

# NextSeq™ 2000 シングルセル RNA-Seq ソリューション

シングルセルからコスト効率のよい RNA シーケンスライブラリーを生成します。

## 特長

- シングルセルデータを生成するための信頼できるプロトコール**  
 大規模なエコシステムのシーケンスソリューションを使用して、高品質なシングルセルについての卓越したトランスクリプトーム解析が実現
- 柔軟性のあるシーケンススループット**  
 2種類の実出力モードと複数のリード長により、幅広いプロジェクトのニーズに対応
- より多くの発見**  
 高解像度解析により、バルクサンプリング法では通常隠されている細胞の違いを発見可能
- 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1: 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。

scRNA-Seq は、バルクサンプリング法を超えるさまざまな利点があり、以下を行うことが可能です。

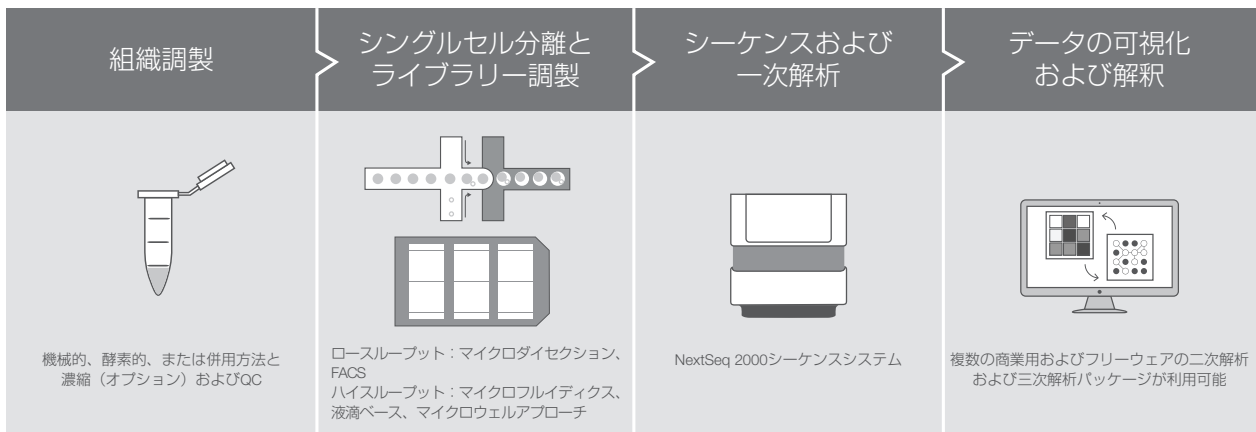
- 細胞タイプを同定し、特定の細胞タイプに対して寄与する転写活性を特定
- 複雑なシステム中に新規機能を担う可能性のある新しい細胞タイプを発見
- バルクサンプリング法で隠されているかもしれない低頻度の細胞タイプ中の転写パターンを検出
- 個別の細胞タイプにまで転写の変化を分解し、メカニズムモデルや経路モデルの情報を取得

## はじめに

シングルセルシーケンスは、個々の細胞のトランスクリプトームを検証する次世代シーケンサー (NGS) 法であり、細胞間バリエーションについて高解像度の理解が得られます。従来型の RNA シーケンス (RNA-Seq) は細胞集団をひとまとめにしたサンプルを用いますが、これと対照的に、高い感度のあるシングルセル RNA シーケンス (scRNA-Seq) 法では、複雑な組織中の個々の細胞の異なる生態を検証し、環境要因に反応する細胞の亜集団を理解することが可能です。これらのアッセイは、細胞機能の研究、および分化、増殖、腫瘍形成などの時間依存的なプロセスにおける不均一性の研究を加速させます。

## 柔軟性のある scRNA-Seq ソリューション

NextSeq 2000 シーケンスシステム (図1) は、包括的な scRNA-Seq ワークフローの一部として、業界をリードするイルミナの Sequence by Synthesis (SBS) ケミストリーを活用しています。scRNA-Seq には、初めの組織調製、幅広いシングルセル分離およびライブラリー調製オプション、シーケンスおよび一次解析、ならびにデータの可視化および解釈があります (図2)。



**図2: NextSeq 2000 scRNA-Seq ワークフロー:** NextSeq 2000 シーケンスシステムは、初めの組織調製から、シングルセルの分離およびライブラリー調製、シーケンスおよび一次解析、ならびにデータの可視化および解釈までを行う統合された NGS ワークフローの一部です。

## 組織調製および細胞分離

シングルセル分離の初期の方法は、ロースルーブットで、実験あたり数十から数千個の細胞しか処理できませんでした。ハイスルーブットなマイクロフルイディクスに基づく細胞分離を行う方法が登場したことによって、実験あたり数百から数万個もの細胞をコスト効率よく検証することができます。研究者は、幅広いエコシステムである組織調製、シングルセル分離、およびライブラリー調製プロバイダーから選択することができるため、scRNA-Seq研究をさまざまな組織、生物種、細胞タイプおよび方法に合わせることができます。

## NextSeq 2000シーケンスシステム

NextSeq 2000シーケンスシステムは、幅広いプロジェクトのニーズに対応するための能力と柔軟性があるため、サンプルあたりの細胞数、細胞あたりのリード数、および実験あたりのサンプル数の調節が可能です(表1)。NextSeq 2000シーケンスシステムは、低い存在量の転写産物をより深く評価したい場合や、より多くの細胞またはサンプルのシーケンスを行いたい場合でも、デスクトップ型シーケンサーでシーケンスおよび一次解析を行うためのコスト効率のよいソリューションとして機能します。NextSeq 2000シーケンスシステムでは2種類のシーケンス出力モードが利用でき、複数のNGS法を使用するための柔軟性と、さまざまな実験デザインに適応するための柔軟性が追加されています。高いサンプルスルーブットが必要であっても、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行えます(表1)。

## 業界をリードするSBSのリード品質がもたらすより多くの発見

SBSケミストリーを搭載したイルミナのNGSテクノロジーは、世界の90%以上のシーケンスデータの生成を担っています。<sup>1</sup> SBSケミストリーはエラーのないリードを高収量で算出し<sup>2</sup>、より正確なfold-change(異数体)予測、ならびに遺伝子、転写産物、シングルセルバーコードを検出する際の優れた感度を生み出し、scRNA-Seqのための卓越したベースコーリングが実現します。あらゆるイルミナのデスクトップ型シーケンサーの中で、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、NextSeq 2000シーケンスシステムでは次を評価することが可能になります。

- 細胞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、より多くの細胞とサンプルからより多くの優れた実験デザインを実現
- より複雑な生物学的側面を検証するための、条件、時点、または方法を追加

表1: scRNA-Seqの研究デザインの例

方法	細胞分離法の例	ライブラリー調製法の例	サンプルあたりの細胞数	細胞あたりのリード数	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	
全長 RNA-Seq	FACS	Takura SMARTer cDNA Synthesis Kits	100	100万	4	10	8	16	DRAGEN RNA RNA Express(STAR)
mRNAエンドタグ増幅 (3' WTAまたは 5' WTA)	10x Genomics Chromium	10x Genomics Chromium Single Cell Gene Expression Solution(3' WTA)	5,000	20,000	4	10	8	16	CellRanger
ターゲットパネル	BD Rhapsody Single-Cell Analysis System	BD Rhapsody Single-Cell Analysis	1,000 5,000	20,000 2,000	20 40	50 100	40 80	80 160	SeqGeq

規定された細胞数、リード数、サンプル数は例証目的に限られます。細胞数、リード数、サンプル数は、研究デザインの要件に基づいて注意深く選択する必要があります。詳細については、『シングルセルシーケンスワークフロー: Critical Steps and Considerations』を参照してください。WTA = 全トランスクリプトーム増幅、BD = ベクtonディッキンソン。

## アプリケーション間の柔軟性

NextSeq 2000シーケンスシステムでは、scRNA-Seq以外にも、アプリケーション間の幅広い柔軟性があるため、シーケンスプロジェクト間を簡単に移行することが可能です(図3)。本システムは、イルミナおよび他社製から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scRNA-Seqとエクソームシーケンスを組み合わせ、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。

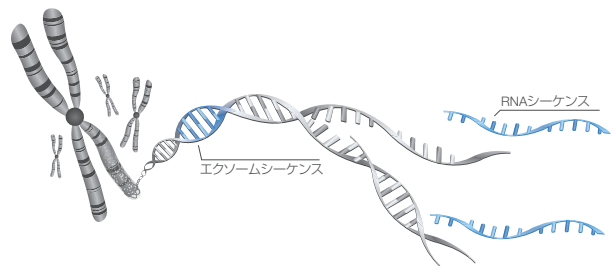


図3: NextSeq 2000シーケンスのアプリケーション: NextSeq 2000シーケンスシステムにより、研究者はアプリケーション間をシームレスに移行して、研究を進めることができます。

## 効率的なシングルセルデータ解析

NextSeq 2000システムで生成されるシーケンスデータは、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シングルセルシーケンスソフトウェアツール(商業的ソフトウェア: Cell Ranger (10x Genomics) およびSeqGeq (FlowJo/BD Biosciences)、オープンソースツール: Seurat<sup>3</sup>およびMonocleなど)に適合する標準的なフォーマットで利用できます。<sup>4</sup>

scRNA-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。2020年後半に、NextSeq 2000シーケンスシステムは、DRAGEN Single-Cellパイプラインを搭載型データ解析パイプラインとして提供する予定であり、データ解析の加速、エラー修正による精度の向上、さまざまなカスタムバーコードデザインのサポートが可能になり、現在急速に進化している研究領域における新しいシングルセル法が実現します。scRNA-Seq以外にも、イルミナでは商業的

およびオープンソースデータ解析ソフトウェアツールを幅広く収集しており、研究プロジェクトを完了するために必要な追加の方法をサポートします。

## 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シーケンスシステムはscRNA-Seqに対する柔軟なソリューションを提供し、これにより明確で包括的なシングルセルトランスクリプトームの理解が得られます。2種類の出力モードにより、研究者のニーズに合わせて実験あたりの細胞数や細胞あたりのリード数を調節することができます。NextSeq 2000シーケンスシステムは、イルミナのデスクトップ型シーケンサーの中で最も高出力であるため、ラボでは自由にツールを拡張することができます。NextSeq 2000シーケンスシステムの検出力、スピード、柔軟性を、幅広いエコシステムであるライブラリー調製とソフトウェアソリューションとを組み合わせ、NextSeq 2000システムでscRNA-Seqを行うことにより、シングルセルの解像度で、トランスクリプトームに関するより深い理解を得ることが可能になります。

## 詳細について

シングルセルシーケンスについての詳細については、[jp.illumina.com/single-cell-rna-sequencing](http://jp.illumina.com/single-cell-rna-sequencing) から『シングルセルシーケンスワークフロー: Critical Steps and Considerations』をダウンロードしてください。

シングルセルテクノロジーおよび他社製品の推奨の概要については、『シングルセルシーケンスワークフロー: Critical Steps and Considerations』を参照してください。

## 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](http://jp.illumina.com)



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

## NextSeq 2000シーケンスシステム仕様

### 装置の構成

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。

### 装置制御コンピューター

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

### 動作環境

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

### レーザー光

波長: 449 nm, 523 nm, 820 nm  
安全性: クラス1のレーザー製品

### 寸法

幅×奥行×高さ: 60 cm × 65 cm × 60 cm  
重量: 141 kg

### 梱包寸法

梱包幅×奥行×高さ: 92 cm × 120 cm × 118 cm  
梱包重量: 232 kg

### 電源要件

装置入力電圧: 100 VAC~240 VAC  
装置入力周波数: 50/60 Hz

### ネットワーク接続の帯域幅

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

### 製品安全性および準拠

NRTL認証IEC 61010-1  
CEマーク  
FCC/IC認証

## 製品情報

システム	カタログ番号
NextSeq 2000シーケンスシステム	20038897
シーケンス試薬	カタログ番号
NextSeq 1000/2000 P2 Reagents (100 cycles)	20038899
NextSeq 1000/2000 P2 Reagents (200 cycles)	20040557
NextSeq 1000/2000 P2 Reagents (300 cycles)	20040558

## 参考文献

- 社内資料。Illumina, Inc., 2017.
- Bentley DR, Balasubramanian S, Swerdlow HP, et al. *Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry*. Nature. 2008;456:53-59.
- Satija R, Farrell JA, Gennert D, Schier AF, Regev A. *Spatial reconstruction of single-cell gene expression*. Nat Biotechnol. 2015;33(5):495-502.
- Trapnell C, Cacchiarelli D, Grimsby J, et al. *The dynamics and regulators of cell fate decisions are revealed by pseudotemporal ordering of single cells*. Nat Biotechnol. 2014;32(4):361-386.

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/ftc](http://jp.illumina.com/ftc)

© 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](http://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. 770-2020-008-A-JPN QB10029 06NOV2020

**illumina**<sup>®</sup>