

# NextSeq™ 2000 RNA-Seqソリューション

生物学を深く理解するためにRNA転写産物の変化をコスト効率よく評価できます。

## 特長

- **統合された、効率的なNGSソリューション**  
迅速なライブラリー調製、タッチパネル式のシーケンス、簡単で使いやすいデータ解析オプションがもたらすワークフロー
- **革新的なライブラリー調製**  
ライブラリー調製製品によって、トランスクリプトームワイドな解析が可能になり、生物種、サンプルタイプ、インプット量に柔軟に対応
- **柔軟性のある、拡張可能なシーケンスシステム**  
2種類の出力モード間の切り替えが可能であり、複数のリード長が幅広いプロジェクトのニーズをサポート
- **完全なイルミナのテクニカルサポート**  
イルミナのサイエンティストとエンジニアがシステムの据付け、トレーニングを行い、ライブラリー調製からデータ解析までの全ワークフローをサポート



図2: NextSeq 2000シーケンスシステム: NextSeq 2000シーケンスシステムは、最新のSBSケミストリーの進化を活用し、シーケンシングワークフローを効率化します。

## はじめに

NextSeq 2000 RNAシーケンス(RNA-Seq)ソリューションにより、トランスクリプトームについての明確で完全な理解が実現し、これまでになく利用しやすくなっています。本ソリューションは、業界をリードするイルミナの次世代シーケンサー(NGS)テクノロジー<sup>1</sup>である進化した最新のSequence by Synthesis(SBS)ケミストリーを使用し、幅広いライブラリー調製ソリューション、およびデータ解析ツールと共に、効率化したワークフローを提供します(図1)。NextSeq 2000シーケンスシステム(図2)の柔軟性と拡張可能性により、さまざまなサンプル量を効率的に処理するように調整することが可能です。シーケンスにかかる予算とサンプルスルーの最適なバランスを確保するために、NextSeq 2000 RNA-Seqソリューションは、基本的な遺伝子発現プロファイリングから全トランスクリプトーム解析まで、さまざまなRNAアプリケーションをサポートします。

## RNA-Seqの利点

RNA-Seqから、特定の時点でのトランスクリプトームの詳細なスナップショットが得られるため、この手法を選択する研究者が増え続けています。これには、定量的PCRと比べて次のような多くの利点があります。

- 仮説を必要としない実験デザインにより、トランスクリプトームに関する既知の知見が不要
- 高い検出力により、既知と新規の転写産物を検出
- ハイスループレット機能により、各アッセイで数百~数千の領域を定量化
- より広いダイナミックレンジで、さらに高精度な遺伝子発現の評価が可能
- アッセイあたりのデータの増加により、完全な配列とバリエーション情報を取得

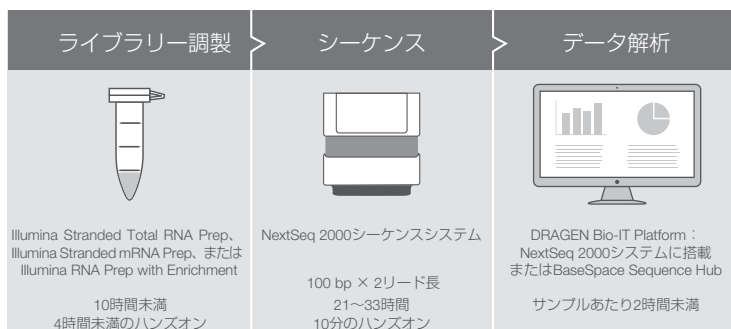


図1: NextSeq 2000 RNA-Seqワークフロー: NextSeq 2000 シーケンスシステムは、簡便で、統合されたNGSワークフローの一部であり、高い精度のRNAシーケンスデータを提供します。時間は実験およびアッセイタイプにより異なります。

## 統合されたNGSワークフロー

NextSeq 2000シーケンスシステムは、広範囲なライブラリー調製製品に対応し、幅広いトランスクリプトーム研究のニーズに応えます。研究者はさまざまなライブラリー調製キットを選択できるため、実験のニーズに最も合うものを見つけることができ、低品質なインプットRNAや、限られたサンプル量などのよくある問題に対処しやすくなります。

### illumina RNAライブラリー調製の特長

RNAライブラリー調製キットのポートフォリオの優位性により、研究者が必要とする高品質なデータを提供し、1回の標準的な作業シフト内で効率化したワークフローを完了することができます。イルミナでは3種類のRNAライブラリー調製キットをご提供しています。

- **Illumina Stranded mRNA Prep**は、コーディングRNAに特化した解析のためにコスト効率のよいオプションを提供いたします。
- **Illumina Stranded Total RNA Prep**では、Ribo-Zero™ Plusを用いて全トランスクリプトーム解析を行うことができ、コーディングRNAと複数の形態のノンコーディングRNAを捕捉し、包括的な生物学的理解を得ることができます。また、Illumina Stranded Total RNA Prepでは、低品質な、ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) サンプルでも卓越した性能を発揮します。
- **Illumina RNA Prep with Enrichment**は、ビーズ結合トランスソーム (BLT) テクノロジーをRNA-Seqに採用しており、最小の操作時間 (2時間未満) により、1日でRNA濃縮ワークフローが行えます。NextSeq 2000シーケンスシステムなど、イルミナのシーケンスシステムでシーケンスを行った場合、得られたnon-stranded RNAデータより、膨大な数のゲノム位置から貴重な洞察が得られます。

BaseSpace™ Clarity LIMSのユーザーの場合、Illumina Stranded mRNA Prep、Illumina Stranded Total RNA Prep、およびIllumina RNA Prep with Enrichmentに対する新しい事前設定されたプロトコルが利用可能であり、NextSeq 2000シーケンスシステムで使用できます。

### NextSeq 2000シーケンスシステム

NextSeq 2000シーケンスシステムは、あらゆるトランスクリプトーム解析のニーズに取り組むための能力と多用途性を備えています。2種類のシーケンス出力モードが使用でき、研究者はサンプル数とサンプルあたりのリード数との最適なバランスを選択することができます (表1)。例えば、遺伝子発現プロファイリング (既知の特性中の遺伝子レベルの存在量の測定) は、1回のランで最大40サンプル\*を用いたハイスループットキャパシティで効率的

\* 発現プロファイリングは、サンプルあたり1,000万リードと仮定しています。

表1: NextSeq 2000パフォーマンスパラメーター

フローセル設定	リード長(bp)	データ出力 (Gb)	ランタイム	データ品質	必要なインプット量
P2フローセル 最大4億リード	150 × 2	120	29時間	150 bp × 2で塩基の75%以上 がQ30	イルミナRNA Prepの場合 10 ng~1 µg
	100 × 2	80	21時間		
	50 × 2	40	13時間		
P3フローセル 最大10億リード	150 × 2	300	48時間	150 bp × 2で塩基の75%以上 がQ30	イルミナRNA Prepの場合 10 ng~1 µg
	100 × 2	200	33時間		
	50 × 2	100	19時間		

時間はNextSeq 2000システム上で実施するクラスター形成、シーケンス、ベースコーリングを含みます。実際のパフォーマンスパラメーターは、サンプルタイプ、サンプルクオリティ、パスフィルタークラスターに依存します。Q30以上の塩基の割合は、そのラン全体の平均値です。

に実行することができます。全トランスクリプトーム解析では、ランあたり最大8サンプルでコーディングRNAおよびノンコーディングRNAを検証することによって、新規の特性を発見することが可能になります。また、ランあたり最大16サンプルでコーディングRNAを解析することも可能です (表2)。

NextSeq 2000シーケンスシステムでは、アプリケーション間の柔軟性があるため、シーケンスプロジェクト間を簡単に移行することができます (図3)。本システムは、イルミナおよび他社製の幅広いライブラリー調製キットに適合しており、RNA-Seq、シングルセルRNA-Seq、エクソームシーケンス、その他のアプリケーション間を簡単に移行することが可能です。例えば、NextSeq 2000シーケンスシステム上でRNA-Seqとエクソームシーケンスとを組み合わせ、コーディングバリエーションが転写産物の発現に影響を及ぼすかについて評価したり、ATAC-Seqを実施してクロマチンアクセシビリティを解析し、機能的な制御をよりよく評価することができます。

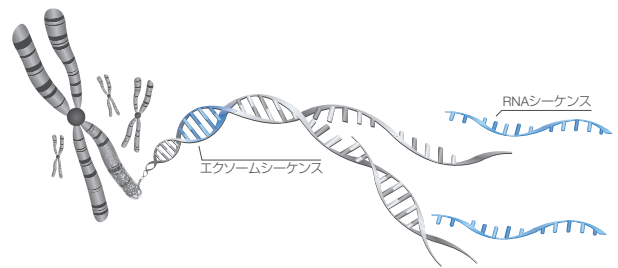


図3: NextSeq 2000シーケンスのアプリケーション: NextSeq 2000シーケンスシステムにより、研究者はアプリケーション間をシームレスに移行して、研究を進めることができます。

### 業界をリードするSBSのリード品質

NextSeq 2000シーケンスシステムは、あらゆるデスクトップ型シーケンサー<sup>2</sup>の中でリード出力が最高であり、リードあたりの価格が最も低いため、研究者は、より正確なfold-change (異数体) 予測を生み出す高いリード深度、ならびに遺伝子、転写産物および発現差異の検出に優れた感度を使用して研究を充実させることができます。NextSeq 2000シーケンスシステムを用いた場合、追加のシーケンス能力を同時に組み合わせ、出力のギガベースあたりのコストが削減するため、以下が実現します。

- サンプルあたりのリード数が増加することにより、存在量が低い転写産物に関する情報を取得
- 与えられた研究予算内で、より多くのサンプルからより多くの卓越した実験デザインを実現
- 多くの包括的な手法により、RNA像に関するより複雑な面を捉えることで多くの発見をもたらす

NextSeq 2000 P3フローセルによって与えられた追加のシーケンス能力により、適切に研究を進めるための実験デザインがこれまで以上に簡単になり、RNA-Seqがラボでのルーチンの分子生物学実験ツールのレパートリーに加わります。NextSeq 2000システムのデュアル出力モードでは、サンプル数および出力要件に基づいて研究デザインを最適化することができます。高いサンプルスループットが必要な場合、NovaSeq™ 6000システムを使用してランあたり数百サンプルまでスケールアップして研究が可能です(表2)。

### ペアエンドシーケンスの価値

NextSeq 2000シーケンスシステムを用いた場合、シングルリードシーケンスまたはペアエンドシーケンスを実施することができます。シングルリードシーケンスは、遺伝子発現プロファイリングには経済的な選択です。しかし、ペアエンドRNA-Seqには重要な利点があります。インサートの両端から生成されたリード深度情報により、転写産物の異性体を効率的に識別できるため、より精度の高い検出と転写産物レベルの存在量を定量します。ペアエンド情報は、融合遺伝子および挿入/欠失(Indel)バリエーションを検出するための感度を増強させます。

## イルミナの簡便な解析ソリューション

### DRAGEN™ Bio-IT Platform

RNA-Seqデータ解析は、迅速で正確なデータ解析パイプラインスイートであるイルミナDRAGEN Bio-IT Platformのツール、ならびに幅広いエコシステムである商業的およびオープンソースのデータ解析ソフトウェアツールを使用して実行することができます。イルミナのDRAGEN RNAパイプラインは、NextSeq 2000シーケンスシステムからの出力を取り込み、リファレンスゲノムへの正確なRNAアライメント、バリエーションコールと遺伝子の定量化、およびスプライスジャンクションと融合遺伝子候補の評価を行います。DRAGEN RNAパイプラインは、イルミナのクラウドベースのゲノムコンピューティング環境であるBaseSpace Sequence Hubで起動するか、またはNextSeq 2000システムに搭載されているDRAGENハードウェアを使った装置内ワークフローとして起動することができます。

クラウド上または装置内のいずれにおいても、DRAGEN RNAパイプラインは、直感的なユーザーインターフェースでの解析で、高品質なデータを提供します。プロセスの始めから終わりまで画面の案内に従って進むだけで、シーケンサーが作成したファイルの選択から、解析済みデータおよび結果の閲覧までが行えます。DRAGEN RNAパイプラインからの出力は、BaseSpace Sequence HubのRNA Differential Expressionアプリなど、幅広い下流の解析ツールに直接入力することができます。BaseSpace Sequence Hubには、DRAGENプラットフォーム以外に、可視化、解析、および共有のためのソフトウェアツールがあり、その数は増え続けています。

表2: イルミナRNA-Seqソリューション

方法	測定	サンプルあたりの一般的なリードペア	ライブラリー調製	ランあたりのサンプル数				データ解析
				NextSeq 2000システム		NovaSeq 6000システム		
				P2	P3	SP	S1	
遺伝子発現定量	既知の特性中の遺伝子レベルの存在量	1,000万 (100 bp × 2)	Illumina Stranded mRNA Prep <sup>a</sup>	40	100	80	160	DRAGEN RNA (搭載、サーバー、またはクラウド) + RNA-Seq Differential Expressionアプリ (クラウドのみ)
mRNA-Seq	コーディングRNAの存在量と発見	2,500万 (100 bp × 2)	Illumina RNA Prep with Enrichment	16	40	32	64	
total RNA-Seq	コーディングRNAおよびノンコーディングRNAの存在量と発見	5,000万 (100 bp × 2)	Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus	8	20	16	32	

a. Illumina Stranded mRNA PrepはFFPEサンプルに適合しません。低品質またはFFPEサンプルについては、Illumina RNA Prep with Enrichmentが推奨されます。

## 完全なイルミナのテクニカルサポート

NextSeq 2000シーケンスシステムをラボに導入することで、世界に広がる何千ものイルミナテクノロジー研究者コミュニティに参加することができます。イルミナでは年間を通してイベントを開催しており、アイデアを共有したり研究者同士を紹介する機会を提供しています。ユーザーフォーラムやサイエンティフィックシンポジウムおよびブログフォーラムは、新しい研究手法や画期的な研究を議論する場としてお使いいただけます。

イルミナコミュニティを支えるのは、世界中にいる数百名からなる専任のサービスサポートチームです(75%以上は修士以上の学位を取得)。イルミナのテクニカルサポートはNextSeq 2000システムをお届けしたところから始まり、イルミナのサイエンティストとエンジニアがシステムの据付け、設定、トレーニングを行います。メールでのお問い合わせは日本語では平日午前9時から午後5時まで、英語であれば24時間受け付けているため、研究者は安心して実験に集中することができます。

研究者のニーズが変わるにつれて、新しいシステムを導入したり、新しい手法を試したりすることが多々あることでしょう。イルミナではこれらのニーズを支えるためのオンサイトでのサポートとトレーニングを提供しています。詳細については、別途お問い合わせください。

### まとめ

NextSeq 2000 RNA-Seqソリューションにより、トランスクリプトームの明確で包括的な理解が得られます。デュアル出力モードにより、遺伝子レベルの発現プロファイリングから、全トランスクリプトームの発見まで、あらゆる種類のトランスクリプトームプロジェクトのコスト効率を保証します。NextSeq 2000シーケンスシステムの検出力、スピード、柔軟性を、幅広いライブラリー調製製品と使いやすいRNA-Seqソフトウェアアプリケーションとを組み合わせることによって、NextSeq 2000シーケンスシステム上で実施するRNAシーケンスから、トランスクリプトームに関するより深い理解を得るための研究が可能になります。

### 詳細について

RNAシーケンシングについての詳細は、[jp.illumina.com/rna](http://jp.illumina.com/rna)をご覧ください。

RNA-Seq解析についての詳細は、[jp.illumina.com/rna-analysis](http://jp.illumina.com/rna-analysis)をご覧ください。

## NextSeq 2000シーケンスシステム仕様

<b>装置の構成</b>
自己完結型のドライ装置。DRAGEN Bio-ITのfield-programmable gate arrayテクノロジー (FPGA) 二次解析を搭載。
<b>装置制御コンピューター</b>
CPU: 装置内に2U Microserverを配置 メモリー: 288 GB ハードドライブ: 3.8 TB SSD OS: Linux CentOS 7.6
<b>動作環境</b>
温度: 15°C~30°C 湿度: 20%~80%相対湿度、結露なきこと 高度: 0~2,000メートル 屋内で使用のこと
<b>レーザー光:</b>
波長: 449 nm, 523 nm, 820 nm 安全性: クラス1のレーザー製品
<b>寸法</b>
幅×奥行×高さ: 60 cm × 65 cm × 60 cm 重量: 141 kg
<b>梱包寸法</b>
梱包幅×奥行×高さ: 92 cm × 120 cm × 118 cm 梱包重量: 232 kg
<b>電源要件</b>
装置入力電圧: 100 VAC~240 VAC 装置入力周波数: 50/60 Hz
<b>ネットワーク接続の帯域幅</b>
内部ネットワークアップロードに対して、装置あたり200 Mb/s BaseSpace Sequence Hubアップロードに対して、装置あたり200 Mb/s 装置操作データのアップロードに対して、装置あたり5 Mb/s
<b>製品安全性および準拠</b>
NRTL認証IEC 61010-1 CEマーク FCC/IC認証

## 参考文献

1. Based on a comparison of the top three industry-leading NGS platforms.社内資料. Illumina, Inc., 2016.
2. Ross MG, Russ C, Costello M, et al. [Characterizing and measuring bias in sequence data](#). Genome Biol. 2013;14(5):R51.

## 製品情報

<b>システム</b>	<b>カタログ番号</b>
NextSeq 2000シーケンスシステム	20038897
<b>シーケンス試薬</b>	<b>カタログ番号</b>
NextSeq 1000/2000 P2 Reagents (100 cycles)	20038899
NextSeq 1000/2000 P2 Reagents (200 cycles)	20040557
NextSeq 1000/2000 P2 Reagents (300 cycles)	20040558
<b>ライブラリー調製キット</b>	<b>カタログ番号</b>
Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus (16 samples)	20040525
Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus (96 samples)	20040529
Illumina Stranded mRNA Prep (16 samples)	20040532
Illumina Stranded mRNA Prep (96 samples)	20040534
Illumina RNA Prep with Enrichment (16 samples)	20040536
Illumina RNA Prep with Enrichment (96 samples)	20040537
<b>ライブラリー調製付属構成品</b>	<b>カタログ番号</b>
Illumina Ribo-Zero Plus rRNA Depletion Kit (16 samples)	20040526
Illumina Ribo-Zero Plus rRNA Depletion Kit (96 samples)	20037135
<b>インデックス</b>	<b>カタログ番号</b>
IDT for Illumina RNA UD Indexes Set A, Ligation (96 indexes, 96 samples)	20040553
IDT for Illumina RNA UD Indexes Set B, Ligation (96 indexes, 96 samples)	20040554
IDT for Illumina RNA UD Indexes Set C, Ligation (96 indexes, 96 samples)	20040555
IDT for Illumina RNA UD Indexes Set D, Ligation (96 indexes, 96 samples)	20040556
IDT for Illumina DNA/RNA UD Indexes Set A, Tagmentation (96 indexes, 96 samples)	20026121
IDT for Illumina DNA/RNA UD Indexes Set B, Tagmentation (96 indexes, 96 samples)	20026930
IDT for Illumina DNA/RNA UD Indexes Set C, Tagmentation (96 indexes, 96 samples)	20042666
IDT for Illumina DNA/RNA UD Indexes Set D, Tagmentation (96 indexes, 96 samples)	20042667
<b>インフォマティクスソリューション</b>	<b>カタログ番号</b>
Illumina Analytics - 1 iCredit	20042038
Illumina Analytics Starter Package - 1,000 iCredits	20042039
Illumina Analytics - 5,000 iCredits	20042040
Illumina Analytics - 50,000 iCredits	20042041
Illumina Analytics - 100,000 iCredits	20042042
BaseSpace Sequence Hub Professional Annual Subscription	20041109
BaseSpace Sequence Hub Enterprise Annual Subscription	15066411
BaseSpace Sequence Hub Consumption Billing	20012931
ライゲーションインデックスは、total RNAおよびmRNAの調製キットに適合し、タグメンテーションインデックスは、DNAおよびRNAの濃縮調製キットに適合します。	

## 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  
jp.illumina.com

 [www.facebook.com/illumina](https://www.facebook.com/illumina)

販売店

本製品の使用目的は研究に限定されます。診断での使用はできません。 販売条件: jp.illumina.com/tc

© 2020 Illumina, Inc. All rights reserved.

すべての商標および登録商標は、Illumina, Inc または各所有者に帰属します。  
商標および登録商標の詳細は [jp.illumina.com/company/legal.html](https://jp.illumina.com/company/legal.html) をご覧ください。  
予告なしに仕様および希望販売価格を変更する場合があります。

Pub No. 470-2020-004-A-JPN QB10008 09SEP2020

