

illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2

Prestazioni WES migliorate con
copertura dell'esoma ampliata



Arricchimento efficiente
dell'esoma con la
tagmentazione su microsfere



Analisi delle regioni genomiche
complesse e ricche di varianti
grazie al design ottimizzato
del pannello



Ampliamento della copertura
mediante l'impiego facoltativo
di contenuti mitocondriali
e contenuti aggiuntivi
personalizzati

Introduzione

Il sequenziamento dell'intero esoma (WES, Whole-Exome Sequencing) è uno strumento essenziale per individuare le basi genetiche del cancro e delle malattie di tipo ereditario.¹⁻³ Man mano che emergono nuove esigenze di ricerca, i laboratori devono poter disporre di soluzioni WES in grado di offrire arricchimento coerente, efficace rappresentazione delle regioni variabili e ricche di GC e flussi di lavoro efficienti che possano essere adattati senza aumenti del carico di lavoro di sequenziamento.

La prima versione del saggio Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment offriva un flusso di lavoro WES semplificato basato su processi di arricchimento mediante cattura ibrida e di facile automazione. Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2 introduce una chimica aggiornata per migliorare le prestazioni e utilizzare al contempo una capacità di sequenziamento inferiore. Il saggio v2 offre un migliore arricchimento sul target e riduce al minimo le letture fuori target; allo stesso tempo, gestisce le situazioni

di ridotta copertura GC e assicura una copertura più uniforme degli esoni target. Supporta inoltre l'impiego facoltativo dell'arricchimento mitocondriale e di contenuti aggiuntivi personalizzati, affinché i laboratori possano perfezionare o ampliare la copertura del target all'interno dello stesso flusso di lavoro.

La soluzione per la preparazione e l'arricchimento delle librerie fa parte di un flusso di lavoro end-to-end che va dalla preparazione dei campioni ai report (Figura 1). Come la versione precedente, questo saggio utilizza la preparazione delle librerie basata su tagmentazione e l'arricchimento mediante cattura ibrida e mantiene un flusso di lavoro di facile automazione dalle prestazioni riproducibili (Figura 2).

L'insieme delle migliorie introdotte in Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2 assicura prestazioni di arricchimento più elevate, copertura ampliata delle regioni GC e opzioni di contenuto flessibili, oltre a consentire studi scalabili senza aumento della complessità.

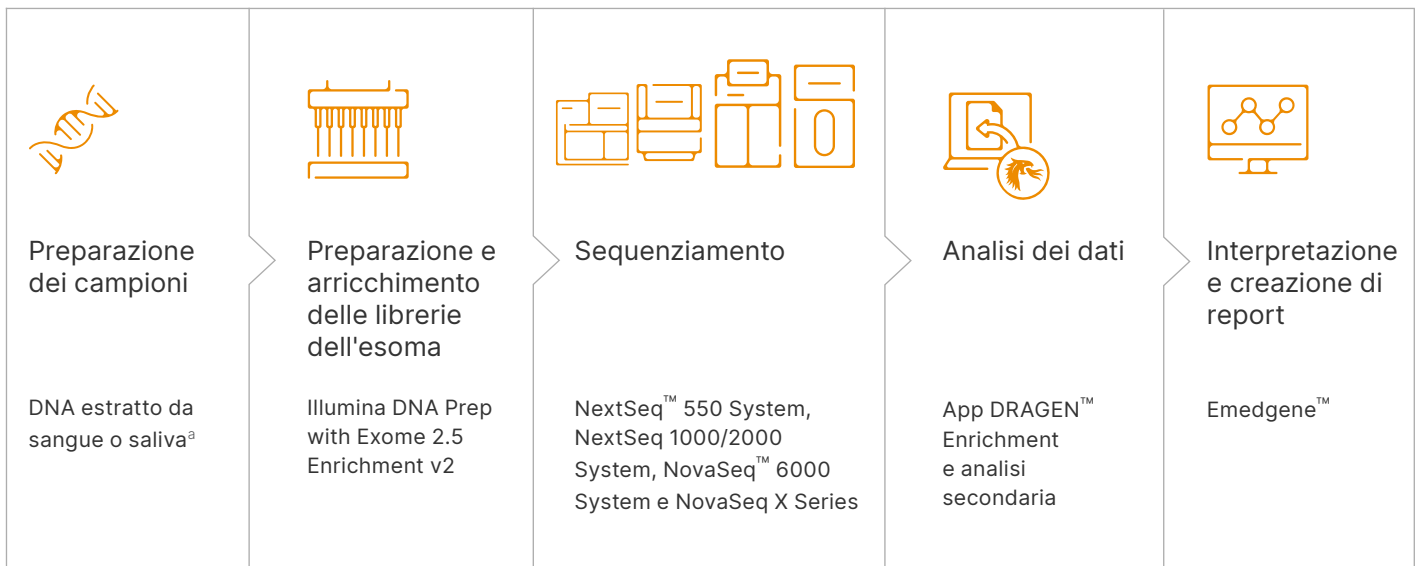
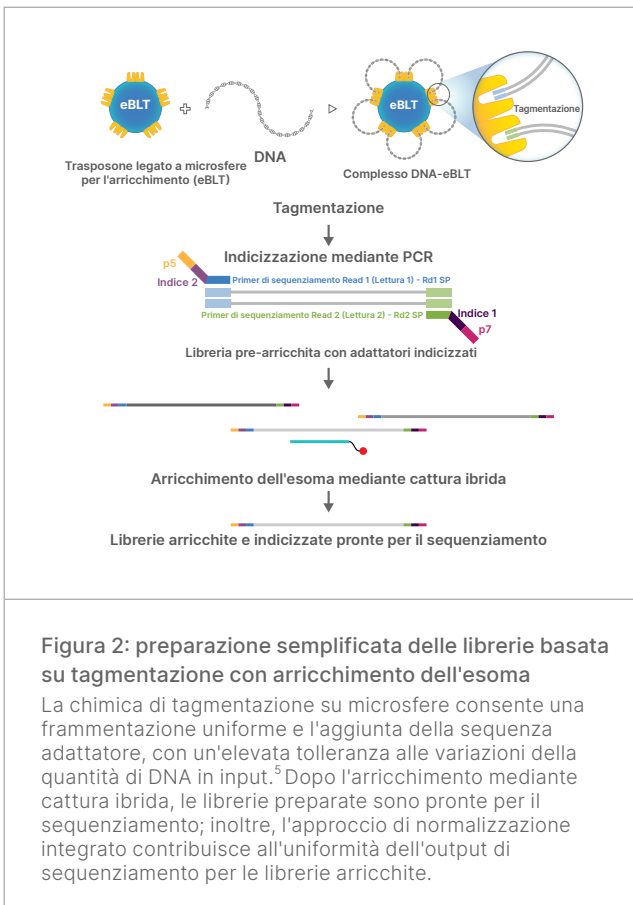


Figura 1: flusso di lavoro WES end-to-end

Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2 fa parte di un flusso di lavoro completo che supporta il sequenziamento dell'intero esoma (WES, Whole-Exome Sequencing) dalla preparazione dei campioni all'analisi e all'interpretazione dei dati. Il DNA genomico estratto viene preparato e arricchito utilizzando Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2, con interventi manuali ridotti grazie a flussi di lavoro di facile automazione. Il sequenziamento delle librerie arricchite e l'analisi dell'arricchimento sono eseguiti con l'app DRAGEN Enrichment. L'identificazione di varianti viene eseguita mediante l'analisi secondaria DRAGEN.⁴ L'interpretazione può essere effettuata con strumenti come Emedgene.

a. Il DNA viene estratto con Flex Lysis Reagent Kit.



Copertura completa e mirata delle varianti associate alle malattie

Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2 utilizza un pannello esomico aggiornato nel quale l'equilibrio tra ampiezza ed efficienza viene raggiunto concentrando la capacità di sequenziamento sulle regioni più rilevanti per la ricerca sulle malattie umane. Il kit completo include Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel, che offre una copertura curata delle sequenze di codifica basata su risorse pubbliche ampiamente utilizzate, tra cui RefSeq, CCDS, ACMG, COSMIC e OMIM* (Tabella 1).⁶⁻¹¹ Questa strategia fondata su un approccio mirato riflette l'attuale conoscenza dei geni associati alla malattia e preserva l'efficienza del sequenziamento.

* ACMG, American College of Medical Genetics and Genomics; CCDS, Consensus Coding Sequence; COSMIC, Catalogue of Somatic Mutations in Cancer; OMIM, Online Mendelian Inheritance in Man.

Oltre alla copertura completa a livello genico, il pannello si concentra sulle regioni esoniche in cui, secondo database quali ClinVar e ACMG, sono frequenti le varianti patologiche e probabilmente patologiche (Tabella 2). Si tratta di caratteristiche utili per gli studi che richiedono la rappresentazione coerente di siti ben caratterizzati delle varianti nell'intero esoma.

Il design del saggio enfatizza anche le prestazioni in regioni complesse, tra cui i segmenti ricchi di GC e gli esoni difficili da coprire. I miglioramenti a livello di posizionamento delle sonde e selezione del target aiutano a mantenere l'uniformità della copertura e a ridurre al minimo i dropout, così da assicurare il rilevamento affidabile delle varianti in un'ampia gamma di contesti genomici.

Tabella 1: copertura delle regioni codificanti rappresentate nei database chiave con Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel

Pannello esomico	Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel	Illumina Exome Panel
Dimensioni	37,5 Mb	42,21 Mb
CDS RefSeq ⁶	99,1%	98,2%
CDS CCDS ⁷	99,9%	99,5%
CDS geni ACMG 73 ⁸	99,9%	99,3%
CDS COSMIC Cancer Gene Census ^{9,10}	99,9%	99,3%
OMIM ¹¹	99,1%	97,7%

Tabella 2: copertura dei siti delle varianti patologiche e probabilmente patologiche inclusi nei database delle varianti genetiche associate a malattie

CDS varianti patologiche/probabilmente patologiche in ClinVar ^{a,12}	98,6%
CDS varianti patologiche/probabilmente patologiche in ACMG 73 ^{b,8}	99,9%
<p>a. L'archivio pubblico ClinVar riporta le relazioni tra variazioni umane e fenotipi con prove a sostegno. Le varianti patologiche/probabilmente patologiche sono riportate sulla base delle linee guida di classificazione ClinVar.</p> <p>b. L'elenco ACMG delle varianti patologiche/probabilmente patologiche include le varianti sovrapposte tra le sequenze codificanti curate dei geni ACMG e le varianti patologiche/probabilmente patologiche ClinVar.</p>	

Concentrando la copertura sulla parte più informativa dell'esoma e limitando la rappresentazione delle regioni a basso valore o a bassa resa, il pannello consente l'uso efficiente della capacità di sequenziamento senza compromettere la profondità laddove è più importante. Questo approccio mirato supporta il raggruppamento flessibile su tutte le piattaforme di sequenziamento Illumina, consentendo ai laboratori di ottimizzare la produttività e il costo per campione in base alle dimensioni dei progetti e alle esigenze sperimentali (Tabella 3).

Ampia copertura dei target oggetto di risorse curate

Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2 offre un'ampia copertura delle risorse curate, cliniche e di ricerca, in condizioni di ibridazione rapida ed estesa (Figura 3). Questo livello di copertura contribuisce ad assicurare che i geni e le regioni comunemente utilizzati nella ricerca sulle malattie umane siano rappresentati in modo coerente, riducendo la probabilità di lacune nel contenuto esonico chiave.

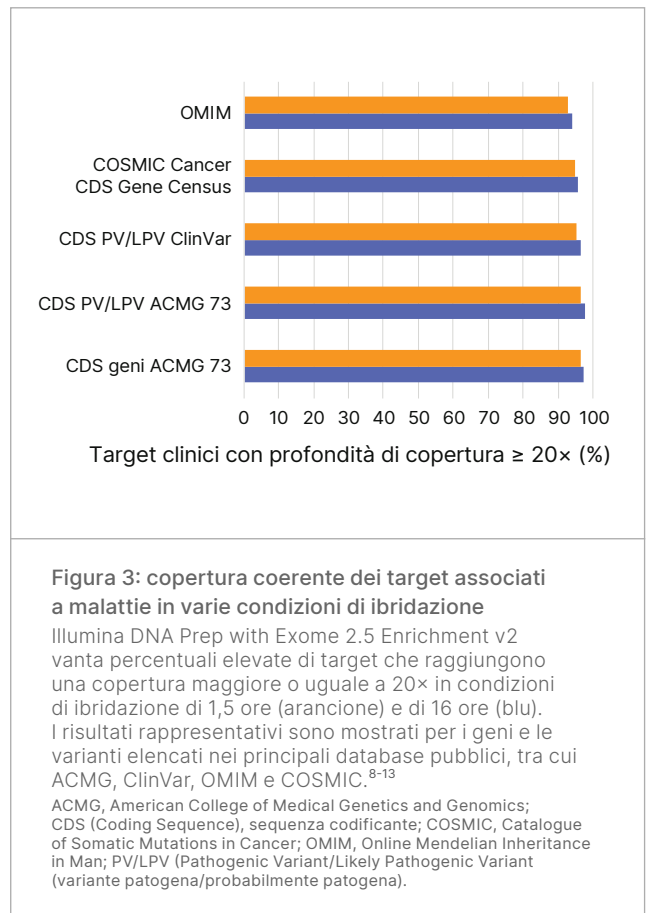


Tabella 3: numero di campioni gestibili per il WES in base a sistema di sequenziamento e cella a flusso^a

Profondità media di copertura del target desiderata	N. di campioni										
	NextSeq 550 System ^b		NextSeq 2000 System		NovaSeq 6000 System				NovaSeq X System		
	Output medio	Output elevato	P2 ^c	P3	SP	S1	S2	S4	1.5B	10B	25B
50x	6	19	19	57	25	50	128	310 ^d	62	380	944
100x	3	9	9	28	12	25	64	155	31	190	497
200x	1	4	4	14	6	12	32	77	15	95	248

a. Le stime si basano sulla lunghezza di lettura di 2 × 100 bp, calcolata sulla base di tipici esperimenti interni. Il numero di campioni può variare a seconda della gestione del flusso di lavoro, della qualità del campione o della libreria di input e dell'output effettivo del sequenziamento di ciascuna piattaforma e cella a flusso. I dati effettivi sono stati acquisiti su NovaSeq 6000 System e NovaSeq X System utilizzando celle a flusso S4 e 10B rispettivamente ed estrapolati su altri strumenti e celle a flusso.
 b. I kit di reagenti NextSeq 550 supportano lunghezze di lettura di 2 × 150 bp.
 c. Su NextSeq 1000 System sono disponibili anche celle a flusso P2 con la stessa processività del campione.
 d. Il raggruppamento delle librerie con questi volumi richiede indici aggiuntivi.

Prestazioni di arricchimento

Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2 dimostra elevate prestazioni di arricchimento in condizioni di ibridazione di 1,5 e 16 ore (Figura 4). Il design curato della sonda supporta l'efficiente cattura ibrida, che si riflette nelle alte percentuali di letture "padded" univoche e di basi "padded" univoche allineate alle regioni target.

La stabilità della copertura media del target è simile in entrambe le condizioni, a riprova di una rappresentazione affidabile degli esoni target. Rimane elevata anche la percentuale di letture univoche che attraversano il filtro allineate alle regioni target, essenziale per il rilevamento affidabile delle varianti sui loci biologicamente rilevanti.

Uniformità della copertura e rappresentazione del target

Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2 dimostra anche una copertura uniforme e affidabile sugli esoni target in condizioni di ibridazione di 1,5 e 16 ore (Figura 5). Il design del pannello consente la distribuzione coerente delle letture nelle regioni target, con bassi valori di penalità fold-80 delle basi. La rappresentazione dei segmenti ricchi di GC, tradizionalmente difficili da arricchire utilizzando metodi di cattura ibrida, risulta migliorata, con ridotti livelli di dropout GC e bassa percentuale di target con copertura zero in vari contesti genomici.

Rispetto alla prima versione del saggio, Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2 mostra uniformità di copertura più elevata, livelli inferiori di dropout GC e valori ridotti di penalità fold-80 delle basi (Figura 6). Queste metriche evidenziano prestazioni più equilibrate e maggiore affidabilità del rilevamento di varianti negli esoni caratterizzati da diversa composizione di sequenza.

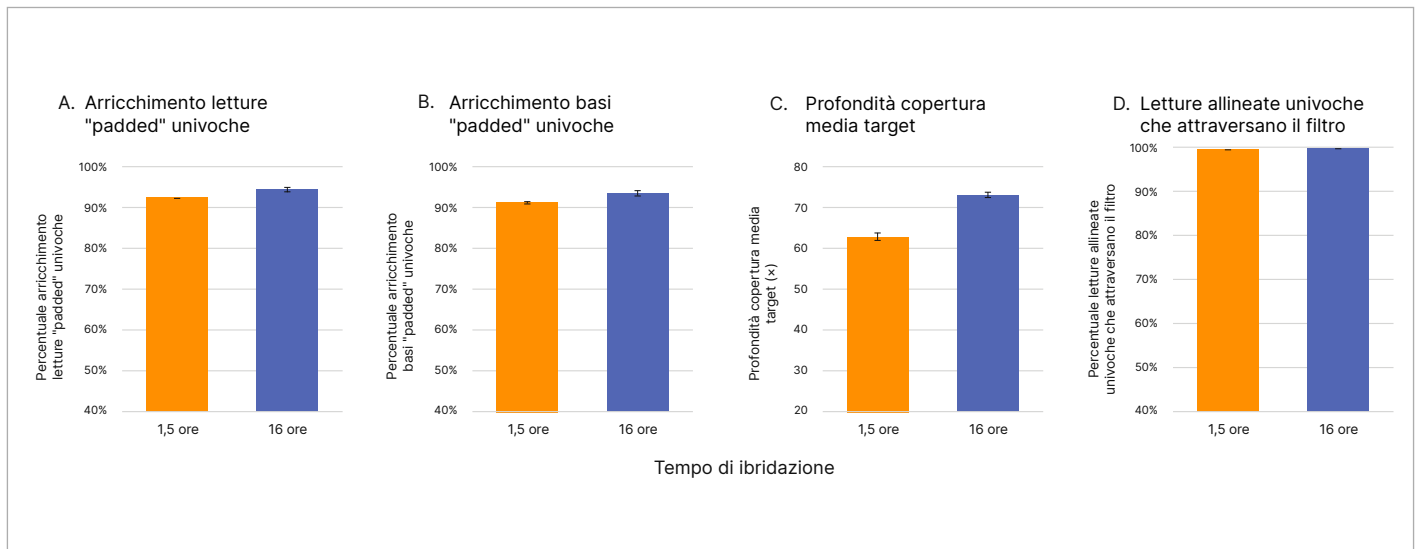


Figura 4: prestazioni di arricchimento con diversi tempi di ibridazione

Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2 dimostra elevate prestazioni di arricchimento con tempi di ibridazione di 1,5 e 16 ore. (A) Arricchimento uniformemente elevato delle letture "padded" univoche, (B) arricchimento efficace delle basi "padded" univoche su vari target, (C) profondità media di copertura del target stabile, (D) alte percentuali di letture univoche che attraversano il filtro allineate alle regioni target.

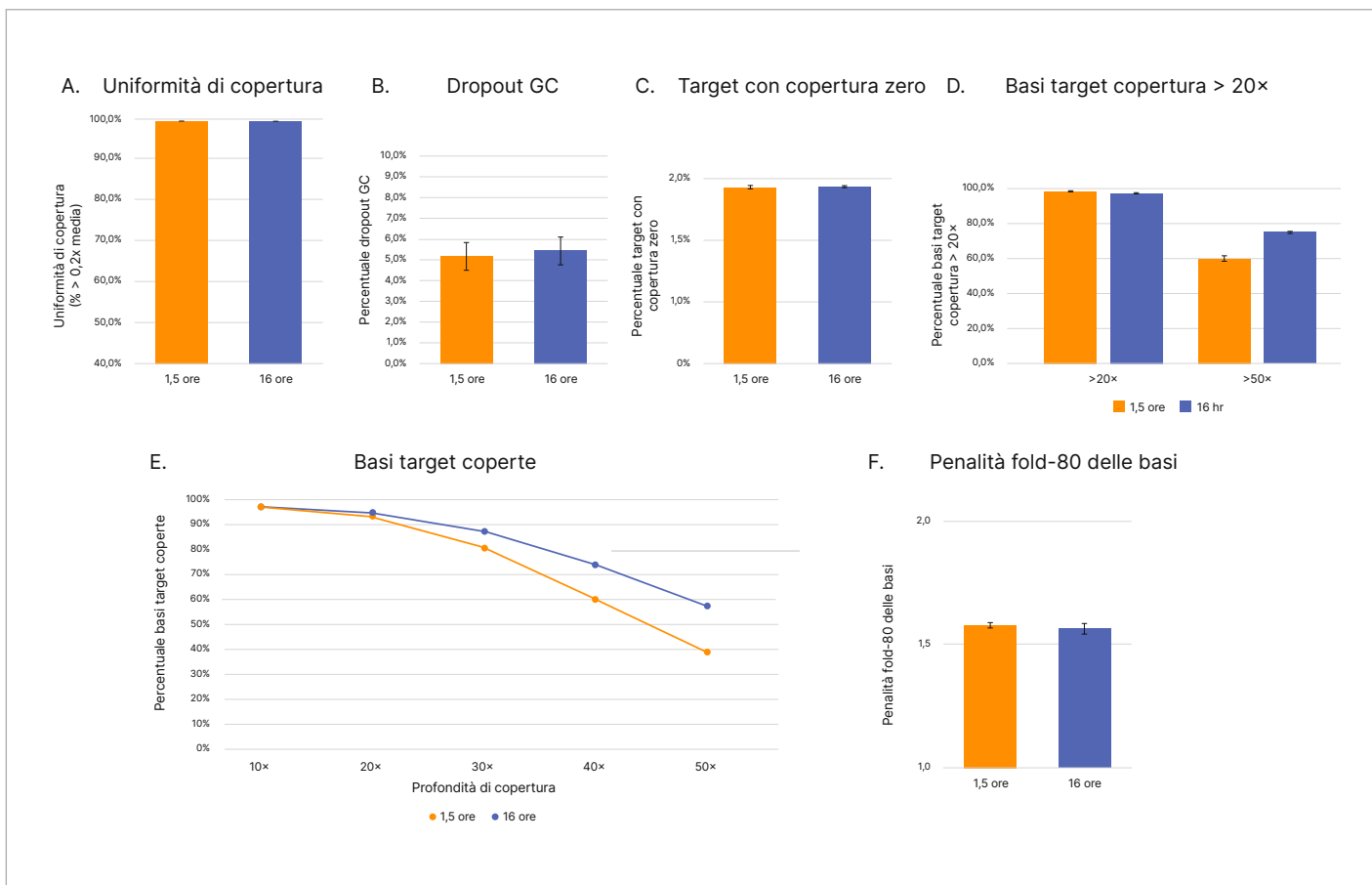


Figura 5: uniformità di copertura con diversi tempi di ibridazione

Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2 offre una copertura equilibrata e coerente con tempi di ibridazione di 1,5 e 16 ore. (A) Uniformità della copertura di diverse regioni target, (B) bassa percentuale di dropout GC, (C) percentuale ridotta di target con copertura zero, (D) percentuale elevata di target con profondità di copertura maggiore o uguale a 50x, (E) percentuale elevata di basi target coperte alle soglie di profondità indicate, (F) bassi valori di penalità fold-80 delle basi.

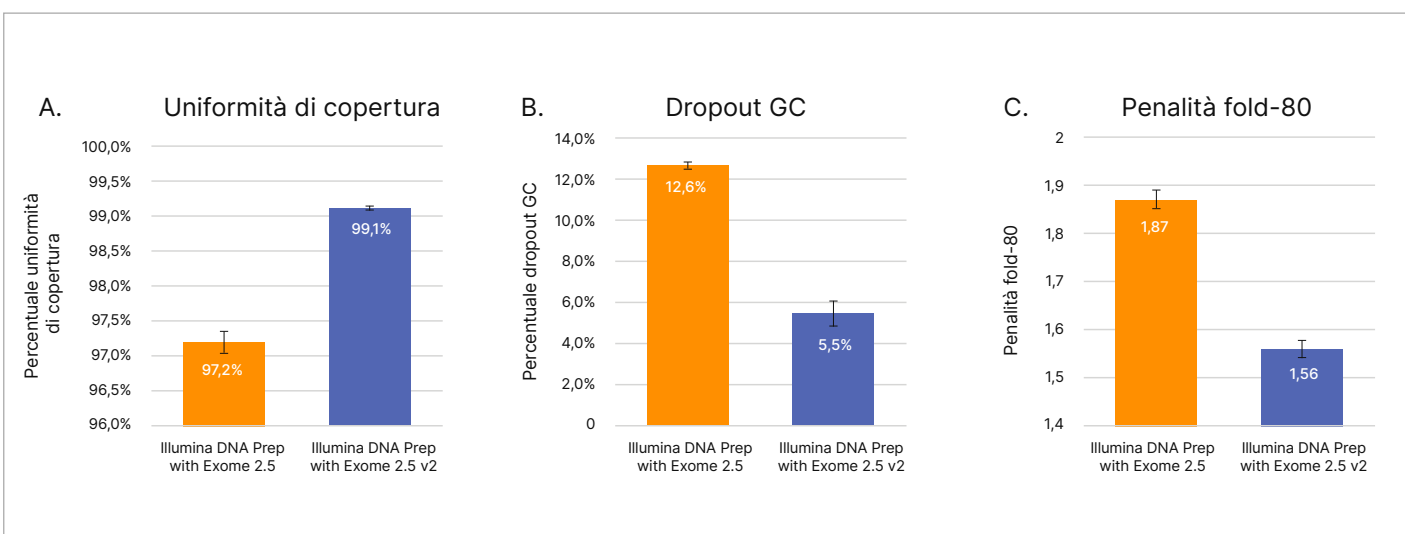


Figura 6: metriche di copertura migliorate con Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2

Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2 mostra (A) uniformità di copertura più elevata, (B) riduzione del dropout GC e (C) valori inferiori di penalità fold-80, che riflettono prestazioni migliorate rispetto alla prima versione sia per i target standard sia per quelli ricchi di GC.

Contenuto di arricchimento facoltativo

Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2 supporta contenuti di arricchimento aggiuntivi che consentono ai ricercatori di ampliare o perfezionare la copertura WES in base a specifici requisiti degli studi. Queste aggiunte si integrano direttamente nel flusso di lavoro standard senza necessità di modifiche alle fasi di preparazione o ibridazione delle librerie. La flessibilità che permette di includere contenuti genomici personalizzati rende il flusso di lavoro adatto a diverse applicazioni di ricerca, tra cui individuazione dei geni associati alle malattie, genomica del cancro e studi sui meccanismi dei tratti complessi.

Arricchimento del genoma mitocondriale

Per estendere la copertura al genoma mitocondriale, è possibile aggiungere Twist Bioscience for Illumina Mitochondrial Panel nell'ambito del flusso di lavoro di Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2. L'integrazione di questo pannello aumenta la rappresentazione dei target mitocondriali senza ridurre la copertura del pannello esomico standard (Figura 7).

Entrambi i tipi di dati possono essere generati da una sola corsa di preparazione e sequenziamento delle librerie.

Contenuti aggiuntivi personalizzati

I ricercatori possono ampliare la copertura WES utilizzando Illumina Custom Enrichment Panel v2, che consente di incorporare regioni genomiche definite dall'utente nella reazione mediante cattura ibrida. Ciò è particolarmente utile per gli studi che richiedono geni di malattie emergenti, regioni candidate da progetti di ricerca, target specifici dell'istituto o altri loci non inclusi nei modelli esomici standard. Il pannello personalizzato viene aggiunto alla fase di ibridazione esistente e non altera il flusso di lavoro principale.

Il contenuto aggiuntivo aumenta la copertura su regioni selezionate, mantenendo inalterate le prestazioni sull'intero pannello esomico base (Tabella 4). Si tratta di una modalità efficiente per incorporare ulteriori target in un flusso di lavoro WES senza eseguire saggi separati, che consente a sua volta progetti di studio flessibili mantenendo inalterate le prestazioni di copertura del pannello primario.

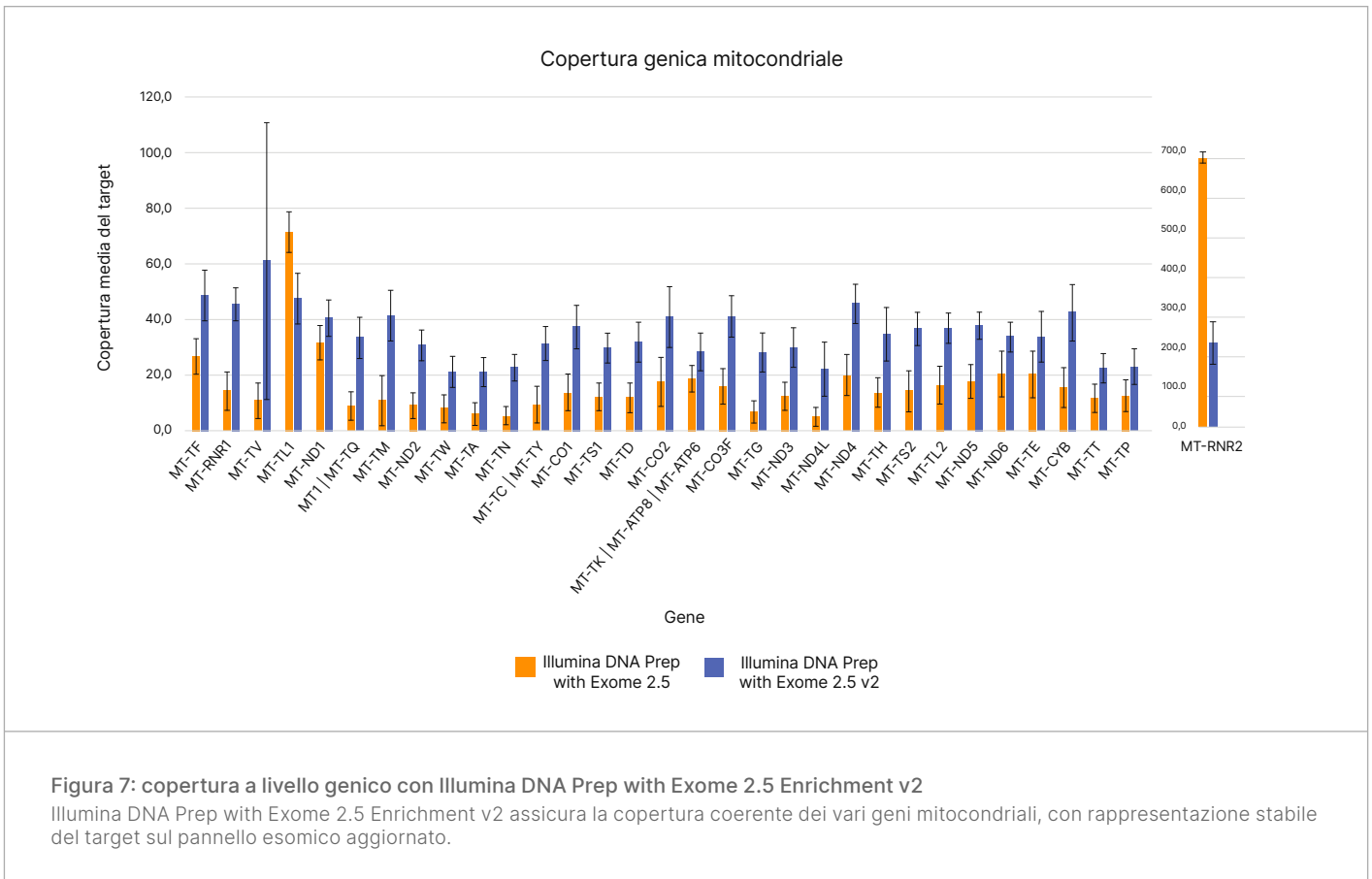


Tabella 4: il pannello aggiuntivo Illumina Custom Enrichment Panel v2 aumenta la copertura del target^a

Parametro	Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2	Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2 con pannello aggiuntivo personalizzato
Copertura media del target	66x	154x
Percentuale di target con copertura di 30x	86,90%	98,60%
Percentuale di target con copertura di 50x	71,10%	94,40%

a. Il protocollo di Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2 è stato eseguito con e senza pannello aggiuntivo personalizzato mirato alle regioni coperte da Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel. La copertura è stata quindi valutata in tutte le regioni target del pannello aggiuntivo. Le librerie arricchite sono state sequenziate su NovaSeq 6000 System utilizzando una cella a flusso S4 (50 milioni di letture paired-end, 25 milioni di cluster) e l'analisi di arricchimento è stata eseguita con l'app DRAGEN Enrichment.

Riepilogo

Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2 offre un flusso di lavoro WES semplificato e flessibile con prestazioni elevate sull'intero esoma umano. Il design del pannello assicura la copertura aggiornata dei geni biologicamente rilevanti nel contesto di un approccio mirato che ottimizza la capacità di sequenziamento. L'efficiente arricchimento dei target, le metriche di arricchimento coerenti e la copertura uniforme in condizioni di ibridazione rapide ed estese contribuiscono a fornire una rappresentazione affidabile degli esoni target, comprese regioni ricche di GC e tradizionalmente complesse. Queste prestazioni si riflettono in bassi valori di penalità fold-80 delle basi e in livelli minimi di dropout. L'arricchimento mitocondriale facoltativo e la possibilità di aggiungere contenuti personalizzati consentono ai laboratori di perfezionare o ampliare la copertura all'interno dello stesso flusso di lavoro. Insieme, queste funzionalità rendono Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2 una soluzione scalabile e affidabile per gli studi WES su malattie ereditarie, cancro e altre ricerche basate sul genoma.

Maggiori informazioni →

[Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2](#)

[Automazione della preparazione delle librerie](#)

[Analisi secondaria DRAGEN](#)

[Analisi terziaria Emedgene](#)

[DesignStudio Assay Design Tool](#)

Informazioni per gli ordini

Prodotto	N. di catalogo
Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2, (S) Tagmentation Set B (96 samples, 12-plex) ^a	20155541
Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2, (S) Tagmentation Set D (96 samples, 12-plex) ^a	20155543
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. I kit includono i reagenti Illumina DNA Prep with Enrichment v2 per la preparazione delle librerie e l'ibridazione, le microsfere Illumina Purification Beads per la pulizia/selezione delle dimensioni, le sonde di arricchimento per Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel e una piastra dell'adattatore.
b. Kit necessario per l'input diretto di sangue.
c. Scegliere un set di indici diverso, se si preferisce.
d. Twist Bioscience for Illumina Mitochondrial Panel contiene 32 µl di pannello di oligonucleotidi, materiale sufficiente per 8 reazioni di ibridazione a 4 µl ciascuna.
e. I pannelli di arricchimento personalizzati per i campioni umani possono essere progettati tramite lo strumento Illumina DesignStudio. L'assistenza alla progettazione per i contenuti non umani è fornita dal team di progettazione Illumina Concierge. Per maggiori informazioni sui servizi di progettazione Concierge, contattare il rappresentante commerciale Illumina.

Bibliografia

1. Clark MM, Stark Z, Farnaes L, et al. [Meta-analysis of the diagnostic and clinical utility of genome and exome sequencing and chromosomal microarray in children with suspected genetic diseases](#). *NPJ Genom Med*. 2018;3:16. doi:10.1038/s41525-018-0053-8
2. Heydt C, Rehker J, Pappesch R, et al. [Analysis of tumor mutational burden: correlation of five large gene panels with whole exome sequencing](#). *Sci Rep*. 2020;10(1):11387. doi:10.1038/s41598-020-68394-4
3. Kopetz S, Mills Shaw KR, Lee JJ, et al. [Use of a targeted exome next-generation sequencing panel offers therapeutic opportunity and clinical benefit in a subset of patients with advanced cancers](#). *JCO Precis Oncol*. 2019;3:PO.18.00213. doi:10.1200/PO.18.00213
4. 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](#). Pubblicato il 2 giugno 2021. Consultato il 19 novembre 2025.
5. Illumina. Scheda tecnica di 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](#). Pubblicata il 29 ottobre 2020. Consultata il 19 novembre 2025.
6. NIH National Library of Medicine. RefSeq: NCBI Reference Sequence Database. Sito web NCBI. [ncbi.nlm.nih.gov/refseq](#). Aggiornato il 18 luglio 2023. Consultato il 19 novembre 2025.
7. CCDS - Consensus CDS (CCDS) Database. Sito web NCBI. [ncbi.nlm.nih.gov/projects/CCDS/CcdeBrowse.cgi](#). Aggiornato il 9 novembre 2022. Consultato il 19 novembre 2025.
8. NIH National Library of Medicine. ACMG Recommendations for Reporting of Secondary Findings in Clinical Exome and Genome Sequencing. Sito web NCBI. [ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/docs/acmg](#). Aggiornato il 27 giugno 2023. Consultato il 19 novembre 2025.
9. Catalog of Somatic Mutations in Cancer (COSMIC). Sito web COSMIC. [cancer.sanger.ac.uk/cosmic/download](#). Pubblicato il 23 maggio 2023. Consultato il 19 novembre 2025.
10. Cancer Gene Census. Sito web COSMIC. [cosmickb.org/about](#). Pubblicato nel 2025. Consultato il 19 novembre 2025.
11. Catalog of Human Genes and Genetic Disorders. Sito web OMIM. [omim.org](#). Aggiornato il 26 luglio 2023. Consultato il 19 novembre 2025.
12. NIH National Library of Medicine. ClinVar Database. [ncbi.nlm.nih.gov/clinvar](#). Aggiornato il 24 luglio 2023. Consultato il 19 novembre 2025.
13. GATK Team. [CollectHsMetrics \(Picard\)](#). Pubblicato il 7 gennaio 2020. Consultato il 19 novembre 2025.



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

© 2026 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, visitare la pagina web [www.illumina.com/company/legal.html](#).
M-GL-03952 ITA v2.0