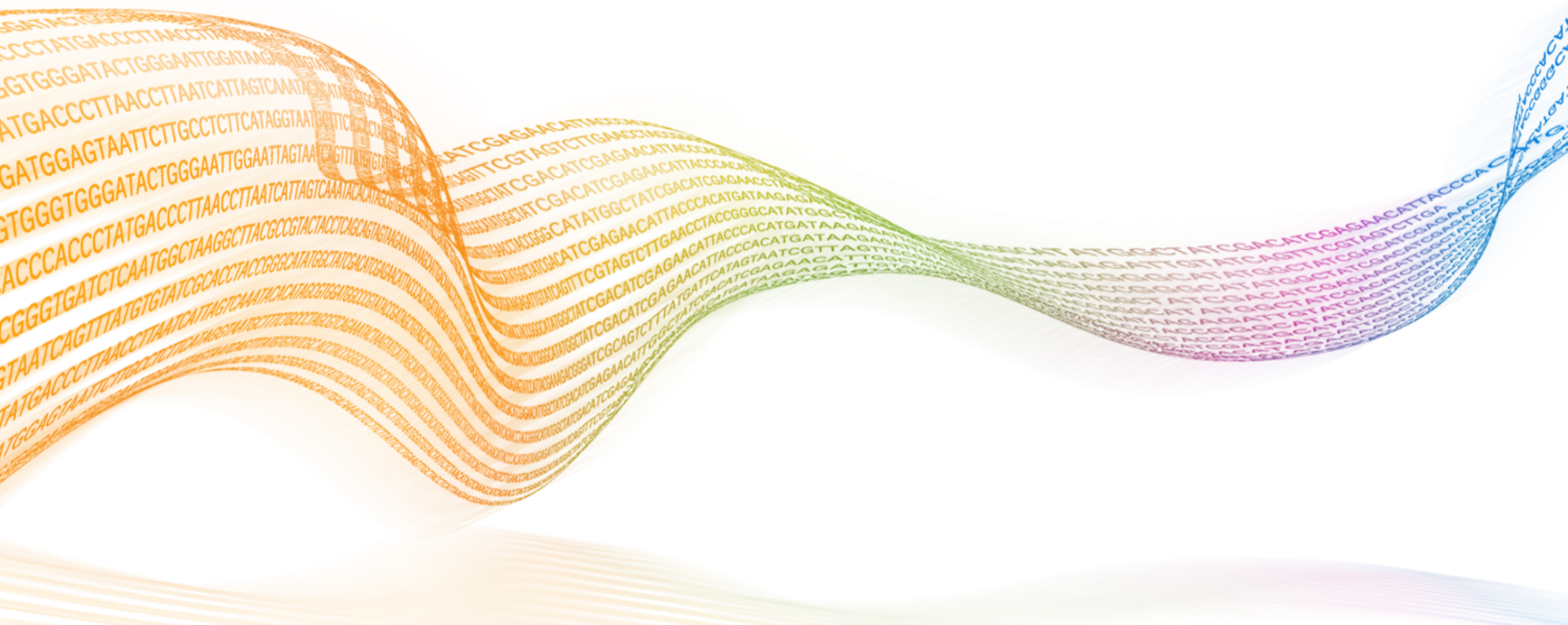
- 消耗品
- システム償却
- サンプル調製キット

HiSeq X – R&D データ



データ量	1.81 Tb
リード数	>6B
リード長	150 bp x 2
データ/日	670 Gb
クオリティ (%>Q30):	>75%
ランタイム	2.7 日

さらなる開発で1ラン1Tbへ HiSeq 2500



HiSeq 2500さらなる進化

より多くのデータを、迅速かつ安価に

6日間で1Tb(1兆塩基)

125bp x2、40億クラスター

6日間で10人分のゲノム解析*



*30x ヒトゲノム、100Gb で試算

"This information is intended to outline general product direction and it should not be relied on in making a purchasing decision. This material is for information purposes only and may not be incorporated into any contract. This information is not a commitment, promise, or legal obligation to deliver this functionality. The development, release, and timing of any features or functionality described for our products remains at our sole discretion."

illumina®

HiSeq 2500 – スピード、多様性、効率性

HIGH OUTPUT

70 – 1000Gb
1 – 6 日間
最大 125bp x2

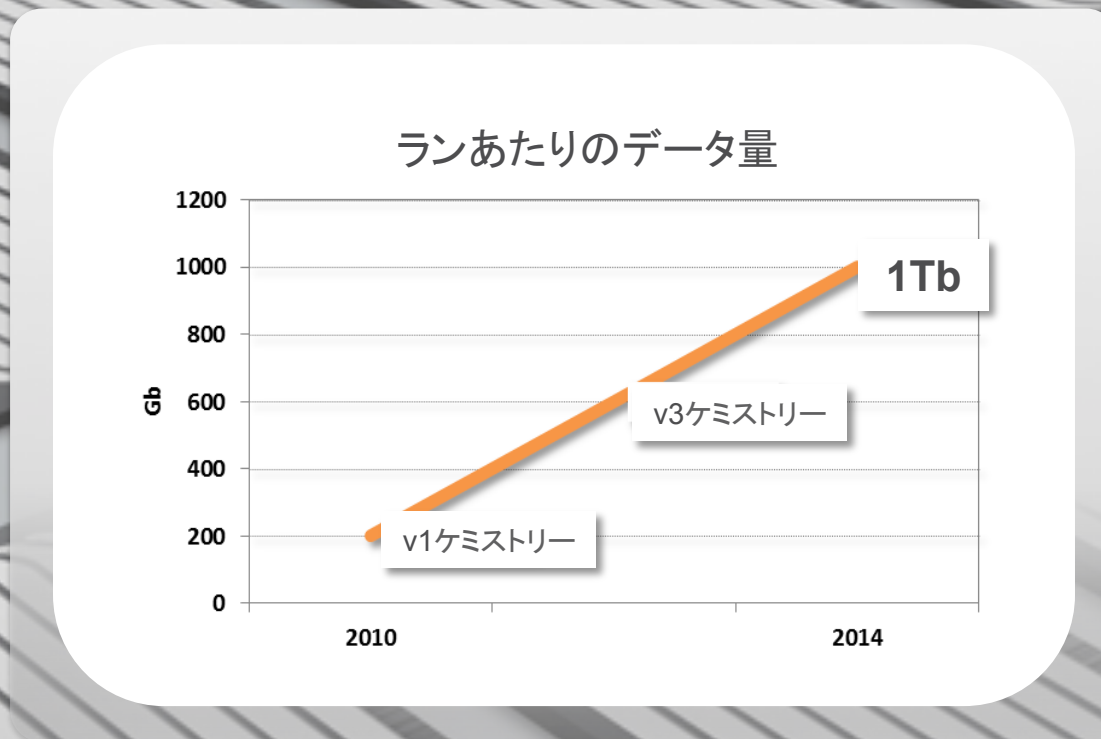
RAPID RUN

10 – 300Gb
7 – 60 時間
最大 250bp x2*

大規模なプロジェクト
少ないラン数

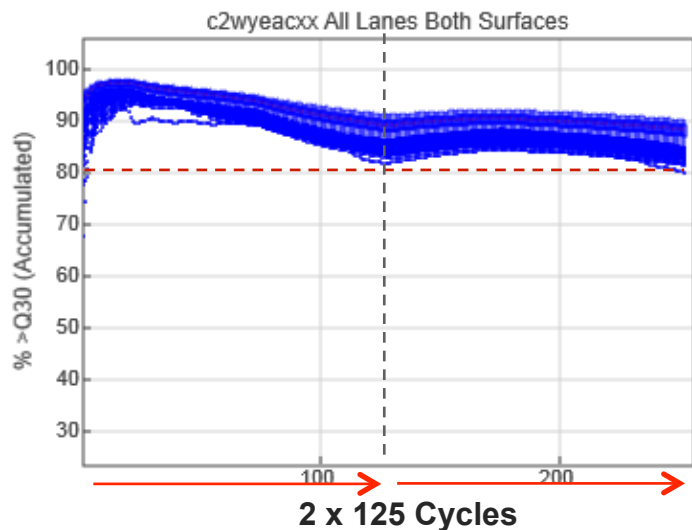
小さめのプロジェクト
迅速な結果の取得

HiSeq – 進化は続く



データ量は67%増加、リード数も33%増加

HiSeq 1Tb R&D データ

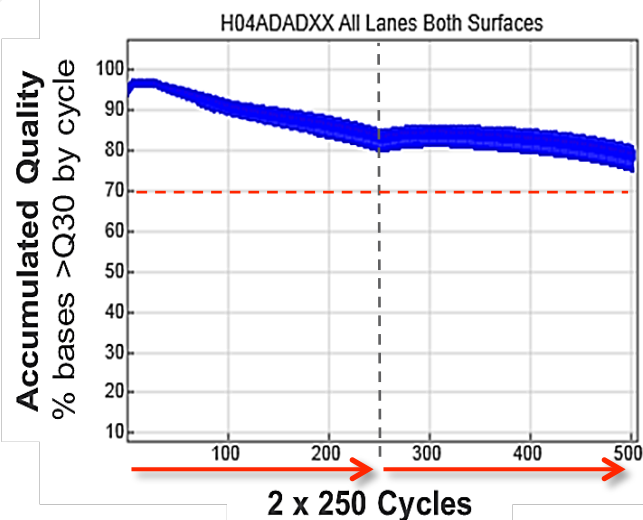


データ量	1035 Gb
リード数	4.14B
リード長	125 bp x2
スループット(日)	172.5 Gb
クオリティ(>Q30)	87.7%
ランタイム	6 日間

10全ゲノム
150エクソーム
80全トランスクリプトーム

日あたり、また年間を通して
データ量が大幅にアップ

HiSeq 2500 – Rapidモードで250bp x2を可能に

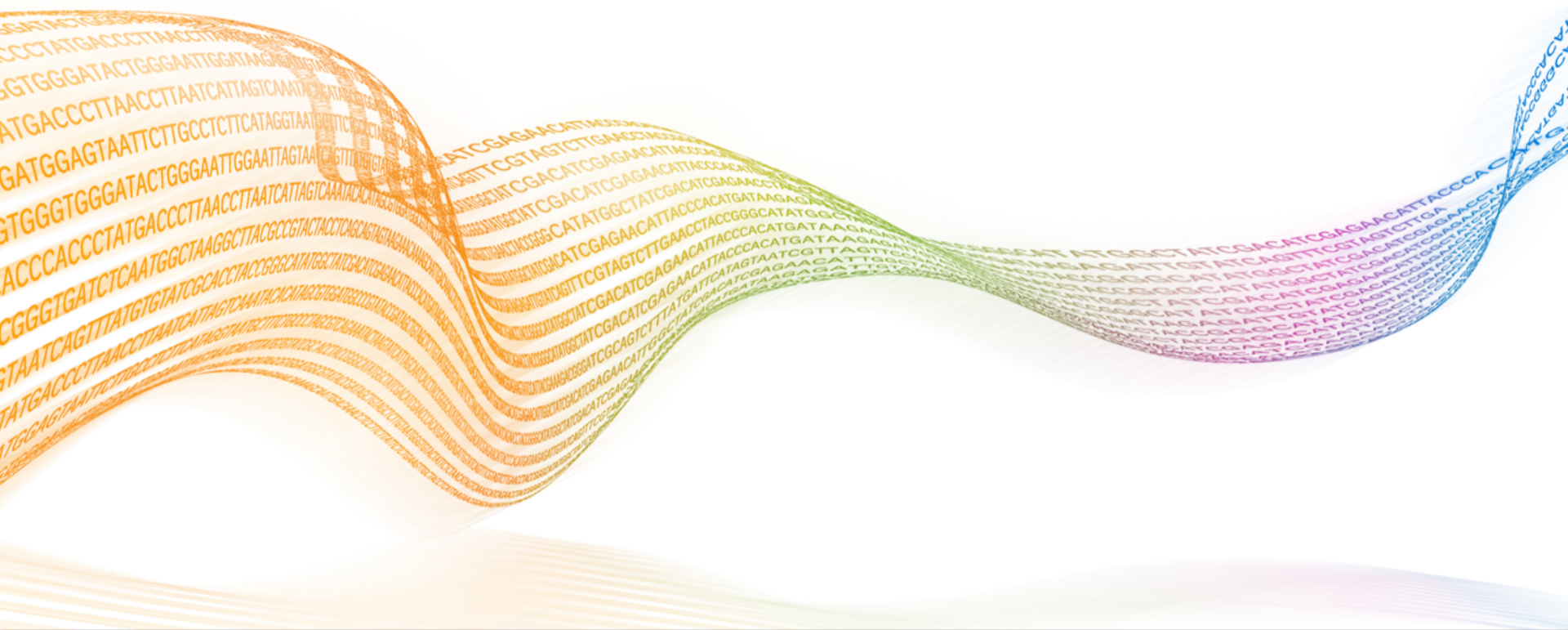


データ量	147 Gb
リード数	294M
リード長	250 bp x2
スループット(日)	120 Gb
クオリティ(>Q30)	87.5%
ランタイム	60 時間

Rapidランで250bp x2を可能に

2014年半ばを予定

ハイスループットの規模をデスクトップの簡易性で NextSeq 500システム



柔軟性のあるパワーをもたらす NextSeq 500システム

- ▶ プッシュボタンで操作する簡易性
 - 試薬カートリッジ、フローセル、バッファ
 - ラン後の洗浄も自動で実施
- ▶ ニーズに応じて選べる柔軟性の高い試薬キット
 - 高出力フローセル 25 ~ 120 Gb (3種類のキット)
 - 中出力フローセル 16 ~ 39 Gb (2種類のキット)
- ▶ SBSケミストリーに最新技術を搭載
 - 2色蛍光で迅速なラン
- ▶ 主なアプリケーションをトータルサポート
 - サンプルからデータ解析まで

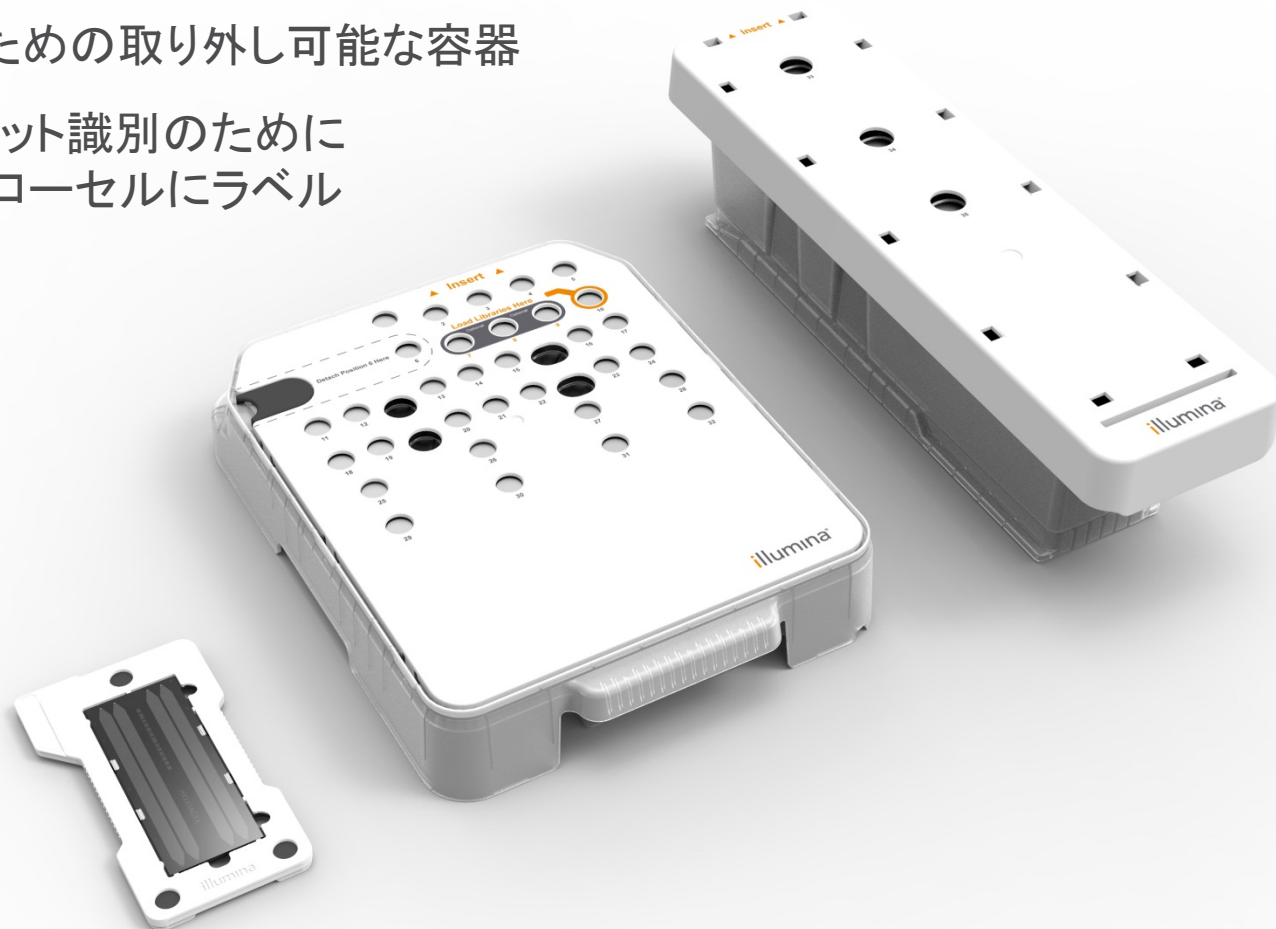


プッシュボタンで操作する簡易性

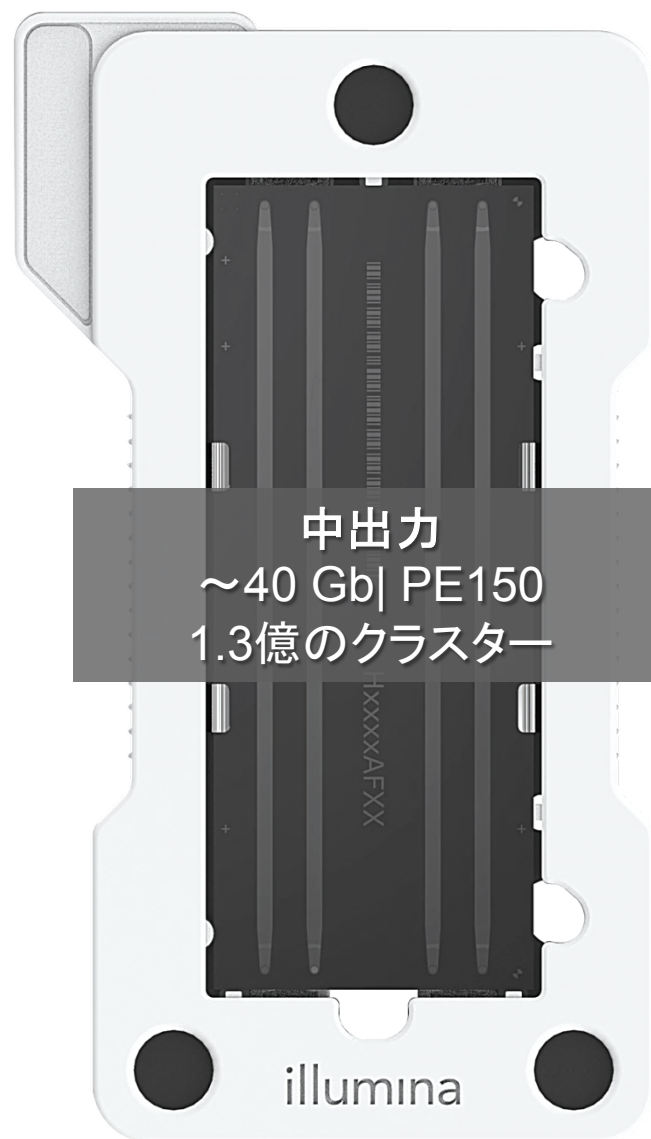
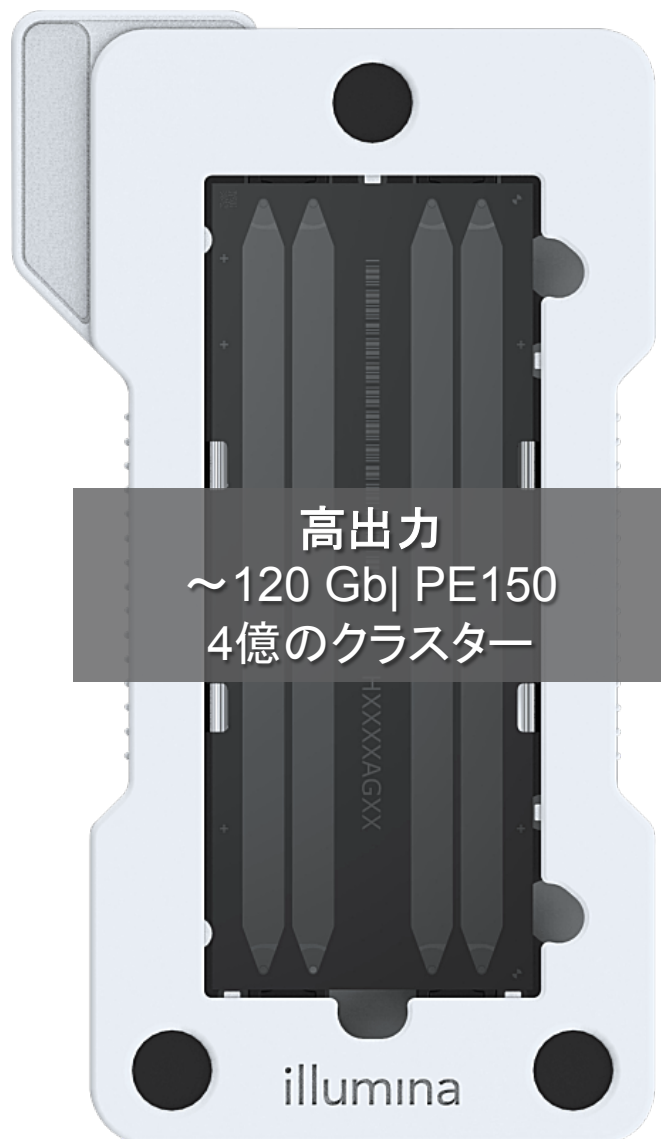


使いやすさをさらに追求した試薬キット

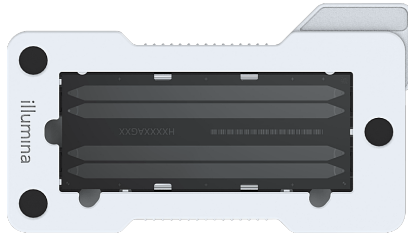
- ▶ ラン後の洗浄を自動で実施
- ▶ ホルムアミド廃液のための取り外し可能な容器
- ▶ 高出力、中出力のキット識別のために試薬カートリッジとフローセルにラベル



1台のシステムで2種類のフローセル



目的とサンプル数に応じて選択できるキット

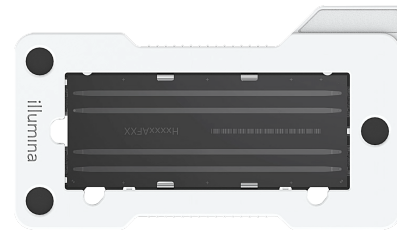


高出力
~120 Gb | PE150
4億のクラスター

300サイクルキット
150bp x2, ~120Gb
~29時間のラン

150サイクルキット
75bp x2, ~60Gb
~18時間のラン

75サイクルキット
75bp x1, ~30Gb
~11時間のラン

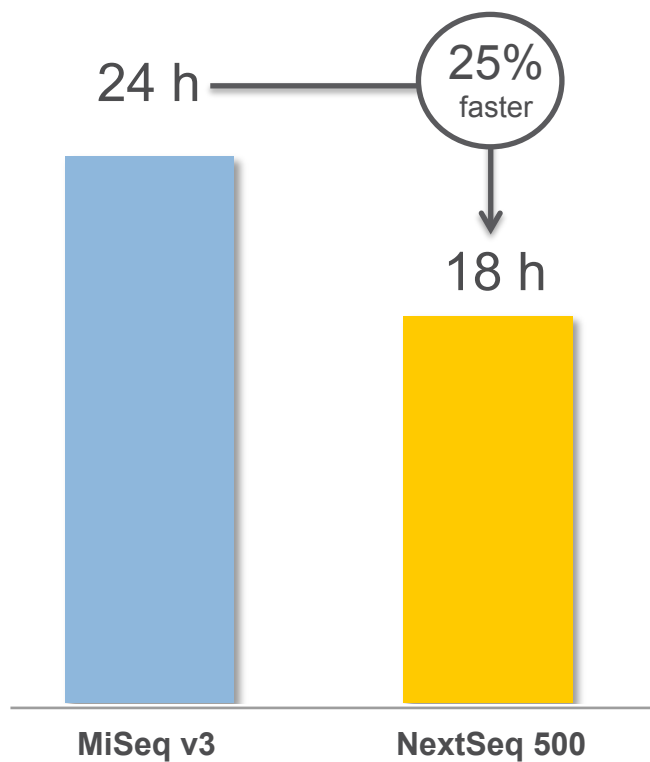


中出力
~40 Gb | PE150
1.3億のクラスター

300サイクルキット
150bp x2, ~39Gb
~26時間のラン

150サイクルキット
75bp x2, ~19.5Gb
~15時間のラン

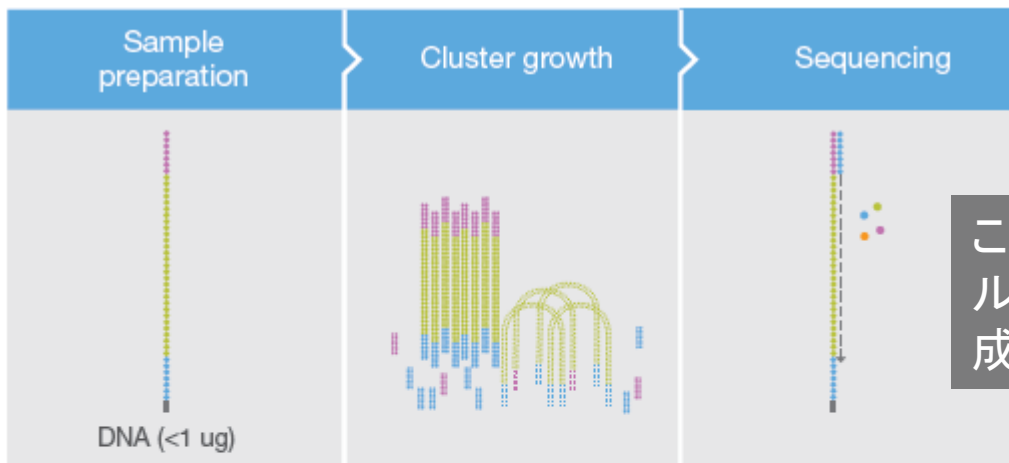
迅速な解析を可能にする2色SBSケミストリー



2x75bp ラン

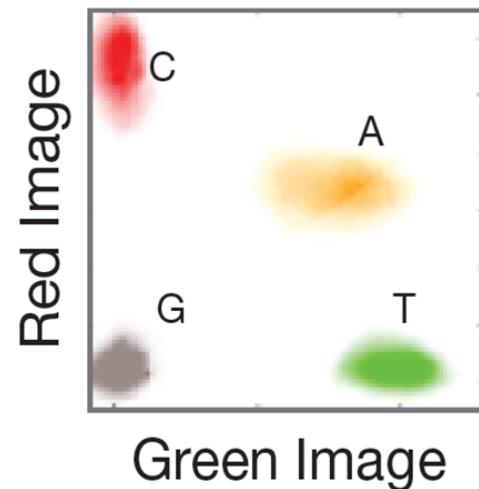
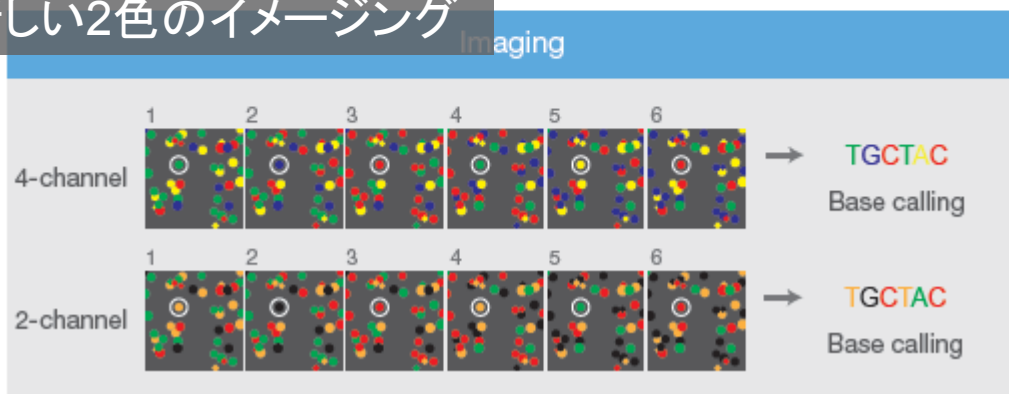


SBSの進化: 2色によりイメージング処理を50%短縮



これまでと同じサンプル調製、クラスター形成、シーケンス(SBS)

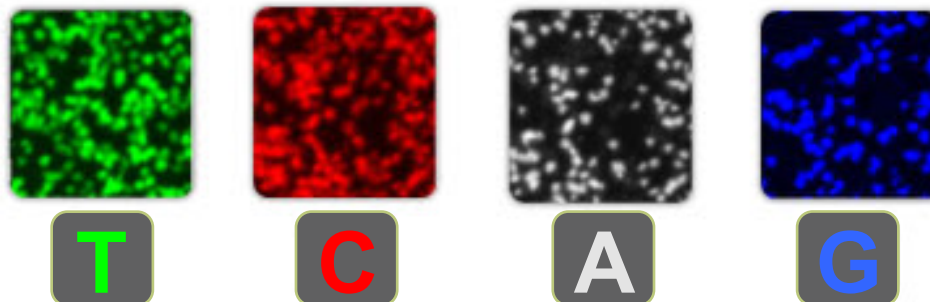
新しい2色のイメージング



SBSの進化:2色チャンネル

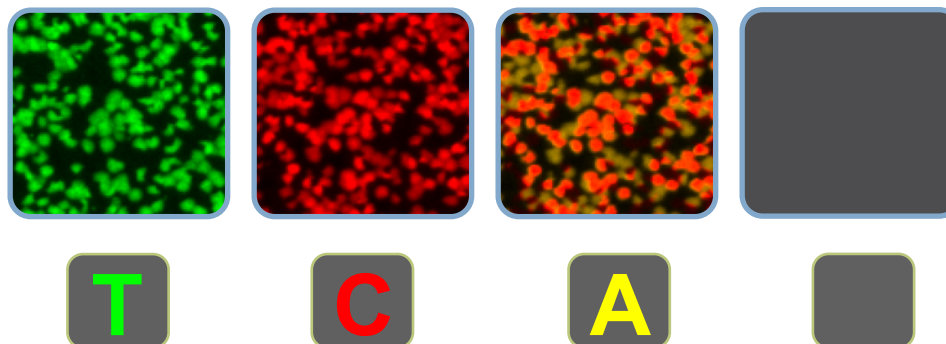
4色チャンネルのSBS

- 塩基ごとに4色設定
- 4イメージ必要
- HiSeq, MiSeq



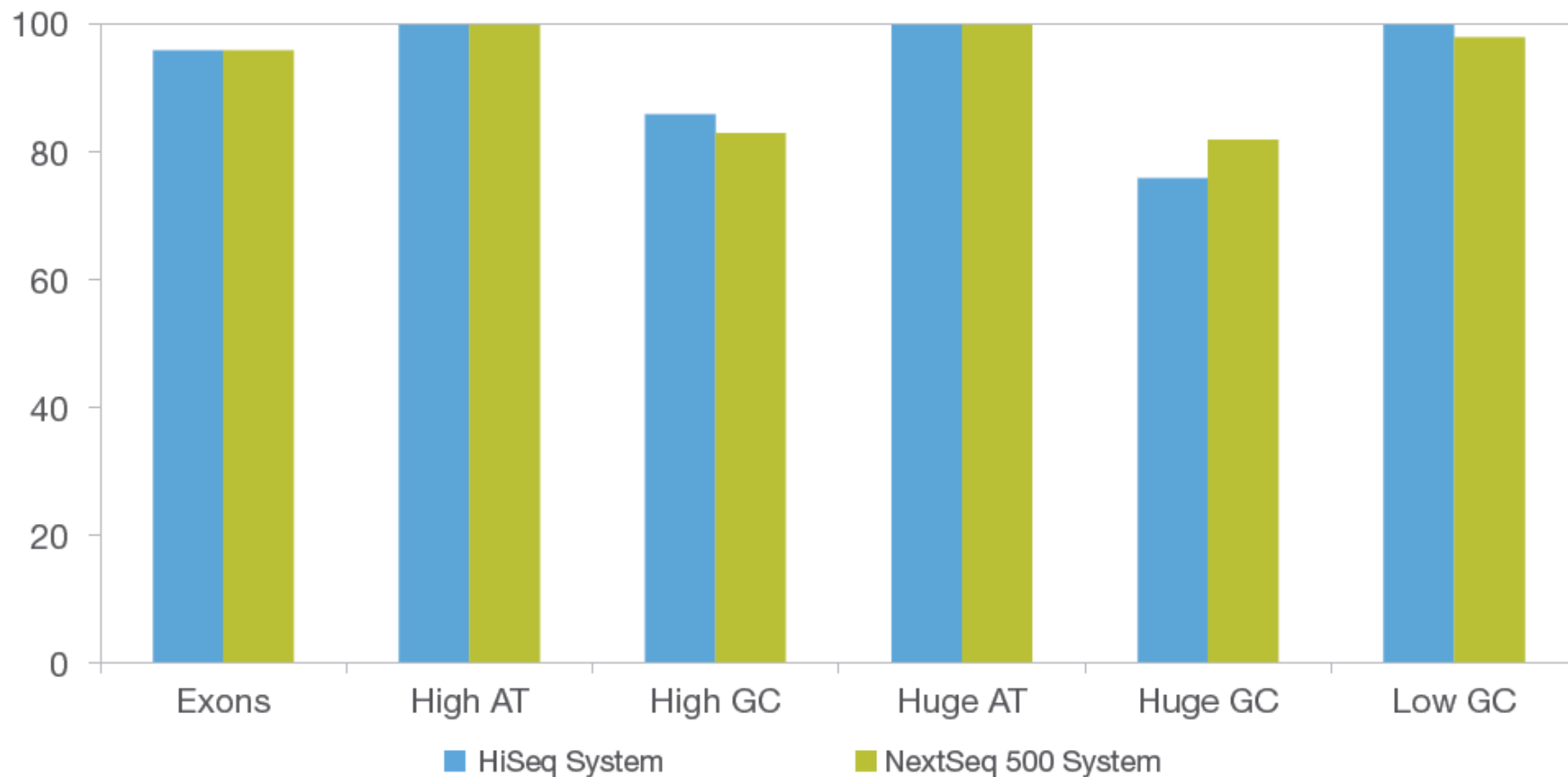
2色チャンネルのSBS

- 2色で4塩基を検出
- 2イメージのみ
(イメージ処理の短縮)
- NextSeq 500



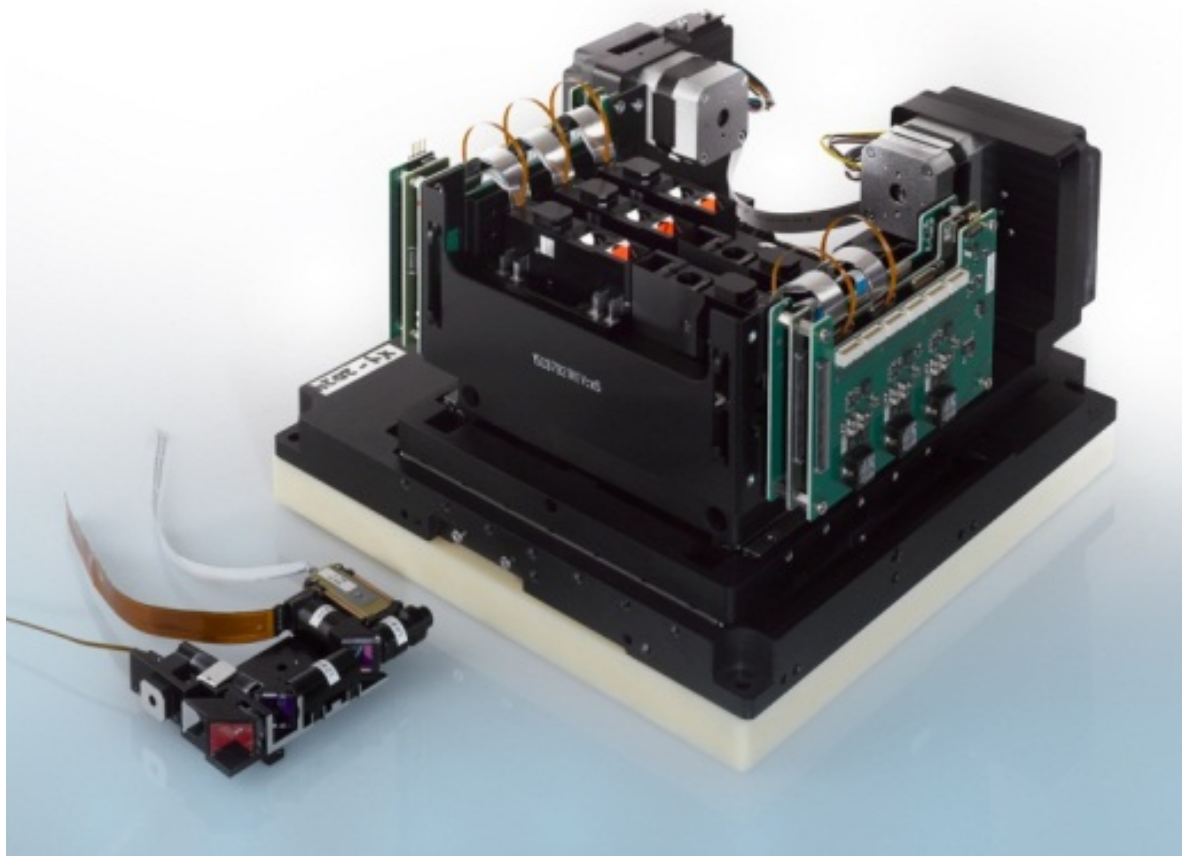
ゲノム領域ごとのデータ比較

- ▶ HiSeq と比べて、同等のパフォーマンス
- ▶ 縦軸: ノーマライズされたカバレッジ



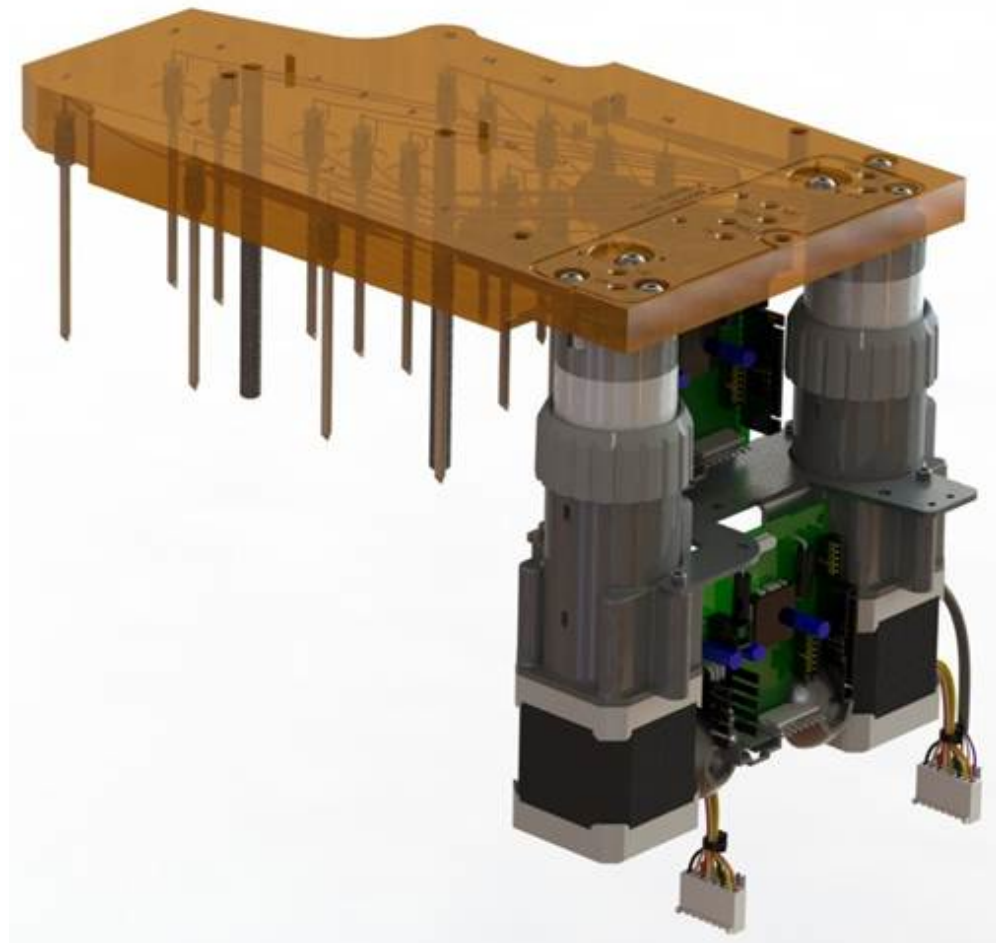
強固さを支える設計 – 光学系

- ▶ 一般向けの光学系
- ▶ 固体
- ▶ リアライメントの必要なし



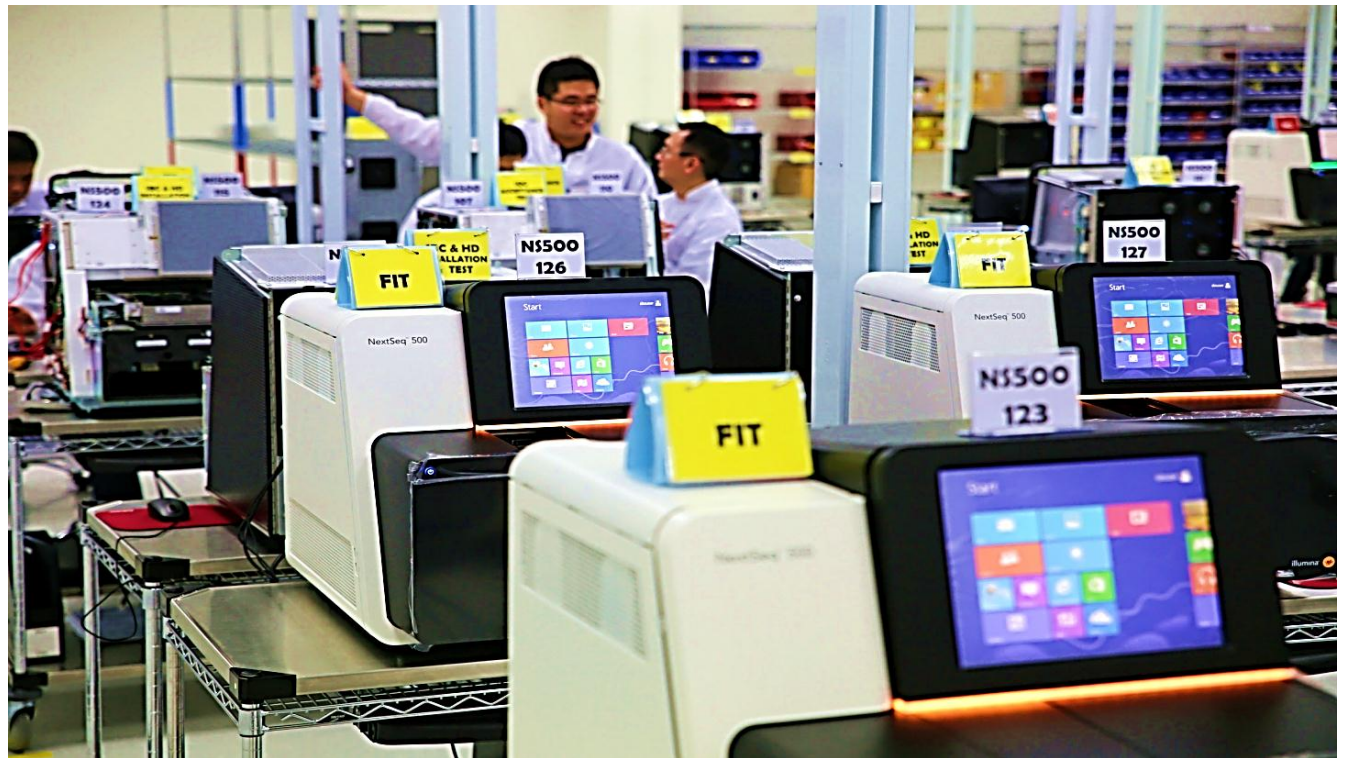
強固さを支える設計 - 流路

- ▶ より統合化されたマニフォールド
- ▶ チューブの数を最小限に

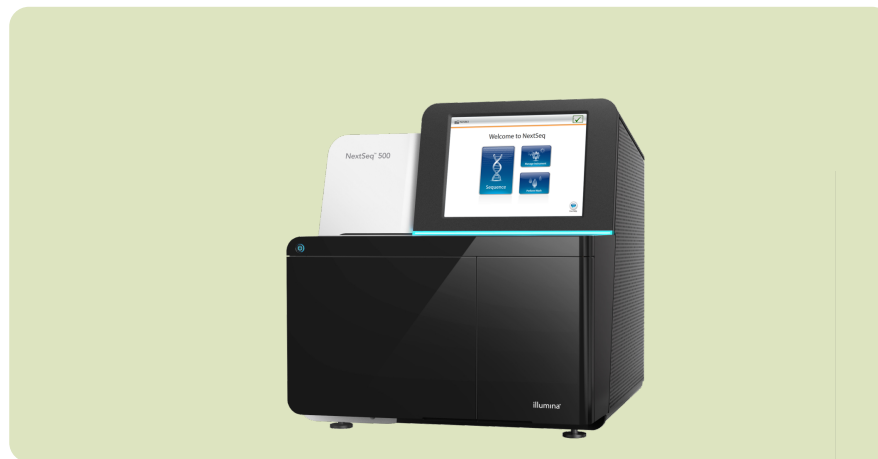


強固さを支える設計 – 製造

- ▶ 再エンジニアリングされたサプライチェーン
- ▶ 製造プロダクション稼働



NextSeq 500システムのワークフロー



サンプル調製

シーケンス

一次解析

二次解析

- ベースコール
- クオリティスコアリング
- bclファイルまで産出

- Bclからfastqへの変換
- アライメント
- 変異コール
- 視覚化など

二次解析のステップに新たな提案: BaseSpace Onsite

BCL
ファイル

FASTQ
作成

解析
アライメントなど

レポート
作成



Linuxサーバー
利用者

Linuxソフト
bcl2fastq

オープンソース & 有償ツール

- コマンド必要
- インフォマティクス、IT必要

BaseSpace
Cloud

ウェブブラウザで操作

- コマンドなし
- インターネット必要

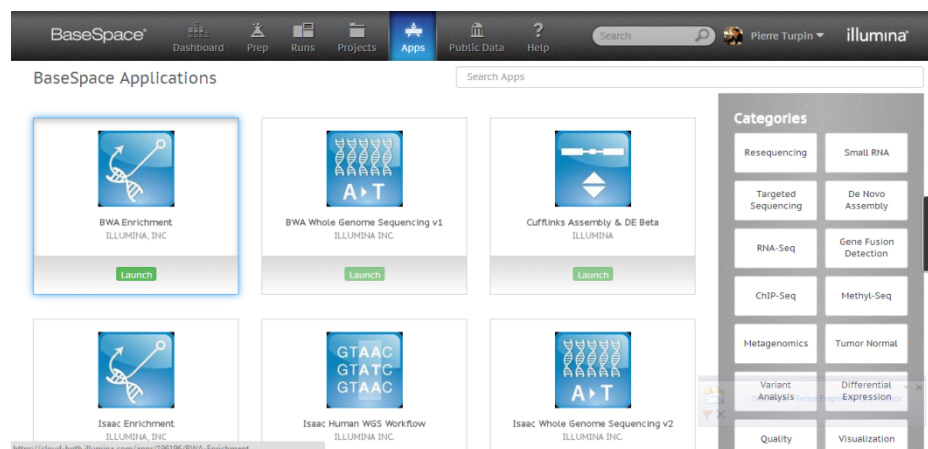
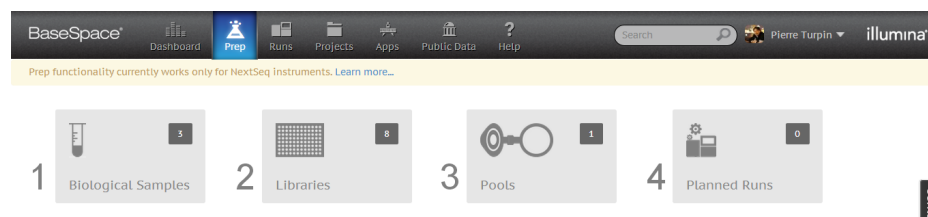
BaseSpace
Onsite

ウェブブラウザで操作

- コマンドなし
- インターネットなし

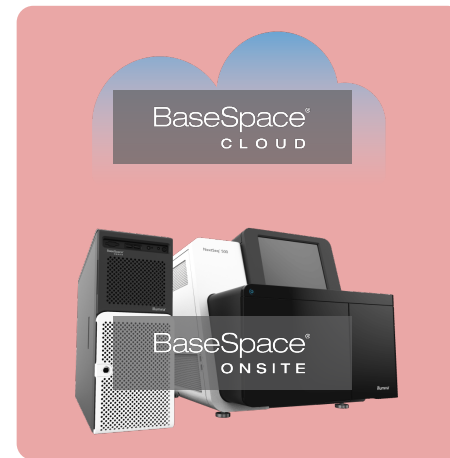
BaseSpace Onsite*

- ▶ BaseSpaceクラウドへの接続が難しい研究者のために、ローカルのサーバーを提供
- ▶ 主要なアプリケーションの解析ツール
 - 全ゲノム
 - エクソーム濃縮
 - 腫瘍／正常解析
 - RNA-Seq
- ▶ アライメントから変異コール、レポートまでを実施



* 初期リリースはNextSeq 500システムにのみ対応

主要なアプリケーションを始めから終わりまでサポート



サンプル調製

シーケンス

一次解析

二次解析

全ゲノム解析

エクソーム解析

RNA-Seq & トランスクリプトーム解析

NextSeq: デスクトップ型で初めてヒト全ゲノム(30x)を実施可能



Whole Genome

	MiSeq	NextSeq 500	HiSeq 2500
ラン設定		150bp x2	125bp x2
ランタイム		29時間	6日間
ランあたりのデータ	15Gb	120Gb	1Tb
ランあたりのサンプル数	NA	1	10



ヒト全ゲノム解析 – NextSeq 500 と HiSeq の比較



Whole Genome

	HiSeq 2500	NextSeq 500	
	NHL-16	NHL-16 (1)	NHL-16 (2)
Bases in build	127Gb (43x)	126Gb (43x)	121Gb (41x)
% >Q30	89	79	74
SNV コールレート	0.91	0.90	0.91
SNV 整合性	0.996	0.995	0.995
SNV 偽陽性	12,673	15,614	16,458
SNV 偽陰性	310,861	343,842	324,990
Indel コールレート	0.786	0.750	0.756
Indel 整合性	0.726	0.774	0.760

全ゲノムでサポートするゲノム (BaseSpace Onsite)



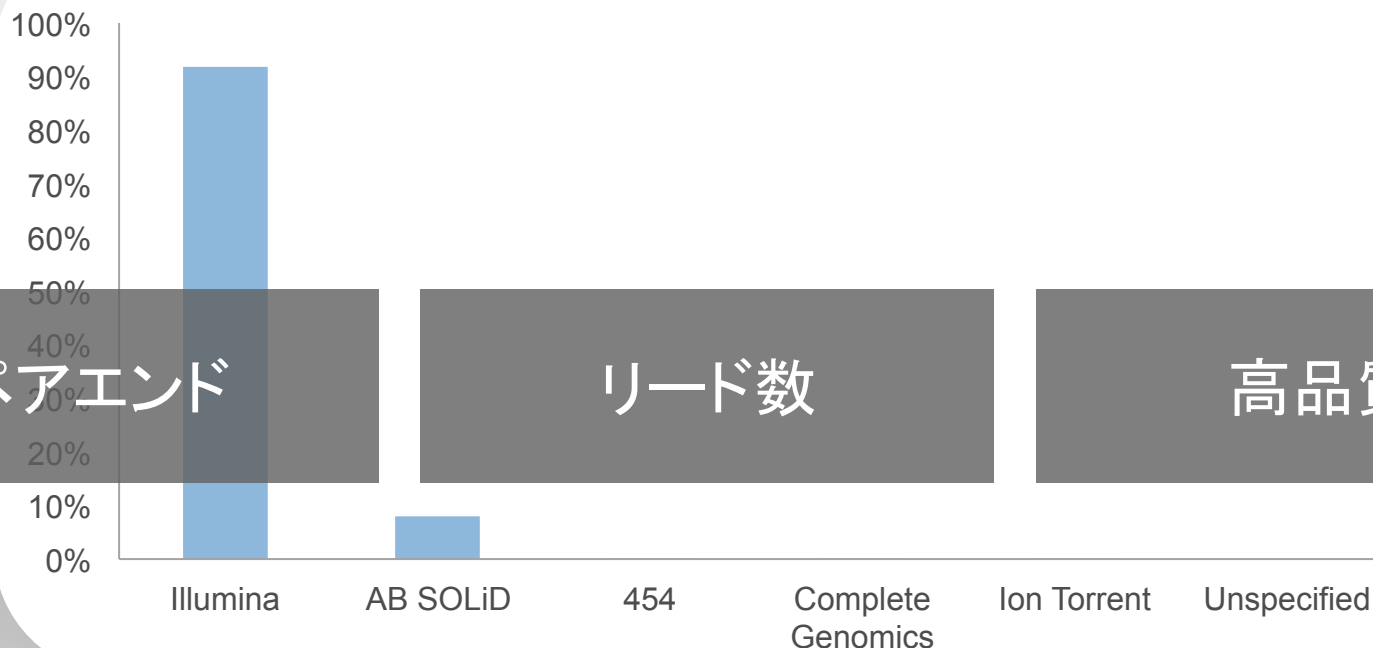
Whole Genome

ヒト	UCSC HG19
マウス	UCSC MM9
ラット	UCSC RN5
ウシ	Ensembl UMD3.1
ハエ	UCSC version dm3
シロイヌナズナ	NCBI 9.1
ロドバクター	NCBI 2005-10-07
大腸菌 DH10B	NCBI 2008-03-17
大腸菌 MG1655	NCBI 2001-10-15
酵母	UCSC sacCer2
黄色ブドウ球菌 NCTC8325	NCBI 2006-02-13
PhiX	イルミナ

90%以上のエクソーム解析は、イルミナシステムで実施



Exome



ペアエンド

リード数

高品質

NextSeq: エクソーム解析も手頃に実施



Exome

	MiSeq	NextSeq 500	HiSeq 2500*
ラン設定	150bp x2	75bp x2	75bp x2
ランタイム	24時間	18時間	5日間
ランあたりのデータ	5Gb	60Gb	600Gb
ランあたりのサンプル数	1	3~12	96



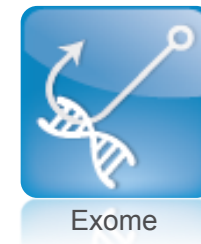
NextSeq 500 で行うエクソーム解析



Exome

アプリケーション	データ出力	カバレッジ	ランあたりのサンプル	10x以上をカバーする領域
既知変異の検出	4 Gb	~ 50X	12	80%
新規変異の検出	8 Gb	~ 100X	6	95%
体細胞変異の検出	20 Gb	~220X	3	99%

サンプル調製: 選べるエクソームのキット



- ▶ NextSeq 500のランに対応する、ロープレックスのキットを新たにリリース

カタログ番号	製品名
FC-140-1000	Nextera Rapid Capture Exome (8反応、1プレックス)
FC-140-1083	Nextera Rapid Capture Exome (8反応、3プレックス)
FC-140-1086	Nextera Rapid Capture Exome (8反応、6プレックス)
FC-140-1089	Nextera Rapid Capture Exome (8反応、9プレックス)
FC-140-1001	Nextera Rapid Capture Exome (2反応、12プレックス)
FC-140-1002	Nextera Rapid Capture Exome (4反応、12プレックス)
FC-140-1003	Nextera Rapid Capture Exome (8反応、12プレックス)

BaseSpaceを使ったエクソーム解析



Exome

▶ ウェブブラウザを利用した直感的なユーザーインターフェース

▶ 迅速な解析

- サンプルあたり5時間
- 業界標準のBWA/GATK解析パイプライン

▶ 柔軟なレポートの選択肢

- プロジェクトを取りまとめたレポート
- サンプルにフォーカスしたレポート

BaseSpace

BWA Enrichment Details»

Illumina, Inc

Analysis Name: BWA Enrichment 12/18/2013 9:15:29

Save Results To: Select a Project

Targeted Regions:

- Nextera Rapid Capture Exome v1.1
- Nextera Rapid Capture Exome v1.1**
- Nextera Rapid Capture Exome v1.2
- Nextera Rapid Capture Expanded Exome v1.0
- TruSight Autism v1.0
- TruSight Cancer v1.0
- TruSight Cardiomyopathy v1.0
- TruSight Exome v1.0
- TruSight Inherited Disease v1.0
- TruSight One v1.0

Launch

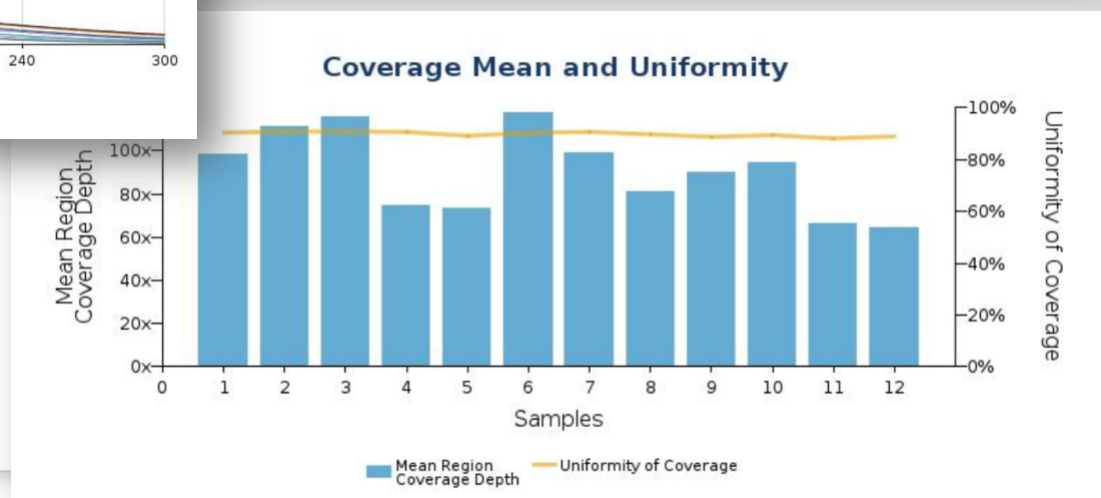
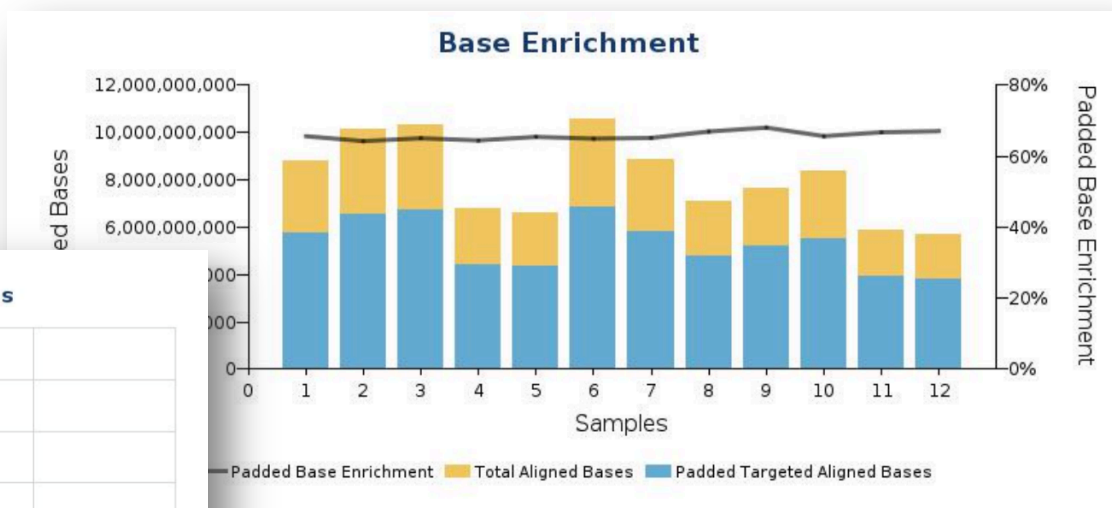
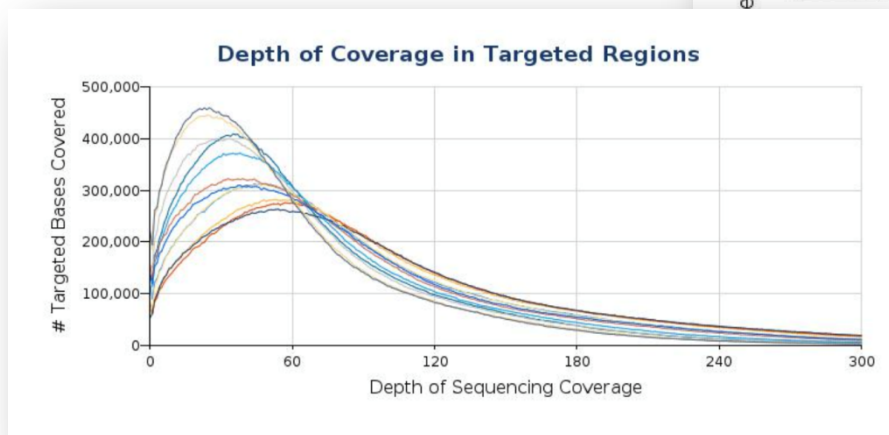
Percent Found in dbSNP 99.0% 88.0% 78.3%

包括的にまとめたレポートを作成



Exome

- ▶ まとめられた統計値を、直感的なグラフ形式で表示



NextSeq 500 が RNA-Seq を身近なツールに変える



Transcriptome

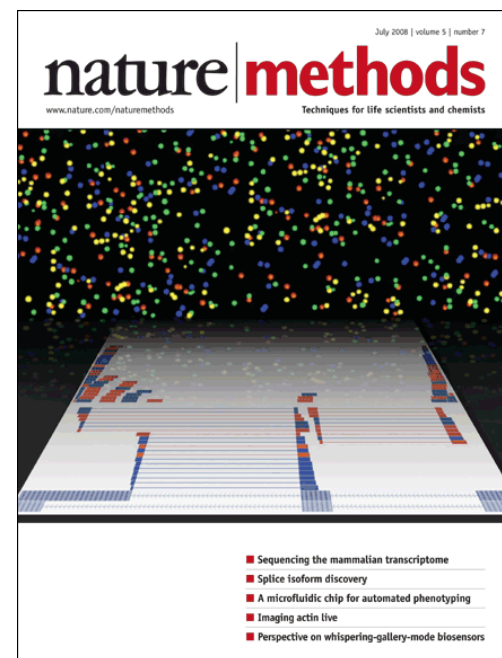
▶ 遺伝子発現プロファイリング

- 遺伝子レベル
- エクソンレベル
- シングルセル & 超微量
- スプライスバリエントレベル
- アリルレベル
- 幅広いダイナミックレンジ
- アノテーションなしの生物種における解析
ncRNA

▶ トランスクリプトーム解析

- mRNA領域の網羅的推定
- 新規スプライスバリエントの発見
- 融合遺伝子の発見
- ゲノム未知な生物のmRNA配列の網羅的取得
- 新規 ncRNAの発見

- アレイでできること
- 次世代シーケンサーでできること



July 2008 - Vol 5 No 7

Nature Methods 5 (2008)

The beginning of the end for microarrays?

RNA-Seq & トランスクリプトーム解析を柔軟に実施



Transcriptome

	MiSeq	NextSeq 500	HiSeq 2500*
ラン設定	75bp x2	75bp x2	75bp x2
ランタイム	24時間	18時間	5日間
ランあたりのリード数	2500万リード	8億リード	80億
ランあたりのサンプル数	1	10~40	96



トランスクリプトーム解析のための 4つのステップ



Transcriptome

1. **TopHat をラン**
2. TopHat のQCを実施
 - 必要に応じてサンプルを排除
3. **Cufflinks をラン**
 - コントロールグループの選択
 - 比較グループの選択
4. グループ間を視覚化
 - 遺伝子発現の相関性

BaseSpace illumina®

TopHat Alignment Beta [Details»](#)

Illustration: A>T

App Session Name: ⓘ

1 Save Results To: ⓘ

2 Samples: ⓘ

Reference Genome: ⓘ

Options

Call Fusions: ⓘ

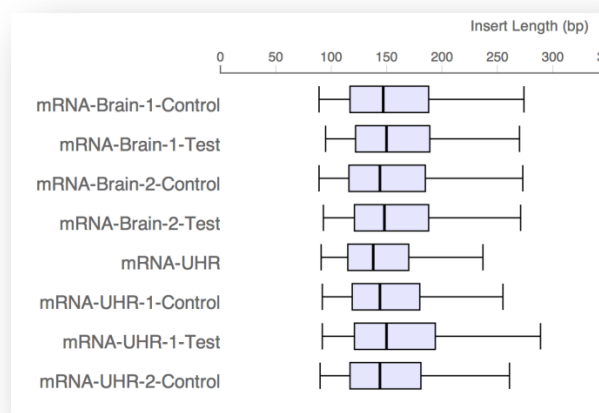
Trim TruSeq Adapters: ⓘ

3

contact us

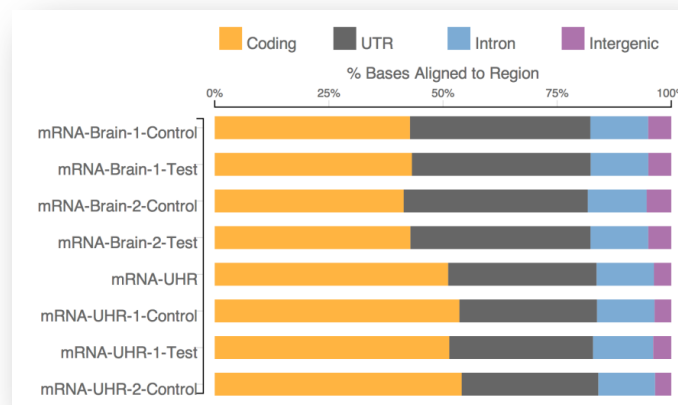
トランスクリプトーム解析のための4つのステップ

1. TopHat をラン
2. TopHat のQCを実施
 - 必要に応じてサンプルを排除
3. Cufflinks をラン
 - コントロールグループの選択
 - 比較グループの選択
4. グループ間を視覚化
 - 遺伝子発現の相関性

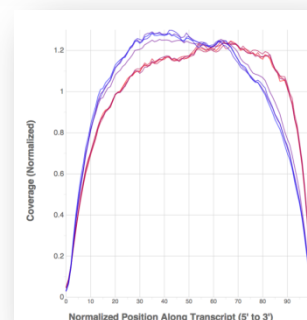


Transcriptome

インサート長の分散



アライメントの割合



転写産物カバレッジ

トランスクリプトーム解析のための4つのステップ

1. TopHat をラン
2. TopHat のQCを実施
 - 必要に応じてサンプルを排除
3. Cufflinks をラン
 - コントロールグループの選択
 - 比較グループの選択
4. グループ間を視覚化
 - 遺伝子発現の相関性

1

2

3

4

BaseSpace illumina

Cufflinks Assembly & DE Beta Details

Illumina

App Session Name: Cufflinks Assembly & DE Beta 12/18/20 ⓘ

Save Results To: Select a Project ⓘ

TopHat Alignments Selection Criteria

Reference Genome: Homo sapiens/hg19 (RefSeq) ⓘ

Stranded: ⓘ

Options

Novel Transcript Assembly: ⓘ

Control Group

Group Label: control ⓘ

TopHat Alignment App Result(s): Select App Result ⓘ

Adjust transcript assembly for samples without polyA selection: ⓘ

Comparison Group

Group Label: comparison ⓘ

TopHat Alignment App Result(s): Select App Result ⓘ

Adjust transcript assembly for samples without polyA selection: ⓘ

Launch

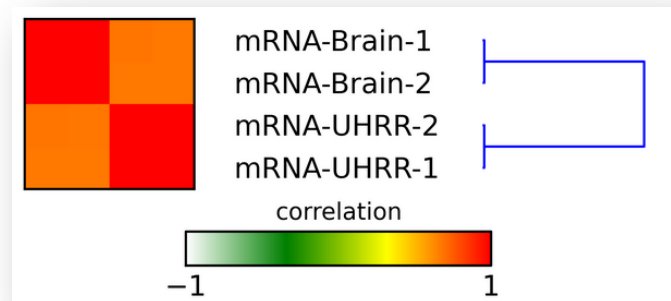


Transcriptome

トランスクリプトーム解析のための 4つのステップ



1. TopHat をラン
2. TopHat のQCを実施
 - 必要に応じてサンプルを排除
3. Cufflinks をラン
 - コントロールグループの選択
 - 比較グループの選択
4. グループ間を視覚化
 - 遺伝子発現の相関性



相関のヒートマップ



Log2比(1)、有意差(2)、遺伝子名(3)でフィルター
リストはcsvファイルで出力可

柔軟性のあるパワーをもたらす NextSeq 500システム

- ▶ プッシュボタンで操作する簡易性
 - 試薬カートリッジ、フローセル、バッファ
 - ラン後の洗浄も自動で実施
- ▶ ニーズに応じて選べる柔軟性の高い試薬キット
 - 高出力フローセル 25 ~ 120 Gb (3種類のキット)
 - 中出力フローセル 16 ~ 39 Gb (2種類のキット)
- ▶ SBSケミストリーに最新技術を搭載
 - 2色蛍光で迅速なラン
- ▶ 主なアプリケーションをトータルサポート
 - サンプルからデータ解析まで





illumina®



MiSeq



MiSeqDx



NextSeq



HiSeq



HiSeq X Ten