

TruSight™ One Sequencing Panels

Painéis abrangentes de alto desempenho direcionados a regiões associadas a doenças do exoma

- Ampla cobertura de até 6.700 genes associados à doença com um mínimo de 20× de cobertura e duas opções de painel.
- Um único painel versátil substitui o teste iterativo por um ensaio e um fluxo de trabalho.
- Anotação e relatórios intuitivos e de alta potência com filtragem de genes definida pelo usuário e geração de relatórios.



Introdução

Os TruSight One Sequencing Panels se concentram em regiões exônicas que abrigam mutações conhecidas causadoras de doenças. O foco no subconjunto de genes com associações conhecidas à doença hereditária dentro do exoma permite uma detecção de variantes mais eficiente em comparação com o sequenciamento do genoma completo ou do exoma completo.¹ Ao combinar dados de vários bancos de dados genômicos e analisar a orientação de especialistas do setor em todo o mundo, os painéis TruSight One oferecem um conjunto abrangente de regiões-alvo associadas à doença, projetadas para cobrir os painéis de genes da doença mais comumente pedidos.

Os painéis TruSight One e TruSight One Expanded fornecem aos laboratórios de pesquisa clínica uma solução acessível para gerenciar um portfólio de ensaios diversificado. Os investigadores podem optar por analisar todos os genes em um painel ou se concentrar em um subconjunto específico. Com um único ensaio, os laboratórios podem expandir menus existentes, otimizar fluxos de trabalho ou criar um portfólio completo de opções de sequenciamento.

TruSight One Sequencing Panel

Os alvos genômicos com associações de doenças foram identificados no banco de dados de mutação genética humana (HGMD),² no catálogo de herança mendeliana em humanos (OMIM),³ no GeneReviews,⁴ nos painéis de sequenciamento Illumina TruSight desenvolvidos anteriormente⁵ e de informações diretas de especialistas do setor (Figura 1).

O TruSight One Sequencing Panel abrange 12 Mb de conteúdo genômico, incluindo > 4.800 genes associados a fenótipos clínicos específicos. Isso permite que os pesquisadores concentrem seu tempo e recursos em genes com associações de doenças conhecidas.

TruSight One Expanded Sequencing Panel

O TruSight One Expanded Sequencing Panel foi desenvolvido sob os mesmos princípios orientadores que o painel original, com otimização adicional para melhorar a cobertura em regiões conhecidas por mostrar desempenho abaixo do ideal. O desenho do painel expandido tem como alvo 16,5 Mb de conteúdo, incluindo os genes originais > 4.800 e ~1.900 genes adicionais com novas associações de doenças nos bancos de dados de referência.

Ampla cobertura de conteúdo

O design da sonda permite uma cobertura abrangente

Os TruSight One Sequencing Panels apresentam um design de sonda altamente otimizado que permite a análise simultânea de múltiplas variantes. Ambos os painéis incluem mais de 125.000 sondas construídas contra o genoma de referência humano NCBI37/hg19.⁶

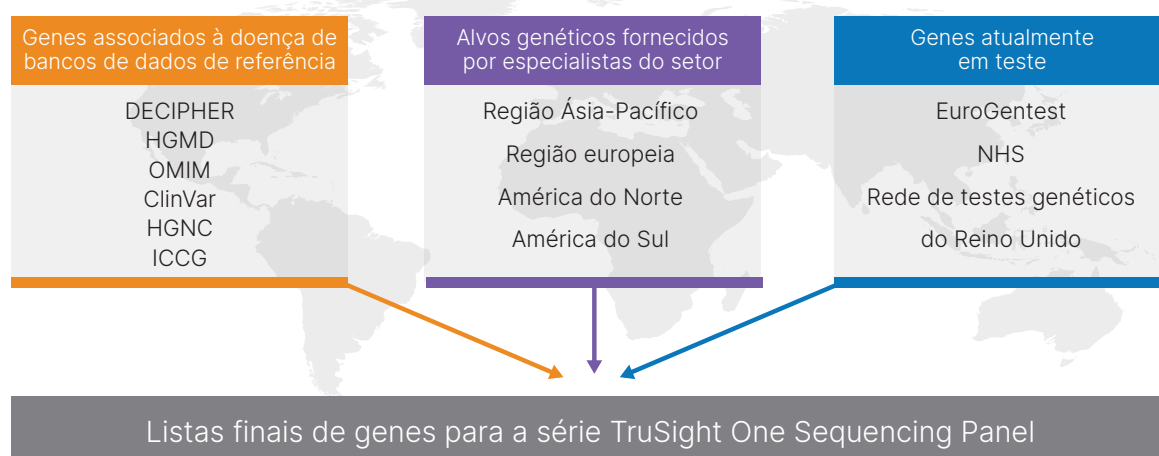


Figura 1: colaboradores globais do conteúdo de genes dos painéis de sequenciamento TruSight One — Os painéis TruSight One se concentram em regiões exônicas do genoma com variantes conhecidas associadas à doença. A combinação de dados de várias fontes públicas garante que os painéis cubram todos os genes atualmente analisados no ambiente de pesquisa clínica.

DECIPHER, Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans (Banco de dados de desequilíbrio cromossômico e fenótipo em humanos) usando recursos do Ensembl; HGNC, HUGO Gene Nomenclature Committee (Comitê de nomenclatura genética da HUGO); ICCG, International Collaboration for Clinical Genomics (Colaboração internacional para genômica clínica) (ICCG); NHS, National Health Service (Serviço nacional de saúde) (NHS).

As sondas TruSight One foram construídas usando um processo de projeto iterativo com testes funcionais para garantir desempenho e profundidade de cobertura ideais. O resultado é $\geq 20\times$ de cobertura em 95% das regiões-alvo no painel (Tabela 1).*

As sondas de 80 mer têm como alvo as bibliotecas do Illumina DNA Prep with Enrichment com tamanhos médios de fragmento de ~300 bp e tamanhos de inserto de 150–220 bp, enriquecendo um amplo espaço ocupado de bases além do ponto médio da sonda (Figura 2).⁷

Tabela 1: especificações do TruSight One Sequencing Panel

Parâmetro	TruSight One	TruSight One Expanded
Tamanho cumulativo da região-alvo	12 Mb	16,5 Mb
N.º de genes alvo	4811	6704
Número de éxons alvo	~62.000	~86.000
Tamanho da sonda	80 mer	80 mer
Nº de sondas	125.395	183.809
Tamanho do fragmento	150–220 bp	150–220 bp
Cobertura mínima ^a	$\geq 20\times$	$\geq 20\times$
Cobertura média	$> 100\times$	$> 100\times$

a. 95% das regiões-alvo normalmente cobertas a $> 20\times$ (maior cobertura percentual possível com menos amostras por execução).

* A porcentagem é calculada pela média da cobertura média para cada éxon, não para cada base.

Portanto, além de cobrir as regiões do éxon principal, os painéis cobrem regiões de flanking do éxon, que podem fornecer informações biológicas importantes (por exemplo, locais de emenda, regiões regulatórias).

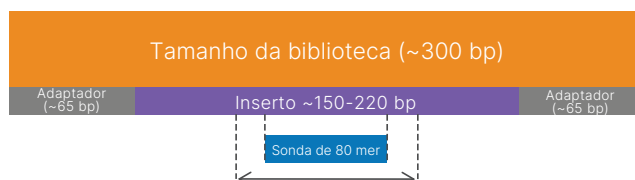


Figura 2: espaço ocupado da sonda TruSight One — Com uma biblioteca de DNA de 300 bp (tamanho da inserção de 150 a 220 bp), a sonda enriquecerá um amplo espaço ocupado de bases além do ponto médio.

Compatível com uma variedade de instrumentos de sequenciamento

Os painéis TruSight One Panel são ideais para uso em sistemas de sequenciamento de bancada Illumina. A Tabela 2 fornece o rendimento recomendado da amostra para os sistemas MiSeq™, NextSeq™ 550, e NextSeq 2000 System. Não importa qual o sistema de sequenciamento Illumina, os TruSight One panels produzem consistentemente alta profundidade de cobertura. Como os TruSight One panels concentram o sequenciamento em um subconjunto do genoma (por exemplo, genes com associações fenotípicas), esses genes ou regiões alvo podem ser sequenciados com uma alta profundidade de cobertura e fornecer resultados de alta confiança (Tabela 3).

Tabela 2: rendimento de amostras recomendado para os TruSight One Sequencing Panels

	Número de amostras por execução por configuração de instrumento e kit			
	MiSeq System v3 reagents	NextSeq 550 System Mid output	NextSeq 550 System High-Output ^c	NextSeq 2000 System P3 flow cell
TruSight One Panel	3	12	36	96
TruSight One Expanded Panel ^b	1	7	24	66

a. Duração de leitura de até 2×150 bp; com base na cobertura média de $100\times$ de conteúdo direcionado.

b. Maior rendimento disponível no NovaSeq™ 6000 System (96 amostras por execução, lâmina de fluxo S1) para o TruSight One Expanded Panel.

c. Uma produtividade semelhante pode ser obtida com os NextSeq 1000 e NextSeq 2000 Systems com lâminas de fluxo P2.

Tabela 3: alta profundidade de cobertura com os TruSight One Sequencing Panels

	Uniformidade de cobertura	Cobertura-alvo em				Profundidade de leitura por amostra (lê filtro de passagem)
		1×	10×	20×	50×	
TruSight One Panel	95,3%	99,1%	98,3%	97,6%	94,7%	22M
TruSight One Expanded Panel	96,8%	99,4%	98,9%	98,6%	97,5%	33M

Fluxo de trabalho simplificado e totalmente compatível

Cada etapa do fluxo de trabalho do TruSight One Panel, desde a preparação da biblioteca até a análise final dos dados, é otimizada para fornecer um experimento simplificado de DNA para dados em apenas dois dias (Figura 3).[†] Os TruSight One Panels são vendidos apenas como kits modulares de oligos de enriquecimento. Os painéis integram-se perfeitamente com o Illumina DNA Prep with Enrichment, (S) Tagmentation Kits e Illumina DNA UD Indexes (vendidos separadamente) para preparação da biblioteca. A abordagem modular oferece maior flexibilidade para o processamento de amostras.

Preparação de bibliotecas simples e eficiente

Um componente-chave do Illumina DNA Prep with Enrichment é a tagmentação no bead (Figura 4), que usa transossomas ligados a esferas para mediar uma reação de tagmentação uniforme. Esta estratégia oferece diversas vantagens significativas:

- Para entradas de DNA genômico ≥ 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 DNA genômico 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.

[†] Tempo médio para um painel de gene direcionado. Os tempos podem variar de acordo com as configurações da execução.

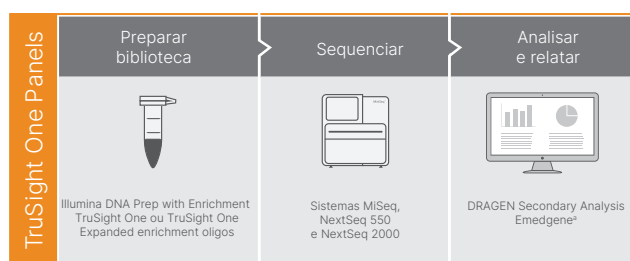


Figura 3: o fluxo de trabalho do Illumina TruSight One fornece uma solução para cada etapa, desde a preparação da biblioteca até a análise e a geração de relatórios de dados.

a. O Emedgene está disponível como uma plataforma de software opcional para análise de DNA de linha genética compatível com qualquer método de preparação de biblioteca para permitir interpretação de dados simplificada e definida pelo usuário, além de geração de relatórios para fluxos de trabalho de pesquisa.

Fluxo de trabalho de enriquecimento rápido

O Illumina DNA Prep with Enrichment é compatível com sistemas de manuseio de líquidos para automatizar a preparação de bibliotecas. Além disso, o fluxo de trabalho do TruSight One usa uma estratégia exclusiva de agrupamento de amostras de pré-enriquecimento que reduz o número de reações de enriquecimento necessárias. Essa estratégia usa códigos de barras de amostras integrados, que suportam o agrupamento de até 12 amostras para uma única redução de enriquecimento. Essas eficiências reduzem o tempo geral de preparação da biblioteca para 6,5 horas com ~2 horas de tempo de prática. Além disso, os reagentes misturados com masterização, juntamente com protocolos baseados em placas, permitem o processamento simultâneo de múltiplas reações. As bibliotecas preparadas são carregadas em uma lâmina de fluxo para sequenciamento no instrumento apropriado.

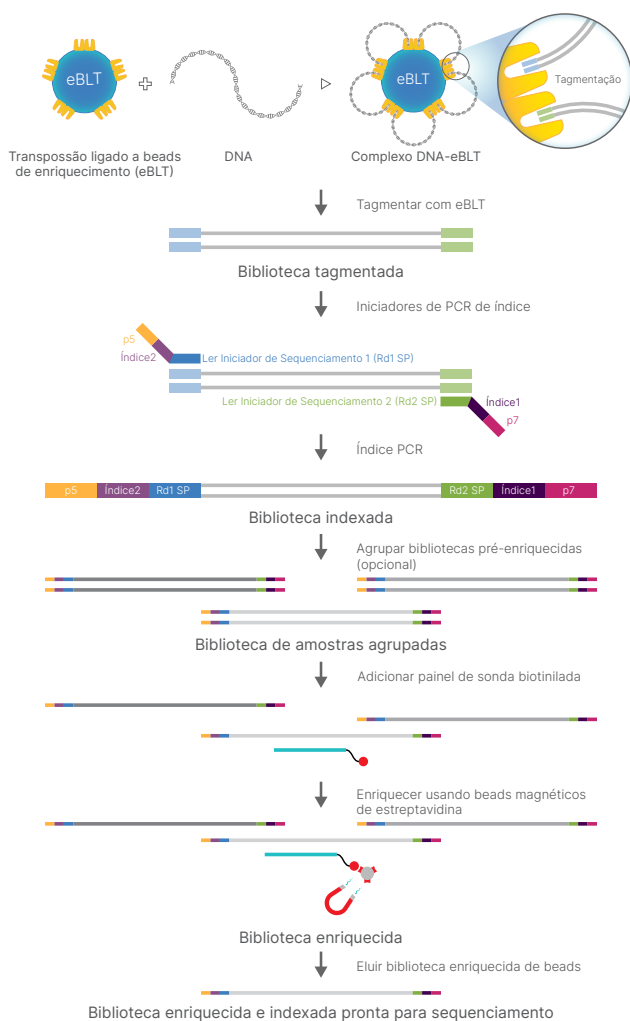


Figura 4: química de tagmentação TruSight One e Illumina — Os oligos de enriquecimento TruSight One trabalham com química de tagmentação em beads Illumina para fornecer um método rápido e simples para enriquecimento de genes direcionados. O fluxo de trabalho combina as etapas de preparação da biblioteca e enriquecimento do alvo e pode ser concluído em 1,5 hora.

Análise e relatórios abrangentes

Para análise, interpretação e relatórios abrangentes de dados do TruSight One, a Illumina oferece o Emedgene. O Emedgene é uma ferramenta de software opcional para fluxos de trabalho de pesquisa que se integra ao BaseSpace™ Sequence Hub e ao Illumina Connected Analytics para acessar o monitoramento de execuções, as métricas de execuções e o upload automatizado de dados de sequenciamento. Ele inclui acesso baseado na nuvem à análise secundária DRAGEN™ (Dynamic Read Analysis for GENomics), permitindo fluxos de trabalho de análise secundária precisos, abrangentes e eficientes para NGS.

Os benefícios adicionais da análise Emedgene incluem:

- Interface simplificada com IA explicável (XAI) para priorização de variantes altamente eficiente
- Automação personalizável definida pelo usuário para padronização de fluxos de trabalho
- Fluxo de trabalho integrado com análise secundária DRAGEN e Illumina Connected Analytics para movimento de dados completamente automatizado
- Análise compatível em aplicações de condições hereditárias e tipos de ensaio (p. ex., painéis, painéis virtuais, sequenciamento do exoma completo e sequenciamento do genoma completo)
- Plataforma pronta para colaboração com opção de formar redes privadas e seguras

Com tecnologia da plataforma DRAGEN

O Emedgene é alimentado pela análise secundária DRAGEN. Os recursos fundamentais da plataforma DRAGEN abordam desafios comuns na análise genômica, como tempos de computação longos e volumes enormes de dados. Sem comprometer a precisão, a plataforma DRAGEN oferece rapidez, flexibilidade e eficiência de custos, permitindo que laboratórios de todos os tamanhos e disciplinas façam mais com seus dados genômicos.

Interpretação intuitiva e de alta potência

Os clientes relatam que o Emedgene economiza regularmente de 50% a 75% do tempo de interpretação de dados por meio da geração eficiente de relatórios.⁸ O Emedgene combina vários recursos para potencializar a interpretação definida pelo usuário, incluindo um gráfico de anotações e conhecimentos sempre atualizado; XAI para classificações automatizadas transparentes e baseadas em evidências de variantes potencialmente causadoras para amostras; visualização de variante; curadoria de variantes; automação definida pelo usuário; e muito mais para promover uma interpretação eficiente e informada das variantes.

O Emedgene foi projetado para uma experiência intuitiva do usuário a fim de apoiar os usuários na realização do impacto e eficiência ideais em relação à sua missão.

Filtragem baseada em painel com Emedgene

O Emedgene é compatível com as opções de ensaio de doenças hereditárias para análise de linha genética, incluindo painéis, exomas e genomas. Além disso, o Emedgene permite que os usuários criem bioinformaticamente “painéis virtuais” usando TruSight One Sequencing Panels ou outros tipos de dados de NGS, como sequenciamento do exoma ou genoma completo (Figura 5). Essa abordagem permite que os laboratórios padronizem vários ensaios em um único fluxo de trabalho, simplificando e otimizando as operações do laboratório. Além disso, a padronização em um ensaio de estrutura elimina a necessidade de atualizar e alterar o ensaio para adicionar mais genes ao longo do tempo e facilita a reanálise eficiente de mais genes quando necessário.



Figura 5: painéis virtuais personalizáveis — O Emedgene oferece a capacidade de criar painéis virtuais de um subconjunto de genes, adicionando genes individualmente ou em lote.

Resumo

O fluxo de trabalho do Illumina TruSight One fornece uma solução abrangente de DNA para dados para o ambiente de pesquisa clínica. Usando os painéis TruSight One Sequencing Panel ou TruSight One Expanded Sequencing Panel, os pesquisadores podem sequenciar rapidamente > 4.800 genes com associação de fenótipo clínico conhecida. Com a solução intuitiva e abrangente de insights e relatórios de doenças genéticas raras e outras do Emedgene, o amplo conjunto de dados TruSight One pode fornecer subpainéis personalizados responsivos a áreas específicas de pesquisa e pode oferecer uma solução eficiente e eficaz para análise de doenças genéticas.

Saiba mais

[TruSight One Sequencing Panels](#)

[Emedgene](#)

Informações para pedidos

Oligos de enriquecimento	N.º do catálogo
Combo de sequenciamento TruSight One (15 samples)	20042621
TruSight One – Enrichment Oligos only (6 enrichment reactions)	20029227
TruSight One Expanded – Enrichment Oligos only (6 enrichment reactions)	20029226
Kits de preparação da biblioteca	N.º do catálogo
Illumina DNA Prep with Enrichment, (S) Tagmentation (96 samples)	20025524
Illumina DNA Prep with Enrichment, (S) Tagmentation (16 samples)	20025523
Illumina DNA Prep, (S) Tagmentation (96 samples)	20025520
Illumina DNA Prep, (S) Tagmentation (16 samples)	20025519
Índices	N.º do catálogo
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

Referências

1. Montaut S, Tranchant C, Drouot N, et al. [Assessment of a Targeted Gene Panel for Identification of Genes Associated With Movement Disorders](#). *JAMA Neurol*. 2018;75(10):1234-1245. doi:10.1001/jamaneurol.2018.1478.
2. Stenson PD, Mort M, Ball EV, et al. [The Human Gene Mutation Database \(HGMD®\): optimizing its use in a clinical diagnostic or research setting](#). *Hum Genet*. 2020;139(10):1197-1207. doi:10.1007/s00439-020-02199-3
3. McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine, Johns Hopkins University (Baltimore, MD), Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM). [omim.org](#). Acessado em 31 de agosto de 2023.
4. Adam MP, Mirzaa GM, Pagon RA, et al., editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2023. Disponível em: [ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1116/](#). Acessado em 4 de outubro de 2023.
5. Illumina. TruSight One Sequencing Panels. [illumina.com/products/by-type/clinical-research-products/trusight-one.html](#). Acessado em 31 de agosto de 2023.
6. Kent WJ, Sugnet CW, Furey TS, et al. [The human genome browser at UCSC](#). *Genome Res*. 2002;12(6):996-1006. doi:10.1101/gr.229102.
7. Illumina. [Optimizing coverage for targeted resequencing technical note](#). Acessado em 31 de agosto de 2023.
8. Greenwood Genetic Center. GGC Reduces Turn Around Time on Genomic Analysis by 75% With Emedgene's AI Platform. [ggc.org/in-the-news-app/ggc-reduces-turn-around-time-on-genomic-analysis-by-75-with-emedgenes-ai-platform](#). Publicado em 12 de setembro de 2019. 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](#)

© 2023 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-02149 PTB v1.0