illumina®

TruSight™ One Sequencing Panel

当前最大的测序组合，囊括超过 4,800 个基因，使得实验室能够拥有丰富的、更为快捷的测序组合

亮点

- **无以伦比的内容和性能表现**
  囊括 > 4,800 个与人类疾病相关的基因
- **一个组合取代多个**
  用同一个分析和同一个流程来扩展并简化您的测序组合
- **灵活的报告**
  VariantStudio 软件实现一键式的基因过滤，让基因组突变数据的探索更轻松

简介

TruSight One Sequencing Panel 带来了 4,800 多个临床相关基因的全面覆盖。实验室可分析检测组合中的全部基因，或有选择地关注特定亚群。通过这种方式，单个 panel 可有效取代其他所有的测序。对于那些需要生物信息学能力的研究人员而言，TruSight One 附送 VariantStudio 软件，这一简单但强大的工具可以分析、分类并报告基因组突变。如今只需执行一个流程，并以一个方案来管理基因组学样品。用户将获得从样品到报告的整合流程，能够支持整个新一代测序（NGS）组合（图 1）。

全面的分析

TruSight One Sequencing Panel 覆盖 12 Mb 基因组内容，包括 4,813 个与临床表型相关的基因。这让实验室能够关注已被证实有相关性的基因，而不是费力地分析可能并没有直接价值的过量数据。此组合可以在 MiSeq® 以及 MiniSeq™ 上一次性对 3 个样本进行测序，采用 NextSeq 中通量测序芯片对 12 个样本测序，或在 HiSeq® 2500 快速运行模式上对 36 个样品进行测序，95% 以上的目标片段都能获得最低 20 倍的覆盖度。

内容设计策略

TruSight One Sequencing Panel 由 Illumina 开发，着重于含有致病突变的外显子区域。它经过特别设计，覆盖最常被订购的分子检测片段。利用 TruSight One，实验室可使用这一个测序组合就地开展所有研究。基因组目标片段是根据多方面的信息确定的，包括人类基因突变数据库（HGMD）[1]、在线人类孟德尔遗传目录（OMIM）[2]、GeneTests.org 网站 [3]、Illumina TruSight 测序组合 [4] 及市场上其他的测序组合试剂盒。综合这些来源的数据，确保 TruSight One panel 覆盖目前临床研究背景下关注的所有基因，带来一个真正全面的分析。

出色的覆盖度

TruSight One Sequencing Panel 特有高度优化的探针组合，支持大量突变的分析。从仅需 50 ng 的高质量起始 DNA，即可获得对目标外显子序列的全面覆盖。它包含超过 125,395 个 80 碱基探针，每个都根据人 NCBI37/hg19 参考基因组构建。探针组合旨在富集跨越 4,813 个目标基因的约 62,000 个外显子（表 1）。TruSight One 的探针是通过反复的设计和功能检验过程制成的，以确保最高的性能表现和均一性、优化测序能力并实现无以伦比的多重检测能力。其结果是测序组合中 95% 的区域至少得到 20 倍的覆盖度。

* **百分比的计算是每个外显子的最小平均覆盖度，不是每个碱基。**

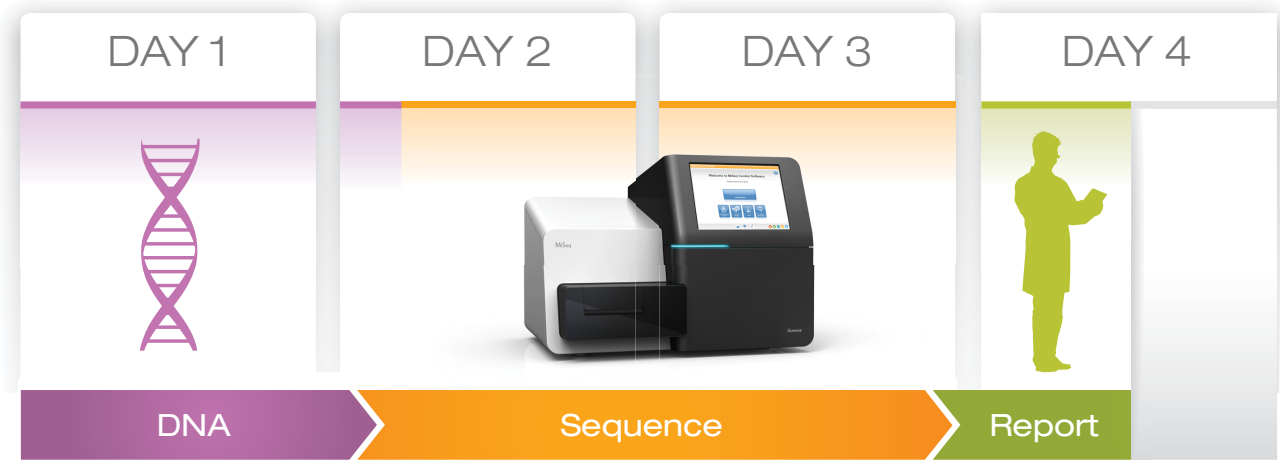

图 1：从样品到报告的无缝流程——Illumina TruSight One Sequencing Panel 和 VariantStudio 软件，让您在短短四天内从 DNA 样品得到报告。

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.

表 1：覆盖度详情

参数	价值
目标区域累积大小	12 Mb
目标基因的数量	4,813
目标外显子的数量	~62,000
探针长度	80-mer
探针数量	125,395
目标最低覆盖度	20x

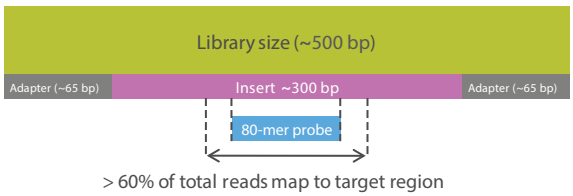

图 2：探针位置——对于约 500 bp 的 DNA 文库（插入片段大小为 300 bp），探针将富集以其中间点为中心的 350-650 bp。

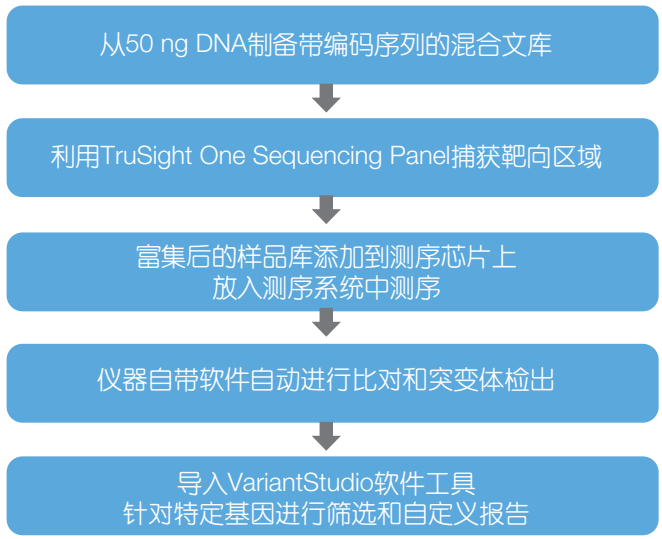

图 3：简单、整合的流程——在 MiniSeq，MiSeq，NextSeq 或 HiSeq 系统上使用 TruSight One 测序集合

DNA 测序报告

采用 Illumina TruSight One Sequencing Panel 和 VariantStudio 软件，从样本到结果报告，仅需 4 天时间。TruSight One 靶定人类基因组中的 12 Mb。80 碱基的探针以长度约为 500 bp 的文库（插入片段大小为 300 bp）为靶向目标，富集探针中点两边对称的 350-650 个碱基（图 2）。[5] 这意味着，除了对主要外显子区域的全面覆盖，还提供了对外显子两侧区域（剪接位点）的覆盖。比起针对全基因组或全外显子组的研究，关注与遗传病有着已知关联的部分外显子组（根据 HGMD、OMIM、GeneTests.org 及其他来源）让实验室能够更高效地检测影响基因功能的突变。[6]

灵活、可定制的数据富集

VariantStudio 软件工具让研究人员能够轻松地探索突变数据，快速地确定生物学相关的突变，并富集有生物学意义的数据。与 TruSight One Sequencing Panel 结合使用，实验室能够快速准确地提取并只报告有意义的疾病相关信息。利用直观的软件界面，用户可高效地从单次 TruSight One 分析中创建子分析项集合。

工作原理

TruSight One 凭借 Nextera® 文库制备技术的速度，实现整合的样品制备和富集流程，仅在 1.5 天内即可完成（图 3）

一个流程

TruSight One 采用独特的多重预富集样品混合策略，无需 DNA 机械法片段化，也减少了文库制备所需的富集次数。这种方法减少了高通量流程中的手工操作时间，比目前其他的富集流程至少节省了一整天。此外，预混试剂辅以 96 孔板式操作，可以同步处理多个富集反应。

TruSight One 样品制备过程从 Nextera 标签片段化开始，将起始基因组 DNA 转化成带接头的文库，无需机械剪切（图 4A）。这种方法仅需要 50 ng 起始 DNA，而 3-12 个样品的平板只需不到 3 个小时。整合的样品条形码允许在单次富集中合并 3-12 个样品。接着，文库被变性（图 4B），使用生物素标记探针特异性杂交目标区域（图 4C）。添加与生物素化探针结合的链霉亲和素磁珠，合并物中目标区域被富集（图 4D）。与链霉亲和素包被磁珠相结合的生物素化 DNA 片段利用磁力得以富集（图 4E）。富集后的 DNA 片段随后从磁珠上洗脱，并杂交进行第二次捕获。整个过程仅在 1.5 天内即可完成，让一位技术员一次最多能处理 36 个样品，完全无需自动化。

开展测序

制备好的文库上样到测序芯片，使用 MiniSeq，MiSeq，NextSeq 或 HiSeq 系统进行测序。将测序芯片上机运行即可。序列数据以 .vcf 文库导出，并轻松导入 VariantStudio 软件进行分析。

经过过滤的数据分析

TruSight One panel 可通过筛选，分离出一组基因或区域用于分析和报告，因此一个分析可代表多个分析。您只需建立一份基因列表，在将 .vcf 文件从 MiniSeq，MiSeq，NextSeq 或 HiSeq 系统导入 VariantStudio 时，选择这份列表。为了使用方便，VariantStudio 软件提供常用的筛选器，包括突变质量、群体频率、功能影响和已知的疾病关联。

除了单个样品的过滤，VariantStudio 软件还实现了多个样品的比较，可加速致病突变的鉴定。为了支持家庭和家系筛选，该软件还提供了一系列可以鉴别与特定遗传模式和疾病进展模式一致的突变筛选器。

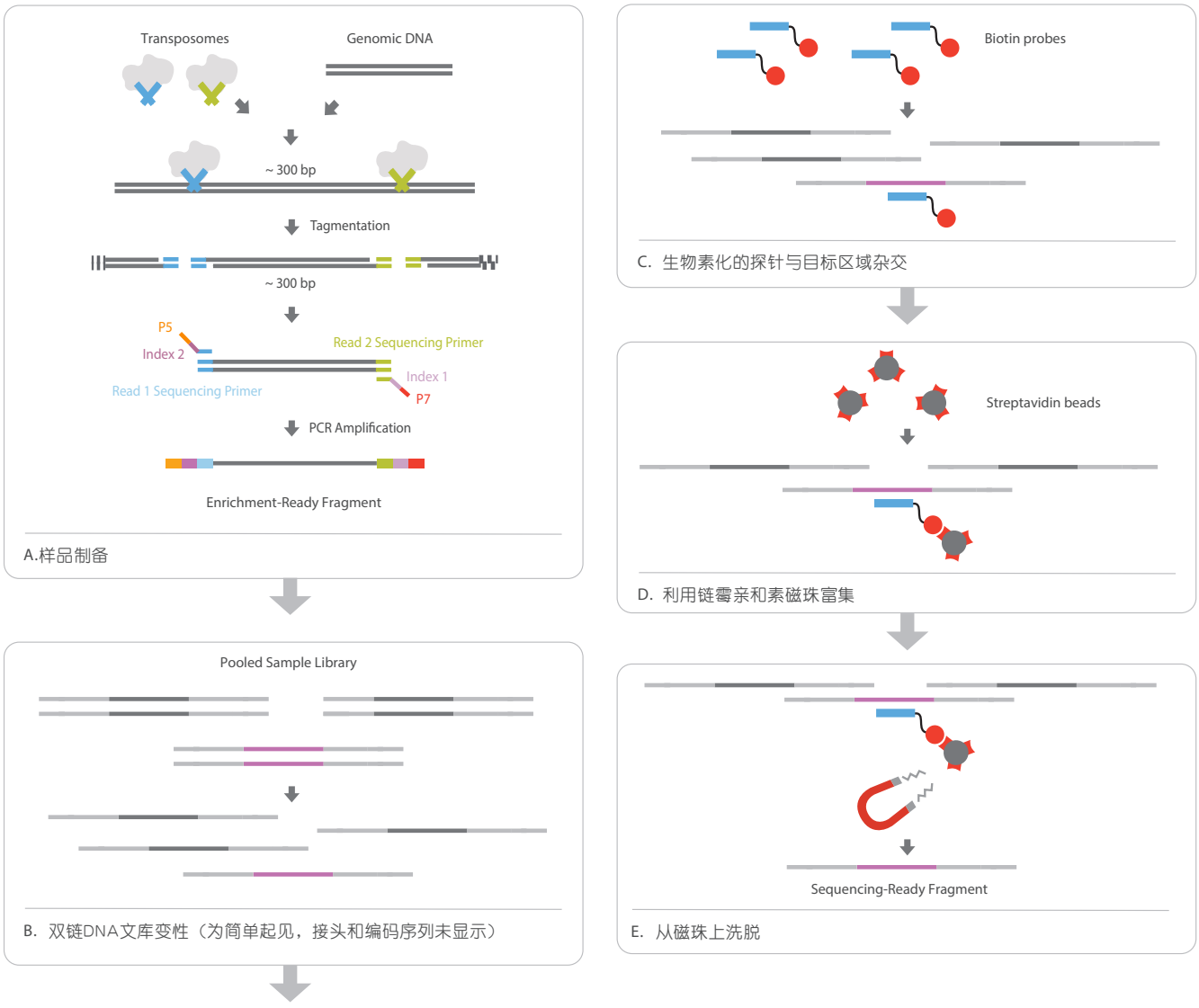

图 4：无缝的 TruSight 快速捕获流程——TruSight One Sequencing Panel 借助 Nextera 文库制备技术，带来一种分离目标基因的快速、简单的方法。简化的流程融合了文库制备和外显子组富集步骤，可在短短 1.5 天内完成，且手工操作时间极少。

可定制的报告

VariantStudio 软件用户可定制报告，以满足不同疾病和测序组合的特定需求。用户可创建多种报告模板，并保存待用。在某一样品上应用模板时，用户只需输入或从 LIMS 导入样品的特定信息，并指定 VariantStudio 中的方法、结果概要以及被报告的突变类别（图 5）。与导入样品信息相关联的报告随后会以 PDF 或多格式文本导出，用于下游应用。

准确的数据

无论是在 MiniSeq，MiSeq，NextSeq 或 HiSeq 系统上测序，TruSight One Sequencing Panel 都能产生无以伦比的均一性和覆盖度（表 2）。单台 MiSeq 仪器上对三个样品测序，一般让 95% 以上的目标都能实现最低 20 倍的覆盖度。

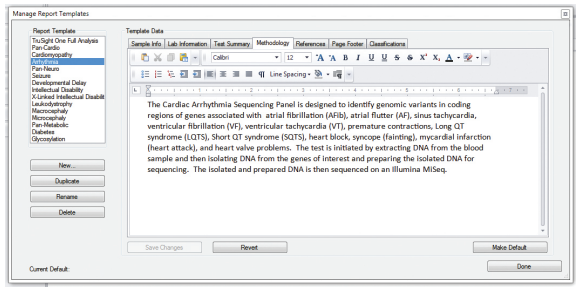

图 5：模板实现了可定制的报告——VariantStudio 提供有指导的模板创建。添加样品特定信息，可以为不同的临床研究领域提供定制化报告。

表 2：TruSight One Sequencing Panel 的性能表现 [a]

Sequencing Kit	Reads Passing Filter (M)	Read Length (bp)	Output (Gb)	Samples per Run	% Targets Covered at 12× Minimum	% Targets Covered at 20× Minimum
MiniSeq Reagent Kit	22–25	2 × 150	7.5	3	97	95
MiSeq Reagent Kit v3	22–25	2 × 150	7.5	3	97	95
NextSeq Mid Output Kit	132	2 × 150	40	12	98	97
HiSeq Rapid Run Mode (single flow cell)	up to 300	2 × 150	90	36	97	95
HiSeq Rapid Run Mode (dual flow cell)	up to 600	2 × 150	180	72	97	95

a.Performance is reported for samples with > 50% enrichment. For the MiSeq system, this targets 1,200–1,400 K/mm2 raw read density.

结语

TruSight One Sequencing Panel，辅以附带的 VariantStudio 数据分析软件，带来的是一个无缝的流程。利用这一全面的组合，实验室可快速对 4,800 多个与临床表型相关的基因进行测序。然后，通过 VariantStudio 筛选数据可创建子组合，满足客户需求，并推动科学认识的进展。

了解更多

如欲获得 TruSight One Sequencing Panel 的更多信息，请访问 www.illumina.com/trusightone。

订购信息

Product	Catalog No.	TG Catalog No.[a]
TruSight One Sequencing Panel (9 samples)	FC-141-1006	TG-141-1006
TruSight One Sequencing Panel (36 samples)	FC-141-1007	TG-141-1007

a. TG-labeled consumables include features intended to help customers reduce the frequency of revalidation. They are available only under supply agreement and require customers to provide a binding forecast. Contact your account manager for more information.

参考文献

1. HGMD® Human Gene Mutation Database. www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php. Accessed December 27, 2015.
2. OMIM - Online Mendelian Inheritance in Man. www.omim.org. Accessed December 27, 2015.
3. GeneTests. www.genetests.org. Accessed December 27, 2015.
4. TruSight Sequencing Panels. Illumina. www.illumina.com/products/trusight-panels.html. Accessed December 27, 2015.
5. Illumina. Optimizing coverage for targeted resequencing technical note. www.illumina.com/documents/products/technotes/technote_optimizing_coverage_for_targeted_resequencing.pdf. Accessed December 27, 2015.
6. Bainbridge MN, Wang M, Wu YQ, et al. Targeted enrichment beyond the consensus coding DNA sequence exome reveals higher variant densities. *Genome Biol.* 2011; 12: R68.

Illumina China

上海办公室
地址：上海市卢湾区淮海中路333号瑞安广场2210室，200021
电话：+86－21-60321066　传真：+86-21-60906279

北京办公室
地址：北京市朝阳区曙光西里甲5号凤凰置地广场H座写字楼1101室，100028
电话：+86-10-84554866　传真：+86-10-84554855

印刷日期：2016年05月22日

欢迎关注Illumina官方新浪微博 @Illumina_china

欢迎关注Illumina微信公共号 @Illumina

Illumina • 1.800.809.4566 toll-free (US) • +1.858.202.4566 tel • techsupport@illumina.com • www.illumina.com
Illumina China • 技术支持热线 400.635.9898 • techsupport@illumina.com • www.illumina.com.cn

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.

illumina®