

Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment

Résultats d'exomes ciblés
et cohérents provenant
d'un seul partenaire

- Couverture rentable de l'exome à l'aide d'un panel ciblé, complet et à jour
- Trousse de préparation des bibliothèques facile à utiliser comprenant des méthodes d'automatisation qualifiées
- Solution et assistance complètes de haute qualité
- Options adaptables de contenu avec panel mitochondrial et ajouts de panels personnalisés



Séquençage complet des exomes avec un seul partenaire fiable

ILLUMINA DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment fournit des résultats de séquençage de l'exome humain entier avec des performances et une qualité de données exceptionnelles tout en demeurant économiques. Cette solution de préparation et d'enrichissement des bibliothèques facile à utiliser fait partie d'un flux de travail complet qui s'étend des échantillons à la génération de rapports (figure 1). Les méthodes qualifiées d'Illumina sont disponibles sur de nombreuses plateformes d'automatisation par l'entremise de nos partenaires. Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment débute avec de l'ADN génomique (ADNg) extrait, ou une entrée directe d'échantillons de sang ou de salive*, et associe une chimie de préparation rapide de bibliothèques par tagmentation sur billes à un enrichissement d'exome par capture hybride (figure 2)¹ subséquent. La chimie d'Illumina DNA Prep with Enrichment prend en charge la normalisation intégrée de l'ADN d'entrée de haute qualité (≥ 50 ng), permettant ainsi un regroupement simple en fonction du volume pour l'hybridation et un débit de séquençage uniforme de chaque bibliothèque d'exomes enrichie. Les bibliothèques sont séquencées sur les systèmes NovaSeq^{MC} 6000, NovaSeq X, NextSeq^{MC} 1000, NextSeq 2000 ou NextSeq 550. L'analyse secondaire primée de la plateforme DRAGEN^{MC} effectuée l'appel des variants². Dans le cas des maladies génétiques, la plateforme Emedgene fait appel à l'intelligence artificielle explicable (XAI, Explainable Artificial Intelligence) et l'automatisation pour rationaliser l'interprétation et la génération de rapports pour les panels d'exomes.

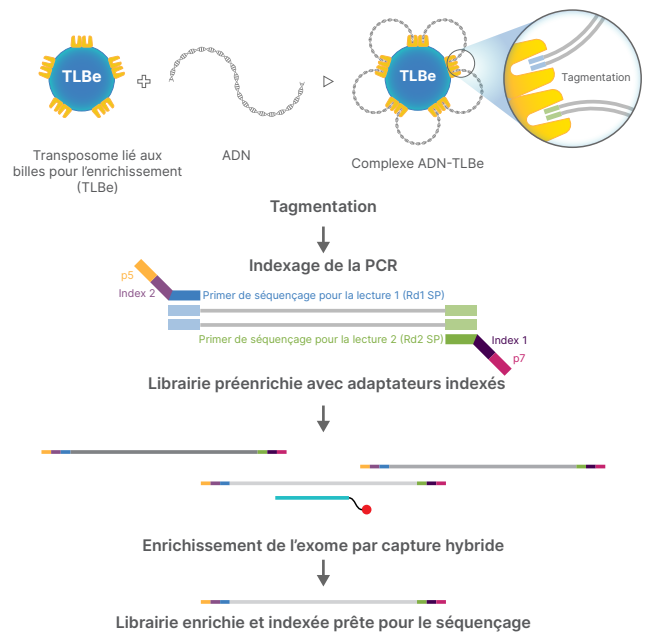


Figure 2 : Préparation rationalisée de bibliothèques basée sur la tagmentation avec enrichissement de l'exome : les transposomes liés aux billes pour l'enrichissement (TLBe) servent d'agents médiateurs pour produire une réaction de tagmentation uniforme avec une tolérance élevée à diverses quantités d'entrées d'échantillons d'ADN¹. Une fois l'enrichissement par capture hybride effectué, les bibliothèques d'exomes sont prêtes pour le séquençage.

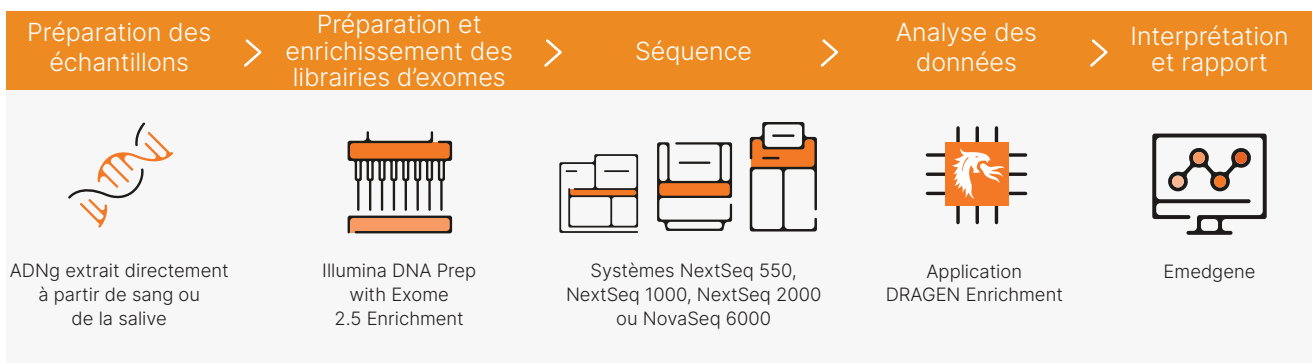


Figure 1 : Des échantillons à la génération de rapports à partir d'un seul partenaire : Illumina prend en charge un flux de travail complet pour le séquençage de l'exome entier. L'ADNg extrait (ou l'ADN provenant des échantillons de sang ou de salive à la suite de l'utilisation de protocoles d'extraction directe) est entré dans la préparation de bibliothèques grâce à Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment. Les méthodes qualifiées sont disponibles sur de nombreuses plateformes d'automatisation. Séquençage selon l'échelle et les exigences de débit sur les instruments Illumina. Une analyse secondaire précise et rapide et un appel des variants sont effectués avec DRAGEN Enrichment App. Dans le cas des maladies génétiques, Emedgene permet une interprétation et une génération de rapports intuitives.

* Les protocoles d'entrées directes d'échantillons de sang et de salive nécessitent Flex Lysis Reagent Kit. Les données présentées sont générées à partir de l'ADNg extrait, et non des échantillons de sang ou de salive. La performance obtenue grâce aux échantillons de sang et de salive peut varier en fonction de la qualité des échantillons.

Couverture complète et rentable des variants associés à des maladies dans les bases de données publiques

ILLUMINA DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment utilise un panel d'enrichissement de l'exome ciblé, complet et à jour. Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel, inclus dans la trousse, est plus petit que le Illumina Exome Panel et améliore la couverture de la région ciblée pour les variants indiqués dans les bases de données publiques ([tableau 1](#) et [tableau 2](#)). Cette couverture ciblée permet d'obtenir une solution de séquençage de l'exome entier (WES, Whole-Exome Sequencing) économique avec un nombre optimal d'échantillons par analyse de séquençage ([tableau 3](#)).

Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel couvre les séquences codantes (CDS, Coding Sequence) conservées à partir de RefSeq, du Consensus Coding Sequence (CCDS), de l'American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG), du recensement des gènes du cancer tiré du Catalog of Somatic Mutations in Cancer (COSMIC) et du Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) ([tableau 1](#)) avec une couverture exceptionnelle des variants pathogènes ou probablement pathogènes indiqués dans les bases de données du ClinVar et de l'ACMG ([tableau 2](#))³⁻⁹.

La couverture du génome mitochondrial (chrM) peut être ajoutée facilement en utilisant Twist Bioscience for Illumina Mitochondrial Panel comme panel de contrôle dans le protocole d'ILLUMINA DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment. Le panel mitochondrial offre une couverture complète des 16 659 pb et des 37 gènes du chrM, permettant ainsi l'enrichissement et le séquençage des variants d'ADN mitochondrial (ADNmt).

Tableau 1 : Meilleure couverture de la région ciblée dans un format rentable avec Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel

Panel d'exomes	Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel	Illumina Exome Panel
Taille	37,5 Mb	45 Mb
RefSeq CDS ³	99,1 %	98,2 %
CCDS CDS ⁴	99,9 %	99,5 %
73 gènes du CDS de l'ACMG ⁵	99,9 %	99,3 %
Recensement des gènes du cancer COSMIC du CDS ^{6,7}	99,9 %	99,3 %
OMIM ⁸	99,1 %	97,7 %

Tableau 2 : Recherche clinique – contenu ciblé du Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel

Variants ClinVar pathogènes/probablement pathogènes du CDS ^{a,9}	98,6 %
73 variants pathogènes/probablement pathogènes du CDS de l'ACMG ^{b,5}	99,9 %

- Les archives publiques ClinVar font état des relations entre les variations et les phénotypes humains avec données probantes à l'appui. Les variants pathogènes/probablement pathogènes sont indiqués d'après les directives ClinVar en matière de classification.
- La liste des variants pathogènes/probablement pathogènes de l'ACMG comprend les variants superposés entre les séquences codantes conservées des gènes de l'ACMG et les variants ClinVar pathogènes/probablement pathogènes.

Tableau 3 : Nombre estimé de bibliothèques Exome 2.5 Enrichment enrichies par Flow Cell et système de séquençage^a

Profondeur moyenne de couverture cible souhaitée	NextSeq 550 System ^b		NextSeq 2000 System		NovaSeq 6000 System			
	Débit moyen	Débit élevé	P2 ^c	P3	SP	S1	S2	S4
50x	6	19	19	57	34	69	176	428 ^d
100x	3	9	9	28	17	34	88	214
200x	1	4	4	14	8	17	45	109

- Les estimations sont basées sur une longueur de lecture de 2 × 101 pb, calculées en fonction d'expériences internes typiques. Le nombre d'échantillons peut varier en fonction de la gestion du flux de travail, l'échantillon d'entrée ou la qualité de la bibliothèque et du débit réel de séquençage de chaque plateforme et Flow Cell. Les données réelles ont été acquises sur NovaSeq 6000 System en utilisant des Flow Cell S4 et extrapolées à d'autres instruments et Flow Cell.
- Les NextSeq 550 Reagent Kits prennent en charge des longueurs de lecture de 2 × 150 pb.
- Les Flow Cell P2 ayant le même débit d'échantillons sont également disponibles sur NextSeq 1000 System.
- Le regroupement d'autant de bibliothèques enrichies nécessite des index supplémentaires.

Les données de séquençage d'Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment démontrent une excellente cohérence de la couverture avec un pourcentage élevé de cibles couvertes à 20× la profondeur de séquence ou plus en utilisant un débit de 5 Gb et deux durées d'hybridation différentes pour l'enrichissement (figure 3).

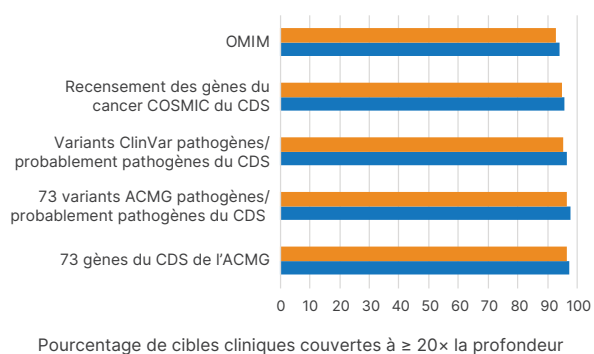


Figure 3 : Couverture complète et étendue de variants associés à des maladies dans les bases de données publiques : Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment utilisant une durée d'hybridation de 1,5 heure (orange) ou de 16 heures (bleu) affiche un pourcentage de couverture moyenne élevé à $\geq 20\times$ des cibles à partir des bases de données publiques, notamment ACMG, ClinVar, OMIM et COSMIC⁵⁻⁹.

Performance de haute qualité

Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment démontre une performance du test d'enrichissement exceptionnelle. Les données ont été recueillies à l'aide d'Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment Kit et de Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel avec une durée d'hybridation de 1,5 heure ou de 16 heures. À des fins de comparaison, le test a également été effectué à l'aide du panel d'exomes d'origine d'Illumina, en suivant le même protocole, sauf que les températures d'hybridation (pour la durée de 1,5 heure) et de lavage ont été réduites à 58 °C en raison de l'utilisation de sondes plus courtes (étiquetées « IEP 1,5 h » à la figure 4 et à la figure 5).

Les indicateurs de performance de la DRAGEN Enrichment App et du Picard Pipeline¹⁰ révèlent un pourcentage optimal de lectures pouvant être cartographiées, de lectures alignées sur la cible (en fonction du pourcentage de lectures passant le filtre pour les lectures uniques alignées, du pourcentage d'enrichissement par lectures élargies uniques et du pourcentage d'enrichissement par bases élargies uniques) et une couverture moyenne de la cible exceptionnelle pour Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment avec les sondes Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel (figure 4).

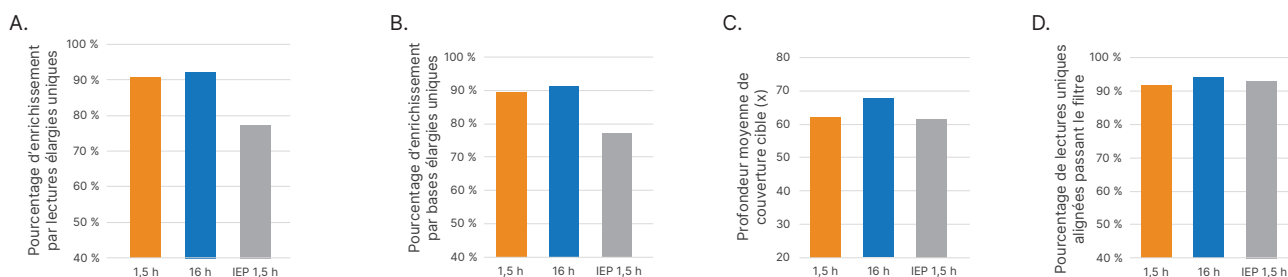


Figure 4 : L'excellente performance du test d'enrichissement d'Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment : Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment utilisant une durée d'hybridation de 1,5 heure (orange) ou de 16 heures (bleu) illustre une performance fiable comparativement au Illumina Exome Panel (IEP 1,5 h, gris). Indicateurs DRAGEN : (A) Pourcentage d'enrichissement par lectures élargies uniques (taille élargie de 150 pb); (B) pourcentage d'enrichissement par bases élargies uniques (taille élargie de 150 pb); et (C) profondeur moyenne de couverture cible. Indicateurs de Picard : (D) Pourcentage de lectures passant le filtre pour les lectures uniques alignées. Les bibliothèques enrichies ont été séquençées sur NovaSeq 6000 System, les Flow Cell S4 avec un débit de 5 Gb (50 millions de lectures appariées, 25 millions d'amplifiats) et des longueurs de lecture de 2×101 pb.

Profondeur et uniformité de la couverture

Une analyse supplémentaire démontre l'excellente uniformité de couverture d'Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment par rapport au Illumina Exome Panel (figure 5). Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment assure une couverture uniforme avec un pourcentage élevé de bases à 20x ou plus la profondeur de lecture, ainsi qu'une faible pénalité de base de 80 fois et un faible pourcentage de cibles sans couverture.

La performance uniforme entre les durées d'hybridation de 1,5 heure et de 16 heures illustre la manière dont les laboratoires peuvent accélérer leurs flux de travail grâce à la durée d'hybridation de 1,5 heure ou prolonger leurs hybridations pendant la nuit si cela convient mieux à leurs flux de travail.

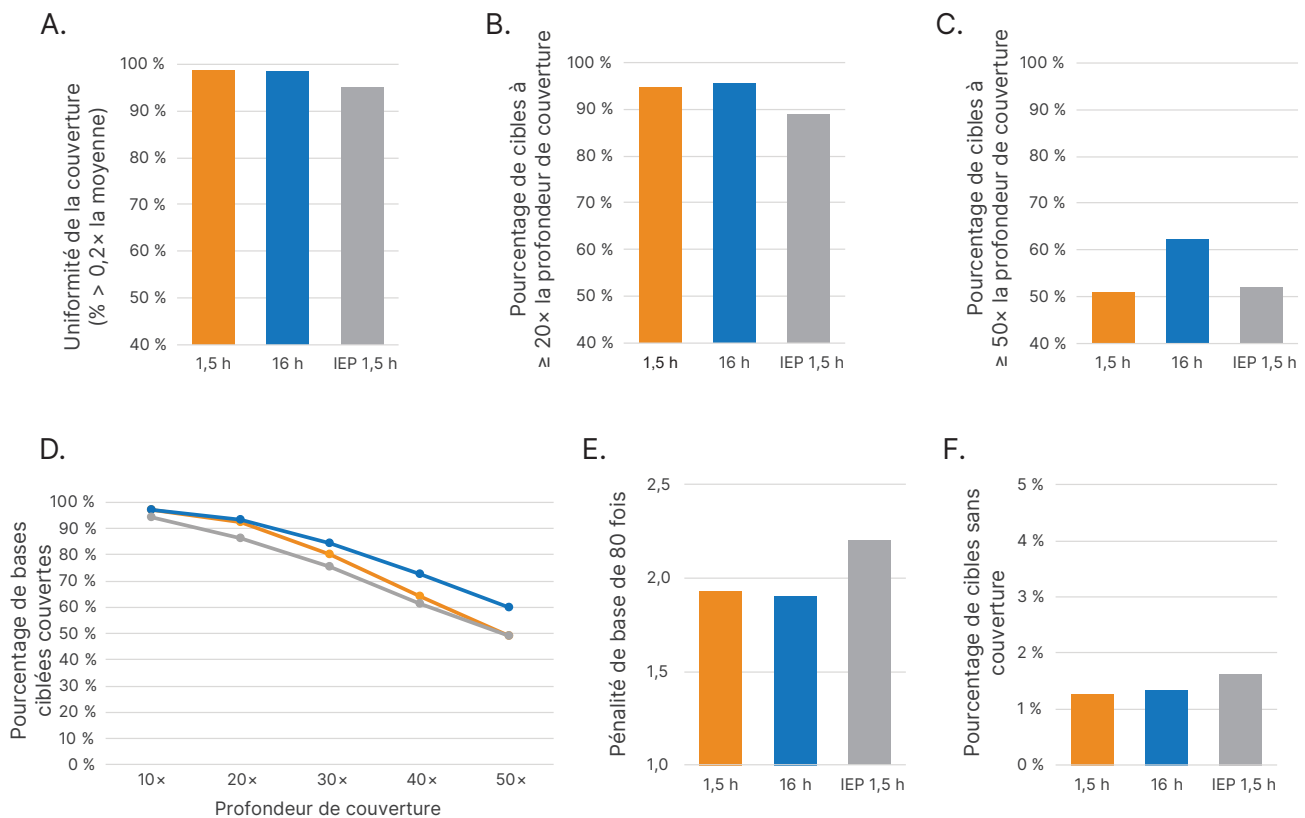


Figure 5 : Excellentes couverture et uniformité, indépendamment de la durée d'hybridation : Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment utilisant une durée d'hybridation de 1,5 heure (orange) ou de 16 heures (bleu) affiche une excellente uniformité de couverture comparativement au Illumina Exome Panel (IEP 1,5 h, gris) analysé en parallèle. Indicateurs DRAGEN : (A) Uniformité de la couverture (pourcentage > 0,2x la couverture moyenne); (B) pourcentage des cibles couvertes à ≥ 20x; et (C) pourcentage des cibles couvertes à ≥ 50x. Indicateurs de Picard : (D) Pourcentage de bases cibles avec une profondeur de couverture de 10x, 20x, 30x, 40x et 50x; (E) pénalité de base de 80 fois (une valeur à une fois de plus la couverture nécessaire pour élever 80 % des bases dans les cibles à couverture autre que zéro au niveau de la couverture moyenne de ces cibles); et (F) pourcentage de cibles sans couverture. Librairies enrichies séquencées sur NovaSeq 6000 System, les Flow Cell S4 avec un débit de 5 Gb (50 millions de lectures appariées, 25 millions d'amplifiats) et des longueurs de lecture de 2 × 101 pb.

L'ADN mitochondrial est présent en plus grande quantité dans la cellule par rapport à l'ADN nucléaire. Twist Bioscience for Illumina Mitochondrial Panel peut être utilisé à différentes concentrations par rapport au panel d'exomes, ce qui démontre une flexibilité dans la variation de la couverture d'ADNmt sans avoir d'impact sur la couverture cible moyenne de l'exome ou l'uniformité de la couverture (figure 6).

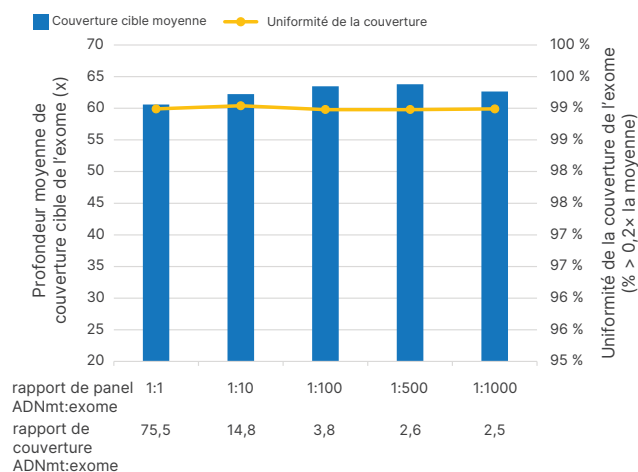


Figure 6 : Couverture uniforme de l'exome avec couverture mitochondriale supplémentaire : les rapports variables de Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel et de Twist Bioscience for Illumina Mitochondrial Panel montrent une couverture cible moyenne uniforme de l'exome (barres bleues) et une uniformité de la couverture (ligne jaune). Au total, 72 échantillons d'ADN de lignée cellulaire humaine provenant du Coriell Institute (NA24143, NA24149 et NA24385) ont été enrichis (6 groupes de 12 niveaux) avec des rapports de panel ADNmt:exome variant de 1:1 à 1:1 000 dans des réactions d'hybridation de 16 heures. Les 72 bibliothèques enrichies ont toutes été séquencées sur NovaSeq 6000 System à l'aide d'une seule Flow Cell S4 avec un débit de 5 Gb (50 millions de lectures appariées, 25 millions d'amplifiats) et l'analyse d'enrichissement a été effectuée à l'aide de DRAGEN Enrichment App.

Contenu SEE personnalisé

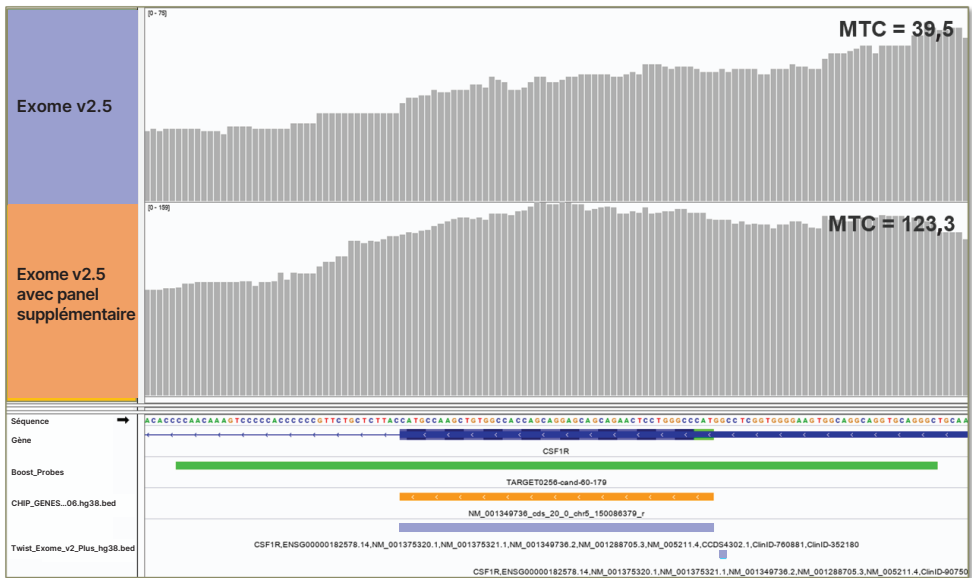
Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel peut être personnalisé à l'aide d'un panel supplémentaire pour ajouter des cibles ou augmenter la couverture cible pour les expériences de SEE. Illumina Custom Enrichment Panel v2 peut être conçu pour étendre la couverture de séquençage à de nouvelles cibles ou approfondir la couverture des régions cibles existantes du SEE (figure 7, tableau 4). Les panels sont conçus pour une liste de cibles personnalisée et ajoutés facilement en tant que panel de contrôle dans le protocole Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment, avec ou sans ajout du panel mitochondrial de contrôle. Les panels personnalisés sont conçus à l'aide de l'outil de conception en ligne DesignStudio^{MC} ou avec l'aide de l'équipe des services de conception Concierge d'Illumina.

Tableau 4 : Le panel de contrôle Illumina Custom Enrichment Panel v2 augmente la couverture cible^a

Paramètre	Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment	Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment plus panel de contrôle
Couverture cible moyenne	63x	124x
Uniformité de la couverture	98,3 %	98,4 %
Pourcentage de cibles couvertes à 20x	96,7 %	98,6 %
Pourcentage de cibles couvertes à 50x	66,6 %	96,3 %
Élimination AT	0,01 %	1,08 %
Élimination GC	9,9 %	2,3 %

a. Le protocole Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment a été réalisé avec et sans panel de contrôle personnalisé ciblant les régions couvertes par Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel et la couverture des régions ciblées par le panel de contrôle a été analysée.

CSF1R
chr5:150086379-150086427



BCORL1
chrX:13001295-130016213

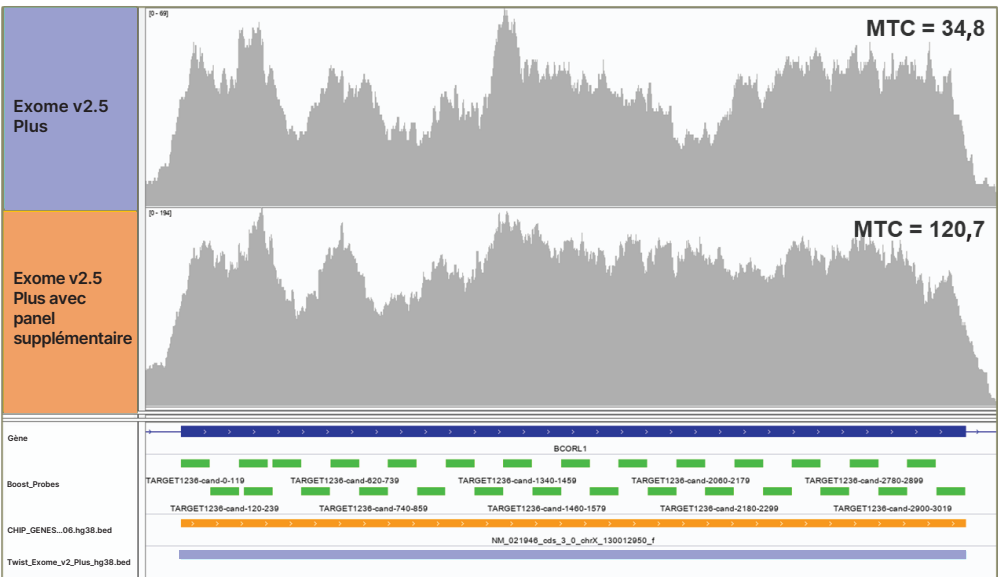


Figure 7 : Illumina Custom Enrichment Panel v2 améliore la couverture des cibles du SEE : un panel Illumina Custom Enrichment Panel v2 composé de 2 689 sondes couvrant 2 689 cibles exoniques dans Twist Bioscience pour Illumina Exome 2.5 Panel a été conçu. Le protocole Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment a été réalisé avec et sans panel de contrôle personnalisé et la couverture des régions ciblées par le panel de contrôle a été analysée. La couverture cible moyenne (MTC, Mean Target Coverage) des régions couvertes s'est améliorée d'environ 2 fois et le pourcentage de cibles couvertes à 50× a augmenté de manière significative avec le panel de contrôle.

Résumé

ILLUMINA DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment offre une solution de séquençage de l'exome humain entier fiable, bien conçue et efficace. Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel inclus fournit un contenu complet et à jour sur les variants associés à des maladies se trouvant dans les bases de données publiques et Twist Bioscience for Illumina Mitochondrial Panel (en option) ajoute une couverture complète du chrM. Le panel d'enrichissement optimisé et personnalisé permet un débit d'échantillons élevé pour un séquençage économique des exomes. L'excellente couverture uniforme facilite l'analyse en aval et l'interprétation. Il est possible d'obtenir une meilleure efficacité en adoptant les méthodes qualifiées d'Illumina sur de nombreuses plateformes d'automatisation, disponibles par l'entremise de nos partenaires. Grâce à Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment, les laboratoires peuvent désormais bénéficier d'un flux de travail de séquençage des exomes complet et de haute qualité, des échantillons à la génération de rapports, à partir d'un seul partenaire.

En savoir plus

[Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment](#)

[Méthodes qualifiées d'Illumina pour l'automatisation](#)

[Analyse secondaire DRAGEN](#)

[Analyse tertiaire Emedgene](#)

[Outil de conception de tests DesignStudio](#)

Renseignements relatifs à la commande

Produit	N° de référence
Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment, (S) Tagmentation Set B (96 échantillons, 12 niveaux) ^a	20077595
Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment, (S) Tagmentation Set D (96 échantillons, 12 niveaux) ^a	20077596
Flex Lysis Reagent Kit (96 réactions) ^b	20018706
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set A, Tagmentation (96 index, 96 échantillons) ^c	20091654
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set B, Tagmentation (96 index, 96 échantillons) ^c	20091656
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set C, Tagmentation (96 index, 96 échantillons) ^c	20091658
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set D, Tagmentation (96 index, 96 échantillons) ^c	20091650
Twist Bioscience for Illumina Mitochondrial Panel (96 échantillons, 12 niveaux) ^d	20093180
Illumina Custom Enrichment Panel v2 (32 µl, 120 pb) ^e	20073953
Illumina Custom Enrichment Panel v2 (384 µl, 120 pb) ^e	20073952
Illumina Custom Enrichment Panel v2 (1 536 µl, 120 pb) ^e	20111339

- Les trousse comprennent les réactifs de préparation de bibliothèques et d'hybridation Illumina DNA Prep with Enrichment, les Illumina Purification Beads pour le nettoyage et la sélection de la taille, les sondes d'enrichissement Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel et une plaque d'adaptateurs d'index.
- Trousse requise pour l'entrée directe d'échantillons de sang.
- Il est possible de choisir un ensemble d'index différent.
- Twist Bioscience for Illumina Mitochondrial Panel contient 32 µl de panel d'oligos, suffisamment de matériel pour 8 réactions d'hybridation de 4 µl chacune.
- 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 with Enrichment Data Sheet. [illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/illumina-dna-prep-for-enrichment-770-2020-010/illumina-dna-prep-enrichment-data-sheet-770-2020-010.pdf](https://www.illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/illumina-dna-prep-for-enrichment-770-2020-010/illumina-dna-prep-enrichment-data-sheet-770-2020-010.pdf). Publié le 29 octobre 2020. Consulté le 27 juillet 2023.
2. Mehio R, Ruehle M, Catreux S, et al. DRAGEN Wins at PrecisionFDA Truth Challenge V2 Showcase Accuracy Gains from Alt-aware Mapping and Graph Reference Genomes. [illumina.com/science/genomics-research/articles/dragen-wins-precisionfda-challenge-accuracy-gains](https://www.illumina.com/science/genomics-research/articles/dragen-wins-precisionfda-challenge-accuracy-gains). Publié le 2 juin 2021. Consulté le 27 juillet 2023.
3. NIH National Library of Medicine. RefSeq; NCBI Reference Sequence Database. NCBI website. [ncbi.nlm.nih.gov/refseq](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq). Mis à jour le 18 juillet 2023. Consulté le 27 juillet 2023.
4. CCDS - Consensus CDS (CCDS) Database. NCBI website. [ncbi.nlm.nih.gov/projects/CCDS/CcidsBrowse.cgi](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/CCDS/CcidsBrowse.cgi). Mis à jour le 9 novembre 2022. Consulté le 27 juillet 2023.
5. NIH National Library of Medicine. ACMG Recommendations for Reporting of Secondary Findings in Clinical Exome and Genome Sequencing. NCBI website. [ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/docs/acmg](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/docs/acmg). Mis à jour le 27 juin 2023. Consulté le 27 juillet 2023.
6. Catalog of Somatic Mutations in Cancer (COSMIC). COSMIC website. cancer.sanger.ac.uk/cosmic/download. Publié le 23 mai 2023. Consulté le 27 juillet 2023.
7. Cancer Gene Census. COSMIC website. cancer.sanger.ac.uk/census. Publié le 23 mai 2023. Consulté le 27 juillet 2023.
8. Catalog of Human Genes and Genetic Disorders. OMIM website. [omim.org](https://www.omim.org). Mis à jour le 26 juillet 2023. Consulté le 27 juillet 2023.
9. ClinVar Database. NCBI website. [ncbi.nlm.nih.gov/clinvar](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar). Mis à jour le 24 juillet 2023. Consulté le 27 juillet 2023.
10. Genome Analysis Toolkit (GATK). The Broad Institute. gatk.broadinstitute.org/hc/en-us/articles/360037428871-CollectHsMetrics-Picard. Publié le 7 janvier 2020. Consulté le 27 juillet 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-00002 FRA v5.0