

Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment

Resultados de exoma
específicos y coherentes
con un solo socio

- Cobertura de exoma rentable con el uso de un panel específico, exhaustivo y actualizado.
- Kit de preparación de librerías fácil de usar y apto para automatización, con volúmenes suficientes de los componentes.
- Solución y soporte de alta calidad durante todo el proceso.

illumina[®]

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

Proceso integral de secuenciación del exoma con un solo socio fiable

Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment proporciona resultados de secuenciación del exoma completo (WES, whole-exome sequencing) económicos con un rendimiento y una calidad de los datos excepcionales. La preparación de librerías y la solución de enriquecimiento fáciles de usar forman parte de un flujo de trabajo integral que abarca todos los procesos, desde la obtención de muestras hasta la generación de informes (figura 1). Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment comienza con el ADN genómico (ADNg) extraído (o con la entrada directa de sangre o saliva*) y combina el proceso químico de preparación de librerías mediante tagmentación en bolas seguido del enriquecimiento del exoma mediante captura híbrida (figura 2).¹ Illumina DNA Prep con proceso químico de enriquecimiento favorece la normalización integrada de la entrada de ADN de alta calidad (≥ 50 ng), lo que permite la agrupación simple en función del volumen para hibridación y proporciona un rendimiento de secuenciación uniforme de cada librería de exoma enriquecida. Complete el flujo de trabajo de WES con la secuenciación de alto rendimiento en los instrumentos de Illumina y con análisis de datos galardonados gracias a la plataforma de tecnología bioinformática DRAGEN™ Bio-IT Platform.² Para enfermedades genéticas, la plataforma Illumina Connected Insights - Germline aplica la inteligencia artificial explicable (XAI, explainable artificial intelligence) y la automatización para optimizar la interpretación y la notificación de paneles de exoma.

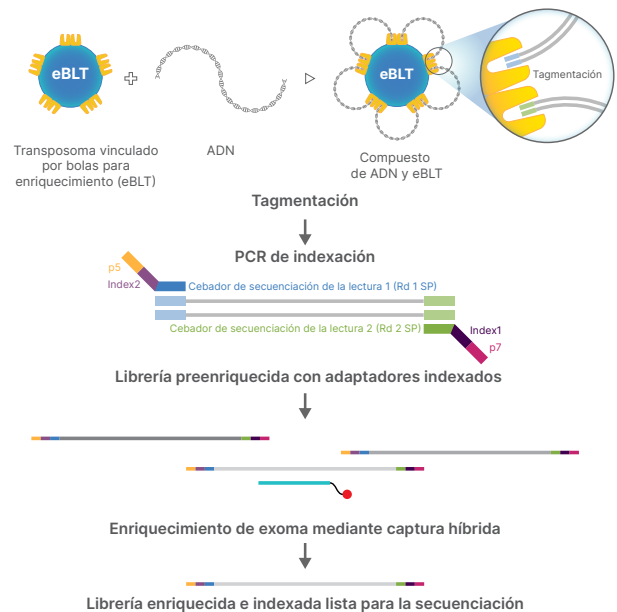


Figura 2: Preparación de librerías basada en la tagmentación optimizada: los transposomas vinculados por bolas para enriquecimiento (eBLT, enrichment bead-linked transposomes) median una reacción de tagmentación uniforme con alta tolerancia a las variaciones en las cantidades de entrada de muestra de ADN.¹ Tras el enriquecimiento por 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 socio. Illumina le apoya con un flujo de trabajo completo para proyectos de secuenciación del exoma. Comience con ADNg extraído (o ADN procedente de sangre o saliva siguiendo los protocolos de extracción directa) y prepare librerías con Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment. En función de las necesidades de escala y productividad realice la secuenciación en los sistemas NovaSeq™ 6000, NextSeq™ 2000, NextSeq 1000 o NextSeq 550. Tras la secuenciación se lleva a cabo un análisis secundario rápido y preciso y la llamada de variantes con la DRAGEN Enrichment App. Illumina Connected Insights - Germline permite una interpretación intuitiva y la generación de informes para enfermedades genéticas.

* Los protocolos en los que se utiliza la entrada directa de sangre y saliva requieren Flex Lysis Reagent Kit. Los datos que se muestran se han generado a partir de ADNg extraído, y no con sangre ni saliva. El rendimiento de la sangre y la saliva puede variar en función de la calidad de la muestra.

Cobertura completa y rentable de variantes asociadas a enfermedad en bases de datos públicas

Illustrina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment utiliza un panel de enriquecimiento del exoma específico, exhaustivo y actualizado. Twist Bioscience® para Illumina Exome 2.0 Plus Panel, que se incluye en el kit, es más pequeño que Illumina Exome Panel y cuenta con una cobertura mejorada de la región objetivo para variantes notificadas en bases de datos públicas (tabla 1 y tabla 2). Esta cobertura específica ofrece una solución rentable de WES con un número óptimo de muestras por experimento de secuenciación (tabla 3).

Twist Bioscience para Illumina Exome 2.0 Plus Panel cubre secuencias de codificación seleccionadas (CDS) de RefSeq, el proyecto Consensus Coding Sequence (CCDS), el American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG), el censo de genes de cáncer del Catalog of Somatic Mutations in Cancer (COSMIC) y Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) (tabla 1) con una cobertura excepcional de variantes patogénicas o probablemente patogénicas notificadas en las bases de datos de ClinVar y ACMG (tabla 2).³⁻⁹

Tabla 1: Cobertura mejorada de la región objetivo en un tamaño rentable con Twist Bioscience for Illumina Exome 2.0 Plus Panel

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

Tabla 2: Investigación clínica. Contenido específico de Twist Bioscience for Illumina Exome 2.0 Plus Panel

ClinVar variantes patogénicas/probablemente patogénicas CDS ^{a,9}	98,6 %
ACMG 73 variantes patogénicas/probablemente patogénicas CDS ^{b,5}	99,9 %

- a. En el archivo público de ClinVar se notifican relaciones entre variaciones y fenotipos humanos con datos que lo respaldan. Las variantes patogénicas/probablemente patogénicas se notifican en función de las guías de clasificación de ClinVar.
- b. ACMG variantes patogénicas/probablemente patogénicas corresponde a las variantes superpuestas entre las secuencias de codificación seleccionadas de ACMG genes y ClinVar variantes patogénicas/probablemente patogénicas.

Tabla 3: Número estimado de librerías Exome 2.0 Plus enriquecidas por celda de flujo y sistema de secuenciación^a

Profundidad media de cobertura en el objetivo deseada	NextSeq 550 System ^b		NextSeq 2000 System		NovaSeq 6000 System			
	Rendimiento intermedio	Alto rendimiento	P2 ^c	P3	SP	S1	S2	S4
50x	6	19	19	57	34	69	176	428 ^d
100x	3	9	9	28	17	34	88	214
200x	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 típicos. El número de muestras puede variar en función del manejo del flujo de trabajo, la calidad de la librería o la muestra de entrada, y el rendimiento de secuenciación real de cada plataforma y celda de flujo. Se adquirieron datos reales en NovaSeq 6000 System con el uso de 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 celdas de flujo P2 con la misma productividad de muestras en el NextSeq 1000 System.
- d. La agrupación de estas librerías enriquecidas requiere índices adicionales.

Los datos de secuenciación de Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment muestran una excelente uniformidad de cobertura, con un alto porcentaje de objetivos cubiertos con una profundidad de secuencia de 20x, o superior, con el uso de un rendimiento de 5 Gb y dos tiempos de hibridación diferentes para el enriquecimiento (figura 3).

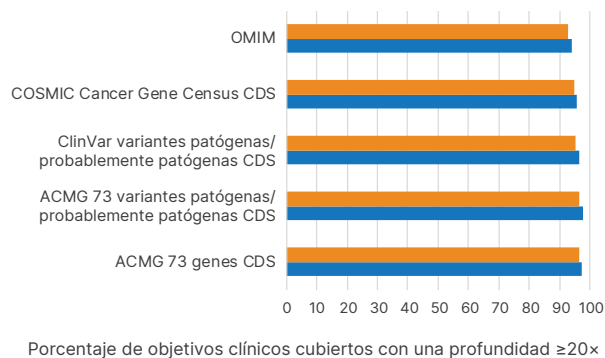


Figura 3: Cobertura amplia y completa de variantes asociadas a enfermedad en bases de datos públicas. Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment con el uso de tiempos de hibridación de 1,5 horas (naranja) o 16 horas (azul) muestra un porcentaje promedio alto de cobertura a $\geq 20\times$ de objetivos de bases de datos públicas, incluidas las de ACMG, ClinVar, OMIM y COSMIC.⁵⁻⁹

Rendimiento de alta calidad

Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment muestra un rendimiento excepcional en el ensayo de enriquecimiento. Los datos se recopilaron utilizando el kit Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment, que incluye Twist Bioscience for Illumina Exome 2.0 Plus Panel, con tiempos de hibridación de 1,5 horas o 16 horas. Para poder realizar comparaciones, el ensayo también se llevó a cabo con Illumina Exome Panel original, siguiendo el mismo protocolo salvo por la hibridación de 1,5 horas y las temperaturas de lavado, que se redujeron a 58 °C debido al uso de sondas más cortas (etiquetadas 'IEP 1,5 h' en la figura 4 y la figura 5).

Los datos de rendimiento de la aplicación DRAGEN Enrichment App y el proceso Picard¹⁰ revelan un porcentaje óptimo de lecturas asignables, lecturas en el objetivo (basado en el porcentaje de lecturas únicas alineadas que pasan el filtro, el porcentaje de lecturas únicas de enriquecimiento completadas y el porcentaje de enriquecimiento de una base única completada) y una excepcional cobertura media en el objetivo para Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment con las sondas de Twist Bioscience for Illumina Exome 2.0 Plus (figura 4).

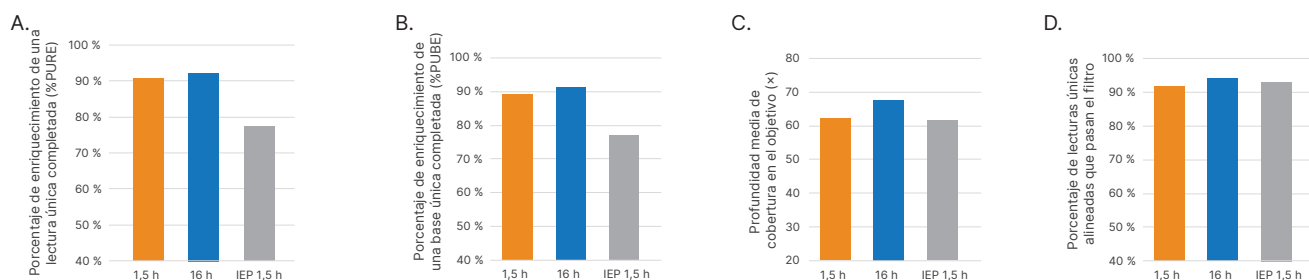


Figura 4: Rendimiento excelente del ensayo de enriquecimiento de Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment. Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment con el uso de tiempos de hibridación de 1,5 horas (naranja) o 16 horas (azul) exhibe un rendimiento robusto en comparación con Illumina Exome Panel (IEP 1,5 h, gris). Criterios de medición de DRAGEN: (A) porcentaje de enriquecimiento de una lectura única completada (% PURE, tamaño completado de 150 pb); (B) porcentaje de enriquecimiento de una base única completada (% PUBE, tamaño completado de 150 pb); y (C) profundidad media de cobertura en el objetivo. Criterios de medición de Picard: (D) porcentaje de lecturas únicas alineadas que pasan el filtro. Se secuenciaron librerías enriquecidas en NovaSeq 6000 System, con la celda de flujo S4 con un rendimiento de 5 Gb (50 M de lecturas "paired-end", 25 M de grupos) y longitud de lectura de 2×101 pb.

Profundidad y uniformidad de la cobertura

En un análisis adicional se ha demostrado una uniformidad de cobertura excelente de Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment en comparación con Illumina Exome Panel (figura 5). Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment garantiza una cobertura uniforme con un alto porcentaje de bases a una profundidad de lectura de 20x, o superior, además de una baja penalización de bases de 80x y un porcentaje bajo de objetivos de cobertura cero.

El rendimiento uniforme entre los tiempos de hibridación de 1,5 horas y 16 horas pone de manifiesto que los laboratorios pueden optar entre acelerar sus flujos de trabajo con tiempos de hibridación de 1,5 horas o ampliar sus hibridaciones durante la noche, en función de lo que mejor encaje con su flujo de trabajo.

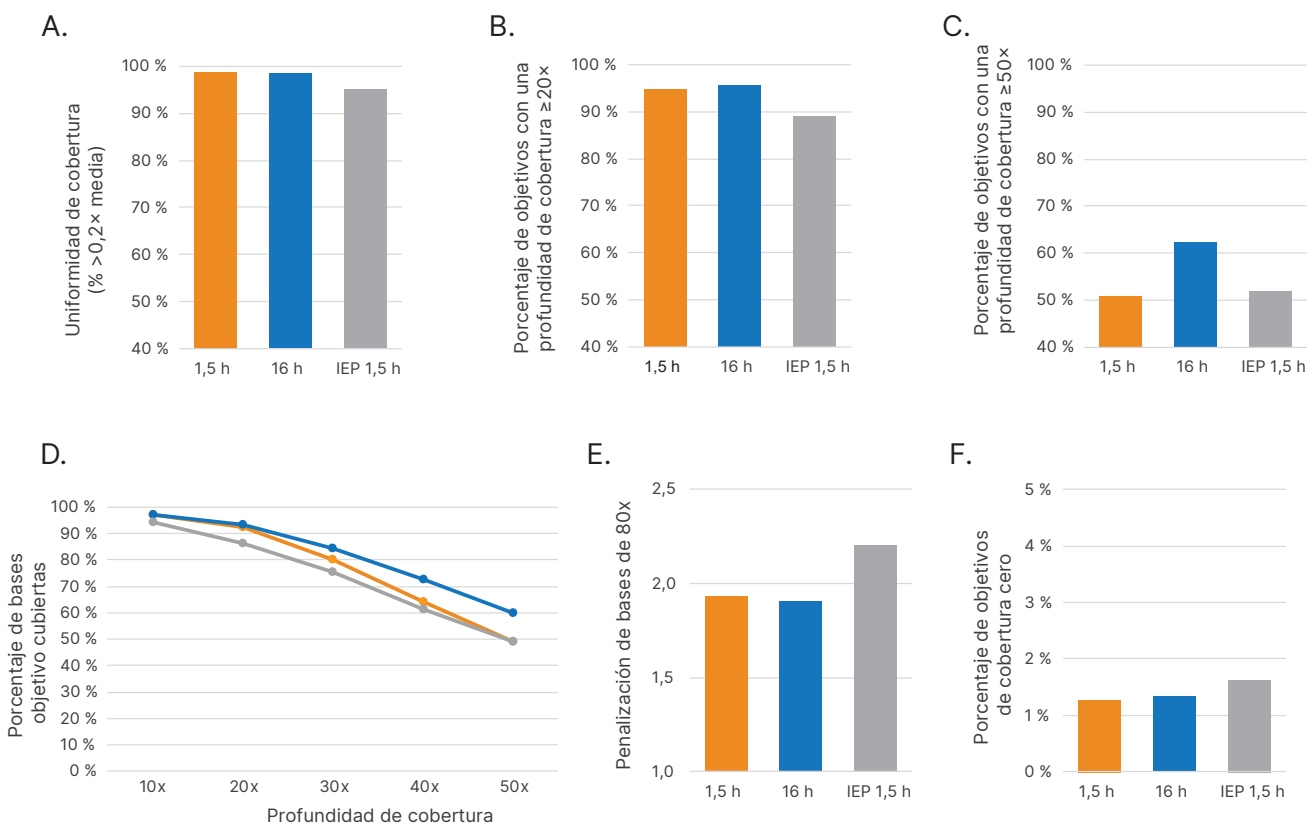


Figura 5: Cobertura excelente y uniformidad independiente del tiempo de hibridación. Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment con el uso de tiempos de hibridación de 1,5 horas (naranja) o 16 horas (azul) muestra una excelente uniformidad de cobertura en comparación con el Illumina Exome Panel (IEP 1,5 h, gris) ejecutado en paralelo. Criterios de medición de DRAGEN: (A) uniformidad de cobertura (porcentaje >0,2 veces la cobertura media); (B) porcentaje de objetivos cubiertos a $\geq 20x$; y (C) porcentaje de objetivos cubiertos a $\geq 50x$. Criterios de medición de Picard: (D) penalización de bases de 80x (sobrecobertura necesaria para aumentar en un 80 % las bases en objetivos de cobertura distinta a cero hasta el nivel de cobertura medio en dichos objetivos); y (E) porcentaje de objetivos de cobertura cero. Librerías enriquecidas secuenciadas en NovaSeq 6000 System, con la celda de flujo S4 con un rendimiento de 5 Gb (50 M de lecturas “paired-end”, 25 M de grupos) y longitud de lectura de 2×101 pb.

Resumen

Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment ofrece una solución de WES bien diseñada y fiable para material de origen humano, efectiva y eficiente. Twist Bioscience for Illumina Exome 2.0 Plus Panel incluido en el kit proporciona un contenido completo y actualizado que cubre variantes asociadas a enfermedad de bases de datos públicas. El panel de enriquecimiento optimizado permite una elevada productividad de muestras para una secuenciación del exoma económica. La excelente cobertura uniforme facilita los análisis sucesivos y la interpretación. Los laboratorios ya pueden beneficiarse de un flujo de trabajo de secuenciación del exoma integral y de alta calidad (desde la obtención de muestras hasta la generación de informes) con un solo socio.

Información adicional

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

DRAGEN Bio-IT Platform, 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](https://illumina.com/news-updates/illumina-connected-insights-germline-available-now)

Datos para realizar pedidos

Producto	N.º de catálogo
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. Los kits incluyen la preparación de librerías y los reactivos de hibridación Illumina DNA Prep with Enrichment, Illumina Purification Beads para limpieza/selección de tamaño, las sondas de enriquecimiento de Twist Bioscience for Illumina Exome 2.0 Plus Panel y una placa adaptadora de índices.
- b. Kit necesario para la entrada directa de sangre.
- c. Si lo prefiere, puede elegir un juego de índices diferente.

Referencias

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. Año de publicación: 2020. Consultado en julio de 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. Año de publicación: 2021. Consultado en julio de 2022.
3. NIH National Library of Medicine. RefSeq - NCBI Reference Sequence Database. Sitio web de NCBI. ncbi.nlm.nih.gov/refseq. Consultado en marzo de 2022.
4. CCDS - Consensus CDS (CCDS) Database. Sitio web de NCBI. ncbi.nlm.nih.gov/projects/CCDS/CcidsBrowse.cgi. Consultado en marzo de 2022.
5. American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). ACMG Recommendations for Reporting of Incidental Findings in Clinical Exome and Genome Sequencing. Sitio web de NCBI. ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/docs/acmg. Actualización: junio de 2021. Consultado en marzo de 2022.
6. Catalog of Somatic Mutations in Cancer (COSMIC). Sitio web de COSMIC. cancer.sanger.ac.uk/cosmic/download. Consultado en marzo de 2022.
7. Cancer Gene Census. Sitio web de COSMIC. cancer.sanger.ac.uk/census. Consultado en marzo de 2022.
8. Catalog of Human Genes and Genetic Disorders. Sitio web de OMIM. omim.org. Consultado en marzo de 2022.
9. ClinVar Database. Sitio web de NCBI. ncbi.nlm.nih.gov/clinvar. Consultado en marzo de 2022.
10. Genome Analysis Toolkit (GATK). The Broad Institute. gatk.broadinstitute.org/hc/en-us/articles/360037428871-CollectHsMetrics-Picard-. Consultado en marzo de 2022.

illumina®

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

© 2022 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, visite www.illumina.com/company/legal.html.
M-GL-00002 ESP v1.0