

Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment

Illumina의 솔루션으로
일관적이고 집중된
엑솜 시퀀싱 결과 확보

- 포괄적이고 집중된 최신 엑솜 패널을 통한 효율적인 엑솜 커버리지
- 검증된 자동화 방법이 지원되는 사용이 용이한 Library Prep Kit
- 수준 높은 엔드투엔드 솔루션 및 지원
- Spike-in 패널을 이용해 손쉽게 미토콘드리아 유전체 커버리지 추가 가능



믿을 수 있는 파트너의 엔드투엔드 엑솜 시퀀싱 워크플로우

Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment는 성능과 데이터 품질이 우수한 인간 전장 엑솜 시퀀싱(whole-exome sequencing, WES) 결과를 경제적으로 얻을 수 있도록 해 줍니다. 이 사용하기 쉬운 라이브러리 준비(library preparation) 및 인리치먼트(enrichment) 솔루션은 샘플 준비 단계부터 결과 보고 단계까지 전 과정을 아우르는 엔드투엔드 워크플로우의 한 구성 요소입니다(그림 1). Illumina의 파트너사를 통해 다양한 자동화 플랫폼에서 Illumina의 검증된 방법이 지원되고 있습니다. Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment를 사용하는 워크플로우는 추출한 유전체 DNA(genomic DNA, gDNA) 또는 혈액이나 타액을 직접 사용*하는 샘플 준비 단계로 시작하여 신속한 온비드 태그멘테이션(on-bead tagmentation) 라이브러리 준비 chemistry와 하이브리드 캡처(hybrid-capture) 엑솜 인리치먼트를 결합한 단계로 이어집니다(그림 2).¹ Illumina DNA Prep with Enrichment chemistry는 투입된 고품질 DNA(≥ 50 ng)의 표준화(normalization)를 통한 지원하므로 하이브리드화(hybridization)에 필요한 간단한 볼륨 기반 풀링(volume-based pooling)이 가능하며 각각의 인리치된 엑솜 라이브러리로부터 일관된 시퀀싱 결과를 제공해 줍니다. 라이브러리는 NovaSeq™ 6000, NextSeq™ 1000, NextSeq 2000 또는 NextSeq 550 시스템에서 시퀀싱되며, 변이 검출(variant calling)은 수상을 통해 우수한 성능을 인정 받은 바 있는 DRAGEN™ Secondary Analysis를 통해 실행됩니다.² 유전 질환 연구의 경우, Emedgene™ 플랫폼은 엑솜 패널의 데이터 해석 및 보고 단계의 간소화에 설명 가능한 인공지능(explainable artificial intelligence, XAI) 및 자동화를 활용하고 있습니다.

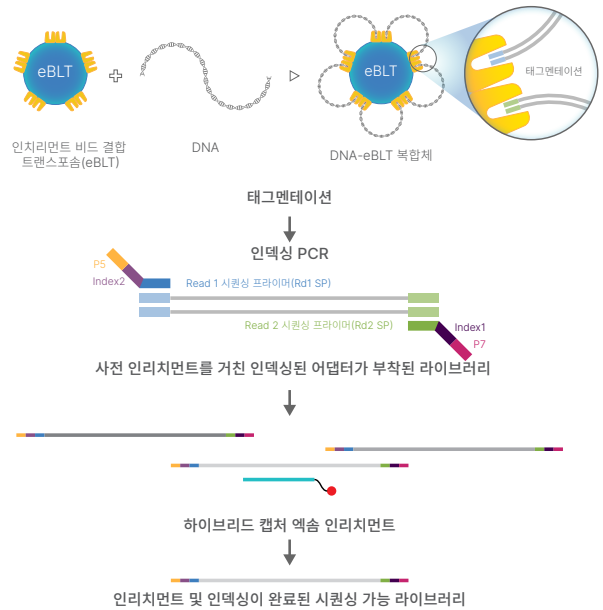


그림 2: 간소화된 태그멘테이션 기반 라이브러리 준비 및 엑솜 인리치먼트 절차 — 인리치먼트 비드 결합 트랜스포솜(enrichment bead-linked transposome, eBLT)은 다양한 DNA 샘플 사용량에 대해 높은 허용 오차로 균일한 태그멘테이션 반응을 가능케 함.¹ 하이브리드 캡처 인리치먼트 후 엑솜 라이브러리는 시퀀싱에 바로 사용할 수 있음.

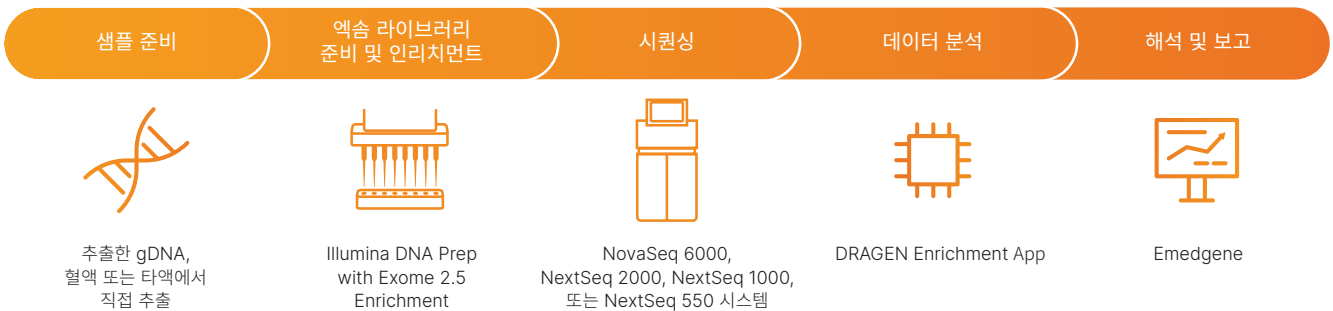


그림 1: 샘플 준비에서 보고까지 모든 단계를 단일 파트너를 통해 완료하는 워크플로우 — Illumina는 엔드투엔드 WES 워크플로우를 지원함. 먼저 추출한 gDNA(또는 직접 추출 프로토콜을 통해 혈액이나 타액에서 추출한 DNA)를 사용하여 Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment로 라이브러리를 준비함. 현재 다양한 자동화 플랫폼에서 Illumina의 검증된 방법이 지원되고 있음. 그다음 연구에서 요구하는 규모 및 처리량에 따라 Illumina 기기로 시퀀싱 수행 후, DRAGEN Enrichment App을 이용해 정확하고 신속한 2차 분석 및 변이 검출 단계를 진행함. 마지막으로 유전 질환 연구의 경우 Emedgene을 이용해 직관적인 해석 및 보고를 실행할 수 있음.

* 혈액 및 타액을 직접 사용하는 프로토콜의 경우 Flex Lysis Reagent Kit가 필요합니다. 본 문서에 기술된 데이터는 혈액 또는 타액이 아닌 추출한 gDNA로 얻은 데이터입니다. 혈액/타액 사용 시 성능은 샘플 품질에 따라 상이할 수 있습니다.

연구 시 공공 데이터베이스 내 질병 관련 변이의 대부분을 포함시켜 주는 비용 대비 효과적이고 포괄적인 커버리지

ILLUMINA DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment는 포괄적이고 집중된 최신 엑솜 인리치먼트 패널을 사용합니다. 키트에 포함되어 있는 Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel은 Illumina Exome Panel보다 크기가 작지만 공공 데이터베이스에 보고된 변이에 대한 표적 영역 커버리지(target region coverage)는 향상되었습니다(표 1 및 표 2). 이와 같이 집중된 커버리지로 시퀀싱 런(run)당 샘플 수를 최적화함으로써 비용 대비 효과적인 WES 솔루션이 실현되었습니다(표 3).

Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel은 RefSeq, CCDS(Consensus Coding Sequence) 프로젝트, ACMG(American College of Medical Genetics and Genomics), COSMIC(Catalog of Somatic Mutations in Cancer)의 Cancer Gene Census 그리고 OMIM(Online Mendelian Inheritance in Man)의 큐레이션을 거친 코딩 시퀀스(coding sequence, CDS)를 포함하며(표 1), 특히 ClinVar 및 ACMG 데이터베이스에 보고된 병원성(pathogenic) 변이나 유사 병원성(likely pathogenic) 변이에 대한 뛰어난 커버리지를 제공합니다(표 2).³⁻⁹

또한 Twist Bioscience for Illumina Mitochondrial Panel을 ILLUMINA DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment 프로토콜의 spike-in 패널로 사용하면, 미토콘드리아 유전체(mitochondrial genome)인 "chrM" 커버리지를 손쉽게 추가할 수 있습니다. Twist Bioscience for Illumina Mitochondrial Panel은 chrM(16,659 bp, 유전자 37개)에 대한 완전한 커버리지를 제공하므로 미토콘드리아 DNA(mitochondrial DNA, mtDNA) 변이의 인리치먼트 및 시퀀싱이 가능해 집니다.

표 1: 비용 대비 효과적인 크기로 표적 영역 커버리지를 높이는 Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel*

Exome Panel	Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel	Illumina Exome Panel
크기	37.5 Mb	45 Mb
RefSeq CDS ³	99.1%	98.2%
CCDS CDS ⁴	99.9%	99.5%
ACMG 73 Genes CDS ⁵	99.9%	99.3%
COSMIC Cancer Gene Census CDS ^{6,7}	99.9%	99.3%
OMIM ⁸	99.1%	97.7%

* 연구 전용이며, 본 사양은 임상/진단용으로 승인되지 않음.

표 2: 임상 연구에 중점을 둔 Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel 콘텐츠*

ClinVar 병원성/유사 병원성 변이 CDS ^{3,9}	98.6%
ACMG 73 병원성/유사 병원성 변이 CDS ^{b,5}	99.9%

- a. ClinVar 공공 아카이브는 인간 변이와 표현형(phenotype)의 관계를 입증 자료와 함께 보고함. 병원성/유사 병원성 변이의 보고는 ClinVar 분류 가이드라인에 따름.
- b. ACMG 병원성/유사 병원성 변이 목록은 ACMG 유전자의 큐레이션을 거친 CDS와 ClinVar 병원성/유사 병원성 변이를 중첩한 변이를 포함함.

* 연구 전용이며, 본 사양은 임상/진단용으로 승인되지 않음.

표 3: 플로우 셀(Flow Cell) 및 시퀀싱 시스템별 인치리된 Exome 2.5 Enrichment 라이브러리 예상 개수^{a*}

희망 평균 표적 커버리지 뎁스(Depth)	NextSeq 550 시스템 ^b		NextSeq 2000 시스템		NovaSeq 6000 시스템			
	Mid-output	High-output	P2 ^c	P3	SP	S1	S2	S4
50x	6	19	19	57	34	69	176	428 ^d
100x	3	9	9	28	17	34	88	214
200x	1	4	4	14	8	17	45	109

- a. 일반적인 내부 실험을 근거로 2 x 101 bp의 리드 길이(read length)를 적용해 계산한 예상치. 샘플의 수는 워크플로우의 처리, 사용하는 샘플 또는 라이브러리의 품질, 각 플랫폼 및 플로우 셀의 실제 시퀀싱 아웃풋에 따라 상이할 수 있음. 실제 데이터는 NovaSeq 6000 시스템과 S4 플로우 셀을 사용해 획득하였으며, 이를 토대로 다른 기기 및 플로우 셀별 라이브러리 예상 개수를 추정함.
- b. NextSeq 550 Reagent Kit는 2 x 150 bp의 리드 길이를 지원함.
- c. 샘플 처리량이 동일한 P2 플로우 셀은 NextSeq 1000 시스템에서도 사용이 가능함.
- d. 이 정도로 대량의 인치리된 라이브러리를 풀링하기 위해서는 추가적인 인덱스(index)가 필요함.

* 연구 전용이며, 본 사양은 임상/진단용으로 승인되지 않음.

ILLUMINA DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment 시퀀싱 데이터는 5 Gb의 데이터 아웃풋과 인리치먼트에 두 가지 하이브리드화 시간 조건을 적용했을 때 20× 이상의 시퀀스 데프로 더 높은 비율의 표적을 커버하며 우수한 커버리지 일관성을 보입니다(그림 3).

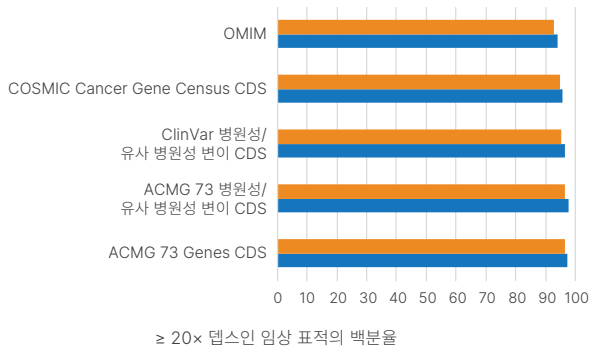


그림 3: 공공 데이터베이스 내 질병 관련 변이의 대부분을 포함하는 광범위하고 포괄적인 커버리지* — ILLUMINA DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment는 1.5시간(주황색) 또는 16시간(파란색)의 두 가지 하이브리드화 시간 조건 적용 시 ≥ 20× 데프로 ACMG, ClinVar, OMIM, COSMIC과 같은 공공 데이터베이스의 표적에 대해 높은 평균 비율의 커버리지를 보임.⁵⁻⁹

* 연구 전용이며, 본 사양은 임상/진단용으로 승인되지 않음.

높은 수준의 성능

ILLUMINA DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment는 매우 우수한 인리치먼트 assay 성능을 가지고 있습니다. 데이터는 ILLUMINA DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment 키트와 키트에 포함된 Twist Bioscience for ILLUMINA Exome 2.5 Panel을 사용하여 1.5시간 또는 16시간 하이브리드화 조건하에 수집되었습니다. 비교를 위해 기존 ILLUMINA Exome Panel을 사용하였으며, 더 짧은 프로브(probe)를 사용한 관계로 워시(wash) 온도를 58°C로 낮춘 것과 1.5시간 하이브리드화 조건을 사용한 것을 제외하고는 동일한 프로토콜을 통해 assay를 수행하였습니다(그림 4 및 그림 5에 'IEP 1.5시간'으로 표시).

DRAGEN Enrichment App 및 Picard 파이프라인¹⁰의 성능 매트릭스(metrics)를 살펴보면, Twist Bioscience for ILLUMINA Exome 2.5 프로브 사용 시 ILLUMINA DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment는 최적의 매핑 가능한 리드 백분율, 표적에 대한 리드(정렬된 고유한 리드의 필터 통과 %(percent passing filter for unique reads aligned), 패딩된 고유한 리드 인리치먼트 %(percent padded unique read enrichment), 패딩된 고유한 염기 인리치먼트 %(percent padded unique base enrichment)에 근거) 그리고 우수한 평균 표적 커버리지를 보였습니다(그림 4).

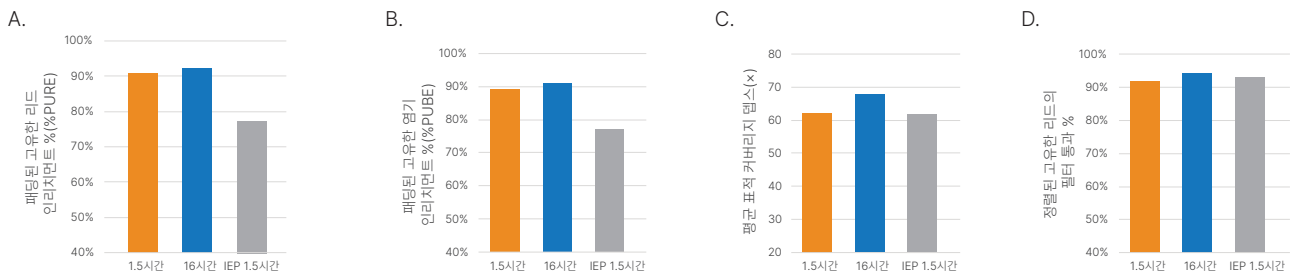


그림 4: ILLUMINA DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment의 우수한 인리치먼트 assay 성능* — ILLUMINA DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment는 1.5시간(주황색) 또는 16시간(파란색) 하이브리드화 조건하에 ILLUMINA Exome Panel(IEP 1.5시간, 회색)보다 강력한 성능을 나타냄. DRAGEN 매트릭스: (A) 패딩된 고유한 리드 인리치먼트 % (% PURE, 150 bp의 패딩된 크기), (B) 패딩된 고유한 염기 인리치먼트 % (% PUBE, 150 bp의 패딩된 크기), (C) 평균 표적 커버리지 데프스. Picard 매트릭스: (D) 정렬된 고유한 리드의 필터 통과 %. 인리치된 라이브러리는 NovaSeq 6000 시스템에서 S4 플로우 셀을 사용해 5 Gb 데이터 아웃풋(50M 개의 페어드 엔드 리드(paired-end read), 25M 개의 클러스터(cluster)) 및 2 × 101 bp의 리드 길이를 선택해 시퀀싱함.

* 연구 전용이며, 본 사양은 임상/진단용으로 승인되지 않음.

커버리지 덱스 및 균일성

추가 분석 결과, Illumina Exome Panel보다 더 우수한 Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment의 커버리지 균일성(uniformity)도 확인할 수 있었습니다(그림 5). Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment는 높은 비율의 20x 이상 리드 덱스인 염기에 대해 균일한 커버리지를 제공하며, 낮은 폴드 80 염기 페널티(fold-80 base penalty) 점수와 낮은 제로 커버리지(zero coverage) 표적 백분율을 나타냅니다.

1.5시간 하이브리드화와 16시간 하이브리드화 간 일관적인 성능이 관찰된 것으로 미루어 보아, 랩에서는 1.5시간 하이브리드화를 채택해 기존 워크플로우를 가속화해 보거나, 기존 워크플로우에 더 긴 하이브리드화 시간이 적합하다면 하룻밤에 걸쳐 진행되도록 하이브리드화 시간을 연장해 볼 수도 있습니다.

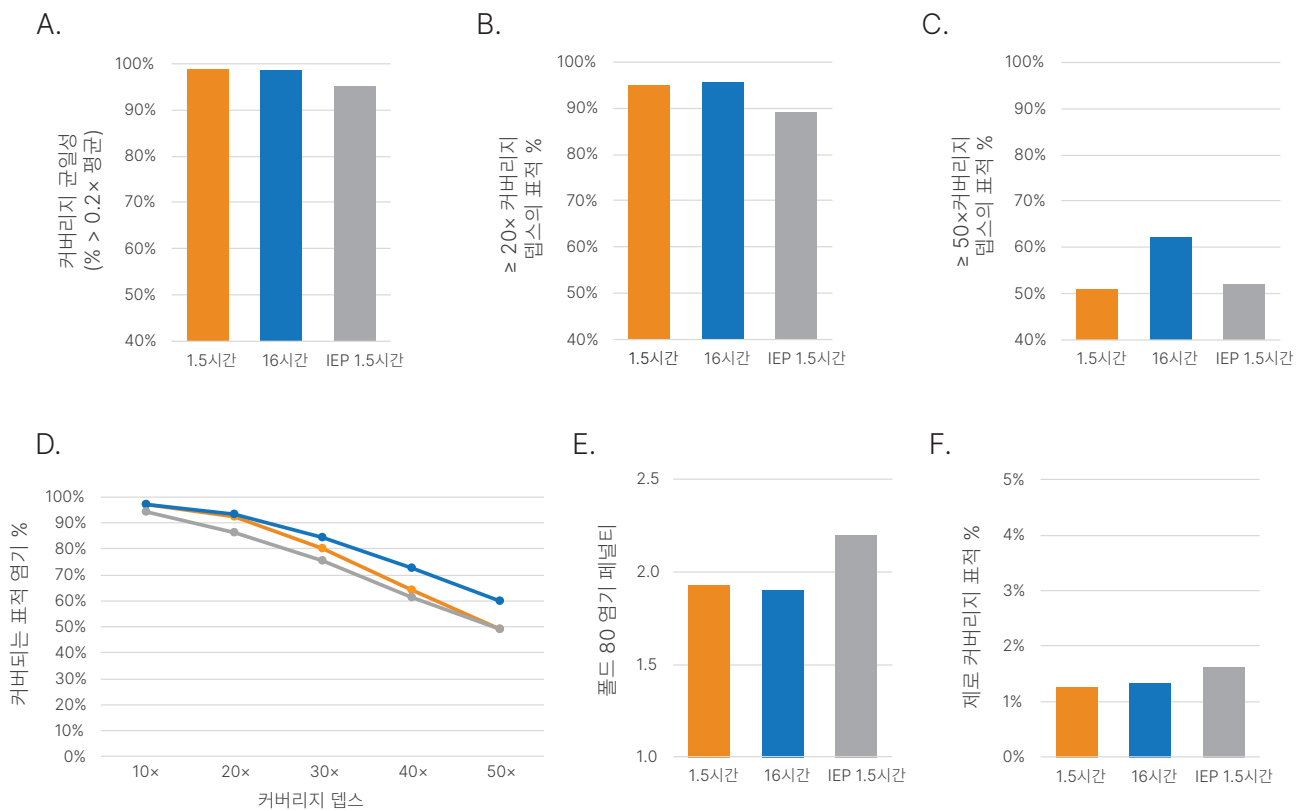


그림 5: 하이브리드화 시간과 관계없이 우수한 커버리지와 균일성* — Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment는 1.5시간(주황색) 또는 16시간(파란색) 하이브리드화 조건을 적용했을 때 동시에 런을 수행한 Illumina Exome Panel(IEP 1.5시간, 회색)보다 우수한 커버리지 균일성을 나타냄. DRAGEN 매트릭스: (A) 커버리지 균일성(% > 0.2x 평균 커버리지), (B) ≥ 20x 커버리지 덱스의 표적 %, (C) ≥ 50x 커버리지 덱스의 표적 %. Picard 매트릭스: (D) 10x, 20x, 30x, 40x, 50x 커버리지 덱스의 표적 염기 %, (E) 폴드 80 염기 페널티, 즉 비제로 커버리지 표적(nonzero coverage target) 내 80%의 염기를 해당 표적 내 평균 커버리지 레벨까지 높이기 위해 필요한 폴드 오버커버리지(fold over-coverage), (F) 제로 커버리지 표적 %. 인리치된 라이브러리는 NovaSeq 6000 시스템에서 S4 플로우 셀을 사용해 5 Gb 데이터 아웃풋(50M 개의 페어드 엔드 리드, 25M 개의 클러스터) 및 2 × 101 bp의 리드 길이를 선택해 시퀀싱함.

* 연구 전용이며, 본 사양은 임상/진단용으로 승인되지 않음.

세포 속 미토콘드리아 DNA는 핵 DNA(nuclear DNA)보다 더 풍부하게 존재합니다. Twist Bioscience for Illumina Mitochondrial Panel은 엑솜 패널보다 다양한 농도로 사용할 수 있어, 엑솜 평균 표적 커버리지 또는 엑솜 커버리지 균일성에 미치는 영향 없이 다양한 mtDNA 커버리지에서 유연성을 보입니다(그림 6).

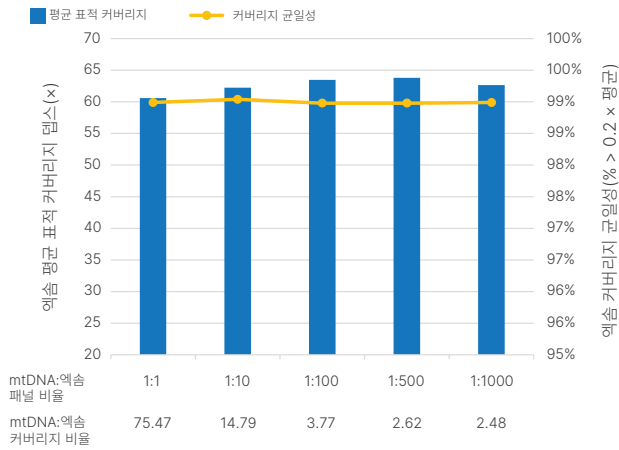


그림 6: 미토콘드리아 커버리지를 추가한 유니폼(uniform) 엑솜 커버리지* — 다양한 비율의 Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel 및 Twist Bioscience for Illumina Mitochondrial Panel이 일관적인 엑솜 평균 표적 커버리지(파란색 막대) 및 엑솜 커버리지 균일성(노란색 선)을 보임. Coriell Institute에서 얻은 인간 세포주(cell line) DNA 샘플 72개(NA24143, NA2414 및 NA24385)를 16시간 하이브리드화 반응을 통해 1:1에서 1:1000에 이르는 다양한 mtDNA:엑솜 패널 비율로 인리치먼트(6 x 12-plex 풀)를 진행함. 인리치된 72개의 라이브러리는 모두 NovaSeq 6000 시스템에서 1개의 S4 플로우 셀을 사용해 5 Gb의 데이터 아웃풋(50M 개의 페어드 엔드 리드, 25M 개의 클러스터)으로 시퀀싱되었으며, 인리치먼트 분석에는 DRAGEN Enrichment App이 사용됨.

* 연구 전용이며, 본 사양은 임상/진단용으로 승인되지 않음.

요약

Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment는 연구자가 신뢰할 수 있는 결과를 얻을 수 있도록 설계된 효과적이고 효율적인 WES 솔루션입니다. 키트에 포함된 Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel은 공공 데이터베이스 내 질병 관련 변이를 포함하는 포괄적인 최신 콘텐츠를 제공하며, 선택적으로 Twist Bioscience for Illumina Mitochondrial Panel을 사용하면 chrM에 대한 포괄적인 커버리지를 추가적으로 얻을 수 있습니다. 최적화된 인리치먼트 패널은 샘플 처리량(throughput)이 높아 연구자가 경제적으로 엑솜 시퀀싱을 수행할 수 있도록 합니다. Illumina 파트너사를 통해 제공되는 Illumina의 검증된 방법을 다양한 자동화 플랫폼에서 사용하면 효율성도 한층 더 높일 수 있습니다. 균일하고 우수한 커버리지는 용이한 후속 분석 및 해석을 가능하게 합니다. 이제 랩에서는 단일 파트너를 통해 샘플 준비 단계부터 보고 단계까지 전 과정을 아우르는 수준 높은 엔드투엔드 엑솜 시퀀싱 워크플로우를 이용할 수 있습니다.

상세 정보

[Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment](#)

[Illumina의 검증된 자동화 방법](#)

[DRAGEN Secondary Analysis](#)

[Emedgene 3차 분석](#)

제품 목록

제품	카탈로그 번호
ILLUMINA DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment, (S) Tagmentation Set B (96 samples, 12-plex) ^a	20077595
ILLUMINA DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment, (S) Tagmentation Set D (96 samples, 12-plex) ^a	20077596
Flex Lysis Reagent Kit (96 reactions) ^b	20018706
ILLUMINA DNA/RNA UD Indexes Set A, Tagmentation (96 indexes, 96 samples) ^c	20091654
ILLUMINA DNA/RNA UD Indexes Set B, Tagmentation (96 indexes, 96 samples) ^c	20091656
ILLUMINA DNA/RNA UD Indexes Set C, Tagmentation (96 indexes, 96 samples) ^c	20091658
ILLUMINA DNA/RNA UD Indexes Set D, Tagmentation (96 indexes, 96 samples) ^c	20091650
Twist Bioscience for ILLUMINA Mitochondrial Panel (96 samples, 12-plex) ^d	20093180

a. ILLUMINA DNA Prep with Enrichment 라이브러리 준비 및 하이브리드화 시약, 클린업(cleanup)/크기 선별(size selection)에 사용되는 ILLUMINA Purification Beads, Twist Bioscience for ILLUMINA Exome 2.5 Panel 인리치먼트 프로브 그리고 인덱스 어댑터 플레이트(index adapter plate)가 포함된 키트

b. 혈액을 바로 투입할 경우 필요한 키트

c. 원하는 경우 다른 인덱스 세트 선택 가능.

d. Twist Bioscience for ILLUMINA Mitochondrial Panel은 4 µl씩 사용 시 8회 하이브리드화 반응이 가능한 32 µl의 oligo panel을 포함하고 있음.

참고 문헌

1. ILLUMINA. ILLUMINA DNA Prep with Enrichment Data Sheet. [illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/illumina-dna-prep-for-enrichment-770-2020-010/illumina-dna-prep-enrichment-data-sheet-770-2020-010.pdf](https://www.illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/illumina-dna-prep-for-enrichment-770-2020-010/illumina-dna-prep-enrichment-data-sheet-770-2020-010.pdf). Published October 29, 2020. Accessed July 27, 2023.
2. Mehio R, Ruehle M, Catreux S, et al. DRAGEN Wins at PrecisionFDA Truth Challenge V2 Showcase Accuracy Gains from Alt-aware Mapping and Graph Reference Genomes. [illumina.com/science/genomics-research/articles/dragen-wins-precisionfda-challenge-accuracy-gains](https://www.illumina.com/science/genomics-research/articles/dragen-wins-precisionfda-challenge-accuracy-gains). Published June 2, 2021. Accessed July 27, 2023.
3. NIH National Library of Medicine. RefSeq: NCBI Reference Sequence Database. NCBI website. [ncbi.nlm.nih.gov/refseq](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq). Updated July 18, 2023. Accessed July 27, 2023.
4. CCDS - Consensus CDS (CCDS) Database. NCBI website. [ncbi.nlm.nih.gov/projects/CCDS/CcidsBrowse.cgi](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/CCDS/CcidsBrowse.cgi). Updated November 9, 2022. Accessed July 27, 2023.
5. NIH National Library of Medicine. ACMG Recommendations for Reporting of Secondary Findings in Clinical Exome and Genome Sequencing. NCBI website. [ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/docs/acmg](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/docs/acmg). Updated June 27, 2023. Accessed July 27, 2023.
6. Catalog of Somatic Mutations in Cancer (COSMIC). COSMIC website. cancer.sanger.ac.uk/cosmic/download. Published May 23, 2023. Accessed July 27, 2023.
7. Cancer Gene Census. COSMIC website. cancer.sanger.ac.uk/census. Published May 23, 2023. Accessed July 27, 2023.
8. Catalog of Human Genes and Genetic Disorders. OMIM website. omim.org. Updated July 26, 2023. Accessed July 27, 2023.
9. ClinVar Database. NCBI website. [ncbi.nlm.nih.gov/clinvar](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar). Updated July 24, 2023. Accessed July 27, 2023.
10. Genome Analysis Toolkit (GATK). The Broad Institute. broadinstitute.org/hc/en-us/articles/360037428871-CollectHsMetrics-Picard. Published January 7, 2020. Accessed July 27, 2023.



무료 전화(한국) 080-234-5300
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2023 ILLUMINA, Inc. All rights reserved.
모든 상표는 ILLUMINA, Inc. 또는 각 소유주의 자산입니다.
특정 상표 정보는 www.illumina.com/company/legal.html을 참조하십시오.
M-KR-00179 v3.0 KOR