

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

- 標準的なイルミナライブラリー調製と濃縮ワークフローよりも85%時間を節約するソリューションを提供
- 血液と唾液に対応する統合型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パネルを含む、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、シンプルで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。

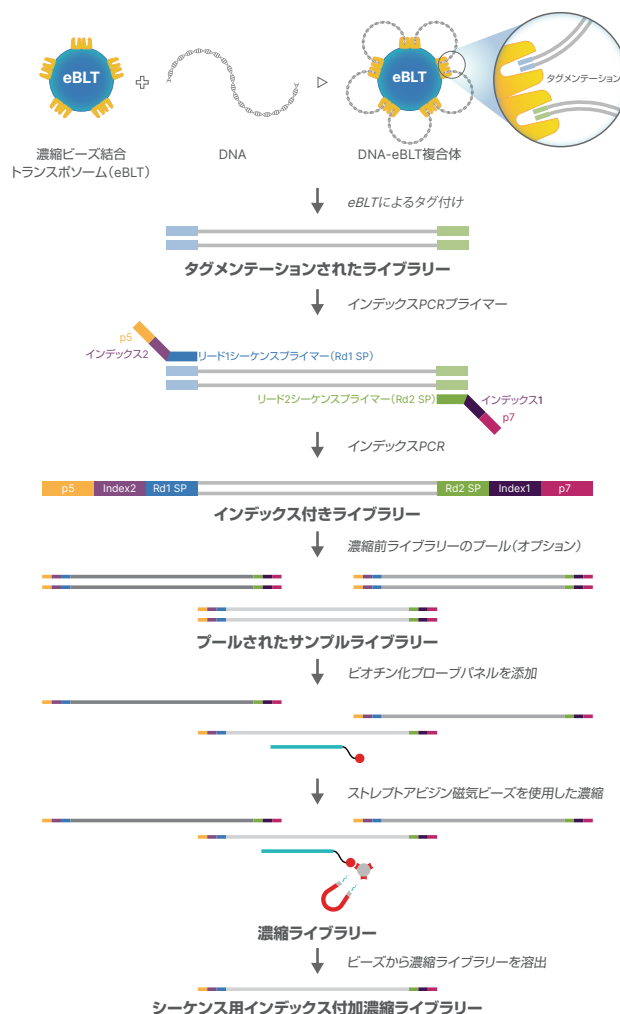


図1: ILLUMINAのタグメンテーションケミストリー: eBLTが介在する均一なタグメンテーション反応とそれに続く1回のみハイブリダイゼーション反応により、迅速かつ柔軟性のあるワークフローが可能になります。

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回のみ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。

最も迅速なイルミナ濃縮ワークフロー

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、イルミナ濃縮ポートフォリオの中で最も少ないステップ数と最短の合計ワークフロー時間でワークフローを作り上げます (図2、表2)。

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%以上のオンターゲットリード、95%以上の均一性、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)。

ILLUMINA DNA Prep for Enrichment (ILLUMINA Exomeまたはカスタム)

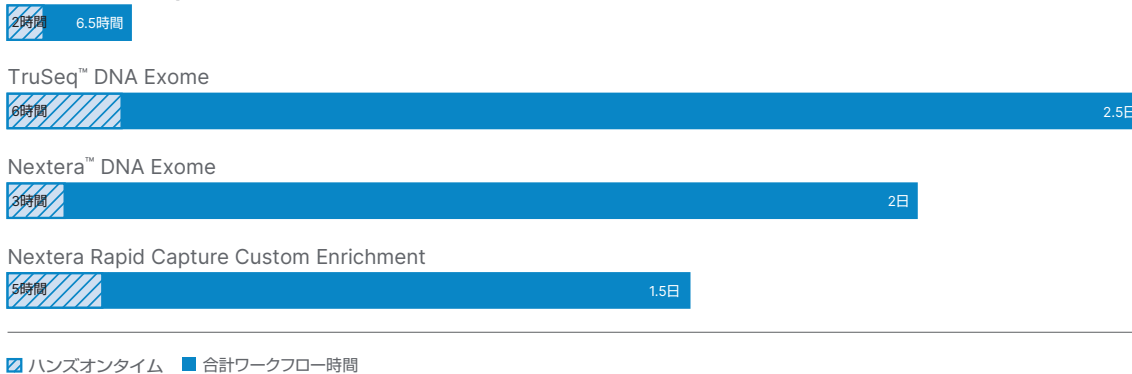


図2: ILLUMINA DNA Prep with Enrichmentによる最も迅速なイルミナ濃縮ワークフロー: ワークフロー時間は、12プレックス濃縮で12個のサンプル処理に基づいています。時間は、使用する機器、処理するサンプル数、自動化の手順、またはお客様の熟練度によって異なる場合があります。

表2: イルミナ濃縮ワークフローの比較

	ILLUMINA DNA Prep with Enrichment	TruSeq DNA Exome	Nextera DNA Exome	Nextera Rapid Capture Custom 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	100 ng	50 ng	50 ng
ライブラリー調製と濃縮の合計時間 ^c	~6.5時間	2.5日	2日	1.5日
インサートサイズ ^d	150~220 bp	150 bp	150~220 bp	230 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	24種類のシングルインデックス、96種類のデュアルインデックス	24種類のシングルインデックス、96種類のデュアルインデックス	24種類のシングルインデックス、96種類の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。

表3: イルミナ濃縮ワークフロー間の性能比較^a

パラメーター ^b	ILLUMINA DNA Prep with Enrichment	ILLUMINA DNA Prep with Enrichment	ILLUMINA DNA Prep with Enrichment	TruSeq DNA Exome	Nextera DNA Exome
パネル	ILLUMINA Exome Panel ^c	エクソームパネルX	エクソームパネルY	ILLUMINA Exome Panel	ILLUMINA Exome Panel
パネルサイズ	45 Mb	39 Mb	33 Mb	45 Mb	45 Mb
プローブサイズ	80 bp	120 bp	120 bp	80 bp	80 bp
パディングしたリード濃縮 (オンターゲット) ^d	85%	91%	91%	85%	75%
フラグメント長中央値	~200 bp	~200 bp	~200 bp	~150 bp	~200 bp
20 ×カバレッジ	93%	96%	97%	90%	85%
カバレッジ均一性 ^d	95%	97%	98%	85%	85%
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	4,000万CPF	4,000万CPF
SNV精度	99%	99%	99%	99%	99%
SNVコール率	94%	94%	95%	89%	91%

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 Guide』²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

	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™ One	NR	NR	2	1	0/0	3	12	36	
TruSight One Expanded	NR	NR	1	0	0/0	1	7	24	
TruSight Cancer	4	8	24	12	1/4	24	96	384	
TruSight Hereditary Cancer	4	8	24	12	1/4	24	96	384	
カスタムパネル									
2,000プローブ	8	16	50	30	2/8	50	260	384	
5,000プローブ	2	4	12	8	1/2	12	65	200	
10,000プローブ	1	2	6	4	0/1	6	33	100	

	NextSeq 550システム		NextSeq 2000システム		NovaSeq 6000システム				NovaSeq Xシリーズ		
	Mid	High	P2	P3	SP	S1	S2	S4	1.5B	10B	25B
エクソーム パネル ^b	~4	~12	~10	~30	~20	~41	~104	~250	~41	~250	~750 ^c

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

b. 100 × 以上のカバレッジを得るためにエクソームサンプルあたり約8 Gbを想定しています。

c. 384種類のユニークデュアルインデックスが利用できます。

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、1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。

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Sequencing by Synthesis (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、さまざまな分野の高度な研究デザインを可能にします。全エクソームシーケンス用パネルをはじめ、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(図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。

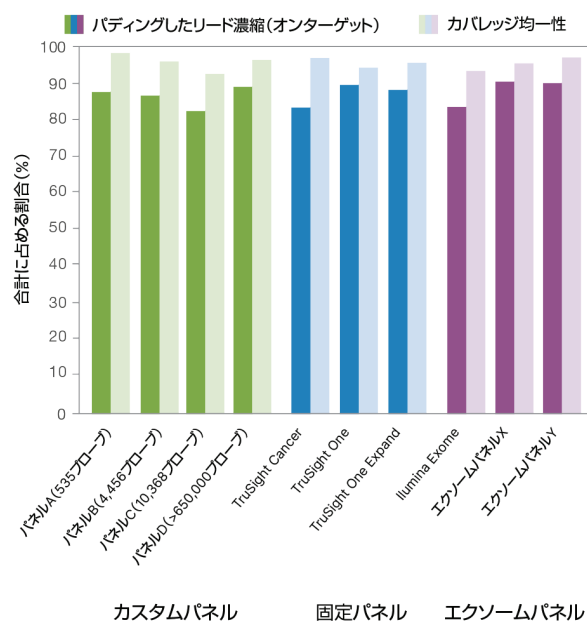


図4: 高いカバレッジ均一性とパディングしたリード濃縮: ILLUMINA DNA Prep with Enrichmentは、カスタムパネル、固定パネル、およびエクソームパネルに、高いカバレッジ均一性とオンターゲットリード濃縮を提供します。

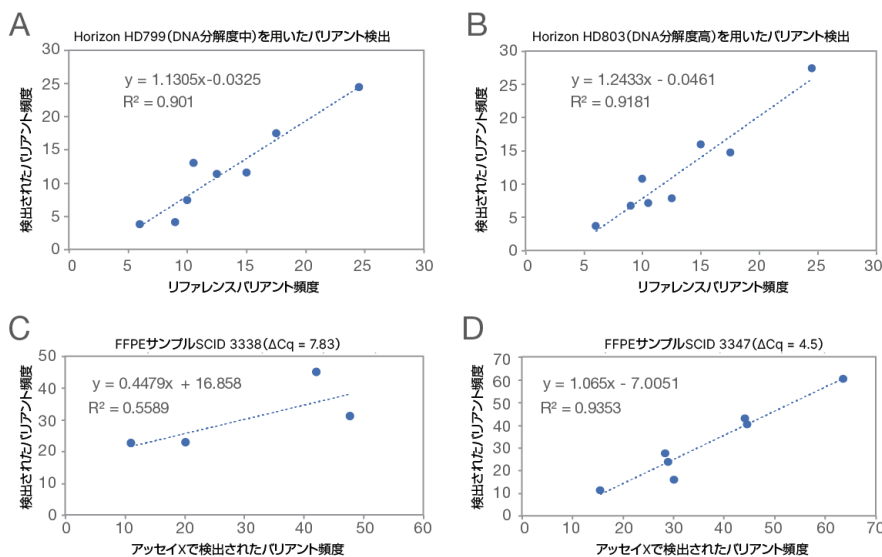


図5: 正確なバリエーションコール: ILLUMINA DNA Prep with Enrichmentは、(A, B) 細胞株のFFPEコントロールヒトリファレンスDNAサンプルおよび(C, D) FFPE実サンプルに対して、低存在量の体細胞バリエーションコールを提供します。観察されたバリエーション頻度は、他の検証用シーケンスアッセイの頻度と有意な相関関係を示しています。

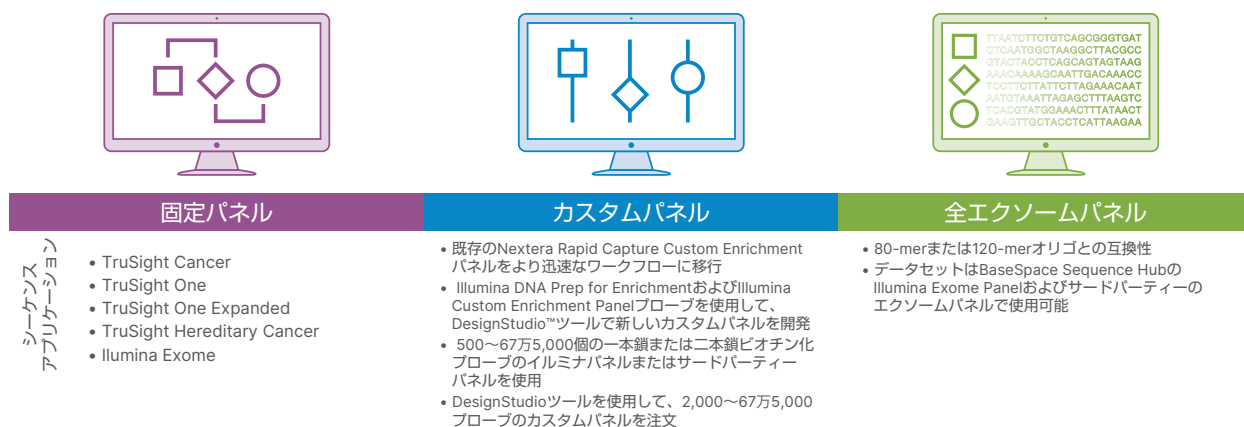


図6: Illumina DNA Prep with Enrichmentの幅広いアプリケーション: Illumina DNA Prep with Enrichmentは、カスタムパネル、固定パネル、エクソームパネルなどの幅広いアプリケーションに対応します。

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](#)

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.

製品情報

製品	カタログ番号
Illumina DNA Prep with Enrichment, (S) Tagmentation (96 samples)	20025524
Illumina DNA Prep with Enrichment, (S) Tagmentation (16 samples)	20025523
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
TruSight One (6 enrichment reactions)	20029227
TruSight One Expanded (6 enrichment reactions)	20029226
TruSeq Hereditary Cancer (8 enrichment reactions)	20029551
Illumina Custom Enrichment Panel	20025371

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

© 2023 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。

