

Magnis 全自動 NGS ライブラリ調製 ソリューションによる効率性の向上と スループットの実現

はじめに

この 10 年間、ターゲットエンリッチメントを用いた次世代シーケンシング (NGS) が、膨大な範囲の研究領域とアプリケーションに用いられてきました。研究の対象が全エクソームシーケンスか、的を絞った遺伝子パネルかに関わらず、幅広いサンプルタイプから関心のあるバリエーションを迅速かつ簡単に同定するために、ターゲットシーケンスは活用されてきました。

近年、この技術の感度が向上したことで、不均一な腫瘍サンプル由来の DNA やセルフリー DNA から一塩基多型 (SNP) および indel の低頻度バリエーションを同定し、またコピー数変異 (CNV) および転座を明らかにすることができるようになりました。しかし、ターゲット NGS ワークフローでは、作業工程が長く、膨大な手作業時間を要することが多々あります。現在の技術を用いても、ワークフローにおいて (ターゲットエンリッチメントを含む) ライブラリの調製作業は最も工数を要します。

自動化もしくは手作業でのライブラリ調製

ターゲットエンリッチメントの実用範囲が拡張したことにより、DNA ライブラリの品質を保ちつつ、調製工程を効率化し、スループットと効率を向上させる方法が求められています。分注装置などの自動化プロトコルを採用しているラボもあれば、手作業で DNA サンプルを処理しているラボもあります。いずれの方法にも長所と短所があります。

本資料では、まずこれら 2 つのアプローチの説明と比較をし、その後、柔軟性や品質を損なうことなく生産性を向上させ、ラボの運営効率を最大化させるソリューションとしての Agilent Magnis NGS Prep System について紹介します。本システムは全自動装置で無人運用が可能なため、複数のライブラリ調製作業も効率よくすすめることができます。

手作業でのライブラリ調製

導入の容易さから、ターゲットエンリッチメントおよびライブラリ調製を手作業で実施することが一般的です。しかし、この工程には膨大な手作業時間が必要とされるため、複数の課題が生じることがあります。手作業でライブラリ調製を行っているラボでは、多くのサンプルを処理する際に、スループット、ラボ効率化、ターンアラウンドタイム、ライブラリ品質などの課題が生じることがあります。

- － **ラボの効率：**各ライブラリ調製には、ある程度実施経験をもつ作業者の時間や工数が費やされます。概ね、8 サンプルのバッチを処理するのに数時間の手作業時間を要します。例として、SureSelect ライブラリ調製とターゲットエンリッチメント試薬を使ったエクソームシーケンスを、毎週 8 サンプルのバッチを手作業で処理するラボについて考えます。この場合、作業者の手作業は 1 年あたり最大 150 時間となり、さらに毎週複数のバッチを実施する場合、その工数はそれに応じて増加することになります。ラボのスタッフの時間をより効率的に使う方法があると、多くのラボにとって便益となるかもしれません。
- － **ターンアラウンドタイム：**手作業のプロトコルでは一般的に、抽出した gDNA からシーケンスできるライブラリを調製するのに約 10 時間かかります。そして、1 日の作業時間でライブラリ調製の工程をすべて完了するか、もしくは作業中断ポイントまで実施して日中の作業を終えるよう、時間を確保しなくてはなりません。これらの制限が柔軟性を妨げるため、結果として、シーケンスできるライブラリを調製するための平均ターンアラウンドタイムが増えてしまいます。
- － **ライブラリ品質：**手作業では、誤った試薬の使用、サンプルの汚染、サンプルの取り違いなどのエラーが生じる可能性があります。ライブラリ調製の経験が豊富であったとしても、エラーの可能性は皆無ではありません。そのようなエラーが生じると、再度サンプルを処理するためにさらなる工数や試薬が必要になります。

それでも、処理するサンプルが少ない場合や NGS を始めたばかりという場合は、手作業によりライブラリ調製が行われることがあります。

自動化されたライブラリ調製

ライブラリ調製を自動化しているラボの多くは、自動分注装置を使用して工程を自動化しています。これらの汎用性のある装置では、複数のサンプルプレートを一度に処理することができます。また、プレートの操作、試薬のピペッティング、設定温度でのサンプルインキュベーション、サンプルの混合や曝気のための振とうなどを行うことができます。これら装置のハードウェアおよびソフトウェアの多くは目的にあわせた調整が可能で、汎用性があり、アフィニティ精製、qPCR、細胞ベースアッセイなど、NGS以外の多様なアプリケーションにも使用することができます。

ライブラリ調製を自動化する主な理由としては、スループットの向上、ラボ効率、結果の一貫性などがあります。良好なプロトコルが確立されたあとは、そのラボでは手作業時間が劇的に削減され、1 週間あたり数百サンプルを処理できるようになります。

しかし考慮すべき重要な点は、大半の自動化プラットフォームで完全に手作業が不要になるわけではないので、プロトコル実行の間は作業者がシステムから離れられないということです。ほとんどの分注装置でNGS プロトコルを実行する際、試薬調製およびプレートの準備に膨大な時間を必要とします。さらに、作業者は、そのプロトコル実行中の特定の時点で装置に試薬をセットする必要があります。また自動分注装置に（サーマルサイクラーなど）必要な装置が搭載されていない場合は、作業者がプレートを分注装置からその装置まで手作業で運搬しなくてはなりません。

どのような場合に自動化が有効か

大量のサンプル数を処理するラボでは、自動化ソリューションを導入することで、ライブラリ調製の時間とコストを大幅に削減することができます。しかし、処理するサンプル数があまり多くない場合（例えば週に最大、数十サンプルを処理するラボ）では、自動化の導入においてはコスト上の有効性について注意して検討されることがあります。ハイスループットの自動化装置導入のコストが、削減される工数コストでは十分に回収できないことがあるからです。また、分注装置で小さなバッチ（8 サンプル以下のサンプル数）を処理すると、各試薬にある程度のデッドボリュームが生じるため、サンプルあたりの試薬消費量が増え、結果としてサンプルあた

りの試薬コストが増えることになります。一方で、96 ウェルプレートですべて満たす数のサンプルが集まるまでサンプル処理を待つと、ターンアラウンドタイムを損なうことになります。

例えば、小さながんパネルから、包括的なゲノムプロファイリングパネルまで、幅広い複数のパネルを用いて 1 年あたり最大、数千サンプルを解析する分子病理学ラボがあるとします。1 年のうちの数週間は、必要とされるターンアラウンドタイムで数バッチを処理することがあるかもしれませんが、このサンプル処理数を手作業で実施すると大変多くの工数を要しますが、このサンプル処理数での自動化分注装置の使用はコスト効率という面で十分ではありません。分注装置にかかるコストに加え、サンプルあたりの試薬コストが大幅に増加することが考えられるからです。

その他にも、NGS ラボが手作業から自動化装置に移行する際の課題として、新しく導入した自動化装置に対してプロトコルを最適化するために費やされる時間が挙げられます。手作業と同等の性能を与える自動化ライブラリ調製プログラムを確立するために、プロトコルの最適化や再現性試験が必要になる場合があります。

装置のコスト、小バッチでの非効率な試薬消費、プロトコル最適化の必要性を考えると、1 回で数十サンプルを日常的に処理する場合に、自動分注装置が適しているのかもしれませんが。そのような、週に 100 サンプル以上を処理するコアファシリティやラボなどでは、多様なアプリケーションに対応するような自動分注装置の使用が有効かもしれません。

Magnis NGS Prep System

ラボのニーズは様々ではありますが、例えば、1 年あたり数百から数千サンプルを処理するラボでは、手作業でサンプル処理を行うのはあまりに非効率です。同時に、作業量を考えると、大型の分注装置での自動化はコストパフォーマンスがよくありません。

アジレントが提供する Magnis NGS Prep System ソリューションは、そのようなラボにご活用いただけます。Magnis System は自動分注システムであり、装置本体と、試薬が分注されたプレート、ソフトウェア、あらかじめ最適化されたライブラリ調製とターゲットエンリッチメントのプロトコルを提供しております。1 バッチあたり 8 サンプルを処理し、ライブラリ調製およびターゲットエンリッチメントの全工程を自動で実行し、イルミナシーケンサーでシーケンスできるライブラリを調製します。血液、新鮮凍結組織またはホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) サンプルから抽出し断片化した gDNA 10 ~ 200 ng を用いてライブラリの調製を行います。

装置には調製に必要なすべての機器が搭載されているので、作業中は Magnis System から離れることができます。必要な手作業時間は、装置のランを設定し、試薬消耗品を機器のデッキに装填するわずか 5 分だけです。その後は、装置で作業する必要はなく、Magnis System は 9 時間以内に 8 ライブラリを調製します。

Magnis NGS Prep System の利点

従来の分注装置や手作業によるワークフローに代わるソリューション、Magnis NGS Prep System には、ラボの効率、生産性および性能などにおいて利点があります。

使いやすいラン設定

Magnis NGS Prep System で使用するライブラリ調製試薬はあらかじめプレートに分注されており、これ以上分注を行う必要はありません。さらに、プロトコルは Magnis System にあらかじめ準備されているため、プレートに入った試薬と消耗品を装置に装填し、直感的なタッチスクリーンの内容に沿って、わずか 5 分でランを開始できます。

無人操作の完全自動化

汎用性のある自動分注装置と異なり、一度 Magnis でランの設定をして開始した後は、ランが完了してライブラリの回収を行うまで、追加で必要な作業はありません。



図 1. 手作業、自動分注装置、Magnis のワークフロー比較。ワークフローの手作業時間および全体のターンアラウンドタイムは 8 サンプルを処理するバッチを想定しています。

－ コスト効率性

Magnis System の装置コストは、大型の多目的な分注装置に比べるとわずかです。ライブラリ調製とターゲットエンリッチメントに要する作業工数は Magnis System により劇的に減少します。SureSelect XT HS ライブラリ調製とターゲットエンリッチメントを用いて 8 サンプル 1 バッチを処理するときの手作業時間は、手作業では 2.5 時間、自動分注装置では約 1 時間、Magnis System ではわずか 5 分です。

NGS ライブラリ調製とターゲットエンリッチメントを再度実施する場合を含めた運用コストも、ターゲット NGS ワークフローを日常的に行うラボにとっては重大な検討事項の 1 つです。1 年あたり最大 2,000 サンプルのターゲットシーケンスを行うラボでは、Magnis System を使用した場合の運用コストは、手作業や自動分注装置よりも低くなります。

－ 多様なスループットのニーズに適応する能力

分注装置は大量のサンプルバッチを処理するために最適化されています。これらのシステムでは、試薬を効率的に使用するために、各ランで少なくとも数十サンプル（好ましくは、24 ～ 96 サンプル）処理する必要があります。そのようなペースで日常的にサンプルを処理しないラボの場合、必要以上に試薬を消費したり、十分なサンプル数が揃うまで待つことでターンアラウンドタイムを損ねたりすることがあります。

しかし、Magnis System は 1 ランあたり 8 サンプルを処理するように設計されており、昼夜運用すると 1 日あたり 2 ラン実施することができるため、多くのラボにとってより効率的な選択肢となります。既に自動分注装置を用いて NGS ライブラリ調製を行う大規模なラボでも、特に急いで処理するサンプルがあるときや、調製に失敗したサンプルを迅速なターンアラウンドタイムで処理するときなどに、Magnis System は役立ちます。

－ ターンアラウンドタイム

Magnis System で 8 ライブラリを調製する時間は 9 時間以内であり、全自動装置であるためいつでもランを開始することができます。最適なシーケンサープラットフォームと組み合わせることで、生体サンプルを受け入れてから解析結果を得るまで 3 日間というターンアラウンドタイムを日常的に達成することができます（図 2）。さらに、ラボのシフト時間によっては、1 日に 2 回連続で Magnis のランを実行することもでき、3 日目の終わりには、16 サンプルに対する解析結果を得ることができます。

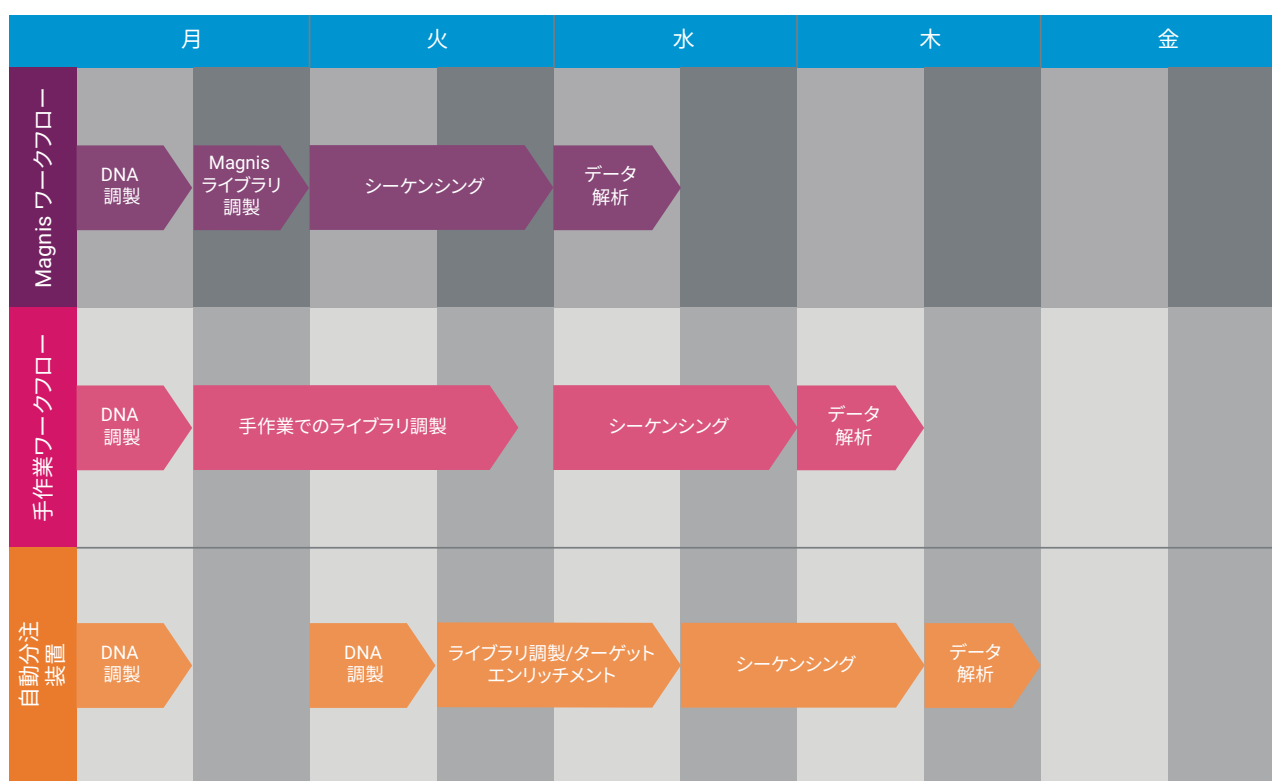


図 2. Magnis、手作業、一般的な自動分注装置での NGS ワークフローの全体スケジュール。自動分注装置では、コスト効率を良くするためにサンプルをひとまとめにするのに数日間が必要な場合があります（上図に反映）。

信頼性

Magnis System は NGS アプリケーション用に特別に設計されました。結果として、Magnis System のライブラリ調製失敗率やランの失敗率は非常に低く、再度ランを行う回数を最小限に抑えます。これにより作業時間と試薬コストを削減し、ターンアラウンドタイムの目標を達成し、量が限られているサンプル（固形腫瘍からの FFPE サンプルなど）での再実施が生じる状況を回避することに役立ちます。

再現性の向上

Magnis System は実施経験の豊富な作業者による手作業の結果にひけをとらないほどの高い再現性があります（図 3）。

試薬や機器と同様に、Magnis プロトコルはSureSelect ライブラリ調製およびターゲットエンリッチメント技術のために開発、最適化されています。Magnis System に搭載されているプロトコルSureSelectXT HS-Illumina は、SureSelect XT HS ケミストリに対応しており、さまざまなタイプのサンプルを用いて検証されています。図 3 では、Magnis の性能は再現性が高く、また、実施経験の豊富な作業者による手作業でのワークフローにも相当することを示しています。今後さらに追加されるアジレント検証済みプロトコルを、Magnis 装置に直接ダウンロードして使用いただくことで、アプリケーションを拡張していただける予定です。

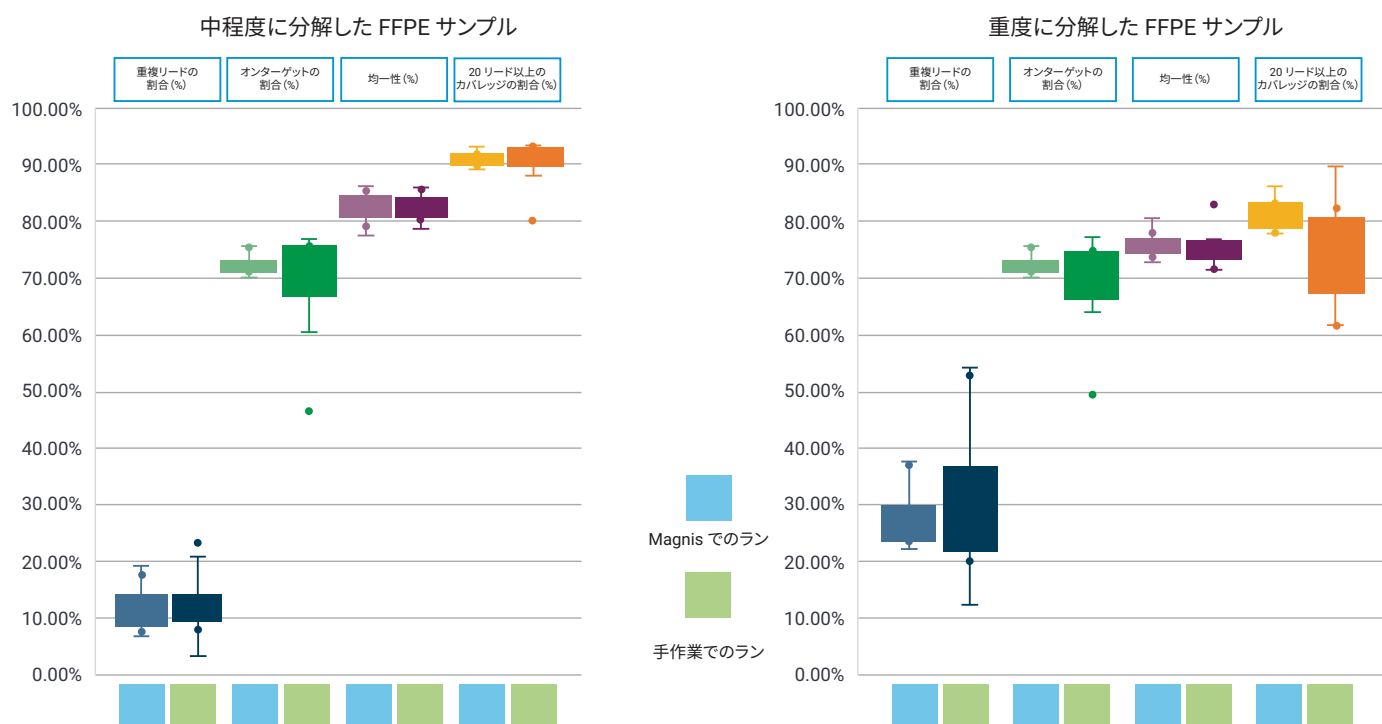


図 3. ライブラリ品質の手作業と Magnis との比較。FFPE サンプルから抽出した中程度または重度に分解した gDNA 10 ng を、機械的に断片化し、118 kb のカスタム NGS パネルを用いて、それぞれ Magnis で 5 回のランを行いました。4 つのシーケンスメトリクスを 2 つの方法間で比較しました。

結論

Magnis NGS Prep System は、NGS ライブラリ調製における従来の 2 つのアプローチ（手作業と自動分注装置）に代わる、バランスのいいソリューションです。遺伝学的研究、臨床診断につなげるための研究またはその他の NGS ベースのアプリケーションでターゲットエンリッチメントを使用するラボに、完全な自動化、一貫した性能、素晴らしいライブラリ調製性能およびコストの効率化を可能にするソリューションを提供いたします。

[お問い合わせ窓口]

アジレント・テクノロジー株式会社

本社 / 〒192-8510 東京都八王子市高倉町9-1

●カスタムコンタクトセンター ☎0120-477-111

mail : email_japan@agilent.com

※仕様は予告なく変更する場合があります。

※本資料掲載の製品はすべて研究用です。

その他の用途にご利用いただくことはできません。

<http://www.agilent.com/chem/genomics:jp>

© Agilent Technologies, Inc. 2020

本書の一部または全部を画面による事前の許可なしに複製、
改変、翻訳することは、著作権法で認められている場合を除き、
法律で禁止されています。

Printed in Japan, October 15, 2020

5994-2457JAJP