

NextSeq™ 550Dx システム

NextSeq 550Dx システムは IVD ハイスループットシーケンスプラットフォームを臨床研究ラボにご提供します

製造販売届出番号 13B1X10303000001

特長

- クラス I 医療機器届出の次世代シーケンサー**
 広がりつつある IVD アプリケーションに対応
- クリニカルとリサーチの需要を支える柔軟性**
 幅広い基礎研究および臨床アプリケーションをサポートし、リード長の選択と複数のデータ出力の設定が可能
- ターンアラウンドタイム (TAT) の短縮と操作性の高いデータ解析**
 システム上またはクラウド上の高効率インフォマティクスにより、研究のスピードを加速し、時間的制約のある臨床ニーズによるデータを迅速に生成可能
- イルミナのサイエンティフィックサポート**
 イルミナのサイエンスおよび専門知識に基づく IVD パートナーシップ



図1:NextSeq 550Dxシステム 最新のSBSケミストリーの進歩およびユーザーフレンドリーかつ調整されたワークフローを活用し、NextSeq 550Dx システムは臨床アプリケーションおよび研究アプリケーション双方に高品質な結果をもたらします。

はじめに

NextSeq 550Dx システムはクラス I 医療機器届出のプラットフォームであり、ハイスループットの次世代シーケンス (NGS) をベンチトップ型システムレベルの価格で実現します (図 1)。デュアルポート機能により、NextSeq 500Dx システムには診断 (Dx) モードと研究 (RUO) モードがあります。このため、単一装置上で IVD 検査、および臨床研究をフレキシブルに実施可能です。NextSeq 550Dx システムは大規模な臨床検査室に対して、検証済みのハイスループットプラットフォームを提供し、腫瘍分野、生殖医療分野、その他の分野の臨床アプリケーションの拡大し続けるパイプラインへの対応を可能にします。

NextSeq 550Dx システムは 90 Gb のデータを 2 日未満で生成することができるだけでなく、管理されたプラットフォームの恒常性を提供し、ソフトウェアや装置設計における頑健性も改善しています。さらに、研究 (RUO) モードでの実行により、現在利用している NextSeq 550 システム研究アプリケーション、例えばエクソームシーケンス、トランスクリプトームのプロファイリング、ターゲットパネル、およびマイクロアレイスキャンなどすべてがサポートされます。NextSeq 550Dx システムを用いることで、臨床検査室では、IVD/LDT 検査には調整された診断 (Dx) モード、あるいは研究 (RUO) モードを用いて、ハイスループットシーケンサーのスピードおよびパワーを損なうことなく、臨床試験を加速することができます。

イルミナケミストリーが実現する高い精度

NextSeq 550Dx システムは、実績のある sequencing by synthesis (SBS) ケミストリーを採用しており、世界中のシーケンスデータの 90% が SBS ケミストリーを用いて生成されています¹。この可逆的ターミネーター法により、伸長する DNA 鎖に取り込まれる一塩基が検出され、膨大な数の DNA 断片の並列シーケンスを行うことができます。イルミナの SBS ケミストリーは、4 つの標識ヌクレオチドすべての自然法則を利用しており、結合バイアスを抑え、反復配列やホモポリマーを高い精度でシーケンシングできます²。

キャピラリー電気泳動ベースのサンガー法と比較して、NGS は低頻度のバリエーションおよび隣接したフェーズドバリエーションを含む、より広範囲の DNA バリエーションの検出をより短時間に結果を出し、より少ないハンズオンステップで行うことができます^{3,4}。さらに、NextSeq v2 のシーケンス試薬ではシグナル強度が改善され、偽陽性や偽陰性の数を低減することができます⁵。NextSeq 550Dx システムは NextSeq v2 SBS ケミストリーを用いて、臨床実験および研究アプリケーションのために高い精度を実現します。

* IVD 開発パートナーシップについて詳しくは、イルミナ担当者にご連絡ください。



図 2 : 3 ステップの NextSeq 550Dx システム—アッセイプロセス NextSeq 550Dx システムは統合された 3 ステッププロセスの一部です。

表 1 : NextSeq 550Dx システムの性能パラメーター：診断 (Dx) モード^{a, b}

フローセル設定	リード長	アウトプット	ランタイム	データ品質 ^c
高出力フローセル	150 bp × 2	90 Gb	35 時間未満	Q30 以上の塩基が 75%

- a. TruSeq Custom Amplicon Kit Dx で生成されたライブラリー。NextSeq 550Dx Reagent Kit v2 を用いて実施。
 b. 研究 (RUO) モードの性能パラメーターについては、『[NextSeq 550 System Specification Sheet](#)』を参照してください。
 c. クオリティスコア Q30 はベースコーリングの 0.1% のエラー率に相当します。

3ステップのシンプルなワークフロー

アッセイは、ライブラリー調製、シーケンス、およびデータ解析のシンプルな 3 つのステップからなります (図 2)。

ライブラリー調製

(例：True Seq Custom Amplicon の場合)

ライブラリー調製では、プライマーをゲノム DNA (gDNA) サンプルに添加することに始まり、何百ものターゲット領域の同時キャプチャーおよび増幅のためにインデックス付きライブラリーを作成します。gDNA または適格性評価されたホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 組織から抽出した DNA を用いて、高品質のシーケンスライブラリーを 2 日未満で調製することができます。

NextSeq 550Dx システムによるシーケンス

NextSeq 550Dx システムでのラン実行はあらかじめ試薬カートリッジを用いることで非常に簡単に行うことが可能で、融解、ロード、および実行までの総操作時間はおよそ 30 分間です。直観的なユーザーインターフェースにより、研究者は最低限のユーザートレーニングまたは装置セットアップ時間で、種々のシーケンスアプリケーションを実行することができます。さらに、NextSeq 550Dx システムはクラスター形成および SBS シーケンスを同一装置上で行うことが可能で、データ解析も装置上またはクラウドで行うことができます。

NextSeq 550Dx システムは 75% を超える塩基配列を Q30 以上のクオリティスコアという高品質のデータを提供します (表 1)。NextSeq 550Dx システムの設定は簡易化されており、さまざまなスループットが要求される研究プロジェクトにスケラブルに対応できます。研究 (RUO) モードでは、2 種類のフローセル設定 (中出力あるいは高出力) を選択でき、必要に応じてスループットレベルを切り替えることができます。(図 3)。



NextSeq™ 550Dx システム

図 3 : NextSeq 550Dx システム イルミナの NGS システムは、広範囲のアプリケーション、サンプルタイプ、およびシーケンス規模に対してソリューションをお届けします。柔軟性のあるスループットと効率化されたワークフローにより、高品質データおよび高精度を提供します。

統合されたシステムソフトウェア

NextSeq 550Dx システムでは、機器に搭載されたオンボード解析ソフトウェアが利用でき、現在と将来のアッセイをサポートするモジュールソフトウェアアーキテクチャが採用されています。装置コントロールソフトウェアへは、使いやすいタッチスクリーンのインターフェースからアクセスします。Local Run Manager ソフトウェアはシーケンスランの計画立案、監査証跡によるライブラリーとランの追跡、および装置上のデータ解析モジュールとの統合をサポートします。Local Run Manager は装置のコンピューター上で稼働しますが、ユーザーはランの進捗状況の監視や解析結果の閲覧を NextSeq 550 システムと同様に、同一ネットワーク内に接続されたコンピューターから行うことができます。シーケンスランが終了すると、Local Run Manager は自動的にアプリケーション別の解析モジュールのうちの 1 つを用いて、データ解析を始めます。

表 2：診断 (Dx) モードでのバリエーションコール

	サンプル数	分析時間 ^a	PPA ^b			NPA ^b	OPA ^b
			SNVs	Ins	Dels		
体細胞バリエーションコール	48	7.5 hours	99.9%	99.9%	99.9%	99.99%	99.98%
生殖細胞バリエーションコール	96	7.0 hours	> 99.9%	98.9%	100.0%	100.00%	99.99%

a. 9 回のランを実行する 2 試験でのシステム上の解析時間平均値。

b. 試業 3 ロット、装置 3 台、およびオペレーター 3 名が関与する各 9 回のランでの、1 塩基多型 (SNV)、挿入 (In)、欠失 (Del) の観察された陽性一致率 (PPA) 最低値、陰性一致率 (NPA)、および全体的な一致率 (OPA)。プラチナゲノムサンプルを代表的なアッセイである、TruSeq Custom Amplicon Variant Panel (TSAVP) を用いて検査しました。体細胞：N = 378、生殖細胞：N = 819。

利用可能な臨床アプリケーション

診断 (Dx) モードの NextSeq 550Dx システムは現在、以下に示すアプリケーションをサポートしています：

- **体細胞バリエーションコール**：FFPE サンプル由来の gDNA からのライブラリー調製により、体細胞バリエーションコールワークフローは、検出限界 0.05 で体細胞バリエーションコールのための定性的な結果をもたらします⁶。体細胞バリエーションコールワークフローは 4 ~ 48 までのマルチプレックスサンプルを NextSeq 550Dx システム上でサポートします。
- **生殖細胞バリエーションコール**：末梢全血 gDNA からのライブラリー調製により、生殖細胞バリエーションコールのワークフローは、ホモ接合またはヘテロ接合の生殖細胞バリエーションコールのための定性的な結果をもたらします。生殖細胞バリエーションコールワークフローは 8 ~ 96 までの複数のサンプルを NextSeq 550Dx システム上でサポートします。

MiSeqDx^{*} データを用いたバリエーションコールと相関性

NextSeq 550Dx システムによるバリエーションコールの精度は、TruSeq Custom Amplicon Variant Panel (TSAVP) を用いて検査しましたが、これは 23 の異なる染色体全体から 12,588 の塩基を対象とするさまざまな遺伝子を調べるために設計された代表的なアッセイです。TSAVP アッセイには、幅広い GC 含量 (18% ~ 87%)、indel (最大 25 の塩基対) およびホモポリマー (7 ~ 13 のヌクレオチド) が含まれます。精度はプラチナゲノムサンプルを用いて測定しました。これは高い信頼性で確認されたバリエーションコールによって高いカバレッジでシーケンスされた 1 系列の個体群です⁷。陽性、陰性、および全体の一致率はほぼ 100% に近いため、高いレベルのバリエーションコール精度が示されています (表 2)。

他試験において、MiSeqDx システムと NextSeq 550Dx システムの両方で検査されたサンプル間の一致が評価されました。体細胞の結果は TSAVP および TruSightTM Tumor 26 アッセイから (N = 8,599)、および生殖細胞系の結果は TSAVP と TruSight Myeloid アッセイから得られました (N = 13,828)。MiSeqDx と体細胞と生殖細胞のバリエーションのアリル頻度の R² 相関は、

それぞれ 0.997 と 0.989 でした。MiSeqDx と定性的なバリエーションコールの一致は、体細胞バリエーションで 99.8% 以上、生殖細胞バリエーションで 99.6% 以上で、両バリエーションタイプで下限の 95% 信頼区間でした。これらのデータにより、MiSeqDx データとの高度なバリエーションコールの相関性が示されました。

研究 (RUO) モードでのシーケンスとアレイスキャンによる実験のフレキシビリティの確保

NextSeq 550Dx システムによって、Illumina BeadChips のシーケンスおよびマイクロアレイスキャンがサポートされることにより、実験へのフレキシブルな対応が可能になります[‡]。研究者はマイクロアレイスキャンを使うことで、追加研究のためや、シーケンスによって検出されたコピー数多型の確認、またはその他の研究分野のために、極めて包括的なテクノロジーを即座に利用することができます。DNA からデータまでワークフローが統合されているため、エクソーム、ターゲットシーケンスパネル、およびトランスクリプトームを中出力あるいは高出力のラン設定で迅速にシーケンスできます。研究 (RUO) モードの NextSeq 550Dx システムでサポートされる広範囲のシーケンスおよびマイクロアレイアプリケーションについては、『[NextSeq 550 System Specification Sheet](#)』を参照してください。

まとめ

NextSeq 550Dx システムは、ハイスループットの NGS の能力を、研究用および診断用のアプリケーションに携わる臨床検査機関で利用可能にする革新的な医療機器です。NextSeq 550Dx システムの特長は、簡単な 3 ステップワークフローとフレキシビリティであり、時間的制約のある臨床用 IVD データの提供や臨床研究での最新の研究課題の追求を可能にします。NextSeq 550Dx システムを使うことで、体細胞および生殖細胞のバリエーションコールのアプリケーション用の迅速で調整されたワークフローが利用でき、イルミナの増え続ける NGS ベースの臨床用アッセイを活用することができます。

‡ 研究 (RUO) モードの NextSeq 550Dx システムは、Infinium[®] CytoSNP-850K、HumanCytoSNP-12、および HumanKaryomap 12 DNA BeadChips のマイクロアレイスキャンをサポートします。

* MiSeqDx は 2020 年 1 月日本で販売開始予定。

NextSeq 550Dx システムの規格

パラメーター	規格
システムの構成	RFIDトラッキング機能付きの試薬消耗品
システム制御 コンピューター	プロセッサ：Dual Intel® Xeon® E5-2648L v3 1.8 GHz CPU メモリー：128 GB ハードドライブ、診断 (Dx) モード：2 × 2 TB (RAID 1) ハードドライブ、研究 (RUO) モード：2 × 2 TB (RAID 1) オペレーティングシステム：Windows 10
動作環境	温度：19°Cから25°C (22°C ± 3°C) 湿度：20% ~ 80% (結露なきこと) 高度：0 ~ 2000 m (6500 フィート) 換気：最大 2048 BTU/hr @ 600 W 室内使用に限る
発光ダイオード (LED)	520 nm、650 nm：レーザーダイオード 780 nm、 クラス IIIb
寸法	幅 × 奥行 × 高さ：54 cm × 69 cm × 58.5 cm 重量：84 kg 木枠込みの重量：163 kg
所要電源	100-120 VAC 15 A 220-240 VAC 10 A
無線自動識別装置 (RFID)	周波数：13.56 MHz 電源：供給電流 120 mA、RF 出力 200 mW
製品安全性および コンプライアンス	NRTL 認証 IEC 61010-1 CE マーク認証 FCC/IC 承認済み

製品情報

製品名	カタログ番号
NextSeq 550Dx システム	20005715
NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles) ^a	20028871
NextSeq Air Filter	20022240

a. クラス I のシーケンス消耗品の場合は、単一ロット出荷、キット製品のロット検査、変更に関する事前のお知らせが行われ、ロット別に用意された分析証明書が付属されます。試薬は設計・監理原則の下で開発され、現行適正製造規範 (cGMP) 下で製造されており、規格のコンプライアンスの確認が検証されています。

参考文献

1. ファイル上で算出されたデータ Illumina, Inc. 2017.
2. Bentley DR, Balasubramanian S, Swerdlow HP, et al. *Accurate Whole Human Genome Sequencing using Reversible Terminator Chemistry*. *Nature*. 2008;456(7218):53-59.
3. Shokralla S, Porter TM, Gibson JF, et al. *Massively parallel multiplex DNA sequencing for specimen identification using an Illumina MiSeq platform*. *Sci Rep*. 2015;5:9687.
4. Precone V, Monaco VD, Esposito MV, *Cracking the Code of Human Diseases Using Next-Generation Sequencing: Applications, Challenges, and Perspectives*. *Biomed Res Int*. 2015;161648.
5. Illumina (2017). *NextSeq 550 Sequencing System Specification Sheet*. Accessed September 26, 2017.
6. ファイル上で算出されたデータ Illumina, Inc. 2017.
7. Eberle MA, Fritzilas E, Krusche P, et al. *A reference data set of 5.4 million phased human variants validated by genetic inheritance from sequencing a three-generation 17-member pedigree*. *Genome Res*. 2017;27:157-164.

使用目的の説明

NextSeq™ 550Dx システムの使用目的

NextSeq 550Dx システムは、生体試料から抽出した核酸分子の配列情報を解析する装置です。

イllumina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

販売店

診断 (Dx) モードでの使用目的は体外診断用に限られます。最寄りの弊社担当営業までお問い合わせください。 販売条件：jp.illumina.com/tc

© 2019 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 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. 100000062591 v00-JPN QB 5163 11NOV2019

illumina®