

Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment

フォーカスを絞った
一貫性のあるエクソーム結果を、
1社のパートナーから

- フォーカスを絞った包括的な最新パネルを使った、コスト効率の良いエクソームカバレッジ
- 十分な試薬量の、使いやすい自動化対応ライブラリー調製キット
- 高品質なエンドツーエンドソリューションとサポート

illumina®

エンドツーエンドエクソームシーケンスを信頼できる1社から

Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichmentは、非常に優れた性能とデータ品質の、効率的なヒト全エクソームシーケンス(WES)結果を提供します。使いやすいライブラリー調製と濃縮ソリューションは、サンプルからレポート作成までのエンドツーエンドワークフローの一部です(図1)。Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichmentは抽出したゲノムDNA(gDNA)(または血液や唾液の直接インプット)から開始し、迅速なオンビーズタグメンテーションライブラリー調製、その後、ハイブリッドキャプチャーによるエクソーム濃縮を実施します(図2)。¹ Illumina DNA Prep with Enrichmentケミストリーでは、高品質なインプットDNA(≥ 50 ng)の組み込みノーマライゼーションをサポートしています。これにより、ハイブリダイゼーション時にシンプルな「容量に基づくプリーング」が可能となり、各濃縮エクソームライブラリーからの均一なシーケンス出力を提供します。イルミナ装置による高性能のシーケンスとDRAGEN™ Bio-IT Platformによる受賞歴のあるデータ解析によって、WESワークフローが完成します。² 遺伝性疾患に対しては、Illumina Connected Insights - Germlineプラットフォームが説明可能な人工知能(XAI)と自動化で、エクソームパネルに対して解釈とレポート作成を効率的に実施します。

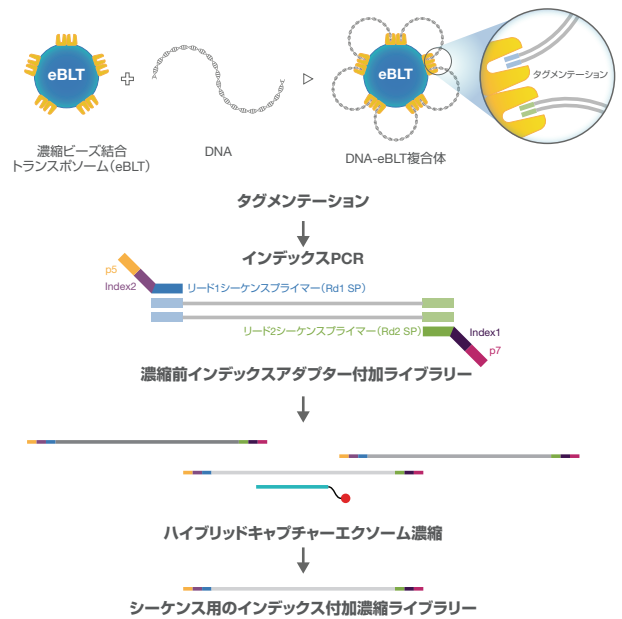


図2：効率的なタグメンテーションベースのライブラリー調製とエクソーム濃縮：濃縮ビーズ結合トランスポソーム(eBLT)が、DNAインプット量の変動に強い均一なタグメンテーション反応を媒介します。¹ ハイブリッドキャプチャー濃縮の後、シーケンス用のエクソームライブラリーが得られます。



図1：1社のパートナーによるサンプルからレポート作成まで：イルミナはエクソームシーケンスプロジェクトに対するエンドツーエンドワークフローをサポートします。抽出したgDNA(または直接抽出プロトコル後の血液または唾液からのDNA)から開始し、Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichmentでライブラリーを調製します。NovaSeq™ 6000システム、NextSeq™ 2000システム、NextSeq 1000システムまたはNextSeq 550システムで、規模とスループットのニーズに従ってシーケンスします。シーケンスの後には、DRAGEN Enrichmentアプリを使って、正確かつ迅速な二次解析とバリエーションコールを実施します。遺伝性疾患については、Illumina Connected Insights - Germlineが直感的な解釈とレポート作成を実現します。

* 血液を直接用いるプロトコルにはFlex Lysis Reagent Kitが必要です。示したデータは、血液または唾液ではなく、抽出したgDNAから生成されたものです。血液および唾液に対する性能はサンプル品質に応じて異なることがあります。

公的データベース中の疾患関連バリエーションの、コスト効率の良い包括的なカバレッジ

Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichmentは、フォーカスを絞った包括的な最新のエクソーム濃縮パネルを使用します。キットに含まれる、Twist Bioscience® for Illumina Exome 2.0 Plus PanelはIllumina Exome Panelよりも小さく、公的データベースで報告されたバリエーションのターゲット領域でのカバレッジが改善されています(表1および表2)。このようにカバレッジを絞ることで、シーケンスあたり最適なサンプル数でコスト効率の良いWESソリューションが可能になります(表3)。

Twist Bioscience for Illumina Exome 2.0 Plus Panelは、RefSeq、Consensus Coding Sequence (CCDS)、American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG)、Cancer Gene Census from the Catalog of Somatic Mutations in Cancer (COSMIC)、およびOnline Mendelian Inheritance in Man(ヒトにおけるオンラインメンデル遺伝学、OMIM)からのキュレーションされたコーディング配列(CDS)を対象としており(表1)、ClinVarおよびACMGデータベースに報告された病原性バリエーションまたは病原性の可能性のあるバリエーションに対して優れたカバレッジがあります(表2)。³⁻⁹

表1: Twist Bioscience for Illumina Exome 2.0 Plus Panelのコスト効率の良いサイズで、ターゲット領域カバレッジを向上

エクソームパネル	Twist Bioscience for Illumina Exome 2.0 Plus Panel	Illumina Exome Panel
サイズ	37.5 Mb	42.21 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%

表2: Twist Bioscience for Illumina Exome 2.0 Plus Panelの臨床リサーチフォーカスのコンテンツ

ClinVarの病原性/病原性の可能性のあるバリエーションのCDS ^{a,9}	98.6%
ACMG 73の病原性/病原性の可能性のあるバリエーションのCDS ^{b,5}	99.9%

- a. ClinVarの公開アーカイブスでは、裏付けされているエビデンスからヒトのバリエーションと表現型の関係性をレポートします。病原性/病原性の可能性のあるバリエーションはClinVar分類ガイドラインに基づいてレポートされます。
- b. ACMGの病原性/病原性の可能性のあるバリエーションは、ACMG遺伝子のキュレーションされたコーディング配列とClinVar病原性/病原性の可能性のあるバリエーションとの重なり合うバリエーションです。

表3: フローセルおよびシーケンスシステムあたりの濃縮Exome 2.0 Plusライブラリー数の見積り^a

ターゲット平均ターゲットカバレッジ深度	NextSeq 550システム ^b		NextSeq 2000システム		NovaSeq 6000システム			
	Mid-output	High-output	P2 ^c	P3	SP	S1	S2	S4
50×	6	19	19	57	34	69	176	428 ^d
100×	3	9	9	28	17	34	88	214
200×	1	4	4	14	8	17	45	109

- a. 見積りは101 bp × 2リード長に基づいており、一般的な社内実験に基づいて算出しました。サンプル数は、ワークフローのハンドリング、インプットサンプルまたはライブラリーの品質、各プラットフォームとフローセルの実際のシーケンス出力に応じて異なることがあります。実際のデータは、S4フローセルを用いてNovaSeq 6000システムで取得し、その他の装置およびフローセルに外挿しました。
- b. NextSeq 550試薬キットは150 bp × 2リード長に対応します。
- c. 同一サンプルスループットのP2フローセルは、NextSeq 1000システムでも使用可能です。
- d. このような多くの濃縮ライブラリーのプーリングには、追加のインデックスの調達が必要となります。

Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichmentのシーケンスデータは、5 Gbの出力と2種類の異なる濃縮ハイブリダイゼーション時間で、20×以上の深度で読まれるターゲット率が高い、優れたカバレッジ均一性を示します(図3)。

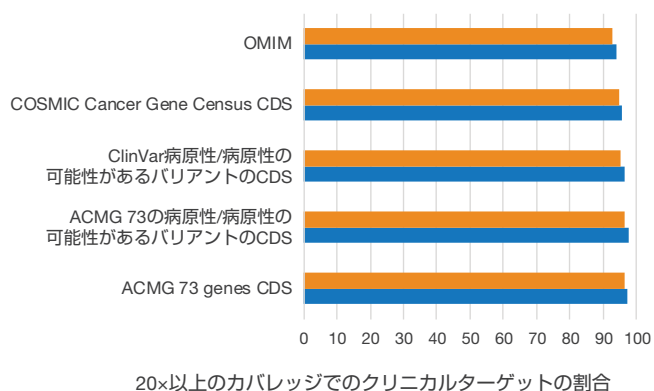


図3：公的データベースにおける疾患関連バリアントの広範囲かつ包括的なカバレッジ：1.5時間(オレンジ色)または16時間(青色)のハイブリダイゼーション時間において、Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichmentは、ACMG、ClinVar、OMIMおよびCOSMICを含む公的データベースからのターゲットを、高い割合で20×以上の深度でカバーしています。⁵⁻⁹

高品質な性能

Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichmentは非常に優れた濃縮アッセイ性能を示します。データの取得には、Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment、およびキットに含まれるTwist Bioscience for Illumina Exome 2.0 Plus Panelを用い、ハイブリダイゼーション時間を1.5時間または16時間としました。比較のために、アッセイは従来品のIllumina Exome Panelでも実施しました。1.5時間のハイブリダイゼーションと短いプローブを使用するために洗浄温度を58℃に下げたことを除き、同一プロトコールに従いました(図4および図5で「IEP 1.5時間」と表記)。

DRAGEN EnrichmentアプリおよびPicardパイプライン¹⁰からの性能メトリクスによると、Twist Bioscience for Illumina Exome 2.0 Plusプローブを用いたIllumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichmentでは、最適なマッピングされたリードの割合、リードのオンターゲット率(アライメントしたユニークリードに対するパスフィルター率、パディングされた(padded)ユニークリード濃縮率、およびパディングされたユニーク塩基の濃縮率に基づく)、および優れたターゲットカバレッジ平均深度を示します(図4)。

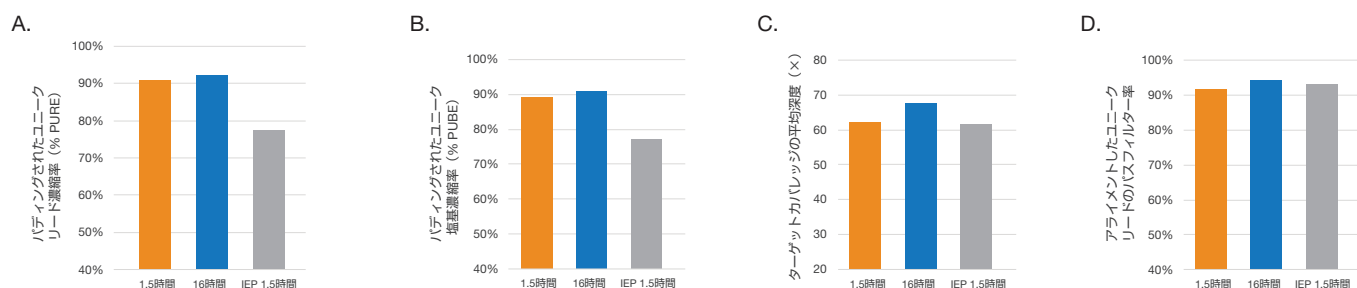


図4：Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichmentの優れた濃縮アッセイ性能：1.5時間(オレンジ色)または16時間(青色)のハイブリダイゼーション時間を用いたIllumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichmentは、Illumina Exome Panel(IEP 1.5時間、灰色)と比較して頑健な性能を示します。DRAGENメトリクス：(A)パディングされたユニークリード濃縮率(% PURE、パディングサイズ150 bp)、(B)パディングされたユニーク塩基濃縮率(% PUBE、パディングサイズ150 bp)、(C)ターゲットカバレッジ平均深度。Picardメトリクス：(D)アライメントしたユニークリードのパスフィルター率。濃縮ライブラリーはNovaSeq 6000システム、S4フローセルで5 Gb出力(5,000万ペアエンドリード、2,500万クラスター)、101 bp × 2リード長でシーケンスしました。

カバレッジ深度および均一性

追加の解析では、Illumina Exome Panelと比較してIllumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichmentの優れたカバレッジ均一性が示されます(図5)。Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichmentは高い割合の塩基を20×以上の深度でカバーする均一なカバレッジと、低いfold-80ベースペナルティー、および低いターゲットゼロカバレッジ率を実現します。

1.5時間と16時間のハイブリダイゼーション時間では性能は一貫しており、ワークフローを高速化したい場合は1.5時間のハイブリダイゼーション時間を使い、あるいはオーバーナイトの方が都合が良い場合にはハイブリダイゼーション時間を延長することもできます。

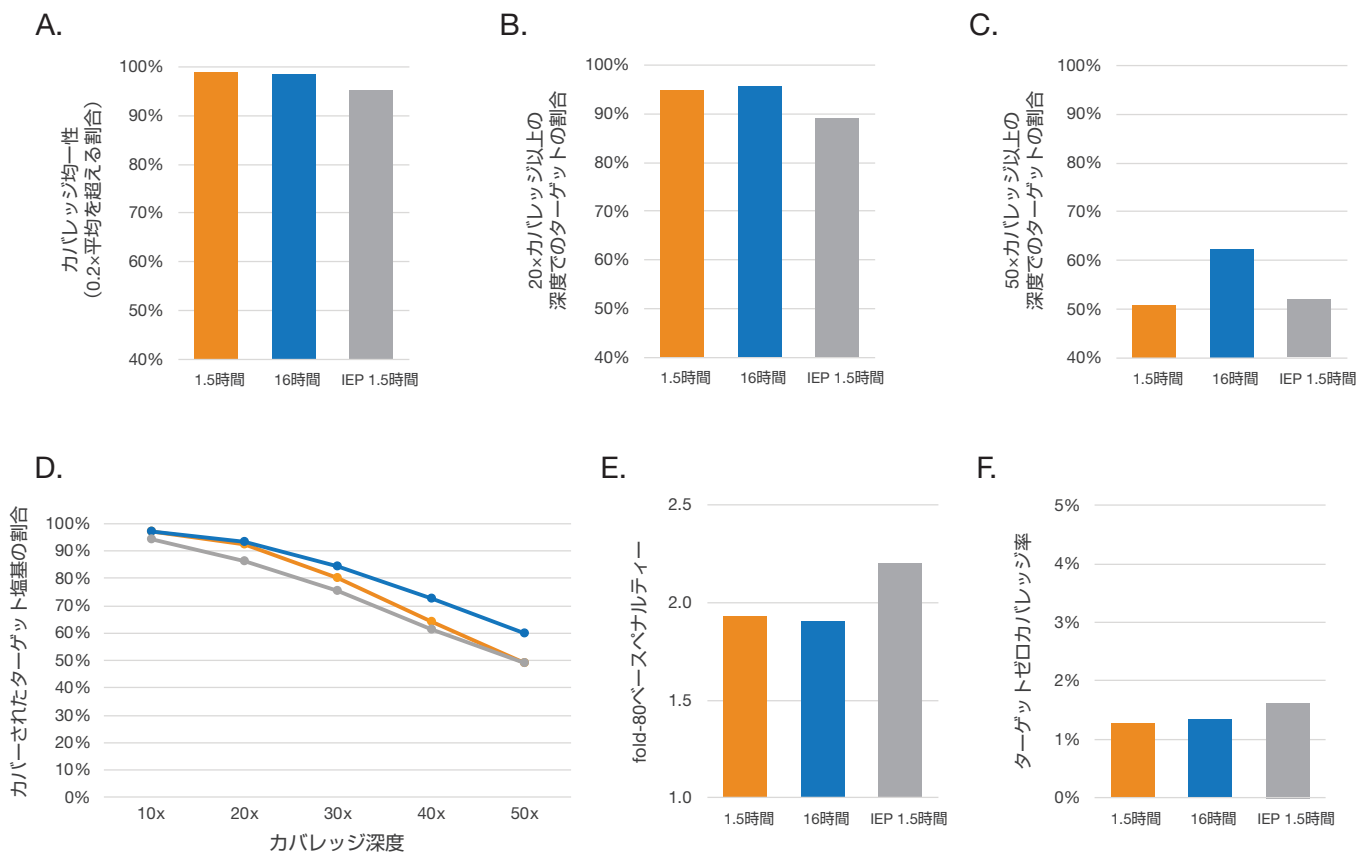


図5：ハイブリダイゼーション時間に依存しない優れたカバレッジと均一性：1.5時間(オレンジ色)または16時間(青色)のハイブリダイゼーション時間を用いたIllumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichmentは、並行して実験したIllumina Exome Panel(IEP 1.5時間、灰色)と比較して、優れたカバレッジ均一性を示します。DRAGENメトリクス：(A) カバレッジ均一性(「0.2×平均カバレッジ」を超える割合)、(B) 20×以上のカバレッジ深度でカバーされたターゲットの割合、(C) 50×以上のカバレッジ深度でカバーされたターゲットの割合。Picardメトリクス：(D) カバレッジ深度10×、20×、30×、40×および50×のターゲット塩基の割合、(E) fold-80ベースペナルティー(標的塩基の80%を標的塩基の平均カバレッジレベルまで高めるために必要な追加カバレッジの倍数)、(F) ターゲットゼロカバレッジ率。濃縮ライブラリーはNovaSeq 6000システム、S4フローセルで5 Gb出力(5,000万ペアエンドリード、2,500万クラスター)、101 bp × 2リード長でシーケンスしました。

まとめ

Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichmentは、効率的かつ効果的な、綿密に設計された信頼できるヒトWESソリューションです。キットに含まれるTwist Bioscience for Illumina Exome 2.0 Plus Panelは、公的データベース内の疾患関連バリエーションを網羅した、包括的かつ最新のコンテンツを提供します。最適化した濃縮パネルにより、サンプルスループットを高めることが可能となり、経済的なエクソームシーケンスを実現します。優れた均一なカバレッジにより、下流の解析および解釈が容易になります。これにより、1社のパートナーから、サンプルからレポート作成までの高品質なエンドツーエンドエクソームシーケンスワークフローからのベネフィットを得ることができます。

詳細はこちら

Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment : jp.illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/dna-prep-exome-enrichment.html

DRAGEN Bio-IT Platform : jp.illumina.com/products/by-type/informatics-products/dragen-bio-it-platform.html

Illumina Connected Insights - Germline : developer.illumina.com/news-updates/illumina-connected-insights-germline-available-now

製品情報

製品名	カタログ番号
Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment, (S) Tagmentation Set B (96 samples, 12-plex) ^a	20077595
Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment, (S) Tagmentation Set D (96 samples, 12-plex) ^a	20077596
Flex Lysis Reagent Kit (96 reactions) ^b	20018706
IDT for Illumina DNA/RNA Unique Dual Indexes Set A, Tagmentation (96 indexes, 96 samples) ^c	20027213
IDT for Illumina Nextera™ DNA Unique Dual Indexes Set C (96 indexes, 96 samples) ^c	20027215

- キットには、Illumina DNA Prep with Enrichmentライブラリー調製試薬、ハイブリダイゼーション試薬、クリーンアップ/サイズ選択用のIllumina Purification Beads、Twist Bioscience for Illumina Exome 2.0 Plus Panel濃縮プローブ、およびインデックスアダプタープレートが含まれます。
- 本キットは血液からの直接インプットの場合に必要です。
- 必要な場合のみ、異なるインデックスセットを追加で購入することもできます。

参考文献

1. Illumina. Illumina DNA Prep with Enrichment Data Sheet. jp.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. jp.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. Accessed March 2022.
4. CCDS - Consensus CDS (CCDS) Database. NCBI website. 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. Updated June 2021. Accessed March 2022.
6. Catalog of Somatic Mutations in Cancer (COSMIC). COSMIC website. cancer.sanger.ac.uk/cosmic/download. Accessed March 2022.
7. Cancer Gene Census. COSMIC website. cancer.sanger.ac.uk/census. Accessed March 2022.
8. Catalog of Human Genes and Genetic Disorders. OMIM website. omim.org. Accessed March 2022.
9. ClinVar Database. NCBI website. 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-. Accessed March 2022.

イルミナ株式会社

〒108-0014 東京都港区芝 5-36-7 三田ベルジュビル 22 階
Tel (03) 4578-2800 Fax (03) 4578-2810
jp.illumina.com

 www.facebook.com/illuminakk

販売店

本製品の使用目的は研究に限定されます。診断での使用はできません。 販売条件 : jp.illumina.com/tc

© 2022 Illumina, Inc. All rights reserved.

すべての商標および登録商標は、Illumina, Inc. または各所有者に帰属します。
商標および登録商標の詳細は jp.illumina.com/company/legal.html をご覧ください。
予告なしに仕様および希望販売価格を変更する場合があります。

Pub. No. M-GL-00002 v1.0-JPN 05OCT2022

illumina®