

Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2

Desempenho de WES (Whole-exome sequencing, Sequenciamento de exoma completo) aprimorado com melhor cobertura do exoma



Obtenha um enriquecimento eficiente do exoma com tagmentação no bead



Analise regiões genômicas desafiadoras e ricas em variantes com um design de painel otimizado



Expanda a cobertura usando conteúdo mitocondrial opcional e de spike-in personalizado

Introdução

O sequenciamento de exoma completo (WES, Whole-exome sequencing) é uma ferramenta essencial para a descoberta da base genética de doenças e câncer hereditários.¹⁻³ À medida que as necessidades de pesquisa se expandem, os laboratórios exigem soluções de WES que forneçam um enriquecimento consistente, uma forte representação de regiões variáveis e ricas em GC e fluxos de trabalho eficientes que possam ser dimensionados sem aumentar as demandas de sequenciamento.

O ensaio original Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment forneceu um fluxo de trabalho de WES simplificado usando processos de enriquecimento de captura híbrida e compatíveis com automação. O Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2 introduz química atualizada para melhor desempenho, usando menos capacidade de sequenciamento. O ensaio v2 oferece melhor enriquecimento no alvo e minimiza leituras fora do alvo, ao mesmo tempo que aborda uma cobertura de GC mais baixa e melhora a uniformidade da cobertura em éxons específicos.

O enriquecimento mitocondrial opcional e o conteúdo spike-in personalizado são compatíveis, permitindo que os laboratórios refinem ou ampliem a cobertura-alvo no mesmo fluxo de trabalho.

A solução de preparação e enriquecimento de bibliotecas faz parte de um fluxo de trabalho de ponta a ponta que abrange desde a preparação de amostras até a geração de relatórios (Figura 1). O ensaio usa a mesma preparação de biblioteca baseada em tagmentação e enriquecimento de captura híbrida do ensaio original, mantendo um fluxo de trabalho compatível com automação com desempenho reproduzível (Figura 2).

Em conjunto, os avanços no Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2 oferecem um desempenho aprimorado do enriquecimento, uma melhor cobertura de regiões GC e opções flexíveis de conteúdo, além de permitir estudos escaláveis sem complexidade adicional.

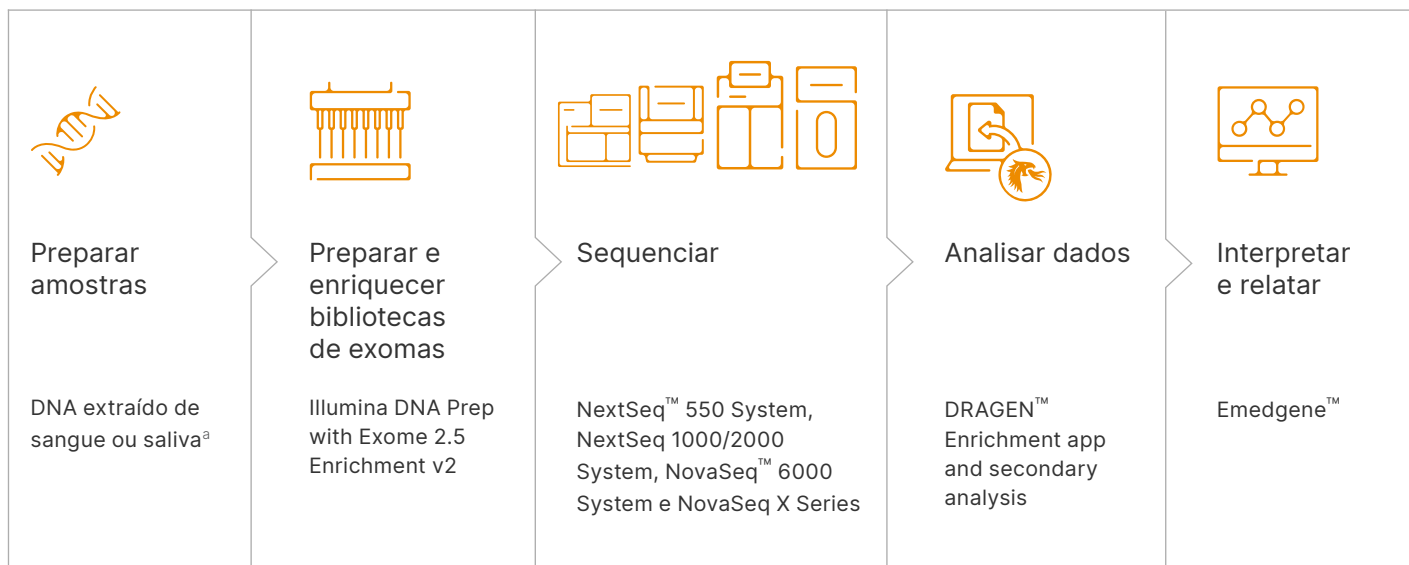


Figura 1: Fluxo de trabalho de WES de ponta a ponta

O Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2 faz parte de um fluxo de trabalho abrangente que oferece suporte ao WES, desde a preparação da amostra até a análise e interpretação dos dados. O DNA genômico extraído é preparado e enriquecido usando o Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2, com tempo de manuseio reduzido por meio de fluxos de trabalho compatíveis com automação. As bibliotecas enriquecidas são sequenciadas e a análise de enriquecimento é executada com o aplicativo DRAGEN Enrichment. A identificação de variantes é realizada com o DRAGEN secondary analysis.⁴ A interpretação pode ser realizada com ferramentas como o Emedgene.

a. O DNA é extraído usando o Flex Lysis Reagent Kit.

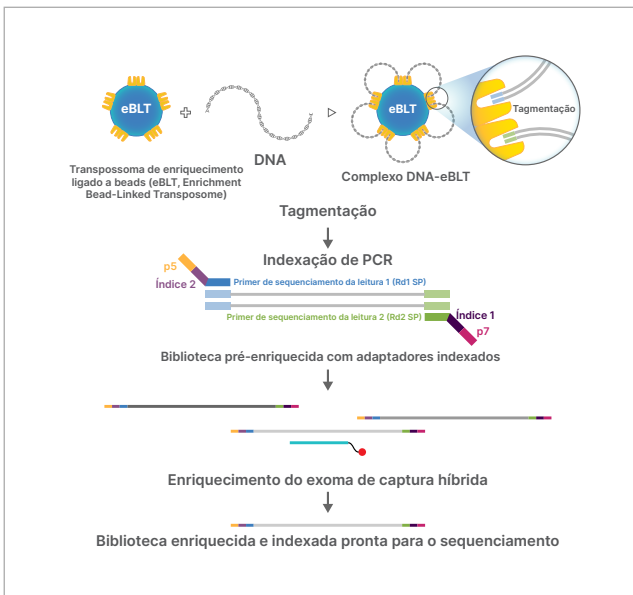


Figura 2: Preparação simplificada de biblioteca baseada em tagmentação com enriquecimento do exoma

A química de tagmentação no bead faz a mediação da fragmentação uniforme e a marcação do adaptador com alta tolerância à variação das quantidades de entrada de DNA.⁵ Após o enriquecimento de captura híbrida, as bibliotecas preparadas estão prontas para sequenciamento e a abordagem de normalização integrada ajuda a dar suporte até mesmo à geração de dados de sequenciamento em bibliotecas enriquecidas.

Cobertura abrangente e focada de variantes associadas a doenças

O Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2 usa um painel de exoma atualizado que equilibra variedade e eficiência ao concentrar a capacidade de sequenciamento em regiões com a maior relevância para a pesquisa de doenças humanas. O kit completo inclui o Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel, que oferece cobertura selecionada de sequências codificantes de recursos públicos amplamente usados, incluindo RefSeq, CCDS, ACMG, COSMIC e OMIM* (Tabela 1).⁶⁻¹¹ Essa estratégia de direcionamento reflete o conhecimento atual de genes associados a doenças, mantendo um espaço ocupado focado que preserva a eficiência do sequenciamento.

* 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.

Além da cobertura abrangente no nível do gene, o painel tem como alvo regiões exônicas em que variantes patogênicas e provavelmente patogênicas são frequentemente relatadas em alguns bancos de dados, como ClinVar e ACMG (Tabela 2). Isso embasa estudos que dependem de representação consistente de locais de variantes bem caracterizados em todo o exoma.

O design também enfatiza o desempenho em regiões desafiadoras, incluindo segmentos ricos em GC e éxons difíceis de cobrir. Melhorias na colocação da sonda e na seleção do alvo ajudam a manter a uniformidade da cobertura e a minimizar o dropout, permitindo a detecção confiável de variantes em uma ampla variedade de contextos genômicos.

Tabela 1: Cobertura de regiões de codificação representadas em bancos de dados principais com o Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel

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

Tabela 2: Cobertura de locais de variantes patogênicas e provavelmente patogênicas incluídos em bancos de dados de variantes genéticas relacionadas a doenças

CDS de variantes patogênicas/provavelmente patogênicas do ClinVar ^{a,12}	98,6%
CDS de variantes patogênicas/provavelmente patogênicas do ACMG 73 ^{b,8}	99,9%

a. O arquivo público do ClinVar descreve relações entre variações humanas e fenótipos com evidências de apoio. Variantes patogênicas/provavelmente patogênicas são relatadas com base nas diretrizes de classificação do ClinVar.

b. A lista de variantes patogênicas/provavelmente patogênicas do ACMG inclui as variantes sobrepostas entre as sequências codificantes selecionadas dos genes do ACMG e variantes patogênicas/provavelmente patogênicas do ClinVar.

Ao concentrar a cobertura na parte mais informativa do exoma e limitar a representação de regiões de baixo valor ou baixo rendimento, o painel permite o uso eficiente da capacidade de sequenciamento, mantendo a profundidade onde é mais importante. Esse espaço ocupado direcionado é compatível com lotes flexíveis nas plataformas de sequenciamento da Illumina, permitindo que os laboratórios otimizem a produtividade e o custo por amostra de acordo com o tamanho do projeto e as necessidades experimentais (Tabela 3).

Ampla cobertura de alvos selecionados

O Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2 oferece ampla cobertura em recursos clínicos e de pesquisa selecionados em condições de hibridização rápida e estendida (Figura 3). Esse nível de cobertura ajuda a garantir que genes e regiões comumente usados na pesquisa de doenças humanas sejam consistentemente representados, reduzindo a probabilidade de lacunas no conteúdo exômico principal.

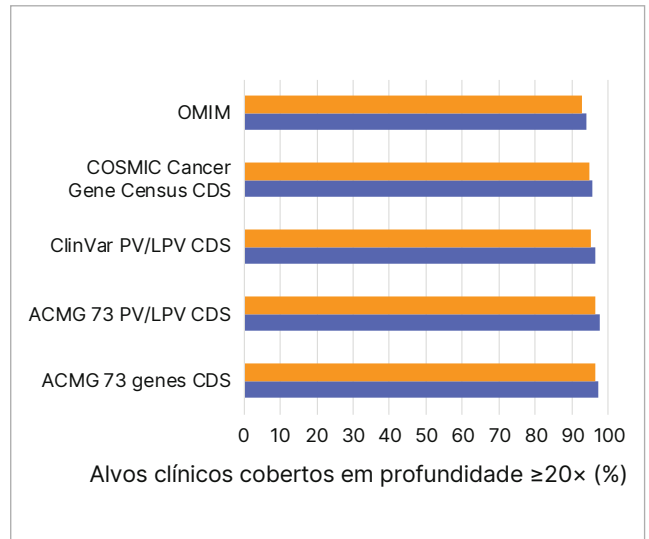


Figura 3: Cobertura consistente de alvos associados a doenças em condições de hibridização

O Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2 alcança altos percentuais de alvos que atingem uma cobertura ≥20x sob condições de hibridização de 1,5 hora (laranja) e 16 horas (azul). São mostrados resultados representativos para genes e variantes listados nos principais bancos de dados públicos, incluindo ACMG, ClinVar, OMIM e COSMIC.⁸⁻¹³

ACMG, American College of Medical Genetics and Genomics; CDS, coding sequence; COSMIC, Catalogue of Somatic Mutations in Cancer; OMIM, Online Mendelian Inheritance in Man; PV/LPV (pathogenic/likely pathogenic variant, variante patogênica/provavelmente patogênica).

Tabela 3: Capacidade da amostra para WES por sistema de sequenciamento e lâmina de fluxo^a

Profundidade média desejada da cobertura-alvo	N.º de amostras										
	NextSeq 550 System ^b		NextSeq 2000 System		NovaSeq 6000 System				NovaSeq X System		
	Média produção	Alta produção	P2 ^c	P3	SP	S1	S2	S4	1,5 bilhão	10 bilhões	25 bilhões
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. As estimativas se baseiam em uma duração da leitura de 2 × 100 bp, calculada de acordo com experimentos internos típicos. O número de amostras pode variar dependendo do manuseio do fluxo de trabalho, da qualidade da amostra ou da biblioteca de entrada e da geração de dados de sequenciamento real de cada plataforma e lâmina de fluxo. Os dados reais foram adquiridos no NovaSeq 6000 System e no NovaSeq X System, usando lâminas de fluxo S4 e 10B, respectivamente, e foram extrapolados para outros instrumentos e lâminas de fluxo.

b. Os kits de reagentes NextSeq 550 são compatíveis com durações de leitura de 2 × 150 bp.

c. As lâminas de fluxo P2 de mesmo rendimento de amostras também estão disponíveis no NextSeq 1000 System.

d. O pooling de bibliotecas nessa escala exige índices adicionais.

Desempenho do enriquecimento

O Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2 demonstra um forte desempenho de enriquecimento para condições de hibridização de 1,5 hora e 16 horas (Figura 4). O design refinado da sonda oferece suporte a uma captura híbrida eficiente, refletida em altas proporções de leituras padded exclusivas e bases padded exclusivas alinhadas com as regiões-alvo.

A cobertura-alvo média é similarmente estável em ambas as condições, indicando uma representação confiável dos éxons-alvo. A porcentagem de leituras exclusivas do filtro de passagem alinhadas com as regiões-alvo também permanece alta, dando suporte a uma detecção confiável de variantes em loci biologicamente relevantes.

Uniformidade da cobertura e representação do alvo

O Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2 também demonstra uma cobertura uniforme e confiável em éxons-alvo para condições de hibridização de 1,5 hora e 16 horas (Figura 5). O design do painel oferece suporte à distribuição consistente de leituras em regiões-alvo, produzindo valores baixos de penalidade de base fold-80. Os segmentos ricos em GC, que tradicionalmente são difíceis de enriquecer usando métodos de captura híbrida, mostram melhor representação, com redução do dropout de GC e um baixo percentual de alvos de cobertura zero em diversos contextos genômicos.

Em comparação com a versão original, o Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2 apresenta maior uniformidade de cobertura, menor dropout de GC e valores reduzidos de penalidade de base fold-80 (Figura 6). Essas métricas demonstram um desempenho mais equilibrado e uma detecção confiável de variantes em éxons com composição de sequência variada.

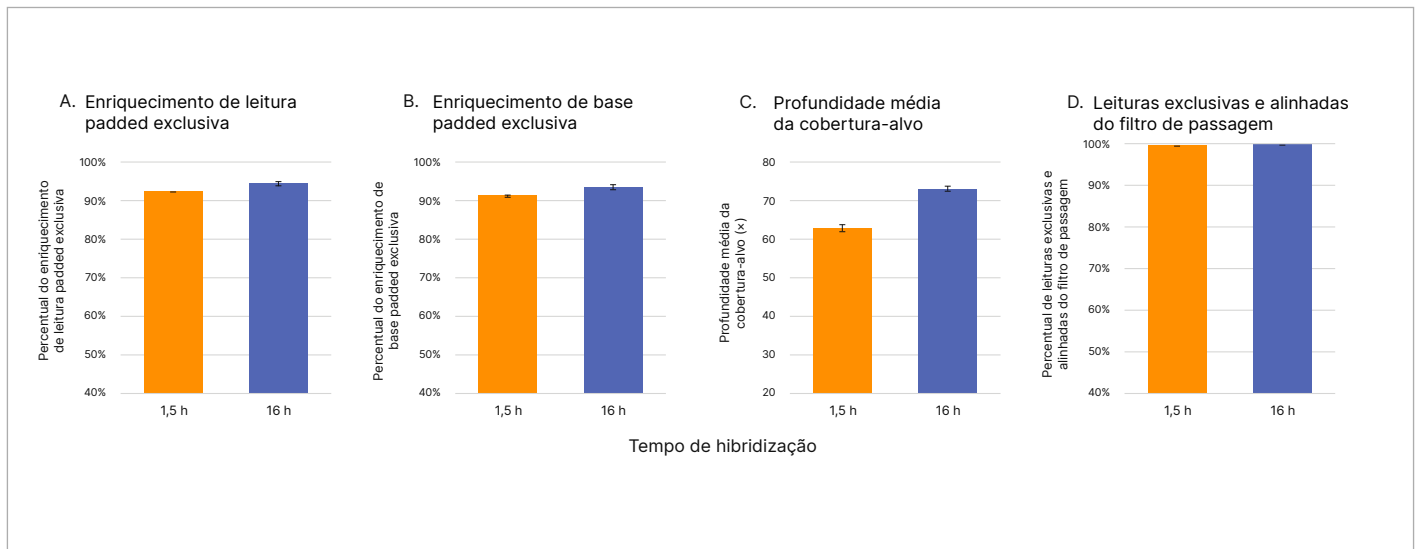


Figura 4: Desempenho do enriquecimento em tempos de hibridização

O Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2 demonstra um desempenho de enriquecimento consistente para tempos de hibridização de 1,5 hora e 16 horas. (A) enriquecimento consistentemente alto de leitura padded exclusiva, (B) enriquecimento forte de base padded exclusiva nos alvos, (C) profundidade média estável da cobertura-alvo, (D) percentuais altos de leituras exclusivas de filtro de passagem alinhadas com as regiões-alvo.

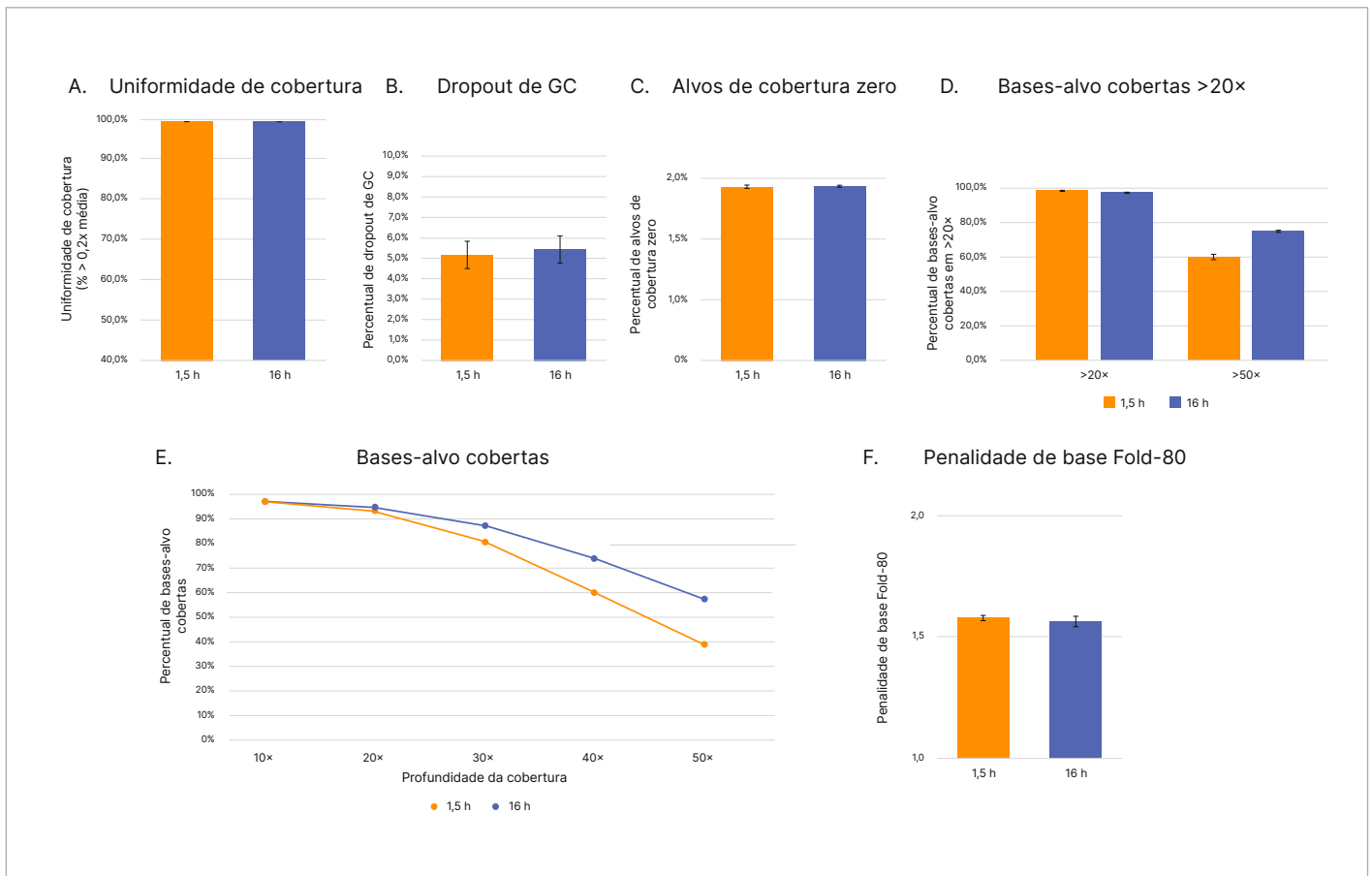


Figura 5: Uniformidade de cobertura em tempos de hibridização

O Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2 fornece cobertura equilibrada e consistente para tempos de hibridização de 1,5 hora e 16 horas. (A) uniformidade da cobertura nas regiões-alvo, (B) percentual baixo de dropouts de GC, (C) percentual baixo de alvos de cobertura zero, (D) percentual alto de alvos com profundidade de cobertura $\geq 50\times$, (E) percentual alto de bases-alvo cobertas nos limites de profundidade indicados, (F) valores baixos de penalidade de base fold-80.

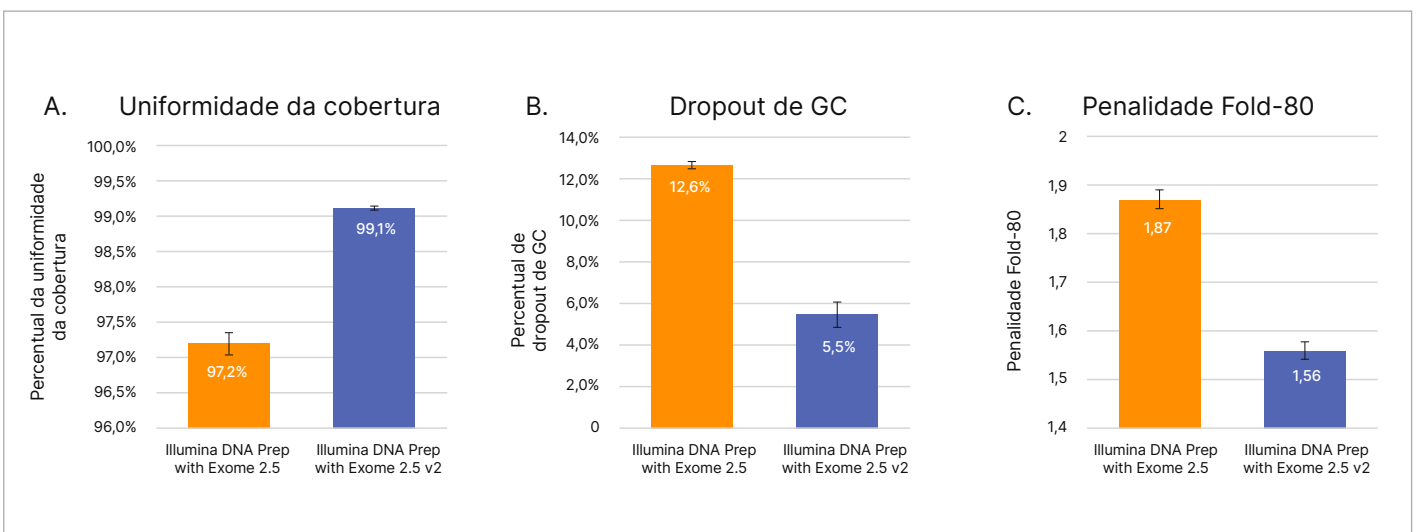


Figura 6: Métricas de cobertura aprimoradas com o Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2

O Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2 mostra (A) maior uniformidade de cobertura, (B) dropout de GC reduzido e (C) valores mais baixos de penalidade de base fold-80, refletindo um melhor desempenho em alvos padrão e em alvos ricos em GC em comparação com a versão original.

Conteúdo de enriquecimento opcional

O Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2 oferece suporte a conteúdo adicional de enriquecimento que permite que os pesquisadores estendam ou refinem a cobertura do WES com base em requisitos específicos do estudo. Essas adições se integram diretamente ao fluxo de trabalho padrão sem exigir alterações nas etapas de preparação ou hibridização da biblioteca. A flexibilidade para incluir conteúdo genômico personalizado torna o fluxo de trabalho adequado para diversas aplicações de pesquisa, incluindo descoberta de genes de doenças, genômica do câncer e estudos mecanísticos de traços complexos.

Enriquecimento do genoma mitocondrial

O Twist Bioscience for Illumina Mitochondrial Panel pode ser adicionado como um spike-in para estender a cobertura ao genoma mitocondrial dentro do fluxo de trabalho do Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2. A incorporação desse painel aumenta a representação de alvos mitocondriais sem reduzir a cobertura do painel de exoma padrão (Figura 7).

Ambos os tipos de dados podem ser gerados com base em uma única preparação de biblioteca e corrida de sequenciamento.

Conteúdo de spike-in personalizado

Os pesquisadores podem expandir a cobertura do WES usando o Illumina Custom Enrichment Panel v2, que permite que regiões genômicas definidas pelo usuário sejam incorporadas à reação de captura híbrida. Isso é valioso para estudos que exigem genes de doenças emergentes, regiões candidatas de projetos de descoberta, alvos específicos da instituição ou outros loci não incluídos em desenhos de exoma padrão. O painel personalizado é adicionado como um spike-in à etapa de hibridização existente e não altera o fluxo de trabalho principal.

O conteúdo de spike-in aumenta a cobertura em regiões selecionadas, mantendo o desempenho no painel do exoma básico (Tabela 4). Isso fornece uma maneira eficiente de incorporar alvos adicionais a um fluxo de trabalho de WES sem executar um ensaio separado, oferecendo suporte a desenhos de estudo flexíveis e preservando o desempenho da cobertura do painel principal.

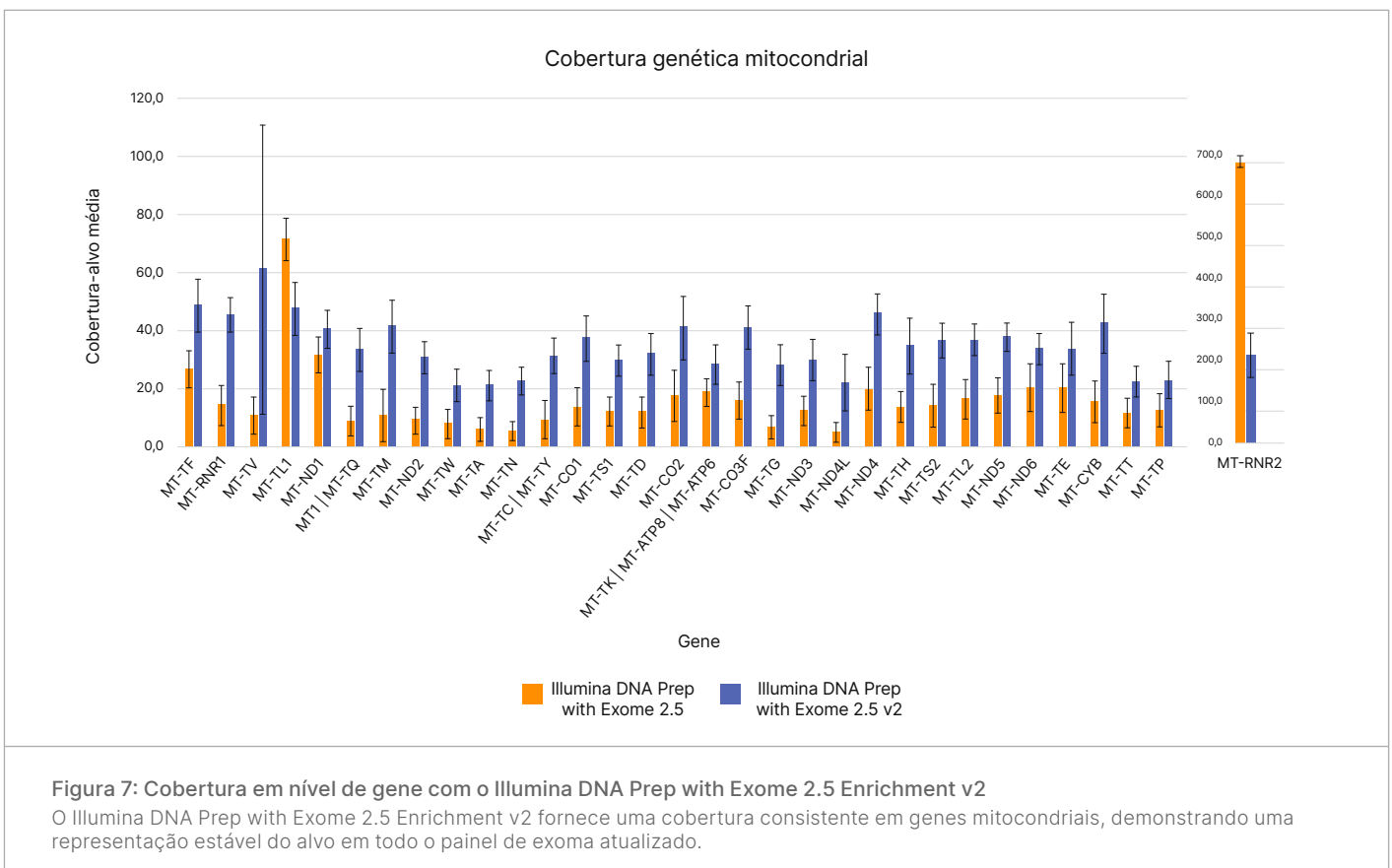


Tabela 4: O painel spike-in do Illumina Custom Enrichment Panel v2 aumenta a cobertura-alvo^a

Parâmetro	Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2	Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2 associado a painel spike-in personalizado
Cobertura-alvo média	66x	154x
Percentual de alvos cobertos em 30x	86,90%	98,60%
Percentual de alvos cobertos em 50x	71,10%	94,40%

a. O protocolo do Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2 foi realizado com e sem um painel spike-in personalizado direcionado a regiões cobertas pelo Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel. A cobertura foi então avaliada nas regiões visadas pelo painel spike-in. As bibliotecas enriquecidas foram sequenciadas no NovaSeq 6000 System por meio de uma lâmina de fluxo S4 (50 milhões de leituras tipo paired-end, 25 milhões de clusters) e a análise de enriquecimento foi realizada com o aplicativo DRAGEN Enrichment.

Resumo

O Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2 oferece um fluxo de trabalho de WES simplificado e flexível com forte desempenho em todo o exoma humano. O design do painel fornece uma cobertura atual de genes biologicamente relevantes dentro de um espaço ocupado focado que otimiza a capacidade de sequenciamento. Enriquecimento eficiente de alvos, métricas consistentes de enriquecimento e cobertura uniforme sob condições de hibridização rápida e estendida ajudam a garantir a representação confiável de éxons-alvo, incluindo regiões ricas em GC e tradicionalmente desafiadoras. Esse desempenho é refletido em valores baixos de penalidade de base fold-80 e em dropout mínimo. O enriquecimento mitocondrial opcional e o suporte para conteúdo spike-in personalizado permite que os laboratórios ampliem ou refinem a cobertura no mesmo fluxo de trabalho. Em conjunto, esses recursos fazem com que o Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment v2 seja uma solução escalável e confiável para estudos de WES em doenças hereditárias, câncer e outras pesquisas baseadas em genoma.

Saiba mais →

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

[Automação da preparação da biblioteca](#)

[DRAGEN secondary analysis](#)

[Emedgene tertiary analysis](#)

[DesignStudio Assay Design Tool](#)

Informações para pedidos

Produto	N.º do catálogo
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 (1.536 µl, 120 bp) ^e	20111339

a. Os kits incluem os reagentes de preparação e hibridização da biblioteca do Illumina DNA Prep with Enrichment v2, beads de purificação da Illumina para limpeza/seleção de tamanho, sondas de enriquecimento do Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel e uma placa adaptadora de índices.

b. Kit necessário para entrada direta de sangue.

c. Escolha um conjunto de índices diferente, se preferir.

d. O Twist Bioscience for Illumina Mitochondrial Panel contém 32 µl de painel de oligonucleotídeos, material suficiente para 8 reações de hibridização a 4 µl cada.

e. Os painéis de enriquecimento personalizados para amostras humanas podem ser projetados por meio da ferramenta Illumina DesignStudio. O suporte a projetos de conteúdo não humano é proporcionado pela equipe de design do Illumina Concierge. Entre em contato com o representante de vendas da Illumina para obter mais informações sobre os serviços de design do Concierge.

Referências

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](#). Publicado em 2 de junho de 2021. Acessado em 19 de novembro de 2025.
5. 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](#). Publicado em 29 de outubro de 2020. Acessado em 19 de novembro de 2025.
6. NIH National Library of Medicine. RefSeq: NCBI Reference Sequence Database. Site do NCBI. [ncbi.nlm.nih.gov/refseq](#). Atualizado em 18 de julho de 2023. Acessado em 19 de novembro de 2025.
7. CCDS - Consensus CDS (CCDS) Database. Site do NCBI. [ncbi.nlm.nih.gov/projects/CCDS/CcidsBrowse.cgi](#). Atualizado em 9 de novembro de 2022. Acessado em 19 de novembro de 2025.
8. NIH National Library of Medicine. ACMG Recommendations for Reporting of Secondary Findings in Clinical Exome and Genome Sequencing. Site do NCBI. [ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/docs/acmg](#). Atualizado em 27 de junho de 2023. Acessado em 19 de novembro de 2025.
9. Catalog of Somatic Mutations in Cancer (COSMIC). Site do COSMIC. [cancer.sanger.ac.uk/cosmic/download](#). Publicado em 23 de maio de 2023. Acessado em 19 de novembro de 2025.
10. Cancer Gene Census. Site do COSMIC. [cosmickb.org/about](#). Publicado em 2025. Acessado em 19 de novembro de 2025.
11. Catalog of Human Genes and Genetic Disorders. Site do OMIM. [omim.org](#). Site do OMIM. [omim.org](#). Atualizado em 26 de julho de 2023. Acessado em 19 de novembro de 2025.
12. NIH National Library of Medicine. ClinVar Database. [ncbi.nlm.nih.gov/clinvar](#). Atualizado em 24 de julho de 2023. Acessado em 19 de novembro de 2025.
13. GATK Team. [CollectHsMetrics \(Picard\)](#). Publicado em 7 de janeiro de 2020. Acessado em 19 de novembro de 2025.



+1 (800) 809-4566, ligação gratuita (EUA) | tel. +1 (858) 202-4566
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2026 Illumina, Inc. Todos os direitos reservados. Todas as marcas comerciais pertencem à Illumina, Inc. ou aos respectivos proprietários. Para obter informações específicas sobre marcas comerciais, consulte [www.illumina.com/company/legal.html](#).
M-GL-03952 PTB v2.0