

# Nextera™ Flex for Enrichment

カスタムパネル、固定パネル、全エクソームシーケンスを含む幅広いターゲット濃縮アプリケーションのための、迅速な統合ワークフロー

## 特長

- 迅速なライブラリー調製および濃縮ワークフロー**  
 標準的なイルミナライブラリー調製および濃縮よりも85%早い、時間節約ソリューションを提供
- サンプルインプットを統合**  
 血液及び唾液サンプル用の統合プロトコルを用いることで、ライブラリー調整効率を向上
- 幅広いアプリケーション**  
 がん研究、遺伝性疾患研究、および全エクソームシーケンスなど、様々な先進的実験デザインに対応可能

## はじめに

Nextera Flex for Enrichment は、ターゲット濃縮およびエクソームシーケンスのアプリケーションのための、幅広く、簡単で、迅速な、ライブラリー調整法と濃縮の機能を組み合わせたソリューションです。

さらに、本ソリューションは、非常に広い柔軟性を持っており、インプットの種類や量だけでなく、イルミナ製、サードパーティ販売元を問わず、包括的なカスタムパネル、固定パネルおよび全エクソームシーケンスのような、幅広い濃縮シーケンスアプリケーションに対応することができます。(表 1)。

Nextera Flex for Enrichment は、ビーズ精製を基盤とした、簡便かつ1回のみハイブリダイゼーションステップから成る、革新的なケミストリーを用いています (図 1)。新鮮な血液および唾液のサンプルを用いて Nextera Flex for Enrichment ワークフローを実施する場合、より時間を短縮するために、Flex Lysis Reagent Kit および Saliva Lysis プロトコルをそれぞれ使って DNA 抽出を直接行うこともできます。

## 迅速かつ柔軟なライブラリー調製および濃縮ワークフロー

Nextera Flex for Enrichment ソリューションの重要なコンポーネントは、ビーズ上で行うタグメンテーションであり、これは、ビーズと結合したトランスポソームを使って均一なタグメンテーション反応を行います。この方法により、さまざまな重要な利点がもたらされています。

- 50 ng 以上の gDNA のインプットが確保されている場合、インサートのフラグメントサイズは影響を受けないため、スタート時の DNA サンプルの正確な定量が不要となり、定量のための時間やキットおよび試薬のコストを節約できる。
- ビーズ上でのタグメンテーションは別途 DNA を断片化するステップが不要になるため、関連する消耗品に費やす時間と費用を節約。

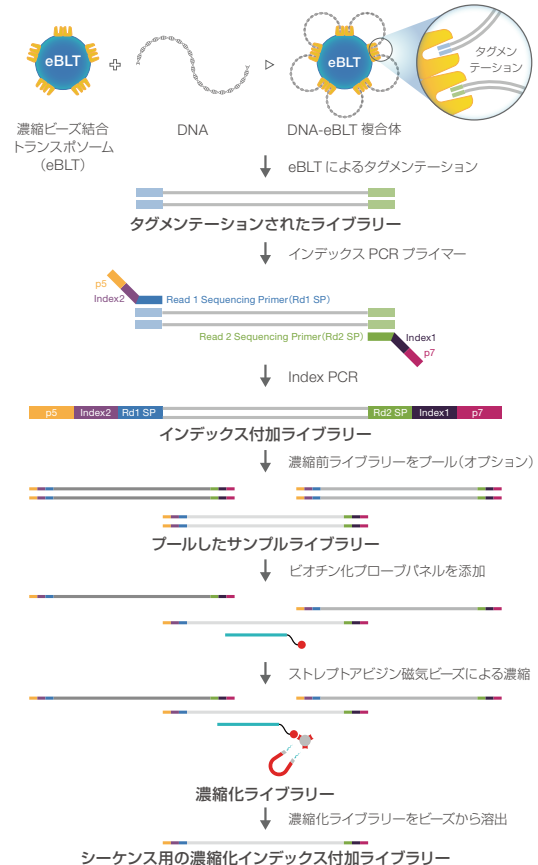


図 1: Nextera Flex for Enrichment アッセイケミストリー eBLT によって媒介される均一なタグメンテーション反応の後に単一のハイブリダイゼーション反応が続くことで、迅速で柔軟なワークフローが実現します。

- 50 ~ 1000 ng の gDNA インプットについては、飽和による DNA ノーマライゼーションによって、濃縮前の個々のライブラリーの定量化とノーマライゼーションステップが不要。
- 革新的な 90 分間の 1 回のみハイブリダイゼーションプロトコルにより、4 時間未満で濃縮を完了させることが可能。

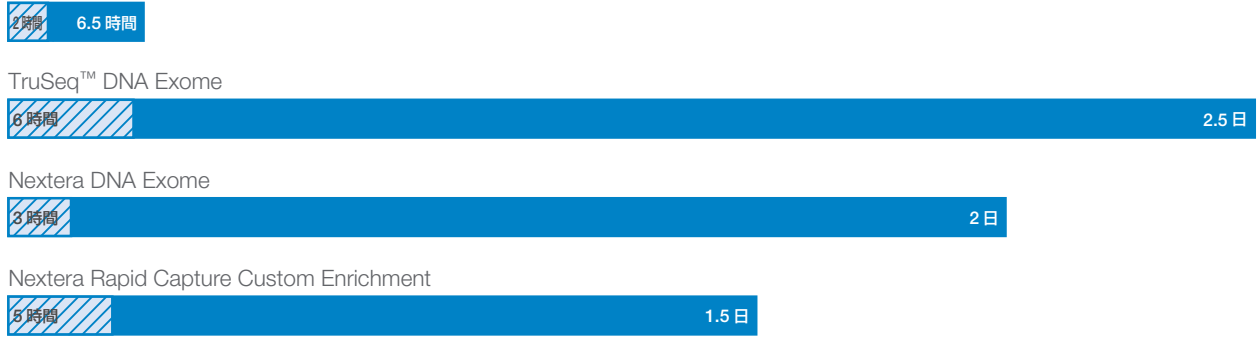
## 最速のイルミナ濃縮ワークフロー

Nextera Flex for Enrichment ソリューションはライブラリー調製の自動化システムに対応し、イルミナの濃縮ポートフォリオの中で最少のステップ数と最速の合計ワークフロー時間を可能にします (図 2) (表 2)。

## DNA インプットを統合

DNA 抽出は全血サンプルまたは唾液サンプルから直接処理することができます。オプションの Flex Lysis Reagent Kit は、全血からの Nextera Flex for Enrichment ライブラリー調製のために

### Nextera Flex for Enrichment (イルミナエクソームまたはカスタム)



操作時間       ワークフロー合計時間

図 2 : Nextera Flex for Enrichment は最速のイルミナ濃縮ワークフローを実現 ワークフロー時間は 12 ブレックス濃縮で 12 サンプルを処理する時間に基づいたものです。時間は使用機器、処理サンプル数、自動化処理の有無、またはユーザーの経験によって異なることがあります。

表 2 : イルミナ濃縮ワークフローの比較

|                                  | Nextera Flex for Enrichment | TruSeq DNA Exome                    | Nextera DNA Exome                   | Nextera Rapid Capture Custom Enrichment |
|----------------------------------|-----------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|---|
| オプションの DNA 精製プロトコール <sup>a</sup> | ✓                           | —                                   | —                                   | —                                       |
| 柔軟で、幅広い DNA インプット幅               | ✓                           | —                                   | —                                   | —                                       |
| ライブラリーノーマライゼーションを含む <sup>b</sup> | ✓                           | —                                   | —                                   | —                                       |
| FFPE に対応                         | ✓                           | —                                   | —                                   | —                                       |
| 必要な DNA インプット量                   | 10 ~ 1000 ng                | 100 ng                              | 50 ng                               | 50 ng                                   |
| ライブラリー調製および濃縮の合計時間 <sup>c</sup>  | 約 6.5 時間                    | 2.5 日                               | 2 日                                 | 1.5 日                                   |
| インサートサイズ <sup>d</sup>            | 150 ~ 220 bp                | 150 bp                              | 150 ~ 220 bp                        | 230 bp                                  |
| サンプルインデックスセット                    | 96 種類のユニークなデュアルインデックス       | 24 種のシングルインデックス<br>96 種類のデュアルインデックス | 24 種のシングルインデックス<br>96 種類のデュアルインデックス | 24 種のシングルインデックス<br>96 種類のデュアルインデックス     |

- a. 血液および唾液サンプル用のオプションプロトコール
- b. 50 ng 以上の精製 gDNA をインプットに用いた場合、ライブラリがノーマライゼーションされます。
- c. ライブラリー調製および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 / プーリングおよび濃縮が含まれます。
- d. 劣化した FFPE の DNA はインサートサイズが小さくなる場合があります。

最適化され、検証されており、最大の効率を得るためにワークフローに組み込まれています。溶解プロトコールはビーズを基盤とした試薬を特長としており、必要な操作時間は 30 分以下です。

表 1 : Nextera Flex for 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) サンプルから抽出した DNA |
| 検証済の DNA インプット量 <sup>a</sup> | 10 ~ 1000 ng                                     |
| マルチプレックスサンプル数                | 96 種類のユニークなデュアルインデックス (UDI)                      |
| 濃縮前のプーリング <sup>b</sup>       | 1 ブレックスまたは 12 ブレックスが検証済および対応可                    |
| サポートされるシーケンサーシステム            | イルミナの全システム                                       |
| ワークフロー合計時間 <sup>c</sup>      | 約 6.5 時間   |

- a. 10 ng 以下の DNA インプットも可能ですが、飽和による DNA ノーマライゼーションには対応しません。
- b. その他のブレックス数の濃縮も可能ですが、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、最善の結果は保証されません。
- c. ライブラリー調製、濃縮、および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を含みます。

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。

### すべてのイルミナシーケンサーシステムで最適化されたパフォーマンス

安定性のある、簡潔な Nextera Flex for 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、そして低い PCR 重複率を提供することで、すべてのイルミナシーケンサー装置において、信頼できる結果を生み出します (表 3)。Nextera Flex for Enrichment はハイスループットシステム向けに最適化されています (図 3) (表 4)。



図 3 : Nextera Flex for Enrichment はイルミナのシーケンサーシステムに最適化された性能をもたらします Nextera Flex for Enrichment ソリューションは、ハイスループットで産業規模のシステムなど、イルミナの全シーケンサーシステムと互換性があります。

表 3：性能の比較<sup>a</sup>

| パラメーター <sup>b</sup>           | Nextera Flex for Enrichment | Nextera Flex for Enrichment | Nextera Flex for Enrichment | TruSeq DNA Exome     | Nextera DNA Exome    |
|-------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------|----------------------|
| パネル                           | Illumina Exome Panel        | Exome Panel X               | Exome Panel 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                |
| リード濃縮率 (オンターゲット) <sup>c</sup> | 85%                         | 91%                         | 91%                         | 85%                  | 75%                  |
| フラグメント長の中央値                   | 約 200 bp                    | 約 200 bp                    | 約 200 bp                    | 約 150 bp             | 約 200 bp             |
| 20x でのカバレッジ                   | 93%                         | 96%                         | 97%                         | 90%                  | 85%                  |
| ターゲット領域 (%) <sup>c</sup>      | 95%                         | 97%                         | 98%                         | 85%                  | 85%                  |
| サンプルあたりのリード深度                 | 30M PF クラスター                | 25M PF クラスター                | 20M PF クラスター                | 40M PF クラスター         | 40M PF クラスター         |
| SNV 精度                        | 99%                         | 99%                         | 99%                         | 99%                  | 99%                  |
| SNV 回収率                       | 94%                         | 94%                         | 95%                         | 89%                  | 91%                  |

- a. データは比較例のデータを表しています。実際の性能仕様は変わる場合があります。  
 b. 解析は条件ごとに 48 サンプルで実施しました (すべて NA12878 Coriell サンプル)。データ解析は Enrichment BaseSpace App を使用して実施しました。  
 c. 詳細については『BaseSpace App User Guide』<sup>3</sup> を参照してください。

表 4：Nextera Flex for Enrichment によるフローセルあたりのサンプルスルーット

| パネル                        | iSeq 100 システム |      | MiniSeq システム |               | MiSeq システム |     | NextSeq シリーズ |     |
|----------------------------|---------------|------|--------------|---------------|------------|-----|--------------|-----|
|                            | Mid           | High | v2           | v2 Nano/Micro | v3         | Mid | High         |     |
| <b>固定パネル</b>               |               |      |              |               |            |     |              |     |
| TruSight One               | NR            | NR   | 2            | 1             | 0/0        | 2   | 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 | 3             | 5    | 16           | 8             | 1/2        | 16  | 80           | 250 |
| TruSight Cardio            | 4             | 8    | 24           | 12            | 1/4        | 24  | 96           | 384 |
| <b>カスタムパネル</b>             |               |      |              |               |            |     |              |     |
| 2000 プローブ                  | 8             | 16   | 50           | 30            | 2/8        | 50  | 260          | 384 |
| 5000 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 |

略語：Mid：中アウトプット。High：高アウトプット。NR：推奨されない

| パネル            | NextSeq シリーズ |      | HiSeq シリーズ |           | NovaSeq 6000 システム |     |     |     |
|----------------|--------------|------|------------|-----------|-------------------|-----|-----|-----|
|                | Mid          | High | 2500 RR/HO | 3000/4000 | SP                | S1  | S2  | S4  |
| Illumina Exome | 5            | 16   | 12/80      | 100       | 64                | 128 | 164 | 384 |
| Exome Panel X  | 5            | 16   | 12/80      | 100       | 64                | 128 | 164 | 384 |
| Exome Panel Y  | 6            | 20   | 15/100     | 125       | 80                | 160 | 205 | 384 |

略語：Mid：中アウトプット。High：高アウトプット。RR：ラピッドランモード。HO：ハイスルーットモード (v4)

### 幅広いアプリケーションに対応した DNA 濃縮

優れた濃縮性能と正確なイルミナの 1 塩基合成反応 (SBS) ケミストリー<sup>1</sup> とを組み合わせることにより、Nextera Flex for Enrichment ソリューションは、さまざまな分野における高度な研究デザインを必要とするお客様のために、全エクソームシーケンスを含む、様々なサイズの固定パネルだけでなく、カスタムパネルもサポートします (図 5)。さらに、Nextera Flex for

Enrichment はイルミナおよびサードパーティーの濃縮プローブ / パネルと互換性があるため、その高い柔軟性により、コンテンツの移行も容易です。

### 正確なデータ

Nextera Flex for Enrichment は、幅広い DNA インプット量から、高い均一性と一貫性のあるインサートサイズを産生し、均一で一貫性のあるライブラリー収量をもたらします<sup>2</sup>。さらに、Nextera Flex for Enrichment より、カスタムパネル、固定パネル、およびエクソームパネルについて、高いターゲット率とリード濃縮率が得られます (図 4)。また、Nextera Flex for Enrichment は、その他のイルミナの濃縮ソリューションと比較して、正確な一塩基多型 (SNV) (図 6 および表 3) および挿入 / 欠損 (Indel) の回収率と精度を実現します。

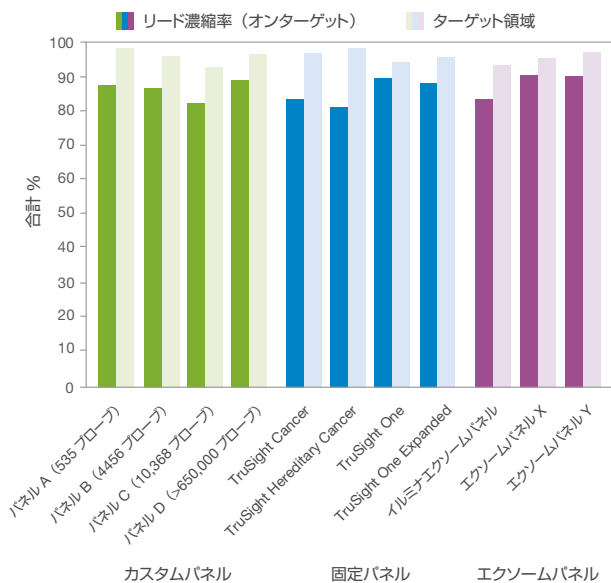
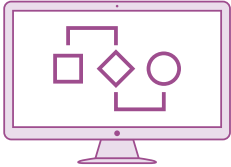
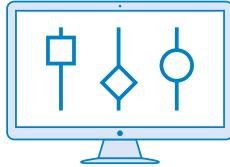



図 4：高いターゲット率とリード濃縮 Nextera Flex for Enrichment より、カスタムパネル、固定パネル、およびエクソームパネルに対する高いターゲット率とリード濃縮率が得られます。



**固定パネル**



**カスタム**



**全エクソーム**

シーケンス  
アプリケーション

- TruSight™ Cancer
- TruSight Hereditary Cancer
- TruSight One
- TruSight One Expanded
- TruSight Cardio
- TruSeq Neurodegeneration
- Illumina Exome

- 既存の Nextera Rapid Capture Custom Enrichment パネルを最速のワークフローに変換
- Nextera Flex for Enrichment および Illumina Custom Enrichment Panel プロープを使用し DesignStudio で新しいカスタムパネルを開発
- イルミナまたはサードパーティパネルの 500 から 675,000 の一本鎖または二本鎖のビオチン化プロープを使用
- DesignStudio を使用して、2000 から 675,000 プロープのカスタムパネルを注文

- 80-mer または 120-mer のオリゴに対応
- Illumina Exome Panel および サードパーティエクソームパネルに対するデータセットは BaseSpace Sequence Hub で利用可能

図 5: Nextera Flex for Enrichment による幅広いアプリケーションへの対応 Nextera Flex for Enrichment は固定パネル、カスタムパネル、および全エクソームシーケンスなど、幅広いアプリケーションに対応します。

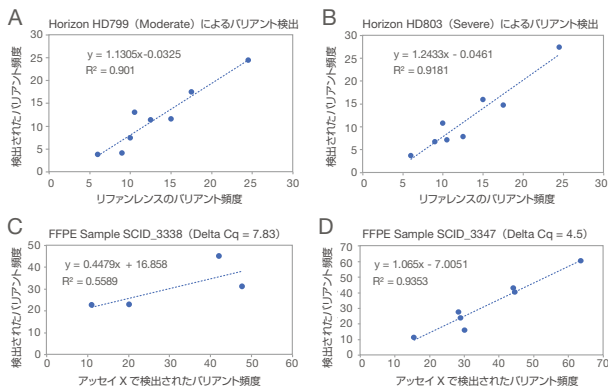


図 6: 正確なバリエーションコーリング Nextera Flex for Enrichment で、以下のサンプルの低頻度の体細胞のバリエーションコールが検出されました。(A, B) コントロールヒトリファレンスの細胞株の FFPE DNA サンプル。(C, D) 実際の FFPE サンプル。検出された変異頻度は、orthologous シーケンシングアッセイで検出された頻度と明らかな相関があることが示された。

## まとめ

Nextera Flex for Enrichment はイルミナの濃縮ポートフォリオで最速のワークフローを特長にしています。ユーザーフレンドリーで、自動化に対応したソリューションは、あらゆる経験値のユーザーをサポートし、さまざまな実験デザインに対して共通のワークフローを提供します。ビーズ上でのタグメンテーションキミストリーによって、幅広い DNA インプット量、さまざまなサンプルの種類、そして固定パネル、カスタムパネル、および全エクソームシーケンスを含む幅広いアプリケーションに対応します。さらに、Nextera Flex for Enrichment はイルミナおよびサードパーティの濃縮プロープ/パネルと互換性があるため、コンテンツを容易に移行することができます。イルミナの SBS ケミストリーと組み合わせた革新的な Nextera Flex for Enrichment ソリューションによって、最適なターゲット濃縮とエクソームシーケンスの体験が得られます。

## 詳細はこちらから

Nextera Flex for Enrichment に関する詳細な情報につきましては、[jp.illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prepkits/nextera-flex-enrichment.html](http://jp.illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prepkits/nextera-flex-enrichment.html) にアクセスしてください。

## 製品情報

| 製品名   | カタログ番号      |
|---|-------------|
| Nextera DNA Flex Pre-Enrichment Library Prep and Enrichment Reagents 96 samples (8, 12-plex enrichment reactions) | 20025524    |
| Nextera DNA Flex Pre-Enrichment Library Prep and Enrichment Reagents 16 samples (16, 1-plex enrichment reactions) | 2002552     |
| Nextera DNA Flex Pre-Enrichment Library Prep Reagents (96 samples)  | 20025520    |
| Nextera DNA Flex Pre-Enrichment Library Prep Reagents (16 samples)  | 20025519    |
| Flex Lysis Reagent Kit (for blood lysis)  | 20018706    |
| IDT for Illumina - Nextera DNA Unique Dual Indexes - Set A (96 indexes, 96 samples)                               | 20027213    |
| Illumina Exome Panel (8 enrichment reactions)   | 20020183    |
| TruSight Cancer (8 enrichment reactions)  | FC-121-0202 |
| TruSight Hereditary Cancer (8 enrichment reactions)   | 20029551    |
| TruSight One (6 enrichment reactions)   | 20029227    |
| TruSight One Expanded (6 enrichment reactions)  | 20029226    |
| TruSight Cardio (8 enrichment reactions)  | 20029229    |
| TruSeq Neurodegeneration (8 enrichment reactions)   | 20029550    |
| Illumina Custom Enrichment Panel  | 20025371    |

## 参考文献

- Bentley DR, Balasubramanian S, Swerdlow HP, et al. *Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry.* *Nature.* 2008;456:53-59.
- Illumina (2017). *Nextera DNA Flex Library Preparation Kit Data Sheet.*
- Illumina (2017). *BWA Enrichment v2.1 BaseSpace App Guide.* Accessed September 28, 2018.

## 完全なサポート型のソリューション

イルミナは、研究者の目的達成に役立つさまざまなサポートオプションを提供しています。イルミナのコンシェルジュサービスでは高度なコンテンツデザインを提供しており、カバレッジの改善に役立てたり、アドオンの使用またはヒト以外の種のデザインを可能にしています。試験を行う前にイルミナのシーケンサーシステムでカスタム濃縮を評価する支援もご利用いただけます。パイオインフォマティクスの専門家によるカスタムアプリおよびパイプラインデザインの支援、トレーニングを受け認定された科学者によるお客様の施設でのライブラリー調製トレーニングも可能です。

## 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](http://jp.illumina.com)

 [www.facebook.com/illuminakk](https://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](http://jp.illumina.com/tc)

© 2018 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](http://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. 770-2018-002-B-JPN QB 6494 20NOV2018

**illumina**<sup>®</sup>