HOJA DE DATOS

Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment

Resultados de exoma centrados y coherentes de un solo proveedor

- Cobertura de exoma económica con un panel de exoma centrado, exhaustivo y actualizado
- Kit de preparación de librerías fácil de usar con métodos de automatización cualificados
- Solución integral y asistencia de alta calidad
- Opciones de contenido flexibles con panel mitocondrial y complementos de panel personalizados

illumina®

Para uso exclusivo en investigación. Prohibido su uso en procedimientos de diagnóstico.

Secuenciación del exoma completo con un solo proveedor de confianza

Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment aporta resultados de secuenciación del exoma completo (WES, Whole-Exome Sequencing) humano de manera económica y con un rendimiento y una calidad de datos excelente. La solución de preparación y enriquecimiento de librerías fácil de usar forma parte de un flujo de trabajo integral que abarca desde la obtención de muestras hasta la creación de informes (Figura 1). Illumina Qualified Methods está disponible en diversas plataformas de automatización de nuestros socios. Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment comienza con ADN genómico (ADNg) extraído (o una muestra de sangre o saliva directa)* y combina la rápida química de preparación de librerías con tagmentación en bolas seguida de enriquecimiento del exoma con captura híbrida (Figura 2).[1] La química de Illumina DNA Prep with Enrichment permite la normalización integrada de ADN de entrada de alta calidad (≥50 ng), lo que permite una agrupación para la hibridación por volumen y proporciona un rendimiento de secuenciación uniforme de cada librería de exoma enriquecida. Las librerías se secuencian en NovaSeq™ 6000 System, NovaSeq X, NextSeq™ 1000 System, NextSeq 2000 System o NextSeq 550 System. El análisis secundario DRAGEN™ mundialmente reconocido realiza la llamada de variantes.[2] En el caso de las enfermedades genéticas, la plataforma Emedgene emplea inteligencia artificial explicable (XAI, Explainable Artificial Intelligence) y automatización para acelerar la interpretación y la creación de informes de paneles de exoma.

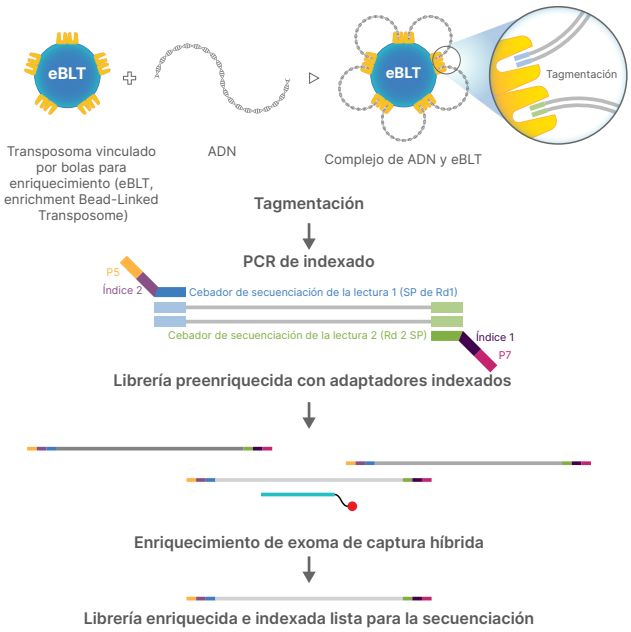

Figura 2: Preparación de librerías basada en tagmentación optimizada con enriquecimiento de exoma: los transposomas vinculados por bolas de enriquecimiento (eBLT, enrichment Bead-Linked Transposomes) mediante una reacción de tagmentación uniforme con una alta tolerancia a las diversas cantidades de entrada de muestra de ADN.[1] Después del enriquecimiento con captura híbrida, las librerías de exoma están listas para la secuenciación.

Figura 1: Desde la obtención de muestras hasta la generación de informes con un solo proveedor: Illumina es compatible con un flujo de trabajo integral para la WES. El ADNg extraído (o el ADN de sangre o saliva mediante protocolos de extracción directa) sirve de entrada para la preparación de librerías con Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment. Hay métodos cualificados disponibles en diversas plataformas de automatización. Secuenciación en función de las necesidades de escala y productividad en los instrumentos de Illumina. Con DRAGEN Enrichment App se realizan un análisis secundario y una llamada de variantes rápidos y precisos. Para enfermedades genéticas, Emedgene permite la interpretación y generación de informes intuitivas.

* En los protocolos para sangre y saliva directos es necesario emplear el kit flexible de reactivos para lisis. Los datos mostrados se generan a partir del ADNg extraído en lugar de la sangre o la saliva. El rendimiento a partir de muestras de sangre y saliva varía en función de la calidad de las mismas.

Para uso exclusivo en investigación. Prohibido su uso en procedimientos de diagnóstico.

Cobertura exhaustiva y rentable de variantes asociadas a enfermedades en bases de datos públicas

Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment utiliza un panel de enriquecimiento de exoma centrado, exhaustivo y actualizado. Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel, incluido en el kit, es más pequeño que Illumina Exome Panel y tiene una cobertura de regiones mejorada para variantes recogidas en bases de datos públicas (Tabla 1 y Tabla 2). Esta cobertura centrada facilita una solución de WES rentable con un número óptimo de muestras por experimento de secuenciación (Tabla 3).

Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel incluye secuencias codificantes seleccionadas (CDS, Curated Coding Sequences) de RefSeq, secuencias codificantes consenso (CCDS, Consensus Coding Sequences), el American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG), el Cancer Gene Census del Catalogue of Somatic Mutations in Cancer (COSMIC) y el Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) (Tabla 1) con una cobertura excepcional de variantes patógenas o posiblemente patógenas recogidas en las bases de datos ClinVar y ACMG (Tabla 2).[3-9]

La cobertura del genoma mitocondrial (chrM) se puede añadir fácilmente usando Twist Bioscience for Illumina Mitochondrial Panel como panel de adición en el protocolo de Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment. El panel mitocondrial ofrece una cobertura completa de los 16 659 pb y los 37 genes de chrM, lo que permite el enriquecimiento y la secuenciación de variantes de ADN mitocondrial (ADNmt).

Tabla 1: Cobertura de regiones de interés mejorada con un tamaño rentable gracias a Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel

Panel de exoma	Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel	Illumina Exome Panel
Tamaño	37,5 Mb	45 Mb
CDS de RefSeq[3]	99,1 %	98,2 %
CDS de CCDS[4]	99,9 %	99,5 %
CDS de 73 genes de ACMG[5]	99,9 %	99,3 %
CDS de COSMIC Cancer Gene Census[6,7]	99,9 %	99,3 %
OMIM[8]	99,1 %	97,7 %

Tabla 2: Contenido centrado en investigación clínica de Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel

CDS de variantes patógenas/posiblemente patógenas de ClinVar[a,9]	98,6 %
CDS de 73 variantes patógenas/posiblemente patógenas de ACMG[b,5]	99,9 %

a. El archivo público ClinVar informa de relaciones entre variaciones y fenotipos humanos con evidencia de apoyo. Las variantes patógenas/posiblemente patógenas se notifican según las guías de clasificación de ClinVar.
b. La lista de variantes patógenas/posiblemente patógenas de ACMG incluye las variantes coincidentes entre las secuencias codificantes seleccionadas de genes de ACMG y las variantes patógenas/posiblemente patógenas de ClinVar.

Tabla 3: Número estimado de librerías enriquecidas con Exome 2.5 Enrichment por celda de flujo y sistema de secuenciación[a]

Profundidad de cobertura media de objetivos deseada	NextSeq 550 System[b]		NextSeq 2000 System		NovaSeq 6000 System			
	Rendimiento medio	Alto rendimiento	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. Las estimaciones se basan en una longitud de lectura de 2 × 101 pb, calculada según experimentos internos habituales. El número de muestras puede variar en función del manejo del flujo de trabajo, la calidad de la muestra o la librería de entrada y del rendimiento de secuenciación real de cada plataforma y celda de flujo. Los datos reales se obtuvieron con un instrumento NovaSeq 6000 System utilizando celdas de flujo S4 y se extrapolaron a otros instrumentos y celdas de flujo.
b. Los kits de reactivos de NextSeq 550 son compatibles con longitudes de lectura de 2 × 150 pb.
c. También hay disponibles celdas de flujo P2 con la misma productividad de muestras para NextSeq 1000 System.
d. Para la agrupación de todas estas librerías enriquecidas son necesarios índices adicionales.

Los datos de secuenciación de Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment muestran una uniformidad de cobertura excelente y un alto porcentaje de regiones de interés cubiertas con una profundidad de secuencia de 20× o más con un rendimiento de 5 Gb y dos tiempos de hibridación diferentes para el enriquecimiento (Figura 3).

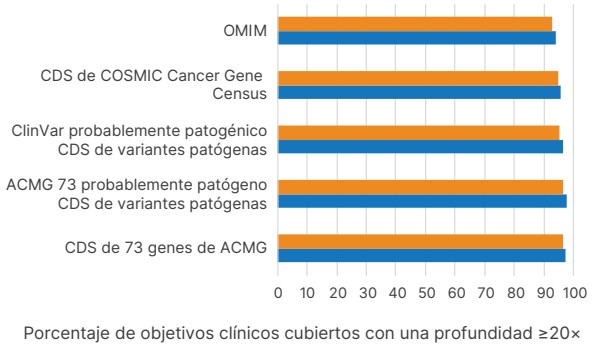

Figura 3: Amplia y exhaustiva cobertura de variantes asociadas a enfermedades en bases de datos públicas: Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment con un tiempo de hibridación de 1,5 horas (naranja) o 16 horas (azul) muestra un porcentaje de cobertura medio elevado con ≥20× de objetivos recogidos en bases de datos públicas, entre las que se incluyen ACMG, ClinVar, OMIM y COSMIC.[5-9]

Rendimiento de alta calidad

Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment muestra un rendimiento excepcional del ensayo de enriquecimiento. Se recogieron datos utilizando Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment kit y Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel con un tiempo de hibridación de 1,5 horas o 16 horas. Por comparación, el ensayo se realizó también con el Illumina Exome Panel original, siguiendo el mismo protocolo, salvo por la hibridación de 1,5 horas y las temperaturas de lavado se redujeron a 58 °C debido al uso de sondas más cortas (marcado como «IEP 1,5 h» en la Figura 4 y la Figura 5).

Los criterios de medición del rendimiento de DRAGEN Enrichment App y la solución Picard[10] revelan un porcentaje óptimo de regiones cartografiables, lecturas en el objetivo (según el porcentaje de lecturas únicas alineadas que pasan el filtro, el porcentaje de enriquecimiento de lecturas únicas completado, y el porcentaje de enriquecimiento de bases únicas completado), y una excelente cobertura media de objetivos para Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment con las sondas de Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel (Figura 4).

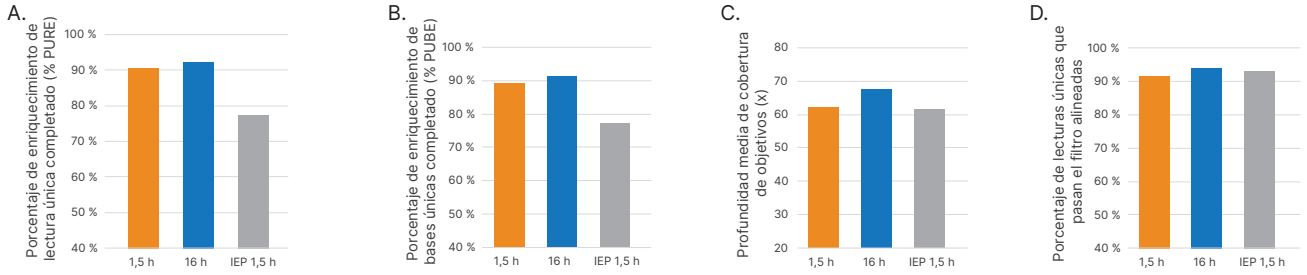

Figura 4: Rendimiento del ensayo de enriquecimiento excelente con Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment: Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment con un tiempo de hibridación de 1,5 h (naranja) o 16 h (azul) muestra un rendimiento robusto comparado con Illumina Exome Panel (IEP 1,5 h, gris). Criterios de medición de DRAGEN: (A) porcentaje de enriquecimiento de lecturas únicas completado (% PURE, tamaño completado de 150 pb); (B) porcentaje de enriquecimiento de bases únicas completado (% PUBE, tamaño completado de 150 bp); y (C) profundidad media de cobertura de objetivos. Criterios de medición de Picard: (D) porcentaje de lecturas únicas que pasan el filtro alineadas. Las librerías enriquecidas se secuenciaron en NovaSeq 6000 System, con la celda de flujo S4 con un rendimiento de 5 Gb (50 millones de lecturas «paired-end», 25 millones de grupos) y longitudes de lectura de 2 × 101 pb.

Para uso exclusivo en investigación. Prohibido su uso en procedimientos de diagnóstico.

Profundidad y uniformidad de cobertura

Un análisis adicional demuestra una excelente uniformidad de cobertura de Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment en comparación con Illumina Exome Panel (Figura 5). Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment garantiza una cobertura uniforme con un elevado porcentaje de bases con una profundidad de lectura de 20× o más, una baja penalización «fold-80 base» y un bajo porcentaje de objetivos con cobertura igual a cero.

El rendimiento uniforme entre los tiempos de hibridación de 1,5 horas y 16 horas ilustra cómo se pueden acelerar los flujos de trabajo en los laboratorios con tiempos de hibridación de 1,5 horas o prolongar las hibridaciones durante una noche si esto se adapta mejor a sus flujos de trabajo.

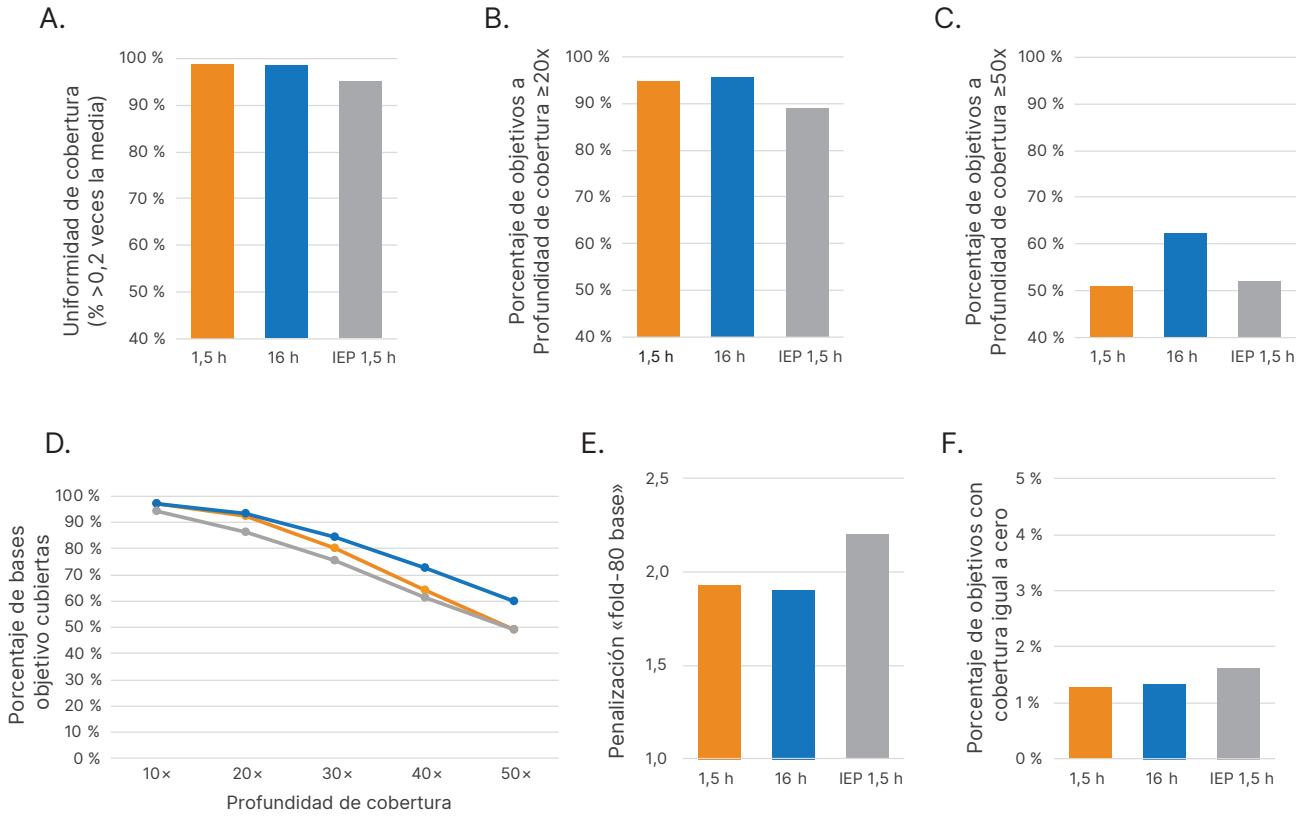

Figura 5: Cobertura y uniformidad excelentes independientemente del tiempo de hibridación—Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment con un tiempo de hibridación de 1,5 h (naranja) o 16 h (azul) muestra una excelente uniformidad de cobertura en comparación con Illumina Exome Panel (IEP 1,5 h, gris) procesados en paralelo. Criterios de medición de DRAGEN: (A) uniformidad de cobertura (porcentaje de cobertura media >0,2×); (B) porcentaje de objetivos cubiertos con una cobertura ≥20×; y (C) porcentaje de objetivos cubiertos con una cobertura ≥50×. Criterios de medición de Picard: (D) porcentaje de bases objetivo con una profundidad de cobertura de 10×, 20×, 30×, 40× y 50×; (E) penalización «fold-80 base» (factor de exceso de cobertura necesario para alcanzar un 80 % de bases en objetivos de cobertura distintos de cero con respecto al valor de cobertura media en dichos objetivos); y (F) porcentajede objetivos con cobertura igual a cero. Librerías enriquecidas secuenciadas en NovaSeq 6000 System, con la celda de flujo S4 con un rendimiento de 5 Gb (50 millones de lecturas «paired-end», 25 millones de grupos) y longitudes de lectura de 2 × 101 pb.

Dentro de una célula, el ADN mitocondrial es más abundante que el ADN nuclear. Twist Bioscience for Illumina Mitochondrial Panel se puede usar a diferentes concentraciones en relación con el panel de exoma, lo que demuestra flexibilidad en la variación de la cobertura del ADNmt sin afectar a la cobertura objetivo media del exoma o a la uniformidad de la cobertura (Figura 6).

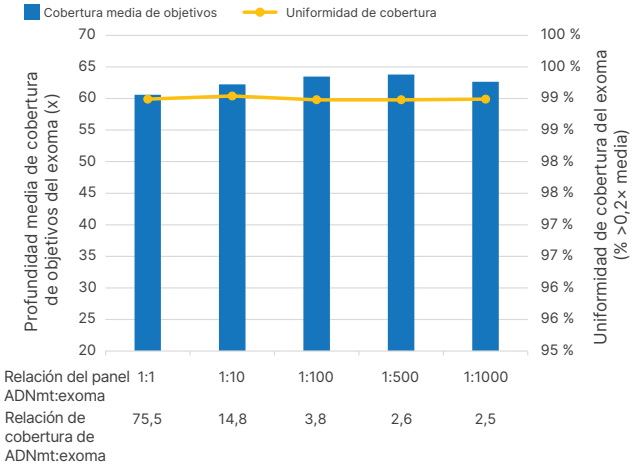

Figura 6: Cobertura uniforme del exoma con cobertura mitocondrial añadida: las relaciones variables de Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel y Twist Bioscience for Illumina Mitochondrial Panel muestran una cobertura objetivo media del exoma uniforme (barras azules) y uniformidad de cobertura (línea amarilla). Se enriqueció un total de 72 muestras de ADN de líneas celulares humanas del Coriell Institute (NA24143, NA24149 y NA24385) (6 grupos de 12 unidades de plexado) con relaciones de panel de ADNmt:exoma que oscilaban entre 1:1 y 1:1000 en reacciones de hibridación de 16 horas. Las 72 librerías enriquecidas se secuenciaron en NovaSeq 6000 System mediante el uso de una única celda de flujo S4 con un rendimiento de 5 Gb (50 millones de lecturas «paired-end», 25 millones de grupos) y el análisis de enriquecimiento se realizó mediante la aplicación de DRAGEN Enrichment.

Contenido de WES personalizado

Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel se puede personalizar con un panel complementario para añadir objetivos o aumentar la cobertura de objetivos para experimentos de WES. Illumina Custom Enrichment Panel v2 se puede diseñar para ampliar la cobertura de secuenciación a nuevos objetivos o para profundizar la cobertura de regiones objetivo de WES existentes (figura 7, tabla 4). Los paneles están diseñados para una lista de objetivos personalizada y se añaden fácilmente como un panel de adición en el protocolo de Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment, con o sin adición de panel mitocondrial. Los paneles personalizados se diseñan a través de la herramienta de diseño en línea DesignStudio™ o con la ayuda del equipo de diseño de Illumina Concierge.

Tabla 4: El panel de adición Illumina Custom Enrichment Panel v2 aumenta la cobertura del objetivo[a]

Parámetro	Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment	Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment más el panel de adición
Cobertura media de objetivos	63×	124×
Uniformidad de cobertura	98,3 %	98,4 %
Porcentaje de objetivos cubiertos a 20×	96,7 %	98,6 %
Porcentaje de objetivos cubiertos a 50×	66,6 %	96,3 %
Abandono de AT	0,01 %	1,08 %
Abandono de GC	9,9 %	2,3 %

a. El protocolo Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment se realizó con y sin un panel de adición personalizado dirigido a regiones cubiertas por Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel y se analizó la cobertura de las regiones objetivo del panel de adición.

Para uso exclusivo en investigación. Prohibido su uso en procedimientos de diagnóstico.

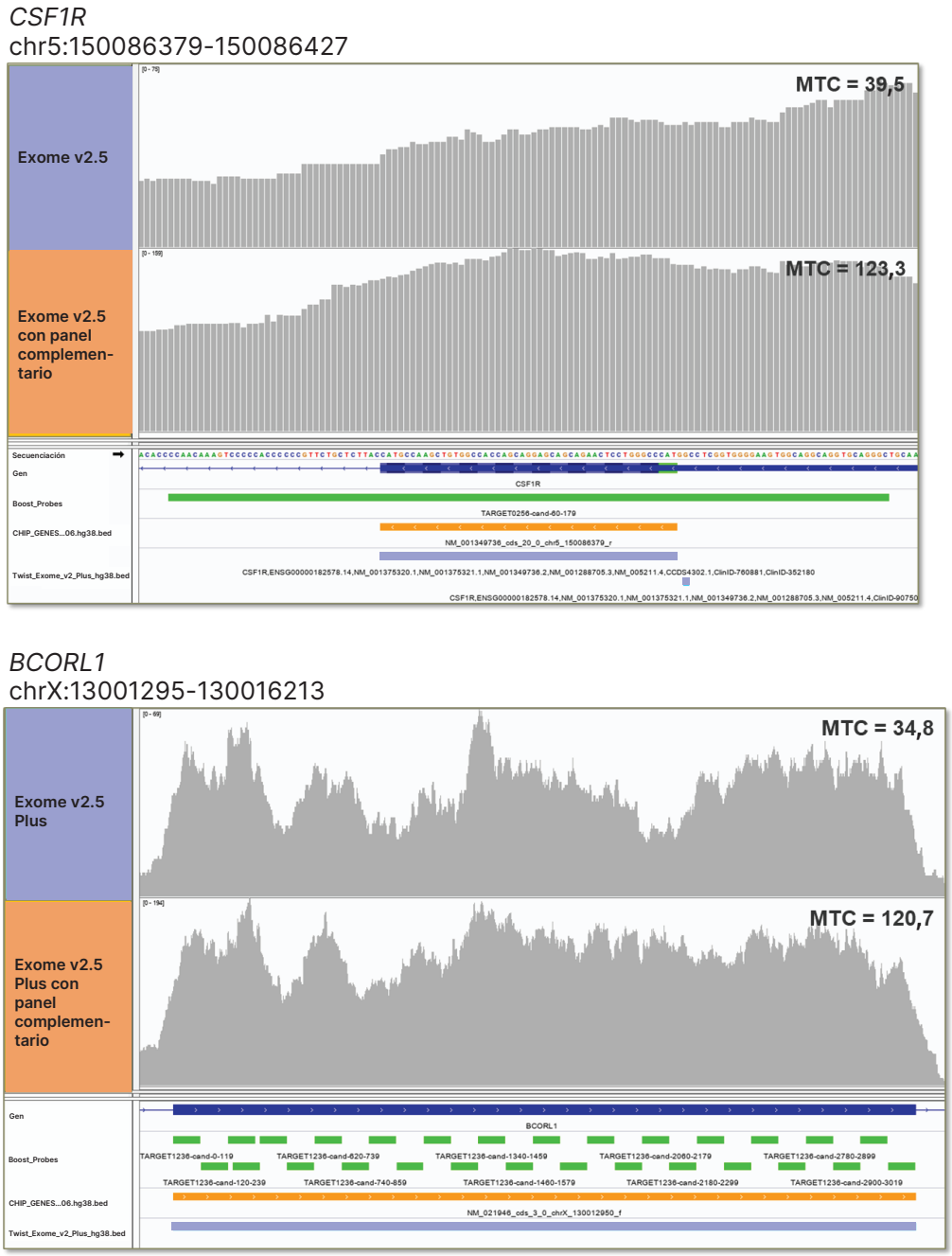

Figura 7: Illumina Custom Enrichment Panel v2 mejora la cobertura de los objetivos de WES. Se ha diseñado un Illumina Custom Enrichment Panel v2 que consta de 2689 sondas que cubren 2689 objetivos exónicos en Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel. El protocolo de Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment se realizó con y sin el panel de adición personalizado, y se analizó la cobertura de las regiones objetivo del panel de adición. La cobertura media de objetivos (MTC) de las regiones cubiertas mejoró en ~2 veces y el porcentaje de objetivos cubiertos a 50× aumentó significativamente con el panel de adición.

Resumen

Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment ofrece una solución de WES humana fiable y bien diseñada que es eficaz y eficiente. Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel proporciona contenido exhaustivo y actualizado que abarca variantes asociadas a enfermedades en las bases de datos públicas y Twist Bioscience for Illumina Mitochondrial Panel opcional añade una cobertura completa de chrM. El panel de enriquecimiento optimizado personalizable permite una alta productividad de muestras con una secuenciación de exomas económica. La cobertura uniforme y excelente facilita los análisis sucesivos y la interpretación. Se pueden lograr mejoras de eficiencia adicionales empleando Illumina Qualified Methods en diversas plataformas de automatización disponibles a través de nuestros socios. Con Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment, los laboratorios pueden beneficiarse de un flujo de trabajo de secuenciación del exoma completo y de alta calidad (desde la obtención de las muestras hasta la generación de informes) con un solo proveedor.

Más información

Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment

Illumina Qualified Methods para automatización

Análisis secundario de DRAGEN

Análisis terciario de Emedgene

Herramienta de diseño de ensayos DesignStudio

Datos para realizar pedidos

Producto	N.º de catálogo
Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment, (S) Tagmentation Set B (96 samples, 12-plex)[a]	20077595
Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment, (S) Tagmentation Set D (96 samples, 12-plex)[a]	20077596
Flex Lysis Reagent Kit (96 reactions)[b]	20018706
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set A, Tagmentation (96 indexes, 96 samples)[c]	20091654
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set B, Tagmentation (96 indexes, 96 samples)[c]	20091656
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set C, Tagmentation (96 indexes, 96 samples)[c]	20091658
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set D, Tagmentation (96 indexes, 96 samples)[c]	20091650
Twist Bioscience for Illumina Mitochondrial Panel (96 samples, 12-plex)[d]	20093180
Illumina Custom Enrichment Panel v2 (32 µl, 120 bp)[e]	20073953
Illumina Custom Enrichment Panel v2 (384 µl, 120 bp)[e]	20073952
Illumina Custom Enrichment Panel v2 (1536 µl, 120 bp)[e]	20111339

a. Los kits incluyen la preparación de librerías y los reactivos de hibridación de Illumina DNA Prep with Enrichment, Illumina Purification Beads para la limpieza y selección por tamaños, las sondas de enriquecimiento de Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel y una placa adaptadora (placa de índices).
b. Kit necesario para la entrada directa de sangre.
c. Seleccione un juego de índices diferente si así lo prefiere.
d. Twist Bioscience for Illumina Mitochondrial Panel contiene 32 µl de panel de oligonucleótidos, suficiente material para 8 reacciones de hibridación a 4 µl cada una.
e. Los paneles de enriquecimiento personalizados para muestras humanas se pueden diseñar con la herramienta Illumina DesignStudio. El equipo de diseño de Illumina Concierge permite la compatibilidad con el diseño de contenido no humano. Póngase en contacto con su representante de ventas de Illumina para obtener más información sobre los servicios de diseño de Concierge.

Para uso exclusivo en investigación. Prohibido su uso en procedimientos de diagnóstico.

Bibliografía

1. Illumina. Illumina DNA Prep with Enrichment Data Sheet. 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. Fecha de publicación: 29 de octubre de 2020. Fecha de consulta: 27 de julio de 2023.
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/articles/dragen-wins-precisionfda-challenge-accuracy-gains. Fecha de publicación: 2 de junio de 2021. Fecha de consulta: 27 de julio de 2023.
3. NIH National Library of Medcine. RefSeq: Base de datos de secuencias de referencia del NCBI. Sitio web del NCBI. ncbi.nlm.nih.gov/refseq. Fecha de actualización: 18 de julio de 2023. Fecha de consulta: 27 de julio de 2023.
4. CCDS: Consensus CDS (CCDS) Database. Sitio web del NCBI. ncbi.nlm.nih.gov/projects/CCDS/CcdsBrowse.cgi. Fecha de actualización: 9 de noviembre de 2022. Fecha de consulta: 27 de julio de 2023.
5. NIH National Library of Medicine. ACMG Recommendations for Reporting of Secondary Findings in Clinical Exome and Genome Sequencing. Sitio web del NCBI. ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/docs/acmg. Fecha de actualización: 27 de junio de 2023. Fecha de consulta: 27 de julio de 2023.
6. Catalog of Somatic Mutations in Cancer (COSMIC). Sitio web del COSMIC. cancer.sanger.ac.uk/cosmic/download. Fecha de publicación: 23 de mayo de 2023. Fecha de consulta: 27 de julio de 2023.
7. Cancer Gene Census. Sitio web del COSMIC. cancer.sanger.ac.uk/census. Fecha de publicación: 23 de mayo de 2023. Fecha de consulta: 27 de julio de 2023.
8. Catalog of Human Genes and Genetic Disorders. Sitio web del OMIM. omim.org. Fecha de actualización: 26 de julio de 2023. Fecha de consulta: 27 de julio de 2023.
9. Base de datos ClinVar. Sitio web del NCBI. ncbi.nlm.nih.gov/clinvar. Fecha de actualización: 24 de julio de 2023. Fecha de consulta: 27 de julio de 2023.
10. Genome Analysis Toolkit (GATK). The Broad Institute. gatk.broadinstitute.org/hc/en-us/articles/360037428871-CollectHsMetrics-Picard. Fecha de publicación: 7 de enero de 2020. Fecha de consulta: 27 de julio de 2023.

1 800 809 4566 (llamada gratuita, EE. UU.) | tel.: +1 858 202 4566
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2024 Illumina, Inc. Todos los derechos reservados. Todas las marcas comerciales pertenecen a Illumina, Inc. o a sus respectivos propietarios. Si desea consultar información específica sobre las marcas comerciales, consulte www.illumina.com/company/legal.html.
M-GL-00002 ESP v5.0