SURE 静岡大学学術リポジトリ
Shizuoka University REpository

次世代シーケンサーを用いた新たな研究支援体制の整備

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2019-09-19 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 森内, 良太, 兼崎, 友, 道羅, 英夫 メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.14945/00026791

次世代シーケンサーを用いた新たな研究支援体制の整備

森内良太[1,2]、兼崎友[2]、道羅英夫[2]
[1]静岡大学　技術部　機器分析部門、[2]静岡大学　グリーン科学技術研究所　ゲノム機能解析部

１．はじめに

2013 年 11 月、次世代シーケンサー（Next Generation Sequencer, NGS）MiSeq（Illumina 社）（図 1）が、ゲノム機能解析部に設置された。学内を中心に MiSeq を使用した研究支援を推進していく中で、MiSeq には適していない解析への対応が必要となった。また NGS のニーズの高まりを考慮し、MiSeq を学外へ開放する運びとなった。本稿では、NGS を用いた新たな研究支援体制の整備について報告する。

２．MiSeq を使用した研究支援

2.1　MiSeq の特徴

MiSeq は、ベンチトップ型の次世代シーケンサーである（図 1）。1 回のランニングで 15 Gb（およそヒトゲノム 5 人分）のデータが出力され、またシーケンシングコストは約 30 万円ほどである。例えば、約 5 万円で大腸菌のゲノム配列情報を取得することが可能である。MiSeq がシーケンス可能な塩基長は最大 300 塩基対（bp）×2 であり、後述する Pacific Bioscience 社のシーケンサーと比較すると短めであるが、正確に配列を読むことが可能という特徴を持つ。

図 1　Illumina 社の MiSeq

2.2　静岡大学におけるこれまでの支援状況

2014 年度より、MiSeq を使用した研究支援業務を本格的に開始し、学内を中心として主にゲノム解析、トランスクリプトーム解析、メタゲノム解析を実施してきた。2019 年 1 月までの MiSeq ランニング数と解析サンプル数、及び解析したサンプルの生物種をそれぞれ表 1 と表 2 に示した。MiSeq による支援を開始した当初の 2014、2015 年度と比較すると、現在のランニング数やサンプル数は落ち着いてきたように見える（表 1）が、ゲノム解析においては大きな変動が無く、一定数の依頼がある状況である。サンプルの内訳としては、菌類、バクテリア、アーキア、ウイルス、ファージといった微生物由来のサンプルが、動植物由来のサンプルよりも多いことがわかる（表 2）。これは MiSeq の出力データ量が、微生物サンプルの解析に適していることが理由の 1 つであると考える。また NGS の運用を本格的に開始して以降、ゲノム機能解析部の利用料収入はこれまでの 2 倍となり、全利用料のうち NGS による利用料が約半分を占めるまでになった（データの記載なし）。これらの結果より、学内における NGS のニーズは高く、また今後も特に微生物サンプルを扱った依頼が見込まれる。

表 1　年度ごとの MiSeq 稼働状況と解析サンプル数

年度	ゲノム解析		トランスクリプトーム解析		メタゲノム解析		年度別合計	
	ラン数	サンプル数	ラン数	サンプル数	ラン数	サンプル数	ラン数	サンプル数
2013年度	0	0	2	4	0	0	2	4
2014年度	4	34	17	80	1	23	22	137
2015年度	4	52	9	71	3	57	16	180
2016年度	5	65	11	75	0	0	16	140
2017年度	4	44	3	64	0	0	7	108
2018年度	3	36	2	22	0	0	5	58
計	20	231	44	316	4	80	68	627

表2　これまでに解析したサンプルの生物種

解析内容	サンプル内訳						計
	動物	植物	菌類	バクテリア or アーキア	ウイルス or ファージ	オルガネラ	
ゲノム解析	5	16	23	154	23	10	231
トランスクリプトーム解析	35	155	60	66	0	0	316
メタゲノム解析	0	0	0	80	0	0	80
計	40	171	83	300	23	10	627

３．MiSeq には適さない解析への対応

3.1　解決するべき問題点

MiSeq を使用した NGS 研究支援を行っていく中で、MiSeq のスペックでは対応しきれない、あるいは対応しない方が適切であるケースが増えたため、対策を検討する必要が生じた。例えば動植物等の真核生物の NGS 解析を行う場合、MiSeq が出力するデータ量では解析に不十分である。また出力されるリードの長さが 300 bp×2 であるため、例えば 1,000 bp を超えるようなリピート領域と呼ばれる塩基配列を多く持つサンプルの場合、完全長のゲノム配列を得ることが著しく困難となる。つまり MiSeq は、動植物などの高等生物由来サンプルの完全ゲノム解読を目的とするような解析には向かない機種であると言える。

3.2　解決策とその成果

これらの問題を解決するためには、MiSeq 以外の機種を使用するしかない。Illumina 社の HiSeq は最大で、MiSeq の 100 倍のデータを出力可能であり、大規模な解析に向いている。また PacBio Sequel（Pacific Bioscience 社）は最大 200 kbp 以上の超ロングリードデータを出力することができ、完全長 DNA 配列を得るための解析に向いている。これらの機器を使用することで上記の問題を解決できるが、両機器とも本体価格はおよそ 1 億円であり、学内に設置することは困難である。そこで著者らは、これらの機器を利用して外注サービスを行っている民間企業と交渉し、通常よりも安価な料金でこれらの機器によるシーケンス解析を実施できるようにした。本サービスは 2017 年度より学内向けに開始し、これまでに HiSeq を使用した解析依頼を 4 件（78 サンプル）、PacBio を使用した解析依頼を 2 件（2 サンプル）受けている。引き続き、これら外注サービスの利用を促していきたいと考えている。

４．MiSeq の学外開放事業

4.1　学外開放の趣旨とメリット

MiSeq を使用した研究支援を本格的に開始して以降、上述のように学内における解析ニーズが非常に高いことがわかった。そこで、学外からも次世代シーケンサーの受託解析を受け入れることにより設備の有効利用を図るとともに、特に地域の企業や研究機関との共同研究の促進及び受託解析を通じた利用料収入の増加を目指すことを目的として、MiSeq の学外開放事業を実施する運びとなった。

本事業のメリットとしては例えば、i) 現状の MiSeq の稼働状況には余力があるため、MiSeq のさらなる有効活用を図ることができる、ii) 年間の利用回数を増やすことができるため、学内の利用者にとっても迅速に解析できる、iii) 利用収入が増加することで、ゲノム機能解析部の他の共同利用機器の更新やメンテナンス費用などに充てることができる、ということが挙げられる。

4.2　解析内容及び利用料金

解析内容は学内と同様に、ゲノム解析、トランスクリプトーム解析、メタゲノム解析を行うこととした。基本的には MiSeq から出力された配列データを返却するのみであるが、事前に配列データ出力後の解析を希望する場合は、追加料金無しで解析後のデータも返却する。ゲノム解析は *De novo* シーケンスやリシーケンス、コピー数のカウント等の追加解析が可能である。トランスクリプトーム解析は、動植物等の

真核生物と、バクテリア等の原核生物両方とも受け入れている。メタゲノム解析は、アンプリコンシーケンスとショットガンメタゲノム解析のどちらも可能である。ここに挙げた以外の解析も可能であり、総じて幅広い解析依頼に対応することが可能である。

各解析における利用料金や取得データ量を、表 3 にまとめた。学内向けに案内している利用料金よりは若干高いが、民間企業と比較すると安価な部分もあり、適当な料金になっていると考える。なおゲノム解析とメタゲノム解析は、他の利用者のサンプルとの相乗りを想定し、トランスクリプトーム解析は、1 ランを占有する形でシーケンスを行うことを想定している。解析に必要な核酸の量や依頼の流れなど、詳しい情報はゲノム機能解析部ホームページをご覧頂きたい（http://www.shizuoka.ac.jp/~idenshi/NGS_gaibu_Top.html）。

表 3　各解析の利用料金と取得データ量

	解析依頼サンプル数（例）	想定する取得データ量/サンプル（Gb）	想定する取得データ量/サンプル（万リード）	利用料金/サンプル（円）
ゲノム解析	1	1.5	250	90,000～
トランスクリプトーム解析	6	0.63	417	70,000～
メタゲノム解析	8	0.3	50	25,000～

4.3　これまでの進捗状況と今後の課題

2018 年に入ってから本事業に関する協議が本格的に開始し、解析内容や料金について各部署と話し合いを進めた。同年 6 月にはグリーン科学技術研究所の教授会において、本事業計画が正式に承認された。同年 10 月、MiSeq の学外開放に関する専用ページをゲノム機能解析部のホームページに新設して公開し（図 2）、実質的な事業の開始となった。また本事業の宣伝ポスターやチラシを作成し（図 2）、第 17 回微生物研究会（東京大学）及び 2018 年度日本土壌肥料学会中部支部研究会例会（静岡大学）にて、事業の宣伝ポスターを掲示した。これらの宣伝効果もあり、2019 年 1 月の時点で 2 件の受託解析依頼を約定した。また個人レベルの問い合わせが、数件来ている状況である。引き続き、大学や企業との接点となる学会や交流会等で情報を収集し、事業を宣伝していく予定である。

今後の主な課題としては、以下の 2 つを考えている。1 つ目は、外部からの依頼サンプル数が過多になり、本来の通常業務が圧迫されてしまうことである。2019 年 1 月現在、ゲノム機能解析部は教員 2 名、技術職員 1 名、パート教務職員 1 名、事務職員 1 名の 5 名体制であるが、この人員で事業を行うことが困難な状況になった場合は、人員の拡充を検討したいと考えている。2 つ目は、これまでに述べたように MiSeq には適さないサンプルの解析依頼があった場合である。上述の通り、MiSeq は高等生物を扱うものや完全長ゲノムを得るための解析には不向きのため、これらの依頼は MiSeq 学外開放事業としては断るしかない。こうした依頼を共同研究という形で受け付けて、適切なシーケンサーの選定や安価な外注先のアドバイスを行い、その後のデータ解析のみを受託事業として受け付けるなどの形も設定可能かもしれない。いずれにしても協議が必要であり、またそれ以前にまずは本事業を広く宣伝し、一定の軌道に乗せることが重要である。

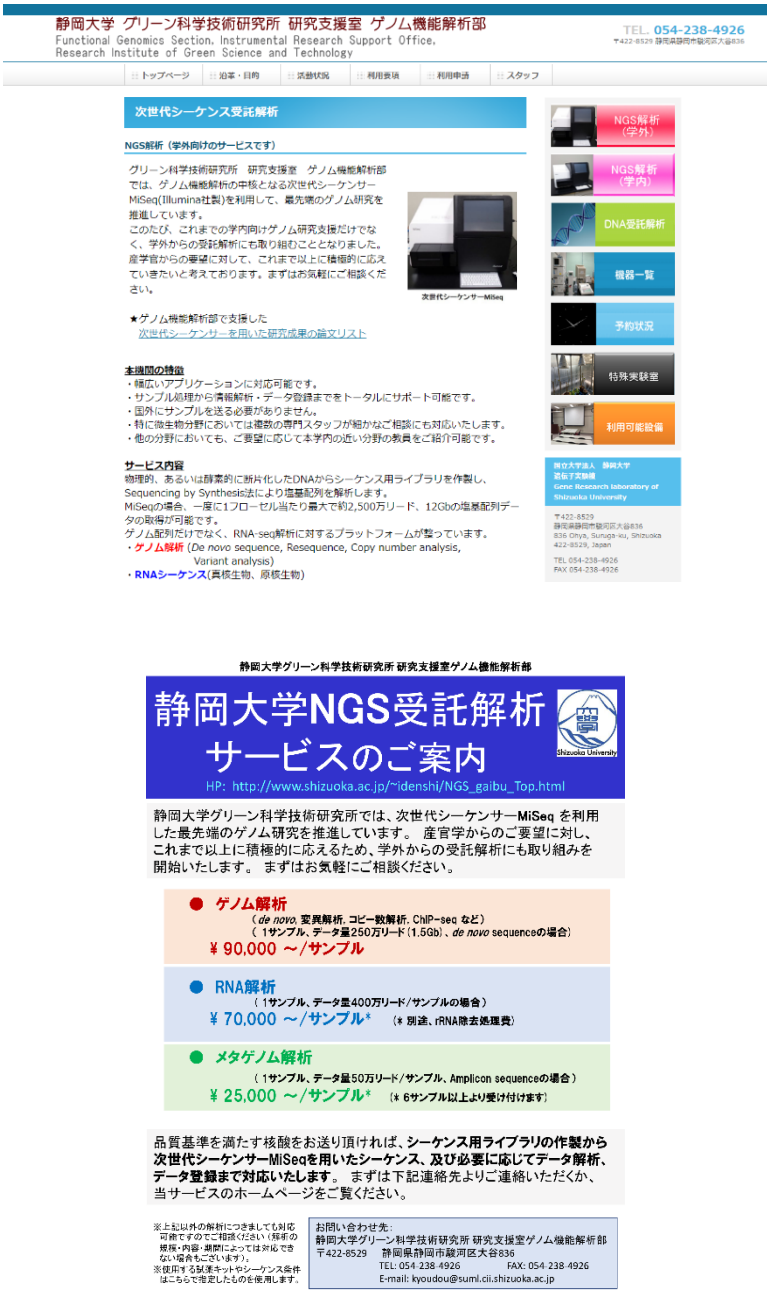

図２　MiSeq 学外開放事業の宣伝用ホームページ（上）とチラシ（下）

５．おわりに

学内及び学外に向けて、NGS 研究を推進するような新たな支援体制を整えた。これにより、NGS を中心とした共同利用機器（解析サーバーなど）が今後ますます有効活用されること、地域企業や研究機関との新たな共同研究ネットワークの形成や外部資金獲得につながっていくことが期待される。