

Illumina DNA Prep with Enrichment

광범위한 표적 인리치먼트
애플리케이션을 지원하는
신속한 통합 워크플로우

- 약 6.5시간이 소요되는 신속한 라이브러리 준비 및 인리치먼트 워크플로우 제공
- 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 엑솔 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 엑솔 시퀀싱(whole-exome sequencing, WES) 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

- 최소 10 ng의 DNA를 사용할 수 있으나, 이 경우 포화(saturation) 기반의 DNA 표준화(normalization)는 제공되지 않음
- 다른 인리치먼트 plexity도 선택 가능하나 성능은 아직 확인되지 않음. 이 경우 추가적인 최적화 단계가 필요할 수 있으며 최적의 결과는 보장되지 않음
- 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)

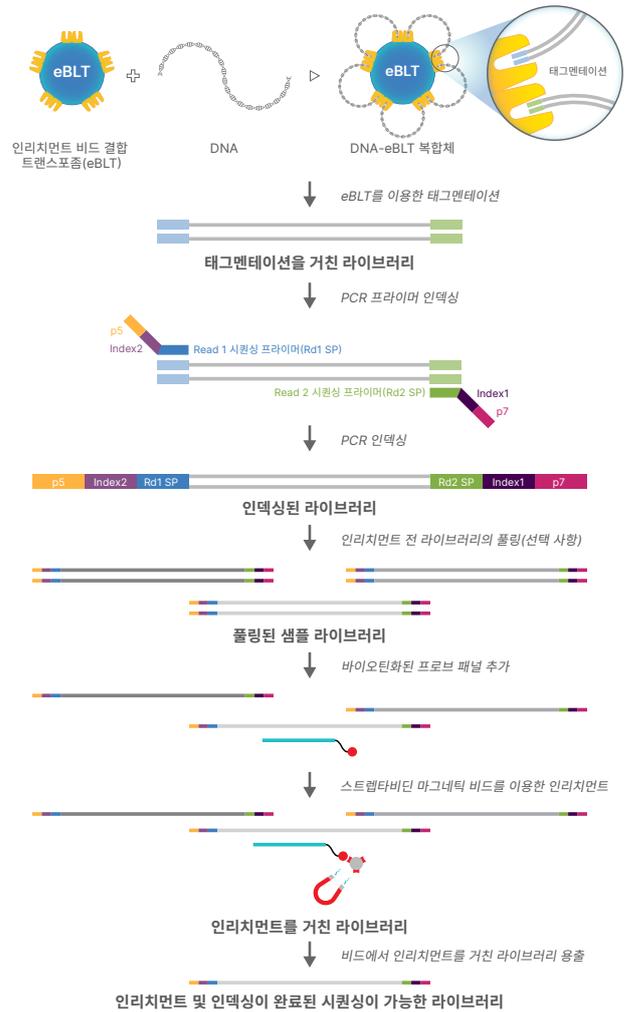


그림 1: Illumina의 태그멘테이션 chemistry — 인리치먼트 비드 결합 트랜스포좀(enrichment bead-linked transposome, eBLT)으로 조정된 균등한 태그멘테이션 반응(tagmentation reaction) 후 한 번의 하이브리드화 반응을 거치는 신속하고 유연한 워크플로우

신속하고 유연한 라이브러리 준비 및 인리치먼트 워크플로우

ILLUMINA DNA Prep with Enrichment 솔루션을 구성하는 가장 핵심적인 요소는 비드 결합 트랜스포좀(bead-linked transposome, BLT)을 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(fragmentation) 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.

신속한 인리치먼트 워크플로우

ILLUMINA DNA Prep with Enrichment 솔루션은 자동화된 라이브러리 준비에 필요한 리퀴드 핸들링 시스템(liquid handling system)을 지원하며, 단계 수가 적고 수작업 시간 및 소요 시간이 짧은 신속하고 간소화된 워크플로우를 제공합니다(그림 2, 표 2).

표 2: ILLUMINA 인리치먼트 워크플로우

파라미터	ILLUMINA DNA Prep with Enrichment
통합된 DNA 옵션 ^a	✓
다양한 DNA 사용량 지원	✓
라이브러리 표준화 단계 포함 ^b	✓
FFPE 호환 가능	✓
DNA 사용량	10~1,000 ng
라이브러리 준비 및 인리치먼트 소요 시간 ^c	약 6.5시간
라이브러리 삽입 크기 ^d	150~220 bp
샘플 인덱스 세트	UDI 384개

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

신속성, 간편성, 유연성



신속한 워크플로우

HOT 약 2시간
TAT 약 6.5시간



여러 유형의 샘플

gDNA, 혈액,
타액, FFPE



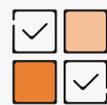
표준화된 결과

비드 기반
라이브러리 표준화



유연한 패널 옵션

기성품 또는 커스텀 패널
엑솜 패널
ILLUMINA 또는 타사 패널



종합 솔루션

DRAGEN™ Secondary Analysis
Variant Interpreter
자동화 스크립트

그림 2: 신속하고 유연한 ILLUMINA 인리치먼트 워크플로우를 제공하는 ILLUMINA DNA Prep with Enrichment — 워크플로우 소요 시간은 수동 워크플로우를 통해 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. HOT: hands-on time(수작업 시간), TAT: turnaround time(총 소요 시간)

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).

표 3: 인리치먼트 패널의 성능 비교^a

파라미터 ^b	Illumina Exome Panel	엑솜 패널 X	엑솜 패널 Y
패널 크기	45 Mb	39 Mb	33 Mb
프로브 크기	80 bp	120 bp	120 bp
패딩된 리드 인리치먼트 (온타겟) ^d	85%	91%	91%
절편 길이 중앙값	약 200 bp	약 200 bp	약 200 bp
20x 커버리지	93%	96%	97%
커버리지 균일성 ^d	95%	97%	98%
샘플당 리드 덱스 ^a	30M 개의 CPF	25M 개의 CPF	20M 개의 CPF
SNV 정밀도	99%	99%	99%
SNV 재현율	94%	94%	95%

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 Guide² 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, iSeq™ 100, MiniSeq™ 및 MiSeq™ 시스템 같이 처리량이 낮은 시퀀싱 시스템과도 사용이 가능합니다

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

패널	표적 커버리지	iSeq 100 시스템	MiniSeq 시스템		MiSeq 시스템			NextSeq 550 시스템	
			Mid	High	v2	v2 Nano/Micro	v3	Mid	High
기성품 패널									
TruSight™ Cancer	395×	4	8	24	12	1/4	24	96	384
TruSight Hereditary Cancer	395×	4	8	24	12	1/4	24	96	384
커스텀 패널 ^b									
프로브 2,000개	450×	6	12	37	22	NR/6	37	260	384
프로브 5,000개	370×	3	6	18	11	NR/3	18	65	200
프로브 10,000개	180×	3	6	19	11	NR/3	19	33	100
프로브 50,000개	100×	NR	2	7	4	NR	7	35	107
프로브 100,000개	100×	NR	NR	3	2	NR	3	17	53
프로브 300,000개	100×	NR	NR	NR	NR	NR	NR	6	18

패널	표적 커버리지	NextSeq 2000 시스템			NovaSeq 6000 시리즈			NovaSeq X 시리즈		
		P1	P2	P3	S1	S2	S4	1.5B	10B	25B
커스텀 패널 ^b										
프로브 2,000개	450×	148	593	1778	2370	6074	14,815	2370	14,815	38,519
프로브 5,000개	370×	72	288	865	1153	2955	7207	1153	7207	18,739
프로브 10,000개	180×	74	296	889	1185	3037	7407	1185	7407	19,259
프로브 50,000개	100×	27	107	320	427	1093	2667	427	2667	6933
프로브 100,000개	100×	13	53	160	213	547	1333	213	1333	3467
프로브 300,000개	100×	4	18	53	71	182	444	71	444	1156

a. Mid: Mid-output, High: High-output, NR: Not recommended(권장되지 않음)

b. 커스텀 패널 샘플 수의 계산은 표적 포획을 위해 120 bp 이중 가닥(double-stranded) DNA 올리고 패널(Illumina Custom Enrichment Panel v2)을 이용한 2 × 101 bp 리드 길이(read length)와 80% 인리치먼트 효율에서의 표적 커버리지 템플을 가정함. 처리 샘플 수는 워크플로우, 사용 샘플 또는 라이브러리 품질, 각 플랫폼과 플로우 셀의 실제 시퀀싱 아웃풋에 따라 상이할 수 있음

정확한 데이터

ILLUMINA DNA Prep with Enrichment는 다양한 양의 DNA 사용 시 매우 균등하고 일관적인 삽입 크기를 생성하여 연구자에게 균등하고 일관적인 라이브러리를 제공합니다. 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.

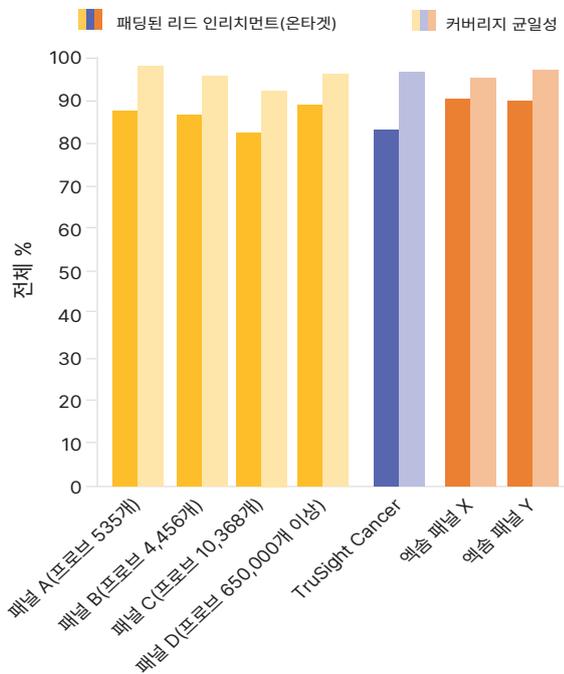


그림 4: 높은 커버리지 균일성 및 패딩된 리드 인리치먼트 — ILLUMINA DNA Prep with Enrichment는 커스텀 패널(패널 A~D), 기성품 패널(TruSight Cancer) 및 엑솜 패널 사용 시 높은 커버리지 균일성과 패딩된 리드 인리치먼트(온타겟)를 제공합니다.

ILLUMINA의 Custom Enrichment Panel 제품

ILLUMINA의 Custom Enrichment Panel 제품들은 다양한 표적 인리치먼트 워크플로우를 위한 신속하고 유연한 콘텐츠를 제공합니다. 완전한 커스텀 패널을 설계하거나, 엑솜 또는 기타 기성품 패널에 spike-in 패널을 추가하거나, 요구 사항에 따라 패널 디자인을 변경할 수 있습니다. 무료 온라인 도구인 DesignStudio™를 사용해 콘텐츠를 디자인하고 관심이 있는 콘텐츠에 특화된 패널을 만들 수 있습니다. 또한 디자인 과정 중 제공되는 동적 피드백을 통해 커버리지를 최적화할 수 있습니다. 비인간(Non-human) 연구 콘텐츠는 ILLUMINA Concierge Design Team의 지원을 통해 디자인 가능합니다. 최신 형식의 프로브인 ILLUMINA Custom Enrichment Panel v2는 온타겟 인리치먼트 및 균일성이 우수한 120 bp 이중 가닥 프로브를 지원하며 ILLUMINA DNA Prep with Enrichment 및 기타 인리치먼트 플랫폼 키트와도 호환이 가능합니다(그림 6, 표 5).

광범위한 애플리케이션에 적용 가능한 DNA 인리치먼트

우수한 인리치먼트 성능과 입증된 ILLUMINA sequencing by synthesis(SBS) 및 XLEAP-SBS™ chemistry의 정확성이 결합된 ILLUMINA DNA Prep with Enrichment 솔루션은 다양한 연구 분야에서 진보된 연구 설계에 적용할 수 있도록 WES 연구를 위한 패널을 비롯해 다양한 크기의 기성품 패널과 커스텀 패널을 모두 지원합니다(표 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.

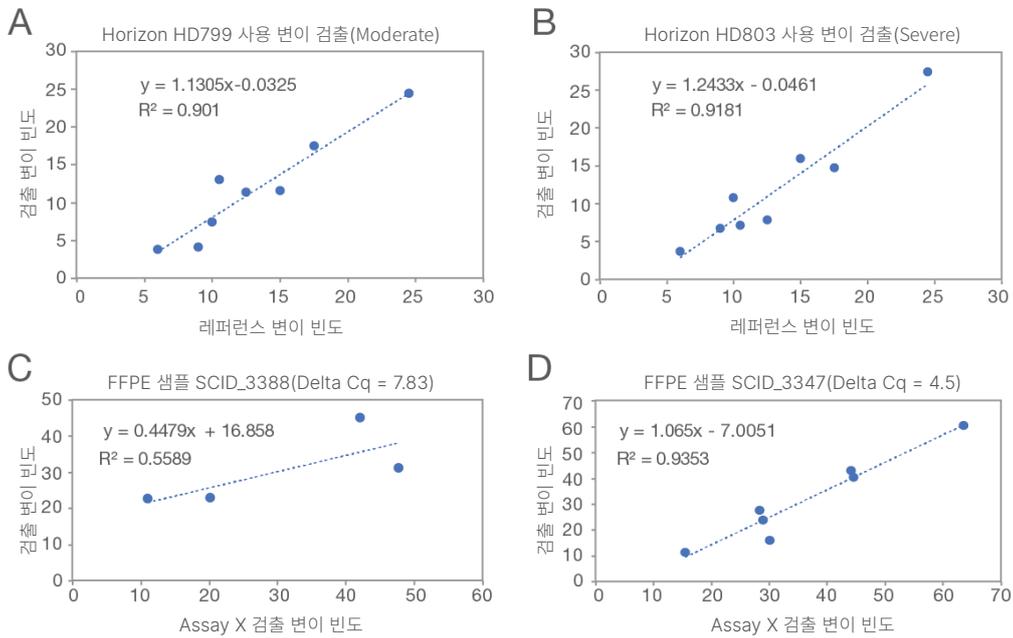


그림 5: 정확한 변이 검출 성능* — Illumina DNA Prep with Enrichment(A, B)는 세포주 FFPE 대조군 인간 레퍼런스 DNA 샘플(C, D)과 실제 수집한 FFPE 샘플에 대해 낮은 풍부도(low abundance)의 체세포 변이 검출(somatic variant calling) 성능을 제공하여, 이때 관찰된 변이 빈도는 이종상동성 유전자(orthologous gene) 시퀀싱 assay 사용 시 관찰된 빈도와 유의한 상관관계를 보임

표 5: Illumina의 Custom Enrichment Panel 제품

파라미터	Illumina Custom Enrichment Panel	Illumina Custom Enrichment Panel v2
패널 크기	프로브 2,000~67,000개	프로브 100~1,000,000개
올리고 형태	80-mer 단일 가닥 올리고 프로브	120 bp 이중 가닥 올리고 프로브 ^a
> 99.9%의 프로브 존재 유무, QC 확인 여부 ^b	X	O
호환되는 Illumina 라이브러리 프랩 키트	Illumina DNA Prep with Enrichment	Illumina DNA Prep with Enrichment Illumina Cell-Free DNA Prep with Enrichment Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment Illumina Complete Long Reads with Enrichment
패널 디자인 도구	DesignStudio 또는 Concierge Design Team	DesignStudio 또는 Concierge Design Team
총 소요 시간	5~7주	3~6주
패널 비용	비교적 높음	비교적 낮음

a. 미생물 시퀀싱 애플리케이션을 위한 80 bp 이중 가닥 올리고 프로브는 Concierge Design Team을 통해 디자인 가능
b. 차세대 시퀀싱(Next-generation sequencing, NGS)으로 확인

* 연구 전용이며, 본 사양은 임상/진단용으로 승인되지 않음

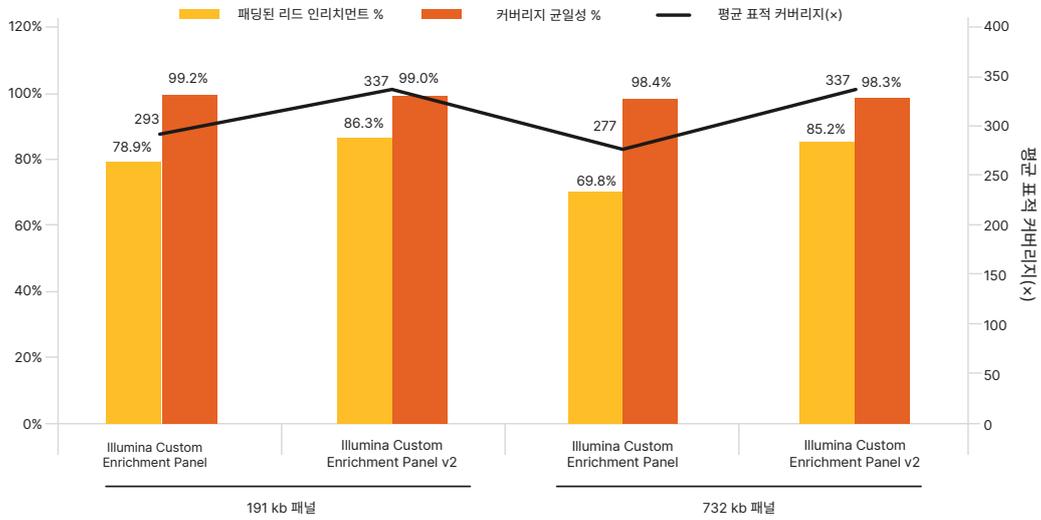


그림 6: Illumina DNA Prep with Enrichment 사용 시 Illumina Custom Enrichment Panel의 성능 — Illumina DNA Prep with Enrichment 사용 시 패딩된 리드 인리치먼트 %는 Illumina Custom Enrichment Panel v2가 Illumina Custom Enrichment Panel보다 더 높은 것으로 나타남

표 6: Illumina DNA Prep with Enrichment가 지원하는 광범위한 애플리케이션

패널 종류	애플리케이션
기성품 패널	TruSight Cancer
	TruSight Hereditary Cancer
커스텀 패널	관심이 있는 표적에 특화된 인리치먼트 패널 생성
	DesignStudio 도구를 통해 새로운 커스텀 패널 개발
	500~675,000개의 바이오티놀화된 단일/이중 가닥 프로브(single/double-stranded biotinylated probe)로 구성된 Illumina 또는 타사 패널 사용
	단일/이중 가닥 80-mer 또는 120-mer 올리고 호환 가능
	DesignStudio 도구를 통해 Illumina Custom Enrichment Panel 및 Illumina Custom Enrichment Panel v2 주문 가능
전장 엑솜 패널	Illumina Exome Panel
	BaseSpace Sequence Hub에서 Illumina 및 타사 엑솜 패널에 사용 가능한 데이터 세트 제공

요약

ILLUMINA DNA Prep with Enrichment는 ILLUMINA 인리치먼트 포트폴리오 중 가장 신속한 워크플로우입니다. 이 솔루션은 경험 수준에 상관없이 다양한 연구자가 손쉽게 사용이 가능하며 자동화를 지원하여 기성품 패널, 커스텀 패널, 전장 엑솜 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 엑솜 시퀀싱 연구를 가능케 합니다.

상세 정보

[ILLUMINA DNA Prep with Enrichment](#)

[온비드 태그멘테이션](#)

[ILLUMINA Custom Enrichment Panel](#)

[DesignStudio Assay Design Tool](#)

제품 목록

제품	카탈로그 번호
ILLUMINA DNA Prep with Enrichment, (S) Tagmentation (96 samples) ^a	20025524
ILLUMINA DNA Prep with Enrichment, (S) Tagmentation (16 samples) ^a	20025523
ILLUMINA DNA Prep, (S) Tagmentation (96 samples) ^b	20025520
ILLUMINA DNA Prep, (S) Tagmentation (16 samples) ^b	20025519
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
TruSeq Hereditary Cancer (8 enrichment reactions)	20029551
ILLUMINA Custom Enrichment Panel v2 (32 µl, 120 bp) ^c	20073953
ILLUMINA Custom Enrichment Panel v2 (384 µl, 120 bp) ^c	20073952
ILLUMINA Custom Enrichment Panel v2 (1536 µl, 120 bp) ^c	20111339
ILLUMINA Custom Enrichment Panel ^c	20025371

- 키트에는 라이브러리 프렘 시약과 하이브리드화별 12개의 샘플을 처리(12-plex)하는 8회의 하이브리드화가 가능한 하이브리드화 시약이 포함되어 있음. 정제 비드(Purification bead)와 인덱스 어댑터 플레이트(index adapter plate)는 별도로 구매해야 함
- 키트에는 라이브러리 프렘 시약만 포함되어 있으며, 다른 하이브리드화 plexity를 적용하기 위해서는 완전한 라이브러리 프렘 및 하이브리드화 키트를 함께 사용해야 함
- ILLUMINA의 DesignStudio 도구를 통해 인간 샘플을 위한 Custom Enrichment Panel의 디자인 가능. ILLUMINA Concierge Design Team을 통해 비인간 콘텐츠 디자인 가능. Concierge Design Service에 대한 자세한 정보는 ILLUMINA 영업 담당자에게 문의

참고 문헌

1. Illumina. Illumina DNA Prep Data Sheet. illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/illumina-dna-prep-data-sheet-m-gl-10373/illumina-dna-prep-data-sheet-m-gl-10373.pdf. Updated 2022. Accessed August 17, 2023.
2. 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.



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

© 2024 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 v2.0 KOR