

# TruSight™ Hereditary Cancer Panel

유전적 위험과 관련이 있는 113개의  
유전자로 구성된 암 연구용  
차세대 시퀀싱(Next-Generation  
Sequencing, NGS) 패널

- 전문가가 선정한 포괄적인 패널 콘텐츠를 이용해 암 위험과 관련이 있는 생식세포 변이 연구 수행
- 6.5시간 안에 시퀀싱이 가능한 라이브러리 인리치먼트 및 준비 완료(수작업 단 2시간)
- 높은 정확도로 SNV, Indel 및 CNV를 검출하는 우수한 커버리지 균일성 제공
- Illumina 벤치탑 시퀀싱 시스템에서 처리량을 조정하여 런당 2~256개의 샘플 시퀀싱 가능



## 소개

유전자 변이는 암 발생 소인(cancer predisposition)을 확인하는데 중요한 역할을 합니다. TruSight Hereditary Cancer Panel은 바로 이러한 변이가 있는 유전자에 대한 포괄적인 연구를 가능하게 해 줍니다. 암 유전체학 전문가들과의 협업을 통해 개발된 TruSight Hereditary Cancer Panel은 변이 확인 및 다유전자 위험 점수(polygenic risk score, PRS) 산출을 위해 113개의 유전자와 125개의 단일 염기 다형성(single nucleotide polymorphism, SNP) 부위에 걸쳐 생식세포 변이(germline mutation)를 살펴볼 수 있도록 설계된 표적 시퀀싱 패널입니다.

이 assay는 각 표적 유전자에서 모든 엑손 영역(exonic region)과 20 bp의 플랭킹 인트론 영역(flanking intronic region)을 커버하도록 사전 설계되어 바로 사용이 가능한 올리고 프로브(oligo probe)를 이용합니다. 라이브러리는 Illumina DNA Prep with Enrichment에 결합된 하이브리드 캡처(hybrid-capture) chemistry를 이용하여 준비됩니다.\* Illumina DNA Prep with Enrichment는 혁신적인 비드(bead) 기반의 chemistry와 하나의 간소화된 하이브리드화(hybridization) 단계를 통해 신속하고 효율적인 라이브러리 준비를 지원합니다. Illumina DNA Prep with Enrichment는 모든 Illumina 벤치탑 시퀀싱 시스템과 호환되므로 연구자는 다양한 샘플 처리량(throughput)을 선택해 유연하게 실험을 설계해 볼 수 있습니다(표 1).<sup>1</sup> Illumina DNA Prep with Enrichment의 속도와 MiSeq™ 시스템을 결합한 워크플로우는 샘플 처리부터 데이터 분석까지 전 단계(그림 1)를 48시간 안에 완료할 수 있습니다.

\* Illumina DNA Prep의 기존 제품명은 Nextera™ DNA Flex 라이브러리 프렙 키트로, 두 키트의 태그멘테이션(tagmentation) chemistry, 제품 성능 사양 및 키트 구성은 동일함.

표 1: TruSight Hereditary Cancer Panel의 사양

파라미터	상세 정보
호환 가능 시퀀싱 시스템	iSeq™ 100 시스템, MiniSeq™ 시스템, MiSeq 시스템, MiSeqDx 시스템(RUO Mode), NextSeq™ 550 시스템, NextSeq 550Dx 시스템(RUO Mode)
패널 크기	403 kb, 113개의 유전자(모든 엑손 포함), 125개의 SNP(PRS의 경우 48개의 ID SNP 및 77개의 SNP)
프로브 수	10,341개의 올리고 프로브
샘플 유형	gDNA, 혈액 <sup>a</sup> 또는 타액 <sup>a</sup>
DNA 사용량	50~1,000 ng의 DNA
총 Assay 시간	DNA 추출부터 데이터 분석까지 48시간
라이브러리 준비 시간	수작업 2시간 포함 총 6.5시간
샘플 처리량	평균 300× 커버리지(coverage)로 런(run)당 2~256개의 샘플을 처리하는 유연한 옵션을 지원하는 384개의 인덱스(index) 제공(최소 100× 커버리지)
튜브당 샘플 처리 수	인리치먼트 8회(인리치먼트당 최대 12개의 샘플 처리)

a. 혈액 또는 타액에서 직접 추출 시 Flex Lysis Reagent Kit(Illumina, 카탈로그 번호: 20018706)를 사용해야 함.

샘플 처리부터 데이터 분석까지 48시간 소요

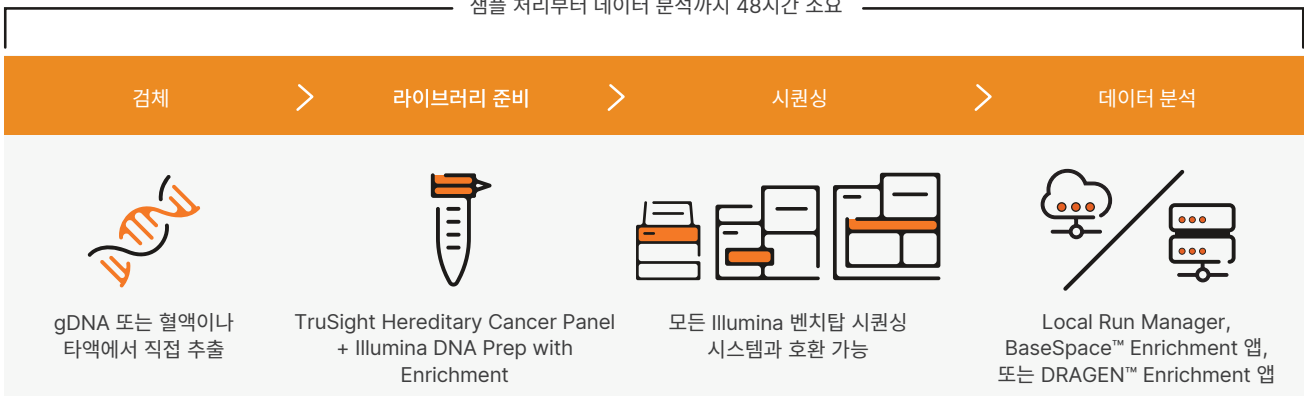


그림 1: 빠르고 유연한 NGS 워크플로우 — TruSight Hereditary Cancer Panel은 라이브러리 준비 단계와 인리치먼트 단계를 결합하는 Illumina DNA Prep with Enrichment 라이브러리 프렙 키트의 chemistry를 사용하며, 신속하고 간소한 최적화된 워크플로우를 통해 단 6.5시간 안에 인리치먼트를 거친 라이브러리를 제공함. TruSight Hereditary Cancer Panel은 iSeq 100, MiniSeq, MiSeq 시리즈 및 NextSeq 시스템과 호환이 가능함.

## ILLUMINA 시퀀싱 시스템이 제공하는 유연한 처리량 옵션

TruSight Hereditary Cancer Panel은 여러 Illumina 시퀀싱 시스템과 호환이 가능하여 연구자가 원하는 대로 실험을 설계할 수 있는 유연성을 제공합니다. 연구자는 랩의 요구 사항에 따라 필요한 기기나 시약 키트를 선택할 수 있습니다. 런당 2~256개의 샘플을 처리 가능합니다(표 2).

## 포괄적인 콘텐츠

TruSight Hereditary Cancer Panel은 일반적으로 유방암, 대장암, 난소암 및 위암의 유전적 소인과 연관성이 있는 광범위한 유전자를 포함합니다(그림 2). 패널 콘텐츠는 독일, 프랑스 및 영국의 키 오피니언 리더(key opinion leader, KOL)들로부터 얻은 유전적 위험 평가에 대한 의견과 피드백을 반영하여 개발되었습니다. 이 패널은 암 발생 소인과 관련이 있는 113개의 유전자를 표적화하는 10,341개의 프로브를 포함하며(그림 3), 인구집단 규모의 환자-대조군 연구를 통해 평가되었습니다. 또한 패널에는 신원 및 성별 확인의 목적으로 활용되는 48개의 SNP와 BOADICEA 모델의 PRS 산출에 필요한 77개의 SNP도 포함되어 있습니다.<sup>2,3</sup> 따라서 단 하나의 assay로 단일 염기서열 변이(single-nucleotide variant, SNV), 삽입-결실(insertion-deletion, Indel), 유전자 복제수 변이(copy number variation, CNV)를 검출할 수 있습니다(표 4, 표 5).

표 3: TruSight Hereditary Cancer Panel의 유전자 콘텐츠

ACD	DIS3L2	GREM1	PIK3CA	SDHD
AIP	EPCAM	HOXB13	PMS2	SLX4
AKT1	ERCC1	KIF1B	POLD1	SMAD4
APC	ERCC2	KIT	POLE	SMARCA4
ATM	ERCC3	LZTR1	POT1	SMARCB1
BAP1	ERCC4	MAX	PRKAR1A	SMARCE1
BARD1	ERCC5	MEN1	PTCH1	SPINK1
BLM	FAM175A	MET	PTEN	SPRED1
BMPR1A	FANCA	MITF	RAD50	STK11
BRCA1	FANCB	MLH1	RAD51	SUFU
BRCA2	FANCC	MRE11A	RAD51B	TERF2IP
BRIP1	FANCD2	MSH2	RAD51C	TERT
CASR	FANCE	MSH3	RAD51D	TMEM127
CDC73	FANCF	MSH6	RB1	TP53
CDH1	FANCG	MUTYH	RECQL4	TSC1
CDK4	FANCI	NBN	RET	TSC2
CDKN1B	FANCL	NF1	RHBDF2	VHL
CDKN2A	FANCM	NF2	RINT1	WT1
CEBPA	FH	NSD1	RUNX1	XPA
CHEK2	FLCN	NTHL1	SDHA	XPC
CTRC	GALNT12	PALB2	SDHAF2	XRCC2
DDB2	GATA2	PDGFRA	SDHB	
DICER1	GPC3	PHOX2B	SDHC	

a. 패널에 포함된 SNP의 전체 목록은 [www.illumina.com/TruSightHereditaryCancer](http://www.illumina.com/TruSightHereditaryCancer)에서 확인이 가능함.

표 2: 다양한 기기와 시약 키트의 샘플 세트 구성 및 데이터 아웃풋 비교

연구용 시퀀싱 시스템 <sup>a</sup>	시약 키트	싱글 리드 수	데이터 아웃풋	런 타임	샘플 Plexity <sup>b</sup>
iSeq 100	100 i1	4M	1.2 Gb	19시간	2
	v2 Micro	4M	1.2 Gb	19시간	2
MiSeq 및 MiSeqDx (RUO Mode)	v2 Standard	15M	4.5 Gb	24시간	9
	v3 Standard	25M	7.5 Gb	28시간	16
MiniSeq	Mid Output	8M	2.4 Gb	17시간	5
	High Output	25M	7.5 Gb	24시간	16
NextSeq 550 및 NextSeq 550Dx (RUO Mode)	Mid Output	130M	39 Gb	26시간	80
	High Output	400M	120 Gb	39시간	256

a. iSeq 100 및 MiniSeq 시스템의 이론적인 데이터 아웃풋과 런 타임은 기기 사양에 근거함. TruSight Hereditary Cancer Panel에 대한 내부 검증은 MiSeq 및 NextSeq 550 시스템으로만 진행됨.  
b. 샘플 처리량은 샘플당 300x 평균 커버리지를 기준으로 함.

표 4: 연구용 TruSight Hereditary Cancer Panel을 사용한 Horizon Discovery 샘플 내 변이 검출<sup>a,b</sup>

샘플	유전자	변이	변이형	결과	예상 MAF	다양한 DNA 사용량 조건에서 관찰된 MAF <sup>c</sup>		
						50 ng	25 ng	10 ng
HD793	<i>BRCA1</i>	P871L	SNV	Missense 변이	100%	100%	100%	99.8%
	<i>BRCA1</i>	S1613G	SNV	Missense 변이	50%	49.8%	47.7%	45.8%
	<i>BRCA1</i>	K1183R	SNV	Missense 변이	50%	45.0%	43.9%	44.9%
	<i>BRCA1</i>	K820E	SNV	Missense 변이	50%	48.1%	43.6%	45.6%
	<i>BRCA1</i>	D435Y	SNV	Missense 변이	50%	42.8%	46.3%	44.6%
	<i>BRCA2</i>	V2466A	SNV	Missense 변이	100%	99.9%	100%	100%
	<i>BRCA2</i>	N289H	SNV	Missense 변이	50%	39.2%	40.5%	40.5%
	<i>BRCA2</i>	N991D	SNV	Missense 변이	50%	48.6%	48.1%	48.0%
	<i>BRCA2</i>	N1784fs	Deletion	Frameshift 변이	50%	42.2%	35.7%	38.9%
	<i>BRIP1</i>	S919P	SNV	Missense 변이	100%	99.7%	99.9%	100%
HD794	<i>NBN</i>	E185Q	SNV	Missense 변이	50%	41.1%	35.1%	38.5%
	<i>BARD1</i>	R378S	SNV	Missense 변이	50%	50.5%	49.9%	48.0%
	<i>BRCA2</i>	V2466A	SNV	Missense 변이	100%	99.9%	99.9%	99.8%
	<i>BRCA2</i>	I2675fs	Insertion	Frameshift 변이	50%	41.0%	40.9%	40.3%
	<i>BRIP1</i>	S919P	SNV	Missense 변이	100%	99.9%	100%	100%
	<i>NBN</i>	E185Q	SNV	Missense 변이	100%	100%	100%	100%

- a. 시퀀싱은 MiSeq 시스템으로 수행됨. 연구 전용이며, 본 사양은 임상/진단 용도로 승인되지 않음.
- b. 정렬(Alignment) 및 변이 검출은 DRAGEN Enrichment 앱에서 실행됨.
- c. 소수 대립유전자 빈도(Minor allele frequency, MAF)수치는 4회의 반복 실험(technical replicate)을 통해 얻은 평균값임.

표 5: 연구용 TruSight Hereditary Cancer Panel을 사용한 공동 연구팀의 샘플 내 변이 검출<sup>a,b</sup>

샘플	유전자	레퍼런스 대립유전자	변이 대립유전자	변이형	결과	Rep 1 MAF <sup>c</sup>	Rep 2 MAF <sup>c</sup>
1	<i>PALB2</i> 중복			CNV	복제수 변화	검출	검출
2	<i>RB1</i>	T	TTCAAAA	Insertion	프레임 내 삽입 (In-frame insertion)	54.1%	53.6%
	<i>TSC2</i>	C	T	SNV	종결 획득(Stop-gain)	49.8%	47.5%
3	<i>POLE</i>	C	T	SNV	Missense 변이	44.1%	47.0%
4	<i>CHEK2</i>	A	G	SNV	Missense 변이	40.8%	44.9%
5	<i>MSH6</i>	GA	G	Deletion	Frameshift 변이	50.9%	45.0%
6	<i>BRCA2</i>	CG	C	Deletion	Frameshift 변이	29.9%	36.3%
7	<i>MLH1</i>	C	T	SNV	종결 획득	31.0%	31.9%
8	<i>BRCA1</i>	T	C	SNV	Missense 변이	39.6%	35.1%

- a. 시퀀싱은 MiSeq 시스템으로 수행됨. 연구 전용이며, 본 사양은 임상/진단 용도로 승인되지 않음.
- b. 정렬 및 변이 검출은 DRAGEN Enrichment 앱에서 실행됨.
- c. 관찰된 변이 검출 결과는 과거 공동 연구팀이 보고했던 유전형(genotype)과 연관성을 보임(데이터 표시되지 않음).

암의 종류	관련 유전자
 유방암	ATM, BARD1, BRCA1, BRCA2, CDH1, CHEK2, NBN, NF1, PALB2, PTEN, STK11, TP53
 대장암	APC, AXIN2, BMPR1A, CHEK2, EPCAM, GREM1, MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, MSH3, MUTYH, NTLH1, POLD1, POLE, PTEN, SMAD4, STK11, TP53
 난소암	ATM, BARD1, BRCA1, BRCA2, CDH1, CHEK2, NBN, NF1, PALB2, PTEN, STK11, TP53
 위암	CDH1
 기타	MEN1, NF2, RB1, RET, SDHAF2, SDHB, SDHC, SDHD, TSC1/2, VHL, TP53, WT1

그림 2: 특정 종류의 암에 대한 유전적 소인과 알려진 연관성이 있는 유전자 포함.

## 신속한 라이브러리 준비 및 인리치먼트 워크플로우

TruSight Hereditary Cancer Panel은 Illumina DNA Prep with Enrichment를 활용한 신속한 라이브러리 준비 단계를 지원하므로 연구자는 시퀀싱이 가능한 라이브러리를 단 6.5시간(수작업 2시간 포함) 안에 준비할 수 있습니다. Illumina DNA Prep with Enrichment 솔루션을 구성하는 가장 핵심적인 요소는 비드 결합 트랜스포솜을 이용해 균등한 태그멘테이션 반응을 조정하는 온비드 태그멘테이션(on-bead tagmentation)입니다(그림 3). 이 전략은 별도의 DNA 절편화(fragmentation) 단계를 필요로 하지 않습니다. 또한 포화 기반의 DNA 표준화(saturation-based DNA normalization)를 이용하므로 10~50 ng의 gDNA를 사용하는 경우 인리치먼트 단계 전에 개별적인 라이브러리의 정량화 및 표준화 단계도 필요하지 않습니다. 표적 인리치먼트는 성능이 입증된 하이브리드 캡처 chemistry를 통해 진행되어 SNV, Indel 및 CNV 관련 변이에 대한 신뢰할 수 있는 검출 결과를 제공합니다. 라이브러리는 표적화된 DNA 영역에 특이적이고 바이오틴(biotin)으로 표지된 프로브에 하이브리드화됩니다. 이렇게 바이오틴화된 프로브(biotinylated probe)에 결합하는 스트렙타비딘 마그네틱 비드(streptavidin magnetic bead)는 표적을 포획하고 용액에 들어 있는 결합된 절편을 끌어당깁니다. 이후 포획된 절편이 비드에서 용출되고 나면 표적화된 라이브러리를 시퀀싱할 수 있습니다.

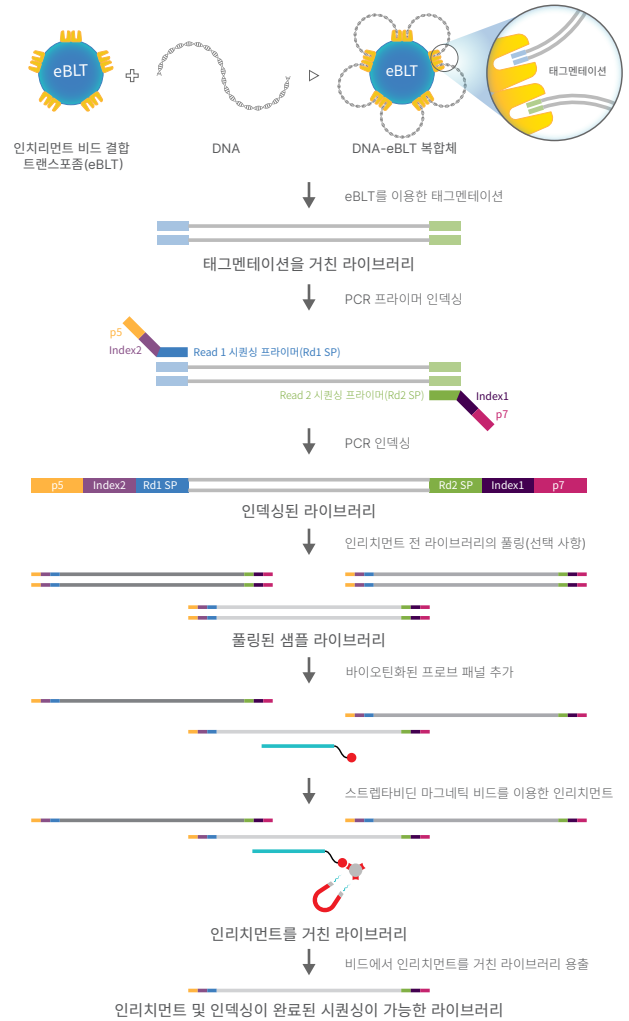


그림 3: Illumina DNA Prep with Enrichment 워크플로우 — 인리치먼트 비드 결합 트랜스포솜(Enrichment bead-linked transposome, eBTL)으로 조정된 균등한 태그멘테이션 반응(tagmentation reaction) 후 한 번의 하이브리드화 반응을 거치는 신속하고 유연한 워크플로우

## 정확한 데이터

샘플당 113개의 유전자를 분석할 수 있는 역량을 갖춘 TruSight Hereditary Cancer Panel은 뛰어난 분석 특이도(analytical specificity) 및 커버리지 균일성(coverage uniformity)과 높은 샘플 처리량을 동시에 제공합니다. Assay의 성능을 확인하기 위해 공동 연구팀의 샘플을 이용해 두 대의 시퀀싱 시스템에서 얻은 시퀀싱 매트릭스를 분석했습니다. Illumina DNA Prep with Enrichment를 이용해 50 ng의 DNA를 사용하는 조건하에 8-plex 인리치먼트를 거친 8개의 샘플(중복 실험(duplicate) 진행)을 준비한 후 MiSeq 시스템 및 NextSeq 시스템에서 시퀀싱했으며, 데이터는 BaseSpace Enrichment 앱(v3.1.0)으로 분석했습니다. 분석 결과, 높은 커버리지 균일성(%)을 확인할 수 있었습니다(그림 4).

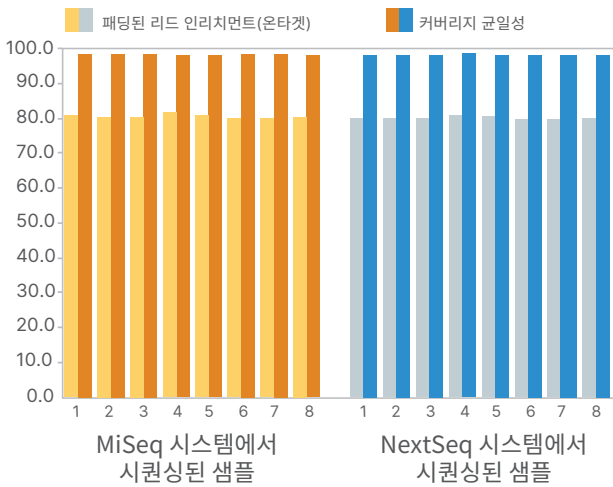


그림 4: 온타겟(On-target) 정렬 및 커버리지 균일성\* — 공동 연구팀의 샘플에서 추출한 DNA를 사용해 TruSight Hereditary Cancer Panel로 준비한 라이브러리를 MiSeq 시스템(좌) 및 NextSeq 550 시스템(우)에서 시퀀싱한 결과로, 상기 그래프에는 샘플별로 2회의 반복 실험(technical replicate)을 통해 얻은 평균 수치가 표시됨.

\* 연구 전용이며, 본 사양은 임상/진단 용도로 승인되지 않음.

## 변이 검출

다양한 DNA 사용량 조건에서의 변이 검출 성능을 입증하기 위해 10 ng, 25 ng 및 50 ng의 DNA를 사용한 16개의 샘플을 구성하여 샘플 세트를 준비했습니다. 샘플 세트는 Horizon Discovery(HD)의 BRCA Germline I Reference Standard 중 gDNA HD793 샘플과 BRCA Germline II Reference Standard 중 gDNA HD794 샘플을 사용해 각각 4회의 반복 실험을 통해 구성했습니다. Illumina DNA Prep with Enrichment를 이용해 DNA 사용량 조건별로 8-plex 인리치먼트를 거친 라이브러리를 준비한 후 이를 16-plex로 시퀀싱했습니다. 시퀀싱은 MiSeq 시스템으로 수행했고 데이터는 DRAGEN Enrichment 앱으로 분석했습니다. 분석 결과는 HD793 및 HD794 샘플에 대해 Horizon Discovery가 발표한 결과와 일치하였고, 모든 사용량 조건에서 결과가 재현 가능한 것이 확인되었습니다. 이후 공동 연구팀으로부터 얻은 알려지지 않은 변이를 포함하는 샘플에 대한 추가 분석을 실시했습니다(표 4). Illumina DNA Prep with Enrichment 워크플로우를 통해 50 ng의 DNA를 사용한 8개의 샘플(중복 실험 진행)을 8-plex 인리치먼트를 거쳐 준비한 후 이를 MiSeq 시스템에서 시퀀싱했습니다. DRAGEN Enrichment 앱으로 데이터를 분석한 결과, 클래스가 다른 변이(SNV, CNV, Indel)가 검출되었으며(표 5), 이는 공동 연구팀이 과거에 보고했던 유전형과도 연관성을 보였습니다. 변이 검출에 DRAGEN Enrichment 앱 또는 BaseSpace

Enrichment 앱을 사용하면 VCF 형식으로 결과를 보고받을 수 있습니다. 연구자는 원하는 서드 파티 3차 분석 플랫폼을 사용해 어노테이션(annotation, 주석 달기) 및 변이 해석을 진행할 수 있습니다.

Illumina DNA Prep with Enrichment 워크플로우의 조정 가능한 assay 파라미터 및 변이 검출에 대한 영향 등 더 자세한 정보는 [User-definable parameters in the Illumina DNA Prep with Enrichment Workflow Technical Note](#) 및 [Analyze germline CNVs with TruSight Hereditary Cancer Panel Technical Note](#)에서 확인하실 수 있습니다.

## 요약

TruSight Hereditary Cancer Panel은 연구자가 과거에 암 발생 소인과 연관성을 보인 유전자 내에서 변이를 분석할 때 전문가들이 명시한 콘텐츠 세트를 이용할 수 있도록 해 줍니다. 최적화된 프로브 세트는 광범위한 변이의 검출을 가능케 하는 높은 커버리지 균일성을 기반으로 표적화된 영역에 대한 포괄적인 커버리지를 제공합니다. 또한 패널 콘텐츠와 Illumina DNA Prep with Enrichment의 결합을 통해 적은 양의 샘플 사용을 요구하는 신속하고 간단한 워크플로우를 지원하며, 모든 Illumina 벤치탑 시퀀싱 시스템과 유연하게 호환이 가능합니다. TruSight Hereditary Cancer Panel은 암 발생 소인과 관련이 있는 변이의 검출을 가속화해 줄 수 있는 매우 효율적인 표적 시퀀싱 솔루션입니다.

## 상세 정보

[TruSight Hereditary Cancer Panel](#)

## 참고 문헌

1. Illumina. [Illumina DNA Prep with Enrichment data sheet](#). Published 2020. Accessed September 5, 2023.
2. Mavaddat N, Pharoah PD, Michailidou K, et al. [Prediction of breast cancer risk based on profiling with common genetic variants](#). *J Natl Cancer Inst*. 2015;107(5):djv036. Published 2015 Apr 8. doi:10.1093/jnci/djv036
3. University of Cambridge, Centre for Cancer Genetic Epidemiology. Breast and Ovarian Analysis of Disease Incidence and Carrier Estimation Algorithm (BOADICEA) [ccge.medschl.cam.ac.uk/boadicea/](http://ccge.medschl.cam.ac.uk/boadicea/). Accessed September 5, 2023.

## 제품 목록

제품	카탈로그 번호
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 DNA Prep with Enrichment, (S) Tagmentation (96 Samples)	20025524
Illumina DNA Prep with Enrichment, (S) Tagmentation (16 Samples)	20025523
Illumina DNA Prep, (S) Tagmentation (96 Samples)	20025520
Illumina DNA Prep, (S) Tagmentation (16 Samples)	20025519
iSeq 100 i1 Reagent	20021533
iSeq 100 i1 Reagent	20021534
MiSeq Reagent Micro Kit v2	MS-103-1002
MiSeq Reagent Kit v2	MS-102-2002
MiSeq Reagent Kit v3	MS-102-3003
MiniSeq Mid Output Kit	FC-420-1004
MiniSeq High Output Kit	FC-420-1003
NextSeq 500/550 Mid Output Kit v2.5	20024905
NextSeq 500/550 High Output Kit v2.5	20024908
Flex Lysis Reagent Kit	20018706



무료 전화(한국) 080-234-5300  
 techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2024 Illumina, Inc. All rights reserved. 모든 상표는 Illumina, Inc. 또는 각 소유주의 자산입니다.  
 특정 상표 정보는 [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html)을 참조하십시오.  
 M-KR-00208 KOR