

Illumina DNA Prep with Enrichment

幅広いターゲットエンリッチメント
アプリケーション向けの迅速で
統合されたワークフロー

- 合計ターンアラウンドタイム約6.5時間で、迅速なライブラリー調製と濃縮ワークフローを提供
- 血液と唾液に対応する統合型のプロトコールによりライブラリー調製効率を向上
- がん研究、遺伝性疾患研究、全エクソームシーケンスにおける高度な研究デザインを実現

illumina®

はじめに

ILLUMINA DNA Prep with Enrichmentソリューションは、ターゲット濃縮およびエクソームシーケンスアプリケーション向けに、汎用性が高く、シンプルかつ迅速なライブラリー調製および濃縮機能を組み合わせています。インプットの種類と量に優れた柔軟性があり(表1)、カスタムパネル、固定パネル、イルミナまたは他社の全エクソームシーケンスを含む、幅広い濃縮シーケンスアプリケーションに対応します。

ILLUMINA DNA Prep with Enrichmentは、シンプルかつ1回のみハイブリダイゼーションステップから成る、革新的なビーズベースのケミストリーを使用します(図1)。ILLUMINA DNA Prep with Enrichmentワークフローなら、Flex Lysis Reagent KitおよびSaliva Lysis Protocolをそれぞれ使用して新鮮血液と唾液サンプルからDNA抽出を直接処理できるため、時間をさらに節約できます。

表1: ILLUMINA DNA Prep with Enrichmentの仕様

パラメーター	仕様
DNAインプットの種類	gDNA、全血、唾液、ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 組織由来DNA
検証済みのDNAインプット量 ^a	10~1,000 ng
サンプルマルチプレックス	384種類のユニークデュアルインデックス (UDI)
濃縮前プーリング ^b	1プレックスまたは12プレックス (検証済み)
対応するシーケンスシステム	すべてのILLUMINAシステム
合計ワークフロー時間 ^c	~6.5時間

a. DNAインプット量は最少10 ngでも可能ですが、飽和ベースのDNAノーマライゼーションには使えません。
b. その他の濃縮プレックスも可能ですが、検証されていません。追加の最適化が必要になる場合がありますが、最適な結果は保証されません。
c. ライブラリー調製、濃縮、ライブラリーノーマライゼーション/プーリングステップが含まれます。

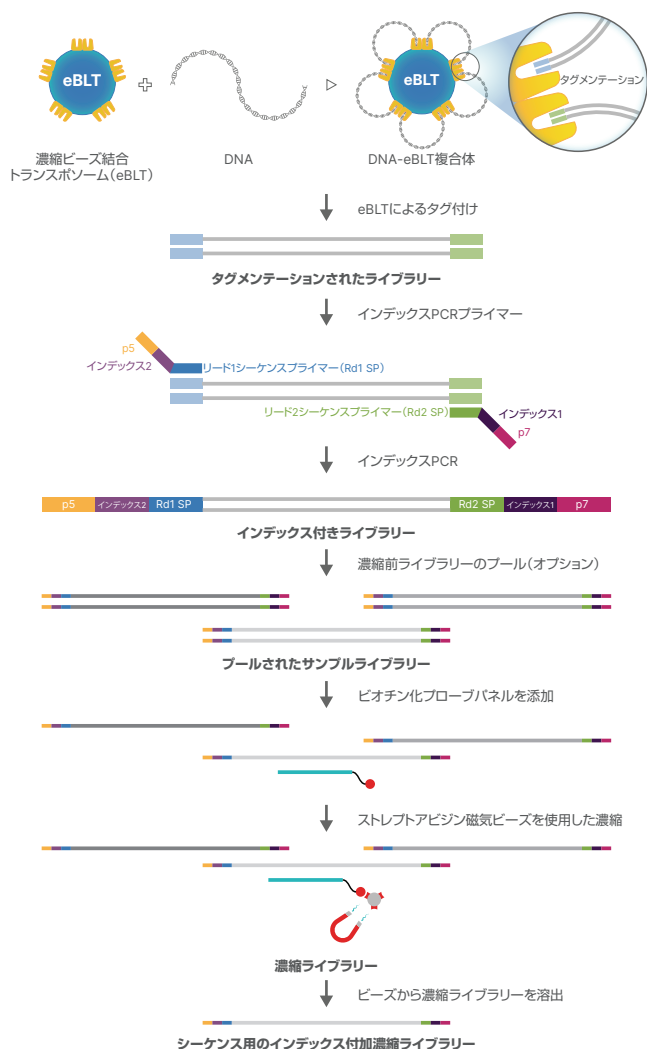


図1: イルミナのタグメンテーションケミストリー: eBLTが介在する均一なタグメンテーション反応とそれに続く1回のみハイブリダイゼーション反応により、迅速かつ柔軟性のあるワークフローが可能になります。

迅速かつ柔軟性のあるライブラリー調製と濃縮ワークフロー

ILLUMINA DNA Prep with Enrichmentソリューションの重要なコンポーネントは、ビーズ結合トランスポソームを使用して均一なタグメンテーション反応を仲介するオンビーズタグメンテーションです。この手法には、次のようないくつかの重要な利点があります。

- gDNAインプットが50 ng以上の場合、インサートの断片サイズは影響を受けないため、最初のDNAサンプルの正確な定量は不要であり、時間とキットや試薬のコストを節約できます。
- オンビーズタグメンテーションにより、DNA断片化ステップが不要となり、時間と必要な消耗品のコストが節約されます。
- gDNAインプットが50~1,000 ngの場合、飽和ベースのDNAノーマライゼーションにより、濃縮前の個々のライブラリー定量とノーマライゼーションステップが不要になります。
- 新しい90分間の1回だけのハイブリダイゼーションプロトコールにより、4時間未満で濃縮が実現します。

迅速な濃縮ワークフロー

ILLUMINA DNA Prep with Enrichmentソリューションは、ライブラリー調製自動化分注システムに対応し、少ないステップおよびハンズオンタイムとターンアラウンドタイムの短縮による迅速かつ効率的なワークフローを作り上げます (図2、表2)。

表2: イルミナ濃縮ワークフロー

パラメーター	ILLUMINA DNA Prep with Enrichment
DNAオプションの統合 ^a	✓
柔軟で幅広いDNAインプット量範囲	✓
ライブラリーノーマライゼーションを含む ^b	✓
FFPEに対応	✓
DNAインプット量	10~1,000 ng
ライブラリー調製と濃縮の合計時間 ^c	~6.5時間
インサートサイズ ^d	150~220 bp
サンプルインデックスセット	384種類のユニークデュアルインデックス

a. 血液と唾液用の溶解プロトコール。

b. ライブラリーノーマライゼーションは、50 ng以上のgDNAインプットの場合に行えます。

c. ライブラリー調製と濃縮の合計時間には、ライブラリー調製、ライブラリーノーマライゼーション/プリーミング、濃縮が含まれます。

d. 分解されたFFPE DNAではインサートサイズが小さくなる可能性があります。

スピード、シンプルさ、柔軟性



迅速なワークフロー

~2時間HOT
~6.5時間TAT



多数のサンプルの種類

gDNA、血液、
唾液、FFPE



ノーマライズした出力

ビーズベースのライブラリー
ノーマライゼーション



高い柔軟性を誇る
パネルオプション

固定またはカスタムパネルサイズ
エクソームパネル
イルミナまたは他社のパネル



完成されたソリューション

DRAGEN二次解析
Variant Interpreter
自動化スクリプト

図2: ILLUMINA DNA Prep with Enrichmentによる迅速かつ柔軟なイルミナ濃縮ワークフロー: ワークフロー時間は、手作業ワークフローによる12プレックス濃縮で12個のサンプル処理に基づいています。時間は、使用する機器、処理するサンプル数、自動化の手順、またはお客様の熟練度によって異なる場合があります。HOT: ハンズオンタイム、TOT: ターンアラウンドタイム、FFPE: ホルマリン固定パラフィン包埋組織。

DNAインプットから統合

DNA抽出は、全血または唾液サンプルから直接処理できます。オプションのFlex Lysis Reagent Kitは、全血サンプルとIllumina DNA Prep with Enrichmentに最適化および検証されており、最大限の効率を実現するためにワークフローに統合されています。溶解プロトコールはビーズベースの試薬を採用しており、必要なハンズオンタイムは30分もかかりません。

イルミナシーケンスシステムすべてにわたる最適化性能

ロバストで簡単なIllumina DNA Prep with Enrichmentソリューションは、90を超えるオンターゲットリード、95%を超える均一性、および低いPCR重複率で、すべてのイルミナシーケンスシステムで信頼性の高い結果をもたらします (表3)。Illumina DNA Prep with Enrichmentは、さまざまなイルミナ濃縮パネルと互換性があり、ロースループット、ミッドスループット、ハイスループットシステムでの使用に最適化されています (図3、表4)。

表3: 濃縮パネル間の性能比較^a

パラメーター ^b	Illumina Exome Panel	エクソームパネルX	エクソームパネルY
パネルサイズ	45 Mb	39 Mb	33 Mb
プローブサイズ	80 bp	120 bp	120 bp
パディングしたリード濃縮 (オンターゲット) ^d	85%	91%	91%
フラグメント長中央値	~200 bp	~200 bp	~200 bp
20 ×カバレッジ	93%	96%	97%
カバレッジ均一性 ^d	95%	97%	98%
サンプルあたりのリード深度 ^e	3,000万CPF	2,500万CPF	2,000万CPF
SNV精度	99%	99%	99%
SNVコール率	94%	94%	95%

a. データは比較例です。実際の性能仕様は、リード深度とサンプルの種類によって異なる場合があります。

b. 解析は、条件ごとに48サンプル (すべてNA12878 Coriellサンプル) に対して実行しました。データ解析は、Enrichment BaseSpace™ Appを使って実施しました。

c. Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichmentは、ヒトエクソームシーケンスに推奨されるソリューションです。

d. 詳細については、『BaseSpace™ App User Guide²』を参照してください。

e. CPF: クラスターパスフィルター。



図3: イルミナシーケンスシステムすべてにわたる最適化された性能: Illumina DNA Prep with Enrichmentソリューションは、ここに示す高性能システムを含むすべてのイルミナシーケンスシステムと互換性があります。iSeq™ 100システム、MiniSeq™ システム、MiSeq™ システムなどのロースループットシステムも、Illumina DNA Prep with Enrichmentと互換性があります。

表4: Illumina DNA Prep with Enrichmentを使用したフローセルあたりのサンプルスループット^a

パネル	ターゲットカバレッジ	iSeq 100システム	MiniSeqシステム		MiSeqシステム			NextSeq 550システム	
			Mid	High	v2	v2 Nano/Micro	v3	Mid	High
固定パネル									
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
カスタムパネル ^b									
2,000プローブ	450 ×	6	12	37	22	NR/6	37	260	384
5,000プローブ	370 ×	3	6	18	11	NR/3	18	65	200
10,000プローブ	180 ×	3	6	19	11	NR/3	19	33	100
50,000プローブ	100 ×	NR	2	7	4	NR	7	35	107
100,000プローブ	100 ×	NR	NR	3	2	NR	3	17	53
300,000プローブ	100 ×	NR	NR	NR	NR	NR	NR	6	18

パネル	ターゲットカバレッジ	NextSeq 2000システム			NovaSeq 6000シリーズ			NovaSeq Xシリーズ		
		P1	P2	P3	S1	S2	S4	1.5B	10B	25B
カスタムパネル ^b										
2,000プローブ	450 ×	148	593	1,778	2,370	6,074	14,815	2,370	14,815	38,519
5,000プローブ	370 ×	72	288	865	1,153	2,955	7,207	1,153	7,207	18,739
10,000プローブ	180 ×	74	296	889	1,185	3,037	7,407	1,185	7,407	19,259
50,000プローブ	100 ×	27	107	320	427	1,093	2,667	427	2,667	6,933
100,000プローブ	100 ×	13	53	160	213	547	1,333	213	1,333	3,467
300,000プローブ	100 ×	4	18	53	71	182	444	71	444	1,156

a. Mid: 中出力, High: 高出力, NR: 推奨されていません。

b. カスタムパネルサンプルの計算では、ターゲットキャプチャー用の120 bp二本鎖DNAオリゴパネル (Illumina Custom Enrichment Panel v2) を80%の濃縮効率と101 bp × 2のリード長ケミストリーでを使用した場合に示されるターゲットカバレッジ深度を想定しています。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。

正確なデータ

ILLUMINA DNA Prep with Enrichmentは、幅広いDNAインプット量にわたって非常に均一で一貫したインサートサイズを生成し、均一で一貫したライブラリー収量を提供します。¹ また、カスタムパネル、固定パネル、エクソームパネルに対する高いカバレッジの均一性とリード濃縮を提供します (図4)。その他のイルミナ濃縮ソリューションと比較して、ILLUMINA DNA Prep with Enrichmentは、一塩基変異 (SNV) (図5、表3) および挿入/欠失 (Indel) の正確なコール率と精度を実現します。

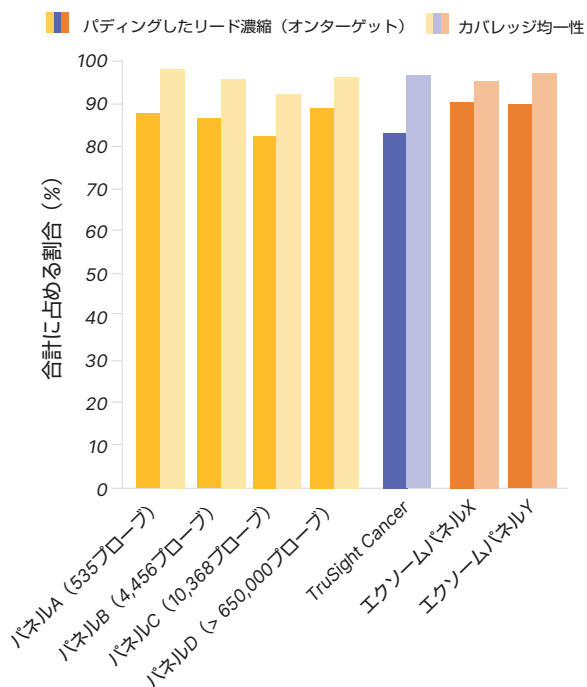


図4：高いカバレッジ均一性とパディングしたリード濃縮：ILLUMINA DNA Prep with Enrichmentは、カスタムパネル（パネルA～D）、固定パネル（TruSight Cancer）、およびエクソームパネルに高いカバレッジ均一性とオンターゲットリード濃縮を提供します。

イルミナのカスタム濃縮パネル

イルミナのカスタム濃縮パネルは、複数のターゲット濃縮ワークフローに対して迅速で柔軟なコンテンツを提供します。完全なカスタムパネルを設計したり、スパイクインパネルを設計してエクソームパネルやその他の固定パネルへ追加したり、ニーズに合わせてパネル設計を変更することが可能です。無料のオンラインツールである DesignStudio™ を使用してコンテンツを設計し、関心のあるコンテンツに特化したパネルを作成できます。設計中に動的なフィードバックを受け取り、カバレッジを最適化します。ヒト以外のコンテンツの設計のサポートは、イルミナコンシエルジュデザインチームを通じて受けることが可能です。最新のプローブフォーマットである ILLUMINA Custom Enrichment Panel v2では、120 bpの二本鎖プローブが利用でき、高いオンターゲット濃縮と均一性を提供し、ILLUMINA DNA Prep with Enrichmentやその他の濃縮調製に対応しています (図6、表5)。

幅広いアプリケーションに対応するDNA濃縮

ILLUMINA DNA Prep with Enrichmentソリューションは、卓越した濃縮性能とイルミナのSequence by Synthesis (SBS) および XLEAP-SBS™ ケミストリーの実証済みの精度を組み合わせることで、さまざまな分野の先進的な研究デザイン向けに、全エクソームシーケンス用に設計されたパネルを含む、さまざまなサイズの固定パネルとカスタムパネルの両方に対応します (表6)。さらに、ILLUMINA DNA Prep with Enrichmentは、イルミナおよび他社の濃縮プローブ/パネルと互換性があり、コンテンツの「ポータビリティ」により高い柔軟性を提供します。

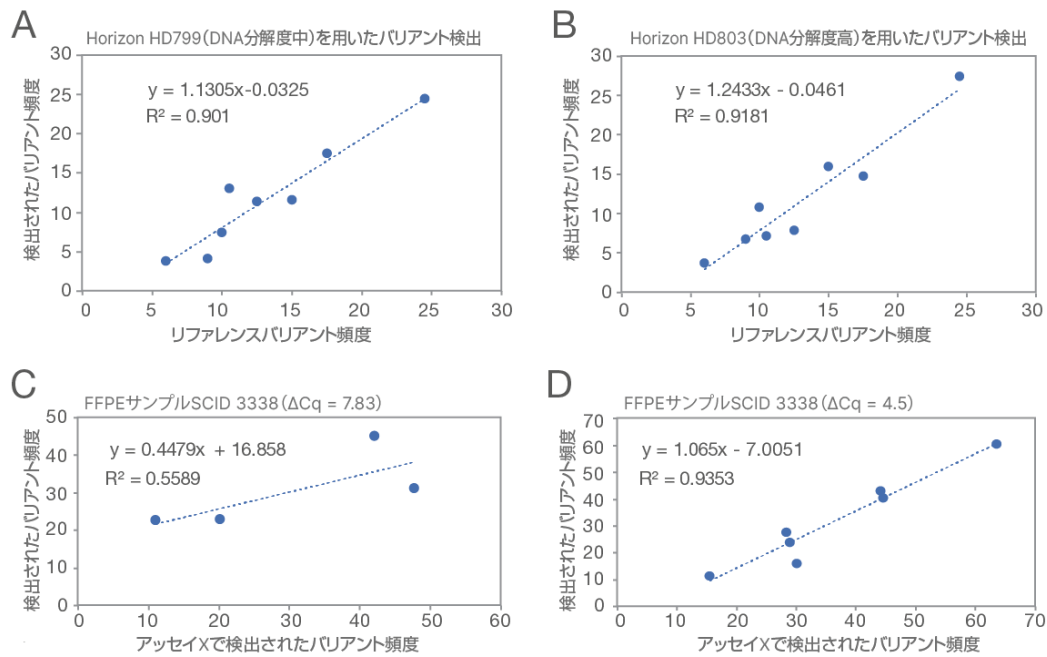


図5: 正確なバリエントコール: Illumina DNA Prep with Enrichmentは、(A, B) 細胞株のFFPEコントロールヒトリファレンスDNAサンプルおよび (C, D) FFPE実サンプルに対して、低存在量の体細胞バリエントコールを提供します。観察されたバリエント頻度は、他の検証用シーケンスアッセイの頻度と有意な相関関係を示しています。

表5: イルミナのカスタム濃縮パネル

パラメーター	Illumina Custom Enrichment Panel	Illumina Custom Enrichment Panel v2
パネルサイズ	2,000~67,000プローブ	100~100万プローブ
オリゴフォーマット	80-mer一本鎖オリゴプローブ	120 bp二本鎖オリゴプローブ ^a
99.9%を超えるプローブが存在、QC確認済み ^b	いいえ	はい
		Illumina DNA Prep with Enrichment
互換性のあるイルミナライブラリー調製キット	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
パネルデザインツール	DesignStudioまたはコンシェルジュデザインチーム	DesignStudioまたはコンシェルジュデザインチーム
ターンアラウンドタイム	5~7週間	3~6週間
パネルコスト	\$\$\$	\$

a. 微生物シーケンスアプリケーション用の80 bp二本鎖オリゴプローブは、コンシェルジュデザインチームを通じて設計できます。
 b. 次世代シーケンサー (NGS) による確認済み。

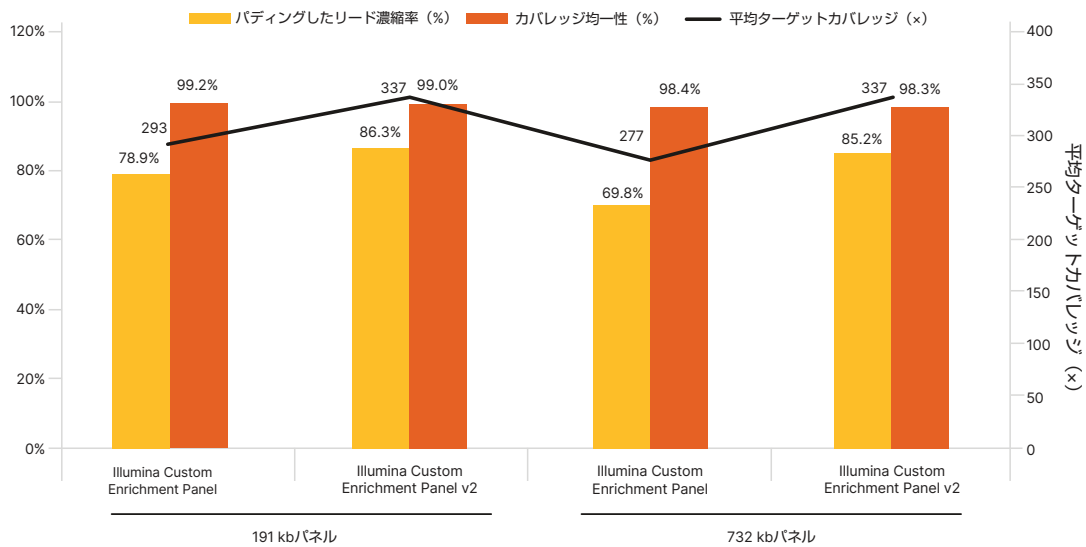


図6: Illumina DNA Prep with Enrichmentを使用したIllumina Custom Enrichment Panelのパフォーマンス: Illumina DNA Prep with Enrichmentを使用したIllumina Custom Enrichment Panel v2は、Illumina Custom Enrichment Panelと比較して、より高いリード濃縮率を示します。

表6: Illumina DNA Prep with Enrichmentを用いた幅広いアプリケーション

パネルの種類	アプリケーション
固定パネル	TruSight Cancer
	TruSight Hereditary Cancer
カスタムパネル	関心のあるターゲットに特化した濃縮パネルを作成
	DesignStudioツールで新しいカスタムパネルを開発
	500~67万5,000個の一本鎖または二本鎖ビオチン化プローブのイルミナパネルまたは他社パネルを使用 一本鎖または二本鎖の80-merまたは120-merオリゴに対応
全エクソームパネル	DesignStudioツールを使用して、Illumina Custom Enrichment PanelおよびIllumina Custom Enrichment Panel v2を注文
	Illumina Exome Panel データセットはBaseSpace Sequence HubのIllumina Exome Panelおよび他社のエクソームパネルで使用可能

まとめ

ILLUMINA DNA Prep with Enrichmentは、イルミナ濃縮ポートフォリオの中で最速のワークフローを備えています。ユーザーフレンドリーで自動化対応のソリューションは、あらゆる経験レベルのユーザーをサポートし、固定パネル、カスタムパネル、全エクソームシーケンスなどのさまざまな実験デザインに共通のワークフローを提供します。オンビーズタグメンテーションにより、幅広いDNAインプット量とさまざまな種類のサンプルを使用できます。ILLUMINA DNA Prep with Enrichmentは、イルミナおよび他社の濃縮プローブパネルと互換性があり、コンテンツのポータビリティを高めることができます。革新的なILLUMINA DNA Prep with EnrichmentソリューションとイルミナのSBSケミストリーの力を組み合わせることで、最適なターゲット濃縮とエクソームシーケンスのエクスペリエンスを提供します。

詳細はこちら

[ILLUMINA DNA Prep with Enrichment](#)

[オンビーズタグメンテーション](#)

[イルミナのカスタム濃縮パネル](#)

[DesignStudioツール](#)

製品情報

製品	カタログ番号
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

- キットには、12サンプル (12プレックス) /ハイブリダイゼーションで8回のハイブリダイゼーション反応を行うためのライブラリー調製試薬とハイブリダイゼーション試薬が含まれています。精製ビーズとインデックスアダプタープレートは別途購入してください。
- キットにはライブラリー調製試薬のみが含まれており、その他のハイブリダイゼーションプレキシティに対応するためには、ライブラリー調製キットとハイブリダイゼーションキットとを組み合わせる必要があります。
- 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。

参考文献

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.

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/illumina

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。

illumina[®]