

Illumina DNA Prep with Enrichment

광범위한 표적 인리치먼트
애플리케이션을 지원하는
신속한 통합 워크플로우

- 일반적인 Illumina 라이브러리 프렙 및 인리치먼트 제품보다 85% 더 빠른 솔루션
- 혈액 및 타액 샘플에 적합한 통합 프로토콜로 라이브러리 준비 단계 효율성 향상
- 암 연구, 유전 질환 연구 및 전장 엑솜 시퀀싱(WES) 연구 시 진보된 연구 설계 지원



소개

Illumina DNA Prep with Enrichment는 표적 인리치먼트(target enrichment) 및 엑솜 시퀀싱(exome sequencing)에 필요한 유연하고 빠르며 간편한 라이브러리 준비 및 인리치먼트 기능을 결합한 솔루션입니다. 이 솔루션은 유연한 샘플 유형 및 사용량 옵션(표 1)을 제공하며, 커스텀 패널, 기성품 패널, 전장 엑솜 시퀀싱(whole-exome sequencing, WGS) 등 Illumina와 타사가 개발한 광범위한 인리치먼트 시퀀싱 애플리케이션을 지원합니다.

Illumina DNA Prep with Enrichment는 간소화된 한 번의 하이브리드화(hybridization) 단계를 통합한 혁신적인 비드(bead) 기반 chemistry를 사용합니다(그림 1). Illumina DNA Prep with Enrichment 워크플로우 사용 시 신선한 혈액 샘플에는 Flex Lysis Reagent Kit를, 신선한 타액 샘플에는 Saliva Lysis Protocol을 활용하면 DNA를 직접 추출할 수 있어 추가적으로 시간을 절약할 수 있습니다.

표 1: Illumina DNA Prep with Enrichment의 사양

파라미터	사양
DNA 샘플 유형	gDNA, 혈액, 타액, FFPE 조직에서 추출한 DNA
권장 DNA 사용량 ^a	10~1,000 ng
샘플 멀티플렉싱 (Multiplexing)	UDI 384개
인리치먼트 전 풀링 (Pre-enrichment Pooling) ^b	1-plex 또는 12-plex 확인 및 권장
사용 가능한 시퀀싱 시스템	모든 Illumina 시스템
총 워크플로우 소요 시간 ^c	약 6.5시간

- a. 최소 10 ng의 DNA를 사용할 수 있으나, 이 경우 포화(saturation) 기반의 DNA 표준화(normalization)는 제공되지 않음.
- b. 다른 인리치먼트 plexity도 선택 가능하나 성능은 아직 확인되지 않음. 이 경우 추가적인 최적화 단계가 필요할 수 있으며 최적의 결과는 보장되지 않음.
- c. 라이브러리 준비, 인리치먼트 그리고 라이브러리 표준화/풀링 단계를 포함함.

gDNA: genomic DNA(유전체 DNA), FFPE: formalin-fixed, paraffin-embedded(포르말린 고정, 파라핀 포매), UDI: unique dual index(고유한 듀얼 인덱스)

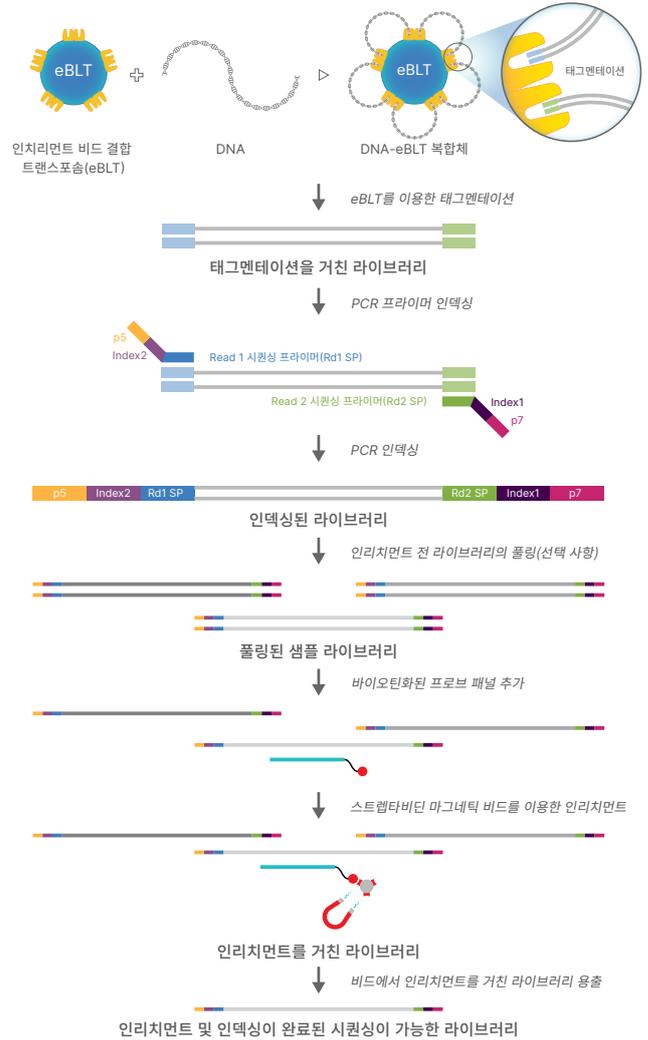


그림 1: Illumina의 태그멘테이션 chemistry – 인리치먼트 비드 결합 트랜스포솜(Enrichment bead-linked transposome, eBLT)으로 조정된 균등한 태그멘테이션 반응(tagmentation reaction) 후 한 번의 하이브리드화 반응을 거치는 신속하고 유연한 워크플로우

신속하고 유연한 라이브러리 준비 및 인리치먼트 워크플로우

Illumina DNA Prep with Enrichment 솔루션을 구성하는 가장 핵심적인 요소는 비드 결합 트랜스포솜을 이용해 균등한 태그멘테이션 반응을 조정하는 온비드 태그멘테이션(on-bead tagmentation)입니다. 이 전략은 다음과 같은 몇 가지 장점을 제공합니다.

- 50 ng 이상의 gDNA를 사용하는 경우, 삽입 절편의 크기는 영향을 받지 않기 때문에 첫 DNA 샘플의 정확한 정량화가 필요하지 않아 키트와 시약 사용 시 소요되는 시간과 비용을 절약할 수 있습니다.
- 온비드 태그멘테이션은 별도의 DNA 절편화 단계를 필요로 하지 않아 관련 소모품 사용 시 소요되는 시간과 비용을 절약할 수 있습니다.
- 또한 50~1,000 ng의 gDNA를 사용하는 경우, 포화 기반의 DNA 표준화가 진행되므로 인리치먼트 전 개별 라이브러리의 정량화 및 표준화 단계의 필요성이 사라집니다.
- 새롭게 개발된 90분이 소요되는 단일 하이브리드화 프로토콜을 통해 인리치먼트를 4시간 안에 마칠 수 있습니다.

Illumina 인리치먼트 포트폴리오 중 가장 신속한 워크플로우

Illumina DNA Prep with Enrichment 솔루션은 라이브러리 준비 단계의 자동화에 필요한 리퀴드 핸들링 시스템(liquid handling system)을 지원하며, Illumina 인리치먼트 포트폴리오 중에서 단계 수가 가장 적고 워크플로우 소요 시간이 가장 짧습니다(그림 2, 표 2).

통합된 DNA 샘플 처리 단계

혈액 또는 타액 샘플에서 DNA를 바로 추출할 수 있습니다. 효율성 향상을 위해 혈액 샘플과 Illumina DNA Prep with Enrichment와 함께 사용하도록 최적화된 검증 절차를 거친 Flex Lysis Reagent Kit(선택 사항)를 워크플로우에 통합할 수 있습니다. 해당 용해 프로토콜은 비드 기반의 시약을 사용하며 30분 미만의 수작업 시간만을 요구합니다.

다양한 Illumina 시퀀싱 시스템에 최적화된 성능

강력한 성능과 사용의 용이성을 모두 갖춘 Illumina DNA Prep with Enrichment 솔루션은 90%가 넘는 온타겟 리드(on-target read), 95%가 넘는 균일성 그리고 낮은 PCR 중복률을 제공하므로 어떠한 Illumina 시퀀싱 시스템에서 사용해도 신뢰할 수 있는 결과를 도출합니다(표 3). 또한 Illumina DNA Prep with Enrichment는 다양한 Illumina 인리치먼트 패널과 호환이 가능하며 어떠한 Illumina 시퀀싱 시스템에서도 사용이 가능하도록 낮은 처리량, 중간 처리량 및 높은 처리량에 모두 최적화되어 있습니다(그림 3, 표 4).

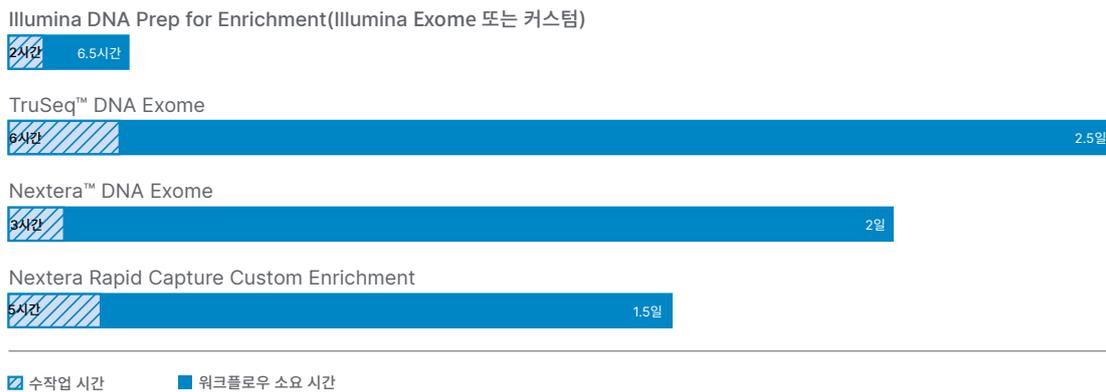


그림 2: Illumina 인리치먼트 포트폴리오 중 가장 신속한 Illumina DNA Prep with Enrichment 워크플로우 – 워크플로우 소요 시간은 12-plex 인리치먼트로 12개의 샘플을 처리하는 실험을 기준으로 측정된 것으로, 실제 소요 시간은 사용하는 장비, 처리하는 샘플 수, 자동화 절차 또는 사용자 경험에 따라 상이할 수 있음.

표 2: Illumina 인리치먼트 워크플로우의 비교

	Illumina DNA Prep with Enrichment	TruSeq DNA Exome	Nextera DNA Exome	Nextera Rapid Capture Custom Enrichment
통합된 DNA 옵션 ^a	✓	—	—	—
다양한 DNA 사용량 지원	✓	—	—	—
라이브러리 표준화 단계 포함 ^b	✓	—	—	—
FFPE 호환 가능	✓	✓	—	—
DNA 사용량	10~1,000 ng	100 ng	50 ng	50 ng
라이브러리 준비 및 인리치먼트 소요 시간 ^c	약 6.5시간	2.5일	2일	1.5일
라이브러리 삽입 크기 ^d	150~220 bp	150 bp	150~220 bp	230 bp
샘플 인덱스 세트	UDI 384개	싱글 인덱스 24개, 듀얼 인덱스 96개	싱글 인덱스 24개, 듀얼 인덱스 96개	싱글 인덱스 24개, 듀얼 인덱스 96개

a. 혈액 및 타액 샘플에 적용 가능한 통합된 용해 프로토콜이 지원됨.

b. 라이브러리 표준화는 50 ng 이상의 gDNA를 사용할 때 가능함.

c. 라이브러리 준비 및 인리치먼트 소요 시간에는 라이브러리 준비, 라이브러리 표준화/풀링 그리고 인리치먼트 시간이 포함됨.

d. 분해된 FFPE DNA의 경우 삽입 크기가 더 작을 수 있음.

표 3: Illumina 인리치먼트 워크플로우의 성능 비교^a

파라미터 ^b	Illumina DNA Prep with Enrichment	Illumina DNA Prep with Enrichment	Illumina DNA Prep with Enrichment	TruSeq DNA Exome	Nextera DNA Exome
패널	Illumina Exome Panel ^c	Exome Panel X	Exome Panel Y	Illumina Exome Panel	Illumina Exome Panel
패널 크기	45 Mb	39 Mb	33 Mb	45 Mb	45 Mb
프로브 크기	80 bp	120 bp	120 bp	80 bp	80 bp
패딩된 리드 인리치먼트 (온타겟) ^d	85%	91%	91%	85%	75%
절편 길이 중앙값	약 200 bp	약 200 bp	약 200 bp	약 150 bp	약 200 bp
20x 커버리지	93%	96%	97%	90%	85%
커버리지 균일성 ^d	95%	97%	98%	85%	85%
샘플당 리드 덱스	30M 개의 CPF ^e	25M 개의 CPF	20M 개의 CPF	40M 개의 CPF	40M 개의 CPF
SNV 정밀도	99%	99%	99%	99%	99%
SNV 재현율	94%	94%	95%	89%	91%

a. 데이터는 예시를 위해 비교한 데이터를 나타냄. 실제 성능 사양은 선택한 리드 덱스(read depth) 및 샘플 유형에 따라 상이할 수 있음.

b. 상기 분석에는 실험 조건별로 48개의 샘플(모두 Coriell Institute의 NA12878 샘플)이 사용됨. 데이터 분석에는 Enrichment BaseSpace™ 앱이 사용됨.

c. Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment는 인간 엑솜 시퀀싱에 권장됨.

d. 자세한 정보는 BaseSpace App User Guide¹ 참조.

e. CPF: clusters passing filter(필터를 통과하는 클러스터)



그림 3: 다양한 Illumina 시퀀싱 시스템에 최적화된 성능 – Illumina DNA Prep with Enrichment 솔루션은 본 문서에 언급된 고성능 시스템을 비롯한 모든 Illumina 시퀀싱 시스템과 사용이 가능하며, Illumina DNA Prep with Enrichment는 iSeq™ 100, MiniSeq™ 및 MiSeq™ 시스템 같이 처리량이 낮은 시퀀싱 시스템과도 사용이 가능함.

표 4: Illumina DNA Prep with Enrichment 사용 시 플로우 셀당 샘플 처리량^a

	iSeq 100 시스템		MiniSeq 시스템		MiSeq 시스템			NextSeq 550 시스템	
			Mid	High	v2	v2 Nano/Micro	v3	Mid	High
기성품 패널									
TruSight™ One	NR	NR	2	1	0/0	3	12	36	
TruSight One Expanded	NR	NR	1	0	0/0	1	7	24	
TruSight Cancer	4	8	24	12	1/4	24	96	384	
TruSight Hereditary Cancer	4	8	24	12	1/4	24	96	384	
커스텀 패널									
프로브 2,000개	8	16	50	30	2/8	50	260	384	
프로브 5,000개	2	4	12	8	1/2	12	65	200	
프로브 10,000개	1	2	6	4	0/1	6	33	100	

	NextSeq 550 시스템		NextSeq 2000 시스템		NovaSeq 6000 시스템				NovaSeq X 시리즈		
	Mid	High	P2	P3	SP	S1	S2	S4	1.5B	10B	25B
엑스 패널 ^b	약 4	약 12	약 10	약 30	약 20	약 41	약 104	약 250	약 41	약 250	약 750 ^c

a. Mid: Mid-output, High: High-output, NR: Not recommended(권장되지 않음).
 b. 100x 커버리지 달성을 위해 엑스는 샘플당 약 8 Gb로 가정됨.
 c. 384개의 UDI 사용 가능.

정확한 데이터

Illumina DNA Prep with Enrichment는 다양한 양의 DNA 사용 시 매우 균등하고 일관적인 삽입 크기를 생성하여 연구자에게 균등하고 일관적인 라이브러리를 제공합니다.² 또한 Illumina DNA Prep with Enrichment는 커스텀 패널, 기성품 패널 및 엑솜 패널을 위해 높은 커버리지 균일성(high coverage uniformity)과 패딩된 리드 인리치먼트(padded read enrichment)를 제공합니다(그림 4). Illumina DNA Prep with Enrichment는 다른 Illumina 인리치먼트 솔루션보다 정확한 단일 염기서열 변이(single nucleotide variant, SNV)(그림 5, 표 3) 및 삽입/결실(insertion/deletion, Indel) 재현율(recall)과 정밀도(precision)를 제공할 수 있습니다.

광범위한 애플리케이션에 적용 가능한 DNA 인리치먼트

우수한 인리치먼트 성능과 입증된 Illumina sequencing by synthesis(SBS) chemistry의 정확성이 결합된 Illumina DNA Prep with Enrichment 솔루션은 다양한 연구 분야에서 진보된 연구 설계에 적용할 수 있도록 전장 엑솜 시퀀싱(whole-exome sequencing, WES) 연구를 위한 패널을 비롯해 다양한 크기의 기성품 패널과 커스텀 패널을 모두 지원합니다(그림 6). 또한 Illumina DNA Prep with Enrichment는 Illumina뿐만 아니라 타사의 인리치먼트 프로브/패널과도 사용이 가능하므로 콘텐츠 이동성(content portability)이 확보되어 다양한 연구에 유연하게 활용할 수 있습니다.

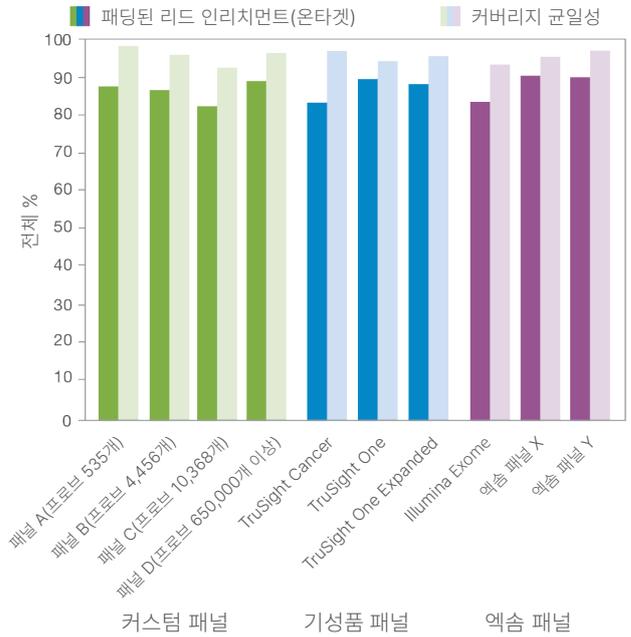


그림 4: 높은 커버리지 균일성 및 패딩된 리드 인리치먼트 - Illumina DNA Prep with Enrichment는 커스텀 패널, 기성품 패널 및 엑솜 패널 사용 시 높은 커버리지 균일성과 패딩된 리드 인리치먼트(온타겟)를 제공합니다.³

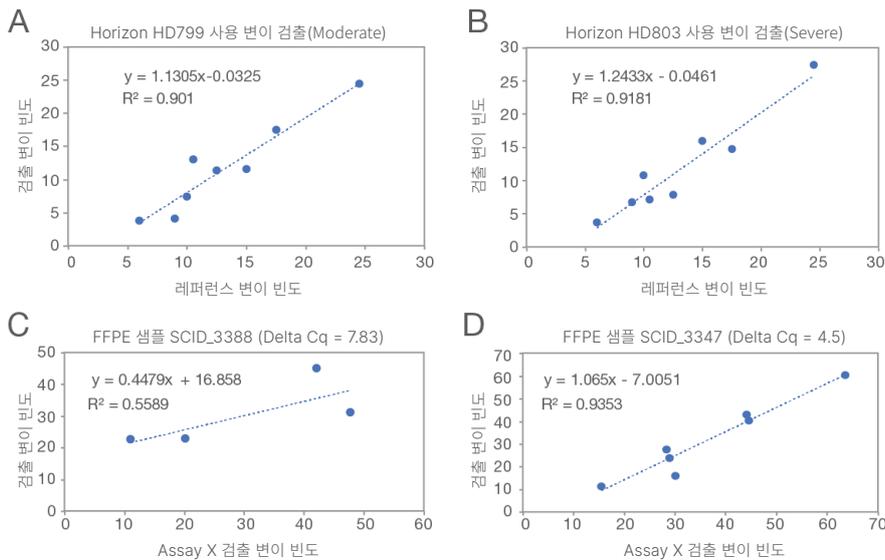


그림 5: 정확한 변이 검출 성능 - Illumina DNA Prep with Enrichment(A, B)는 세포주 FFPE 대조군 인간 레퍼런스 DNA 샘플(C, D)과 실제 수집한 FFPE 샘플에 대해 낮은 풍부도(low abundance)의 체세포 변이 검출(somatic variant calling) 성능을 제공하여, 이때 관찰된 변이 빈도는 이종상동성 유전자(orthologous gene) 시퀀싱 assay 사용 시 관찰된 빈도와 유의한 상관관계를 보임.

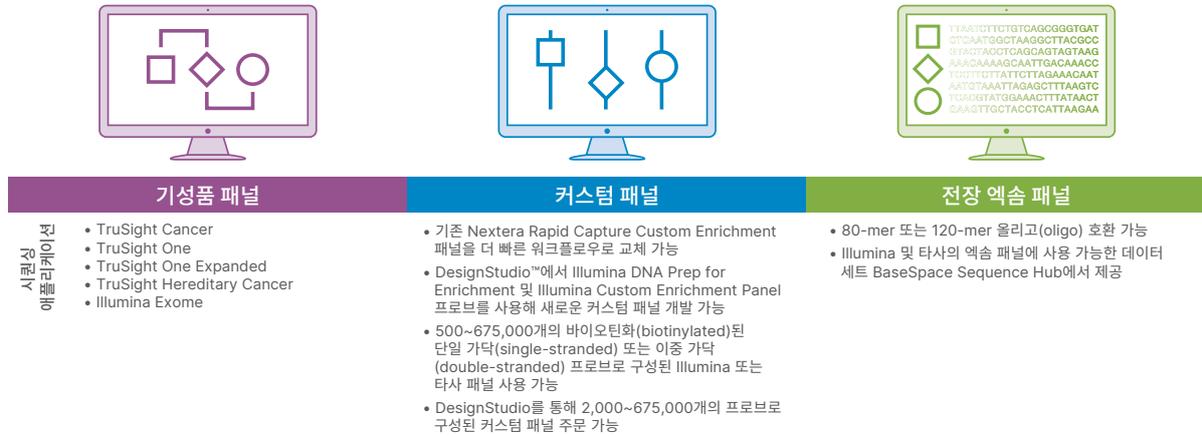


그림 6: Illumina DNA Prep with Enrichment가 지원하는 광범위한 애플리케이션 – Illumina DNA Prep with Enrichment는 커스텀 패널, 기성품 패널 및 엑세스 패널 등 다양한 애플리케이션을 지원함.

요약

Illumina DNA Prep with Enrichment는 Illumina 인리치먼트 포트폴리오 중 가장 신속한 워크플로우입니다. 이 솔루션은 경험 수준에 상관 없이 다양한 연구자가 손쉽게 사용이 가능하며 자동화를 지원하여, 기성품 패널, 커스텀 패널, 전장 엑세스 시퀀싱 등 광범위한 연구 설계에 공통적으로 적용이 가능한 워크플로우를 제공합니다. 또 온비드 태그멘테이션을 기반으로 다양한 DNA 사용량 및 샘플 유형을 지원합니다. Illumina DNA Prep with Enrichment는 Illumina 및 타사의 인리치먼트 프로브/패널과 사용이 가능하므로 콘텐츠 이동성이 확보됩니다. 혁신적인 Illumina DNA Prep with Enrichment 솔루션과 Illumina SBS chemistry의 결합은 최적의 표적 인리치먼트 및 엑세스 시퀀싱 연구를 가능케 합니다.

상세 정보

Illumina DNA Prep with Enrichment

온비드 태그멘테이션

참고 문헌

1. Illumina. BWA Enrichment v2.1 BaseSpace App Guide. support.illumina.com/content/dam/illumina-support/documents/documentation/software_documentation/basespace/basespace-bwa-enrichment-v2-1-app-guide-15050958-01.pdf. Updated 2016. Accessed September 22, 2023.
2. Illumina. Illumina DNA Prep Data Sheet. illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/illumina-dna-prep-data-sheet-m-gl-01373/illumina-dna-prep-data-sheet-m-gl-01373.pdf. Updated 2022. Accessed August 17, 2023.
3. 실제 데이터세트는 BaseSpace Sequence Hub의 Demo Data에서 확인 가능(<https://basespace.illumina.com/>).

제품 목록

제품	카탈로그 번호
Illumina DNA Prep with Enrichment, (S) Tagmentation (96 samples)	20025524
Illumina DNA Prep with Enrichment, (S) Tagmentation (16 samples)	20025523
Flex Lysis Reagent Kit	20018706
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set A, Tagmentation (96 indexes, 96 samples)	20091654
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set B, Tagmentation (96 indexes, 96 samples)	20091656
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set C, Tagmentation (96 indexes, 96 samples)	20091658
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set D, Tagmentation (96 indexes, 96 samples)	20091660
TruSight Cancer (8 enrichment reactions)	FC-121-0202
TruSight One (6 enrichment reactions)	20029227
TruSight One Expanded (6 enrichment reactions)	20029226
TruSeq Hereditary Cancer (8 enrichment reactions)	20029551
Illumina Custom Enrichment Panel	20025371



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-00218 KOR