illumina®

NextSeq™ 500 システム エクソームシーケンスソリューション

高精度な変異コールが得られる、経済的で高いカバレッジのエクソームシーケンスソリューションを提供

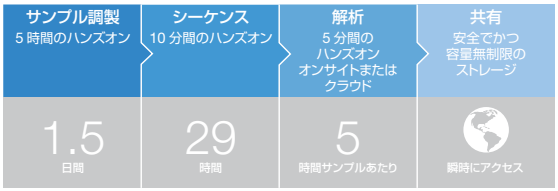
特長

- **サンプル調製からデータ取得までを迅速に行うエクソームソリューション**
  最短のハンズオン時間で簡便なワークフロー
- **均一なエクソームカバレッジ**
  解析困難な領域も、これまでより多くカバレッジが得られるためエクソーム解析が可能
- **データ解析を容易に**
  ローカルまたはクラウドで解析を行うソリューション
- **高精度な変異検出**
  コモン多型や稀な体細胞変異を確実に同定する高精度なコールと低い検出限界
- **イルミナのトータルサポート**
  イルミナのサイエンティストとエンジニアが、据付け、トレーニング、アプリケーションおよびデータ解析など、あらゆる段階でサポートを提供

はじめに

NextSeq 500 システムが提供するエクソームシーケンスソリューションでは、ゲノム上でタンパク質コーディング（エクソン）領域の解析が可能となり、集団遺伝学、遺伝的疾患、癌研究において効率的かつ経済的に変異を同定できます。またこのソリューションは、世界のエクソームシーケンスの 90% 以上を占める業界屈指のイルミナ次世代シーケンサー（NGS）テクノロジーを採用しており、真のコーディング領域における多型や変異を同定するための最高のデータ品質と精度をもたらします。NextSeq 500 システムのエクソームシーケンスソリューションの特長として、ライブラリー調製とエクソーム濃縮、ボタン操作によるシーケンスおよび簡便なデータ解析などがあります。NextSeq 500 システムのエクソームシーケンスソリューションは、ハンズオン時間を最短にした最も柔軟で包括的なツールであり、エクソームの情報がより迅速かつ効率的に得られます。

図 1：NextSeq 500 システム サンプル調製から結果取得までのエクソームシーケンスワークフロー



NextSeq 500 システムの簡便なワークフローによって、高精度なシーケンスデータを産出します。データ解析にアライメントと変異コールが含まれます。

簡便で効率的なエクソームシーケンスワークフロー

NextSeq 500 システムのエクソームシーケンスワークフローは、非常に簡素化しているため、研究者の生産性を最大限に高めることができます（図1）。このワークフローでは、まず、Nextera® Rapid Capture エクソームキットを用いてライブラリー調製およびエクソーム濃縮を実施します。その後、NextSeq 500 システムの 2 種類のシーケンス出力モードから適切なモードを選択することにより、研究者はエクソーム研究に幅を持たせることができます（ラン 1 回あたり 20、40、60 または 120Gb）。

ベースコールは NextSeq 500 システム上で実施され、データ解析（アライメントと変異コールを含む）は BaseSpace®（イルミナゲノミクスコンピューティング環境）で行うことができます（図 2）。

図 2：NextSeq 500 シーケンスシステム

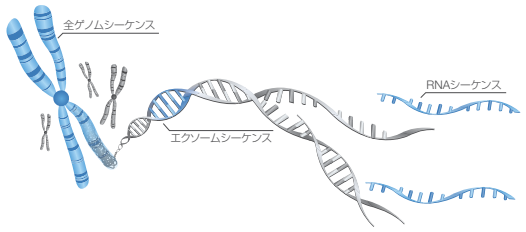
NextSeq 500 システムは、最先端の 1 塩基合成（SBS）ケミストリーと業界で最も簡便なワークフローを採用しています。

「真のコーディング変異」とは

真のコーディング変異は、コーディング領域内のコンセンサス配列と異なる正確なベースコールです。その変異は、偽陽性（変異がコールされたが、実際は存在しない場合）あるいは偽陰性（実際に存在するがコールされない場合）の可能性があります。偽陽性コール率の高いシステムは、下流解析において広範囲な検証が必要となるため、実験に多くのコストと時間がかかります。偽陰性コール率の高いシステムは、反復配列領域またはホモポリマーの連なる領域において、潜在的に重要な発見を見いだせない可能性があります。

NextSeq システムは、業界をリードするイルミナのシーケンステクノロジーを活用し、真のコーディング変異を最も多く検出します。

図 3：NextSeq 500 システム シーケンスアプリケーション



柔軟性のある NextSeq 500 システムにより、研究者は次のシーケンスアプリケーションへとスムーズに移行することができます。

BaseSpace は一般的なウェブブラウザを介してアクセスすることができ、また、直観的なインターフェースを採用しているので、研究者は、さまざまな市販またはオープンソースの DNA データ解析ソフトウェアツール群が利用可能なイルミナデータ解析用に設計されたエコシステムを利用することができます。

また、NextSeq 500 システムは、アプリケーション間の互換性が高いため、研究者は容易に次のシーケンスプロジェクトに移行できます（図 3）。このシステムは、業界で最も幅広いラインナップを提供するイルミナのライブラリー調製キットおよびサードパーティ品と完全な互換性があるため、イルミナのエクソームシーケンス、RNA-Seq シーケンスおよび全ゲノムシーケンス（WGS）の間で容易に移行できます。例えばエクソームシーケンスとトランスクリプトームシーケンス（RNA-Seq）を組合せて、同定された変異が転写物の発現量を変化させるかどうかを評価することや、WGS でコーディング領域以外の領域にも研究を広げることができます。イルミナのカスタム化が可能な幅広いターゲットリシーケンスソリューションを利用して、さまざまなアプリケーションで発見された変異を検証することもできます。

統合したライブラリー調製とエクソーム濃縮

Nextera Rapid Capture エクソームキットは、ライブラリー調製とエクソーム濃縮を統合しているため、真のコーディング変異を迅速に同定できます。これらのキットは、必要サンプル量がわずか 50ng で包括的なエクソームカバレッジを実現しているため、貴重な DNA サンプルを利用しやすくする一方で、高いカバレッジ均一性と濃縮率が得られます。高い感度は、低頻度の変異の検出を可能とし、生殖系列変異と稀な体細胞変異を確実に同定します。1 ～ 96 サンプルのエクソームのライブラリー調製と濃縮は、機械的な断片化を必要としないため、5 時間未満のハンズオンで、僅か 1.5 日で達成します。

研究者は、2 種類のNextera Rapid Capture コンテンツのどちらかを選択してエクソームシーケンス研究を始めることができます。最も効率的なエクソーム研究のため、Nextera Rapid Capture エクソームキットは、専門家が選んだ37Mb のエクソンコンテンツを提供します（表1）。コーディング変異と制御領域の両方を検証したい場合、Nextera Rapid Capture 拡張エクソームキットは完全なソリューションです。このキットは、エクソン、5’ および 3’ 末端非翻訳領域（UTR）、マイクロRNA および他のコーディング領域など、62Mb のコンテンツを提供します。Nextera Rapid Capture エクソームにアドオンのコンテンツを補うことにより、エクソームに加えて、関心のある付加的な領域のデータを得ることができます。オープンプラットフォームな NextSeq 500 システムは、

表 1：Nextera Rapid Capture キットにより、包括的なカバレッジが得られます。

	Nextera Rapid Capture エクソーム	Nextera Rapid Capture 拡張エクソーム
カバレッジ仕様		
ターゲットサイズ	37Mb	62Mb
ターゲットエクソン数	214,405	201,121
エクソームカバー率（データベースによる）		
Refseq	98.3%	95.3%
CCDS	98.6%	96.0%
ENSEMBL	97.8%	90.6%
GENCODE v12	98.1%	91.6%

サードパーティが開発したライブラリー調製キットおよび濃縮キットに対応可能です。

真の変異コールが得られます

真の変異コールの取得には、高品質なライブラリー調製や濃縮はもちろん、高い精度のシーケンスが重要となります。NextSeq 500 システムはイルミナシーケンステクノロジーを活用しており、リード長 150bp × 2 の場合、75% を超える塩基配列について Q30* 超という業界屈指のシーケンス精度が得られます。またこのシステムは、最も解析困難な領域（GC 含有の多い領域、ホモポリマー）もシーケンスすることができ、他の高スループットのデスクトップ型シーケンサーよりも高い割合で真のコード変異を検出します。その低い偽陽性率および偽陰性率は、下流解析で行う検証の時間とコストを大幅に抑えます。NextSeq 500 システムは、最高のデータ品質が得られ、エクソームの有用性を十分に引き出す最善のシーケンスシステムです。

* Q30 = 1,000 ベースコールあたり 1 エラー、または 99.9% の精度

NextSeq 500 システムの簡便なワークフローは、エクソームシーケンスを簡略化します。試薬キットをロードしてから、システムを開始するまで 20 分もかかりません。シーケンスが完了するまでの時間は、最も高い出力モードでペアエンドリード長 75bp を

表 2：イルミナエクソームシーケンスソリューション

イルミナ シーケンスシステム	リード長	ラン 1 回 あたりの エクソーム数	20×以上の カバレッジ深度 での塩基（%）
MiSeq システム	2 × 150bp	1	91%
NextSeq 500 システム 中出力フローセル（130M）	2 × 150bp	3	94%
高出力フローセル（400M）	2 × 75bp	6	90%
	2 × 150bp	9	94%
HiSeq 2500 システム ラピッドランモード	2 × 100bp	24	90%
高出力モード	2 × 125bp	96	85%

用いた場合、最大9 サンプルでわずか18 時間であり、またリード長150bp × 2 を用いた場合、より高いカバレッジのエクソームシーケンスで 29 時間です。柔軟性と拡張性のある NextSeq 500 システムは、2 種類のシーケンス出力モード、複数の試薬キット構成（3 ～ 12 のプーリング量）、および幅広いサンプル量を扱える能力を備えているため、エクソーム研究を容易に調整、最適化することができます。

NextSeq 500 システムは、イルミナの業界をリードする合成化学によるシーケンスに基づいているため、得られたデータと他のイルミナシステムで行われた研究のデータを比較・統合できます。例えば、NextSeq 500 システムが産出したエクソームシーケンスデータを、イルミナ MiSeq® システムを用いてより多くのターゲットパネルで行ったフォローアップ研究のデータ、またはイルミナ HiSeq® システムを用いて行った大規模エクソームシーケンス研究のデータと統合することができます（表 2）。

図 4：NextSeq 500 システムのデータ保存と解析 BaseSpace クラウドにおけるデータ

NextSeq 500 システムデータは、確実かつスムーズに BaseSpace クラウドにアップロードでき、解析および保存が迅速かつ経済的に行えます。

BaseSpace における簡便なバイオインフォマティックス

イルミナは、典型的なインフォマティックスが持つ複雑なワークフローの多くを削減しました。NextSeq 500 システムで得られた塩基情報は、BaseSpace（クラウドまたはオンサイト）に迅速かつ安全に転送、解析および保存され、アノテーションされた変異情報を 1 サンプルあたり 5 時間未満で得られます。NextBio（イルミナ社）の解析ツールを用いれば、変異情報にアノテーションを付け、フィルターをかけることができます。同様に、他の分子的データや表現型データとしてゲノムデータを統合・解析することが可能です。研究者は、業界標準の BWA/GATK または迅速かつ正確なイルミナ Isaac パイプライン [1] を用いて、DNA データを解析できます。カバレッジに関する統計情報、アノテーションされた SNP、Indel などの解析結果が、直観的で容易に解釈できるレポートとして提示されます（図 4）。

BaseSpace 環境には、BaseSpace アプリが含まれます。これは、可視化、解析および共有のためのソフトウェアソリューションのためのコミュニティで、現在も拡大を続けています。イルミナ NGS テクノロジーは最も確立され、広く採用されているシーケンスソリューションであるため、研究者は最も豊富なシーケンス解析ソフトウェアを利用することができます。BaseSpace は、その直観的なユーザーインターフェースと、様々なサードパーティのツールやアプリを集約したエコシステムを通じて、既知の疾患変異を迅速に確認することができます。

まとめ

NextSeq 500 システムのエクソームシーケンスソリューションは、高精度なデータを産出することで、最も簡便かつ信頼できるエクソームシーケンス手法を研究者に提供し、真のコーディング領域における変異の同定を可能にします。効率的なワークフロー、均一なエクソームカバレッジ、および柔軟性のあるサンプル量により、より多くのエクソームデータが効率的かつ高精度に得られます。迅速なライブラリー調製と濃縮、業界をリードするシーケンス精度、および簡単なデータ解析により、正しいエクソーム変異をコールし、研究を促進させることができます。

詳細情報

次なる革新的エクソームシーケンスの詳細については、www.illuminakk.co.jp/applications/sequencing/dna_sequencing/exome-sequencing.ilmn をご覧ください。

NextSeq 500 システム性能パラメータ †

フローセル構成	リード長（bp）	出力（Gb）	ラン所要時間	データ品質	必要なサンプル量
高出力フローセル シングルリードで最高 400M ペアエンドリードで最高 800M	2 × 150	100–120	29 時間	Q30 以上の塩基が 75% 以上	Nextera Rapid Capture エクソームキットを用いた場合、50ng。
	2 × 75	50–60	18 時間	Q30 以上の塩基が 80% 以上	
	1 × 75	25–30	11 時間	Q30 以上の塩基が 80% 以上	
中出力フローセル シングルリードで最高 130M ペアエンドリードで最高 260M	2 × 150	32.5–39	26 時間	Q30 以上の塩基が 75% 以上	
	2 × 75	16.25–19.5	15 時間	Q30 以上の塩基が 80% 以上	

† 全所要時間は、NextSeq 500 システムでのクラスター形成、シーケンスおよびベースコールを含みます。インストール仕様は、サポートされたクラスター濃度（フィルター通過した 129 ～ 165k/mm^2 のクラスター）におけるイルミナ PhiX コントロールライブラリーを基にしています。実際の性能パラメータは、サンプルタイプ、サンプル品質およびフィルター通過したクラスターを基に変わることがあります。Q30 を超えるベースの割合（%）は、ラン全体にわたる平均値です。

参考文献

1. http://bioinformatics.oxfordjournals.org/content/early/2013/06/04/bioinformatics.btt314

サンプル調製キット製品情報

製品名	カタログ番号
Nextera Rapid Capture Exome（8rxn × 1plex）	FC-140-1000
Nextera Rapid Capture Exome（2rxn × 12plex）	FC-140-1001
Nextera Rapid Capture Exome（4rxn × 12plex）	FC-140-1002
Nextera Rapid Capture Exome（8rxn × 12plex）	FC-140-1003
Nextera Rapid Capture Exome（8rxn × 3plex）	FC-140-1083
Nextera Rapid Capture Exome（8rxn × 6plex）	FC-140-1086
Nextera Rapid Capture Exome（8rxn × 9plex）	FC-140-1089
Nextera Rapid Capture Expanded Exome（2rxn × 12plex）	FC-140-1004
Nextera Rapid Capture Expanded Exome（4rxn × 12plex）	FC-140-1005
Nextara Rapid Capture Expanded Exome（8rxn × 12plex）	FC-140-1006

製品情報

製品名	カタログ番号
NextSeq 500 シーケンスシステム	SY-415-1001
出力キット製品名	
NextSeq 500 Mid Output Kit（150cycles）	FC-404-1001
NextSeq 500 Mid Output Kit（300cycles）	FC-404-1003
NextSeq 500 High Output Kit（75cycles）	FC-404-1005
NextSeq 500 High Output Kit（150cycles）	FC-404-1002
NextSeq 500 High Output Kit（300cycles）	FC-404-1004
NextSeq 500 Mid Output Kit v2（150cycles）	FC-404-2001
NextSeq 500 Mid Output Kit v2（300cycles）	FC-404-2003
NextSeq 500 High Output Kit v2（75cycles）	FC-404-2005
NextSeq 500 High Output Kit v2（150cycles）	FC-404-2002
NextSeq 500 High Output Kit v2（300cycles）	FC-404-2004

NextSeq 500 システム仕様

装置の構成
RFID トラッキング機能付きの試薬消耗品

装置コントロールコンピューター（内蔵）§
ベースユニット：Dual Intel Xeon E5-2448L 1.8GHz CPU
メモリー：96GB RAM
ハードドライブ：750GB
オペレーションシステム：Windows 7 標準
§ コンピューターの仕様は更新されることがあります。

動作環境
温度：19℃～ 25℃（22℃ ± 3℃）
湿度：20% ～ 80%（相対湿度）、結露なきこと
高度：2,000m（6,500ft）以下
空気質：汚染度評価 II
換気：最大 2,048 BTU ／時（600W）
屋内で使用のこと

発光ダイオード（LED）
520NM、650NM；レーザーダイオード：780NM、クラス IIIB

寸法
幅 × 奥行き × 高さ：58.5cm × 53.4cm × 63.5cm
（23.0in × 21.0in × 25in）
重量：83kg（183lbs）
木箱重量：151.5kg（334lbs）

所要電力
100 ～ 120VAC 15A

無線自動識別装置（RFID）
周波数：13.56MHz
電源：供給電流 120mA、RF 出力 200mW

製品安全性および準拠
NRTL 認証 IEC 61010-1
CE マーク
FCC/IC 認証

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
www.illuminakk.co.jp
www.facebook.com/illuminakk

代理店

本製品の使用目的は研究に限定されます。 販売条件：www.illuminakk.co.jp/tc
© 2015 Illumina, Inc. All rights reserved.
Illumina, IlluminaDx, BaseSpace, BeadArray, BeadXpress, cBot, CSPro, DASL, Design Studio, GAIIx, Genetic Energy, Genome Analyzer, GenomeStudio, GoldenGate, HiScan, HiSeq, Infinium, iSelect, MiSeq, Nextera, NextSeq, NuPCR, SeqMonitor, Solexa, TruSeq, TruSight, VeraCode, the pumpkin orange color, the Genetic Energy streaming bases design は、Illumina, Inc. の商標または登録商標です。
その他の会社名や商品名は、各社の商標または登録商標です。予告なしに仕様および価格を変更する場合があります。

Pub. No. 770-2013-J047 20FEB2015

illumina®