

# Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment

Illumina의 솔루션으로  
일관적이고 집중된  
엑솜 시퀀싱 결과 확보

- 포괄적이고 집중된 최신 패널을 통한 효율적인 엑솜 커버리지
- 넉넉한 구성품 볼륨으로 사용 및 자동화가 용이한 Library Preparation Kit
- 수준 높은 엔드투엔드 솔루션 및 지원

illumina®

## 믿을 수 있는 있는 파트너의 엔드투엔드 엑솜 시퀀싱 워크플로우

Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus 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). Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment를 사용하는 워크플로우는 추출한 유전체 DNA(genomic DNA, gDNA) 또는 혈액이나 타액을 직접 사용하는 샘플 준비 단계로 시작하여 신속한 온비드 태그멘테이션(on-bead tagmentation) 라이브러리 준비 chemistry와 하이브리드 캡처(hybrid-capture) 엑솜 인리치먼트를 결합한 단계로 이어집니다(그림 2).<sup>1</sup> Illumina DNA Prep with Enrichment chemistry는 투입된 고품질 DNA(≥ 50 ng)의 표준화(normalization)를 통합 지원하므로 하이브리드화(hybridization)에 필요한 간단한 볼륨 기반 풀링(volume-based pooling)이 가능하며 각각의 인리치된 엑솜 라이브러리로부터 일관된 시퀀싱 결과를 제공해 줍니다. 마지막으로 Illumina 기기를 사용한 고성능 시퀀싱 단계를 거친 후 수상 경력에 빛나는 DRAGEN™ Bio-IT Platform을 통한 데이터 분석 단계를 마치면 WES 워크플로우가 완료됩니다.<sup>2</sup> 유전 질환의 경우, Illumina Connected Insights - Germline 플랫폼은 데이터 해석 및 보고 단계를 간소화하기 위해 설명 가능한 인공 지능(explainable artificial intelligence, XAI) 및 자동화를 활용합니다.

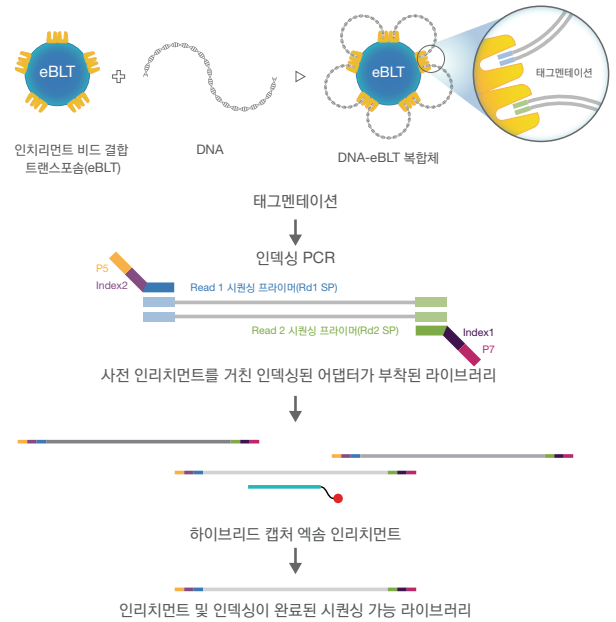


그림 2: 간소화된 태그멘테이션 기반 라이브러리 준비 및 엑솜 인리치먼트 절차 - 인리치먼트 비드 결합 트랜스포솜(enrichment bead-linked transposome, eBLT)은 다양한 DNA 샘플 사용량에 대해 높은 허용 오차로 균일한 태그멘테이션 반응을 가능케 함.<sup>1</sup> 하이브리드 캡처 인리치먼트 후 엑솜 라이브러리는 시퀀싱에 바로 사용할 수 있음.



그림 1: 샘플 준비에서 보고까지 모든 단계를 한 파트너를 통해 완료하는 워크플로우 - Illumina의 엔드투엔드 엑솜 시퀀싱 프로젝트 워크플로우는 추출한 gDNA(또는 직접 추출 프로토콜을 통해 혈액이나 타액에서 추출한 DNA)를 사용하는 샘플 준비 단계로 시작하여 Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment로 라이브러리를 준비하는 단계로 이어짐. 그 다음 NovaSeq™ 6000, NextSeq™ 2000, NextSeq 1000 또는 NextSeq 550 시스템으로 연구에서 요구하는 규모 및 처리량에 따른 시퀀싱 수행 후 DRAGEN Enrichment 앱을 이용한 정확하고 신속한 2차 분석 및 변이 검출(variant calling) 단계가 진행됨. 유전 질환 연구의 경우 Illumina Connected Insights - Germline으로 직관적인 해석 및 보고가 가능함.

\* 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.

## 공공 데이터베이스 내 질병 관련 변이의 대부분을 포함하는 비용 대비 효과적이고 포괄적인 커버리지

ILLUMINA DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment는 포괄적이고 집중된 최신 엑솜 인리치먼트 패널을 사용합니다. 키트에 포함되어 있는 Twist Bioscience® for Illumina Exome 2.0 Plus 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 2.0 Plus 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).<sup>3-9</sup>

표 1: 비용 대비 효과적인 크기로 표적 영역 커버리지를 높이는 Twist Bioscience for Illumina Exome 2.0 Plus Panel\*

Exome Panel	Twist Bioscience for Illumina Exome 2.0 Plus Panel	Illumina Exome Panel
크기	37.5 Mb	42.21 Mb
RefSeq CDS <sup>3</sup>	99.1%	98.2%
CCDS CDS <sup>4</sup>	99.9%	99.5%
ACMG 73 Genes CDS <sup>5</sup>	99.9%	99.3%
COSMIC Cancer Gene Census CDS <sup>6,7</sup>	99.9%	99.3%
OMIM <sup>8</sup>	99.1%	97.7%

표 2: 임상 연구에 중점을 둔 Twist Bioscience for Illumina Exome 2.0 Plus Panel 콘텐츠\*

ClinVar 병원성/유사 병원성 변이 CDS <sup>a,9</sup>	98.6%
ACMG 73 병원성/유사 병원성 변이 CDS <sup>b,5</sup>	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 변이는 ACMG 유전자 큐레이션을 거친 CDS와 ClinVar 병원성/유사 병원성 변이를 중첩한 변이를 나타냄.

표 3: 플로우 셀(Flow Cell) 및 시퀀싱 시스템별 인치리된 Exome 2.0 Plus 라이브러리 예상 개수<sup>a</sup>

희망 평균 표적 커버리지 렵스(Depth)	NextSeq 550 시스템 <sup>b</sup>		NextSeq 2000 시스템		NovaSeq 6000 시스템			
	Mid-output	High-output	P2 <sup>c</sup>	P3	SP	S1	S2	S4
50x	6	19	19	57	34	69	176	428 <sup>d</sup>
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.

\* Illumina 내부 데이터에 근거한 수치. 연구 전용이며, 본 사양은 임상/진단용으로 승인되지 않음.

Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment 시퀀싱 데이터는 5 Gb의 데이터 아웃풋과 인리치먼트에 두 가지 하이브리드화 시간 조건을 적용했을 때 20x 이상의 시퀀스 디프스(depth)로 더 높은 비율의 표적을 커버하며 우수한 커버리지 일관성을 보입니다(그림 3).

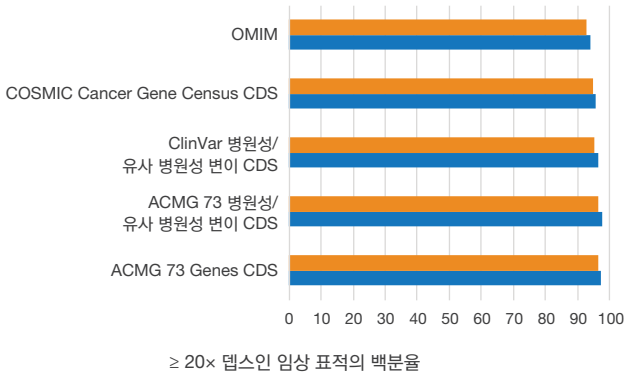


그림 3: 공공 데이터베이스 내 질병 관련 변이의 대부분을 포함하는 광범위하고 포괄적인 커버리지\* — Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment는 1.5시간(주황색) 또는 16시간(파란색)의 두 가지 하이브리드화 시간 조건 적용 시 ≥ 20x 디프스인 ACMG, ClinVar, OMIM, COSMIC과 같은 공공 데이터베이스의 표적에 대해 높은 평균 비율의 커버리지를 보임.<sup>5-9</sup>

(\* Illumina 내부 데이터에 근거한 수치. 연구 전용이며, 본 사양은 임상/진단용으로 승인되지 않음.)

## 높은 수준의 성능

Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment는 매우 우수한 인리치먼트 assay 성능을 가지고 있습니다. 데이터는 Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment 키트와 키트에 포함된 Twist Bioscience for Illumina Exome 2.0 Plus Panel을 사용하여 1.5시간 또는 16시간 하이브리드화 조건하에 수집되었습니다. 비교를 위해 기존 Illumina Exome Panel을 사용하였으며, 더 짧은 프로브(probe)를 사용한 관계로 워싱(washing) 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 앱 및 Picard 파이프라인<sup>10</sup>의 성능 매트릭스(metrics)를 살펴보면, Twist Bioscience for Illumina Exome 2.0 Plus 프로브 사용 시 Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus 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).

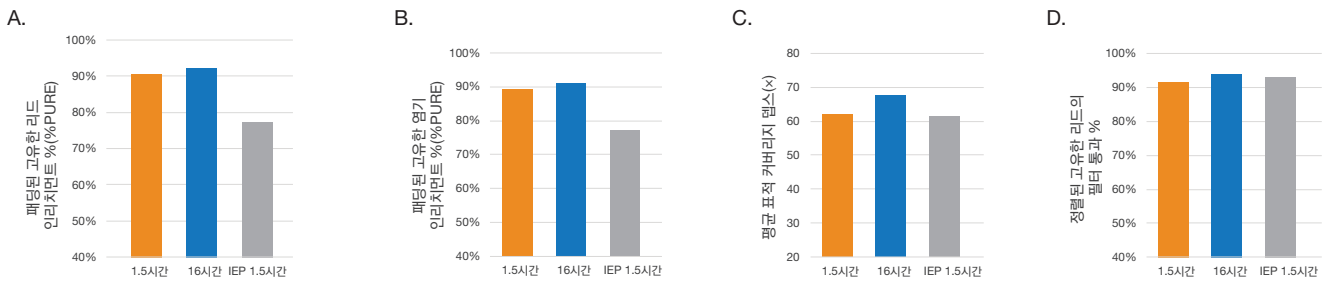


그림 4: Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment의 우수한 인리치먼트 assay 성능 — Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment는 1.5시간(주황색) 또는 16시간(파란색) 하이브리드화 조건하에 Illumina Exome Panel(IEP 1.5시간, 회색)보다 강력한 성능을 나타냄. DRAGEN 매트릭스: (A) 패딩된 고유한 리드 인리치먼트 %(% PURE, 150 bp의 패딩된 크기), (B) 패딩된 고유한 염기 인리치먼트 %(% PUBE, 150 bp의 패딩된 크기), (C) 평균 표적 커버리지 디프스. Picard 매트릭스: (D) 정렬된 고유한 리드의 필터 통과 %. 인리치먼트 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).

## 커버리지 뎀스 및 균일성

추가 분석 결과, Illumina Exome Panel보다 더 우수한 Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment의 커버리지 균일성(uniformity)도 확인할 수 있었습니다(그림 5). Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment는 높은 비율의 20x 이상 리드 뎀스인 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.

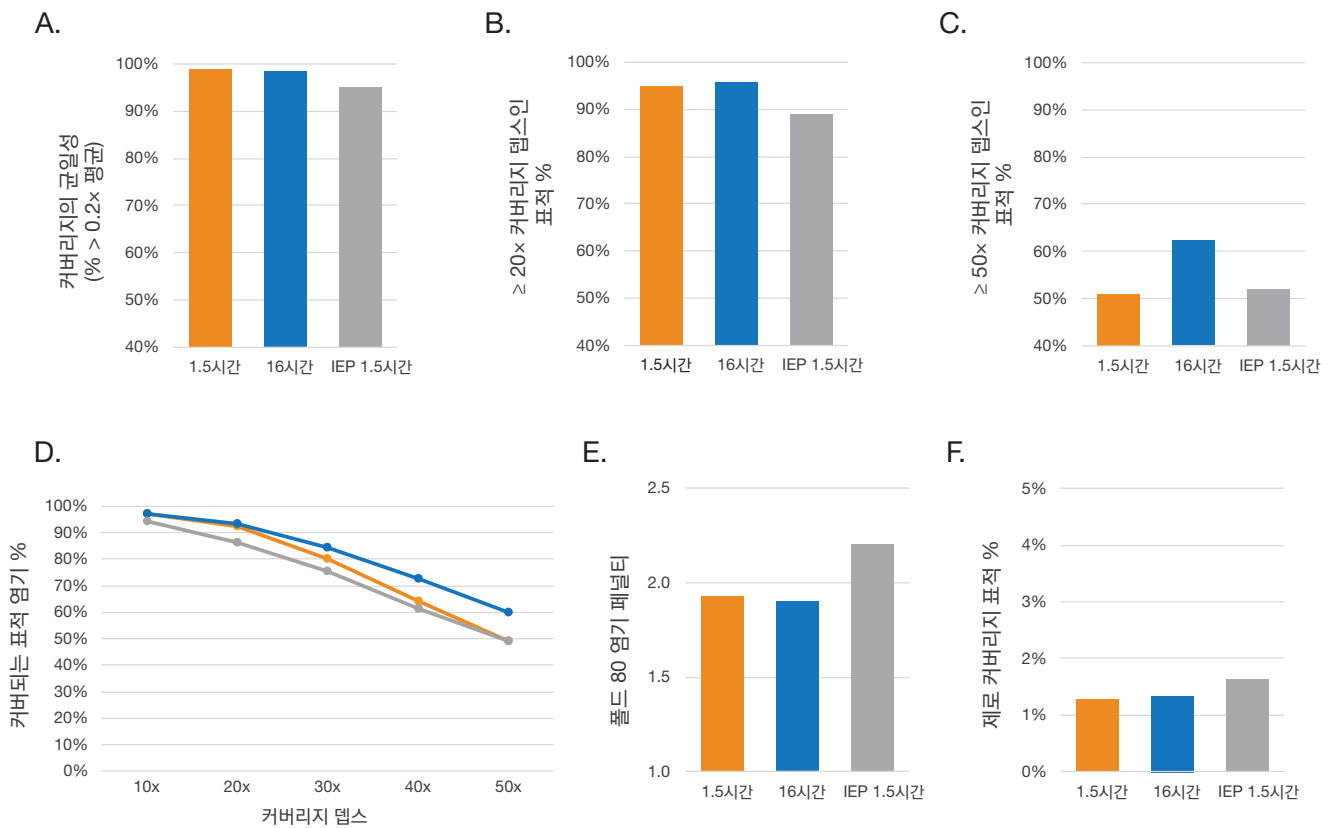


그림 5: 하이브리드화 시간과 관계없이 우수한 커버리지와 균일성 — Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment는 1.5시간(주황색) 또는 16시간(파란색) 하이브리드화 조건을 적용했을 때 동시에 런을 수행한 Illumina Exome Panel(IEP 1.5시간, 회색)보다 우수한 커버리지 균일성을 나타냄. DRAGEN 매트릭스: (A) 커버리지 균일성(% > 0.2x 평균 커버리지), (B) ≥ 20x 커버리지 뎀스인 표적 %, (C) ≥ 50x 커버리지 뎀스인 표적 %. Picard 매트릭스: (D) 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), (E) 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.

## 요약

ILLUMINA DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment는 연구자가 신뢰할 수 있는 결과를 얻을 수 있도록 설계된 효과적이고 효율적인 WES 솔루션입니다. 키트에 포함된 Twist Bioscience for Illumina Exome 2.0 Plus Panel은 공공 데이터베이스 내 질병 관련 변이의 대부분을 포함하는 포괄적인 최신 콘텐츠를 제공합니다. 최적화된 인리치먼트 패널은 샘플 처리량(throughput)이 높아 연구자가 경제적으로 엑솜 시퀀싱을 수행할 수 있도록 하고, 균일하고 우수한 커버리지로 용이한 후속 분석 및 해석을 지원합니다. 이제 랩에서는 단 한 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 2.0 Plus Enrichment에 대한 자세한 정보는 [illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/dna-prep-exome-enrichment.html](https://illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/dna-prep-exome-enrichment.html)에서 확인하실 수 있습니다.

DRAGEN Bio-IT Platform에 대한 자세한 정보는 [sapac.illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/dragen-bio-it-data-sheet-m-gl-00680/dragen-bio-it-data-sheet-m-gl-00680-kor.pdf](https://sapac.illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/dragen-bio-it-data-sheet-m-gl-00680/dragen-bio-it-data-sheet-m-gl-00680-kor.pdf)에서 확인하실 수 있습니다.

ILLUMINA Connected Insights – Germline에 대한 자세한 정보는 [developer.illumina.com/news-updates/illumina-connected-insights-germline-available-now](https://developer.illumina.com/news-updates/illumina-connected-insights-germline-available-now)에서 확인하실 수 있습니다.

## 제품 목록

제품	카탈로그 번호
ILLUMINA DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment, (S) Tagmentation Set B (96 samples, 12-plex) <sup>a</sup>	20077595
ILLUMINA DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment, (S) Tagmentation Set D (96 samples, 12-plex) <sup>a</sup>	20077596
Flex Lysis Reagent Kit (96 reactions) <sup>b</sup>	20018706
IDT for ILLUMINA DNA/RNA Unique Dual Indexes Set A, Tagmentation (96 indexes, 96 samples) <sup>c</sup>	20027213
IDT for ILLUMINA Nextera™ DNA Unique Dual Indexes Set C (96 indexes, 96 samples) <sup>c</sup>	20027215

- 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 2.0 Plus Panel 인리치먼트 프로브 그리고 인덱스 어댑터 플레이트(index adapter plate)가 포함된 키트
- 혈액을 바로 투입할 경우 필요한 키트
- 원하는 경우 다른 인덱스 세트 선택 가능.

## 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://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 2020. Accessed July 2022.
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/dragen-wins-precisionfda-challenge-showcase-accuracy-gains.html](https://illumina.com/science/genomics-research/dragen-wins-precisionfda-challenge-showcase-accuracy-gains.html). Published 2021. Accessed July 2022.
3. NIH National Library of Medicine. RefSeq - NCBI Reference Sequence Database. NCBI website. [ncbi.nlm.nih.gov/refseq](https://ncbi.nlm.nih.gov/refseq). Accessed March 2022.
4. CCDS - Consensus CDS (CCDS) Database. NCBI website. [ncbi.nlm.nih.gov/projects/CCDS/CcidsBrowse.cgi](https://ncbi.nlm.nih.gov/projects/CCDS/CcidsBrowse.cgi). Accessed March 2022.
5. American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). ACMG Recommendations for Reporting of Incidental Findings in Clinical Exome and Genome Sequencing. NCBI website. [ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/docs/acmg](https://ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/docs/acmg). Updated June 2021. Accessed March 2022.
6. Catalog of Somatic Mutations in Cancer (COSMIC). COSMIC website. [cancer.sanger.ac.uk/cosmic/download](https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/download). Accessed March 2022.
7. Cancer Gene Census. COSMIC website. [cancer.sanger.ac.uk/census](https://cancer.sanger.ac.uk/census). Accessed March 2022.
8. Catalog of Human Genes and Genetic Disorders. OMIM website. [omim.org](https://omim.org). Accessed March 2022.
9. ClinVar Database. NCBI website. [ncbi.nlm.nih.gov/clinvar](https://ncbi.nlm.nih.gov/clinvar). Accessed March 2022.
10. Genome Analysis Toolkit (GATK). The Broad Institute. [gatk.broadinstitute.org/hc/en-us/articles/360037428871-CollectHsMetrics-Picard-](https://gatk.broadinstitute.org/hc/en-us/articles/360037428871-CollectHsMetrics-Picard-). Accessed March 2022.

# illumina®

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

© 2022 Illumina, Inc. All rights reserved.  
모든 상표는 Illumina, Inc. 또는 각 소유주의 자산입니다.  
특정 상표 정보는 [www.illumina.com/company/legal.html](https://www.illumina.com/company/legal.html)을 참조하십시오.  
M-KR-00072 KOR