

Illumina DNA Prep with Enrichment

Fluxo de trabalho rápido e integrado para uma ampla variedade de aplicações de enriquecimento de alvos

- Fornecimento de um fluxo de trabalho rápido de preparação e enriquecimento de bibliotecas com um tempo de resposta total de aproximadamente 6,5 horas.
- Aumento da eficiência da preparação da biblioteca com protocolos integrados para sangue e saliva.
- Desenhos de estudos avançados para pesquisas de câncer, pesquisas de doenças genéticas e sequenciamento de exoma completo.

illumina[®]

Introdução

A solução Illumina DNA Prep with Enrichment combina funcionalidade versátil, simples e rápida de preparação e enriquecimento de bibliotecas para aplicações direcionadas de enriquecimento e sequenciamento do exoma. O produto oferece flexibilidade extraordinária quanto ao tipo e a quantidade de entradas (tabela 1), além de uma ampla variedade de aplicações de sequenciamento de enriquecimento compatíveis, abrangendo painéis personalizados, painéis fixos e sequenciamento do exoma completo da Illumina ou de fornecedores terceirizados.

O Illumina DNA Prep with Enrichment usa uma química inovadora e baseada em beads que incorpora uma etapa única de hibridização simplificada (figura 1). Com o fluxo de trabalho do Illumina DNA Prep with Enrichment, a extração de DNA pode ser processada direto de amostras de sangue fresco e saliva com o Flex Lysis Reagent Kit e o Saliva Lysis Protocol, respectivamente, economizando tempo adicional.

Tabela 1: Especificações do Illumina DNA Prep with Enrichment.

Parâmetro	Especificação
Tipo de entrada de DNA	gDNA, sangue total, saliva, DNA extraído de tecido fixado em formalina e embebido em parafina (FFPE)
Entrada de DNA verificada ^a	10–1000 ng
Multiplexação de amostra	384 índices duplos únicos (UDIs)
Pooling de pré-enriquecimento ^b	1-plex ou 12-plex verificados e compatíveis
Sistemas de sequenciamento compatíveis	Todos os sistemas da Illumina
Tempo total do fluxo de trabalho ^c	Aprox. 6,5 horas

- Entradas de DNA de apenas 10 ng são possíveis, mas não fornecerão uma normalização de DNA baseada em saturação.
- Outras complexidades de enriquecimento são possíveis, mas não foram verificadas. Pode ser necessária uma otimização adicional. Não há garantia de obtenção de resultados ideais.
- Inclui etapas de preparação, enriquecimento e normalização/pooling da biblioteca.

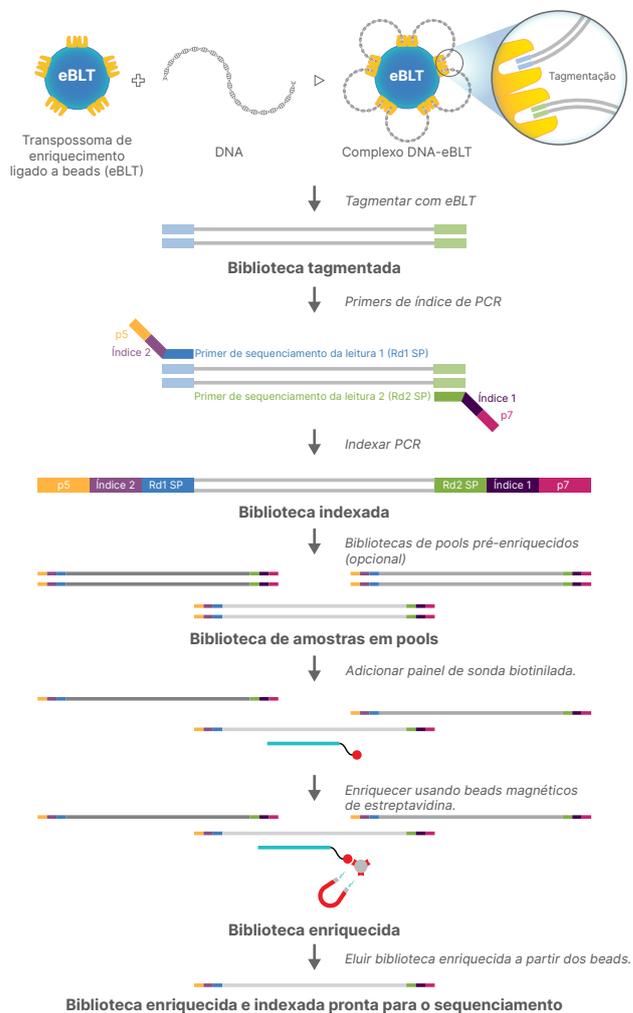


Figura 1: Química de tagmentação da Illumina: a reação de tagmentação uniforme mediada por eBLTs seguida de uma reação de hibridização única possibilita um fluxo de trabalho rápido e flexível.

Fluxo de trabalho de enriquecimento e preparação da biblioteca rápido e flexível

Um componente-chave da solução Illumina DNA Prep with Enrichment é a tagmentação no bead, que usa transposomas ligados a beads para mediar uma reação de tagmentação uniforme. Esta estratégia oferece diversas vantagens significativas:

- Para entradas de gDNA ≥ 50 ng, a quantificação precisa da amostra de DNA inicial não é necessária, pois o tamanho do fragmento do inserto não é afetado, economizando tempo e custos associados a kits e reagentes.
- A tagmentação no bead elimina a necessidade de etapas separadas de fragmentação de DNA, economizando tempo e custos associados a materiais de consumo relacionados.
- Para entradas de gDNA de 50 a 1.000 ng, a normalização do DNA baseada em saturação elimina a necessidade de etapas individuais de quantificação e normalização da biblioteca antes do enriquecimento.
- Um novo protocolo de hibridização única de 90 minutos permite o enriquecimento em menos de quatro horas.

Fluxo de trabalho de enriquecimento rápido

A solução Illumina DNA Prep with Enrichment é compatível com sistemas de manuseio de líquidos para preparação automatizada de bibliotecas e produz um fluxo de trabalho rápido e simplificado com poucas etapas e baixos tempos de resposta e de manuseio (figura 2, tabela 2).

Tabela 2: Fluxo de trabalho de enriquecimento da Illumina.

Parâmetro	Illumina DNA Prep with Enrichment
Opção de DNA integrado ^a	✓
Faixa de entrada de DNA ampla e flexível	✓
Normalização de biblioteca inclusa ^b	✓
Compatível com FFPE	✓
Entrada de DNA	10 a 1000 ng
Tempo total de preparação e enriquecimento da biblioteca ^c	Aprox. 6,5 h
Tamanho do inserto ^d	150 a 220 bp
Conjuntos de índices de amostras	384 índices duplos únicos

a. Protocolos de lise integrados disponíveis para sangue e saliva.
b. A normalização da biblioteca ocorre quando a entrada de gDNA é ≥ 50 ng.
c. O tempo total de preparação e enriquecimento da biblioteca inclui a preparação, a normalização/pooling e o enriquecimento da biblioteca.
d. O DNA de FFPE degradado pode resultar em tamanhos menores de insertos.

Velocidade, simplicidade, flexibilidade

Fluxo de trabalho rápido	Diversos tipos de amostras	Saída normalizada	Opções flexíveis de painel	Solução completa
HOT de aprox. 2 horas TAT de aprox. 6,5 horas	gDNA, sangue, saliva, FFPE	Normalização da biblioteca baseada em beads	Painéis fixos ou personalizados Painéis do exoma Painéis da Illumina ou de terceiros	Análise secundária do DRAGEN Variant Interpreter Scripts de automação

Figura 2: O Illumina DNA Prep with Enrichment oferece um fluxo de trabalho de enriquecimento da Illumina rápido e flexível: os tempos do fluxo de trabalho são baseados no processamento de 12 amostras em enriquecimento de 12-plex com um fluxo de trabalho manual. Os tempos podem variar dependendo dos equipamentos usados, dos números de amostras processadas, dos procedimentos de automação ou da experiência do usuário. HOT, tempo de manuseio; TOT, tempo de resposta; FFPE, tecido fixado em formalina embebido em parafina.

Entrada de DNA integrada

A extração de DNA pode ser processada direto de amostras de sangue total ou saliva. O Flex Lysis Reagent Kit opcional, otimizado e validado para o uso de amostras de sangue total e do Illumina DNA Prep with Enrichment é integrado ao fluxo de trabalho para máxima eficiência. Os protocolos de lise fornecem reagentes baseados em beads e exigem menos de 30 minutos de tempo de manuseio.

Desempenho otimizado em todos os sistemas de sequenciamento da Illumina

A solução robusta e direta Illumina DNA Prep with Enrichment produz resultados confiáveis em todos os sistemas de sequenciamento da Illumina, fornecendo mais de 90% de leituras no alvo, mais de 95% de uniformidade e uma baixa taxa de duplicação de PCR (tabela 3). O Illumina DNA Prep with Enrichment é compatível com vários painéis de enriquecimento da Illumina e é otimizado para uso em sistemas de baixo, médio e alto rendimento (figura 3, tabela 4).

Tabela 3: Comparação de desempenho entre painéis de enriquecimento^a.

Parâmetro ^b	Illumina Exome Panel	Painel de exoma X	Painel de exoma Y
Tamanho do painel	45 Mb	39 Mb	33 Mb
Tamanho da sonda	80 bp	120 bp	120 bp
Enriquecimento de leitura "padded" (no alvo) ^d	85%	91%	91%
Mediana do comprimento do fragmento	Aprox. 200 bp	Aprox. 200 bp	Aprox. 200 bp
Cobertura a 20x	93%	96%	97%
Uniformidade de cobertura ^d	95%	97%	98%
Profundidade da leitura por amostra ^e	CPF de 30 milhões	CPF de 25 milhões	CPF de 20 milhões
Precisão de SNV	99%	99%	99%
Recall de SNV	94%	94%	95%

- a. Os dados representam apenas uma comparação de exemplo. As especificações de desempenho reais podem variar dependendo da profundidade da leitura e do tipo de amostra.
- b. A análise foi executada em 48 amostras (todas sendo NA12878 Coriell) por condição. A análise de dados foi realizada usando o aplicativo Enrichment BaseSpace™ App.
- c. O **Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment** é a solução recomendada para o sequenciamento do exoma humano.
- d. Consulte o Guia do usuário do BaseSpace™ App² para obter detalhes adicionais.
- e. CPF, filtro de passagem de clusters.



Figura 3: Desempenho otimizado em todos os sistemas de sequenciamento da Illumina: a solução Illumina DNA Prep with Enrichment é compatível com todos os sistemas de sequenciamento da Illumina, incluindo os sistemas de alto desempenho mostrados aqui. Os sistemas de baixo rendimento, incluindo os sistemas iSeq™ 100, MiniSeq™ e MiSeq™ também são compatíveis com o Illumina DNA Prep with Enrichment.

Tabela 4: Rendimento da amostra por lâmina de fluxo com o Illumina DNA Prep with Enrichment^a.

Painel	Cobertura-alvo	iSeq 100 System	MiniSeq System		MiSeq System			NextSeq 550 System	
			Média	Alta	v2	v2 Nano/Micro	v3	Média	Alta
Painéis fixos									
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
Painéis personalizados^b									
2.000 sondas	450×	6	12	37	22	NR/6	37	260	384
5.000 sondas	370×	3	6	18	11	NR/3	18	65	200
10.000 sondas	180×	3	6	19	11	NR/3	19	33	100
50.000 sondas	100×	NR	2	7	4	NR	7	35	107
100.000 sondas	100×	NR	NR	3	2	NR	3	17	53
300.000 sondas	100×	NR	NR	NR	NR	NR	NR	6	18

Painel	Cobertura-alvo	NextSeq 2000 System			NovaSeq 6000 Series			NovaSeq X Series		
		P1	P2	P3	S1	S2	S4	1,5 bilhão	10 bilhões	25 bilhões
Painéis personalizados^b										
2.000 sondas	450×	148	593	1.778	2.370	6.074	14.815	2.370	14.815	38.519
5.000 sondas	370×	72	288	865	1.153	2.955	7.207	1.153	7.207	18.739
10.000 sondas	180×	74	296	889	1.185	3.037	7.407	1.185	7.407	19.259
50.000 sondas	100×	27	107	320	427	1.093	2.667	427	2.667	6.933
100.000 sondas	100×	13	53	160	213	547	1.333	213	1.333	3.467
300.000 sondas	100×	4	18	53	71	182	444	71	444	1.156

a. Média, saída média; Alta, saída alta; NR, não recomendado.

b. Os cálculos de amostras de painel personalizado pressupõem as profundidades de cobertura de alvo indicadas usando painéis de oligonucleotídeos de DNA de fita dupla com 120 bp para captura de alvo (Illumina Custom Enrichment Panel v2) com eficiência de enriquecimento de 80% e química com duração da leitura de 2 × 101 bp. O número de amostras pode variar dependendo da administração do fluxo de trabalho, da qualidade da amostra ou da biblioteca de entrada e de saída real do sequenciamento de cada plataforma e lâmina de fluxo.

Dados precisos

O Illumina DNA Prep with Enrichment produz tamanhos de insertos altamente uniformes e consistentes em uma ampla faixa de entrada de DNA, fornecendo rendimentos de biblioteca uniformes e consistentes.¹ A solução também fornece alta uniformidade de cobertura e enriquecimento de leitura “padded” para painéis personalizados, fixos e de exoma (figura 4). O Illumina DNA Prep with Enrichment oferece precisão da variante de nucleotídeo único (SNV) (figura 5, tabela 3) e identificação e precisão de inserções/exclusões (indels), em comparação com outras soluções de enriquecimento da Illumina.

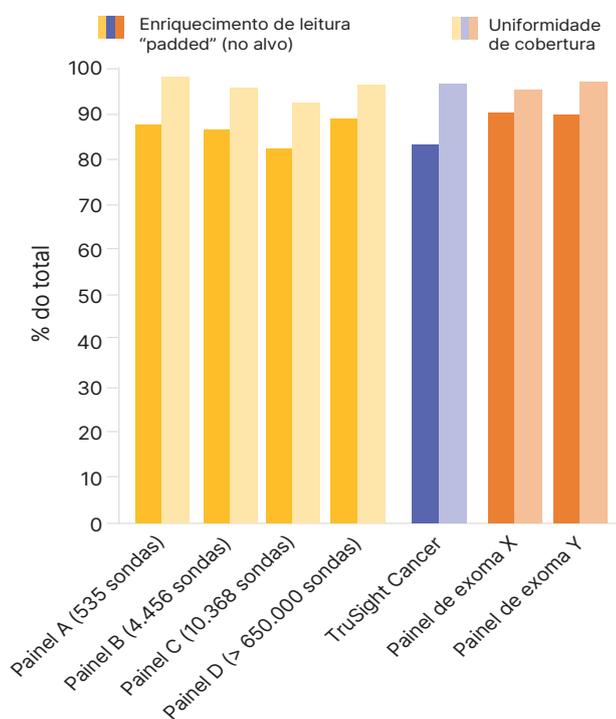


Figura 4: Alta uniformidade de cobertura e enriquecimento de leitura “padded”: o Illumina DNA Prep with Enrichment fornece alta uniformidade de cobertura e enriquecimento de leitura “padded” no alvo para painéis personalizados (painel A–D), fixos (TruSight Cancer) e de exoma.

Painéis de enriquecimento personalizados da Illumina

Os painéis de enriquecimento personalizados da Illumina fornecem um conteúdo rápido e flexível para vários fluxos de trabalho de enriquecimento direcionados. Projete painéis personalizados completos, painéis spike-in para adição ao exoma ou outros painéis fixos, ou modifique um design de painel para atender às suas necessidades. Desenvolva conteúdo com a ferramenta on-line gratuita DesignStudio™ e crie painéis específicos para o conteúdo de seu interesse. Receba feedback dinâmico durante o projeto para otimizar a cobertura. O suporte a projetos para conteúdo não humano é proporcionado pela equipe de design do Illumina Concierge. Com o mais novo formato de sonda disponível, o Illumina Custom Enrichment Panel v2 permite o uso de sondas de fita dupla de 120 bp que fornecem alto enriquecimento e uniformidade no alvo e são compatíveis com o Illumina DNA Prep with Enrichment, bem como com outras preparações de enriquecimento (figura 6, tabela 5).

Enriquecimento de DNA para uma ampla gama de aplicações

Ao combinar o desempenho excepcional do enriquecimento e a precisão comprovada do sequenciamento por síntese (SBS) da Illumina e da química XLEAP-SBS™, a solução Illumina DNA Prep with Enrichment é compatível com painéis fixos e personalizados de tamanhos variados, incluindo os projetados para sequenciamento completo do exoma, favorecendo desenhos de estudo avançados em várias áreas (figura 7). Além disso, o Illumina DNA Prep with Enrichment é compatível com sondas/painéis de enriquecimento de terceiros e da Illumina, permitindo a portabilidade do conteúdo e obtendo mais flexibilidade.

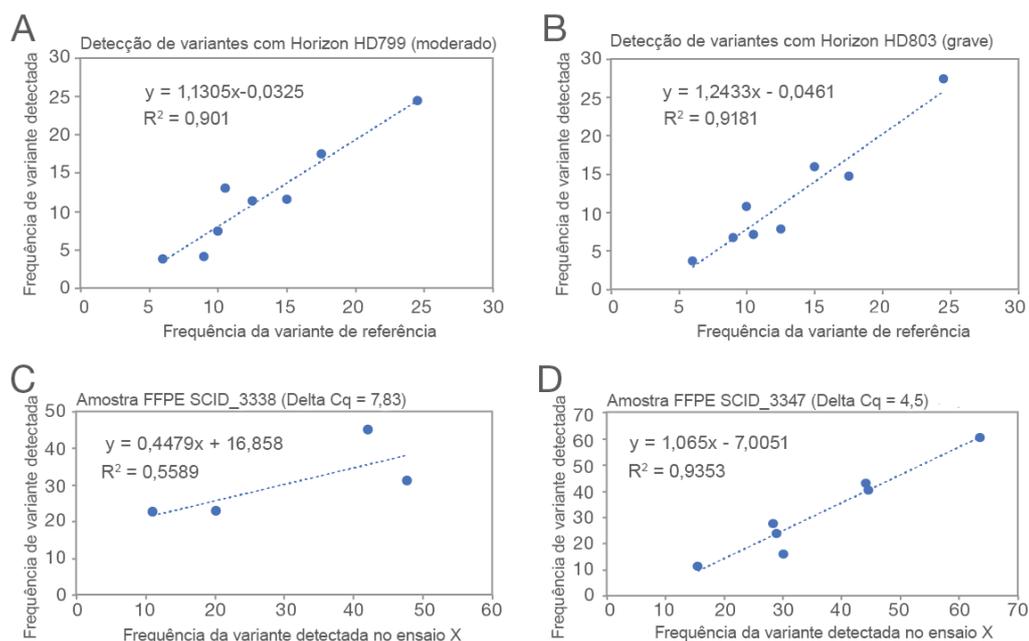


Figura 5: Identificação precisa de variantes - O Illumina DNA Prep with enrichment fornece identificação de variantes somáticas de baixa abundância para (a, B) amostras de DNA de referência humana para o controle de FFPe de linhagem celular e (c, D) amostras reais de FFPe com frequência de variantes observada que demonstra correlação significativa com frequências de um ensaio de sequenciamento ortólogo.

Tabela 5: Painéis de enriquecimento personalizados da Illumina

Parâmetro	Illumina Custom Enrichment Panel	Illumina Custom Enrichment Panel v2
Tamanho do painel	2.000 a 67.000 sondas	100 a 1.000.000 de sondas
Formato de oligonucleotídeo	Sondas de oligonucleotídeo de fita única de 80 mer	Sondas de oligonucleotídeo de fita dupla de 120 bp ^a
> 99,9% das sondas presentes, CQ confirmado ^b	Não	Sim
Kits de preparação de biblioteca da Illumina compatíveis	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
Ferramenta de design de painel	Equipe de design do DesignStudio ou Concierge	Equipe de design do DesignStudio ou Concierge
Tempo de resposta	5 a 7 semanas	3 a 6 semanas
Custo do painel	\$\$\$	\$

a. Sondas de oligonucleotídeo de fita dupla com 80 bp para aplicações de sequenciamento microbiano podem ser projetadas por meio da equipe de design do Concierge.
b. Confirmado pelo sequenciamento de última geração (NGS).

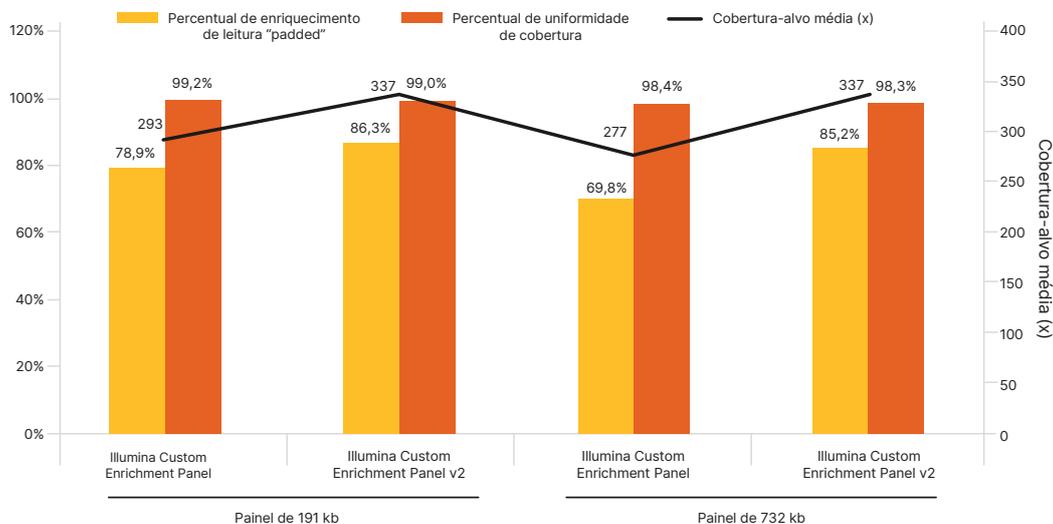


Figura 6: Desempenho do Illumina Custom Enrichment Panel com Illumina DNA Prep with Enrichment: o Illumina Custom Enrichment Panel v2 com Illumina DNA Prep with Enrichment fornece um maior enriquecimento de leitura "padded" em comparação com os painéis de enriquecimento personalizados da Illumina.

Tabela 6: Ampla gama de aplicações com o Illumina DNA Prep with Enrichment.

Tipo de painel	Aplicação
Painéis fixos	TruSight Cancer
	TruSight Hereditary Cancer
Painéis personalizados	Crie painéis de enriquecimento específicos para seus alvos de interesse.
	Desenvolva novos painéis personalizados na ferramenta DesignStudio.
	Use painéis da Illumina ou de terceiros entre 500 e 675.000 sondas biotiniladas de fita simples ou dupla.
	Compatível com oligonucleotídeos de fita simples ou dupla de 80 mer ou 120 mer.
Painéis de exoma completo	Use a ferramenta DesignStudio para solicitar o Illumina Custom Enrichment Panel e o Illumina Custom Enrichment Panel v2.
	Illumina Exome Panel
	Os conjuntos de dados estão disponíveis para o painel de exoma da Illumina e painéis de exoma de terceiros no BaseSpace Sequence Hub.

Resumo

O Illumina DNA Prep with Enrichment fornece o fluxo de trabalho mais rápido do portfólio de enriquecimento da Illumina. A solução fácil de usar e compatível com automação tem suporte para usuários de todos os níveis de experiência e fornece um fluxo de trabalho comum para uma variedade de projetos experimentais, inclusive painéis fixos e personalizados e sequenciamento do genoma completo. A tagmentação em bead permite o uso de uma ampla variedade de quantidades de entrada de DNA e vários tipos de amostras. O Illumina DNA Prep with Enrichment é compatível com sondas/painéis de enriquecimento de terceiros e da Illumina, permitindo a portabilidade do conteúdo. A inovadora solução Illumina DNA Prep with Enrichment, combinada com o poder da química do Illumina SBS, fornece uma experiência ideal de enriquecimento direcionado e sequenciamento do exoma.

Saiba mais

[Illumina DNA Prep with Enrichment](#)

[Tagmentação em bead](#)

[Painéis de enriquecimento personalizados da Illumina](#)

[Ferramenta DesignStudio](#)

Informações para pedidos

Produto	N.º do catálogo
Illumina DNA Prep with Enrichment, (S) Tagmentation (96 samples) ^a	20025524
Illumina DNA Prep with Enrichment, (S) Tagmentation (16 samples) ^a	20025523
Illumina DNA Prep, (S) Tagmentation (96 samples) ^b	20025520
Illumina DNA Prep, (S) Tagmentation (16 samples) ^b	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) ^c	20073953
Illumina Custom Enrichment Panel v2 (384 µl, 120 bp) ^c	20073952
Illumina Custom Enrichment Panel v2 (1536 µl, 120 bp) ^c	20111339
Illumina Custom Enrichment Panel ^c	20025371

- Os kits incluem reagentes de preparação e hibridização de bibliotecas para 8 reações de hibridização em 12 amostras por hibridização (12-plex). Os beads de purificação e a placa adaptadora de índice são vendidos separadamente.
- Os kits incluem apenas reagentes de preparação da biblioteca e devem ser usados com os kits completos de preparação e hibridização da biblioteca para serem compatíveis com as complexidades alternativas de hibridização.
- 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. 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. Atualizado em 2022. Acessado em 17 de agosto de 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. Atualizado em 2016. Acessado em 22 de setembro de 2023.



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

© 2024 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-02147 PTB v2.0