FICHE TECHNIQUE

Illumina DNA Prep with Enrichment

Flux de travail rapide et intégré pour une vaste gamme d'applications d'enrichissement ciblé

- Fournit un flux de travail rapide de préparation et d'enrichissement des librairies avec un temps de traitement total d'environ 6,5 heures
- Plus grande efficacité lors de la préparation de librairies grâce à des protocoles intégrés pour le sang et la salive
- Modèles d'études avancés dans la recherche sur le cancer, la recherche sur les maladies génétiques et dans le séquençage de l'exome entier

illumina[MD]

Destiné à la recherche uniquement. Ne pas utiliser à des fins de diagnostic.

Introduction

La solution Illumina DNA Prep with Enrichment combine une préparation de librairies polyvalente, simple et rapide et une fonction d'enrichissement destinées à des applications d'enrichissement ciblé et de séquençage d'exomes. Elle offre une flexibilité remarquable pour le type et le volume d'entrée (tableau 1), et pour soutenir une vaste gamme d'applications de séquençage et d'enrichissement qui comprend les panels personnalisés, les panels préconçus et le séquençage d'exome entier d'Illumina ou d'un fournisseur tiers.

Illumina DNA Prep with Enrichment utilise la chimie novatrice basée sur des billes incorporant une seule étape d'hybridation simplifiée (figure 1). Avec le flux de travail d'Illumina DNA Prep with Enrichment, l'extraction d'ADN peut être effectuée directement à partir d'échantillons de sang frais ou de salive à l'aide de Flex Lysis Reagent Kit et du protocole de lyse des cellules de la salive, respectivement, afin d'économiser encore plus de temps.

Tableau 1 : Spécifications d'Illumina DNA Prep with Enrichment

Paramètre	Spécification
Type d'entrée d'ADN	ADNg, sang entier, salive, ADN extrait de tissus fixés au formol et inclus en paraffine (FFIP)
Entrées d'ADN vérifiées[a]	10 À 1 000 ng
Multiplexage des échantillons	384 index doubles uniques (IDU)
Regroupement préenrichissement[b]	1 ou 12 niveaux vérifiés et pris en charge
Systèmes de séquençage pris en charge	Tous les systèmes d'Illumina
Durée totale du flux de travail[c]	~ 6,5 heures

a. Des entrées d'ADN aussi faibles que 10 ng sont possibles, mais ne fourniront pas de normalisation de l'ADN basée sur la saturation.
b. D'autres plexités d'enrichissement sont possibles, mais n'ont pas été vérifiées. Une optimisation supplémentaire peut être nécessaire et des résultats optimaux ne sont pas garantis.
c. Comprend les étapes de préparation de librairies, d'enrichissement et de regroupement/normalisation de librairies.

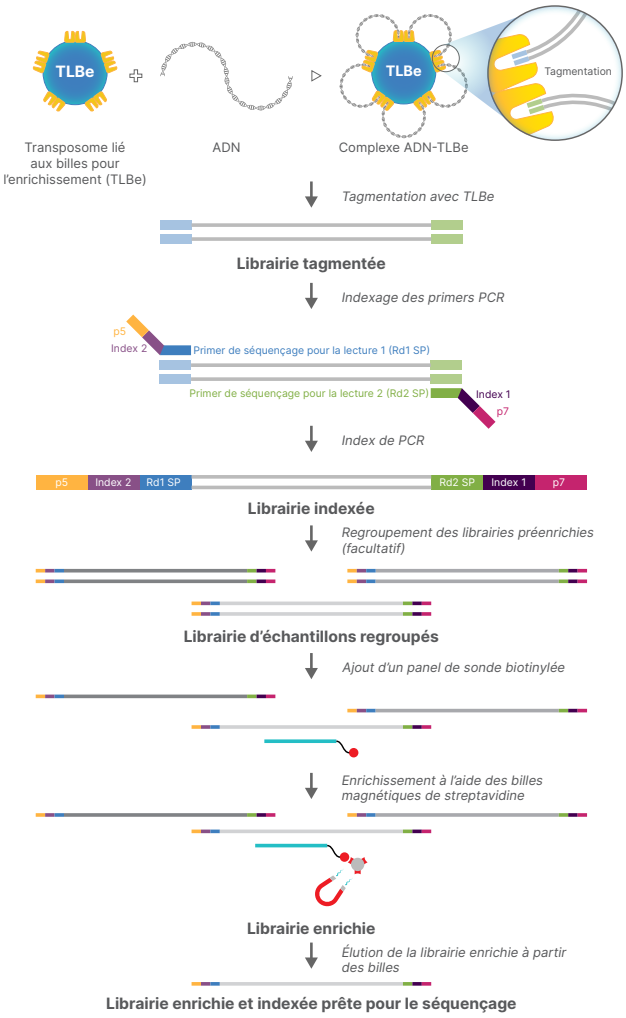

Figure 1 : Chimie de tagmentation d'Illumina : une réaction de tagmentation uniforme induite par les TLBe suivie par une réaction d'hybridation simple qui permet un flux de travail rapide et flexible.

Destiné à la recherche uniquement. Ne pas utiliser à des fins de diagnostic.

Flux de travail rapide et flexible de préparation et d'enrichissement de librairies

L'un des plus importants composants de la solution Illumina DNA Prep with Enrichment est la tagmentation sur billes, qui utilise des transposomes liés aux billes comme agents médiateurs pour produire une réaction de tagmentation plus uniforme. Cette stratégie procure de nombreux avantages importants :

- Pour les entrées d'ADNg ≥ 50 ng, la quantification précise de l'échantillon d'ADN initial n'est pas nécessaire, car la taille d'insert de fragments n'est pas affectée, ce qui permet d'économiser du temps et de réduire les coûts associés aux trousses et réactifs.
- La tagmentation sur billes élimine la nécessité des étapes de fragmentation d'ADN séparées, ce qui permet de gagner du temps et de réduire les coûts associés aux consommables de ces étapes.
- Pour les entrées d'ADNg de 50 À 1 000 ng, la normalisation de l'ADN basée sur la saturation permet d'éliminer la nécessité des étapes de normalisation et de quantification de chaque librairie avant leur enrichissement.
- Le protocole novateur d'hybridation unique en 90 minutes permet l'enrichissement en moins de quatre heures.

Flux de travail d'enrichissement rapide

La solution Illumina DNA Prep with Enrichment prend en charge les systèmes de manipulation de liquides pour automatiser la préparation des librairies et produit un flux de travail rapide et rationalisé comportant peu d'étapes et offrant une durée de manipulation et un temps de traitement réduits (figure 2, tableau 2).

Tableau 2 : Flux de travail d'enrichissement d'Illumina

Paramètre	Illumina DNA Prep with Enrichment
Option d'ADN intégrée[a]	√
Plage d'entrée d'ADN large et flexible	√
Normalisation de librairies comprise[b]	√
Compatible avec les échantillons FFIP	√
Entrée d'ADN	10 à 1 000 ng
Durée totale de la préparation de librairies et de l'enrichissement[c]	~ 6,5 h
Taille des inserts[d]	150 à 220 pb
Ensemble d'index d'échantillons	384 index doubles uniques

a. Protocoles de lyse intégrés disponibles pour le sang et la salive.
b. La normalisation de librairies se produit avec ≥ 50 ng d'entrée d'ADNg.
c. La durée totale de préparation de librairies et d'enrichissement comprend la préparation de librairies, le regroupement et la normalisation et l'enrichissement.
d. L'ADN FFIP dégradé peut entraîner des tailles d'insert plus petites.

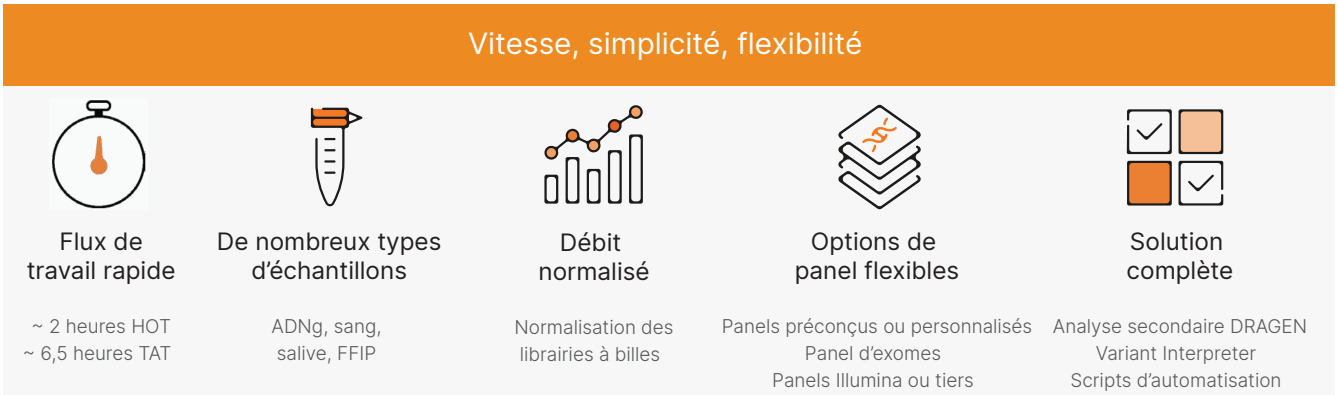

Figure 2 : Illumina DNA Prep with Enrichment procure un flux de travail d'enrichissement Illumina rapide et flexible : les durées des flux de travail sont basées sur le traitement de 12 échantillons à 12 niveaux d'enrichissement à l'aide d'un flux de travail manuel. Les durées peuvent varier selon le matériel utilisé, le nombre d'échantillons traités, l'automatisation des procédures et le niveau d'expérience de l'utilisateur. HOT, Hands-on Time (durée de manipulation); TAT, Turnaround Time (temps de traitement); FFIP, tissu fixé au formol et inclus en paraffine.

Entrée d'ADN intégrée

L'extraction d'ADN peut être traitée directement à partir des échantillons de sang entier ou de salive. La trousse Flex Lysis Reagent Kit facultative, optimisée et validée pour l'utilisation d'échantillons de sang entier et d'Illumina DNA Prep with Enrichment, est intégrée au flux de travail pour une efficacité maximale. Le protocole de lyse comporte des réactifs à base de billes et nécessite une durée de manipulation de moins de 30 minutes.

Performance optimisée avec tous les systèmes de séquençage d'Illumina

La solution Illumina DNA Prep with Enrichment robuste et simple produit des résultats fiables avec tous les systèmes de séquençage d'Illumina avec > 90 % des lectures alignées sur la cible, une uniformité > 95 % et un faible taux de duplicats de PCR (tableau 3). La solution Illumina DNA Prep with Enrichment est compatible avec plusieurs panels d'enrichissement Illumina et est optimisée pour utilisation sur les systèmes à débit bas, moyen et élevé (figure 3, tableau 4).

Tableau 3 : Comparaison des performances entre plusieurs panels d'enrichissement[a]

Paramètre[b]	Illumina Exome Panel	Panel d'exomes X	Panel d'exomes Y
Taille du panel	45 Mb	39 Mb	33 Mb
Taille de la sonde	80 pb	120 pb	120 pb
Enrichissement par lectures élargies (sur la cible)[d]	85 %	91 %	91 %
Longueur moyenne des fragments	~ 200 pb	~ 200 pb	~ 200 pb
Couverture à 20×	93 %	96 %	97 %
Uniformité de la couverture[d]	95 %	97 %	98 %
Profondeur de lecture par échantillon[e]	30 millions d'APF	25 millions d'APF	20 millions d'APF
Précision des SNV	99 %	99 %	99 %
Rappel des SNV	94 %	94 %	95 %

a. Les données sont des exemples de données de comparaison. Les mesures de performance réelles peuvent varier en fonction de la profondeur de lecture et du type d'échantillon.
b. Analyse conduite sur 48 échantillons (tous des échantillons Coriell NA12878) par condition. Analyse de données réalisée avec l'application Enrichment BaseSpace[MC] App.
c. Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment est la solution recommandée pour le séquençage de l'exome humain.
d. Consultez le guide de l'utilisateur de l'application BaseSpace[MC-2] pour plus de détails.
e. APF = Amplifiats passant le filtre

Figure 3 : Une performance optimisée avec tous les systèmes de séquençage d'Illumina : la solution Illumina DNA Prep with Enrichment est compatible avec tous les systèmes de séquençage d'Illumina, notamment les systèmes haute performance indiqués ici. Les systèmes à faible débit, notamment les systèmes iSeq[MC] 100, MiniSeq[MC] et MiSeq[MC], sont également compatibles avec Illumina DNA Prep with Enrichment.

Destiné à la recherche uniquement. Ne pas utiliser à des fins de diagnostic.

Tableau 4 : Débit d'échantillon par Flow Cell avec Illumina DNA Prep with Enrichment[a]

Panel	Couverture cible	iSeq 100 System	MiniSeq System		MiSeq System			NextSeq 550 System	
			Moyen	Élevé	v2	v2 Nano/micro	v3	Moyen	Élevé
Panels préconçus									
TruSight™ Cancer	395×	4	8	24	12	1/4	24	96	384
TruSight Hereditary Cancer	395×	4	8	24	12	1/4	24	96	384
Panels personnalisés[b]									
2 000 sondes	450×	6	12	37	22	NR/6	37	260	384
5 000 sondes	370×	3	6	18	11	NR/3	18	65	200
10 000 sondes	180×	3	6	19	11	NR/3	19	33	100
50 000 sondes	100×	NR	2	7	4	NR	7	35	107
100 000 sondes	100×	NR	NR	3	2	NR	3	17	53
300 000 sondes	100×	NR	NR	NR	NR	NR	NR	6	18

Panel	Couverture cible	NextSeq 2000 System			Série NovaSeq 6000			Série NovaSeq X		
		P1	P2	P3	S1	S2	S4	1.5B	10B	25B
Panels personnalisés[b]										
2 000 sondes	450×	148	593	1 778	2 370	6 074	14 815	2 370	14 815	38 519
5 000 sondes	370×	72	288	865	1 153	2 955	7 207	1 153	7 207	18 739
10 000 sondes	180×	74	296	889	1 185	3 037	7 407	1 185	7 407	19 259
50 000 sondes	100×	27	107	320	427	1 093	2 667	427	2 667	6 933
100 000 sondes	100×	13	53	160	213	547	1 333	213	1 333	3 467
300 000 sondes	100×	4	18	53	71	182	444	71	444	1 156

a. Moyen, débit moyen; Élevé, débit élevé; NR, non recommandé
b. On suppose que le résultat des calculs d'échantillons de panels personnalisés correspond aux profondeurs de couverture cible indiquées à l'aide de panels d'oligos d'ADN double brin de 120 pb pour la capture de cibles (Illumina Custom Enrichment Panel v2) avec une efficacité d'enrichissement de 80 % et une chimie de longueur de lecture de 2 × 101 pb. Le nombre d'échantillons peut varier en fonction de la gestion du flux de travail, l'échantillon d'entrée ou la qualité de la librairie et du débit réel de séquençage de chaque plateforme et Flow Cell.

Données exactes

La solution Illumina DNA Prep with Enrichment produit des tailles d'insert très uniformes et constantes à l'échelle d'une large plage d'entrées d'ADN, offrant ainsi des rendements de librairies uniformes et constants[1]. De plus, elle procure une grande uniformité de la couverture et un enrichissement par lectures élargies pour les panels personnalisés, les panels préconçus et les panels d'exomes (figure 4). Illumina DNA Prep with Enrichment permet d'avoir de la précision au niveau des variants mononucléotidiques (SNV, Single Nucleotide Variant) (figure 5, tableau 3) et favorise le rappel et la précision des insertions/suppressions (indels), comparativement aux autres solutions d'enrichissement d'Illumina.

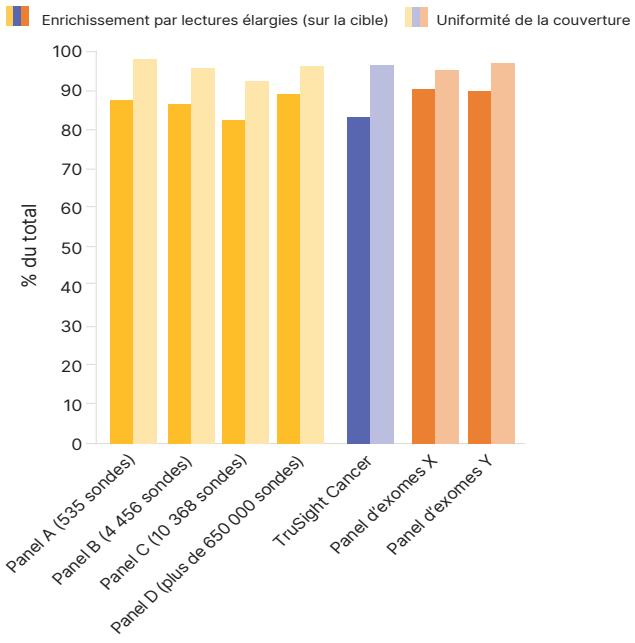

Figure 4 : Grande uniformité de la couverture et enrichissement par lectures élargies : Illumina DNA Prep with Enrichment procure une grande uniformité de la couverture et un enrichissement par lectures élargies sur la cible pour les panels personnalisés (panels A à D), les panels préconçus (TruSight Cancer) et les panels d'exomes.

Panels d'enrichissement personnalisés d'Illumina

Les panels d'enrichissement personnalisés d'Illumina fournissent un contenu rapide et flexible pour de nombreux flux de travail d'enrichissement ciblés. Concevez des panels personnalisés complets, ajoutez des panels de contrôle aux panels d'exomes ou à d'autres panels préconçus, ou modifiez la conception d'un panel pour répondre à vos besoins. Concevez du contenu à l'aide de DesignStudio℠, un outil en ligne gratuit, et créez des panels spécifiques au contenu qui vous intéresse. Recevez une rétroaction dynamique pendant la conception pour optimiser la couverture. La prise en charge de la conception de contenu non humain est assurée par l'équipe des services de conception Concierge d'Illumina. Le nouveau format de sonde disponible, Illumina Custom Enrichment Panel v2, offre des sondes à double brin de 120 pb qui fournissent un enrichissement et une uniformité élevés sur la cible et qui sont compatibles avec Illumina DNA Prep with Enrichment ainsi qu'avec d'autres préparations d'enrichissement (figure 6, tableau 5).

Enrichissement de l'ADN pour une vaste gamme d'applications

En combinant une performance d'enrichissement exceptionnelle et la précision éprouvée de la chimie de séquençage par synthèse (SBS, Sequencing by Synthesis) d'Illumina et la chimie XLEAP-SBS℠, la solution Illumina DNA Prep with Enrichment prend en charge les panels préconçus et personnalisés de diverses tailles, y compris ceux conçus pour le séquençage d'exomes entiers, pour les clients qui ont besoin d'une conception d'études avancées dans divers domaines (figure 7). De plus, Illumina DNA Prep with Enrichment est compatible avec les panels et les sondes d'Illumina et des fournisseurs tiers, permettant le transfert du contenu pour une plus grande souplesse.

Destiné à la recherche uniquement. Ne pas utiliser à des fins de diagnostic.

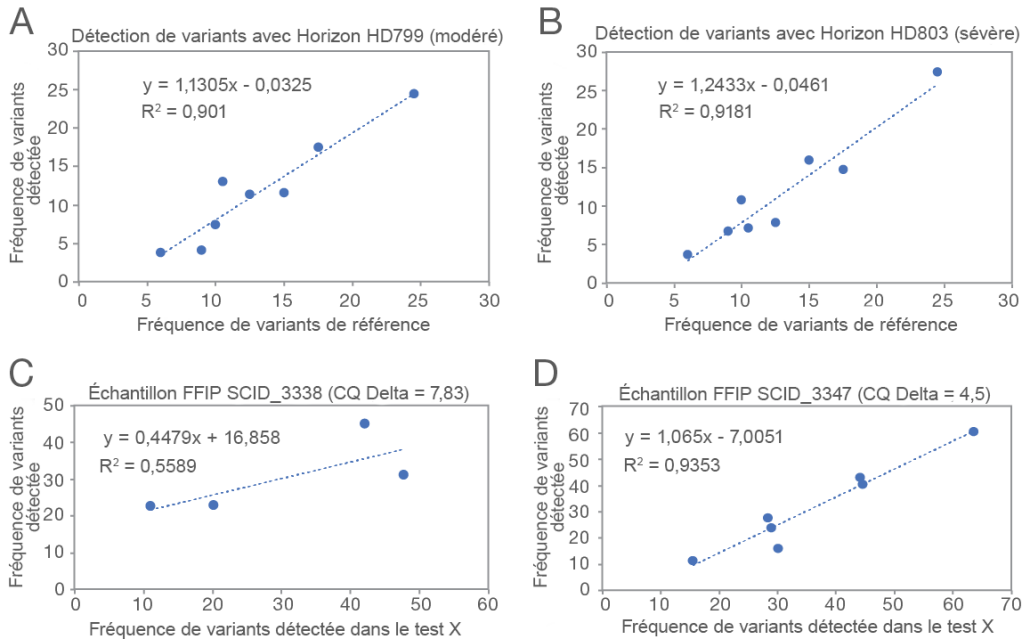

Figure 5 : Appel des variants précis : Illumina DNA Prep with Enrichment procure peu d'appels de variants somatiques pour les échantillons de contrôle comportant de l'ADN humain de référence provenant de lignées cellulaires de tissus FFIP (A, B) et les échantillons de tissus FFIP de sujets réels (C, D), les fréquences de variants observées démontrant une corrélation significative avec les fréquences provenant d'un test de séquençage orthologue.

Tableau 5 : Panels d'enrichissement personnalisés d'Illumina

Paramètre	Illumina Custom Enrichment Panel	Illumina Custom Enrichment Panel v2
Taille du panel	2 000 à 67 000 sondes	100 à 1 000 000 sondes
Format d'oligonucléotide	Sondes d'oligonucléotide à simple brin de 80-mer	Sondes d'oligonucléotide à double brin de 120 pb[a]
> 99,9 % des sondes présentes, CQ confirmé[b]	Non	Oui
Trousses de préparation de librairies d'Illumina compatibles	Illumina DNA Prep with Enrichment	Illumina DNA Prep with Enrichment Illumina Cell-Free DNA Prep with Enrichment Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment Illumina Complete Long Reads with Enrichment
Outil de conception de panels	DesignStudio ou équipe des services de conception Concierge	DesignStudio ou équipe des services de conception Concierge
Temps de traitement	De 5 à 7 semaines	De 3 à 6 semaines
Coût du panel	$$$	$

a. Les sondes d'oligonucléotide à double brin de 80 pb pour les applications de séquençage microbien peuvent être conçues par l'équipe des services de conception Concierge.
b. Confirmé par séquençage de nouvelle génération (SNG).

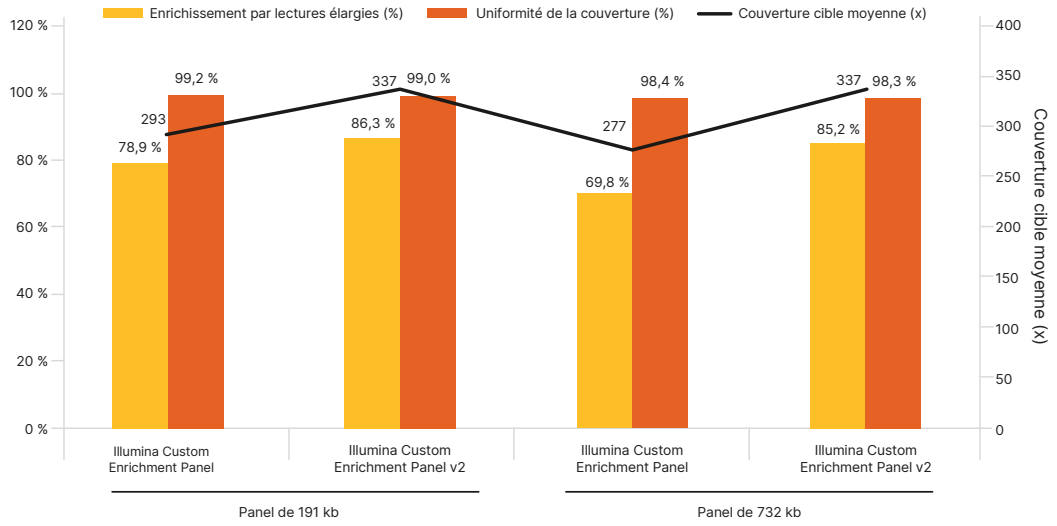

Figure 6 : Performance d'Illumina Custom Enrichment Panel d'Illumina avec Illumina DNA Prep with Enrichment : Illumina Custom Enrichment Panel v2 avec Illumina DNA Prep with Enrichment fournit un enrichissement par lectures élargies plus élevé que les Illumina Custom Enrichment Panel.

Tableau 6 : Large gamme d'applications avec Illumina DNA Prep with Enrichment

Type de panel	Application
Panels préconçus	TruSight Cancer TruSight Hereditary Cancer
Panels personnalisés	Créez des panels d'enrichissement spécifiques à vos cibles d'intérêt Développez de nouveaux panels personnalisés dans l'outil DesignStudio Utilisez les panels d'Illumina ou de fournisseurs tiers entre 500 et 675 000 sondes biotinylées à simple ou double brin Compatibles avec les oligos de 80-mer ou 120-mer à simple ou double brin Utilisez l'outil DesignStudio pour commander Illumina Custom Enrichment Panel et Illumina Custom Enrichment Panel v2
Panels d'exomes entiers	Illumina Exome Panel Ensembles de données disponibles pour Illumina Exome Panel et les panels d'exomes de fournisseurs tiers dans BaseSpace Sequence Hub

Résumé

Illumina DNA Prep with Enrichment offre le flux de travail le plus rapide de tout le portefeuille de produits d'enrichissement d'Illumina. La solution conviviale qui prend en charge l'automatisation s'adresse aux utilisateurs de tous les niveaux d'expérience et procure un cadre commun pour un éventail de conceptions expérimentales, y compris les panels préconçus, les panels personnalisés et le séquençage d'exome entier. La tagmentation sur billes permet l'utilisation de différentes quantités d'entrée d'ADN et de plusieurs types d'échantillons. Illumina DNA Prep with Enrichment est compatible avec les panels et les sondes d'Illumina et de fournisseurs tiers, permettant le transfert du contenu. La solution novatrice Illumina DNA Prep with Enrichment, utilisée de concert avec la puissante chimie SBS d'Illumina, procure une expérience optimisée d'enrichissement ciblé et de séquençage d'exomes.

En savoir plus

Illumina DNA Prep with Enrichment

Tagmentation sur billes

Illumina Custom Enrichment Panel

Outil DesignStudio

Renseignements relatifs à la commande

Produit	Nº de référence
Illumina DNA Prep with Enrichment, (S) Tagmentation (96 échantillons)[a]	20025524
Illumina DNA Prep with Enrichment, (S) Tagmentation (16 échantillons)[a]	20025523
Illumina DNA Prep, (S) Tagmentation (96 échantillons)[b]	20025520
Illumina DNA Prep, (S) Tagmentation (16 échantillons)[b]	20025519
Flex Lysis Reagent Kit	20018706
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set A, Tagmentation (96 index, 96 échantillons)	20091654
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set B, Tagmentation (96 index, 96 échantillons)	20091656
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set C, Tagmentation (96 index, 96 échantillons)	20091658
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set D, Tagmentation (96 index, 96 échantillons)	20091660
TruSight Cancer (8 réactions d'enrichissement)	FC-121-0202
TruSeq Hereditary Cancer (8 réactions d'enrichissement)	20029551
Illumina Custom Enrichment Panel v2 (32 µl, 120 pb)[c]	20073953
Illumina Custom Enrichment Panel v2 (384 µl, 120 pb)[c]	20073952
Illumina Custom Enrichment Panel v2 (1 536 µl, 120 pb)[c]	20111339
Illumina Custom Enrichment Panel[c]	20025371

a. Les trousses comprennent des réactifs de préparation de librairies et d'hybridation pour huit réactions d'hybridation à 12 échantillons par hybridation (12 niveaux). Les billes de purification et la plaque d'adaptateurs d'index sont vendues séparément.
b. Les trousses comprennent uniquement les réactifs de préparation de librairies et doivent être associées aux trousses complètes de préparation de librairies et d'hybridation pour prendre en charge d'autres plexités d'hybridation.
c. Les panels d'enrichissement personnalisés pour les échantillons humains peuvent être conçus à l'aide de l'outil DesignStudio d'Illumina. La prise en charge de la conception de contenu non humain est assurée par l'équipe des services de conception Concierge d'Illumina. Communiquez avec votre représentant commercial Illumina pour obtenir plus de renseignements sur les services de conception Concierge.

Références

1. Illumina. Illumina DNA Prep Data Sheet. illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/illumina-dna-prep-data-sheet-m-gl-10373/illumina-dna-prep-data-sheet-m-gl-10373.pdf. Mis à jour en 2022. Consulté le 17 août 2023.
2. Illumina. BWA Enrichment v2.1 BaseSpace App Guide. support.illumina.com/content/dam/illumina-support/documents/documentation/software_documentation/basespace/basespace-bwa-enrichment-v2-1-app-guide-15050958-01.pdf. Mis à jour en 2016. Consulté le 22 septembre 2023.

Numéro sans frais aux États-Unis : + (1) 800 809-4566 | Téléphone : + (1) 858 202-4566
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2024 Illumina, Inc. Tous droits réservés. Toutes les marques de commerce sont la propriété d'Illumina, Inc. ou de leurs détenteurs respectifs. Pour obtenir des renseignements sur les marques de commerce, consultez la page www.illumina.com/company/legal.html.
M-GL-02147 FRA v2.0