

イルミナウェビナー
NextSeq 500シリーズ

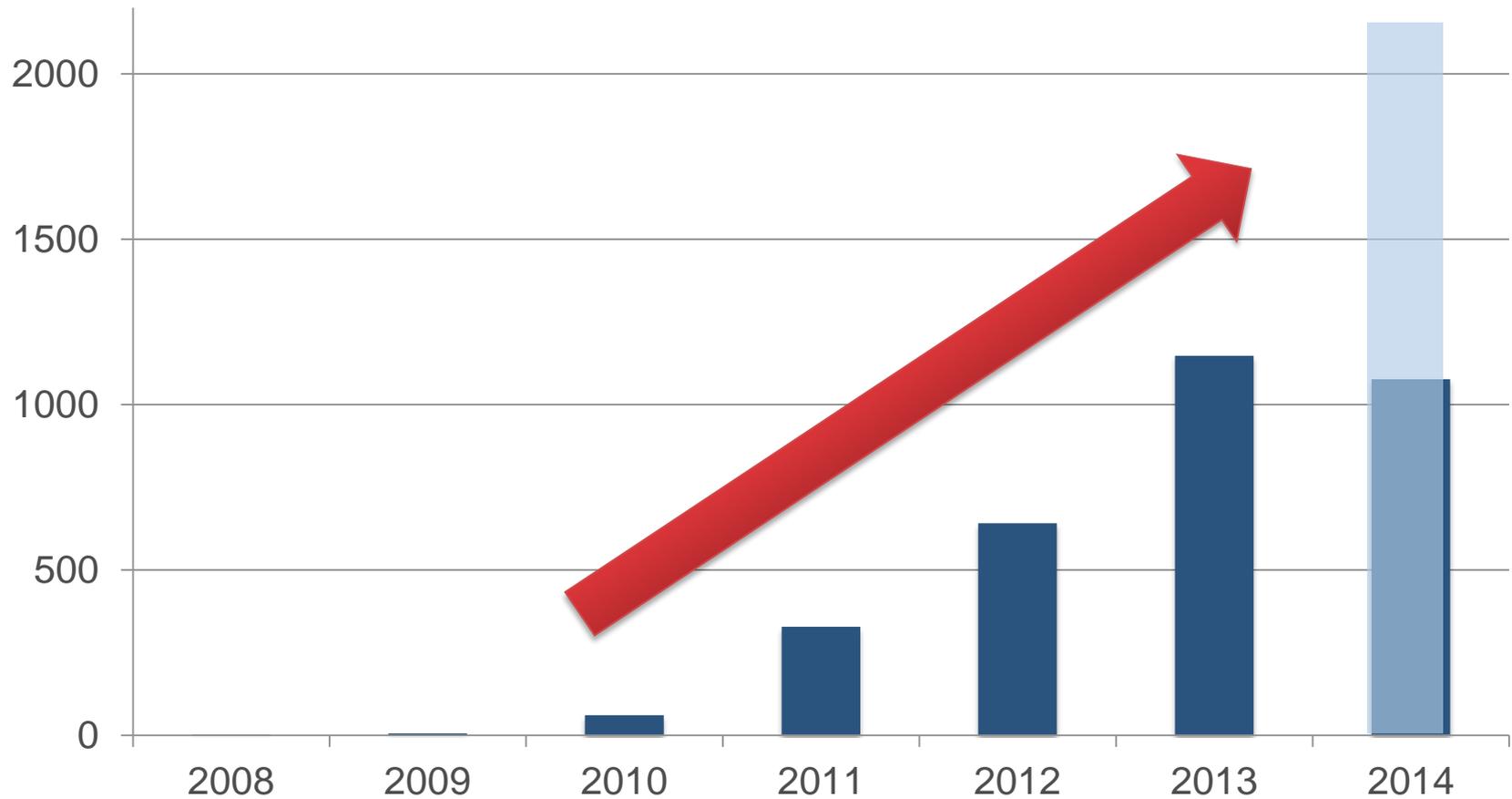
疾患研究にエクソーム解析を実現する 高速次世代シーケンサー NextSeq

2014年9月30日
イルミナ株式会社
シーケンシング
スペシャリスト
鈴木 健介





Exome論文数の推移



* NCBI Pubmed を Exome で検索した結果を年ごとに集計。

Exome論文 : NCBI Pubmed を検索

The screenshot shows the NCBI PubMed search results for the query 'exome'. The search was performed on the PubMed database, and the results are displayed in a list format. The search results are sorted by 'Recently Added' and show 3628 results. The first four results are displayed, each with a checkbox for selection, a title, authors, journal information, PMID, and a link to 'Related citations'.

NCBI Resources How To

PubMed.gov
US National Library of Medicine
National Institutes of Health

PubMed exome
RSS Save search Advanced

Show additional filters

Display Settings: Summary, 20 per page, Sorted by Recently Added Send to:

Article types
Clinical Trial
Review
More ...

Text availability
Abstract
Free full text
Full text

PubMed Commons
Reader comments

Publication dates
5 years
10 years
Custom range...

Species
Humans
Other Animals

Clear all

Show additional filters

Results: 1 to 20 of 3628 << First < Prev Page 1 of 182 Next > Last >>

[Functional Analysis of Variance for Association Studies.](#)
1. Vsevolozhskaya OA, Zaykin DV, Greenwood MC, Wei C, Lu Q.
PLoS One. 2014 Sep 22;9(9):e105074. doi: 10.1371/journal.pone.0105074. eCollection 2014.
PMID: 25244256 [PubMed - as supplied by publisher]
[Related citations](#)

[Deep sequencing reveals stepwise mutation acquisition in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria.](#)
2. Shen W, Clemente MJ, Hosono N, Yoshida K, Przychodzen B, Yoshizato T, Shiraiishi Y, Miyano S, Ogawa S, Maciejewski JP, Makishima H.
J Clin Invest. 2014 Sep 17. pii: 74747. doi: 10.1172/JCI74747. [Epub ahead of print]
PMID: 25244093 [PubMed - as supplied by publisher]
[Related citations](#)

[Mutations in ADAR1, IFIH1, and RNASEH2B Presenting As Spastic Paraplegia.](#)
3. Crow YJ, Zaki MS, Abdel-Hamid MS, Abdel-Salam G, Boespflug-Tanguy O, Cordeiro NJ, Gleeson JG, Gowrinathan NR, Laugel V, Renaldo F, Rodriguez D, Livingston JH, Rice GI.
Neuropediatrics. 2014 Sep 22. [Epub ahead of print]
PMID: 25243380 [PubMed - as supplied by publisher]
[Related citations](#)

[Exome sequencing identifies a novel homozygous variant in NDRG4 in a family with infantile myofibromatosis.](#)
4. Linhares ND, Freire MC, Cardenas RG, Pena HB, Bahia M, Pena SD.
Eur J Med Genet. 2014 Sep 17. pii: S1769-7212(14)00171-2. doi: 10.1016/j.ejmg.2014.08.010. [Epub ahead of print]
PMID: 25241110 [PubMed - as supplied by publisher]
[Related citations](#)

Exome論文：イルミナWebサイトを検索

http://www.illumina.co.jp/

The image shows a two-step process for navigating the Illumina website to search for Exome-related papers. In the first step, the user navigates to the 'サイエンス' (Science) section and then to the '論文データベース' (Paper Database). In the second step, the user filters the search results by selecting 'Genome' in the 'Application' dropdown and 'Exome' in the 'Product' dropdown.

1 サイエンス

2 論文データベース

3 Genome を選択

4 Exome を選択

SEARCH PUBLICATIONS

Author Name: Text: Year:

Application:

Product:

Market Segment:

SEARCH CLEAR

1 - 15 of 269 ... Next | # Results:

Germline and somatic SMARCA4 mutations characterize small cell carcinoma of the ovary, hypercalcemic type.

Witkowski L, Carrot-Zhang J, Albrecht S, Fahiminiya S, Hamel N, Tomiak E, Grynspan D, Saloustros E, Nadaf J, Rivera B, Gilpin C, Castelleagué E, Silva-Smith R, Plourde F, Wu M, Saskin A, Arseneault M, Karabakhtsian RG, Reilly EA, Ueland FR, Margiolaki A, Pavlakis K, Castellino SM, Lamovec J, Mackay HJ, Roth LM, Ulbright TM, Bender TA, Georgoulas V, Longy M, Berchuck A, Tischkowitz M, Nagel I, Siebert R, Stewart CJ, Arseneau J, McCluggage WG, Clarke BA, Riazalhosseini Y, Hasselblatt M, Majewski J, Foulkes WD

Nat Genet 46 438-43 2014

ABSTRACT +

ILLUMINA SUMMARY +

癌

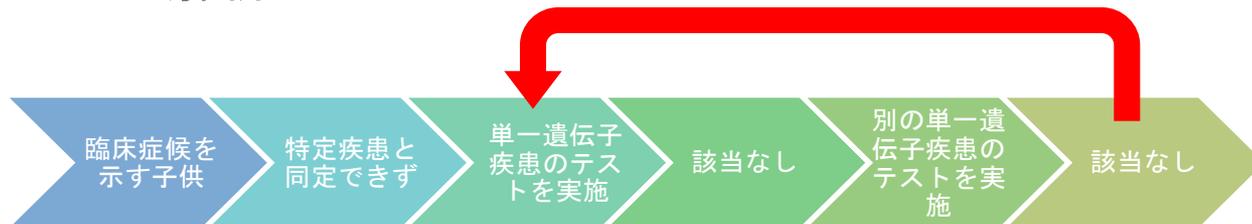
遺伝性疾患

臨床応用

集団規模の解析

原因不明症例の疾患原因遺伝子探索の比較

これまでの手法とエクソーム解析



▶ 現在のプロセス

- 疾患が同定できるまで、**繰り返し単一遺伝子疾患のテストを実施**

▶ 問題点

- 同定までに時間がかかる **～数ヶ月**



▶ 新しいプロセス

- **網羅的な遺伝子セットで解析**

▶ 利点

- **スピード (数ヶ月 > 1週間)**
- **コスト効率**
- **網羅性**

エクソーム解析を始める上での問題点

膨大なデータが出てくる。
解析には、専任の
バイオインフォマティシャン
が必要って聞くけど、
そのために人を雇うのは、、、

1回の解析に
ものすごいコストが
かかるって聞いたけど
ランニングできるんだろうか

どう使っていいのか
イマイチわからない

サンプル調製も大変らしい
導入したはいいけど
ハンドリングが大変なのは



エクソーム解析を始める上での問題点

膨大なデータが出てくる。
解析には、専任の
バイオ
が必要
そのた

1回の解析に

が
など
だろうか

NextSeq が
問題点を
劇的に解決

どう使っているかが
イマイチわからない

大変らしい
導入したはいいけど
ハンドリングが大変なのは

NextSeq 500 : デスクトップにゲノム解析のパワーを



NextSeq 500: What will you do next?



サンプルから答えまでのワークフロー

エクソーム
濃縮キット



50 ng
ゲノムDNA

ライブラリー
調製

シーケンス

一次解析

二次解析

エクソーム
解析
ワークフロー

1.5 日
(5 時間)

29 時間
(10 分)

5 時間 / サンプル
(5 分)

ライブラリー作製キット : Nextera Rapid Capture Exome

- ✓ 様々なサンプルサイズの実験に対応したキット (1,3,6,9,12)
- ✓ 酵素による断片化、物理的断片化装置不要
- ✓ 少量のゲノムDNA、わずか 50 ng から解析
- ✓ 効率化されたワークフロー、1.5日でライブラリー作製
- ✓ 低コスト
- ✓ キットからシーケンス、データ解析までイルミナトータルサポート

サンプル調製：選べるエクソームのキット

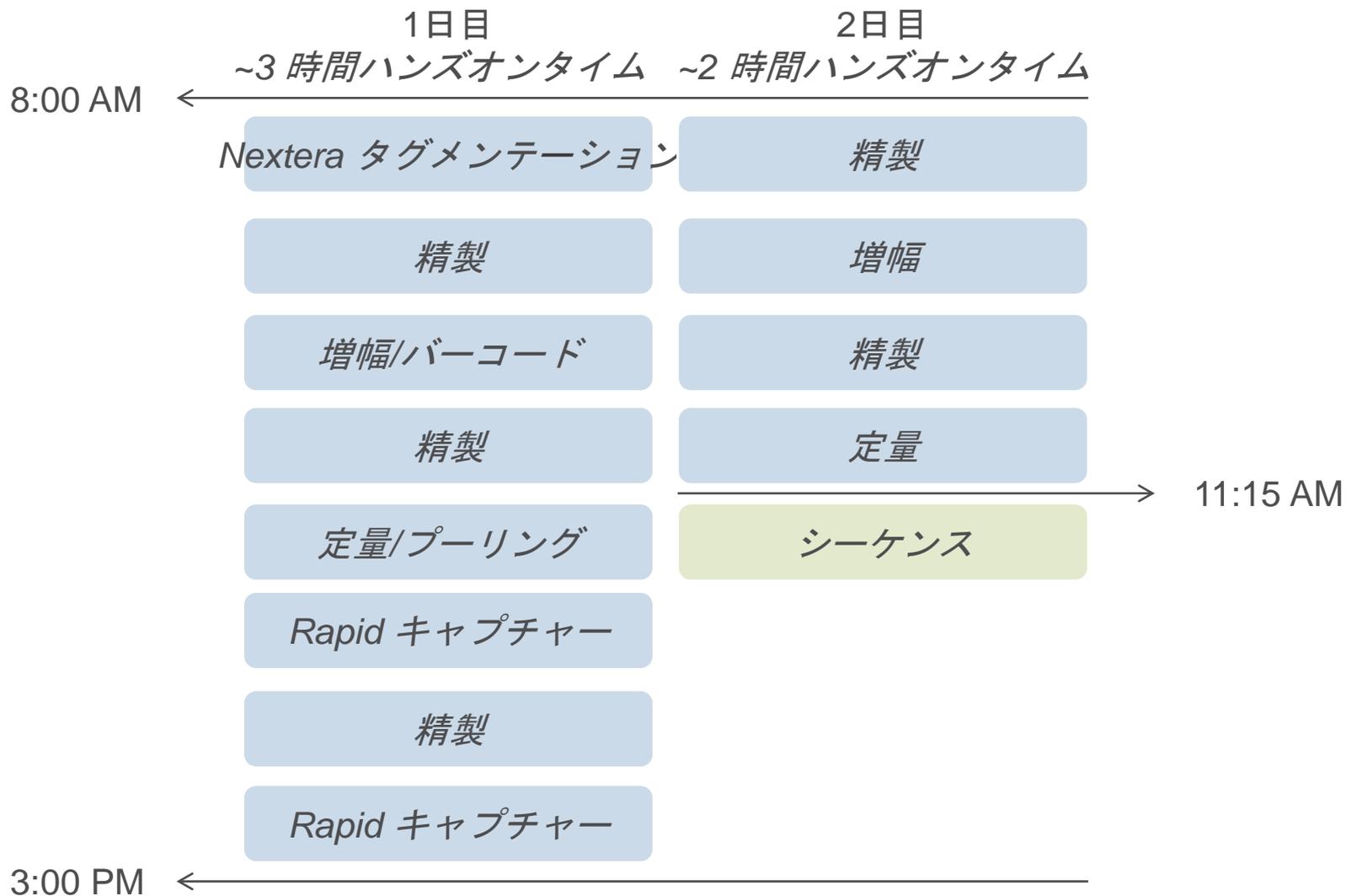


Exome

- ▶ 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	サンプルあたり
FC-140-1000	Nextera Rapid Capture Exome (8反応、1プレックス)	49,500 円
FC-140-1083	Nextera Rapid Capture Exome (8反応、3プレックス)	16,500 円
FC-140-1086	Nextera Rapid Capture Exome (8反応、6プレックス)	16,500 円
FC-140-1089	Nextera Rapid Capture Exome (8反応、9プレックス)	16,528 円
FC-140-1003	Nextera Rapid Capture Exome (8反応、12プレックス)	16,563 円

Nextera Rapid Capture Exome : ワークフロー



NextSeq 500システムの特徴

簡単な操作

5種類のラン試薬
2 から 12サンプル

低コスト

迅速
2色チャンネルのSBS



プッシュボタンで操作する簡易性



エクソーム解析コスト



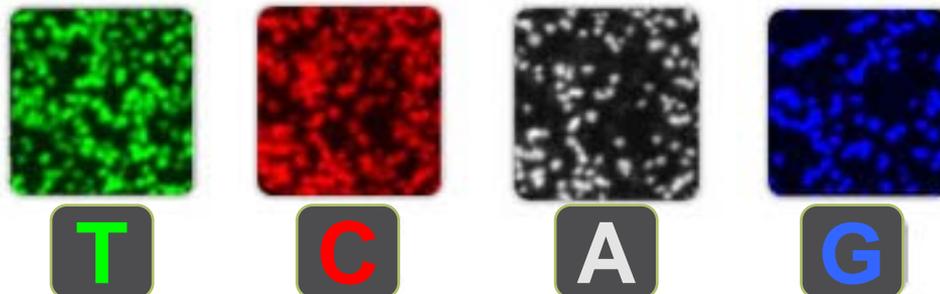
	中出力フローセル		高出力フローセル		
リード長	75bp x2	150bp x2	75 bp x1	75bp x2	150bp x2
クラスター数	1.3 億		4 億		
PEリード数	2.6 億		8 億		
データ量	20 Gb	40 Gb	30 Gb	60 Gb	120 Gb
ラン時間	15 時間	26 時間	11 時間	18 時間	29 時間
ラン価格	14.7 万円	23.4 万円	19.5 万円	37.5 万円	60 万円
エクソーム (サンプルあたりのラン試薬)	2 (73,500円)	4 (58,500円)	-	6 (62,500円)	12 (50,000円)
エクソーム (サンプルあたりの試薬合計)	2 (90,023円)	4 (75,023円)	-	6 (79,023円)	12 (66,563円)



NextSeq 500 システムのSBS : 2色チャンネル

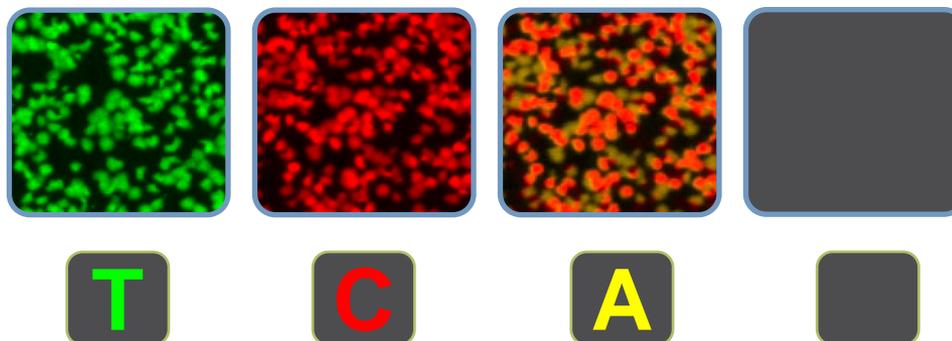
4色チャンネルのSBS

- 塩基ごとに4色設定
- 4イメージ必要
- HiSeq, MiSeq

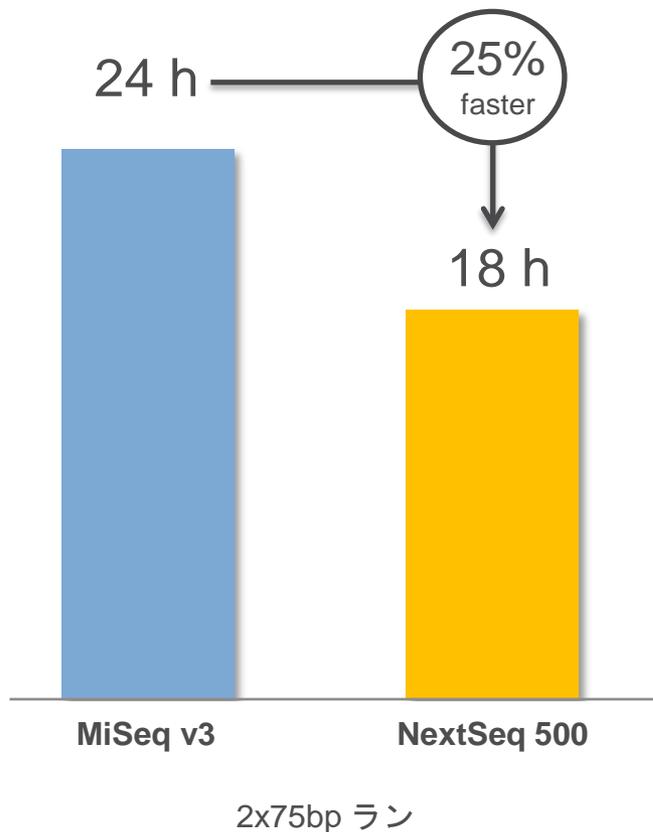


2色チャンネルのSBS

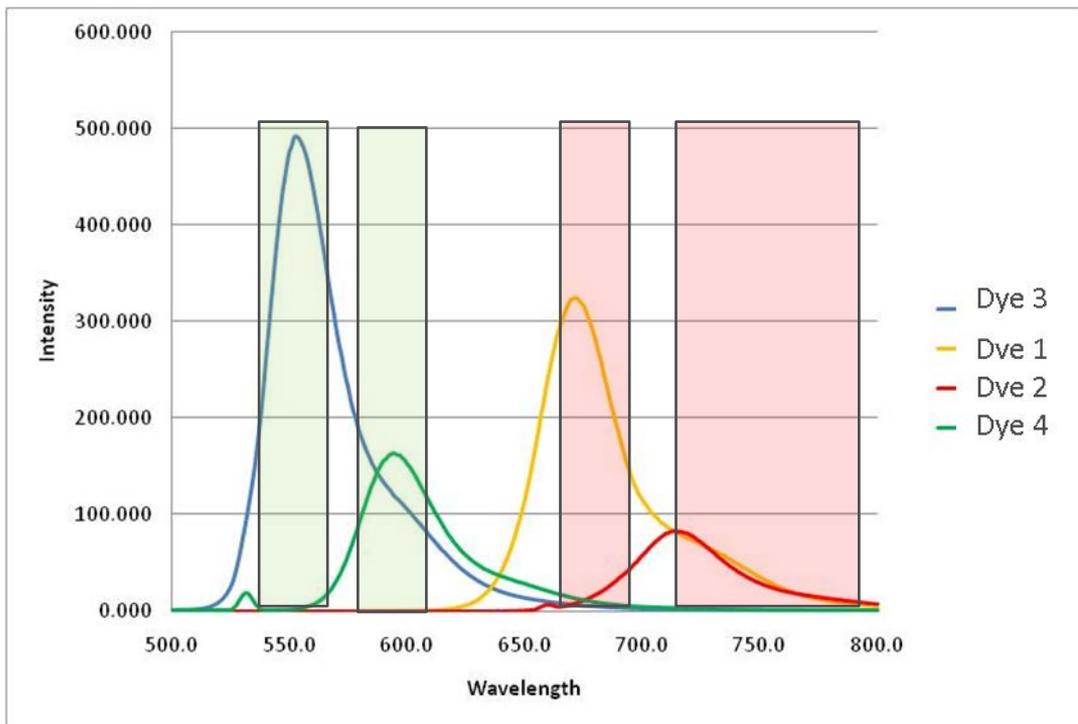
- 2色で4塩基を検出
- 2イメージのみ
(イメージ処理の短縮)
- NextSeq 500



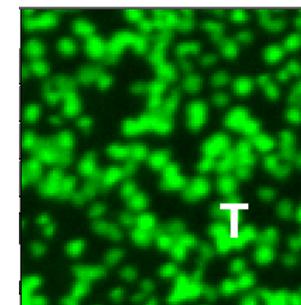
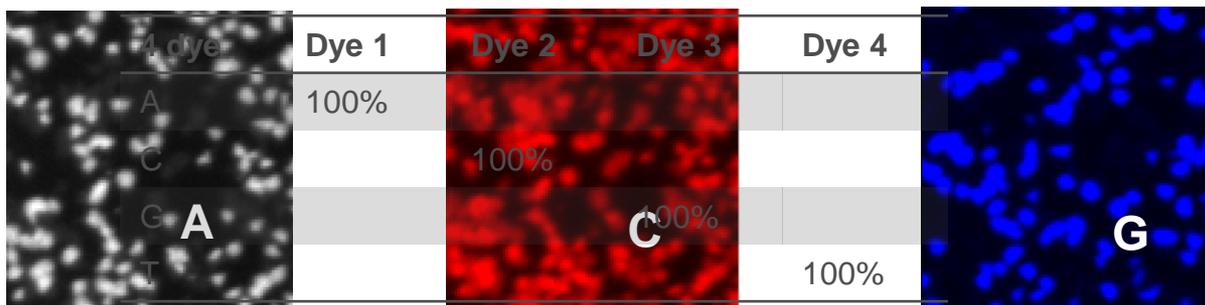
迅速：2色SBSケミストリー



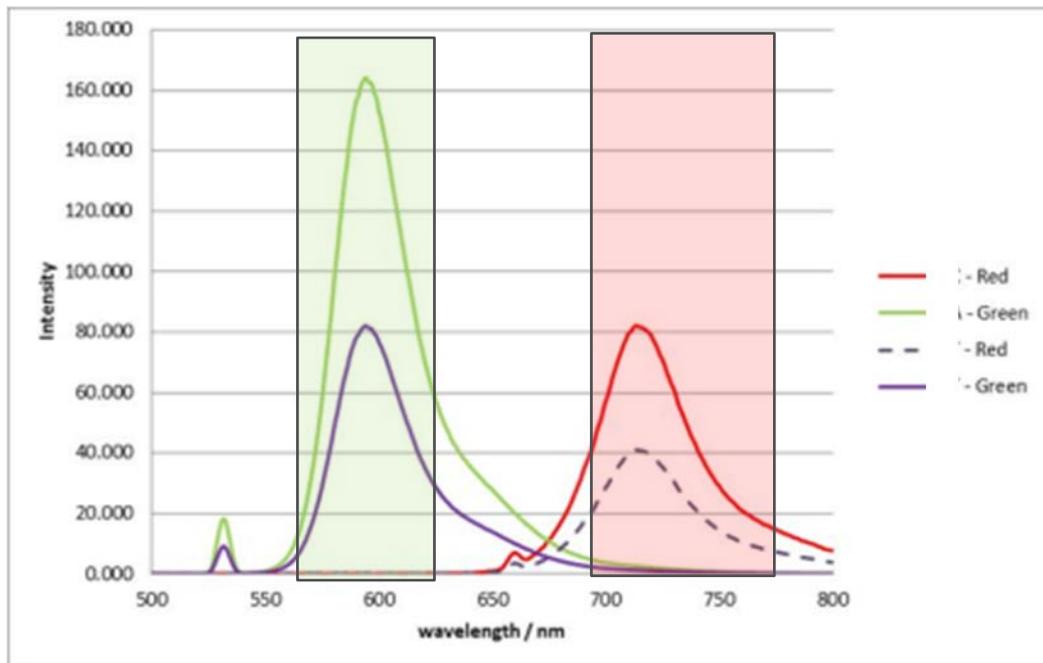
4色蛍光のSBSケミストリー



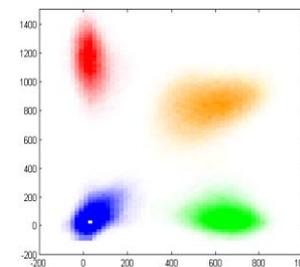
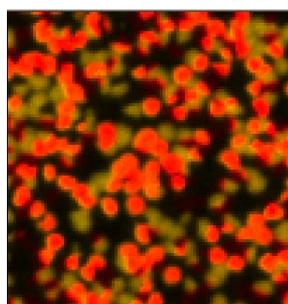
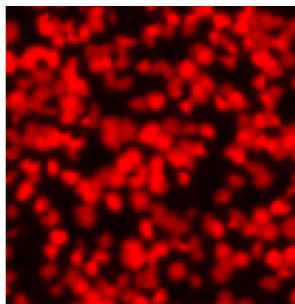
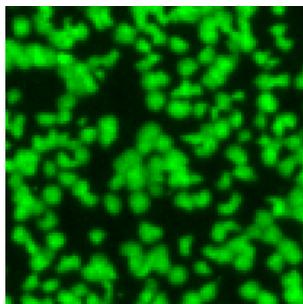
- ▶ 4種の塩基に異なる蛍光
- ▶ 4枚の画像の取得



2色蛍光

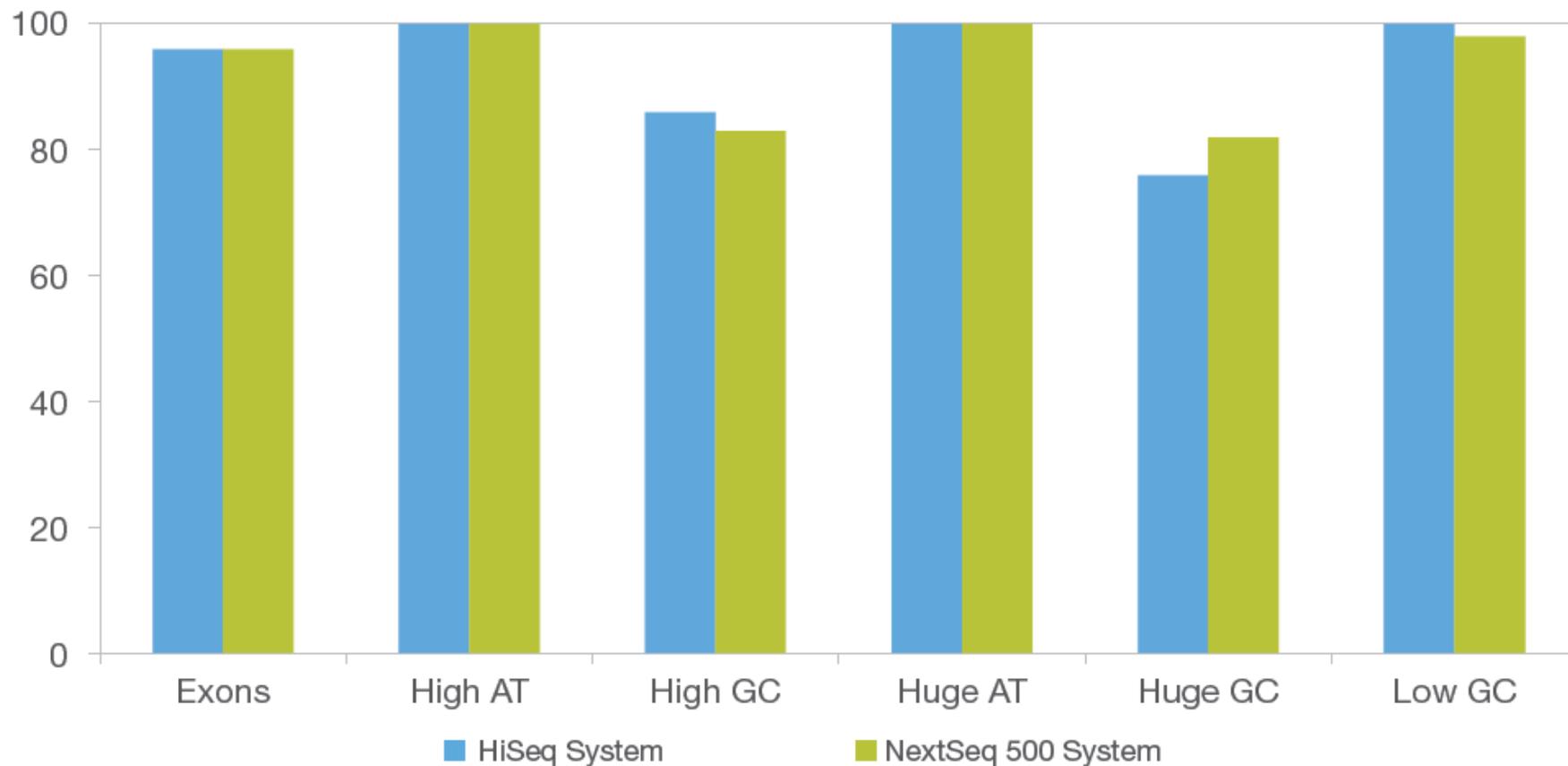


- ▶ 検出2枚の画像を取得
- ▶ 5サイクルで鋳型位置を特定
- ▶ 緑だけのクラスターは**T**
- ▶ 赤だけのクラスターは**C**
- ▶ 緑、赤両方の色のクラスターは**A**
- ▶ 緑、赤も検出されない **G**

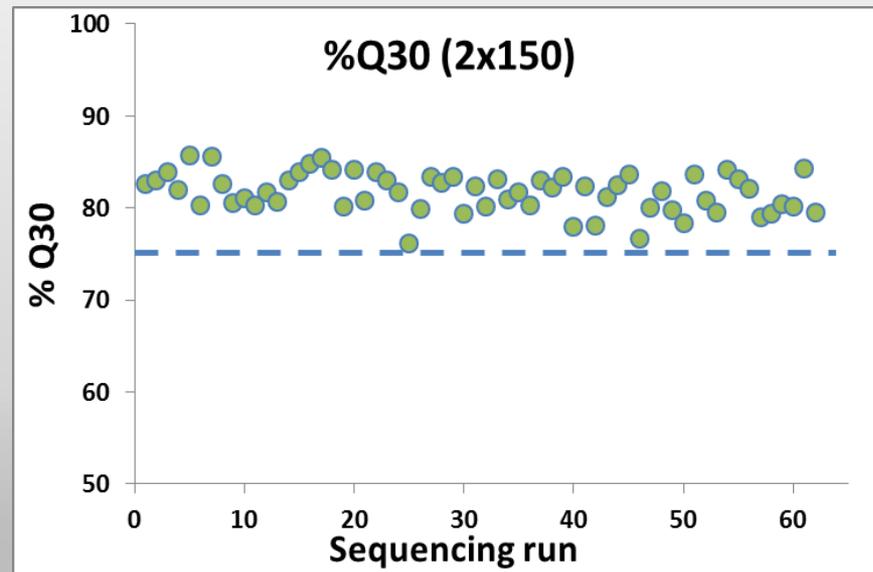
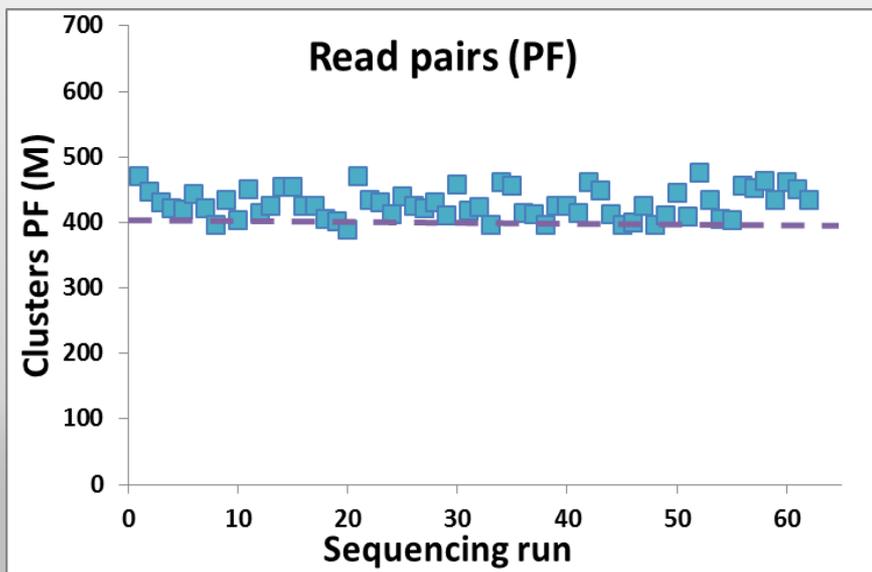


ゲノム領域ごとのデータ比較

- ▶ 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



標準的なテストランでのパフォーマンス



2x150, High Output FC, PhiX library

BaseSpace エクソーム解析レポート



Enrichment Sequencing Report

Aggregate Summary

Analysis Name: BWA Enrichment 08/17/2014 3:37:43
Report Date: 08/17/2014 23:30:53 (UTC)

© 2014 Illumina, Inc. All rights reserved.
BWA Enrichment, Version 1.0.0.1

Bam ファイル、
vcf ファイルを
ダウンロードして閲覧

Enrichment Sequencing Report



Sample Information

Sample	Sample ID	Sample Name
1	FCL_NA12878_01	FCL_NA12878_01
2	FCL_NA12878_04	FCL_NA12878_04
3	FCL_NA12878_07	FCL_NA12878_07
4	FCL_NA12878_10	FCL_NA12878_10
5	NA12878Rep1	NA12878Rep1
6	NA12878Rep2	NA12878Rep2
7	NA12878Rep3	NA12878Rep3

Enrichment Summary

Target Manifest	Total Length of Targeted Reference	Padding Size
Nextera Rapid Capture Exome v1.2	45,326,818 bp	150 bp

Note: All enrichment values are calculated without padding (sequence immediately upstream and downstream) unless otherwise stated.

Read Level Enrichment

Sample	Total Aligned Reads	Targeted Aligned Reads	Read Enrichment	Padded Target Aligned Reads	Padded Read Enrichment
1	62,912,089 (96.40%)	41,443,526	65.9%	44,322,678	70.5%
2	72,461,804 (96.40%)	46,759,602	64.5%	50,026,433	69.0%
3	73,903,825 (96.30%)	48,336,877	65.4%	51,495,426	69.7%
4	48,463,673 (96.40%)	31,330,720	64.6%	33,525,787	
5	79,812,917 (90.30%)	58,300,432	73.0%	61,218,349	
6	100,263,767 (90.00%)	75,650,897	75.5%	79,356,810	
7	71,241,977 (90.60%)	54,379,434	76.3%	56,926,076	

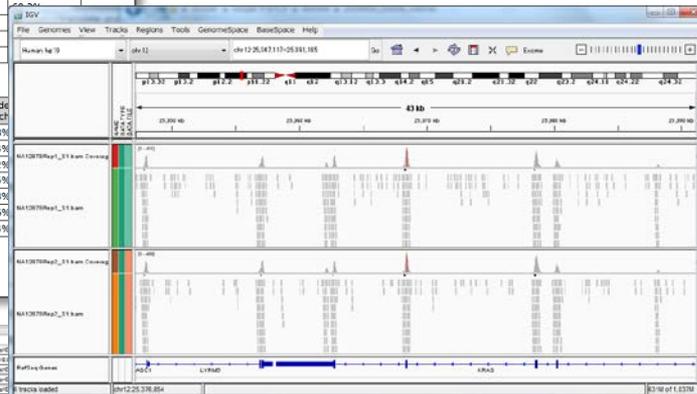
Base Level Enrichment

Sample	Total Aligned Bases	Targeted Aligned Bases	Base Enrichment	Padded Target Aligned Bases	Padded Base Enrichment
1	8,778,180,848	4,604,612,550	52.5%	6,129,808,014	69.8%
2	10,137,658,511	5,215,811,187	51.4%	6,933,679,293	68.4%
3	10,308,148,251	5,401,306,840	52.4%	7,130,400,646	69.2%
4	6,802,516,784	3,494,675,251	51.4%	4,662,144,913	68.5%
5	11,001,243,718	6,481,701,776	58.9%	8,389,576,986	76.3%
6	13,853,122,958	8,428,894,296	60.8%	10,890,176,045	78.6%
7	9,931,760,976	6,088,495,909	61.3%	7,885,137,829	79.4%

© 2014 Illumina, Inc. All rights reserved.
BWA Enrichment, Version 1.0.0.1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	
CHROM	POS	ID	REF	ALT	QUAL	FILTER	INFO	DP	AD	AS	AF	DP4	DP5	DP6	DP7	DP8	DP9	DP10	DP11	DP12	DP13	DP14	DP15	DP16	DP17	DP18	DP19	DP20	DP21	DP22
chr1	1000000		A	G	60	PASS		10	10	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
chr1	1000001		A	G	60	PASS		10	10	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
chr1	1000002		A	G	60	PASS		10	10	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
chr1	1000003		A	G	60	PASS		10	10	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
chr1	1000004		A	G	60	PASS		10	10	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
chr1	1000005		A	G	60	PASS		10	10	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
chr1	1000006		A	G	60	PASS		10	10	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
chr1	1000007		A	G	60	PASS		10	10	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
chr1	1000008		A	G	60	PASS		10	10	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
chr1	1000009		A	G	60	PASS		10	10	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
chr1	1000010		A	G	60	PASS		10	10	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
chr1	1000011		A	G	60	PASS		10	10	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
chr1	1000012		A	G	60	PASS		10	10	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
chr1	1000013		A	G	60	PASS		10	10	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
chr1	1000014		A	G	60	PASS		10	10	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
chr1	1000015		A	G	60	PASS		10	10	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
chr1	1000016		A	G	60	PASS		10	10	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
chr1	1000017		A	G	60	PASS		10	10	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
chr1	1000018		A	G	60	PASS		10	10	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
chr1	1000019		A	G	60	PASS		10	10	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
chr1	1000020		A	G	60	PASS		10	10	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
chr1	1000021		A	G	60	PASS		10	10	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
chr1	1000022		A	G	60	PASS		10	10	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
chr1	1000023		A	G	60	PASS		10	10	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
chr1	1000024		A	G	60	PASS		10	10	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
chr1	1000025		A	G	60	PASS		10	10	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
chr1	1000026		A	G	60	PASS		10	10	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
chr1	1000027		A	G	60	PASS		10	10	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
chr1	1000028		A	G	60	PASS		10	10	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
chr1	1000029		A	G	60	PASS		10	10	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
chr1	1000030		A	G	60	PASS		10	10	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

PDF形式の
レポート





イリミナ VariantStudio : ヒト変異解析のアノテーションツール

直感的な解析と解釈



洞察



- ゲノム上の変異位置
- アミノ酸置換を伴うか
- 既知の多型か
- 疾患関連DBに登録があるか

様々なDB

ClinVar

OMIM
Online Mendelian Inheritance in Man

Johns Hopkins University

Ve!P



COSMIC
Catalogue of somatic mutations in cancer

NHLBI
Exome Variant Server

Variant Studio : 直感的に扱えるユーザーインターフェース

The screenshot shows the Illumina Variant Studio interface. A purple callout box labeled 'メニューバー' (Menu Bar) points to the top navigation area. A green callout box labeled '遺伝子図' (Gene Map) points to the HOXA1 gene track on chromosome 7. A blue callout box labeled 'フィルター機能' (Filter Function) points to the left-hand filter sidebar. A red callout box labeled '転写産物情報' (Transcript Information) points to the expanded transcript table for the HOXA1 variant. A purple callout box labeled '多型 (変異) 情報' (Polymorphism (Variant) Information) points to the main variant data table.

Gene	Variant	Chr	Coordinate	Variant Length	Type	Genotype	Transcripts	Exonic	Filters	Quality	Alleles	Alt Variant Freq	Read Depth	Allelic Depths	db SNP ID
GABRG1	T>C/C	4	46086060	1	snv	hom	1	yes	PASS	1960.97	2	100.0	54	0	rs976156
KLHL3	C>C/A	5	136969833	1	snv	het	1	yes	LowVari...	64.47	1	17.5	154	127	
KLHL3	T>T/C	5	137028029	1	snv	het	1	yes	PASS	3025.2	1	41.7	228	133	rs2905608
NSD1	T>C/C	5	176721198	1	snv	hom	1	yes	PASS	9575.8	2	100.0	250	0	rs28580074
NSD1	G>G/C	5	176721272	1	snv	het	1	yes	PASS	3872.77	1	53.1	226	106	rs11740250
PDE10A	C>C/T	6	165832227	1	snv	het	1	yes	PASS	751.51	1	55.8	43	19	rs220740
HOXA1	C>C/T	7	27135314	1	snv	het	3	yes	PASS	2386.15	1	48.7	156	80	rs10951154
Transcript Information for HOXA1 variant:															
ID	Feature Type	Consequence	c DNA Position	CDS Position	Protein Position	Amino Acids	Codons	Exon	Intron	HGNC	Distance	Canonical			
NM_005522.4	Transcript	missense_variant	312	218	73	R,H	cGc/cAc	1/2		HOXA1		YES			
NR_038366.1	Transcript	upstream_gene_variant								HOTA...	399	YES			
NM_006735.3	Transcript	downstream_gene_va...								HOXA2	4659	YES			
PON3	C>C/T	7	95001555	1	snv	het	1	yes	PASS	1576.42	1	49.5	95	48	rs1053275
RELN	G>G/A	7	103202398	1	snv	het	1	yes	SB	72.41	1	30.4	23	16	
IMMP2L	G>G/A	7	111161417	1	snv	het	1	yes	SB	252.83	1	29.8	94	66	
MET	A>A/G	7	116397572	1	snv	het	1	yes	PASS	1700.91	1	41.3	138	81	
CNTNAP2	G>A/A	7	148106490	1	snv	hom	1	yes	PASS	1003.89	2	100.0	30	0	
DPP6	C>C/T	7	154429560	1	snv	het	1	yes	PASS	560.76	1	32.8	58	39	rs11245552

Filter History: Sample: Autism_12878 Genes, Variants: (51, 118) -> (51, 118) Filter progress

各項目の詳細は VariantStudio User Guide (英語) をご参照ください
http://support.illumina.com/downloads/variantstudio_userguide_15040890.ilmn

データはBaseSpaceでシェア！

basespace.illumina.com

The screenshot shows the BaseSpace Public Data interface. The browser address bar displays <https://basespace.illumina.com/datacentral>. The page title is "Public Data - BaseSpace". The navigation bar includes the BaseSpace logo, a search icon, a user profile for "SUZUKI K...", and the Illumina logo. A search bar labeled "Search Public Data" is positioned above the main content area.

The main content area is titled "Public Data" and lists several datasets, each with a "Resequencing" tag:

- [MISeq PhiX 2x151](#) (Resequencing)
- [MISeq B. cereus demo data](#) (Resequencing)
- [First Data Set from FastTrack Long Reads Early Access Service](#) (De Novo Assembly, Resequencing)
- [MISeq 2x250 PhiX and B. cereus Demo](#) (Resequencing)
- [Human datasets from TruSeq PCR-Free and TruSeq Nano Sample Prep Kits](#) (Resequencing)
- [HISeq 2500 2x150 Human Genome Demo](#) (Resequencing)
- [Concordance Between HISeq 2000 and HISeq 2500](#) (Resequencing)

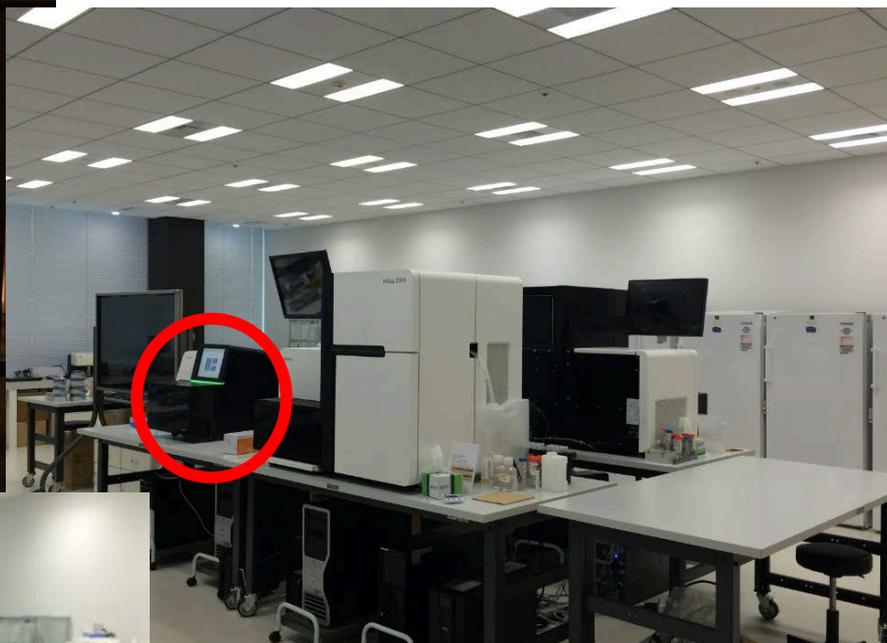
On the right side, there are two sections:

- Research Areas:** Cancer Research, Genetic Disease, Complex Disease, Microbial Research.
- Categories:** Exome, Resequencing, Small RNA, Targeted Sequencing, De Novo Assembly, RNA-Seq, Gene Fusion Detection, ChIP-Seq, Methyl-Seq, Metagenom, Tumor, Variant.

A vertical "contact us" button is located on the far right edge of the page.

NextSeq 500システム：実機はラボにて見学可能

RNA Seq トレーニングも実施中



ご清聴ありがとうございました

セッション中の注意

- ▶ 音声はミュートされています
- ▶ ご質問がある場合は、WebEx の Q&A にてご入力ください
- ▶ セッションの最後に確認して、回答します

The image shows a WebEx session interface. At the top, a control bar contains icons for '戻る' (Back), '音声プロ...' (Audio), '参加者' (Participants), 'チャット' (Chat), and 'Q&A'. The 'Q&A' icon is highlighted with a red box. Below the control bar, a green notification bubble reads 'Mio Tonouchiのアプリケーションを表示...'. The main content area displays a presentation slide with the following text:

イルミナオンラインセミナー
RNAシーケンスを始めよう！ セッション1 実験手法
トランスクリプトーム解析の今昔：
なぜマイクロアレイ？なぜRNAシーケンス？

2011年9月8日 16:00-16:45
イルミナ株式会社

illumina®

At the bottom right, a 'Q&A' window is open, showing a list of questions. The question '質問です。Nexteraの場合' is highlighted with a red box, and the '送信' (Send) button is also highlighted.