

次世代シーケンサ Genome Analyzer IIx システムの紹介

医学系部門 生命科学実験班

田井 里佳

1. はじめに

原爆放射線医科学研究所（以下「原医研」という）附属放射線先端医学実験施設（以下「先端施設」という）遺伝子実験系では、平成21年12月、イルミナ社製次世代シーケンサ Genome Analyzer IIx が導入され、平成22年4月より共同利用・同研究拠点（放射線影響・医科学研究拠点）として広島大学内外の研究者を対象にシーケンス依頼解析の受託を開始している。

今回は、現況報告とともに最先端技術であるイルミナ社製次世代シーケンサについて簡単に紹介する。

2. イルミナ社製次世代シーケンサとは

(1) Genome Analyzer IIx System の概要

Genome Analyzer IIx は、核酸サンプルからライブラリーを調整、cBot を用いてクラスターを形成、Sequencing by Synthesis 法によって作成したクラスターをシーケンス、リアルタイムによるイメージ解析とベースコール、という自動化されてシンプルなワークフローを持ち、最大で2×150bp のリード長と5億のリード数を実現し、多彩なアプリケーション（ゲノムシーケンス、遺伝子発現調節、トランスクリプトーム解析、SNP 探索および構造多型解析、DNA-タンパク質相互作用解析、DNA メチル化解析等）に対応できるシステムである（図1,2）。

(2) Genome Analyzer IIx System の原理

ライブラリー調整；ゲノム DNA を200 ~ 300bp 程度に断片化し、末端を修復、A オーバーハングを付加する。この DNA 断片と T を有するアダプターをライゲーションさせ、ゲル精製と PCR により両端にアダプターを有する DNA 断

片を選択し、DNA 量を増幅させる。

クラスター形成；DNA テンプレートをフローセルという基盤に結合させ、ブリッジ増幅を繰り返し、数億種類のクラスターを形成する。このクラスターにシーケンスプライマーを結合させ、シーケンスの準備が整う。

シーケンス；1サイクル毎に試薬の添加、1塩基伸長、蛍光シグナルの読み取り、デブロッキングと試薬の除去を繰り返し、数億のクラスターが同時並行で大量シーケンスされる。これらはリアルタイムで蛍光イメージから塩基配列に変換され、ベースコールが生成される。



図1 . cBot Cluster Generation System



図2 . Genome Analyzer IIx System

3. 次世代シーケンサ受託サービスについて

(1) 稼働状況

現在、本格稼働から約半年が経過し、14名の研究者から解析依頼を受け、18ラン108サンプルを実施している。内訳は、Single Read 36bp が10ラン、Paired End Read 36bp が1ラン、Paired End Read 76bp が7ランとなっている。

(2) 受託範囲

現在の受託範囲は、クラスター形成からベースコールまでである。ライブラリー調整済みサンプルを1レーンから受け入れ、フローセルが8レーンであることから、コントロールレーンを除いた7レーン分が揃ったら、ランを実行している。返却データはベースコールデータとリファレンスシーケンスとの照合データである。なお、ライブラリー調整と2次解析以降は利用者に行って頂いている。

(3) 利用方法と利用料

利用手続きは、事前に年1回、共同利用・共同研究申請書を原医研事務室に、中央研究機器室登録申請書を遺伝子実験系機器サービス室に提出する必要がある。実際の利用時には、サンプルに次世代シーケンサ解析依頼書を添えて提出頂いた後、ランを実行する。

利用者の費用負担は、専用試薬代のみ利用料としてご負担頂いている(表1)。また、安価なサンプル調整法を紹介し、この方法に必要なオリゴキットを先端施設で購入し、利用者に小分け提供することで、ライブラリー調整代の負担も軽減できるように支援している。

(4) 問い合わせ先

原医研先端施設 ホームページ ;
<http://home.hiroshima-u.ac.jp/gsentan/>
遺伝子実験系機器サービス室 E-mail ;
gsentan@hiroshima-u.ac.jp

表1. 次世代シーケンサの利用に関する料金

解析の種類		利用料単価 (円/レーン)
Single Read	36bp	83,200
	76bp	108,800
	100bp	134,300
Paired End	36bp	152,200
	76bp	203,300
	100bp	254,300
消耗品名	規格	利用料単価 (円/1本)
サンプル調整用オリゴ	10反応分	75,100

4. おわりに

次世代シーケンサは、手軽で低コストに網羅的解析を行うことができる一方で、従来型シーケンサの数十万倍という膨大な配列データの中から、如何に研究の目的に適した信頼性の高い候補を選び出し、精度良く絞り込むかという課題を抱えている。このデータ解析の課題をご理解の上、多数の方に次世代シーケンサをご利用頂きたい。

5. 参考文献

イルミナ株式会社
<http://www.illumina.co.jp/index.shtml>