

Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment

Risultati sull'esoma
coerenti e mirati da
un singolo partner

- Economica copertura dell'esoma utilizzando un pannello mirato, completo e aggiornato
- Kit di preparazione delle librerie di facile automazione e utilizzo con sufficienti volumi dei componenti
- Soluzione e supporto completi e di elevata qualità

illumina[®]

Sequenziamento completo dell'esoma con un singolo partner affidabile

ILLUMINA DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment fornisce risultati economici del sequenziamento dell'intero esoma (WES, Whole-Exome Sequencing) umano con prestazioni e qualità dei dati straordinarie. La semplice preparazione delle librerie e la soluzione di arricchimento fanno parte di un flusso di lavoro completo che parte dai campioni e arriva alla generazione di report (Figura 1). Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment inizia a partire da DNA genomico (gDNA, genomic DNA) (o da input diretto di sangue o saliva*) estratto e unisce una rapida chimica preparazione delle librerie mediante tagmentazione su microsferi seguita da arricchimento dell'esoma con cattura per ibridazione (Figura 2).¹ La chimica di Illumina DNA Prep with Enrichment supporta la normalizzazione integrata di DNA input di alta qualità (≥ 50 ng) che consente di generare un semplice raggruppamento in pool basato sul volume per l'ibridazione e fornisce output di sequenziamento uniformi da ogni libreria di esomi arricchita. Il flusso di lavoro WES comprende il sequenziamento a elevate prestazioni eseguito sugli strumenti Illumina e la premiata analisi dei dati mediante piattaforma DRAGEN™ Bio-IT.² Per le patologie genetiche, la piattaforma Illumina Connected Insights - Germline applica l'intelligenza artificiale spiegabile (XAI, Explainable Artificial Intelligence) e l'automazione per ottimizzare l'interpretazione e la creazione di report da pannelli per esomi.

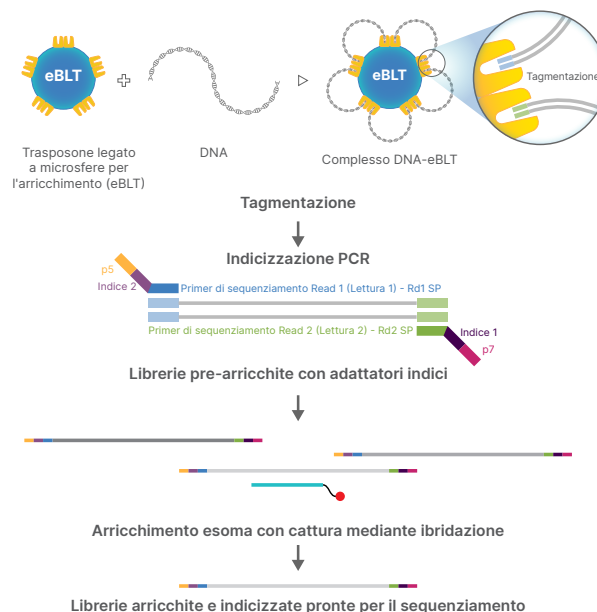


Figura 2: Preparazione delle librerie ottimizzate mediante tagmentazione con arricchimento degli esomi: i trasposoni legati a microsferi per l'arricchimento (eBLT, Enrichment Bead-Linked Transposome) consentono di mediare una reazione di tagmentazione uniforme con elevata tolleranza alle diverse quantità di input di campioni di DNA.¹ Dopo l'arricchimento con cattura mediante ibridazione, le librerie di esomi sono pronte per il sequenziamento.



Figura 1: Dai campioni al report da un singolo partner: Illumina supporta un flusso di lavoro completo per i progetti di sequenziamento dell'esoma. A partire dal gDNA estratto (o DNA da sangue o saliva con protocolli di estrazione diretta) le librerie vengono preparate con Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment. Il sequenziamento, in base alle esigenze di scala e processività, viene eseguito sul sistema NovaSeq™ 6000, NextSeq™ 2000, NextSeq 1000 o NextSeq 550. Al termine del sequenziamento l'app DRAGEN Enrichment esegue l'analisi secondaria e l'identificazione di varianti in modo rapido e accurato. Per le patologie genetiche, Illumina Connected Insights - Germline consente di interpretare e creare report in modo intuitivo.

* I protocolli basati su campioni prelevati direttamente da sangue e saliva richiedono Flex Lysis Reagent Kit. I dati mostrati sono generati da gDNA estratto, non da sangue o saliva. Le prestazioni di sangue e saliva possono variare in base alla qualità del campione.

Copertura completa ed economica di varianti associate alla patologia riportate nei database pubblici

ILLUMINA DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment utilizza un pannello di arricchimento per gli esomi mirato, completo e aggiornato. Twist Bioscience® per Illumina Exome 2.0 Plus Panel, incluso nel kit, è più piccolo di Illumina Exome Panel ed ha migliorato la copertura delle regioni target per le varianti riportate nei database pubblici (Tabella 1 e Tabella 2). Questa copertura mirata consente un soluzione WES economica con un numero ottimale di campioni per corsa di sequenziamento (Tabella 3).

Twist Bioscience per Illumina Exome 2.0 Plus Panel copre sequenze codificanti selezionate (CDS, Curated Coding Sequence) da RefSeq, sequenza consenso codificante (CCDS, Consensus Coding Sequence), American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG), Cancer Gene Census da Catalog of Somatic Mutations in Cancer (COSMIC) e Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) (Tabella 1) con copertura straordinaria di varianti patogene o probabilmente patogene riportate nei database ClinVar e ACMG (Tabella 2).³⁻⁹

Tabella 1: Copertura delle regioni target migliorata ed economica con Twist Bioscience per Illumina Exome 2.0 Plus Panel

Pannello esoma	Twist Bioscience per Illumina Exome 2.0 Plus Panel	Illumina Exome Panel
Dimensione	37,5 Mb	42,21 Mb
CDS RefSeq ³	99,1%	98,2%
CDS CCDS ⁴	99,9%	99,5%
CDS geni ACMG 73 ⁵	99,9%	99,3%
CDS COSMIC Cancer Gene Census ^{6,7}	99,9%	99,3%
OMIM ⁸	99,1%	97,7%

Tabella 2: Ricerca clinica: contenuto mirato di Twist Bioscience per Illumina Exome 2.0 Plus Panel

Varianti patogene/probabilmente patogene CDS ClinVar ^{a,9}	98,6%
Varianti patogene/probabilmente patogene CDS ACMG 73 ^{b,5}	99,9%

a. L'archivio pubblico ClinVar riporta le relazioni tra le variazioni umane e i fenotipi con prove di supporto. Le varianti patogene/probabilmente patogene sono riportate in base alle linee guida della classificazione ClinVar.

b. Le varianti patogene/probabilmente patogene ACMG rappresentano le varianti sovrapposte tra le sequenze codificanti selezionate dei geni ACMG e le varianti patogene/probabilmente patogene ClinVar.

Tabella 3: Stima del numero di librerie arricchite con Exome 2.0 Plus per cella a flusso e sistema di sequenziamento^a

Profondità di copertura target media desiderata	Sistema NextSeq 550 ^b		Sistema NextSeq 2000		Sistema NovaSeq 6000			
	Output medio	Output elevato	P2 ^c	P3	SP	S1	S2	S4
50×	6	19	19	57	34	69	176	428 ^d
100×	3	9	9	28	17	34	88	214
200×	1	4	4	14	8	17	45	109

a. Le stime si basano su una lunghezza di lettura di 2 × 101 bp, calcolate su tipici esperimenti interni. Il numero di campioni potrebbe variare in base alla gestione del flusso di lavoro, alla qualità del campione o della libreria input e agli effettivi output di sequenziamento di ciascuna piattaforma e cella a flusso. I dati raccolti sono stati acquisiti sul sistema NovaSeq 6000 utilizzando celle a flusso S4 ed estrapolati da altri strumenti e celle a flusso.

b. I kit di reagenti NextSeq 550 supportano lunghezze di letture di 2 × 150 bp.

c. Le celle a flusso P2 con la stessa processività di campioni sono disponibili anche per il sistema NextSeq 1000.

d. Per raggruppare in pool questo elevato numero di librerie arricchite sono richiesti ulteriori indici.

I dati di sequenziamento generati con Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment mostrano una coerenza di copertura eccellente con una percentuale elevata di target coperti a una profondità di sequenza di 20x o superiore utilizzando 5 Gb di output e due diverse durate di ibridazione per l'arricchimento (Figura 3).

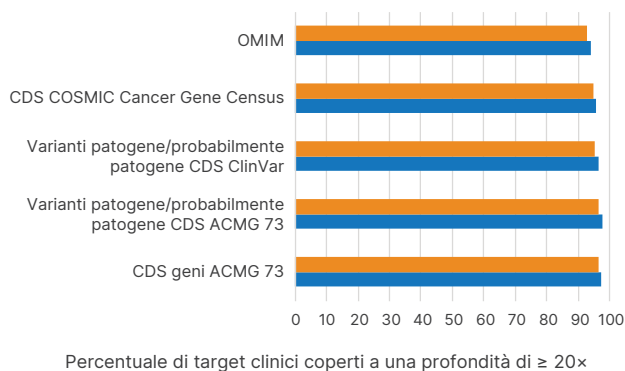


Figura 3: Copertura completa ed estesa di varianti associate alla patologia riportate nei database pubblici: Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment, con l'ibridazione che può durare 1,5 ore (arancione) o 16 ore (blu), mostra un'elevata percentuale di copertura a $\geq 20\times$ di target dai database pubblici, inclusi ACMG, ClinVar, OMIM e COSMIC.⁵⁻⁹

Prestazioni di elevata qualità

Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment mostra eccellenti prestazioni del saggio di arricchimento. I dati sono stati raccolti con Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment Kit e Twist Bioscience per Illumina Exome 2.0 Plus Panel (incluso) con due ibridazioni da 1,5 ore o 16 ore. A scopo di confronto, il saggio è stato anche eseguito utilizzando Illumina Exome Panel originale, seguito dallo stesso protocollo fatta eccezione per l'ibridazione da 1,5 ore e per le temperature di lavaggio che sono state ridotte a 58 °C perché sono state utilizzate sonde più corte (indicate come "IEP 1,5 ore" nella Figura 4 e nella Figura 5).

Le metriche delle prestazioni ottenute dall'app DRAGEN Enrichment e dalla pipeline Picard¹⁰ rivelano percentuali ottimali di letture mappabili, letture sul target (in base alla percentuale di letture uniche allineate che hanno attraversato il filtro, alla percentuale di arricchimento di letture "padded" uniche e alla percentuale di arricchimento di basi "padded" uniche) e una straordinaria copertura target media per Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment con le sonde Twist Bioscience per Illumina Exome 2.0 Plus (Figura 4).

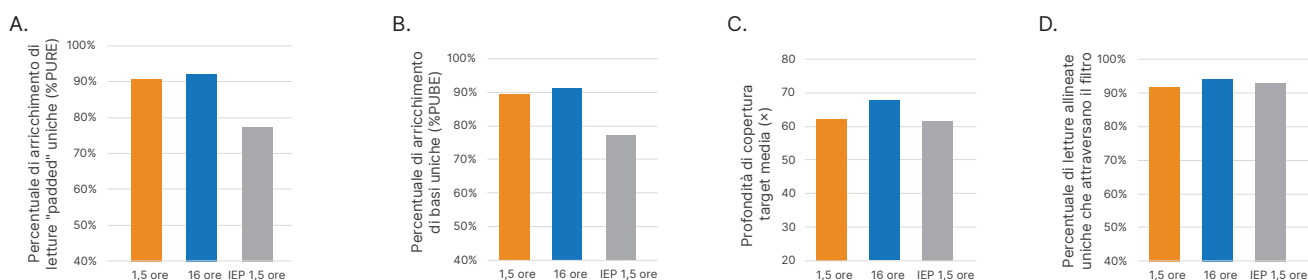


Figura 4: Straordinarie prestazioni del saggio di arricchimento con Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment: Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment utilizzando un'ibridazione da 1,5 ore (arancione) o da 16 ore (blu) mostra prestazioni efficaci rispetto a Illumina Exome Panel (IEP 1,5 ore, grigio). Metriche DRAGEN: (A) percentuale di arricchimento di letture "padded" uniche (% PURED, 150 bp dimensione "padded"); (B) percentuale di arricchimento di basi "padded" uniche (% PUBED, 150 bp dimensione "padded"); e (C) profondità di copertura target media. Metriche Picard: (D) percentuale di letture allineate uniche che attraversano il filtro. Le librerie arricchite sono state sequenziate sul sistema NovaSeq 6000, con una cella a flusso S4 e un output di 5 Gb (50 milioni di letture paired-end, 25 milioni di cluster) e lunghezze di lettura di 2×101 bp.

Profondità e uniformità di copertura

Un'ulteriore analisi dimostra l'eccellente uniformità di copertura di Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment rispetto a Illumina Exome Panel (Figura 5). Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment assicura una copertura uniforme con una elevata percentuale di basi a una profondità di lettura di 20x o superiore, assieme a un basso punteggio fold-80 delle basi e a una bassa percentuale di target senza copertura.

Le ibridazioni da 1,5 ore e 16 ore mostrano prestazioni coerenti e illustrano come i laboratori possono velocizzare i propri flussi di lavoro con ibridazioni da 1,5 ore o eseguire le ibridazioni durante la notte, se questo è più adatto al flusso di lavoro.

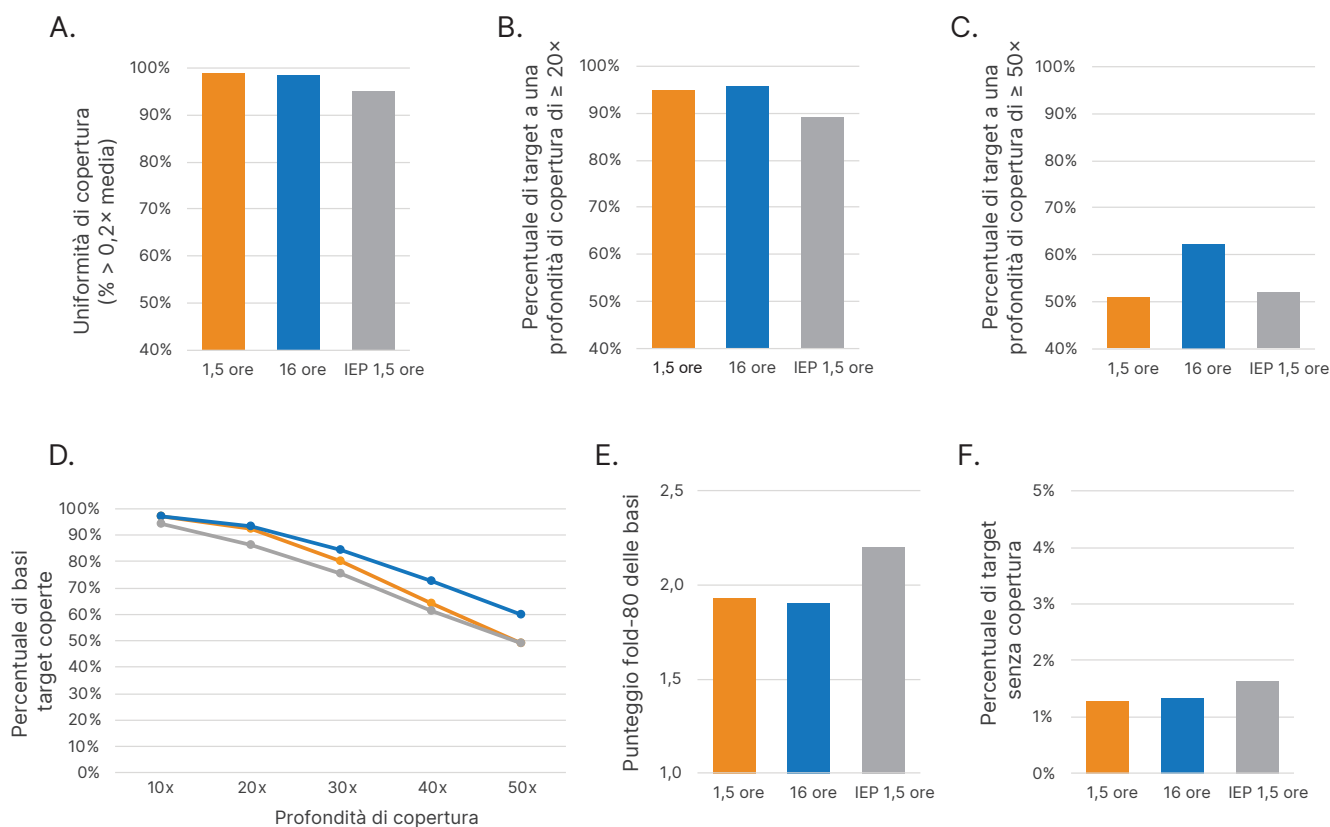


Figura 5: Straordinaria copertura e uniformità indipendentemente dalla durata dell'ibridazione: Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment utilizzando un'ibridazione da 1,5 ore (arancione) o 16 ore (blu) mostra una straordinaria uniformità di copertura rispetto a Illumina Exome Panel (IEP 1,5 ore, grigio) eseguiti in parallelo. Metriche DRAGEN: (A) uniformità di copertura (percentuale > 0,2x di copertura media); (B) percentuale di target coperti a $\geq 20x$; e (C) percentuale di target coperti a $\geq 50x$. Metriche Picard: (D) Punteggio fold-80 delle basi (il fold-change di ulteriore copertura necessaria per portare l'80% delle basi, in target con una copertura che non sia zero, al livello di copertura media di questi target); e (E) percentuale di target senza copertura. Le librerie arricchite sono state sequenziate sul sistema NovaSeq 6000, con una cella a flusso S4 e un output di 5 Gb (50 milioni di letture paired-end, 25 milioni di cluster) e lunghezze di lettura di 2×101 bp.

Riepilogo

ILLUMINA DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment offre una soluzione WES umano affidabile e ben progettata efficace ed efficiente. Twist Bioscience per ILLUMINA Exome 2.0 Plus Panel è incluso e offre un contenuto completo e aggiornato che copre le varianti associate alla patologia riportate nei database pubblici. Il pannello di arricchimento ottimizzato consente una processività elevata dei campioni e fornisce un sequenziamento economico dell'esoma. La straordinaria copertura uniforme semplifica l'analisi e l'interpretazione a valle. I laboratori possono ora trarre vantaggio da un flusso di lavoro di sequenziamento dell'esoma completo e di alta qualità, a partire dai campioni fino al report, da un singolo partner.

Maggiori informazioni

ILLUMINA DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment, illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/dna-prep-exome-enrichment.html.

Piattaforma DRAGEN Bio-IT, illumina.com/products/by-type/informatics-products/dragen-bio-it-platform.html.

ILLUMINA Connected Insights - Germline, developer.illumina.com/news-updates/illumina-connected-insights-germline-available-now.

Informazioni per gli ordini

Prodotto	N. di catalogo
ILLUMINA DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment, (S) Tagmentation Set B (96 samples, 12-plex) ^a	20077595
ILLUMINA DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment, (S) Tagmentation Set D (96 samples, 12-plex) ^a	20077596
Flex Lysis Reagent Kit (96 reactions) ^b	20018706
IDT for ILLUMINA DNA/RNA Unique Dual Indexes Set A, Tagmentation (96 indexes, 96 samples) ^c	20027213
IDT for ILLUMINA Nextera™ DNA Unique Dual Indexes Set C (96 indexes, 96 samples) ^c	20027215

- a. I kit includono i reagenti per la preparazione delle librerie e per l'ibridazione ILLUMINA DNA Prep with Enrichment, ILLUMINA Purification Beads per la pulizia/selezione della dimensione, sonde di arricchimento Twist Bioscience per ILLUMINA Exome 2.0 Plus Panel e un adattatore portacelle per indici.
- b. Kit richiesto per l'input diretto di sangue.
- c. Se si preferisce, scegliere un set di indici diverso.

Bibliografia

1. Illumina. Scheda tecnica Illumina DNA Prep with Enrichment. [illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/illumina-dna-prep-for-enrichment-770-2020-010/illumina-dna-prep-enrichment-data-sheet-770-2020-010.pdf](https://www.illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/illumina-dna-prep-for-enrichment-770-2020-010/illumina-dna-prep-enrichment-data-sheet-770-2020-010.pdf). Pubblicato nel 2020. Consultato a luglio 2022.
2. Mehio R, Ruehle M, Catreux S, et al. DRAGEN Wins at PrecisionFDA Truth Challenge V2 Showcase Accuracy Gains from Alt-aware Mapping and Graph Reference Genomes. [illumina.com/science/genomics-research/dragen-wins-precisionfda-challenge-showcase-accuracy-gains.html](https://www.illumina.com/science/genomics-research/dragen-wins-precisionfda-challenge-showcase-accuracy-gains.html). Pubblicato nel 2021. Consultato a luglio 2022.
3. NIH National Library of Medicine. RefSeq - NCBI Reference Sequence Database. Sito Web NCBI. [ncbi.nlm.nih.gov/refseq](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq). Consultato a marzo 2022.
4. CCDS - Consensus CDS (CCDS) Database. Sito Web NCBI. [ncbi.nlm.nih.gov/projects/CCDS/CcidsBrowse.cgi](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/CCDS/CcidsBrowse.cgi). Consultato a marzo 2022.
5. American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). ACMG Recommendations for Reporting of Incidental Findings in Clinical Exome and Genome Sequencing. Sito Web NCBI. [ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/docs/acmg](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/docs/acmg). Aggiornato a giugno 2021. Consultato a marzo 2022.
6. Catalog of Somatic Mutations in Cancer (COSMIC). Sito Web COSMIC. cancer.sanger.ac.uk/cosmic/download. Consultato a marzo 2022.
7. Cancer Gene Census. Sito Web COSMIC. cancer.sanger.ac.uk/census. Consultato a marzo 2022.
8. Catalog of Human Genes and Genetic Disorders. Sito Web OMIM. omim.org. Consultato a marzo 2022.
9. Database ClinVar. Sito Web NCBI. [ncbi.nlm.nih.gov/clinvar](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar). Consultato a marzo 2022.
10. Genome Analysis Toolkit (GATK). The Broad Institute. gatk.broadinstitute.org/hc/en-us/articles/360037428871-CollectHsMetrics-Picard-. Consultato a marzo 2022.

illumina®

Numero verde 1.800.809.4566 (U.S.A.) | Tel. +1.858.202.4566
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2022 Illumina, Inc. Tutti i diritti riservati. Tutti i marchi di fabbrica sono di proprietà di Illumina, Inc. o dei rispettivi proprietari. Per informazioni specifiche sui marchi di fabbrica, consultare la pagina Web www.illumina.com/company/legal.html.
M-GL-00002 ITA v1.0