

Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment

只需单个合作伙伴, 即可获得
专注一致的外显子组结果

- 利用专注、全面且包含最新信息的外显子组 SNP 集合, 实现高性价比的外显子组覆盖
- 易于使用的文库制备试剂盒, 配备精选的自动化方法
- 提供高质量的一站式解决方案和支持
- 可使用高浓度定制 SNP 集合轻松增加线粒体基因组覆盖

illumina[®]

只需单个可靠的合作伙伴即可实现一站式的外显子组测序

Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment 提供经济实惠的人类全外显子组测序 (WES) 结果, 具有出色的性能和数据质量。这项易于使用的文库制备和富集解决方案是从样品到报告的一站式工作流程的一部分 (图 1)。Illumina 精选方法适用于由合作伙伴提供的一系列自动化平台。Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment 从提取的基因组 DNA (gDNA) 或者直接从血液或唾液输入开始, 结合快速的微珠标记文库制备化学技术, 然后再进行杂交捕获外显子组富集 (图 2)。¹ Illumina DNA Prep with Enrichment 化学技术支持集成对高质量输入 DNA (≥ 50 ng) 的标准化, 允许通过简单的基于容量的混合以进行杂交, 并从每个已富集的外显子组文库提供均匀的测序输出。文库通过 NovaSeq™ 6000 System、NextSeq™ 1000 System、NextSeq 2000 System 或 NextSeq 550 System 进行测序。屡获殊荣的 DRAGEN™ 二级分析用于执行变异检出。² 对于遗传疾病, Emedgene 平台应用可解释人工智能 (XAI) 和自动化来简化外显子组 SNP 集合的解读和报告。

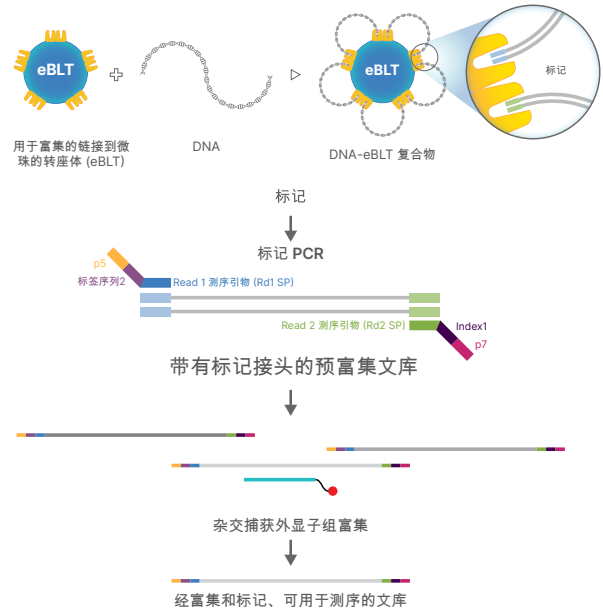


图 2: 精简的基于标记的文库制备及外显子组富集 — 由用于富集的链接到微珠的转座体 (eBLT) 来介导均一的标记反应, 对各种不同的 DNA 样品输入量具有较高的耐受性。¹ 在进行杂交捕获富集之后, 外显子组文库即可用于测序。



图 1: 从样品到报告, 只需一个合作伙伴 — Illumina 支持一站式的 WES 工作流程。提取的 gDNA (或按照直接提取操作流程从血液或唾液中提取出的 DNA) 是 Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment 的文库制备输入。精选方法适用于一系列自动化平台。根据规模和通量需求在 Illumina 仪器上进行测序。使用 DRAGEN Enrichment 应用程序执行准确、快速的二级分析和变异检出。对于遗传疾病, 可通过 Emedgene 进行直观的解读和报告。

* 直接血液和唾液操作流程需要使用 Flex Lysis 试剂盒。所示数据是从提取的 gDNA (而非血液或唾液) 生成的。对于血液和唾液, 性能可能会因样品质量而异。

高性价比且全面地覆盖公共数据库中的疾病相关变异

Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment 使用专注、全面且包含最新信息的外显子组富集 SNP 集合。试剂盒随附的 Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel 比 Illumina Exome Panel 更小,改善了对公共数据库中报告的变异的靶标区域覆盖(表 1 和表 2)。这种具有专注性的覆盖可以在每次测序运行中使用最佳数量的样品,实现高性价比的WES解决方案(表 3)。

Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel 涵盖来自 RefSeq、共识编码序列(Consensus Coding Sequence, 简称 CCDS)、美国医学遗传学与基因组学学会(American College of Medical Genetics and Genomics, 简称 ACMG)、癌症体细胞突变目录(Catalog of Somatic Mutations in Cancer, 简称 COSMIC)之癌症基因普查(Cancer Gene Census, 简称 CGC)和在线人类孟德尔遗传(Online Mendelian Inheritance in Man, 简称 OMIM)数据库的精选编码序列(CDS)(表 1),并特别覆盖了 ClinVar 和 ACMG 数据库中报告的致病性或可能致病性变异(表 2)。³⁻⁹

通过在 Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment 操作流程中使用 Twist Bioscience for Illumina Mitochondrial Panel 作为高浓度定制 SNP 集合,可以轻松地增加线粒体基因组(chrM)的覆盖。Mitochondrial Panel 提供对 chrM 长度为 16,659 bp 的 37 个基因的全面覆盖,允许对线粒体 DNA(mtDNA)变异进行富集和测序。

表 1: 利用 Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel, 以高性价比的大小改进靶标区域覆盖

外显子组 SNP 集合	Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel	Illumina Exome Panel
大小	37.5 Mb	45 Mb
RefSeq CDS ³	99.1%	98.2%
CCDS CDS ⁴	99.9%	99.5%
ACMG 73 genes CDS ⁵	99.9%	99.3%
COSMIC Cancer Gene Census CDS ^{6, 7}	99.9%	99.3%
OMIM ⁸	99.1%	97.7%

表 2: Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel 中专注于临床研究的内容

ClinVar 致病性/可能致病性变异 CDS ^{a, 9}	98.6%
ACMG 73 致病性/可能致病性变异 CDS ^{b, 5}	99.9%

a. ClinVar 公共档案报告了人类变异和表型之间的关系,并提供支持性证据。致病性/可能致病性变异是根据 ClinVar 分类指南进行报告的。

b. ACMG 致病性/可能致病性变异列表包含了 ACMG 基因精选编码序列与 ClinVar 致病性/可能致病性变异之间的重叠变异。

表 3: 按流动槽和测序系统列出的预估已富集 Exome 2.5 Enrichment 文库数量^a

所需的平均靶标覆盖深度	NextSeq 550 System ^b		NextSeq 2000 System		NovaSeq 6000 System			
	中等输出	高输出	P2 ^c	P3	SP	S1	S2	S4
50×	6	19	19	57	34	69	176	428 ^d
100×	3	9	9	28	17	34	88	214
200×	1	4	4	14	8	17	45	109

a. 预估结果基于 2 × 101 bp 的片段长度,根据典型的内部实验计算得出。样品数量可能因工作流程处理、输入样品或文库质量以及各平台和流动槽的实际测序输出而异。在 NovaSeq 6000 System 上使用 S4 流动槽获取实际数据,并据此对其他仪器和流动槽做出了推断。

b. NextSeq 550 试剂盒支持 2 × 150 bp 的片段长度。

c. 具有相同样品通量的 P2 流动槽也可在 NextSeq 1000 System 上使用。

d. 混合这么多的富集文库需要使用额外的标签。

Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment 测序数据显示出极佳的覆盖一致性，使用 5 Gb 的输出和两种不同的富集杂交时间，在 20 倍或更高的序列深度下实现了较高的靶标覆盖百分比 (图 3)。

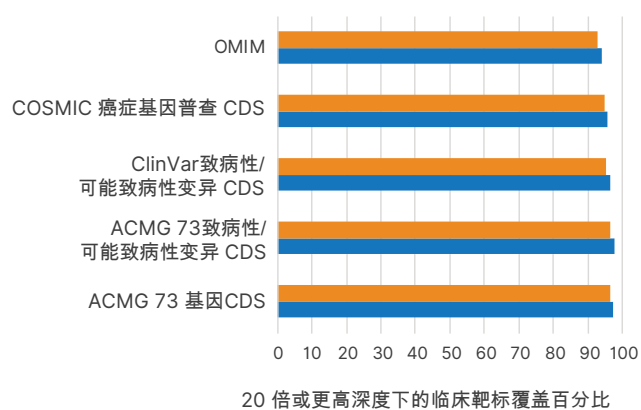


图 3: 广泛、全面地覆盖公共数据库中的疾病相关变异 — Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment 使用 1.5 小时 (橙色) 或 16 小时 (蓝色) 的杂交时间，针对来自于公共数据库 (包括 ACMG、ClinVar、OMIM 和 COSMIC) 的靶标在 20 倍或更高的深度下显示出了较高的平均百分比覆盖率。⁵⁻⁹

高质量性能

Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment 表现出了出色的富集实验分析性能。使用 Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment 试剂盒及随附的 Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel 收集了数据 (杂交时间为 1.5 小时或 16 小时)。为了进行比较，还使用原始的 Illumina Exome Panel 进行了实验分析，除了由于使用的探针更短而将 1.5 小时杂交和清洗温度降低到 58°C 外，其所遵循的操作流程是相同的 (在图 4 和图 5 中标为“IEP 1.5 hr”)。

DRAGEN Enrichment 应用程序和 Picard 管道¹⁰的性能指标显示，Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment 配备 Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel 探针的可映射片段占靶标片段的百分比最佳 (基于唯一比对片段的通过过滤百分比、填补唯一片段富集的百分比和填补唯一碱基富集的百分比)，还实现了出色的平均靶标覆盖率 (图 4)。

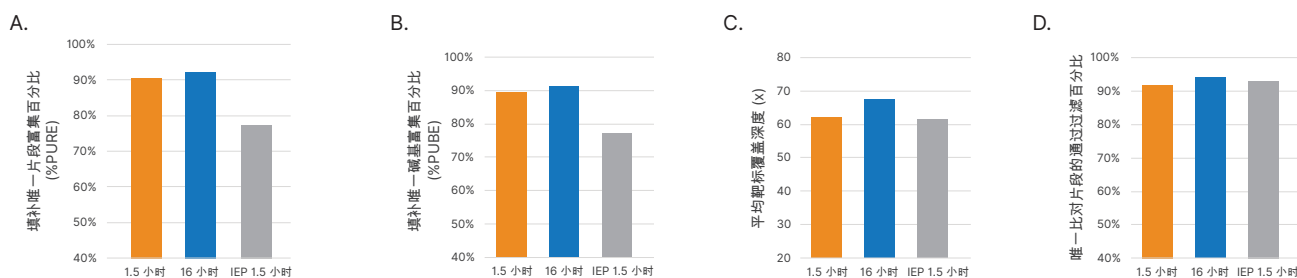


图 4: Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment 具有出色的富集实验分析性能 — Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment 使用 1.5 小时 (橙色) 或 16 小时 (蓝色) 杂交时间，与 Illumina Exome Panel (IEP 1.5 hr, 灰色) 相比，展示出了强大的性能。DRAGEN 指标: (A) 填补唯一片段富集的百分比 (纯 %, 150 bp 填补大小); (B) 填补唯一碱基富集的百分比 (纯 %, 150 bp 填补大小); (C) 平均靶标覆盖深度。Picard 指标: (D) 唯一比对片段的通过过滤百分比。使用 S4 流动槽在 NovaSeq 6000 System 上对富集文库进行测序，输出为 5 Gb (50M 双末端片段, 25M 簇)，片段长度为 2 × 101 bp。

覆盖深度和均一性

额外的分析表明, 与 Illumina Exome Panel 相比, Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment 具有出色的覆盖度均一性 (图 5)。Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment 可确保实现均匀的覆盖, 在 20 倍或更高的片段深度下提供高碱基百分比、低 fold-80 碱基罚分和低零覆盖靶标百分比。

杂交时间为 1.5 小时和 16 小时的情况下性能一致, 表明实验室可以使用 1.5 小时杂交时间来加快工作流程, 也可以将杂交延长至过夜 (如果这更适合他们的工作流程的话)。

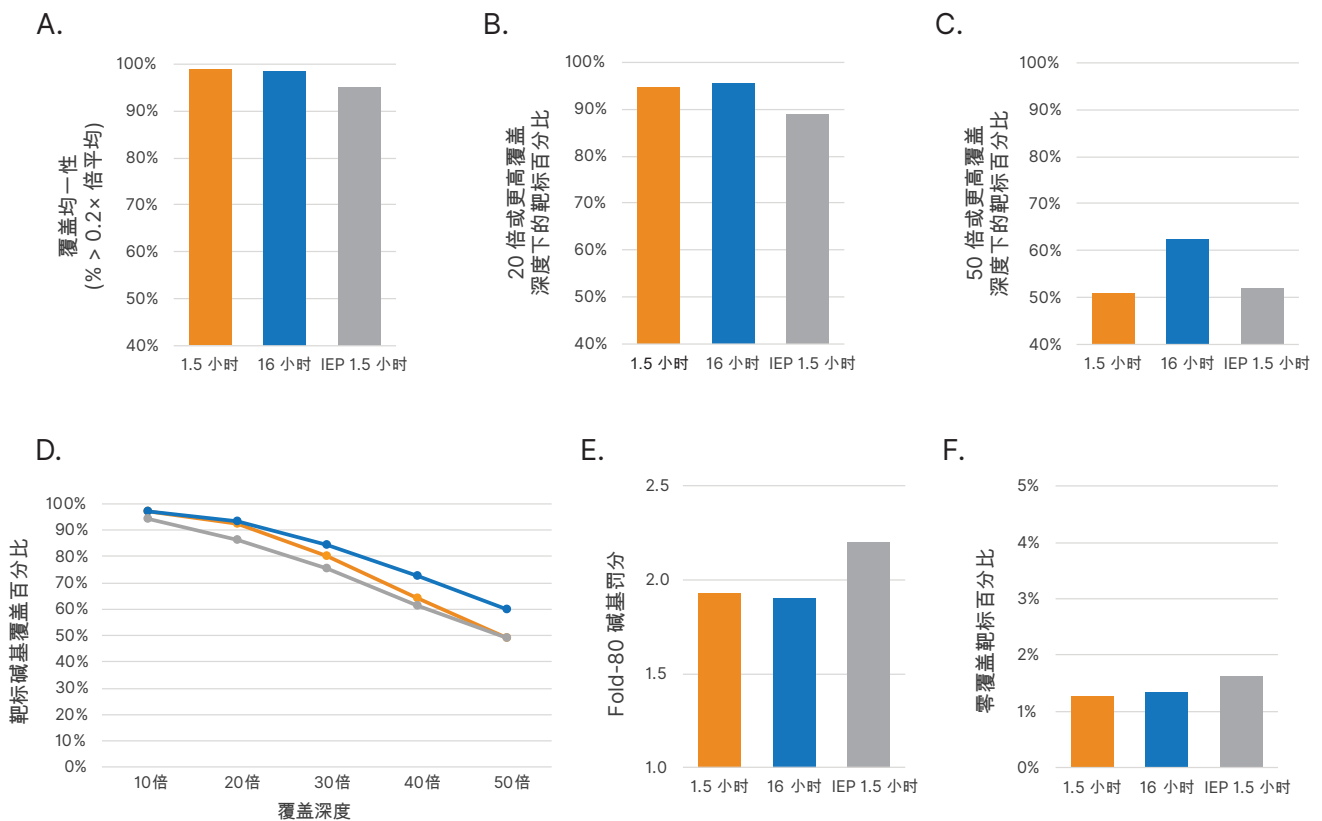


图 5: 在不受杂交时间影响的情况下实现出色的覆盖度和均一性 — Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment 使用 1.5 小时 (橙色) 或 16 小时 (蓝色) 杂交时间, 与同时进行的 Illumina Exome Panel (IEP 1.5 hr, 灰色) 运行相比, 展示出了出色的覆盖度均一性。DRAGEN 指标: (A) 覆盖度均一性 (百分比 > 0.2 倍平均覆盖率); (B) 20 倍或更高深度下的靶标覆盖百分比; (C) 50 倍或更高深度下的靶标覆盖百分比。Picard 指标: (D) 10 倍、20 倍、30 倍、40 倍和 50 倍覆盖深度下的靶标碱基百分比; (E) fold-80 碱基罚分 (将非零覆盖靶标中 80% 的碱基提高到这些靶标中的平均覆盖水平所需的额外覆盖倍数); (F) 零覆盖靶标的百分比。使用 S4 流动槽在 NovaSeq 6000 System 上对富集文库进行测序, 输出为 5 Gb (50M 双末端片段, 25M 簇), 片段长度为 2×101 bp。

线粒体 DNA 相对核 DNA 而言,在细胞中具有更大的丰度。与 Exome Panel 相比, Twist Bioscience for Illumina Mitochondrial Panel 可以在不同的浓度下使用, 展现出不同 mtDNA 覆盖度的灵活性而不影响外显子组平均靶标覆盖率或覆盖度均一性 (图 6)。

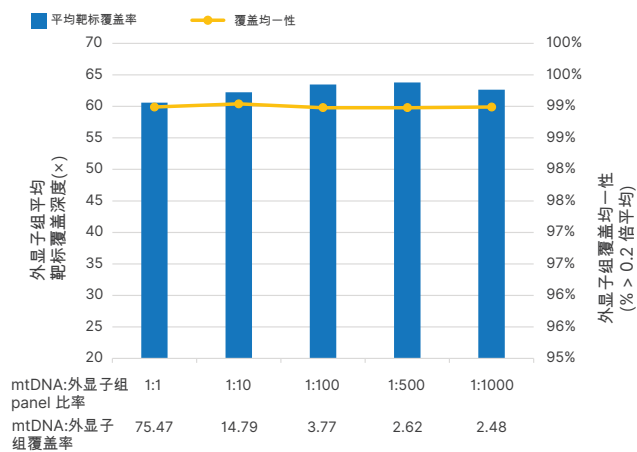


图 6: 保持均匀外显子组覆盖, 增加线粒体覆盖 — 不同的 Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel 和 Twist Bioscience for Illumina Mitochondrial Panel 比率显示出一致的平均靶标覆盖率 (蓝条) 和覆盖度均一性 (黄线)。使用从 1:1 到 1:1000 的 mtDNA 与外显子组 SNP 集合比例, 在 16 小时的杂交反应中对来自 Coriell Institute 的总共 72 个人类细胞系 DNA 样本 (NA24143、NA24149 和 NA24385) 进行了富集 (6 × 12 重混合文库)。使用具有 5 Gb 输出的单个 S4 流动槽在 NovaSeq 6000 System 上对所有 72 个经过富集的文库都进行了测序, 并使用 DRAGEN Enrichment 应用程序执行了富集分析。

总结

Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment 提供了一项精心设计、可靠的人类 WES 解决方案, 既有效又高效。随附的 Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel 提供涵盖公共数据库中疾病相关变异的全面、最新内容, 可选的 Twist Bioscience for Illumina Mitochondrial Panel 能够增加 chrM 的全面覆盖。经过优化的富集 SNP 集合可提高样品通量, 实现经济实惠的外显子组测序。过在由我们合作伙伴提供的一系列自动化平台上采用 Illumina 精选方法, 可以获得额外的效率收益。出色、均匀的覆盖有助于下游分析和解读。实验室现在只需一个合作伙伴, 就可以享用高质量的一站式外显子组测序工作流程 (从样品到报告)。

了解详情

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

[适用于自动化的 Illumina 精选方法](#)

[DRAGEN 二级分析](#)

[Emedgene 三级分析](#)

订购信息

产品	商品目录号
ILLUMINA DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment, (S) Tagmentation Set B (96 个样品, 12 重) ^a	20077595
ILLUMINA DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment, (S) Tagmentation Set D (96 个样品, 12 重) ^a	20077596
Flex Lysis Reagent Kit (96 次反应) ^b	20018706
ILLUMINA DNA/RNA UD Indexes Set A, Tagmentation (96 个标签, 96 个样品) ^c	20091654
ILLUMINA DNA/RNA UD Indexes Set B, Tagmentation (96 个标签, 96 个样品) ^c	20091656
ILLUMINA DNA/RNA UD Indexes Set C, Tagmentation (96 个标签, 96 个样品) ^c	20091658
ILLUMINA DNA/RNA UD Indexes Set D, Tagmentation (96 个标签, 96 个样品) ^c	20091650
Twist Bioscience for ILLUMINA Mitochondrial Panel (96 个样品, 12 重)	20093180

- a. 试剂盒内含 ILLUMINA DNA Prep with Enrichment 文库制备和杂交试剂、用于清理/选择大小的 ILLUMINA Purification Beads、Twist Bioscience for ILLUMINA Exome 2.5 Panel 富集探针, 以及一个标签接头板。
- b. 对于直接的血浆输入, 需要使用该试剂盒。
- c. 可根据需要选择不同的标签集。
- d. Twist Bioscience for ILLUMINA Mitochondrial Panel 含有 32 μ l 的寡核苷酸集合, 足以进行 8 次杂交反应 (每次分别使用 4 μ l)。

参考资料

- 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. 2020 年 10 月 29 日发布。2023 年 7 月 27 日查阅。
- 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. 2021 年 6 月 2 日发布。2023 年 7 月 27 日查阅。
- NIH National Library of Medicine. RefSeq: NCBI Reference Sequence Database. NCBI website. ncbi.nlm.nih.gov/refseq. 2023 年 7 月 18 日更新。2023 年 7 月 27 日查阅。
- CCDS - Consensus CDS (CCDS) Database. NCBI website. ncbi.nlm.nih.gov/projects/CCDS/CcidsBrowse.cgi. 2022 年 11 月 9 日更新。2023 年 7 月 27 日查阅。
- 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. 2023 年 6 月 27 日更新。2023 年 7 月 27 日查阅。
- Catalog of Somatic Mutations in Cancer (COSMIC). COSMIC website. cancer.sanger.ac.uk/cosmic/download. 2023 年 5 月 23 日发布。2023 年 7 月 27 日查阅。
- Cancer Gene Census. COSMIC website. cancer.sanger.ac.uk/census. 2023 年 5 月 23 日发布。2023 年 7 月 27 日查阅。
- Catalog of Human Genes and Genetic Disorders. OMIM website. omim.org. 2023 年 7 月 26 日更新。2023 年 7 月 27 日查阅。
- ClinVar Database. NCBI website. ncbi.nlm.nih.gov/clinvar. 2023 年 7 月 24 日更新。2023 年 7 月 27 日查阅。
- Genome Analysis Toolkit (GATK). The Broad Institute. broadinstitute.org/hc/en-us/articles/360037428871-CollectHsMetrics-Picard. 2020 年 1 月 7 日发布。2023 年 7 月 27 日查阅。



1.800.809.4566 (美国免费电话) | +1.858.202.4566 (电话)
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2023 Illumina, Inc. 保留所有权利。所有商标均为 Illumina, Inc. 或其各自所有者的财产。有关特定的商标信息, 请参见 www.illumina.com/company/legal.html。

M-GL-00002 CHS v4.0