illumina®

MiSeq® 시스템의 VeriSeq™ PGS 솔루션

PGS를 위한 차세대 시퀀싱 솔루션으로 정확한 이수성 검사 결과 제공 및 미래의 기회 확장

핵심 사항

- **업계 최고의 데이터 품질**
  전 세계 시퀀싱 데이터의 90%가 Illumina 기술을 사용하여 생성
- **빠르고 간소화된 작업흐름**
  샘플에서 결과까지 약 12시간 소요
- **확장 가능한 고처리량 솔루션**
  실행당 최대 24개의 샘플 검사

그림 1: MiSeq 시스템. VeriSeq PGS 솔루션은 안정적이고 정확한 PGS를 위해 MiSeq 시스템에서 Illumina SBS 화학을 활용합니다.

소개

염색체 이수성(비정상적인 염색체 수)은 IVF(체외수정) 실패의 주된 원인입니다. 이는 이수성이 있는 대부분의 배아가 임신 첫 3개월 동안 착상되지 않거나 임신 첫 3개월 동안 유산되기 때문입니다.[1,2] 정배수성 배아(정상 염색체 수를 가진 배아)에 대한 PGS(Preimplantation genetic screening: 착상 전 유전 검사)는 이전 및 성공적인 이식 및 임신 가능성을 위해 생존 가능한 배아가 선택될 가능성을 높입니다.[3]

VeriSeq PGS 솔루션은 NGS(차세대 시퀀싱) 기술을 활용하여, 정배수성 배아를 선택하기 위해 24개 염색체 모두를 종합적으로 정확하게 검사합니다. VeriSeq PGS 솔루션을 사용하여 생성된 PGS 결과는 널리 사용되는 어레이 기반 24sure® 기술을 사용하여 달성된 결과와 비교 가능합니다.

가장 높은 NGS 정확성

VeriSeq PGS는 업계 최고로서 가장 널리 사용되는 NGS 기술인 Illumina SBS(Sequencing By Synthesis: 합성을 통한 시퀀싱) 화학에 의존합니다. 실제로 세계 시퀀싱 데이터의 90%가 Illumina 기술을 사용하여 생성됩니다. 전매특허인 가역적 종결자 기반 방법은 수백만 개의 DNA 분절의 대량 병렬 시퀀싱을 활성화하여, 단일 염기가 신장하는 DNA 가닥으로 통합될 때 해당 염기를 검출합니다. 이 방법은 시퀀싱 관련 오류를 최소화합니다.

Illumina 시퀀싱은 모든 적용 범위에서 가장 정확한 인간 게놈, 최고 수율의 오류 없는 리드, Q30*을 넘는 업계 최고 비율의 염기 호출을 제공합니다. 이러한 고품질 데이터는 위양성 및 위음성 비율을 낮추므로 광범위한 다운스트림 검사의 필요성을 줄이는 동시에 데이터에 대한 최고의 신뢰도를 제공합니다.

유연한 MiSeq 시스템

MiSeq 시스템(그림 1)은 검증된 Illumina SBS 화학을 활용하여 비할 바 없는 시퀀싱 안정성과 정확성을 제공합니다. 25M 시퀀싱 리드로 최대 15Gb의 데이터를 생성하는 능력을 갖춘 이 데스크톱 시퀀서를 사용하여 모든 실험실에서는 목표 유전자 시퀀싱, 메타게노믹스, 작은 게놈 시퀀싱, 목표 유전자 발현, 엠프리콘 시퀀싱, HLA 유형 분류 등 다양한 시퀀싱 애플리케이션을 수행할 수 있습니다.

빠르고 효율적인 작업흐름

VeriSeq PGS 솔루션은 약 12시간 안에 완료되는 빠른 전체 PGS 방법을 제공합니다(그림 2). 이 솔루션은 SurePlex™ DNA 증폭 키트를 사용하는 단일 배아 세포에서의 DNA 추출과 WGA(전체 게놈 증폭)에서 시작됩니다. 증폭된 샘플은 VeriSeq DNA 라이브러리 키트를 사용하여 간소화된 라이브러리 준비를 거칩니다.

* Q30 = 1000개 염기 호출에 1개의 오류 또는 99.9%의 정확도.

그림 2: 간소화된 VeriSeq PGS 작업흐름. VeriSeq PGS 프로세스는 최대 24개의 샘플을 검사하는 빠르고 효율적인 방법을 제공합니다.

준비된 라이브러리는 MiSeq 시스템에서 시퀀싱될 수 있도록 플로우 셀로 로드됩니다. 기기 컴퓨터는 데이터 분석을 수행합니다. 그 다음 생성된 파일은 분석, 데이터 관리, 결과 보고를 위해 BlueFuse Multi 소프트웨어로 가져옵니다.

24sure 어레이에서 VeriSeq PGS로 전환 간소화

제대로 설정되고 안정적인 24sure 에세이[4]가 VeriSeq PGS 솔루션의 개발을 위해 활용되었습니다. SurePlex 증폭 키트를 사용한 일반 증폭 프로세스는 확인 목적을 위해 어레이 및 NGS 플랫폼 모두에서 샘플의 병렬 처리를 촉진하고, 시스템 가용성 및 볼륨 이점을 극대화하는 기능도 촉진합니다. 24sure 어레이와 VeriSeq PGS 모두의 데이터는 BlueFuse 다중 소프트웨어 내의 공통 보기에서 분석되어 두 플랫폼 전체에서 단일한 해석 작업흐름을 보장합니다. 이 공통 접근 방법은 24sure 어레이에서 VeriSeq PGS 솔루션으로의 증분적 전환을 지원합니다.

처리량 증가

VeriSeq PGS 솔루션을 사용하여 사용자는 동시 분석을 위한 샘플을 다중화하여 처리량을 크게 증가시킵니다. 최대 24개의 새 샘플을 처리하거나 최대 24개의 냉동 샘플을 배치 처리합니다. 이러한 유연성 덕분에 실험실에서는 미래의 처리량 요구 사항을 충족하기 위해 지금부터 확장을 시작할 수 있습니다(표 1).

표 1: MiSeq 시스템의 VeriSeq.

실행당 샘플 수	24
프로토콜 길이	~ 12시간
필요한 입력	생검한 세포
샘플 준비	SurePlex DNA 증폭 키트
라이브러리 준비	VeriSeq DNA 라이브러리 키트-PGS
분석 소프트웨어	BlueFuse 다중 분석 소프트웨어

종합적인 데이터 분석 및 정보 관리

VeriSeq PGS는 VeriSeq 결과를 분석 및 보고하는 완전한 솔루션인 BlueFuse Multi Analysis 소프트웨어의 라이선스를 포함합니다. BlueFuse는 샘플 수령에서 결과 소프트웨어까지 완전한 실험실 작업흐름을 지원합니다(그림 3).

샘플 데이터베이스

BlueFuse는 확장 가능한 데이터베이스 아키텍처를 사용하여 모든 샘플 세부 정보, 실험 정보와 결과를 저장합니다. 단순한 필터, 강력한 쿼리와 각 IVF 주기의 시각적 표현은 정보가 필요할 때 원하는 정보가 제공되도록 합니다. BlueFuse Multi 데이터베이스 내에서 24sure 마이크로 어레이를 사용하여 생성된 PGS 데이터는 VeriSeq PGS 데이터와 나란히 분석하고 저장하고 볼 수 있습니다.

자동화 분석

역다중화된 샘플 정보는 MiSeq 시스템에서 바로 업로드되어 시간을 절감하고 샘플 추적을 허용합니다. 단일 클릭 바로 가기는 간편한 QC를 위해 실행 및 샘플 보고서에 대한 빠른 액세스를 제공합니다.

분명한 프로필

강력한 가상화 기능은 각 플로우 셀의 풀링된 측정치 수천 개에서 프로필을 생성하여 각 염색체 상태 및 결과 확인을 전체적으로 이해할 수 있습니다.

간결한 보고서

정교한 알고리즘은 각 염색체의 상태를 "정상" 또는 "비정상"으로 계산 및 선언하고 에세이 잡음이나 내재된 모든 모호성을 기반으로 선언의 신뢰도 추정치를 포함합니다. 복제 가능성 및 객관성 외에도 이 호출 데이터는 실험실 결과와 문헌에 발표된 결과를 비교할 수 있게 해줍니다. 최종 제품은 자동화된 샘플 및 주기 보고서입니다.

정확한 이수성 검사

VeriSeq PGS 솔루션의 정확성을 입증하기 위해 대규모 확인 테스트가 알려진 핵형 상태의 세포주 물질을 사용하여 수행되었습니다. 연구는 VeriSeq PGS 키트를 사용하여 달성된 결과를 24sure 어레이의 결과와 비교했습니다. 이 연구는 특히 24sure 어레이에 의해 이수성 또는 정배수성으로 선언된 샘플이 VeriSeq PGS에 의해서도 동일한 상태로 할당된 빈도에 초점을 맞췄습니다.

이 실험에서 다른 세포주의 단일 세포 및 3세포 샘플에서 얻어진 DNA는 SurePlex DNA 증폭 시스템을 사용하여 증폭되었습니다. 단일 세포 샘플은 할구 생검 및 3세포 샘플을 시뮬레이션하여 영양외배엽 생검을 시뮬레이션합니다. 자동 호출 및 데이터 분석은 BlueFuse Multi 소프트웨어를 사용하여 수행되었습니다. 결과는 VeriSeq PGS 키트와 24sure 어레이 사이에서 높은 수준의 염색체 유사성과 완전한 수준의 샘플 유사성을 보여주었습니다(표 2, 표 3).

표 2: VeriSeq PGS와 24sure 어레이 사이의 염색체 일치 수준

데이터 세트[a]	양성 % 일치	음성 % 일치
전체	97.8%(n = 139)	99.8%(n = 3677)
단일 세포 샘플	96.0%(n = 50)	99.6%(n = 1630)
3세포 샘플	98.9%(n = 89)	99.9%(n = 2047)

[a] 혼돈 및 모자이크 샘플은 분석에서 제외되었습니다.

표 3: VeriSeq PGS와 24sure 어레이 사이의 샘플 일치 수준

데이터 세트[a]	양성 % 일치	음성 % 일치
전체	100%(n = 135)	100%(n = 24)
단일 세포 샘플	100%(n = 48)	100%(n = 22)
3세포 샘플	100%(n = 87)	100%(n = 2)

[a] 혼돈 및 모자이크 샘플은 분석에서 제외되었습니다.

동료가 검토한 출판물에서 검증된 VeriSeq PGS

Fiorentino F 외의 2개 최근 연구[5,6]로서, 하나는 배아의 24염색체 이수성 검사를 위한 NGS의 사용과 PGS에서 해당 NGS의 사용에 대한 대규모 검증과 관련한 임상 전 보고서이고 다른 하나는 임상 보고서입니다. 게놈 분자 유전학 실험실(Genoma Molecular Genetics Laboratory)의 책임자인 Fiorentino박사는 "arrayCGH와 같은 기성 방법론과의 일관성이 높다는 점을 감안할 때 NGS는 생식 의학에서 임상 응용이 바로 가능한 강력한 고처리량 방법론을 입증했습니다."

방법

임상 전 연구는 염색체 분석 또는 24sure 어레이를 사용하여 이전에 분석된 단일 할구의 WGA 제품 190개와 단일 세포 18개로 구성됩니다. 임상 연구는 임상 PGS 환자 55명에게서 얻은 낭포 192개로 구성됩니다. 모든 샘플의 염색체 복사 수 불균형은 NGS로 평가했습니다. NGS 연구에서 얻은 특이성과 민감도는 이전 실험에서 얻은 결과와 비교했습니다.

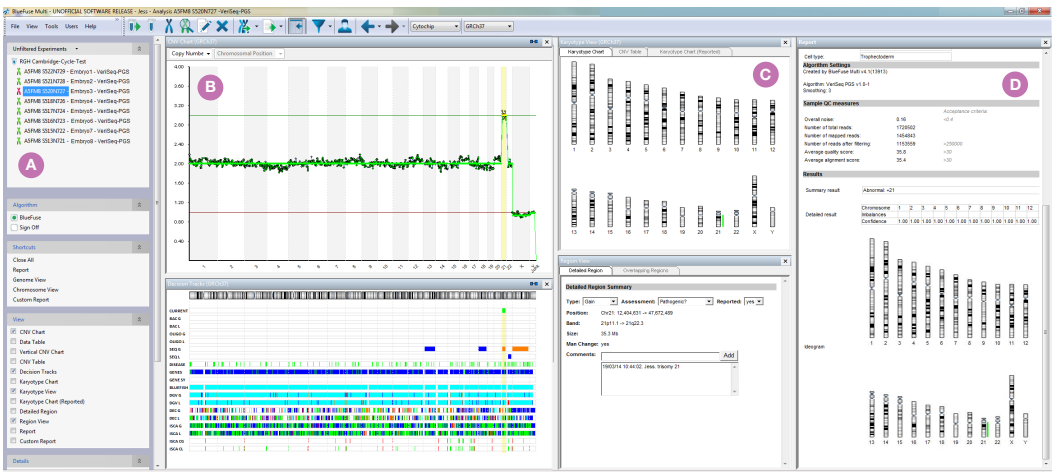

그림 3: BlueFuse Multi 분석 소프트웨어는 완전한 데이터 분석 및 정보 관리 시스템을 제공합니다. BlueFuse 소프트웨어는 VeriSeq 결과를 분석하고 저장하며 보고하는 완전한 솔루션을 제공합니다. A. 샘플 데이터베이스는 실험 정보를 표시합니다. B. 샘플에 대한 프로필(맨 위) 및 DecisionTrack 정보(맨 아래). C. 전체 게놈을 볼 수 있는 이형 차트(맨 위) 및 주석을 달 수 있는 영역 보기(맨 아래). D. 배아당 또는 주기당 보고서(배아 보고서 표시).

결과

이수성 선언에 대한 NGS 특이성(현재 골드 스탠다드 에세이에 비한 염색체 복사 수 할당의 일관성)은 100%민감도에 99.98%였습니다. 이수성 배아 선언에 대한 NGS 특이성(24염색체 배아 수준의 진단 일관성)은 100% 민감도에 100%였습니다. NGS 기반 에세이의 양성 및 음성 예측 값은 모두 배아 수준에서 100%였습니다. 연구의 두 번째 결과는 배이식당 63.8%의 임상 임신율을 보여주었습니다.

결론

NGS는 24염색체 이수성의 안정적이고 종합적인 검사를 제공하여 기존의 어레이 기반 PGS 기술을 사용하여 얻어진 수치와 유사성이 높은 결과를 달성합니다. NGS는 PGS에 대해 비용을 절감하고 정확도를 향상하는 잠재적 혜택과 함께 병원에서 바로 사용할 수 있는 고처리량 방법을 제공합니다.

향후 전망

가디언(The Guardian)[7]의 2014년 기사에서 영국 리프로제네틱스(Reprogenetics) 책임자인 Dagan Wells는 다음과 같이 말했습니다. "우리는 불임, 초기 인간 발달, 유전병 진단의 이해에 적용되는 유전학의 황금기에 진입하고 있습니다. 몇 가지 다른 주요 기술적 진보도 현재 일상적 임상 응용에 막 도입되려는 단계입니다. IVF의 양상은 앞으로 몇 개월 혹은 몇 년 안으로 급격하게 바뀔 가능성이 큽니다." PGS를 위해 NGS를 실험실로 도입하는 작업은 이제 시작일 뿐입니다 전체 인간 게놈에 걸친 응용을 통해 NGS는 제품 포트폴리오가 점증적으로 증가할 수 있도록 새로운 가능성을 열고 있습니다.

요약

VeriSeq PGS 키트 - MiSeq 및 MiSeq 시스템은 IVF에 NGS의 성능을 도입하여 임신 성공률을 높일 가능성을 제공합니다. 이러한 정확한 이수성 검사 결과는 현재 업계 표준에 비할 수 있습니다. 더 많은 정보를 알수록 NGS는 보다 정확한 성능과 새로운 기회를 위해 더 향상된 작업흐름의 장을 엽니다.

추가 정보

VeriSeq PGS 키트– MiSeq에 대한 자세히 알아보려면 www.illumina.com/VeriSeqPGSSolution 을 방문하십시오.

참조

1. Scott RT Jr, Ferry K, Su J, Tao X, Scott K, et al. (2012) Comprehensive chromosome screening is highly predictive of the reproductive potential of human embryos: a prospective, blinded, nonselection study. Fertil Steril 97(4): 870–875.
2. Tobias E, Connor JM, Ferguson-Smith (2011) Essential medical genetics. 6th edition: 243–247. Chichester, West Sussex, UK. Wiley-Blackwell.
3. Yang Z, Liu J, Collins GS, Salem SA, Liu X, et al. (2012) Selection of single blastocysts for fresh transfer via standard morphology assessment alone and with array CGH for good prognosis IVF patients: results from a randomized pilot study. Mol Cytogenet 5(1): 24.
4. Handyside AH (2013) 24 chromosome copy number analysis: a comparison of available technologies Fert Steril 100(3): 595-602.
5. Fiorentino F, Biricik A, Bono S, Spizzichino L, Cotroneo E, et al. (2014) Development and validation of a next-generation sequencing–based protocol for 24-chromosome aneuploidy screening of embryos. Fertil Steril. 101(5): 1375–1382.
6. Fiorentino F, Bono S, Biricik A, Nuccitelli A, Cotroneo E, et al. (2014) Application of next-generation sequencing technology for comprehensive aneuploidy screening of blastocysts in clinical preimplantation genetic screening cycles. Hum Reprod 29(12): 2802–2813.
7. Sample I. IVF technique that tests embryos for genetic disorders has first success. The Guardian. http://www.theguardian.com/society/2014/jul/28/ivf-genetic-disorder-check-first-pregnancy-embryo-london. Published July 27, 2014. Accessed October 1, 2014.

주문 정보

제품	카탈로그 번호
VeriSeq PGS 키트 - MiSeq(샘플 96개)[a]	RH-101-1001
MiSeq 시스템	SY-410-1003

[a] VeriSeq PGS Kit - MiSeq는 SurePlex DNA 증폭 키트, VeriSeq DNA 라이브러리 준비 키트-PGS, VeriSeq 인덱스 키트-PGS, MiSeq 시약 키트 v3-PGS를 포함합니다.

Illumina • 1.800.809.4566 수신자 부담 전화번호(미국) • +1.858.202.4566 일반 전화번호 • techsupport@illumina.com • www.illumina.com

© 2015, 2015 Illumina, Inc. All rights reserved.
Illumina, 24sure, BlueFuse, MiSeq, SurePlex, VeriSeq, 및 호박빛 주황색은 미국 및/또는 다른 나라에서 Illumina, Inc. 및/또는 그 자회사의 상표 또는 등록 상표입니다. 발행 번호1570-2014-004-KOR 2015년 1월 12일 기준 현재

illumina®

AGAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATT
TCAACGTACCGTAACGAACGTATCATTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAAGAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAA
CGAGGAAAAGAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAAGGTACCGTAAGAATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAGAG
AACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAAGAATT
AGAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATT
GATTACTTGATCCACTGATTCAACGTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAGCAAC
CGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAGAGTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGAAAAGAATGATAA