

# NextSeq™ 1000 およびNextSeq 2000システム エクソームシーケンス ソリューション

効率的なエクソーム解析と正確な  
バリエーションコールのための統合型  
ワークフロー

- 効率的なライブラリー調製とエクソーム濃縮によるコーディング領域の均一なカバレッジ
- 優れたデータ品質を実現する、柔軟でスケーラブルなベンチトップシーケンスシステム
- 一般的な変異とまれな体細胞バリエーションをコールする、受賞歴のあるパフォーマンスを備えたオンボードのデータ解析パイプライン

illumina®

## はじめに

NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムエクソームシーケンスソリューションは、ゲノムのタンパク質コード領域を調べるために、DNAから結果取得までの効率的なワークフローを提供します。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ス (NGS) テクノロジーとSequence by Synthesis (SBS) XLEAP-SBS™ ケミストリーを活用し、優れたデータ品質を実現します。この高精度のエクソームカバレッジにより、集団遺伝学、遺伝性疾患研究、がん研究などの幅広いアプリケーションにおいて、真のコーディングバリエーションの同定が可能になります。統合型ワークフローにより、効率的なライブラリー調製とエクソーム濃縮、タッチパネル操作のシーケンス、そして迅速かつ正確なデータ解析が実現します (図1)。NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムエクソームシーケンスソリューションは、最短のハンズオンタイムで、エクソームを調べるための非常に柔軟で効率的な方法です。



図2: NextSeq 1000およびNextSeq 2000システム: NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムは、XLEAP-SBSケミストリーと内蔵二次解析を利用して、シーケンスワークフローを効率化します。

## シンプルかつ効率的なワークフロー

NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムエクソームシーケンスソリューションはシンプルかつ統合型のワークフローであるため、生産性を最大限に高めることができます。本ソリューションはIllumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichmentなどのライブラリーキットを使用したライブラリー調製とエクソーム濃縮から始まります。調製したライブラリーをフローセルにロードし、次にフローセルをNextSeq 1000またはNextSeq 2000システムにロー

ドし、シーケンシングを実施します (図2)。NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムは、ニーズに応じてエクソーム研究を拡張できるようにする複数のシーケンスフローセル構成を備えています。アライメントやバリエーションコールを含むデータ解析は、装置上またはBaseSpace™ Sequence HubやIllumina Connected Analyticsを用いたクラウド上で、DRAGEN™ Enrichmentパイプラインを使用して簡単に実施できます。



図1: NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムエクソームシーケンスワークフロー: NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムは、高精度のエクソームシーケンスデータを提供する、シンプルかつ統合型のNGSワークフローの一部です。時間は実験およびアクセスタイプに応じて異なります。

a.キット構成にはIllumina DNA Prep with EnrichmentおよびTwist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panelが含まれます。

## 効率的なライブラリー調製とエクソーム濃縮

Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichmentは、イルミナのビーズ結合トランスポソームケミストリーを用いた迅速なライブラリー調製とTwist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panelを用いるエクソーム濃縮を組み合わせた製品です。Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichmentはわずか10 ngのインプットから包括的なエクソームカバレッジを提供するため、高いカバレッジ均一性と濃縮率を実現しながら貴重なDNAサンプルを解析できます。低頻度バリエーションを高い感度で検出できるため、真のコーディングバリエーションやまれな体細胞変異を同定することができます。

オンビーズタグメンテーションにより、DNAを断片化するための機械的断片化が不要になります。これにより、ワークフローが効率化され、合計時間は約6時間、ハンズオンタイムは2時間未満になります。Illumina DNA Prep with Enrichmentと他のエクソームパネルを使用して、これらのワークフローとデータ品質の利点を活用することもできます。Agilent、Twist Bioscience、Integrated DNA Technologies (IDT) など、さまざまなベンダーからパネルコンテンツを選択できます (表1)。

## NextSeq 1000およびNextSeq 2000システム

NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムは、エクソームシーケンスワークフローを効率化しシンプルにするためのパワーと汎用性を備えています。洗浄の必要がないため、システムのロードと起動には10分もかかりません。NextSeq 2000システムの場合、P4試薬を使用すると、ペアエンドの100 bpリード長で約34時間の間に約45サンプルのシーケンスが可能になります。\*

NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムは、イルミナとサードパーティの幅広いライブラリー調製キットに対応しており、アプリケーションにわたる柔軟性があります。エクソームシーケンス、バルクシーケンス、シングルセルRNAシーケンス (RNA-Seq) などのシーケンシングプロジェクトとその他の手法の間を簡単に切り替えられます。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を組み合わせ、同定されたバリエーションが転写産物の発現を変化させるかどうかを評価できます。

\* スループットは、使用するエクソームパネルのサイズやライブラリー調製キットなどの多くの要因によって異なります。

表1: エクソームパネルの仕様

パネルの特徴 <sup>a</sup>	Illumina Exome 2.5 Panel <sup>b</sup>	Agilent	Twist	IDT
パネルサイズ	37.5 Mb	36 Mb	33 Mb	39 Mb
プローブサイズ	120 bp	N/A	120 bp	120 bp
プローブの種類	dsDNA	RNA	dsDNA	ssDNA
濃縮 (ハイブリ) 時間	1.5時間	16時間	1.5時間	1.5~16時間
エクソームパネルの設計に使用されたデータベース <sup>c</sup>				
RefSeq <sup>1</sup>	99.1%	99.88%	99.08%	99.45%
GENCODE <sup>2</sup>	98.02%	97.29%	96.01%	96.82%
CCDS <sup>3</sup>	99.90%	99.91%	99.76%	99.67%
UCSC Known Genes <sup>4</sup>	99.89%	98.72%	97.63%	98.13%
ClinVar <sup>5</sup>	98.60%	73.41%	72.56%	72.90%

a. パネルサイズ = ターゲット領域内の配列の全長、プローブサイズ = 濃縮ハイブリダイゼーション (Hyb) プローブの長さ、プローブの種類 = プローブオリゴヌクレオチドは、RNA、DNA、一本鎖 (ss)、または二本鎖 (ds) が可能です。  
b. Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel。  
c. パーセンテージは、各エクソームパネルがデータベースをどの程度カバーしているかを指します。

イルミナの幅広いカスタムターゲットリシーケンスソリューションも、その他のシーケンスアプリケーションから発見されたバリエーションを検証するために利用できます。

### 「真のコーディングバリエーション」コールを提供

真のコーディングバリエーションは、コーディング領域内のコンセンサス配列とは異なる正確なベースコールです。これは、偽陽性 (バリエーションがコールされるが実際には存在しない場合) や偽陰性 (実際には存在するバリエーションがコールされない場合) ではありません。偽陽性コール率が高いシステムでは、広範囲にわたる下流検証が必要となり、コストと実験時間が増加します。偽陰性コール率が高いシステムは、繰り返しが多い領域やホモポリマーの伸張部を含む領域で潜在的に重要な結果を検出できません。真のコーディングバリエーションコールを得るためには、高品質のライブラリー調製と濃縮、高精度のシーケンス、および高精度の二次解析が必要です。

## XLEAP-SBSケミストリーを用いたより多くの発見

NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムは、これまでで最速、最高品質、最もロバストなイルミナシーケンスケミストリーであるXLEAP-SBSケミストリーを採用しています。NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムのXLEAP-SBSケミストリーにより、イルミナベンチトップシーケンサーの中で最高のリードアウトとリードあたりの最安値を実現します。このシステムは、100 bp × 2で90%以上の塩基がQ30を超える精度を実現し<sup>†</sup> (表2)、非常に困難な領域 (GCリッチ領域またはホモポリマーなど) であっても高い精度を備え、高い割合で真のコーディングバリエーションが得られます。偽陽性率と偽陰性率が低いため、下流の検証にかかる時間とコストが大幅に削減されます。NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムは、優れたデータ品質を提供することで、エクソームの包括的な研究に理想的なオプションを提供します。

すべてのイルミナシーケンスシステムと同じSBSケミストリーを採用していることで、NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムではシステム間で生成されたデータを比較、統合することができます。例えば、NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムのエクソームシーケンスデータは、NovaSeq™ Xシリーズで実施したターゲットパネルで実施した追跡研究のデータや、大規模なエクソームシーケンス研究のデータと統合できます (表3)。

† Q30 = 1,000ベースコールあたり1エラー、すなわち99.9%の精度。

表2: NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムのエクソームシーケンスに対する性能パラメーター

	シングルエンドリード <sup>a</sup>	リード長	出力 <sup>a</sup>	ランタイム <sup>b</sup>	データ品質 <sup>c</sup>
NextSeq 1000/2000 P1 XLEAP-SBS Reagents <sup>d</sup>	1億	150 bp × 2	30 Gb	17時間	90%以上の塩基がQ30
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagents <sup>d</sup>	4億	100 bp × 2	80 Gb	19時間	
NextSeq 2000 P3 XLEAP-SBS Reagents <sup>d,e</sup>	12億	100 bp × 2	240 Gb	31時間	
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagents <sup>e</sup>	18億	100 bp × 2	360 Gb	34時間	

a. 出力の仕様は、サポートされるクラスター密度でイルミナPhiXコントロールライブラリーを用いたときの1フローセルあたりの値です。

b. ランタイムはNextSeq 1000およびNextSeq 2000システム上で実施するクラスター形成、シーケンス、ベースコールリングを含みます。

c. クオリティスコアはイルミナPhiXコントロールライブラリーを用いた条件に基づきます。性能はライブラリーの種類、品質、インサートサイズ、ローディング濃度、およびその他の実験要因に応じて異なることがあります。Q30以上の塩基の割合は、そのラン全体の平均値です。

d. P1、P2、およびP3フローセル用のXLEAP-SBS試薬は2024年第2四半期に発売予定です。

e. P3およびP4試薬はNextSeq 2000システムでのみ使用できます。

## DRAGEN二次解析によるシンプルな解析

NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムに搭載されている正確で包括的かつ効率的なデータ解析パイプラインを取りそろえたDRAGEN二次解析を使用して、エクソームのシーケンスデータ解析を実施できます。<sup>‡</sup> このPrecisionFDA受賞歴のあるインフォマティクスソリューション<sup>§</sup> は、最適化されたハードウェアアクセラレーションアルゴリズムを使用して、ユーザーにとってのデータ解析のボトルネック解消に役立ち、外部専門家への依存を軽減します。

DRAGEN Enrichmentパイプラインは、NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムからの出力を解析し、シーケンスラン完了後2時間以内に正確なバリエーションコールを実施します (図3)。このパイプラインは、マッピングと小規模なバリエーションコールにおいて業界をリードする精度があり、GermlineモードとSomaticモードで利用できます。<sup>6-8</sup>

‡ DRAGENハードウェアはNextSeq 1000およびNextSeq 2000システムに搭載されています。DRAGENライセンスは機器に含まれており、別途購入する必要はありません。

§ DRAGEN二次解析は、2020 PrecisionFDA Truth Challenge V2において、マッピングが困難な領域で最優秀パフォーマンス賞、およびイルミナシーケンスデータのすべてのベンチマーク領域で最優秀パフォーマンス賞を受賞しました。<sup>7,8</sup>

オンボードのDRAGEN Enrichmentアプリを使用すると、ランの計画中に解析をセットアップでき、サンプルから答えを得るまでのワークフローを効率化できます。BaseSpace Sequence HubおよびIllumina Connected Analytics上のDRAGEN Enrichmentアプリは、新規ユーザーと経験豊富なユーザーの両方に適した直感的なインターフェースにパッケージングされた、結果の高度な視覚化とテーブルの並べ替え機能を備えています。

DRAGEN Enrichmentパイプラインからの出力は、BaseSpace Sequence HubおよびIllumina Connected Analyticsで利用可能な幅広い下流解析ツールに直接入力できます。両方のクラウドソリューションはDRAGEN解析以外にも、視覚化、解析、共有を行うためのソフトウェアツールが続々と追加されています。

### 包括的なイルミナテクニカルサポート

イルミナでは、ライブラリー調製、シーケンス、解析に精通した経験豊富なサイエンティストで構成された世界トップレベルのサポートチームをご用意しています。この専任チームには、高い技能を持つフィールドサービスエンジニア (FSE)、テクニカルアプリケーションサイエンティスト (TAS)、フィールドアプリケーションサイエンティスト (FAS)、システムサポートエンジニア、バイオインフォマティシャン、ITネットワーク専門家が含まれており、メンバー全員がNGSと世界中のイルミナユーザーが取り組んでいる応用分野を熟知しています。テクニカルサポートは、お電話でのお問い合わせについては週5日、オンラインサポートについては24時間365日（夜間・土日祝日は英語のみでの対応）、世界中どこからでも複数の言語でご利用いただけます。

この比類のないサービスとサポートにより、イルミナはお客様がNextSeq 1000およびNextSeq 2000システムの有効性を最大限に高め、新入社員を教育し、最新の技術とベストプラクティスの習得をお手伝いします。

表3：システム別のイルミナのエクソームシーケンススルーput

シーケンスシステム	シーケンス試薬	ランあたりのエクソーム数 <sup>a</sup>
NextSeq 1000およびNextSeq 2000システム	P1 300サイクル	~2
	P2 200サイクル	10
	P3 <sup>b</sup> 200サイクル	30
	P4 <sup>b</sup> 200サイクル	45
NovaSeq Xシリーズ <sup>c</sup>	1.5B 200サイクル	~41
	10B 200サイクル	~250
	25B 300サイクル	~750 <sup>d</sup>

- エクソーム数の計算は100 ×以上のカバレッジを得るためにサンプルあたり約8 Gbを想定しています。スルーputは、使用するエクソームパネルのサイズやライブラリー調製キットなどの多くの要因によって異なります。
- P3およびP4試薬はNextSeq 2000システムでのみ使用できます。
- NovaSeq X Plusシステムは、シングルフローセルランまたはデュアルフローセルランが可能です。NovaSeq Xシステムは、単一フローセルをランできます。
- 最大384のユニークデュアルインデックスが利用できます。NovaSeq Xシリーズの場合、独立したレーンローディングにより、より多くのサンプルのマルチプレックスが可能になります。

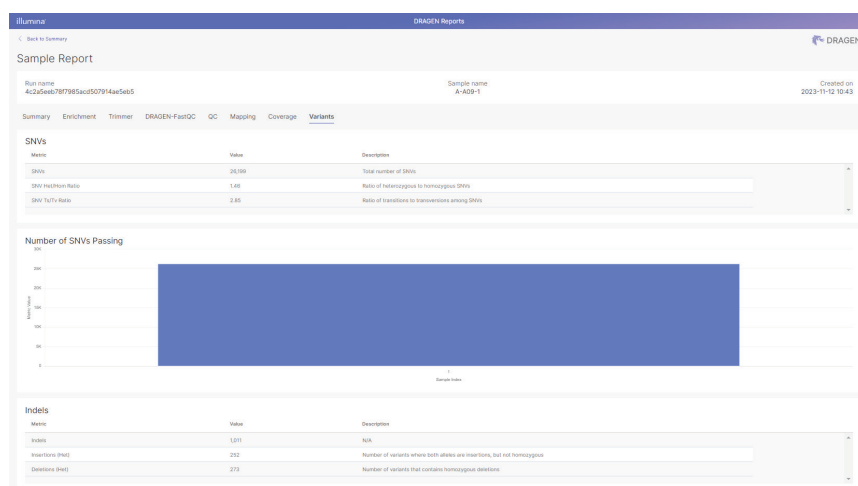


図3：DRAGEN Enrichmentパイプライン：DRAGEN Enrichmentパイプラインを使用した業界トップクラスの精度のマッピングと小規模なバリエーションコールのスクリーンショットの例。DRAGEN EnrichmentパイプラインはNextSeq 1000およびNextSeq 2000システム上、またはBaseSpace Sequence HubやIllumina Connected Analyticsを備えたクラウド上で利用できます。

## まとめ

NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムエクソームシーケンスソリューションは、コーディング領域内のバリエーションを同定するための統合型のスケーラブルなワークフローを提供します。本ソリューションは、NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムのパワー、スピード、柔軟性と、非常にロバストなXLEAP-SBSケミストリー、高品質のライブラリー調製および濃縮オプションならびに迅速でユーザーフレンドリーな解析ソフトウェアを組み合わせています。

## 詳細はこちら

[エクソームシーケンス](#)

[Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment](#)

[NextSeq 1000およびNextSeq 2000システム](#)

[DRAGEN二次解析](#)

[BaseSpace Sequence Hub上でのデモデータ](#)

## 参考文献

1. NIH National Library of Medicine. RefSeq: NCBI Reference Sequence Database. [ncbi.nlm.nih.gov/refseq](https://ncbi.nlm.nih.gov/refseq). Updated July 18, 2023. Accessed August 25, 2023.
2. The GENCODE Project. GENCODE: Encyclopedia of genes and gene variants. [gencodegenes.org/](https://gencodegenes.org/). Accessed August 25, 2023.
3. NCBI website. Consensus coding sequences (CCDS) Database. [ncbi.nlm.nih.gov/projects/CCDS/CcidsBrowse.cgi](https://ncbi.nlm.nih.gov/projects/CCDS/CcidsBrowse.cgi). Updated November 9, 2022. Accessed August 25, 2023.
4. University of California, Santa Cruz Genome Browser. UCSC Known Genes. [genome.ucsc.edu/](https://genome.ucsc.edu/). Updated August 18, 2023. Accessed August 25, 2023.
5. NIH National Library of Medicine. ClinVar Database. [ncbi.nlm.nih.gov/clinvar](https://ncbi.nlm.nih.gov/clinvar). Updated August 28, 2023. Accessed August 28, 2023.
6. Illumina. [Accuracy improvements in germline small variant calling with the DRAGEN Platform](#). Accessed August 25, 2023.
7. PrecisionFDA website. Truth Challenge V2: Calling variants from short and long reads in difficult-to-map regions. [precision.fda.gov/challenges/10](https://precision.fda.gov/challenges/10). Accessed August 25, 2023.
8. Mehio R, Ruehle M, Catreux S, et al. DRAGEN Wins at Precision-FDA Truth Challenge V2 Showcase Accuracy Gains from Alt-aware Mapping and Graph Reference Genomes. [illumina.com/science/genomics-research/dragen-wins-precisionfda-challenge-showcase-accuracy-gains.html](https://illumina.com/science/genomics-research/dragen-wins-precisionfda-challenge-showcase-accuracy-gains.html). Accessed August 25, 2023.

## 製品情報

製品	カタログ番号
NextSeq 2000 Sequencing System	20038897
NextSeq 1000 Sequencing System	20038898
NextSeq 1000 to NextSeq 2000 upgrade	20047256
NextSeq 1000/2000 P1 XLEAP-SBS Reagent Kit (100 cycles) <sup>a,b</sup>	20100983
NextSeq 1000/2000 P1 XLEAP-SBS Reagent Kit (300 cycles) <sup>a,b</sup>	20100982
NextSeq 1000/2000 P1 XLEAP-SBS Reagent Kit (600 cycles) <sup>a,b</sup>	20100981
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (100 cycles) <sup>a,b</sup>	20100987
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (200 cycles) <sup>a,b</sup>	20100986
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (300 cycles) <sup>a,b</sup>	20100985
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (600 cycles) <sup>a,b</sup>	20100984
NextSeq 2000 P3 XLEAP-SBS Reagent Kit (100 cycles) <sup>a,b</sup>	20100990
NextSeq 2000 P3 XLEAP-SBS Reagent Kit (200 cycles) <sup>a,b</sup>	20100989
NextSeq 2000 P3 XLEAP-SBS Reagent Kit (300 cycles) <sup>a,b</sup>	20100988
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagent Kit (50 cycles) <sup>a</sup>	20100995

- a. NextSeq1000およびNextSeq 2000システム用のXLEAP-SBS試薬キットは、標準のSBS試薬キットと同じ温度で出荷および保管されます。
- b. P1、P2、およびP3フローセル用のXLEAP-SBS試薬は、2024年第2四半期に発売予定です。キット構成にはIllumina DNA Prep with EnrichmentおよびTwist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panelが含まれます。
- c. キット構成にはIllumina DNA Prep with EnrichmentおよびTwist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panelが含まれます。

## 製品情報

製品	カタログ番号
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagent Kit (100 cycles) <sup>a</sup>	20100994
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagent Kit (200 cycles) <sup>a</sup>	20100993
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagent Kit (300 cycles) <sup>a</sup>	20100992
NextSeq 1000/2000 XLEAP-SBS Read and Index Primers <sup>a</sup>	20112856
NextSeq 1000/2000 XLEAP-SBS Index Primer Kit <sup>a</sup>	20112858
NextSeq 1000/2000 XLEAP-SBS Read Primer Kit <sup>a</sup>	20112859
Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment, (S) Tagmentation Set B (96 samples, 12-plex) <sup>c</sup>	20077595
Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment, (S) Tagmentation Set D (96 samples, 12-plex) <sup>c</sup>	20077596
Illumina DNA Prep with Enrichment, (S) Tagmentation (16 samples)	20025523
Illumina DNA Prep with Enrichment, (S) Tagmentation (96 samples)	20025524
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set A, Tagmentation (96 indexes, 96 samples)	20091654
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set B, Tagmentation (96 indexes, 96 samples)	20091656
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set C, Tagmentation (96 indexes, 96 samples)	20091658
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set D, Tagmentation (96 indexes, 96 samples)	20091660

- a. NextSeq1000およびNextSeq 2000システム用のXLEAP-SBS試薬キットは、標準のSBS試薬キットと同じ温度で出荷および保管されます。
- b. P1、P2、およびP3フローセル用のXLEAP-SBS試薬は、2024年第2四半期に発売予定です。キット構成にはIllumina DNA Prep with EnrichmentおよびTwist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panelが含まれます。
- c. キット構成にはIllumina DNA Prep with EnrichmentおよびTwist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panelが含まれます。

## 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/illuminakk](https://www.facebook.com/illuminakk)

## 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

© 2024 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。

**illumina**<sup>®</sup>

M-GL-00479 v3.0-JPN | 7