



Genomics Accuracy Guide

検出されにくい液体ハンドリングエラーからNGS・qPCR実験を守るために

対象： NGSライブラリー調製、qPCR、拠点間メソッドトランスファー

Section 1: ゲノミクスにおける分注量精度の課題

液体ハンドリングの正確性は、あらゆるNGSおよびqPCRワークフローにおいて極めて重要な要素です。正規化工程における1 μL の過少分注は決して小さな誤差ではありません。NGSライブラリー調製において、通常、分注量は0.5 μL から25 μL の範囲にありますが、単一チャンネルが目標値より15%少ない量を分注するだけで、ライブラリーの複雑性が30%以上変化する可能性があります。その影響は、検出されるバリエーションやゲノム領域のカバレッジ、ひいては得られたデータが導き出したい結論を支持できるかどうかにか及びます。

同じ問題はqPCRプレートのセットアップにも当てはまります。384ウェルプレート内で5%のばらつきが生じると、リプリケート間で0.1 Cqのシフトが発生します。これはアッセイノイズのように見える場合もありますが、検出閾値付近のサンプルにおいては誤った判定につながる可能性があります。規制下で運用されるバイオ医薬品の試験・製造現場では、バッチ調査の引き金となることもあります。

公開されているデータによると、液体ハンドリングの不正確さは、NGSライブラリー調製失敗の最大20%に關与していると示唆されています。ライブラリーの複雑性やサンプルの価値によって異なりますが、1ラン当たり500~2,000米ドルのコストがかかる環境では、月に20回のNGS調製を行うラボにおいて、液体ハンドリング精度の問題に気付かないまま、一部のランを再作業することで、月あたり約2,000米ドル相当の回避可能なコストを負担しているケースがあります。

隠れたエラーの問題

系統的なピペッティングバイアスは表面化しない。それはシーケンシングデータにおける説明のつかないばらつきとして現れる場合もあれば、品質フィルターを通過する、一見妥当だが偏った結果として現れる場合もある。単一チャンネルが目標値より15%低下していると1 μL の分注で生じる体積差は約0.15 mgとなる。この差はプレート全体を合算して評価する重量測定 of 感度閾値を下回る。そのため、アラームは作動せず、ランはそのまま進行し、エラーは結果に持ち込まれる。

Section 2: 標準的な検証手法の限界

2.1 重量測定法

重量測定による検証では、プレートに分注された液体の総重量を測定します。この手法は、多くの装置適格性評価プロトコルにおいて参照手法として用いられており、独立型ピペットの校正方法としてISO 8655にも定義されています。しかし、ゲノミクスワークフローで使用される多チャンネル自動液体ハンドラーに適用した場合、根本的な制約があります。

96チャンネルヘッドにおいて、ひとつのチャンネルが目標値より15%少なく分注した場合では、1 μL 分注あたりの重量差は約0.15 mgに過ぎません。これは、プレート全体の重量変化の96分の1に相当し、通常の実験環境下で使用される分析天秤の測定不確かさの範囲内に収まります。

また、重量測定は環境条件の影響を受けやすいという特性があります。温度、湿度、標高はいずれも秤量中の蒸発に影響を与えるため、防風カバーや校正済みの温湿度計、標高補正の計算が必要となります。実験室の環境条件が変化した場合、検証は再実施する必要があります。複数拠点、異なる気候帯、あるいは異なる標高条件で装置を運用する場合、こうした要件は繰り返し発生する検証の負担となり、問題の有無を判断するために必要な、チャンネルごとの性能を示すデータを得ることはできません。

重量測定ではわからないこと

重量測定による検証では、96チャンネルヘッドがプレート全体として概ね適切な総分注量を供給しているかどうかは確認できる。しかし、どのチャンネルがどの程度ずれているのか、その誤差が系統的なものか偶発的なものかを判別することはできない。この違いは、ウェル単位での分注精度がデータ品質を左右するゲノミクスワークフローにおいては重要な意味を持つ。

2.2 蛍光検証手法

蛍光法による液体ハンドリング検証では、蛍光色素を分注した後、プレートリーダーで測定を行います。蛍光シグナルは各ウェルに分注された体積に比例するため、ウェル単位での測定が可能です。この点において、プレート全体の総量しか評価できない重量測定法の主要な制約を補う手法と言えます。

一方で、蛍光法にはゲノミクス用途に特有の制約も存在します。ゲノミクスワークフローで一般的に使用されるPCRマスターミックス、アダプターライゲーションバッファー、DMSOを含む化合物ストックなどの複雑な試薬マトリクスは、蛍光色素の励起波長または発光波長において光を吸収する場合があります。その結果、消光やバックグラウンド干渉が生じ、体積算出に誤差が生じる可能性があります。また、本手法では特定のフィルターセットを備えた専用のプレートリーダーが必要であり、インキュベーション時間や色素の安定性にも影響を受けます。

さらに、多くの市販されている蛍光検証手法では、DMSO濃度がおよそ30%を超える条件での妥当性は確認されていません。一方で、多くのゲノミクスワークフローでは、より高濃度のDMSOを含むストック溶液が使用されています。このため、検証手法の対応範囲と、実際に使用される試薬条件との間にギャップが生じることになります。

Section 3: Artelによるゲノミクス精度課題の解決

3.1 デュアル比色光度法

Artel MVSは、デュアル比色光度法を用いて、96ウェルまたは384ウェルプレートのすべてのウェルに分注された体積を同時に測定します。本手法はISO 23783-2:2022に規定されており、SITレーサブルな測定結果を提供します。

2種類の分光特性の異なる色素を含むQualAssure試薬をMVSプレートに分注し、プレートリーダーで520 nmおよび730 nmの吸光度を同時に測定します。体積は、Beer-Lambertの法則に基づき、2つの吸光度値の比から算出されます。この比を用いた計算こそが本手法の高い堅牢性を支える鍵です。絶対吸光度ではなく比を用いることで、共通要因による誤差が相殺され、バックグラウンド吸光、環境変動、プレート形状の違い、ならびに両色素に同様に影響するマトリクス効果が測定結果から除外されます。

この特性により、MVSでは防風カバー、温湿度計、標高補正を必要としません。また、実験室の環境条件が変化した場合でも、再検証を行う必要はありません。単一の検証基準を用いて、温帯の北欧地域から熱帯のシンガポール、さらには高地施設に至るまで、異なる気候条件下の複数拠点で一貫した検証を行うことが可能です。

3.2 QualAssure試薬: ゲノムマトリクスに対して検証済み

MVS検証試薬システムであるQualAssureには、ゲノミクスワークフローで使用されるさまざまなマトリクスに対応した、検証済みの試薬が用意されています。

- 標準化試薬、希釈バッファー、洗浄液などの水系バッファー
- 化合物ライブラリーの移送やストック溶液に用いられる各種濃度のDMSO
- サーマルサイクラーの設定およびqPCRプレート調製の検証に用いるPCRマスターミックス模擬試薬
- 血漿および血清マトリクス検証用のSerum SubstituteおよびPlasProxy

QualAssureの各ロットは、特定のMVSプレートロットと組合せて使用されることを前提に、特性評価および認証が行われています。ロット管理された試薬と校正済みプレートを組み合わせることで、測定結果のSITレーサビリティが確保され、規制当局による審査において文書化された性能証拠として受け入れられるものとなります。

検証方法の比較

	重量測定法	蛍光法	Artel MVS
チップ / チャンネル単位の測定	No	Yes	Yes
1 µL未満の測定	限定的	Yes	Yes (0.01 µL)
DMSO / 複雑なマトリクスへの対応	Yes	限定的 (< 30%)	Yes (0 to 100%)
環境の影響	大	中	非常に小
21 CFR Part 11 監査証跡	装置依存	装置依存	ArtelWare (standalone)
手法移管への対応	拠点ごとの再校正が必要	限定的	SITレーサブル 装置非依存

Section 4: ゲノミクスワークフローにおけるMVSの活用

4.1 NGSライブラリー調製

NGSライブラリー調製では、精度が重要な液体分注の工程が含まれています。断片化バッファの分注量(通常1~5 µL)はせん断サイズ分布に、アダプターライゲーションの分注量(通常0.5~2 µL)はライゲーション効率に影響を与えます。また、プレート全体におけるPCRマスターミックスの均一性は、増幅の均一性に影響します。これらの工程で生じた系統的なバイアスは、後続工程を通じてワークフロー全体に影響します。

MVSはサンプルを使用する前に96または384ヘッドのすべてのチャンネルを同時に検証します。標準的な検証は約2分で完了します。設定された規格から外れる精度またはばらつきを示すチャンネルが検出された場合、すぐにオペレーターに通知されます。これにより、問題のあるアッセイがシーケンシング段階で初めて判明する事態を防ぐことができます。

- サンプルを標準化する前に断片化バッファの分注量(通常1~5 µL)を検証
- チャンネルごとにアダプターライゲーションの分注量(通常0.5~2 µL)を確認
- 96または384の全チャンネルについてPCRマスターミックスの均一性を検証
- ArtelWareのヒートマップは、バッチ記録や逸脱報告書への直接添付が可能

4.2 qPCRプレートのセットアップ

正確なqPCRを行うためには、プレート内のすべてのウェルで正確な分注量が求められます。分注量に5%のばらつきが生じると、Cq値に0.1のシフトが発生します。384ウェルフォーマットでは、ひとつのチャンネルの分注ドリフトによる影響が、特定のウェル位置に系統的な差として現れ、アッセイノイズのように見える場合があります。このようなばらつきは、チャンネル単位の検証データがなければ原因の特定は困難です。

MVSでは、384ウェルすべてに対するチャンネル単位の検証を約4分で実施できます。変動係数(CV)が2%を超えるチャンネルをサンプル添加前に検出することが可能です。ウェルごとのヒートマップ表示により、問題が単一チャンネルに限定されたものか、ヘッド全体に及ぶものを容易に判別できます。

- 約4分で384ウェル全体の検証が可能
- サンプル添加前にCVが2%を超えるチャンネルを特定
- マスターミックスの均一性およびテンプレート希釈直線性の検証
- PlasProxyおよびPCR mix用QualAssure試薬による、実使用マトリクスへの対応

4.3 拠点間での手法移管

認証済みの液体分注手法を別の拠点へ移管するには、受取り側の拠点の装置が移管元の拠点の装置と同等の性能を示していることを証明する必要があります。重量法による検証では、環境条件の違い、天秤の校正差、装置固有の特性などが影響し数値を直接比較することが難しくなります。

MVSでは、両拠点で同一ロット管理されたQualAssure試薬と校正済みプレートを使用します。いずれの装置も同一のSITレーサブルな基準に対して測定されるため、得られる性能データは装置に依存しません。これにより、測定結果の差は測定誤差ではなく、装置性能の実質的な差を反映するものとなり、拠点間比較を信頼性の高い、説明可能なものとしします。

- 移管元および移管先の両拠点で、SITレーサブルかつ装置非依存の性能データを取得
- ロット管理された試薬及び特性評価済みプレートによる、装置性能差のみを反映した拠点間比較
- ArtelWareのレポートは、PDF、CSV、またはLIS互換形式で出力可能で、規制当局への提出に対応
- FDA、EMA、PMDAにおいて、液体分注性能の文書化された証拠として受け入れ実績あり

規制当局による受け入れ実績

ArtelWareのレポートはFDA、EMA、PMDAへの提出において、液体分注性能を示す文書化された証拠として受け入れられています。SITレーサブルで装置非依存のデータ形式は、拠点や法域の違いを問わず、追加の修正を行うことなく規制要件に対応できるよう設計されています。Artelでは要望に応じて、申請用ドキュメントのレビューも支援しています。



Section 5: 規制対応及び監査への備え

5.1 Artel Ware: スタンドアロン型コンプライアンスソフトウェア

ArtelWareは、MVSによるすべての検証データを取得・管理するスタンドアロン型のSQLデータベースアプリケーションです。自動分注機の制御ソフトウェアや装置メーカーに依存せずに動作します。監査証跡の完全性が装置メーカーのソフトウェア更新サイクルやライセンス状況に左右されないため、この独立性は規制要件が適用される環境において重要な意味を持ちます。

- 21 CFR Part 11に準拠した電子記録および電子署名
- すべての承認ステップに監査コメントを必須としたレビュー・承認ワークフロー
- 改変不可の結果記録: 結果は生成後に変更できず、すべての変更履歴を保持
- 各検証ラン終了時の自動レポート生成
- バッチ記録、逸脱報告、品質レビューにそのまま使用可能なチャンネル別ヒートマップ

ArtelWareはIQ/OQに対応した資格確認ドキュメントの作成をサポートします。規制環境向けに事前に準備されたバリデーションプロトコルも用意されています。

5.2 適用規格及び規制

規制 / 規格	適合性
ISO 23783-2:2022	MVSで使用されるデュアル比色光度法の規定
ISO/IWA 15:2015	ピペットおよび分注装置における計量トレーサビリティ
ISO 8655-7:2022	容積計量機器の参照測定手順
21 CFR Part 11	電子記録および電子署名 ArtelWare SQLデータベースの完全準拠
EU Annex 11	GMP環境におけるコンピューター化システム要件への適合 ArtelWare監査証跡の要件充足
CLSI QMS23:2019	検査機器における手法比較およびバイアス評価
ISO 17025:2017	校正プレートの年次認証 ISO 17025認定機関によるSIトレーサビリティの維持
cGMP / cGLP	IQ/OQドキュメントの事前整備 バリデーション支援への対応

5.3 バリデーションサポートの提供

- 規制要件が適用される環境向けに事前作成されたArtelWare用IQ/OQドキュメントパッケージ
- Artelによる、要望に応じた提出用ドキュメントレビュー支援

5.4 世界各国の規制当局による受け入れ実績

ArtelWareのレポートはFDA、EMA、PMDAへの提出において、液体分注性能を示す文書として受け入れられています。SIトレーサブルで装置非依存のデータ形式は、拠点や法域の違いを問わず、追加の修正を行うことなく規制要件に対応可能な検証データの提供を可能としています。

Section 6: 導入の概要

MVSの構成

MVSシステムは以下の構成要素を含むパッケージとして提供されません。

- 工場校正証明書付きMVS比色光度プレートリーダー
- ArtelWareソフトウェア
- 必要に応じたIQ/OQの提供
- 実運用ワークフローのマトリクスに対して検証済みのQualAssure試薬
- ISO 17025規格に基づき認証された特性評価済みマイクロタイタープレート

Next Steps

Actions	Details
本ガイドのダウンロード	https://www.novabiomedical.com/education-training/app-notes-and-whitepapers/genomics-accuracy-guide/
ROI 計算ツールの利用	インタラクティブなROI 計算ツール https://www.novabiomedical.com/protect-every-nanoliter-secure-every-result/ 月あたりのラン数、1回あたりのコスト、装置台数、現在の検証作業時間を入力することで、年間の想定効果および投資回収期間を算出
デモ依頼	実機MVSによる測定デモを実施
Nova Biomedical	novabiomedical.com



To learn more or request a quote, visit: [novabiomedical.com](https://www.novabiomedical.com)
Nova Biomedical | 200 Prospect Street | Waltham, MA 02454 USA

© 2026 Nova Biomedical Corporation. Artel and MVS are registered trademarks of an affiliate of Nova Biomedical Corporation.

NB_NG_2605_v1