データシート

Illumina DNA Prep with Exome 2.5 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のエクソーム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
- 認定自動化メソッドを用いた使いやすい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
- ミトコンドリアパネルとカスタムパネルのスパイクインによる柔軟なコンテンツオプション

illumina®

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。

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 2.5 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 Qualified Methodは、イルミナのパートナーを通じてさまざまな自動化プラットフォームで利用できます。Illumina DNA Prep with Exome 2.5 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「容量に基づくプーリング」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。ライブラリーは、NovaSeq™ 6000システム、NovaSeq Xシステム、NextSeq™ 1000システム、NextSeq 2000システム、NextSeq 550システムでシーケンスします。受賞歴のあるDRAGEN™二次解析はバリアントコールを実施します。[2] 遺伝性疾患に対しては、Emedgene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。

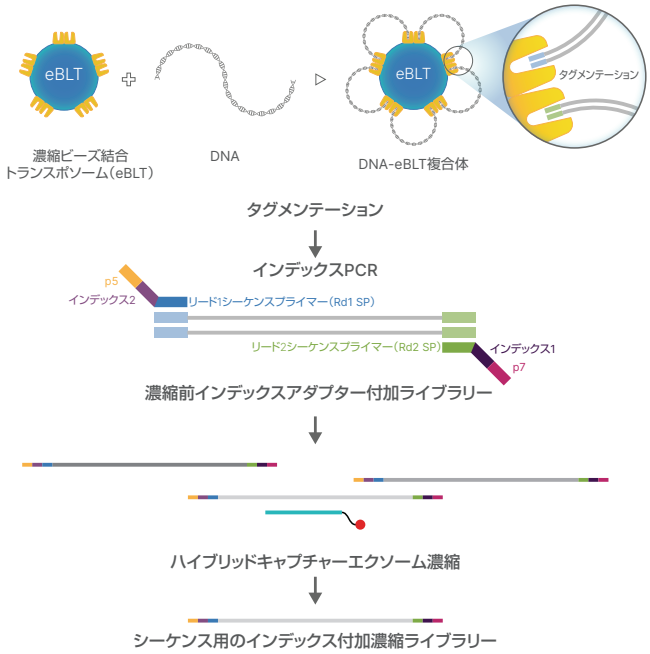


図2：効率的なタグメンテーションベースのライブラリー調製とエクソーム濃縮：濃縮ビーズ結合トランスポソーム（eBLT）が、DNAサンプルインプット量の変動に強い均一なタグメンテーション反応を媒介します。[1] ハイブリッドキャプチャー濃縮の後、シーケンス用のエクソームライブラリーが得られます。

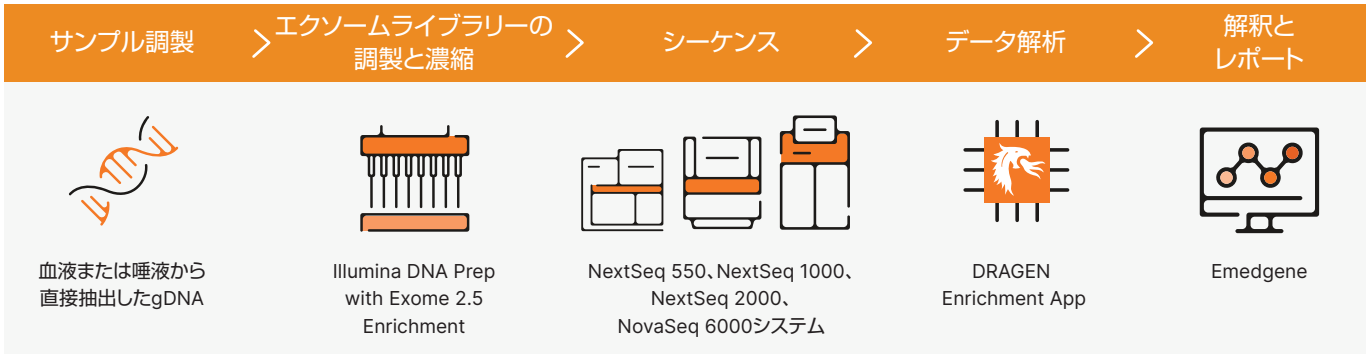


図1：1社のパートナーによるサンプルからレポート作成まで：イルミナはWESに対するエンドツーエンドワークフローをサポートします。抽出したgDNA（または直接抽出プロトコール後の血液または唾液からのDNA）はインプットとして、Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichmentを用いたライブラリー調製に使用します。Qualified Methodは、さまざまな自動化プラットフォームで利用できます。イルミナ装置の規模とスループットのニーズに従ってシーケンスします。DRAGEN Enrichment Appを使って、精確かつ迅速な二次解析とバリアントコールを実施します。遺伝性疾患については、Emedgene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ールには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。

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。

公開データベース中の疾患関連バリアントの、コスト効率の良い包括的なカバレッジ

Illumina DNA Prep with Exome 2.5 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 2.5 PanelはIllumina Exome Panelよりも小さく、公開データベースで報告されたバリアント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、シーケンスラン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 2.5 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アントまたは病原性の可能性のあるバリアントに対して優れたカバレッジがあります（表2）。[3-9]

ミトコンドリアゲノム（chrM）のカバレッジは、Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichmentプロトコールにスパイクインパネルとして Twist Bioscience for Illumina Mitochondrial Panelを使用することで簡単に追加できます。このミトコンドリアパネルは、chrMの16,659 bpおよび37遺伝子を完全にカバーしており、ミトコンドリアDNA（mtDNA）バリアントの濃縮とシーケンスが可能です。

表1：Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 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 2.5 Panel	Illumina Exome Panel
サイズ	37.5 Mb	45 Mb
RefSeq CDS[3]	99.1%	98.2%
CCDS CDS[4]	99.9%	99.5%
ACMGの73遺伝子の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 2.5 Panelのクリニカルリサーチフォーカスのコンテンツ

ClinVarの病原性/病原性の可能性があるバリアントのCDS[a,9]	98.6%
ACMGの病原性/病原性の可能性がある73バリアントのCDS[b,5]	99.9%

a. ClinVarの公開アーカイブでは、裏付けされているエビデンスからヒトのバリアントと表現型の関係性をレポートします。病原性/病原性の可能性があるバリアントは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/病原性の可能性があるバリアントリストには、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/病原性の可能性があるバリアントとの重なり合うバリアントが含まれます。

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 2.5 Enrichment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			
	中出力	高出力	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した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 2.5 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の率が高い、優れたカバレッジ均一性を示します（図3）。

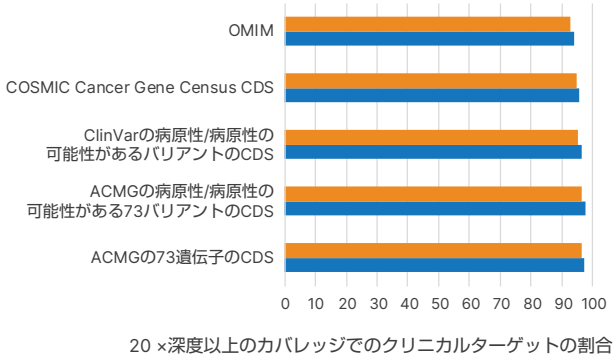


図3：公開データベースにおける疾患関連バリアントの広範囲かつ包括的なカバレッジ：1.5時間（オレンジ色）または16時間（青色）のハイブリダイゼーション時間において、Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichmentは、ACMG、ClinVar、OMIMおよびCOSMICを含む公開データベースからのターゲットを、20 ×以上の高い平均カバレッジ深度でカバーしています。[5-9]

高品質な性能

Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichmentは非常に優れた濃縮アッセイ性能を示します。データの収集には、Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment、およびキットに含まれるTwist Bioscience for Illumina Exome 2.5 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 App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 2.5 Panelプローブを用いたIllumina DNA Prep with Exome 2.5 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）。

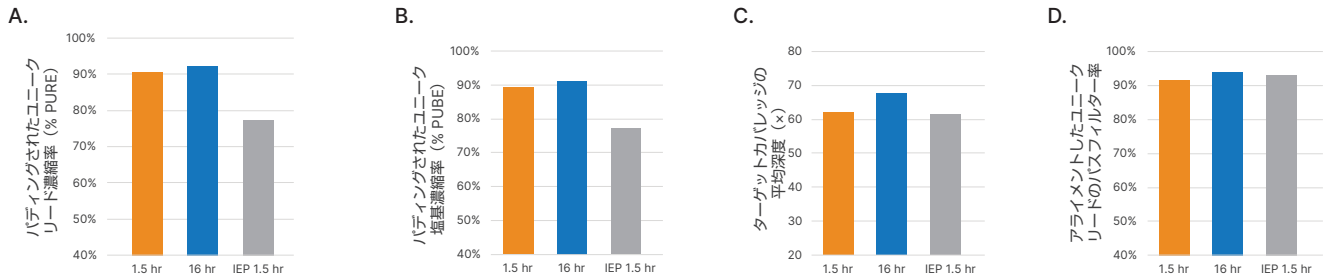


図4：Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichmentの優れた濃縮アッセイ性能：1.5時間（オレンジ色）または16時間（青色）のハイブリダイゼーション時間を用いたIllumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichmentは、Illumina Exome Panel（IEP 1.5時間、灰色）と比較してロバストな性能を示します。DRAGENメトリクス：（A）パディングされたユニークリード濃縮率（% PURE、パディングサイズ150 bp）、（B）パディングされたユニーク塩基濃縮率（% PUBE、パディングサイズ150 bp）、（C）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。

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。

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 2.5 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 2.5 Enrichmentは高い割合の塩基を20 ×以上のリード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い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。

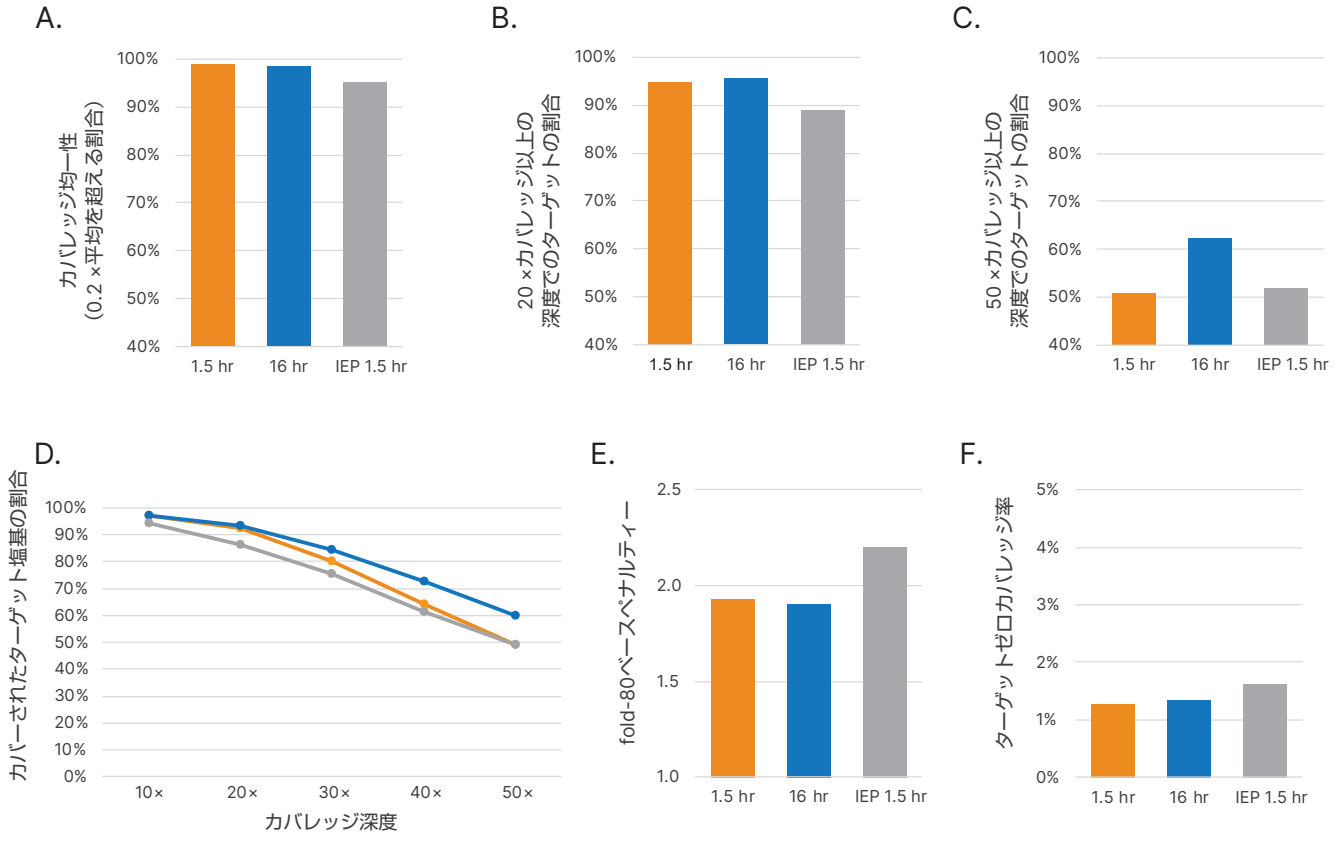


図5：ハイブリダイゼーション時間に依存しない優れたカバレッジと均一性：1.5時間（オレンジ色）または16時間（青色）のハイブリダイゼーション時間を用いたIllumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichmentは、並行して実験したIllumina Exome Panel（IEP 1.5時間、灰色）と比較して、優れたカバレッジ均一性を示します。DRAGENメトリクス：（A）カバレッジ均一性（「0.2 ×平均カバレッジ」を超える割合）、（B）20 ×以上のカバレッジ深度でカバーされたターゲットの割合、（C）50 ×以上のカバレッジ深度でカバーされたターゲットの割合。Picardメトリクス：（D）10 ×、20 ×、30 ×、40 ×、および50 ×カバレッジ深度の標的塩基の割合。（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。

ミトコンドリアDNAは、細胞内の核DNAに比べて多く存在します。Twist Bioscience for Illumina Mitochondrial Panelは、エクソームパネルに対して異なる濃度で使用でき、エクソームの平均ターゲットカバレッジやカバレッジ均一性に影響を与えることなく、mtDNAカバレッジを柔軟に変更できることが実証されています（図6）。

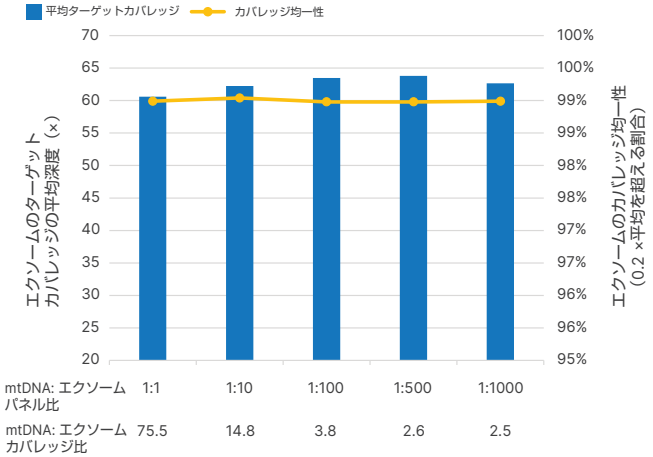


図6：ミトコンドリアカバレッジを追加した均一なエクソームカバレッジ：Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 PanelとTwist Bioscience for Illumina Mitochondrial Panelのさまざまな比率は、一貫したエクソーム平均ターゲットカバレッジ（青色棒）とカバレッジ均一性（黄色線）を示しています。Coriell Instituteからの合計72個のヒト細胞株DNAサンプル（NA24143、NA24149、NA24385）を、16時間のハイブリダイゼーション反応で1:1から1:1,000までの異なるmtDNA:exomeパネル比で濃縮しました（6 × 12プレックスプール）。72すべての濃縮ライブラリーは、シングルS4フローセルの5 Gb出力（5,000万ペアエンドリード、2,500万クラスター）を使用してNovaSeq 6000システムでシーケンスし、濃縮解析はDRAGEN Enrichment Appを使用して実施しました。

WESコンテンツのカスタマイズ

Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5パネルは、補足パネルを使用してカスタマイズでき、ターゲットを追加したり、WES実験のターゲットカバレッジを増加させることができます。Illumina Custom Enrichment Panel v2は、新たなターゲット領域のシーケンスカバレッジを得られるようにデザインしたり、既存のWESターゲット領域のカバレッジ深度を増加させるようデザインできます（図7、表4）。これらのパネルは、カスタムターゲットリストに対してデザインし、Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichmentプロトコールにスパイクインパネルとして簡単に追加でき、ミトコンドリアのスパイクインパネルを追加することもできます。カスタムパネルは、DesignStudio™オンラインデザインツールを使うか、イルミナコンシェルジュデザインチームのサポートを受けてデザインします。

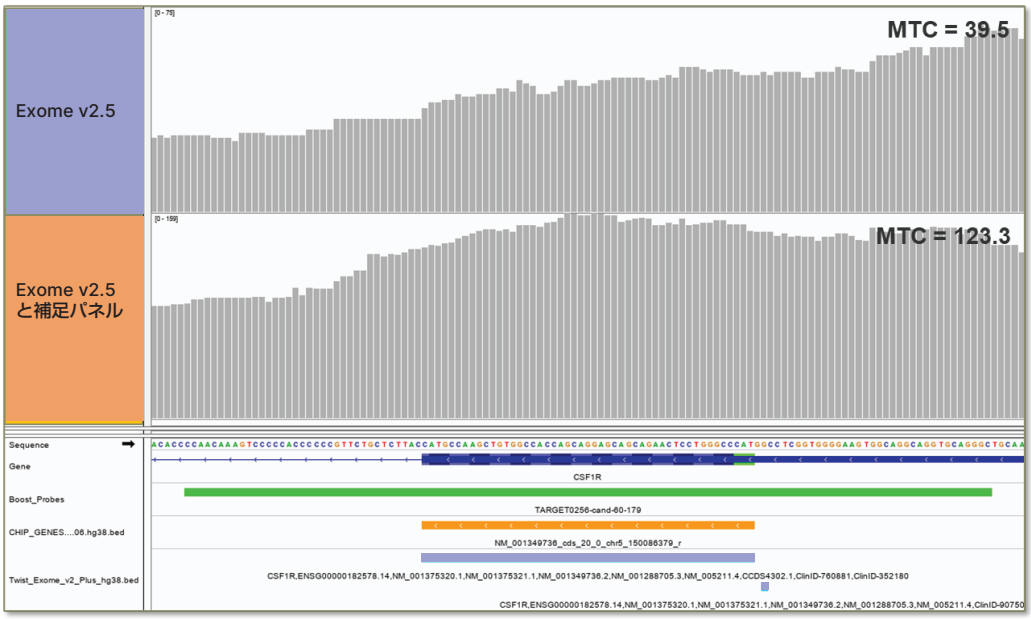
表4：Illumina Custom Enrichment Panel v2スパイクインパネルによるターゲットカバレッジの向上[a]

パラメーター	Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment	Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichmentとスパイクインパネル
平均ターゲットカバレッジ	63 ×	124 ×
カバレッジ均一性	98.3%	98.4%
20 ×のカバレッジ深度でカバーされたターゲットの割合	96.7%	98.6%
50 ×のカバレッジ深度でカバーされたターゲットの割合	66.6%	96.3%
ATドロップアウト	0.01%	1.08%
GCドロップアウト	9.9%	2.3%

a. Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichmentプロトコールは、Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panelでカバーされる領域をターゲットとするカスタムスパイクインパネルを使用する場合と使用しない場合で実施し、そのスパイクインパネルでターゲットとなる領域のカバレッジを解析しました。

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。

CSF1R
chr5:150086379-150086427



BCORL1
chrX:13001295-130016213

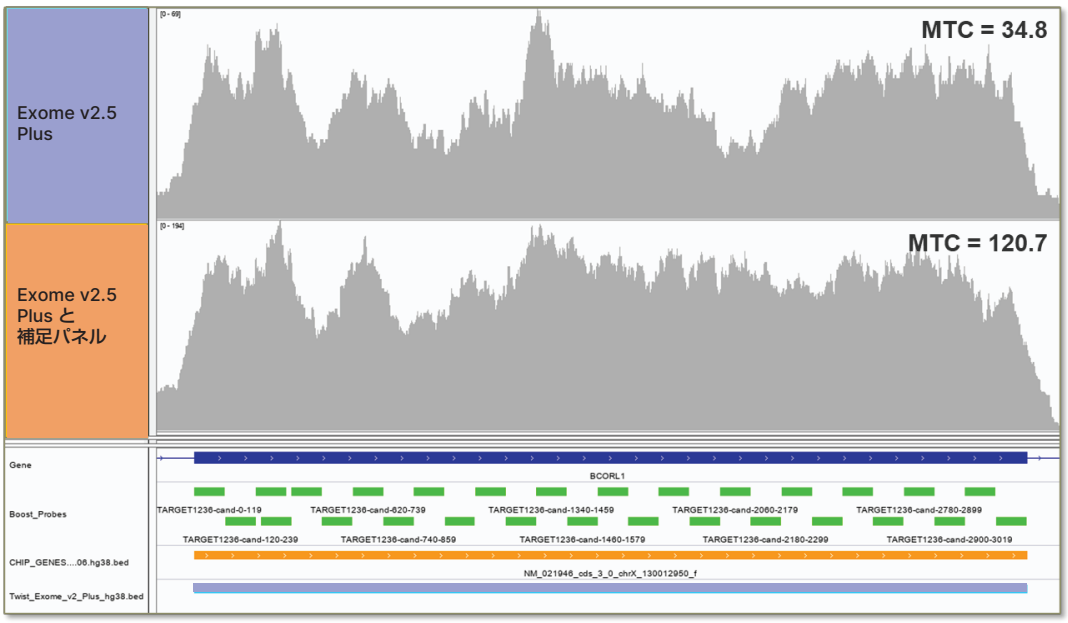


図7：Illumina Custom Enrichment Panel v2によるWESターゲットカバレッジの増加：Illumina Custom Enrichment Panel v2は、Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panelに含まれる2,689のエクソンターゲットをカバーする2,689のプローブからなるようにデザインしました。Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichmentプロトコールは、カスタムスパイクインパネルを使用する場合と使用しない場合で実施し、スパイクインパネルでターゲットとなる領域のカバレッジを解析しました。カバーした領域の平均ターゲットカバレッジ（MTC）は約2倍向上し、50 ×のカバレッジ深度でカバーされたターゲットの割合はスパイクインパネルを使用した場合に大幅に増加しました。

まとめ

Illumina DNA Prep with Exome 2.5 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 2.5 Panelは、公開データベース内の疾患関連バリアントを網羅した、包括的かつ最新のコンテンツを提供し、オプションのTwist Bioscience for Illumina Mitochondrial Panelは、chrMの包括的なカバレッジを追加します。最適化したカスタマイズ可能な濃縮パネルにより、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。イルミナのパートナーを通じて利用可能なさまざまな自動化プラットフォームでIllumina Qualified Methodを採用することで、さらなる効率の向上を実現できます。Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichmentを使用することで、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 2.5 Enrichment

自動化のためのIllumina Qualified Method

DRAGEN二次解析

Emedgene三次解析

DesignStudioアッセイデザインツール

製品情報

製品	カタログ番号
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
Illumina Custom Enrichment Panel v2 (32 µl, 120 bp)[e]	20073953
Illumina Custom Enrichment Panel v2 (384 µl, 120 bp)[e]	20073952
Illumina Custom Enrichment Panel v2 (1536 µl, 120 bp)[e]	20111339

a. 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 2.5 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。
b. 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。
c. 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。
d. Twist Bioscience for Illumina Mitochondrial Panelには32 µLのオリゴパネルが含まれており、各4 µLで8回のハイブリダイゼーション反応に十分な材料です。
e. ヒトサンプル用のカスタム濃縮パネルは、イルミナのDesignStudioツールから設計できます。ヒト以外のコンテンツの設計のサポートは、イルミナコンシェルジュデザインチームを通じて受けることが可能です。コンシェルジュデザインサービスに関する詳細については、弊社担当営業にお問い合わせください。

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。

参考文献

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. 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. Published June 2, 2021. Accessed July 27, 2023.
3. NIH National Library of Medcine. RefSeq: NCBI Reference Sequence Database. NCBI website. 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/CcdsBrowse.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. 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. Updated July 24, 2023. Accessed July 27, 2023.
10. Genome Analysis Toolkit (GATK). The Broad Institute. gatk.broadinstitute.org/hc/en-us/articles/360037428871-CollectHsMetrics-Picard. Published January 7, 2020. Accessed July 27, 2023.

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

© 2024 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 v5.0-JPN 30AUG2024