

# Illumina DNA Prep with Enrichment

Flusso di lavoro rapido  
e integrato per un'ampia  
gamma di applicazioni  
di arricchimento mirato

- Offre un flusso di lavoro rapido per la preparazione e l'arricchimento delle librerie con tempistiche totali di elaborazione pari a circa 6,5 ore
- Migliora l'efficienza della preparazione delle librerie grazie a protocolli integrati per sangue e saliva
- Permette la progettazione di studi avanzati nella ricerca sul cancro, nella ricerca sulle malattie genetiche e nel sequenziamento dell'intero esoma

**illumina**<sup>®</sup>

## Introduzione

La soluzione Illumina DNA Prep with Enrichment unisce la preparazione delle librerie e l'arricchimento versatili, veloci e semplici per le applicazioni di arricchimento mirato e di sequenziamento dell'esoma. La soluzione offre straordinaria flessibilità per tipo e quantità di input (tabella 1) nonché un'ampia gamma di applicazioni supportate per l'arricchimento ai fini del sequenziamento includendo pannelli personalizzati, pannelli fissi e sequenziamento dell'intero esoma prodotti da Illumina o da fornitori di terze parti.

Illumina DNA Prep with Enrichment utilizza l'innovativa chimica basata sulle microsfere che integra una sola e semplice fase di ibridazione (figura 1). Grazie al flusso di lavoro di Illumina DNA Prep with Enrichment, l'estrazione del DNA può essere eseguita direttamente da campioni di sangue e saliva freschi con il kit Flex Lysis Reagent Kit e il protocollo Saliva Lysis, rispettivamente, il che consente di risparmiare ulteriore tempo.

Tabella 1: specifiche di Illumina DNA Prep with Enrichment

Parametro	Specifica
Tipo di input di DNA	DNA genomico (gDNA, genomic DNA), sangue intero, saliva, DNA estratto da tessuti fissati in formalina e inclusi in paraffina (FFPE, Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded)
Input di DNA verificato <sup>a</sup>	10-1.000 ng
Multiplex campioni	384 indici doppi univoci (UDI, unique dual index)
Raggruppamento in pool prima dell'arricchimento <sup>b</sup>	1 plex o 12 plex verificati e supportati
Sistemi di sequenziamento supportati	Tutti i sistemi di Illumina
Durata totale del flusso di lavoro <sup>c</sup>	Circa 6,5 ore

- a. È possibile utilizzare input di DNA di appena 10 ng, ma non forniranno la normalizzazione del DNA basata sulla saturazione.
- b. Sono possibili altri plex di arricchimento, ma non sono stati verificati. Potrebbe essere richiesta un'ulteriore ottimizzazione e non sono garantiti risultati ottimali.
- c. Include le fasi di preparazione delle librerie, arricchimento e normalizzazione/raggruppamento in pool delle librerie.

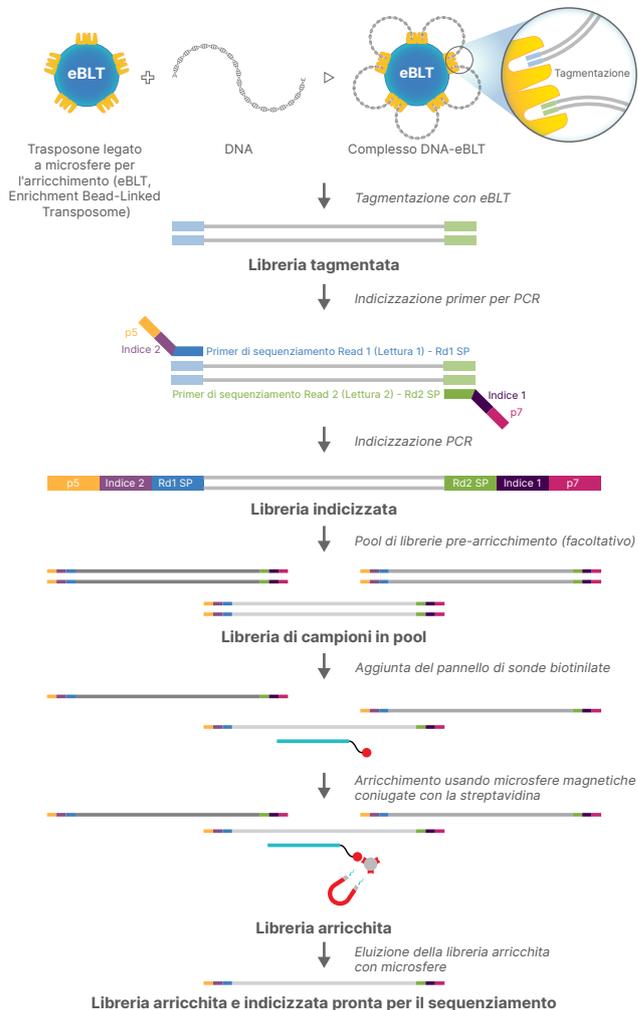


Figura 1: chimica di tagmentazione Illumina. La reazione di tagmentazione uniforme realizzata da eBLT e seguita da un'unica reazione di ibridazione consente un flusso di lavoro veloce e flessibile.

## Flusso di lavoro di preparazione delle librerie e di arricchimento veloce e flessibile

Una componente chiave della soluzione Illumina DNA Prep with Enrichment è la tagmentazione su microsferi, che utilizza i trasposoni legati alle microsferi per realizzare una reazione di tagmentazione uniforme.

Questa strategia fornisce diversi vantaggi significativi:

- Per gli input di gDNA maggiori o uguali a 50 ng, non è richiesta una quantificazione accurata del campione di DNA iniziale, poiché la dimensione del frammento inserito non è influenzata: questo permette di risparmiare tempo e ridurre i costi associati ai kit e ai reagenti.
- Con la tagmentazione su microsferi non è più necessario separare le fasi di frammentazione del DNA, riducendo tempo e costi associati ai relativi materiali di consumo.
- Per input di gDNA tra 50 E 1.000 ng, la normalizzazione del DNA basata sulla saturazione elimina la necessità di singole fasi di quantificazione e normalizzazione della libreria prima dell'arricchimento.
- Il nuovo protocollo di ibridazione singola di 90 minuti consente l'arricchimento in meno di quattro ore.

## Rapido flusso di lavoro di arricchimento

La soluzione Illumina DNA Prep with Enrichment supporta i sistemi di gestione dei liquidi per la preparazione automatizzata delle librerie e produce un flusso di lavoro rapido e ottimizzato con pochi passaggi e tempistiche di intervento e di risposta ridotte (figura 2, tabella 2).

Tabella 2: flusso di lavoro di arricchimento Illumina

Parametro	Illumina DNA Prep with Enrichment
Opzione DNA integrata <sup>a</sup>	✓
Gamma ampia e flessibile di input di DNA	✓
Normalizzazione delle librerie inclusa <sup>b</sup>	✓
Compatibile con campioni in FFPE	✓
Input di DNA	10-1.000 ng
Durata totale della preparazione delle librerie e dell'arricchimento <sup>c</sup>	Circa 6,5 ore
Dimensione inserto <sup>d</sup>	150-220 bp
Set di indici campione	384 indici doppi unici

a. Protocolli di lisi integrati disponibili per sangue e saliva.  
 b. La normalizzazione delle librerie si verifica con input di gDNA maggiore o uguale a 50 ng.  
 c. La durata totale della preparazione delle librerie e dell'arricchimento include le fasi di preparazione delle librerie, normalizzazione/raggruppamento in pool delle librerie e arricchimento.  
 d. Il DNA n FFPE degradato può comportare inserti di dimensioni inferiori.

### Velocità, semplicità, flessibilità



#### Flusso di lavoro veloce

HOT di circa 2 ore  
TAT di circa 6,5 ore



#### Molti tipi di campioni

gDNA, sangue, saliva, FFPE



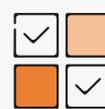
#### Output normalizzato

Normalizzazione delle librerie basata su microsferi



#### Pannelli flessibili

Pannelli fissi o personalizzati  
Pannelli per esoma  
Pannelli Illumina o di terzi



#### Soluzione completa

Analisi secondaria DRAGEN  
Variant Interpreter  
Script di automazione

Figura 2: Illumina DNA Prep with Enrichment offre un flusso di lavoro di arricchimento veloce e flessibile. Le durate dei flussi di lavoro si basano sull'elaborazione di 12 campioni con arricchimento con 12 plex e flusso di lavoro manuale. Le tempistiche possono variare in base all'apparecchiatura utilizzata, al numero di campioni analizzati, alle procedure di automazione e all'esperienza dell'utente. HOT (Hands-On Time), interventi manuali; TOT (Turnaround Time), tempi di risposta; FFPE (Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded), tessuto fissato in formalina e incluso in paraffina.

## Input del DNA integrato

L'estrazione del DNA può essere eseguita direttamente da campioni di sangue intero e saliva. Il kit Flex Lysis Reagent Kit facoltativo, ottimizzato e convalidato per l'utilizzo di campioni di sangue intero e di Illumina DNA Prep with Enrichment, è integrato nel flusso di lavoro per ottenere la massima efficienza. Il protocollo di lisi dispone di reagenti basati su microsfere e richiede meno di 30 minuti di interventi manuali.

## Prestazioni ottimizzate su più sistemi di sequenziamento Illumina

La soluzione Illumina DNA Prep with Enrichment è efficace e semplice e fornisce risultati affidabili su tutti i sistemi di sequenziamento Illumina con più del 90% di letture sul target, più del 95% di uniformità e con basso tasso di duplicati della PCR (tabella 3). Illumina DNA Prep with Enrichment è compatibile con diversi pannelli di arricchimento Illumina ed è ottimizzato per i sistemi a processività bassa, media ed elevata (figura 3, tabella 4).

Tabella 3: prestazioni dei diversi pannelli di arricchimento a confronto<sup>a</sup>

Parametro <sup>b</sup>	Illumina Exome Panel	Exome Panel X	Exome Panel Y
Dimensione pannello	45 Mb	39 Mb	33 Mb
Dimensione sonda	80 bp	120 bp	120 bp
Arricchimento letture "padded" (sul target) <sup>d</sup>	85%	91%	91%
Lunghezza mediana frammento	Circa 200 bp	Circa 200 bp	Circa 200 bp
Copertura a 20×	93%	96%	97%
Uniformità di copertura <sup>d</sup>	95%	97%	98%
Profondità di lettura per campione <sup>e</sup>	30 milioni di CPF	25 milioni di CPF	20 milioni di CPF
Precisione SNV	99%	99%	99%
Richiamo SNV	94%	94%	95%

a. I dati di confronto sono forniti a titolo di esempio. Le effettive specifiche delle prestazioni possono variare a seconda della profondità di lettura e del tipo di campione.

b. L'analisi è stata eseguita su 48 campioni (tutti campioni Coriell NA12878) per condizione. L'analisi dei dati è stata eseguita utilizzando l'app Enrichment BaseSpace™.

c. [Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment](#) è la soluzione raccomandata per il sequenziamento dell'esoma umano.

d. Per ulteriori dettagli vedere la Guida per l'utente dell'app BaseSpace™2.

e. CPF = cluster che attraversano il filtro.



Figura 3: prestazioni ottimizzate sui diversi sistemi di sequenziamento Illumina. La soluzione Illumina DNA Prep with Enrichment è compatibile con tutti i sistemi di sequenziamento Illumina, inclusi i sistemi ad alte prestazioni mostrati qui. Anche i sistemi a bassa produttività, fra cui iSeq™ 100 System, MiniSeq™ System e MiSeq™ System, sono compatibili con Illumina DNA Prep with Enrichment.

Tabella 4: processività dei campioni per cella a flusso con Illumina DNA Prep with Enrichment<sup>a</sup>

Pannello	Copertura target	iSeq 100 System	MiniSeq System		MiSeq System			NextSeq 550 System	
			Media	Alta	v2	v2 Nano/Micro	v3	Media	Alta
<b>Pannelli fissi</b>									
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
<b>Pannelli personalizzati<sup>b</sup></b>									
2.000 sonde	450×	6	12	37	22	NR/6	37	260	384
5.000 sonde	370×	3	6	18	11	NR/3	18	65	200
10.000 sonde	180×	3	6	19	11	NR/3	19	33	100
50.000 sonde	100×	NR	2	7	4	NR	7	35	107
100.000 sonde	100×	NR	NR	3	2	NR	3	17	53
300.000 sonde	100×	NR	NR	NR	NR	NR	NR	6	18

Pannello	Copertura target	NextSeq 2000 System			NovaSeq 6000 Series			NovaSeq X Series		
		P1	P2	P3	S1	S2	S4	1.5B	10B	25B
<b>Pannelli personalizzati<sup>b</sup></b>										
2.000 sonde	450×	148	593	1.778	2.370	6.074	14.815	2.370	14.815	38.519
5.000 sonde	370×	72	288	865	1.153	2.955	7.207	1.153	7.207	18.739
10.000 sonde	180×	74	296	889	1.185	3.037	7.407	1.185	7.407	19.259
50.000 sonde	100×	27	107	320	427	1.093	2.667	427	2.667	6.933
100.000 sonde	100×	13	53	160	213	547	1.333	213	1.333	3.467
300.000 sonde	100×	4	18	53	71	182	444	71	444	1.156

a. Media: output medio; Alta: output elevato; NR: non raccomandato.

b. I calcoli relativi ai campioni dei pannelli personalizzati presuppongono le profondità di copertura target indicate utilizzando pannelli oligonucleotidici di DNA a doppio filamento da 120 bp per la cattura del target (Illumina Custom Enrichment Panel v2) con efficienza di arricchimento dell'80% e chimica della lunghezza di lettura di 2 × 101 bp. 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.

## Dati accurati

ILLUMINA DNA Prep with Enrichment fornisce elevata uniformità e dimensioni di inserto coerenti su un'ampia gamma di input di DNA, offrendo una resa delle librerie uniformi e coerente.<sup>1</sup> Fornisce inoltre elevata uniformità di copertura e arricchimento di letture "padded" per pannelli personalizzati, fissi e per esoma (figura 4). ILLUMINA DNA Prep with Enrichment offre precisione e accuratezza superiori per quanto riguarda il richiamo di varianti a singolo nucleotide (SNV, Single Nucleotide Variant) (figura 5, tabella 3) e di inserzioni/delezioni (indel) rispetto ad altre soluzioni di arricchimento ILLUMINA.

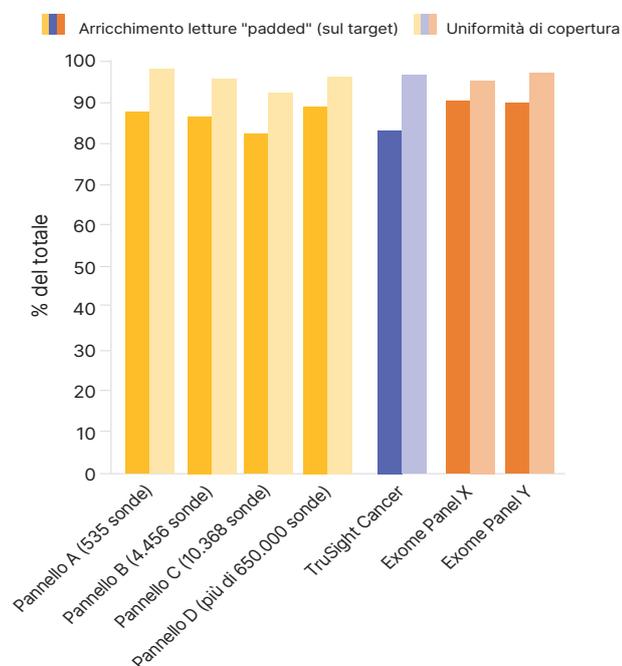


Figura 4: elevata uniformità di copertura e arricchimento di letture "padded". ILLUMINA DNA Prep with Enrichment offre elevata uniformità di copertura e arricchimento di letture "padded" sul target per pannelli personalizzati (pannelli A-D), fissi (TruSight) ed esomici.

## ILLUMINA Custom Enrichment Panel

I pannelli di arricchimento personalizzati ILLUMINA forniscono contenuti rapidi e flessibili per più flussi di lavoro di arricchimento mirati. È possibile progettare pannelli personalizzati completi, pannelli addizionati da aggiungere all'esoma o altri pannelli fissi, nonché modificare il design di un pannello in base alle proprie esigenze. I contenuti possono essere progettati con lo strumento online gratuito DesignStudio™ ed è possibile creare pannelli specifici per i contenuti di proprio interesse. I feedback dinamici in corso di progettazione aiutano a ottimizzare la copertura. L'assistenza alla progettazione per i contenuti non umani è fornita dal team di progettazione ILLUMINA Concierge. Il più recente formato di sonda disponibile, ILLUMINA Custom Enrichment Panel v2, consente l'impiego di sonde a doppio filamento da 120 bp, che offrono arricchimento e uniformità target elevati e sono compatibili con ILLUMINA DNA Prep with Enrichment e altre preparazioni di arricchimento (figura 6, tabella 5).

## Aricchimento del DNA per un'ampia gamma di applicazioni

Unendo le eccellenti prestazioni di arricchimento e la comprovata accuratezza della chimica di sequenziamento mediante sintesi (SBS, Sequencing By Synthesis) e XLEAP-SBS™ ILLUMINA, la soluzione ILLUMINA DNA Prep with Enrichment supporta pannelli fissi o personalizzati di diverse dimensioni, compresi quelli ideati per il sequenziamento dell'intero esoma, per consentire la progettazione di studi avanzati in molteplici ambiti (figura 7). Inoltre, la compatibilità di ILLUMINA DNA Prep with Enrichment con pannelli/sonde di arricchimento ILLUMINA e di terze parti consente la portabilità dei contenuti e una maggiore flessibilità.

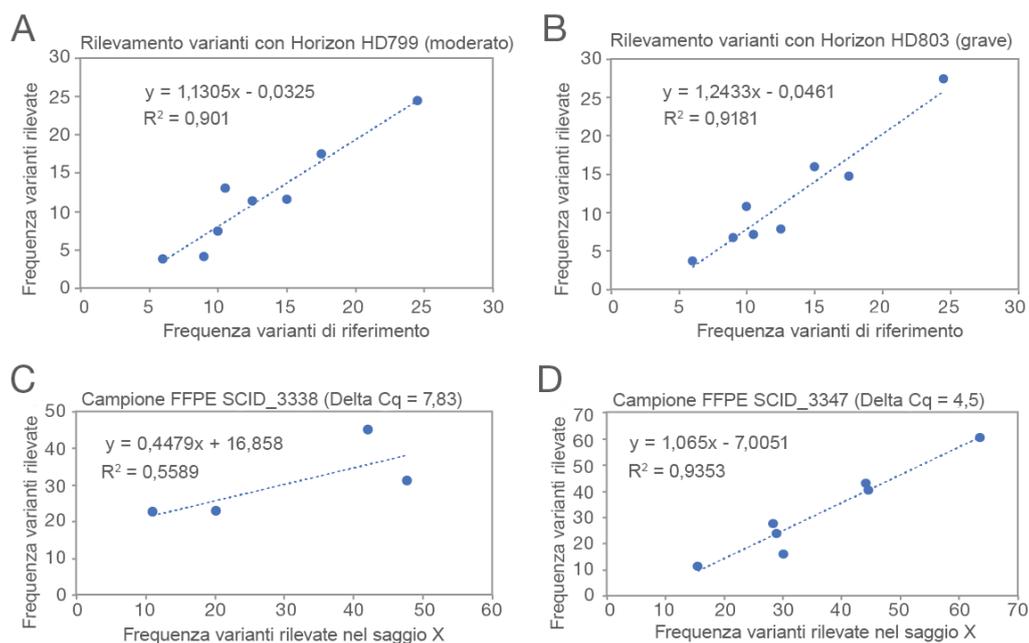


Figura 5: accurata identificazione di varianti. Illumina DNA Prep with Enrichment consente l'identificazione di varianti somatiche a bassa abbondanza per campioni di DNA FFPE della linea cellulare (A, B) utilizzati come controllo rispetto al riferimento umano e campioni FFPE reali (C, D) con frequenza della variante osservata che mostra una correlazione significativa con le frequenze rilevate da un saggio di sequenziamento ortologo.

Tabella 5: Illumina Custom Enrichment Panel

Parametro	Illumina Custom Enrichment Panel	Illumina Custom Enrichment Panel v2
Dimensione pannello	Da 2.000 a 67.000 sonde	Da 100 a 1.000.000 di sonde
Formato sonde oligonucleotidiche	Sonde oligonucleotidiche a singolo filamento da 80 mer	Sonde oligonucleotidiche a doppio filamento da 120 bp <sup>a</sup>
Oltre il 99,9% di sonde presenti, confermato da controllo qualità <sup>b</sup>	No	Sì
Kit per la preparazione delle librerie Illumina compatibili	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
Strumento di progettazione pannelli	DesignStudio o team di progettazione Concierge	DesignStudio o team di progettazione Concierge
Tempistiche di elaborazione	Da 5 a 7 settimane	Da 3 a 6 settimane
Costo del pannello	\$\$\$	\$

a. Le sonde oligonucleotidiche a doppio filamento da 80 bp per applicazioni di sequenziamento microbico possono essere progettate tramite il team di progettazione Concierge.  
b. Confermato dal sequenziamento di nuova generazione (NGS, Next-Generation Sequencing).

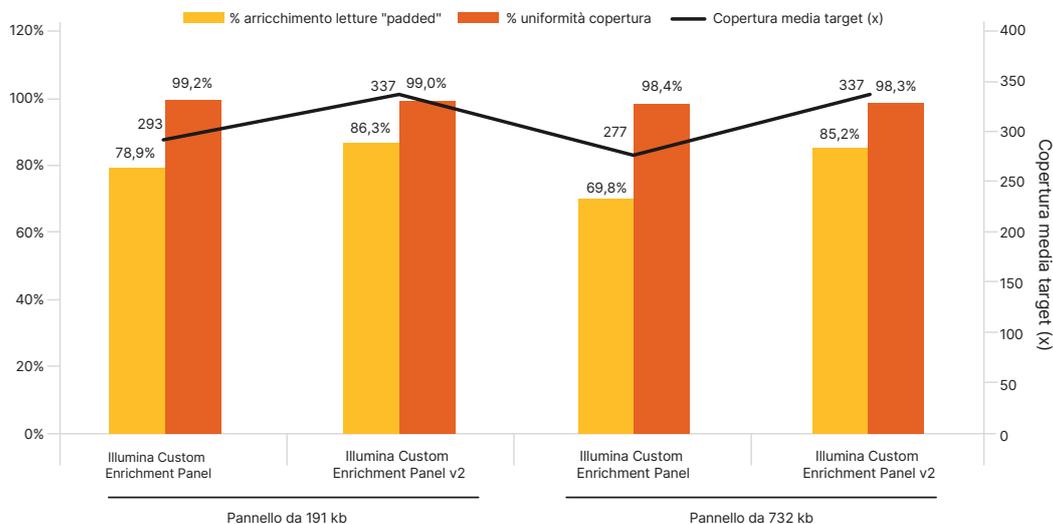


Figura 6: prestazioni di Illumina Custom Enrichment Panel con Illumina DNA Prep with Enrichment. Illumina Custom Enrichment Panel v2 con Illumina DNA Prep with Enrichment consente un arricchimento di letture "padded" superiore rispetto ai pannelli Illumina Custom Enrichment Panel.

Tabella 6: ampia gamma di applicazioni con Illumina DNA Prep with Enrichment

Tipo di pannello	Applicazione
Pannelli fissi	TruSight Cancer
	TruSight Hereditary Cancer
Pannelli personalizzati	Creazione di pannelli di arricchimento specifici per i target di interesse
	Sviluppo di nuovi pannelli personalizzati nello strumento DesignStudio
	Uso di pannelli Illumina o di terze parti con un numero di sonde biotinate a singolo o doppio filamento compreso tra 500 e 675.000
	Compatibilità con oligonucleotidi a singolo o doppio filamento da 80 mer o 120 mer
Pannelli dell'intero esoma	Uso dello strumento DesignStudio per ordinare Illumina Custom Enrichment Panel e Illumina Custom Enrichment Panel v2
	Illumina Exome Panel I set di dati sono disponibili per Illumina Exome Panel e per i pannelli esomici di terze parti in BaseSpace Sequence Hub

## Riepilogo

ILLUMINA DNA Prep with Enrichment offre il flusso di lavoro più veloce tra i prodotti della gamma di arricchimento ILLUMINA. Questa soluzione di facile utilizzo e compatibile con l'automazione supporta utenti con tutti i livelli di esperienza e fornisce un flusso di lavoro comune per diverse progettazioni sperimentali, tra cui pannelli fissi, pannelli personalizzati e sequenziamento dell'intero esoma. La chimica di tagmentazione su microsfere supporta un'ampia gamma di quantità di input di DNA e diversi tipi di campione. ILLUMINA DNA Prep with Enrichment è compatibile con i pannelli/sonde di arricchimento ILLUMINA e di terze parti, per consentire la portabilità dei contenuti. L'innovativa soluzione ILLUMINA DNA Prep with Enrichment unita alla potenza della chimica SBS ILLUMINA fornisce un arricchimento mirato e un sequenziamento dell'esoma ottimali.

## Maggiori informazioni

[ILLUMINA DNA Prep with Enrichment](#)

[Tagmentazione su microsfere](#)

[ILLUMINA Custom Enrichment Panel](#)

[Strumento DesignStudio](#)

### Informazioni per gli ordini

Prodotto	N. di catalogo
ILLUMINA DNA Prep with Enrichment, (S) Tagmentation (96 samples) <sup>a</sup>	20025524
ILLUMINA DNA Prep with Enrichment, (S) Tagmentation (16 samples) <sup>a</sup>	20025523
ILLUMINA DNA Prep, (S) Tagmentation (96 samples) <sup>b</sup>	20025520
ILLUMINA DNA Prep, (S) Tagmentation (16 samples) <sup>b</sup>	20025519
Flex Lysis Reagent Kit	20018706
ILLUMINA DNA/RNA UD Indexes Set A, Tagmentation (96 indexes, 96 samples)	20091654
ILLUMINA DNA/RNA UD Indexes Set B, Tagmentation (96 indexes, 96 samples)	20091656
ILLUMINA DNA/RNA UD Indexes Set C, Tagmentation (96 indexes, 96 samples)	20091658
ILLUMINA DNA/RNA UD Indexes Set D, Tagmentation (96 indexes, 96 samples)	20091660
TruSight Cancer (8 enrichment reactions)	FC-121-0202
TruSeq Hereditary Cancer (8 enrichment reactions)	20029551
ILLUMINA Custom Enrichment Panel v2 (32 µl, 120 bp) <sup>c</sup>	20073953
ILLUMINA Custom Enrichment Panel v2 (384 µl, 120 bp) <sup>c</sup>	20073952
ILLUMINA Custom Enrichment Panel v2 (1536 µl, 120 bp) <sup>c</sup>	20111339
ILLUMINA Custom Enrichment Panel <sup>c</sup>	20025371

- I kit includono reagenti per la preparazione delle librerie e per l'ibridazione sufficienti per 8 reazioni di ibridazione a 12 campioni per ibridazione (12 plex). Le microsfere di purificazione e la piastra dell'adattatore si possono acquistare separatamente.
- I kit includono solo reagenti per la preparazione delle librerie e devono essere abbinati ai kit completi di preparazione delle librerie e ibridazione per consentire plex di ibridazione alternativi.
- 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. 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](https://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). Aggiornato nel 2022.  
Consultato il 17 agosto 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](https://support.illumina.com/content/dam/illumina-support/documents/documentation/software_documentation/basespace/basespace-bwa-enrichment-v2-1-app-guide-15050958-01.pdf). Aggiornato nel 2016.  
Consultato il 22 settembre 2023.



Numero verde 1.800.809.4566 (U.S.A.) | Tel. +1.858.202.4566  
[techsupport@illumina.com](mailto:techsupport@illumina.com) | [www.illumina.com](http://www.illumina.com)

© 2024 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](http://www.illumina.com/company/legal.html).  
M-GL-02147 ITA v2.0