

NextSeq™ 1000 およびNextSeq 2000システム RNAシーケンス ソリューション

遺伝子発現およびトランス
クリプトーム解析のための
コスト効率の良い統合型
ワークフロー

- サンプルとインプットに対する柔軟性を備えた、トランスクリプトーム全体の解析の革新的なライブラリー調製ポートフォリオ
- 幅広いRNA-Seqアプリケーションに対応するスケーラブルなシーケンススループット
- 最適なワークフロー効率を実現する統合型DRAGEN二次解析



はじめに

NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムRNAシーケンス (RNA-Seq) ソリューションは、トランスクリプトームに関する明確で完全な見解を提供し、トランスクリプトーム解析をこれまでよりもアクセスしやすくします。本ソリューションでは、業界をリードするイルミナ次世代シーケンス (NGS) テクノロジー、最適化された Sequence by Synthesis (SBS) XLEAP-SBS™ ケミストリー、幅広いライブラリー調製ソリューションポートフォリオ、合理的かつ効率的なワークフローを実現するデータ解析ツールを使用します (図1)。NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムの柔軟性とスケラビリティ (図2) により、さまざまなサンプル量を効率的に処理できるようになり、リードにかかる予算とサンプルスループットの最適なバランスが確保されます。NextSeq 1000およびNextSeq 2000システム 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複雑な全トランスクリプトーム解析まで、幅広いRNAアプリケーションに対応します。

RNA-Seqの利点

RNA-Seqは、ハイスループットのトランスクリプトームプロファイリングに対する最も重要なアプローチとして急速に浮上しました。^{1,2} RNA-Seqは、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を提供し、定量PCRに比べて次のような多くの利点があります。

- 仮説不要の実験デザインであるため、研究対象のトランスクリプトームに関する予備知識が不要
- 既知および未知の転写産物を検出可能
- ハイスループット機能により、1回のアッセイで数百から数千の領域を定量
- より広範なダイナミックレンジで、遺伝子発現をより正確に測定
- 1回のアッセイでより多くのデータを取得でき、配列とバリエーションの全情報を取得



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。



図1: NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムRNA-Seqワークフロー: NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムは、高精度のRNA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ッセイタイプにより異なります。

統合型NGSワークフロー

NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムは、ライブラリー調製ソリューションの広範なポートフォリオに対応し、トランスクリプトーム研究の幅広いニーズに対応します。さまざまなライブラリー調製キットから選択できるため、実験のニーズに最適なものを見つけることができ、最初のRNAの品質が低い、サンプルの入手可能性が限られているなどのよくある課題を克服するのに役立ちます。

進歩したイルミナRNAライブラリー調製

イルミナは、RNA-Seqにおける豊富な経験を備えており、信頼と実績のあるRNAライブラリー調製ソリューションを取り揃えています。イルミナのRNAライブラリー調製キットのポートフォリオの進歩により、標準的な1回の作業シフトで完了できる効率的なワークフローから必要とする高品質なデータが得られます。イルミナが提供する3種類のRNAライブラリー調製キット (表1)：

- **Illumina Stranded Total RNA Prep**はRibo-Zero™ Plusを使用し、コーディングおよび複数の形態のノンコーディングRNAを捕捉して、生物学の包括的な像を取得し、全トランスクリプトーム解析を可能にします。Illumina Stranded Total RNA Prepは、低品質のホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) サンプルを扱う場合にもロバストなパフォーマンスを提供します。
- **Illumina Stranded mRNA Prep**はコーディングRNAにフォーカスした解析を行うためのコスト効率の良いオプションを提供します。Illumina Stranded mRNA Prepは、高品質サンプルからのあらゆる真核生物RNAに対応します。*
- **Illumina RNA Prep with Enrichment**は、RNA-Seqにビーズ結合トランスposーム (BLT) テクノロジーを導入し、最短のハンズオンタイム (2時間未満) により1日で高速RNA濃縮ワークフローを実施します。NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムでシーケンスすると、得られるストランド非特異的RNAデータから、多数のゲノム位置にわたる貴重な洞察が得られます。

* RNA integrity number (RIN) > 8。低品質またはFFPEサンプルの場合は、Illumina RNA Prep with EnrichmentまたはIllumina Stranded Total RNA Prepを使用してください。

表1：イルミナRNAライブラリー調製キット

	Illumina Stranded Total RNA Prep	Illumina Stranded mRNA Prep	Illumina RNA Prep with Enrichment
方法	Ligation with Ribo-Zero Plus ^a	Ligation	(L) Tagmentation
検出	コーディングトランスクリプトームとノンコーディングトランスクリプトーム	polyAテールを含むコーディングトランスクリプトーム	ターゲット化したコーディング領域 ^b
FFPEサンプル対応	対応	非対応	対応
インプット	1~1,000 ng ^c	25~1,000 ng	10 ng FFPE以外 20 ng FFPE
合計アッセイ時間 ^d	7時間	7時間未満	9時間未満
ハンズオンタイム ^d	3時間未満	3時間未満	2時間未満
自動化対応	対応	対応	対応

a. Ribo-Zero Plusが含まれていることで、ヒト、マウス、ラット、細菌および疫学サンプルなどの複数の生物種からの大量のRNAを除去します。

b. ヒトサンプルのみ。Illumina Exome PanelおよびRespiratory Oligos Panel v2でテスト済み。Illumina RNA Prep with Enrichmentはストランド情報を提供しません。

c. 高品質RNAの場合の最小インプットを示しています。最適な品質とIllumina Stranded Total RNA PrepのFFPEには、最低10 ngが推奨されます。

d. Illumina Stranded Total RNAおよびmRNAのワークフローでは最大24サンプル、濃縮ワークフローでは1サンプルの手作業処理に基づくハンズオンタイムと合計時間。

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のプリセットプロトコールは、NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムで使用できます。

NextSeq 1000およびNextSeq 2000システム

NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムは、柔軟性とスケラビリティを提供し、トランスクリプトーム解析のあらゆるニーズに対応します。4種類のフローセルタイプを利用できるため、サンプル数とサンプルごとのリード数の最適なバランスを選択できます（表2）。例えば、遺伝子発現プロファイリング（既知の転写物全体の遺伝子レベルの存在量の測定）は、1回のランで最大180サンプル[†]のハイスループット能力により効率的に実行できます。全トランスクリプトーム解析では、ランごとに最大36サンプルのコーディングRNAとノンコーディングRNAを調べること、新しい転写物の発見が可能になり、コーディングRNA解析では1回のランあたり最大72サンプルを調べることができます（表2、表3）。実験計画とシーケンス深度に関する最新のガイダンスについては、対象の分野と生物種に関する主要文献を参照してください。

[†] 発現プロファイリングは、サンプルあたり1,000万リードを想定しています。

NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムは、アプリケーション間の柔軟性を提供するため、シーケンスプロジェクト間を簡単に切り替えできるようになります。本システムは、イルミナおよびサードパーティのさまざまなライブラリー調製キットに対応しており、バルクRNA-Seq、シングルセルRNA-Seq、全トランスクリプトームシーケンス、エクソームシーケンス、およびその他のアプリケーションの間を簡単に切り替えできます。例えば、NextSeq 1000またはNextSeq 2000システムでRNA-Seqとエクソームシーケンスを組み合わせて、コーディングバリエーションが転写発現に影響を与えるかどうかを評価したり、ATAC-Seq[‡]を実施し、クロマチンアクセシビリティを解析し、機能制御をより詳細に特徴付けることができます。

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システムを使用することで、より深いリード深度でより情報量の多い研究を行うことができ、その結果、倍数変化の推定がより正確になり、高い感度での遺伝子、転写産物、および発現差異の検出が可能になります。NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムは、これまでで最速、最高品質、最もロバスタなイルミナSBS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。

[‡] ATAC-Seq = assay for transposase-accessible chromatin with sequencing

表2：Illumina RNA-Seqソリューションとフローセルあたりのサンプルスループット

方法	測定対象	サンプルあたりの典型的なリードペア数 ^a	ライブラリー調製	ランごとのフローセルあたりのサンプル数						
				NextSeq 1000およびNextSeq 2000システム				NovaSeq Xシリーズ ^d		
				P1	P2	P3 ^c	P4 ^c	1.5B	10B	25B
遺伝子発現定量	既知の転写物全体での遺伝子レベルの存在量	1,000万	Illumina Stranded mRNA Prep ^b	10	40	120	180	150	~1,000 ^e	~2,500 ^e
mRNA-Seq	コーディングRNA存在量と発見	2,500万	Illumina RNA Prep with Enrichment	4	16	48	72	~60	~400 ^e	~1,000 ^e
トータルRNA-Seq	コーディングRNAとノンコーディングRNAの存在量と発見	5,000万	Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus	2	8	24	36	~30	~200	~520 ^e

a. 推奨されるリード長は、Illumina Stranded Total RNA PrepおよびIllumina Stranded mRNA Prepでは75 bp × 2、Illumina RNA Prep with Enrichmentでは100 bp × 2です。
b. Illumina Stranded mRNA PrepはFFPEサンプルと互換性がありません。低品質またはFFPEサンプルの場合は、Illumina RNA Prep with EnrichmentまたはIllumina Stranded Total RNA Prepが推奨されます。
c. P3およびP4試薬はNextSeq 2000システムでのみ使用できます。
d. 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、単一のフローセルをランできます。
e. 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。

表3：NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムのRNA-Seqに対する性能パラメーター

フローセル	シングルエンドリード ^a	リード長	出力 ^a	ランタイム ^b	データ品質 ^c	必要なインプット量
NextSeq 1000/2000 P1 XLEAP-SBS Reagents	1億	150 bp × 2	30 Gb	17時間	90%以上の 塩基がQ30	Illumina RNA Prepを用いる場合 10 ng~1 µg
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagents	4億	100 bp × 2	80 Gb	19時間		
NextSeq 2000 P3 XLEAP-SBS Reagents ^d	12億	100 bp × 2	240 Gb	31時間		
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagents ^d	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. P3およびP4試薬はNextSeq 2000システムでのみ使用できます。						

XLEAP-SBS試薬により、イルミナベンチトップシーケンスシステムの中で最高のリード出力と100万リードあたりの最安値を実現します。100万リードあたりのコスト削減と追加のシーケンス能力により、次のことが可能になります：

- サンプルあたりのリード数が増加し、存在量の少ない転写産物に関する情報を取得
- より多くのサンプルを使用して、与えられた研究予算内でよりロバストな実験計画を実現
- より包括的な方法により、RNA全体像のより複雑な側面を捉え、より多くの発見を推進

NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムの複数のフローセル構成（表3）により、サンプル数と出力要件に基づいて研究デザインを最適化できます。例えば、NextSeq 2000 P4フローセルによる追加のシーケンス能力により、適切なパワーを使用した研究をより簡単かつ経済的に設計し、RNA-Seqをラボの分子解析ツールのレパートリーの一部として日常的に使うことができます。より高いサンプルスループットが必要な場合は、NovaSeq™ Xシリーズを使用して、1回のランあたり数百サンプルまで研究をスケールアップできます（表2）。

ペアエンドシーケンスの価値

NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムを使用することで、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対

する経済的なオプションですが、ペアエンドRNA-Seqはストランド特異的情報に不可欠であり、重要な利点があります。インサートの両端から生成されるリード深度情報により、転写産物異性体を効果的に区別することができ、転写産物レベルの存在量のより正確な検出と定量が可能になります。ペアエンド情報により、遺伝子融合および挿入/欠失 (Indel) バリエーションの検出感度が大幅に向上します。

イルミナのシンプルな解析ソリューション

DRAGEN™二次解析

RNA-Seqデータ解析は、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イルミナDRAGEN二次解析ツールを使用して実施できます。[§] イルミナDRAGEN RNAパイプラインは、リファレンスゲノムに対する正確なRNAアライメント、遺伝子のバリエーションコールと定量、スプライスジャンクションと候補遺伝子融合の特性評価を実施します（図3）。DRAGEN RNAパイプラインは、Illumina Connected AnalyticsまたはBaseSpace Sequence Hubを使用してクラウド上で起動するようにランセットアップの一部として構成することも、NextSeq 1000およびNextSeq 2000システム搭載のDRAGENハードウェアを使用して装置上のワークフローとして構成することもできます。

§ 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。

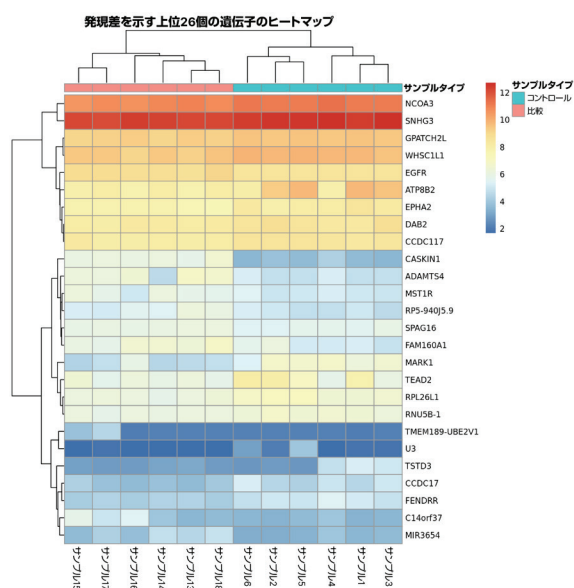


図3：DRAGEN RNAパイプライン：DRAGEN RNAパイプラインを使用した発現差異ヒートマップのスクリーンショットの例。NextSeq 1000およびNextSeq 2000システム上で、またはBaseSpace Sequence HubまたはIllumina Connected Analyticsを備えたクラウド上で利用できます。

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にパッケージングされた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、解析済みデータと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、幅広い下流解析ツールに直接入力できます。Illumina Connected AnalyticsとBaseSpace Sequence Hubは、DRAGENプラットフォーム以外に、視覚化、解析、共有のためのツールを提供します。

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、パ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。

まとめ

NextSeq 1000およびNextSeq 2000 RNA-Seq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、高度なRNAライブラリー調製ポートフォリオおよびユーザーフレンドリーなRNA-Seqソフトウェアアプリケーションを組み合わせ、RNA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。4種類のフローセルタイプにより、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の発見まで、あらゆる種類のRNA-Seqプロジェクトのコスト効率を保証します。

詳細はこちら

[RNAシーケンス](#)

[イルミナRNAライブラリー調製](#)

[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

- Geraci F, Saha I, Bianchini M. [Editorial: RNA-Seq Analysis: Methods, Applications and Challenges](#). *Front Genet.* 2020;11:220. doi:10.3389/fgene.2020.00220
- Corchete LA, Rojas EA, Alonso-López D, De Las Rivas J, Gutiérrez NC, Burguillo FJ. [Systematic comparison and assessment of RNA-seq procedures for gene expression quantitative analysis](#). *Sci Rep.* 2020;10(1):19737. doi:10.1038/s41598-020-76881-x

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) ^a	20100983
NextSeq 1000/2000 P1 XLEAP-SBS Reagent Kit (300 cycles) ^a	20100982
NextSeq 1000/2000 P1 XLEAP-SBS Reagent Kit (600 cycles) ^a	20100981
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (100 cycles) ^a	20100987
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (200 cycles) ^a	20100986
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (300 cycles) ^a	20100985
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (600 cycles) ^a	20100984
NextSeq 2000 P3 XLEAP-SBS Reagent Kit (100 cycles) ^a	20100990
NextSeq 2000 P3 XLEAP-SBS Reagent Kit (200 cycles) ^a	20100989
NextSeq 2000 P3 XLEAP-SBS Reagent Kit (300 cycles) ^a	20100988
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagent Kit (50 cycles) ^a	20100995
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagent Kit (100 cycles) ^a	20100994
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagent Kit (200 cycles) ^a	20100993
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagent Kit (300 cycles) ^a	20100992
NextSeq 1000/2000 XLEAP-SBS Read and Index Primers ^a	20112856
NextSeq 1000/2000 XLEAP-SBS Index Primer Kit ^a	20112858

製品情報	
製品	カタログ 番号
NextSeq 1000/2000 XLEAP-SBS Read Primer Kit ^a	20112859
Illumina Stranded Total RNA Prep, Ligation with Ribo-Zero Plus (16 samples)	20040525
Illumina Stranded Total RNA Prep, Ligation with Ribo-Zero Plus (96 samples)	20040529
Illumina Stranded mRNA Prep, Ligation (16 samples)	20040532
Illumina Stranded mRNA Prep, Ligation (96 samples)	20040534
Illumina RNA Prep with Enrichment, (L) Tagmentation (16 samples)	20040536
Illumina RNA Prep with Enrichment, (L) Tagmentation (96 samples)	20040537
Illumina Exome Panel	20020183
Illumina RNA UD Indexes Set A, Ligation (96 indexes, 96 samples) ^b	20091655
Illumina RNA UD Indexes Set B, Ligation (96 indexes, 96 samples) ^b	20091657
Illumina RNA UD Indexes Set C, Ligation (96 indexes, 96 samples) ^b	20091659
Illumina RNA UD Indexes Set D, Ligation (96 indexes, 96 samples) ^b	20091661
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set A, Tagmentation (96 indexes, 96 samples) ^b	20091654
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set B, Tagmentation (96 indexes, 96 samples) ^b	20091656
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set C, Tagmentation (96 indexes, 96 samples) ^b	20091658
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set D, Tagmentation (96 indexes, 96 samples) ^b	20091660
a. NextSeq1000およびNextSeq 2000システム装置用の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. ライゲーションインデックスはトータルRNAおよびmRNA調製キットと互換性があります。タグメンテーションインデックスは、DNAおよびRNA濃縮調製キットと互換性があります。	

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

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。

販売店

illumina®