

次世代シーケンサーの比較と共通利用における運用の工夫

大沼 愛子

人獣共通感染症国際共同研究所 技術室

概要

人獣共通感染症国際共同研究所では、2010 年に次世代シーケンサー (NGS: Next-Generation Sequencer) を導入して以来、さまざまな機種 of NGS を活用してきた。本発表では、それぞれの特徴や性能を比較し、共通利用における利便性を高めるための運用上の工夫について紹介する。

1. NGS とは

NGS は、DNA や RNA などの複数サンプルを同時にシーケンスすることで、1 ランあたり数十億から数百億塩基の配列データを取得できる装置である。2005 年に初めて商用 NGS が登場して以来、ゲノム解析研究は飛躍的に発展し、医療、基礎研究、農業、環境など幅広い分野で応用されている。

具体例として、新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) の流行時には、NGS により得られたウイルス配列情報が変異株解析や感染拡大のモニタリング、さらにはワクチンおよび治療薬開発に活用された。

主な応用例

- **全ゲノム解析**: ヒトや動植物、微生物のゲノム全体を解読し、種の同定や変異解析に利用
- **ターゲットシーケンス**: がんや遺伝性疾患に関連する特定の遺伝子群を解析
- **メタゲノム解析**: 土壌、水、腸内などに含まれる微生物を培養せずに網羅的に解析

2. NGS の比較

2010 年から現在までに複数の NGS を使用してきた。表 1 に示すように、機種ごとにリード長やリード数などの性能は異なり、長所と短所があるため解析内容に応じた使い分けが望ましい。さらに、各社のシーケンス原理が異なるため、作業工程や所要時間にも差がある。

技術開発の競争により新機種が次々と登場し、ランニングコストや操作性が大幅に改善され、大容量のデータを短時間で取得できるようになった。しかし、既存機種ではメーカーサポートが終了し、長期的な利用が難しいこともある。

表 1 NGS 比較表

導入年	2010	2010	2012	2014	2014	2015	2020	2024
メーカー	Thermo Fisher Scientific	Roche	Thermo Fisher Scientific	Thermo Fisher Scientific	illumina	TOMY Digital Biology	illumina	illumina
機種	SOLID 5500	GS Junior	Ion PGM	Ion Proton	MiSeq	PacBio RS- II	iSeq 100	NextSeq1000
								
最大リード長	75 bp	700 bp	400 bp	200 bp	300 bp x 2 (Paired-end reads)	10,000~ bp	150 bp x 2 (Paired-end reads)	300 bp x 2 (Paired-end reads)
最大リード数	12億	15万	500万	8000万	2500万 (Paired-end reads)	4万	400万 (Paired-end reads)	4億 (Paired-end reads)
最大データ量	90 Gb	100 Mb	2 Gb	16 Gb	15 Gb	4 Gb	1.2 Gb	240 Gb
メーカーサポート状況	2017年終了	2016年終了	2023年終了	2023年終了	2029年終了予定	2023年終了	2029年終了予定	継続中
特徴	・高精度 ・短い領域の解析向き ・作業時間が長い ・操作性に難あり	・小規模解析 ・長い領域の解析向き ・作業時間が長い	・小規模解析 ・ターゲットシーケンス ・作業時間が長い	・中規模解析 ・ターゲットシーケンス ・作業時間が長い	・中規模解析 ・高精度 ・作業時間が短い	・ロングリード ・長い領域の解析向き ・作業時間が長い	・小規模解析 ・高精度 ・作業時間が短い ・教育向け	・大規模解析 ・高精度 ・作業時間が短い

3. 共通利用における運用の工夫

一般的なオープンファシリティでは、装置のみを共用し、試薬は利用者が各自で準備する場合が多い。しかし、数回しか利用しない短期実験であっても高価な専用試薬を購入しなければならず、しかも 10 回分など必要以上の量でしか販売されていない場合がある。さらに、準備が不十分だと実験途中で試薬が足りなくなり、作業を中断せざるを得ないこともある。

そこで、効率的で使いやすい共通利用を目指し、図 1 に示すイルミナ社 NGS の作業工程で使用する試薬を共通管理し、必要な分だけいつでも利用できる運用を開始した。

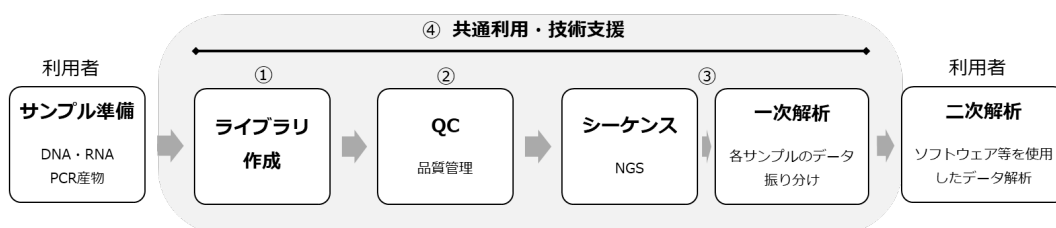


図 1 イルミナ社 NGS の作業工程

① ライブラリ作成

サンプルを NGS で解析可能な状態に調製したものを「ライブラリ」と呼ぶ。ライブラリ作成には、サンプルの種類に応じた専用キットを使用し、1 サンプル単位で利用できるように設定した。さらに、反応量を半分にして調製することで、通常の半額で提供可能としている。

② QC(クオリティコントロール:品質管理)

ライブラリ作成後、サイズ分布や濃度を確認するために使用する装置の試薬も、1 回ずつ利用できるようにしている。

③ シーケンス・一次解析

リード長やデータ量に応じてシーケンス試薬を選択し、シーケンス後は一次解析としてデータを各サンプルに振り分ける。需要が高い試薬については、1 ラン単位で利用料を設定している。

最近導入した NGS では、1 ランあたりのデータ量が増加したため、利用者 1 人で利用するには多すぎる場合がある。そこで、データ量を分割し、複数の利用者がランを共有する相乗り運用も導入した。

具体例として、1 ランあたり 60Gb(600 億塩基)の試薬でデータを 6 分割し、10Gb 単位で利用料を設定。合計 60Gb 分の利用希望が揃い次第、シーケンスを実施する。

④ 技術支援の取り組み

サンプル準備や二次解析は利用者が行うが、①～③の工程について依頼があった場合は、どの段階からでも支援可能である。また、利用者自身で作業を希望する場合は、説明を交えながら一緒に実験を行っている。

4. 運用後の効果

実際に相乗り運用を行った結果、希望通りに各利用者のデータ量を分割でき、利用料も抑えられることから好評を得ている。

このような運用により、初心者や学生、短期利用者、外部の共同研究者でも手軽に利用できるようになった。加えて、研究費の有効活用や研究支援、教育・人材育成、共通利用の促進にもつながっている。