

illumina Genomics Architectureに よるillumina DNA PCR-Free Prepを 使用したPopGen 研究

自動化WGSワークフローによる
一貫したライブラリー調製
パフォーマンス

illumina®

はじめに

イルミナの次世代シーケンス (NGS) テクノロジーは、高品質で正確なデータを提供し、ゲノミクス、トランスクリプトミクス、エピゲノミクスにおける幅広いアプリケーションを可能にします。NGSワークフローは、ライブラリー調製からシーケンス、データ解析および解釈へ進みます。イルミナの製品ポートフォリオには、多くのアプリケーション分野に対応する、ワークフロー全体にわたるさまざまなコンポーネントが含まれています。イルミナ製品は多様であるため、新しいお客様は、個々のコンポーネントを1つのワークフロー (DNAやRNAの抽出からバリエーションレポート作成まで) に統合するのは面倒で時間がかかると感じることがあるかもしれません。また、多くのイルミナのワークフローは自動化システムに対応していますが、自動化メソッドを既存の業務に統合して最適化するために必要な、技術的専門知識の習得が困難だと思われることもあるかもしれません。

Illumina Genomics Architecture (IGA) は、研究アプリケーションと臨床研究アプリケーションの両方において、DNAから結果取得までのNGSワークフローを自動化対応も含めて迅速に導入し、実施することを目的に、標準化されたモジュール式の柔軟なフレームワークでこれらの課題に取り組みます。IGAは、全エクソームシーケンス (WES)、全ゲノムシーケンス (WGS)、および集団ゲノミクス (PopGen) プログラムのためにDNAからデータ取得までのワークフローを実施されるお客様をサポートしてきた経験から始めました (図1)。

IGAがサポートを提供したプログラムの1つは、SG100Kプロジェクトです。SG100Kは、アジア人のゲノム多様性をより深く理解するために、シンガポールの健康人10万人のゲノムをシーケンスすることを目的とした、イルミナとPrecision Health Research Singapore (PRECISE) との共同プロジェクトです。SG100Kプロジェクトの一環として、NGSワークフローを自動化するためのIGA内のスクリプトを評価する試みがなされました。このアプリケーションノートでは、その評価のために、英国とシンガポールの異なる施設の独立したオペレーターが生成した、WGS内部データをご紹介します。

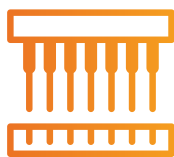
方法

IGAは、ライブラリー調製とソフトウェア統合のための専用のロボットスクリプトを備えており、シーケンスとデータ解析を自動化および効率化します。

ライブラリー調製

シーケンスライブラリーは、Illumina DNA PCR-Free Prep (イルミナ、カタログ番号: 20041794) を使用して、SG100Kプロジェクトの一環として登録された健康な個人から採取された血液サンプルから抽出された400 ngの高品質ゲノムDNA (gDNA) から調製しました。ライブラリー調製は、Hamilton STAR分注機を使用して自動で実施しました。

ライブラリー調製



分注機ロボットによるIllumina
DNA PCR-Free Prep

シーケンス



NovaSeq 6000システム

データ解析



BaseSpace Sequence Hub
DRAGEN Germline pipeline

図1: Illumina Genomics ArchitectureのWGSワークフロー: IGAは、Illumina DNA PCR-Free Prepによる自動化ライブラリー調製、NovaSeq 6000システムでのシーケンス、およびDRAGEN Germline Pipelineによる解析を統合する、WGS用のDNAからデータ取得までのワークフローに対応します。

シーケンス

調製したライブラリーはNovaSeq™ 6000システム（イルミナ、カタログ番号：20012850）、151 bp × 2のラン構成でシーケンスしました。S4フローセルあたり24個のサンプルを30 ×カバレッジで解析しました（イルミナ、カタログ番号：20028312）。IGAによる自動ワークフローの一部として、Clarity™ LIMSソフトウェアが、分注機にバルクプーリング、変性、ライブラリーのNovaSeq 6000システムへのローディングを実行するように指示し、シーケンスランを自動的に開始するために必要な情報を送信しました。

データ解析

シーケンスランが完了すると、データは自動的にBaseSpace™ Sequence Hubにストリーミングされ、DRAGEN™ Germline Pipeline v3.7.8で解析されました。JMPソフトウェアを統計解析とグラフのプロットに使用しました。

結果

Illumina DNA PCR-Free Prepを用いてWGSワークフローを自動化、効率化するためのIGA内のスクリプトを評価するため、分散分析（ANOVA）を使用して、シンガポールと英国の異なる施設で独立したオペレーターによって取得されシーケンスデータを比較しました。結果より、異なる施設で別々の機器を使用し、IGAワークフロースクリプトを実践した独立したオペレーター間のロバストなパフォーマンスと最小限のばらつきが立証されました（[図2](#)および[表1](#)）。

表1: IGAによるデータ一貫性のまとめ

パラメーター	平均値 ± 標準偏差
主なパフォーマンスメトリクス (191サンプル ^a)	
常染色体平均カバレッジ	36.39 ± 5.9%
15 ×以上のカバレッジのあるゲノムの割合	94.72 ± 7.8%
Q30塩基	102.1 ± 16.7 Gbp
常染色体コーラビリティの割合	97.05 ± 7.1%
インサート長中央値	459.4 ± 20.2 bp
サンプルコンタミネーション推測値	0.001 ± 0.0002
SNV解析 ^b (99サンプル)	
SNVコール率	99.84 ± 0.11%
SNV精度	99.83 ± 0.03%
Indelコール率	99.58 ± 0.31%
Indel精度	99.66 ± 0.15%

a. Coriellから抽出されたDNA。
b. 単一正解サンプルNA12878のデータに基づく。

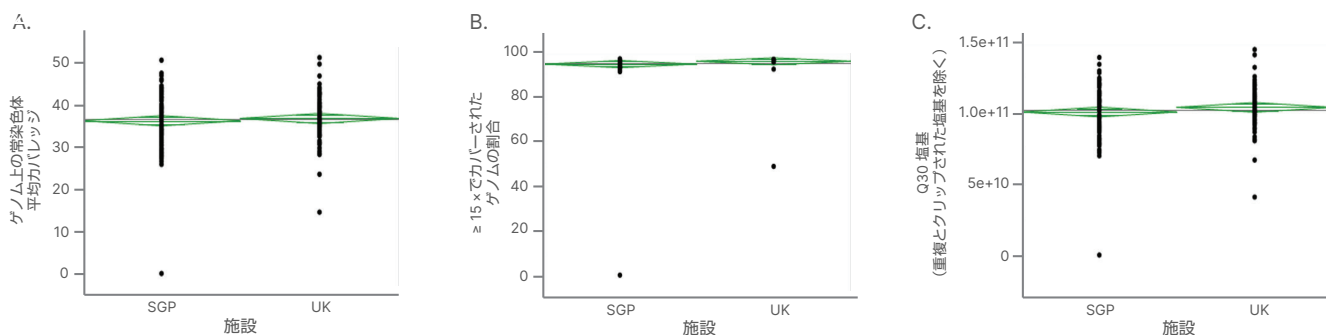


図2: 異なる施設の独立したオペレーターによるデータパフォーマンスと一貫性: シンガポール (SGP) と英国 (UK) のシーケンスデータのANOVAより、(A) 常染色体平均カバレッジ率、(B) 15 ×以上のカバレッジのあるゲノムの割合、(C) Q30塩基 (クリップされた塩基および重複は除く) による測定から、非常に一貫性のあるパフォーマンスが示されました。

まとめ

IGAは、自動化に対応したDNAから結果取得までのNGSワークフローを迅速に導入することを目的とした、標準化されたモジュール式の柔軟なフレームワークです。WGS用にIGAを実装しIllumina DNA PCR-Free Prepを使用することで、S4フローセルあたり24個のサンプルを同日にライブラリー調製およびプーリングし、30 ×ゲノムカバレッジを達成するためのシーケンスが可能になります。PopGen SG100Kプログラムの一環として、IGAは、異なる施設の独立したオペレーター間で、一貫性が高くロバストなパフォーマンスを実現します。これらの結果は、ワークフローを自動化し、NGSメソッドに信頼度の高いパフォーマンスを提供するIGAの能力を示しています。

詳細はこちら

[\[Illumina Genomics Architecture\]](#)

[Illumina DNA PCR-Free Prep](#)

[NovaSeq 6000システム](#)

[DRAGEN二次解析](#)

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

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

© 2023 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。

illumina[®]