

# Illumina Human Comprehensive Panel

Illumina Complete Long Read  
Prep with Enrichment, Human  
によるタンパク質コーディング遺  
伝子の解析が困難な領域のカバ  
レッジ向上

**illumina**<sup>®</sup>

## はじめに

ヒト全ゲノムシーケンス (WGS) を実施する場合、ショートリードだけではマッピングすることが難しい一部の遺伝子領域がある場合があります。解析が困難な領域には、相同性の高い領域または繰り返しの多い領域、複雑な構造多型、偽遺伝子、および大きな挿入/欠失 (Indel) があります。このような場合、ロングリードシーケンスが標準のショートリードWGSデータを補完し、解析が困難な領域のカバレッジを向上させて、バリエーションのフェージングやハプロタイプコールを容易にすることができます。

Illumina Complete Long Readテクノロジーは、標準の次世代シーケンス (NGS) ワークフローを使用して、イルミナシーケンスシステムで連続したロングリードシーケンスを生成します (図1)。Illumina Complete Long Read Prep with EnrichmentとHuman Comprehensive Panelは、よりコスト効率の良い拡張性のあるアプローチにより、ゲノムの既知の解析が困難な領域に役立ちます。ターゲットロングリードは標準の高精度WGSデータを使用して解析され、より多くの領域のマッピングが可能になります。

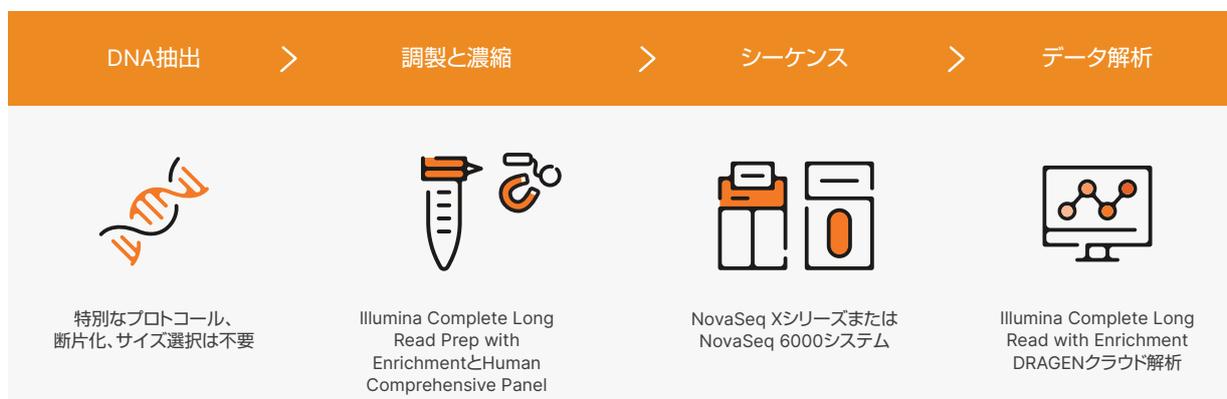
### 包括的で最適化されたプローブパネル

Illumina Human Comprehensive Panelは、より長いリードの利用で、マッピングの可能性が向上することにより恩恵を受ける遺伝子領域を対象とし、最適化されたハイブリッドキャプチャプローブパネルです。このパネルは、6,500以上のタンパク質コーディング遺伝子に対するマッピング可能性の低い領域をターゲットにしており (表1)<sup>1</sup>、標準のショートリードWGSメソッドを使用してマッピングが難しい領域の解析を向上させる、補完的なロングリードを実現します。

表1: Human Comprehensive Panelパラメーター<sup>a</sup>

システム	NovaSeq Xシリーズ NovaSeq 6000システム
ターゲット領域サイズ	> 95 Mb
サンプルあたりのシーケンス出力 <sup>b</sup>	90~120 Gb
プローブ数	~40,000
ターゲット遺伝子数	> 6,500
サンプルの種類	ゲノムDNA
DNAインプット推奨量	50 ng
合計ライブラリー調製時間	~2日
ハンスオンタイム	~6時間
マルチプレックス	最大64サンプル
N50	6.3 kb
フェーズブロックN50	15.6 kb
均一性 <sup>c</sup>	95%
パディングしたリード濃縮 (PRE) <sup>d</sup>	83%
フェージングしたヘテロ接合性SNV <sup>e</sup>	98%

a. 50 ng HG002ゲノムDNA (Coriell, カタログ番号: NA24385) を使用して生成されたデータ。性能はDNAインプットとサンプル品質によって異なる場合があります。  
b. Illumina Complete Long Readの約30×の最終カバレッジを生成する、150 bp × 2でのシーケンスランが必要です。  
c. 平均カバレッジに対して0.2\*以上の時カバレッジの均一性が割合 (%) として計算されます。  
d. PREは100\* (パディングしたターゲットのアライメントされたリード数/アライメントされた合計リード数) として計算されます。  
e. SNV=1塩基変異。



このパネルの開発にあたり、イルミナは、イントロンや非翻訳領域（UTR）を含む20,000を超えるタンパク質コーディング遺伝子の完全なセットを検討し、これらの領域全体におけるマッピングが難しいすべての塩基対の70%をターゲットにしました。ショートリードだけで包括的にカバーされる遺伝子は除外しました。このパネルはウェットラボでテストされており、デザインとシーケンスの効率と性能を最大化するために最適化されています。

### 拡張性の高いシーケンスと解析

ILLUMINA Complete Long Read Prep with Enrichmentワークフローは拡張性が高く、自動化が容易で、多くのサンプルに対する包括的なWGSに対応します（表2）。NovaSeq™ X Plusシステムでは、1年あたり最大15,000の高精度なゲノムを生成することができます。\* バッチ処理の要件を軽減するには、NovaSeq X 1.5Bフローセルのようなロースループットの消耗品で、より小さいサンプル数をシーケンスします。ILLUMINA Complete Long Read Prep with EnrichmentとHuman Comprehensive Panelを使用して、より広範なバリエーション検出のためのリフレックスツールとして既存のWGSデータセット拡大できます。

\* ILLUMINA Complete Long Read Prep with EnrichmentとHuman Comprehensive PanelをNovaSeq X Plusシステム、25Bフローセルを用いたデュアルフローセルランで使った場合の見込みのスループット。

ILLUMINA Complete Long Read Prep with Enrichment, Humanのデータ解析はBaseSpace™ Sequence Hubアプリとして、またはILLUMINA Connected Analytics経由で使用できます。データはクラウドにストリーミングされ、（以前生成したまたは並行して生成した）同じサンプルからの30×カバレッジ以上の標準のショートリードWGSデータと共に解析されます。DRAGEN™パイプラインは、結果をDRAGENターゲットコーラーを含む単一セットの出力ファイルに統合します。<sup>3</sup>

### コスト効率良くカバレッジを向上

ILLUMINA Complete Long Read Prep with EnrichmentとHuman Comprehensive Panelは、標準のショートリードWGSと比較して、バリエーションコールの精度を向上させ、ターゲット領域全体のカバレッジを増加させます（図2、図3、表3）。Human Comprehensive Panelを使用したターゲットロングリードは、F1スコア（SNV + Indel）99.87%<sup>2</sup>という包括的な全ゲノム精度を実現し、ショートリードのみに比べて大幅な改善を示します。これにより、ILLUMINA Complete Long Read Prep, Humanおよびその他のタンパク質コーディング遺伝子のロングリード全ゲノムと同等のパフォーマンスが得られ、さらに低コストとハイスループットを実現します（表3）。

表2: Human Comprehensive PanelとILLUMINA Complete Long Read Prep with Enrichment, Humanで30×の最終カバレッジを生成するための推奨されるサンプルスループット<sup>a,b,c,d</sup>

	NovaSeq 6000システム				NovaSeq Xシステム		
	SP	S1	S2	S4	1.5B	10B	25B
300サイクル試薬キット							
フローセルあたりのサンプル	2	4	10	24	4	24	64
フローセルあたりの出力	~250 Gb	~500 Gb	~1.25 Tb	~3 Tb	~500 Gb	~3 Tb	~8 Tb
ランタイム	~25時間	~25時間	~36時間	~44時間	~21時間	~25時間	~48時間

- Human Comprehensive Panelのターゲット領域サイズは95 Mb以上であり、サンプルあたり90~120 Gbのシーケンス出力が必要です。
- ILLUMINA Complete Long Readの約30×の最終カバレッジを生成する、150 bp × 2でのシーケンスランが必要です。
- 解析には同一サンプルからの30×カバレッジの標準的なショートリードヒト全ゲノムデータが必要です。ILLUMINA DNA PCR-Free Prepが推奨されます。サードパーティー社製のWGSキットも互換性があります。目印のないライブラリーは同時に調製またはシーケンスする必要はなく、過去のランサンプルからのFASTQファイルを使用できます。
- NovaSeqプラットフォームでILLUMINA Complete Long Readライブラリーをシーケンスすると、ランの報告されるQ30スコアがNovaSeq仕様を下回る場合があります。これは、シーケンスランまたはライブラリー性能の問題を示すものではありません。

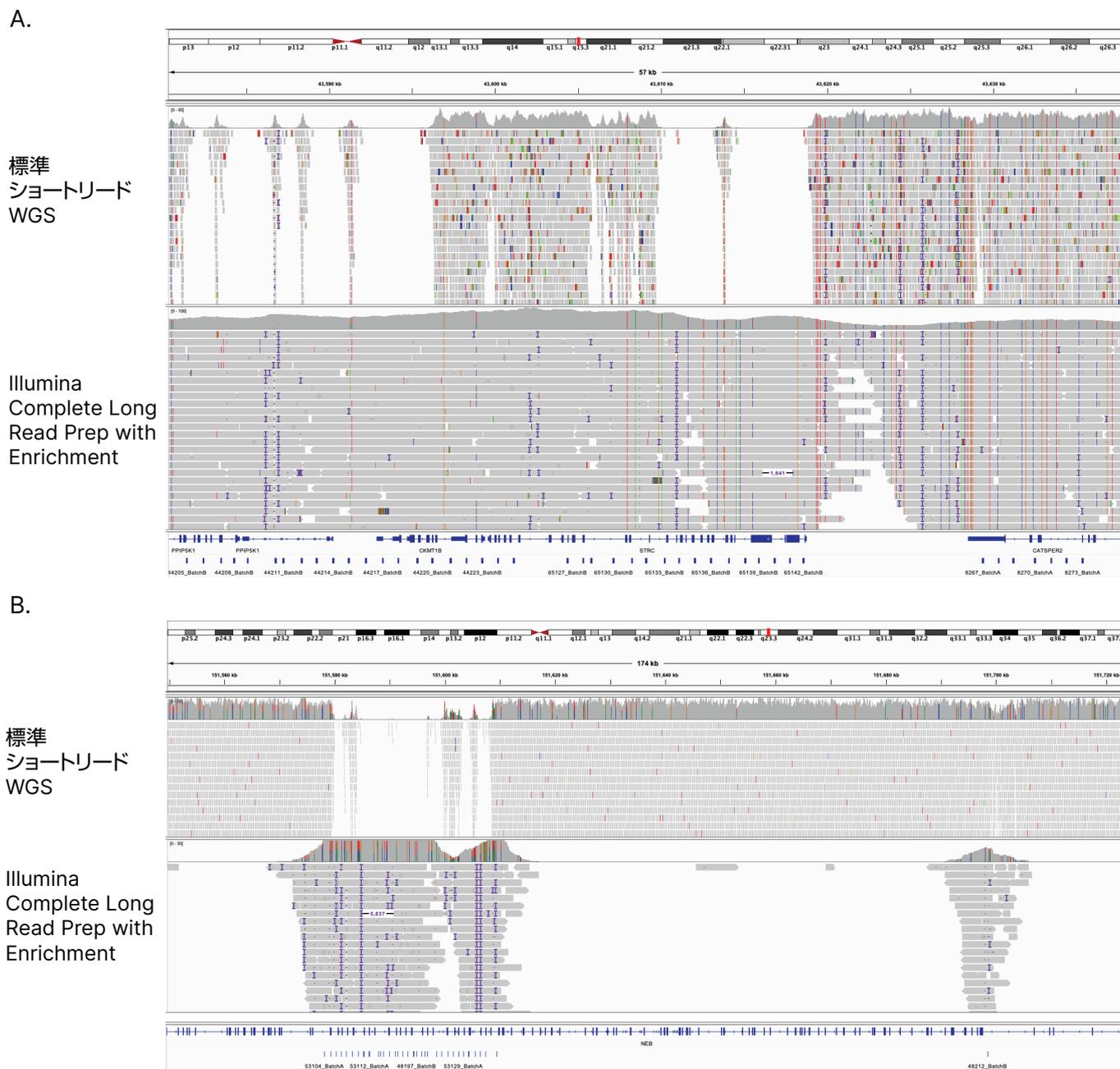


図2: ターゲットロングリードとHuman Comprehensive Panelを使ってマッピングが難しい領域を解析: Illumina Complete Long Read Prep with Enrichment, HumanとHuman Comprehensive Panelは、標準的なショートリードヒトWGSを補完し、解析が困難な遺伝子領域におけるカバレッジの向上に役立ちます。標準的なショートリードWGSとIllumina Complete Long Read Prep with Enrichmentを使用した (A) STRCおよび (B) NEBのIntegrative Genomics Viewer (IGV) プロット。

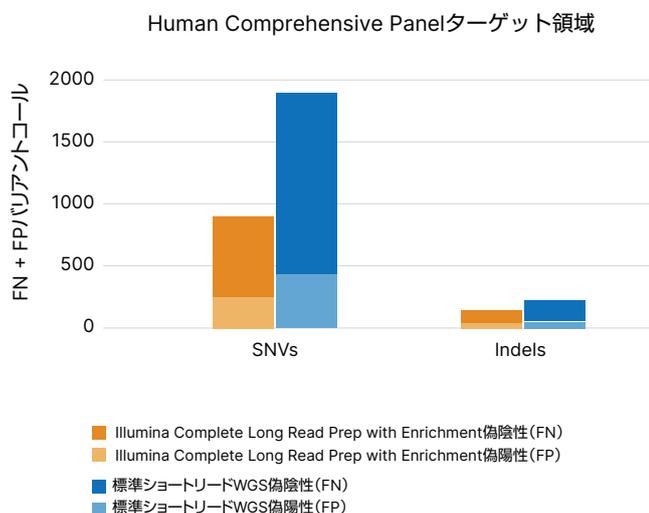


図3：ターゲットロングリードによるバリエーションコール精度の向上：Human Comprehensive Panelでターゲット化した遺伝子領域の偽陰性 (FN) と偽陽性 (FP) のSNVとIndelのバリエーションコール。Illumina Complete Long Read Prep with EnrichmentおよびHuman Comprehensive Panel (オレンジ) と標準ショートリードWGS (青) 使用時の比較。

## まとめ

Illumina Human Comprehensive Panelは、ショートリードだけではマッピングが難しい遺伝子領域のごく一部を高精度のロングリードでカバーすることを可能にします。Illumina Complete Long Read Prep with EnrichmentとHuman Comprehensive Panelは、最適化され、コスト効率の良い全ゲノムアッセイを提供し、イルミナWGSを補完し、ロングリードが最も価値を提供する部分に焦点を当てた完全なワークフローソリューションです。

## 詳細はこちら

[Illumina Complete Long Read Prep with Enrichment, Human Comprehensive Panel](#)  
[ロングリードシーケンステクノロジー](#)

表3：Human Comprehensive Panelの性能

Illumina Human Comprehensive Panelターゲット領域の精度 <sup>a</sup>			
	Illumina Complete Long Read Prep with EnrichmentとHuman Comprehensive Panel <sup>b</sup>	標準ショートリードWGS <sup>c</sup>	
F1スコア (SNV)	99.54%	99.04%	
F1スコア (Indel)	99.47%	99.15%	
F1スコア (SV)	80.43%	60.18%	
全ゲノム、すべてのベンチマーク領域の精度 <sup>d</sup>			
F1スコア (SNV + Indel)	Illumina Complete Long Read Prep with EnrichmentとHuman Comprehensive Panel <sup>b</sup>	Illumina Complete Long Read Prep, Human <sup>e</sup>	標準ショートリードWGS <sup>c</sup>
	99.87%	99.90%	99.84%

a. 常染色体のみ。SNV=1塩基変異、SV=構造多型。  
b. Illumina Complete Long Read Prep with Enrichment, Human Comprehensive Panel + Illumina DNA PCR-Free Prep + NovaSeq 6000 システム+ DRAGEN v4.2.  
c. Illumina DNA PCR-Free Prep + NovaSeq 6000 システム+ DRAGEN v4.2.  
d. PrecisionFDA Truth Challenge V2 Benchmark Data<sup>2</sup>を使用して、参加しているすべてのソリューションに対して測定。DRAGEN v4に対する社内データ。  
e. Illumina Complete Long Read Prep, Human + Illumina DNA PCR-Free Prep + NovaSeq 6000 システム + DRAGEN v4.2.

## 参考文献

1. Bekritsky MA, Bekritsky MA, Colombo C, Eberle MA. Identifying genomic regions with high quality single nucleotide variant calling. [illumina.com/science/genomics-research/articles/identifying-genomic-regions-with-high-quality-single-nucleotide-.html](https://illumina.com/science/genomics-research/articles/identifying-genomic-regions-with-high-quality-single-nucleotide-.html). Published 2021. Accessed August 30, 2023.
2. PrecisionFDA. Truth Challenge V2: Calling Variants from Short and Long Reads in Difficult-to-Map Regions. [precision.fda.gov/challenges/10](https://precision.fda.gov/challenges/10). Accessed October 2, 2023.
3. Roessler K. Illumina Complete Long Reads software analysis workflow for human WGS. [illumina.com/science/genomics-research/articles/complete-long-read-software-analysis.html](https://illumina.com/science/genomics-research/articles/complete-long-read-software-analysis.html). Published 2023. Accessed September 22, 2023.

## 製品情報

製品	カタログ番号
Illumina Complete Long Read Prep with Enrichment, Human (24 samples)	20113832
Illumina Complete Long Read Prep with Enrichment, Human (96 samples)	20113833
Illumina Complete Long Read Prep with Enrichment, Human Comprehensive Panel (24 samples)	20113834
Illumina Complete Long Read Prep with Enrichment, Human Comprehensive Panel (96 samples)	20113835
Illumina Human Comprehensive Panel (24 samples)	20113836
Illumina Human Comprehensive Panel (96 samples)	20113837
Illumina Unique Dual Indexes, LT (48 indexes, 48 samples)	20098166
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
Illumina Analytics - 1 iCredit	20042038

## 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](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](https://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](https://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。

