

# 다양한 샘플 종류 및 품질에 따른 TruPath™ Genome의 성능

혈액, 분리된 세포, 타액, 건조 혈액  
반점(DBS), 구강 도말 등 다양한  
종류의 샘플 지원

일반적인 추출 키트와 고분자량(HMW)  
추출 키트로 추출한 DNA 등 다양한  
품질의 샘플 사용 시 고품질 결과 제공

175~550 ng의 DNA 사용으로  
우수한 성능 확보

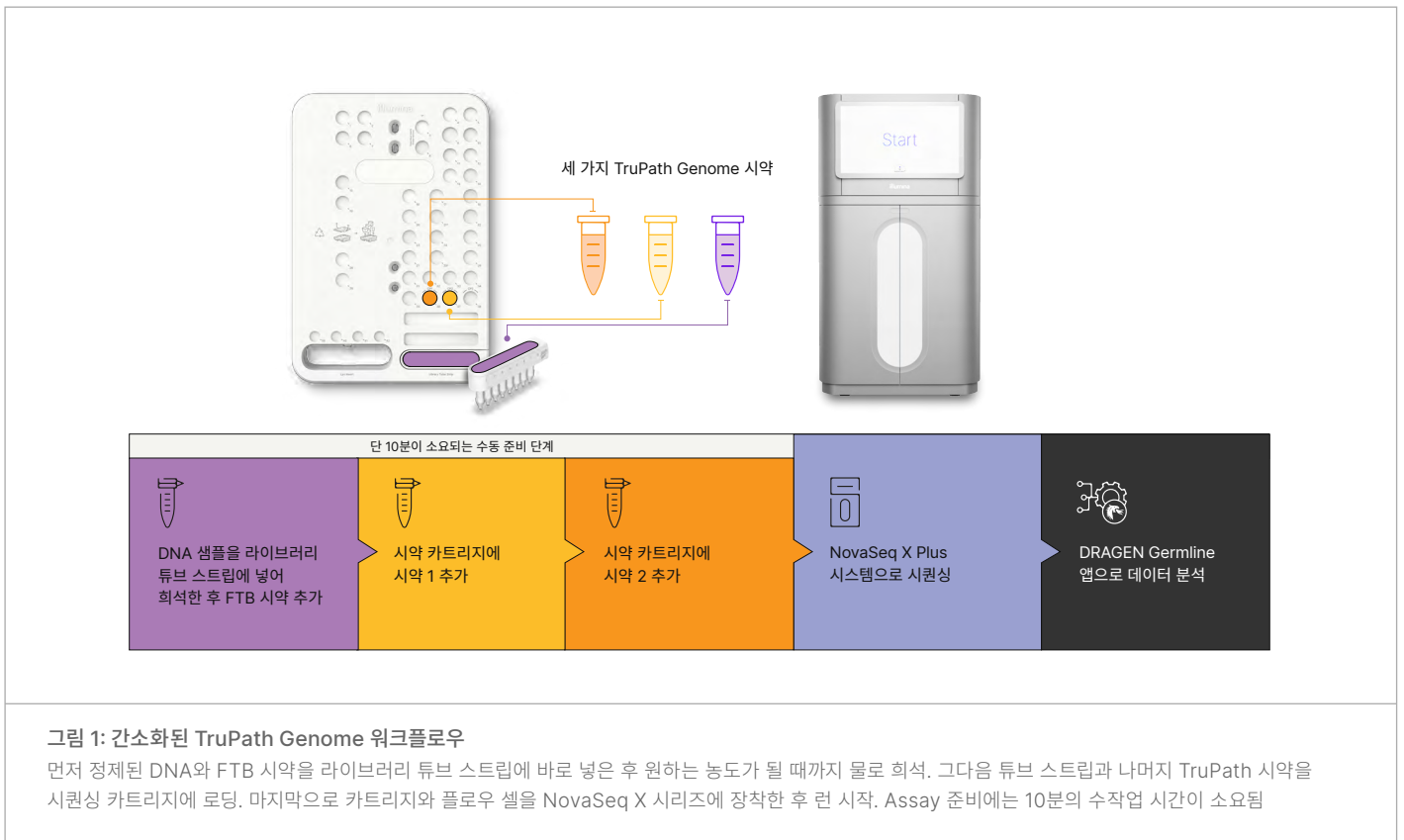
## 소개

쇼트 리드 시퀀싱(Short-read sequencing)은 높은 정확도의 전장 유전체 시퀀싱(whole-genome sequencing, WGS)을 수행할 수 있는 유연하고 신뢰할 수 있는 방법을 제공합니다. 그럼에도 인간 유전체에서 일부 영역(예: 시퀀스 상동성(sequence homology)이 높거나 반복 시퀀스(repetitive sequence)가 있는 영역)과 구조적 변이(structural variant, SV)와 같은 일부 변이 타입(예: 역위(inversion), 전위(translocation), 삽입/결실(insertion/deletion, Indel), 복합 재배열(complex rearrangement))은 여전히 매핑하는 데에 어려움이 있습니다. 롱 리드 시퀀싱(Long-read sequencing) 방법은 이러한 매핑이 어려운 유전체 영역과 변이 타입의 분석에 도움을 줄 수 있지만, 많은 양의 DNA를 사용해야 하고 엄격한 DNA 품질을 요구하며 워크플로우가 다소 복잡하고 일관성 없는 결과를 초래할 수 있다는 단점이 있습니다.<sup>1-4</sup>

Illumina의 TruPath Genome은 차세대 시퀀싱(next-generation sequencing, NGS) 워크플로우를 혁신적으로 개선하여, 새로운 차원의 간편성을 갖춘 종합적인 전장 유전체 시퀀싱을 제공합니다.<sup>5</sup> Proximity mapped read technology(근접성 정보로 리드를 매핑하는 기술)를 활용하는 TruPath Genome은 기존의 번거로운 라이브러리 준비 단계를 없애고 정제된 DNA 샘플 준비부터 시퀀싱 시스템 로딩까지 약 10분 안에 완료되는 매우 간소화된 워크플로우를 적용합니다(그림 1).

TruPath Genome은 WGS 워크플로우의 패러다임을 바꾸는 것 외에도 높은 정확도의 쇼트 리드 데이터를 플로우 셀의 DNA 템플릿에서 획득한 나노웰(nanowell) 근접성 정보와 결합하는 진보된 인포매틱스(informatics, 정보학) 소프트웨어를 활용합니다. 랩에서는 이 근접성 정보를 이용하여 최대 수백만 개의 염기(base)로 분리된 시퀀스에 대한 원거리 유전체 정보를 얻을 수 있습니다. TruPath Genome은 이렇게 얻은 원거리 유전체 정보와 쇼트 리드 시퀀싱의 장점을 결합하여 보다 완전한 유전체를 제공합니다.

이 Technical Note는 이전에는 매핑이 어려웠던 유전체 영역의 분석을 지원하고 다양한 샘플 종류, DNA 품질 및 DNA 사용량 조건에서 포괄적인 변이 검출을 수행하는 TruPath Genome의 매우 우수한 성능을 기술합니다.



## 샘플 종류별 테스트

### 방법

#### 샘플 준비

TruPath Genome의 성능을 확인하기 위해 혈액, 분리된 세포, 타액, 구강 도말, 건조 혈액 반점(dried blood spot, DBS)을 포함한 다양한 종류의 샘플을 사용해 테스트를 진행했습니다(표 1). DNA의 추출에는 여러 정제 방법(예: 실리카 스피ن 컬럼(silica spin-column), 마그네틱 비드(magnetic bead), 알코올 침전법(alcohol precipitation))을 사용하였으며, 고분자량(high molecular weight, HMW) 추출 방법과 일반적인 추출 방법을 포함했습니다(표 2).

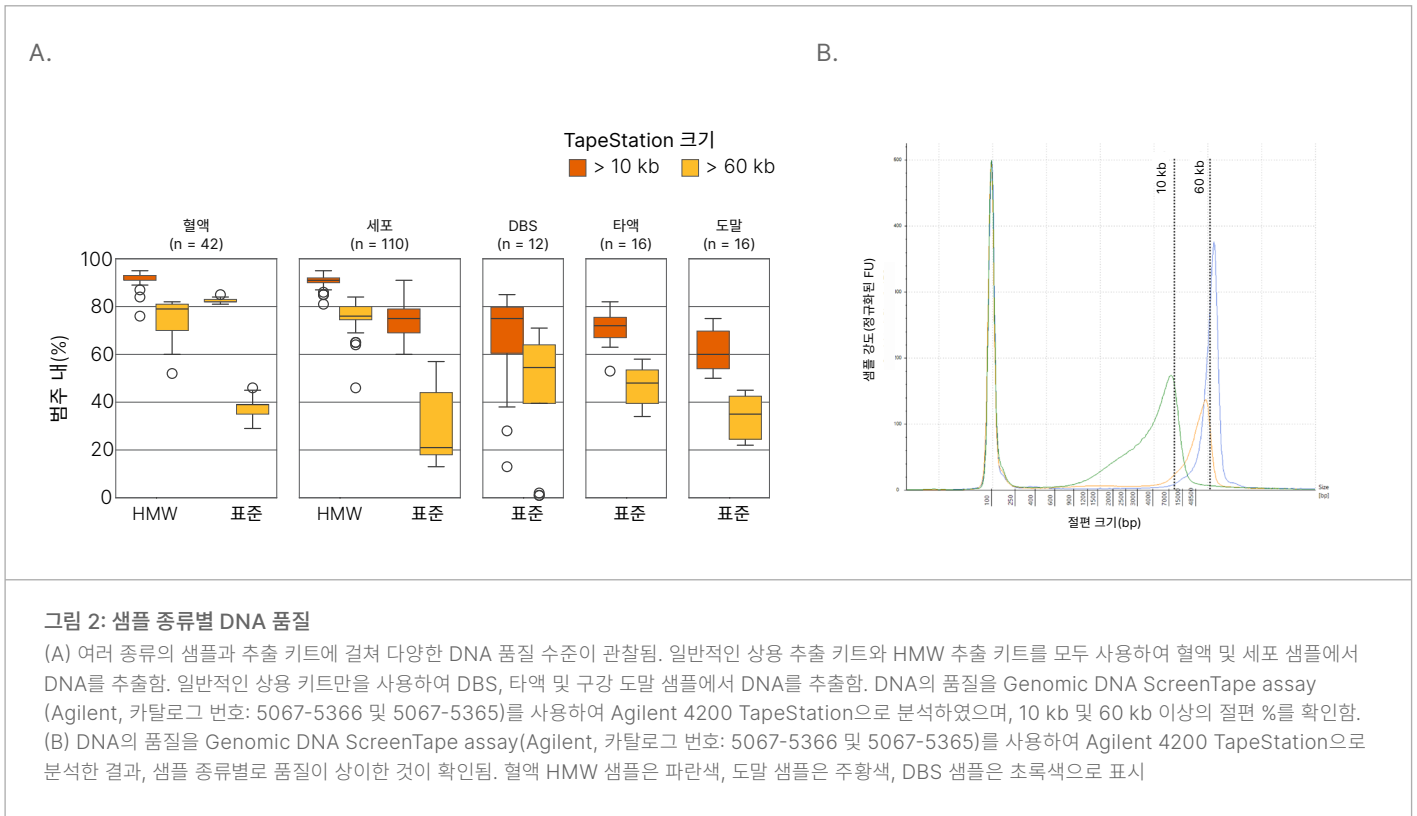
DNA의 양은 Qubit dsDNA High Sensitivity Assay를 사용하여 Qubit 4 Fluorometer(Thermo Fisher Scientific, 카탈로그 번호: Q32851)로 측정했습니다. DNA의 품질은 4200 TapeStation System(Agilent, 카탈로그 번호: G2991BA)으로 확인했습니다(그림 2).

표 1: TruPath Genome assay에 사용한 샘플

샘플 종류	소스
전혈	K <sub>2</sub> EDTA에 보관되어 있는 건강한 공여자의 혈액 샘플을 Research Donors(영국 런던)로부터 구매
세포 펠릿(pellet)	Coriell Institute for Medical Research에 주문한 림프모구양 세포주 (lymphoblastoid cell line, LCL) 또는 섬유아세포(fibroblast) 세포주의 다양한 배양물  Genome in a Bottle(GIAB) Consortium의 HG001, HG002, HG003, HG004, HG005 및 HG006, HG007(Coriell Institute for Medical Research, 미국 뉴저지) 레퍼런스 샘플을 포함한 HMW 샘플과 표준 DNA 샘플
타액	건강한 공여자의 타액 샘플을 Research Donors(영국 런던)로부터 구매
구강 도말 (Buccal swab)	건강한 공여자의 구강 도말 샘플을 Research Donors(영국 런던)로부터 구매
DBS	Research Donors(영국 런던)로부터 K <sub>2</sub> EDTA에 보관한 지 3일 미만인 전혈 50 µl를 사용하여 Whatman 903 Protein Saver Cards로 준비

표 2: TruPath Genome assay에 사용한 DNA 추출 키트

샘플 종류: 수집 방법	추출 키트
혈액: K <sub>2</sub> EDTA	Monarch HMW DNA Extraction Kit for Cells & Blood(NEB, 카탈로그 번호: T3050S)
	Wizard HMW DNA Extraction Kit(Promega, 카탈로그 번호: A2920)
	MagAttract HMW DNA Kit(48)(Qiagen, 카탈로그 번호: 67563)
	chemagic Prepito DNA Universal Kit(Revvity, 카탈로그 번호: CMG-2034)
	Mag-Bind Blood & Tissue DNA HDQ 96 Kit (OmegaBiotek, 카탈로그 번호: M6399)
세포: 건조 펠릿	Monarch HMW DNA Extraction Kit for Cells & Blood(NEB, 카탈로그 번호: T3050S)
	QIAamp DNA Blood Mini Kit(50)(Qiagen, 카탈로그 번호: 51104)
DBS: Whatman 903	chemagic Prepito DNA Universal Kit(Revvity, 카탈로그 번호: CMG-2034)
	sparQ Lysis Kit(Quantabio, 카탈로그 번호: 95220)
	MagMAX DNA Multi-Sample Ultra 2.0 Kit (Thermo Fisher Scientific, 카탈로그 번호: A36570)
타액: GFX-02	GeneFix Saliva-Prep 2 DNA Isolation Kit (Isohelix, 카탈로그 번호: GSPN)
	chemagic Prepito DNA Universal Kit(Revvity, 카탈로그 번호: CMG-2034)
타액: OGD-600	preplT•L2P DNA extraction reagent (DNA Genotek, 카탈로그 번호: PT-L2P)
	chemagic Prepito DNA Universal Kit(Revvity, 카탈로그 번호: CMG-2034)
	MagMAX Saliva gDNA Isolation Kit(Thermo Fisher Scientific, 카탈로그 번호: A39059)
도말: OCR-100	preplT•L2P DNA extraction reagent (DNA Genotek, 카탈로그 번호: PT-L2P)
	chemagic Prepito DNA Universal Kit(Revvity, 카탈로그 번호: CMG-2034)
Whatman 903 = Protein saver cards(Millipore Sigma, 카탈로그 번호: WHA10534612), GFX-02 = GeneFix Saliva DNA/RNA Collector GFX-02 (Isohelix, 카탈로그 번호: GFX-02), OGD-600 = Oragene•Dx saliva collection device(DNA Genotek, 카탈로그 번호: OGD-600), OCR-100 = ORAcollect•DNA(DNA Genotek, 카탈로그 번호: OCR-100)	



## 런 설정 및 시퀀싱

제조사 지침에 따라 DNA를 TruPath Genome 시약 (Illumina, 카탈로그 번호: 20157406)과 함께 라이브러리 튜브 스트립에 넣었습니다. 일반적인 DNA 사용량은 350 ng이지만, DBS 샘플의 경우 추출한 DNA 전량을 사용했습니다. 최소 DNA 사용량은 175 ng이었습니다. 사용자 매뉴얼에 따라 라이브러리 튜브 스트립, TruPath Genome 시약, NovaSeq™ X C8 플로우 셀을 NovaSeq X Plus 시스템(Illumina, 카탈로그 번호: 20084804)에 로딩한 후 시퀀싱을 수행했습니다.

## 분석

시퀀싱 완료 후 DRAGEN™ Germline 파이프라인을 실행해 쇼트 리드 시퀀싱 데이터를 나노웰 근접성 정보와 결합했습니다. 페이징된 리드(Phased read)의 변이 검출에는 GRCh38 참조 유전체(reference genome)를 사용했습니다.

## 결과

### 다양한 품질의 샘플 사용 시 고품질의 결과를 제공하는 TruPath Genome

TruPath Genome으로 생성된 상염색체 커버리지(autosomal coverage), 베이스 콜 정확도(base call accuracy)와 같은 일반적인 WGS 메트릭스는 DNA 품질의 영향을 받지 않았으며, 모든 종류의 샘플에 걸쳐 우수한 성능이 관찰되었습니다(그림 3). 평균 상염색체 커버리지는 약 64x였고, 평균 Q30은 92%였습니다. 일부 타액 및 도말 샘플의 경우, 샘플 내 자연적으로 존재하는 세균의 리드로 인해 인간 유전체가 매핑된 리드의 %가 줄었으며, 이는 곧 커버리지의 감소로 이어졌습니다.

DNA 샘플의 품질은 TruPath Genome 근접성 메트릭스와 강한 연관성을 보였습니다(그림 4). 대부분의 샘플 종류에서 10 kb 이상 DNA 절편의 백분율은 근접성 비율(proximity rate) 성능의 강력한 예측 변수였으며, 10 kb 이상 절편의 백분율이 높을수록 Q25 근접성 비율(즉, Q-Score(quality score, 품질 점수)가 Q25보다 높고 인접해 있는 다른 리드가 최소 1개 이상인 리드의 백분율\*)이 높았습니다.

\* 근접성 Q-Score는 동일한 유전체 영역에서 유래한 리드 2개가 우연히 동일한 플로우 셀 구역에 떨어졌을 가능성을 DRAGEN 근접성 모델로 계산하여 Phred 스케일로 표시한 것을 나타냄. 근접성 Q-Score가 높을수록 유전체와 플로우 셀에서 인접해 있는 리드 2개가 동일한 DNA 분자로부터 유래했다는 예측의 신뢰도가 높음을 의미함

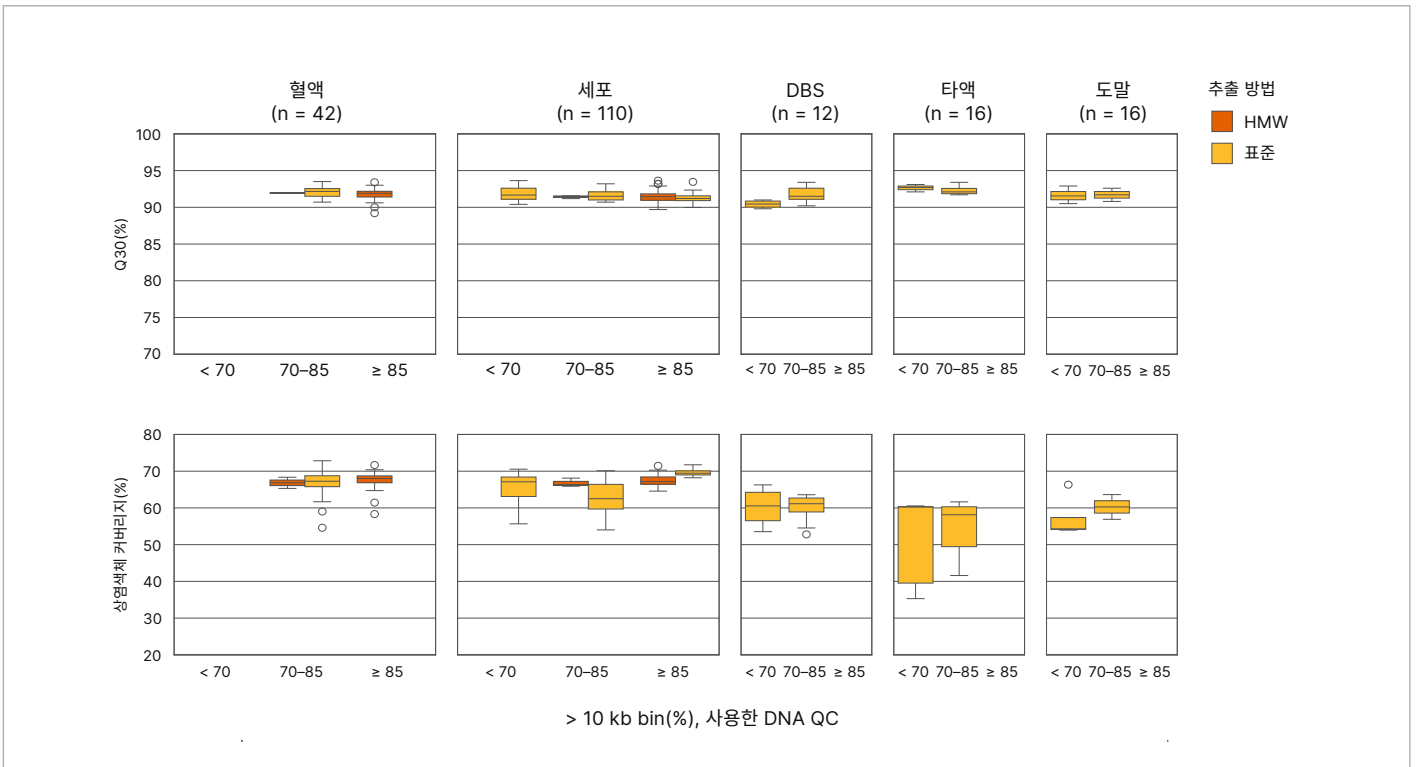


그림 3: 여러 샘플 종류에 걸쳐 확인된 DNA 품질의 영향을 받지 않은 상염색체 커버리지 및 평균 Q30의 %

HMW 추출 방법과 일반적인 추출 방법을 사용해 혈액 및 세포 샘플에서 DNA를 추출함. 일반적인 추출 방법을 사용해 DBS, 타액 및 구강 도말 샘플에서 DNA를 추출함. DNA 정제 방법과 관계없이 모든 샘플에 걸쳐 우수한 커버리지 및 Q-Score가 관찰됨. DNA 온전성은 Agilent 4200 TapeStation으로 측정하였으며, X축에 10 kb 이상 절편의 %가 비닝(binning)된 영역 분석을 실행함

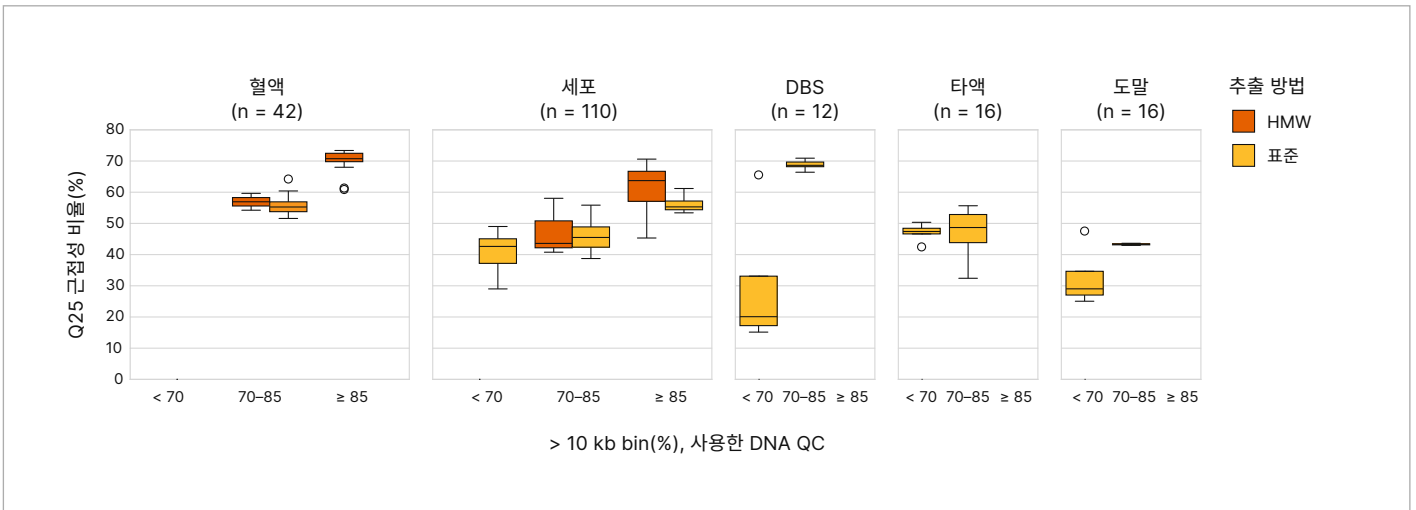


그림 4: Q25 근접성 비율에 대한 DNA 품질의 영향

HMW 추출 방법과 일반적인 추출 방법을 사용해 혈액 및 세포 샘플에서 DNA를 추출함. 일반적인 추출 방법을 사용해 DBS, 타액 및 구강 도말 샘플에서 DNA를 추출함. Q25 근접성 비율은 DNA 품질, 특히 Agilent 4200 TapeStation을 통해 측정된 10 kb 이상의 DNA 절편 %(X축에 비닝)와 높은 연관성을 보임

### 유전체 페이징을 지원하는 TruPath Genome

보다 큰 DNA 절편의 존재는 페이징(phasing) 성능의 강력한 예측 변수로, 60 kb 이상 DNA 절편의 백분율이 높을수록 페이징 블록 NG50†의 크기가 커지며 작은 변이 검출 성능은 향상됩니다. TruPath Genome은 전장 DNA 템플릿의 연구에 활용할 수 있어, 인간 유전체 페이징(phased sequencing) 연구에도 매우 적합합니다(그림 5).

확인 결과, 혈액 샘플과 DBS 샘플 모두 페이징 블록 NG50의 크기는 60 kb 이상 DNA 절편의 백분율에 따라 변했습니다(그림 6). 두 매트릭스 모두 신선한 샘플에 비해 오래 보관된 샘플에서 더 낮은 것으로 나타났습니다. 혈액 샘플의 경우, HMW DNA 추출 방법을 사용했을 때는 1주가 지난 후 DNA를 분리한 샘플로도 60 kb 이상 절편을 40% 넘게 확보할 수 있었습니다.

### 고품질의 신선한 샘플에서 최상의 성능을 보이는 TruPath Genome

샘플의 보관 기간이 TruPath Genome의 성능에 어떠한 영향을 주는지 확인하기 위해 두 시점에 걸쳐 혈액 샘플과 DBS 샘플에서 DNA를 추출했습니다. 혈액 샘플의 경우, DNA는 혈액 채취 후 3일 안에 한 번, 그리고 4°C에서 7일간 보관한 후 한 번 추출했습니다. DBS 샘플은 실온에서 1개월간 또는 1년간 보관했습니다.

### 다양한 DNA 사용량에 걸쳐 우수한 성능을 보이는 TruPath Genome

TruPath Genome assay의 성능을 확인하기 위해 다양한 DNA 사용량(175, 200, 350, 550 ng) 조건하에 테스트를 진행했습니다. 175 ng의 DNA를 사용해 시퀀싱한 결과, 고품질의 표준 전장 유전체 매트릭스(예: 상염색체 커버리지, % > Q30) 및 근접성 매트릭스(예: Q25 근접성 비율, 페이징 블록 NG50)를 관찰할 수 있었습니다. 350 ng의 DNA 사용이 권장되나, 이보다 적은 양으로도 시퀀싱이 가능합니다(그림 7).

† Phase block NG50: 타겟 영역(유전체 또는 기타)의 50%가 페이징된 이후 페이징 블록의 길이

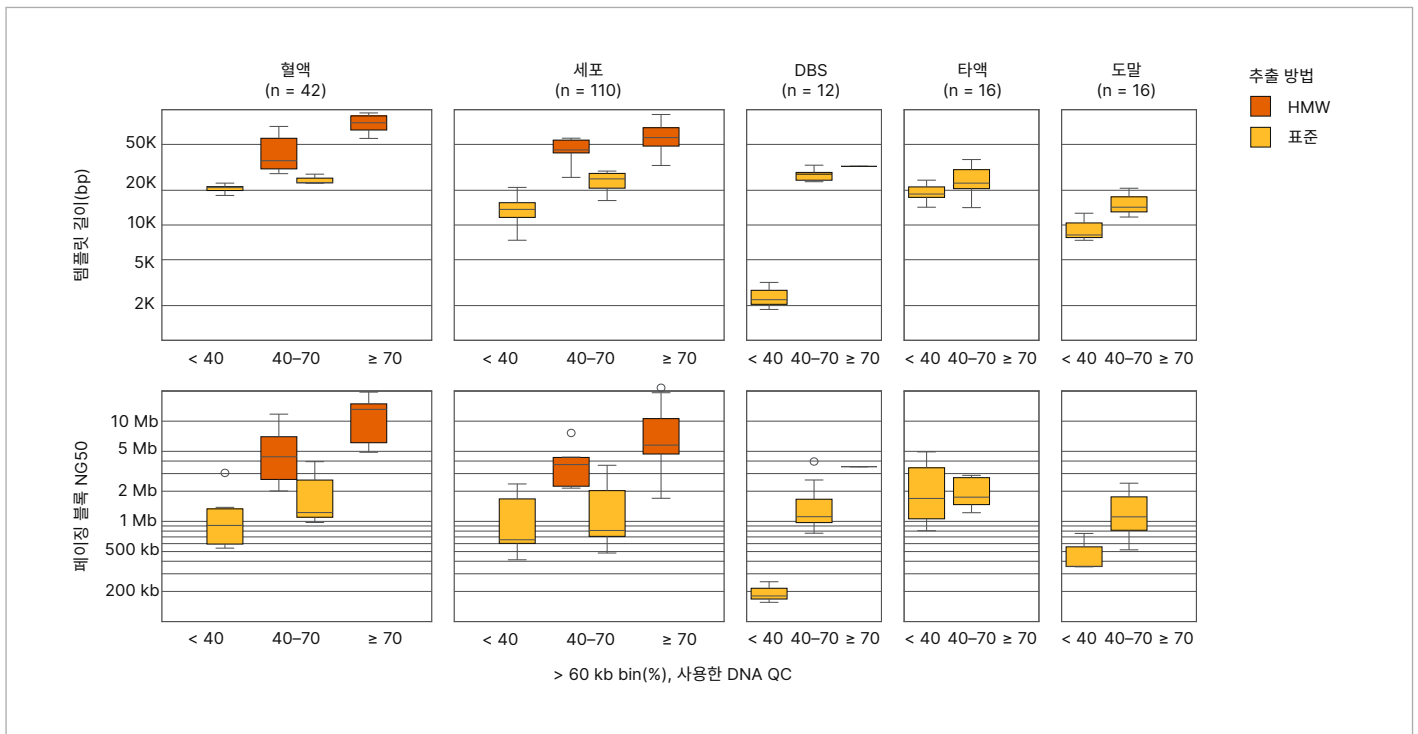


그림 5: 다양한 샘플 종류에 걸쳐 매우 강력한 페이징 성능을 보이는 TruPath Genome

HMW 추출 방법과 일반적인 추출 방법을 사용해 혈액 및 세포 샘플에서 DNA를 추출함. 일반적인 추출 방법을 사용해 DBS, 타액 및 구강 도말 샘플에서 DNA를 추출함. DNA 온전성은 Agilent 4200 TapeStation으로 측정하였으며, X축에 60 kb 이상 절편의 %가 비닝된 영역 분석을 실행함. Y축에 표시된 템플릿 길이(template length)는 75번째 백분위수 템플릿 분자 크기(75th percentile template molecule size)를 나타냄. 향상된 DNA 품질은 비교적 높은 60 kb 이상 절편의 %와 함께 증가된 템플릿 길이 및 페이징 블록 NG50과 상관관계를 보였음

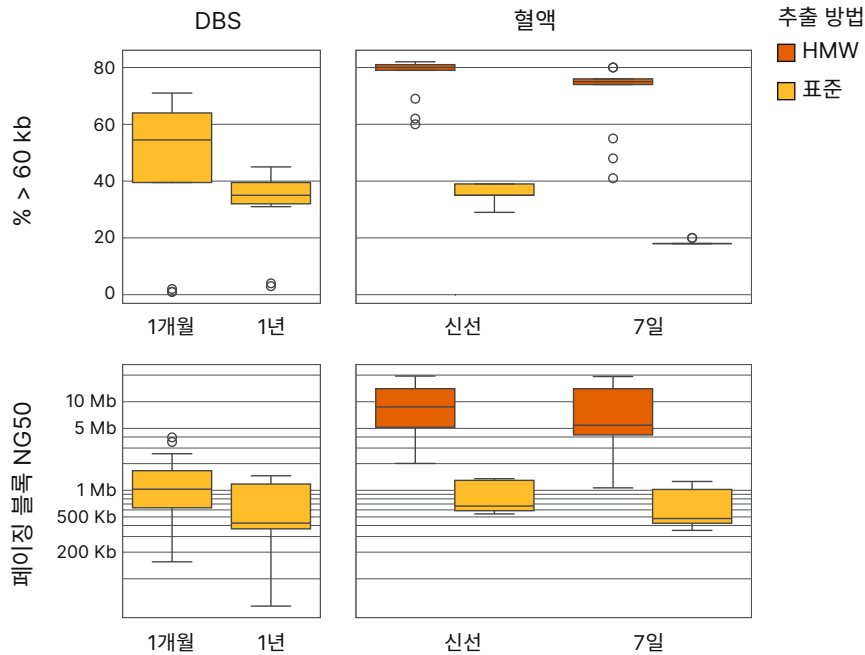


그림 6: DNA 품질 및 페이징 블록 NG50에 대한 혈액 샘플 보관 기간의 영향

혈액 샘플은 4°C에서 3일 미만(신선) 또는 7일간 보관함. DBS 샘플은 실온에서 30일 미만 또는 약 1년간 보관함. HMW 추출 방법과 일반적인 추출 방법을 사용해 혈액 샘플에서 DNA를 추출함. 일반적인 추출 방법을 사용하여 DBS 샘플에서 DNA를 추출함. 기본적인 샘플 보관 기간이 DNA 품질(% > 60 kb) 및 페이징 블록 NG50에 미치는 영향을 확인함. % 60 kb는 ScreenTape assay에 유전체 DNA(genomic DNA, gDNA)를 사용하여 Agilent 4200 TapeStation으로 측정함. 두 샘플 종류 모두 DNA 추출 전 샘플 보관 기간이 길수록 60 kb 이상 절편의 %가 더 낮았고 페이징 블록 NG50 크기도 더 작았음

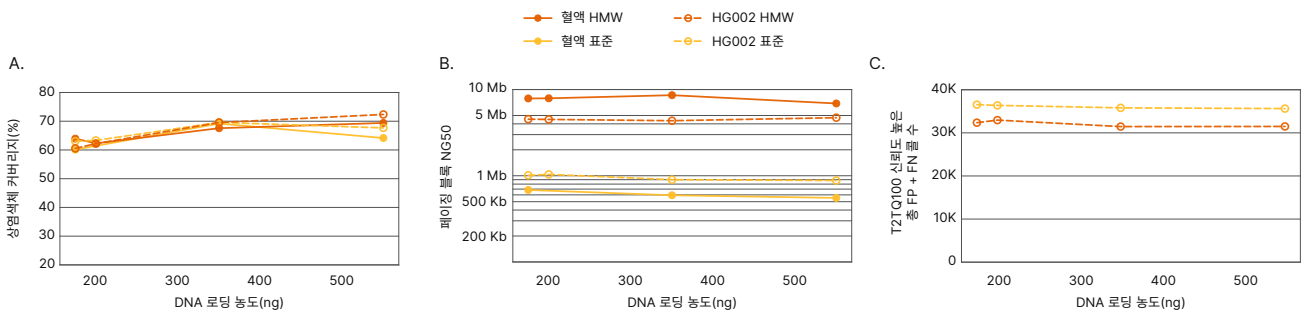


그림 7: 다양한 사용량에 걸쳐 우수한 성능을 보이는 TruPath Genome

175, 200, 350, 550 ng을 사용하여 준비한 TruPath Genome의 시퀀싱 결과는 일반적인 전장 유전체 매트릭스 및 TruPath Genome 근접성 매트릭스와 비슷한 수준의 데이터 품질을 보임(예: (A) 상염색체 커버리지, (B) 페이징 블록 NG50, (C) 작은 변이 검출 성능(총 FP+FN 콜 수)). HMW 추출 방법과 일반적인 추출 방법을 사용해 혈액 및 세포 샘플에서 DNA를 추출함. 작은 변이(SNP + Indel) 검출 성능은 T2T-Q100 V1.1 V0.019 진리 집합을 비교하여 벤치마킹함

## 요약

TruPath Genome은 Proximity mapped read technology를 활용하여 새로운 차원의 간편성을 갖춘 종합적인 전장 유전체 시퀀싱을 제공합니다. 이 특별한 워크플로우는 쇼트 리드 시퀀싱 방법의 장점과 플로우 셀의 근접성 정보를 결합하여 연구자가 원거리 통찰력을 얻을 수 있도록 해 줍니다. 이 Technical Note를 통해 TruPath Genome이 다양한 샘플 종류, 사용량, 품질 및 보관 조건하에 고품질의 우수한 성능을 제공하는 것이 확인되었습니다.

## 참고 문헌

1. Pacific Biosciences. Preparing DNA for PacBio HiFi sequencing—Extraction and quality control. [pacb.com/wp-content/uploads/Technical-Note-Preparing-DNA-forPacBio-HiFi-Sequencing-Extraction-and-Quality-Control.pdf](https://pacb.com/wp-content/uploads/Technical-Note-Preparing-DNA-forPacBio-HiFi-Sequencing-Extraction-and-Quality-Control.pdf). Published 2022. Accessed December 8, 2025.
2. Pacific Biosciences. Preparing whole genome and metagenome libraries using SMRTbell prep kit 3.0. [pacb.com/wp-content/uploads/Procedure-checklist-Preparing-whole-genomeand-metagenome-libraries-using-SMRTbell-prep-kit-3.0.pdf](https://pacb.com/wp-content/uploads/Procedure-checklist-Preparing-whole-genomeand-metagenome-libraries-using-SMRTbell-prep-kit-3.0.pdf). Published 2022. Accessed December 8, 2025.
3. Oxford Nanopore Technologies. Ligation Sequencing Kit. [store.nanoporetech.com/us/ligation-sequencing-kit-v14.html](https://store.nanoporetech.com/us/ligation-sequencing-kit-v14.html). Accessed December 8, 2025.
4. Pacific Biosciences. Low Yield Troubleshooting Guide. [pacb.com/wp-content/uploads/Guide-Low-Yield-Troubleshooting.pdf](https://pacb.com/wp-content/uploads/Guide-Low-Yield-Troubleshooting.pdf). Published 2018. Accessed December 8, 2025.
5. Illumina TruPath Genome data sheet. [illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/trupath-genome-data-sheet-m-gl-03931/trupath-genome-data-sheet-m-gl-03931.pdf](https://illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/trupath-genome-data-sheet-m-gl-03931/trupath-genome-data-sheet-m-gl-03931.pdf). Published February 2026. Accessed February 24, 2026.



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

© 2026 Illumina, Inc. All rights reserved.  
모든 상표는 Illumina, Inc. 또는 각 소유주의 자산입니다.  
특정 상표 정보는 [www.illumina.com/company/legal.html](https://www.illumina.com/company/legal.html)을 참조하십시오.  
M-KR-00345 v2.0 KOR