

TruSight™ One Sequencing Panel

Pannelli completi ad alte prestazioni mirati alle regioni associate alla malattia dell'esoma

- Ampia copertura di massimo 6.700 geni associati alla malattia con una copertura minima di 20x e due opzioni di pannello
- Singolo pannello versatile a sostituzione del test iterativo con un saggio e un flusso di lavoro
- Annotazione e report intuitivi e ad alta potenza con filtraggio genico definito dall'utente e generazione di report



Introduzione

I TruSight One Sequencing Panel mirano alle regioni esoniche che contengono mutazioni patologiche note. Il focus sul sottogruppo di geni con associazioni note alla malattia ereditaria all'interno dell'esoma consente il rilevamento più efficiente delle varianti rispetto al sequenziamento dell'intero genoma o dell'intero esoma.¹ Combinando i dati provenienti da più database genomici e rivedendo le linee guida di esperti del settore in tutto il mondo, i pannelli TruSight One forniscono un gruppo completo di regioni target associate alla malattia, progettate per coprire i pannelli genici della malattia più comunemente ordinati.

I pannelli TruSight One e TruSight One Expanded forniscono ai laboratori di ricerca clinica una soluzione accessibile per la gestione di un portafoglio di saggi diversificato. I ricercatori possono scegliere di analizzare tutti i geni su un pannello o di concentrarsi su un determinato sottogruppo. Con un singolo saggio, i laboratori possono ampliare i menu attuali, ottimizzare i flussi di lavoro o creare un intero portafoglio di opzioni di sequenziamento.

TruSight One Sequencing Panel

I target genomici associati a patologie sono stati identificati dallo Human Gene Mutation Database (HGMD),² dal catalogo Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM),³ da GeneReviews,⁴ dai pannelli

di sequenziamento Illumina TruSight sviluppati in precedenza⁵ e grazie al contributo diretto di esperti del settore (Figura 1). Il TruSight One Sequencing Panel copre 12 Mb di contenuto genomico, compresi oltre 4.800 geni associati a specifici fenotipi clinici. I ricercatori possono quindi investire il proprio tempo e le proprie risorse in maniera mirata sui geni la cui associazione a patologie è nota.

TruSight One Expanded Sequencing Panel

Il TruSight One Expanded Sequencing Panel è stato sviluppato secondo gli stessi principi del pannello originale e ulteriormente ottimizzato per migliorare la copertura in regioni in cui notoriamente le prestazioni sono subottimali. Il design del pannello Expanded esamina 16,5 Mb di contenuto, inclusi più di 4.800 geni originali e circa 1.900 geni aggiuntivi recentemente associati a patologie nei database di riferimento.

Ampia copertura dei contenuti

Design della sonda che garantisce una copertura esaustiva

Grazie al design altamente ottimizzato della sonda, i TruSight One Sequencing Panel permettono l'analisi simultanea di più varianti. Entrambi i pannelli includono oltre 125.000 sonde costruite sul genoma di riferimento NCBI37/hg19 umano.⁶ Le sonde TruSight One sono state

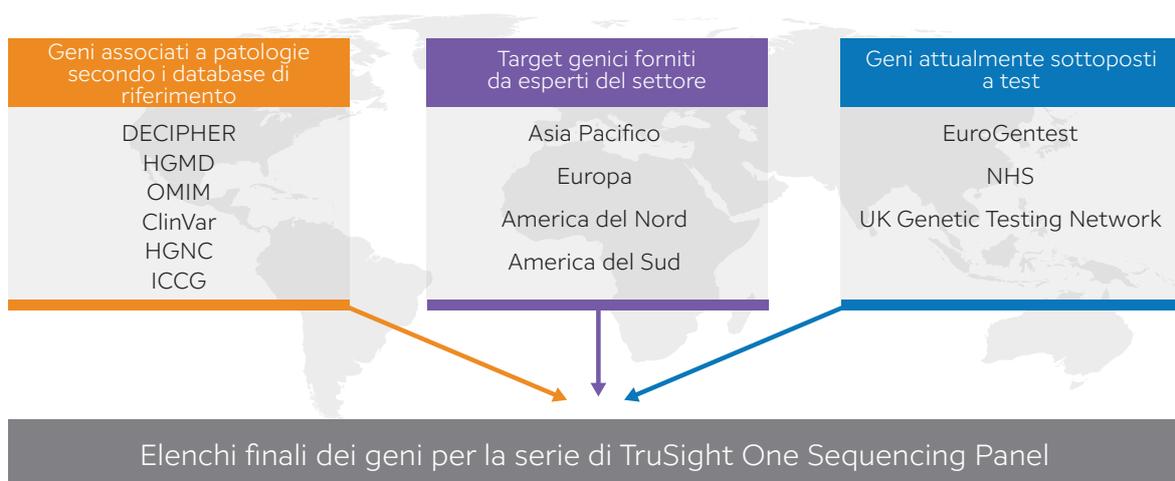


Figura 1: collaboratori internazionali per i contenuti genici dei TruSight One Sequencing Panel. I pannelli TruSight One si focalizzano sulle regioni esoniche del genoma con mutazioni note già associate a patologie. Unendo i dati provenienti da diverse fonti pubbliche si ha la certezza che i pannelli coprano tutti i geni attualmente esaminati nell'ambito della ricerca clinica.

DECIPHER = Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans using Ensembl Resources, HGNC = HUGO Gene Nomenclature Committee, ICCG = International Collaboration for Clinical Genomics e NHS = National Health Service.

concepito utilizzando un processo di progettazione iterativo con test funzionali per garantire prestazioni e profondità di copertura ottimali. Il risultato è una copertura pari ad almeno 20× sul 95% delle regioni target del pannello (Tabella 1).*

Le sonde da 80-mer hanno come target le librerie Illumina DNA Prep with Enrichment con dimensioni medie dei frammenti di circa 300 bp e dimensioni degli inserti di circa 150-220 bp e arricchiscono un ampio footprint di basi oltre al punto medio della sonda (Figura 2).⁷

Tabella 1: specifiche del TruSight One Sequencing Panel

Parametro	TruSight One	TruSight One Expanded
Dimensione cumulativa regione target	12 Mb	16,5 Mb
N. di geni target	4.811	6.704
N. di esoni target	Circa 62.000	Circa 86.000
Dimensione sonda	80-mer	80-mer
N. di sonde	125.395	183.809
Dimensione frammento	150-220 bp	150-220 bp
Copertura minima ^a	Almeno 20×	Almeno 20×
Copertura media	Più di 100×	Più di 100×

a. Il 95% delle regioni target è in genere coperto a più di 20× (è possibile ottenere una percentuale di copertura maggiore con meno campioni per corsa).

* La percentuale è calcolata facendo la media della copertura media per ciascun esone, non per ciascuna base.

Quindi, oltre a coprire le principali regioni esoniche, i pannelli coprono anche le regioni adiacenti all'esone, che possono fornire importanti informazioni biologiche (ad es. siti di splicing, regioni regolatorie).



Figura 2: footprint della sonda TruSight One. Con una libreria di DNA da 300 bp (dimensione degli inserti di 150-220 bp), la sonda sarà in grado di arricchire un ampio footprint di basi oltre il suo punto medio.

Compatibilità con una gamma di strumenti di sequenziamento

I pannelli TruSight One sono ideali per l'utilizzo sui sistemi di sequenziamento da banco Illumina. La Tabella 2 specifica la processività campioni raccomandata per MiSeq™ System, NextSeq™ 550 System e NextSeq 2000 System. Indipendentemente dal sistema di sequenziamento Illumina, i pannelli TruSight One forniscono elevata profondità di copertura in modo coerente. Dal momento che i pannelli TruSight One focalizzano il sequenziamento su un sottogruppo del genoma (ad es. geni associati a determinati fenotipi), questi geni o le regioni target possono essere sequenziati con elevata profondità di copertura e dare risultati altamente affidabili (Tabella 3).

Tabella 2: processività campioni raccomandata per i TruSight One Sequencing Panel

	N. di campioni per corsa ^a per strumento e per configurazione del kit			
	Reagenti v3 MiSeq System	Output medio NextSeq 550 System	Output elevato NextSeq 550 System ^c	Cella a flusso P3 NextSeq 2000 System
Pannello TruSight One	3	12	36	96
Pannello TruSight One Expanded ^b	1	7	24	66

a. Fino a 2 × 150 bp di lunghezza di lettura; basato su 100× di copertura media del contenuto target.

b. Processività più elevata disponibile sul NovaSeq™ 6000 System (96 campioni per corsa, cella a flusso S1) per il pannello TruSight One Expanded.

c. Un rendimento simile può essere ottenuto con il NextSeq 1000 System e il NextSeq 2000 System con celle a flusso P2.

Tabella 3: elevata profondità di copertura con i TruSight One Sequencing Panel

	Uniformità di copertura	Copertura target a				Profondità di lettura per campione (letture che attraversano il filtro)
		1x	10x	20x	50x	
Pannello TruSight One	95,3%	99,1%	98,3%	97,6%	94,7%	22 milioni
Pannello TruSight One Expanded	96,8%	99,4%	98,9%	98,6%	97,5%	33 milioni

Flusso di lavoro ottimizzato e completamente integrato

Ogni fase del flusso di lavoro dei pannelli TruSight One, dalla preparazione delle librerie fino all'analisi finale dei dati, è ottimizzata per consentire l'estrapolazione dei dati dal DNA in soli due giorni (Figura 3).[†] I pannelli TruSight One sono venduti solo come kit modulari di oligonucleotidi per l'arricchimento. I pannelli si integrano in modo ottimale con DNA Prep with Enrichment Illumina, (S) Tagmentation Kit e Illumina DNA UD Indexes (venduti separatamente) per la preparazione delle librerie. L'approccio modulare fornisce una maggiore flessibilità per l'elaborazione dei campioni.

Preparazione delle librerie semplice ed efficiente

Una componente chiave di Illumina DNA Prep with Enrichment è la tagmentazione su microsferi (Figura 4), che utilizza i trasposoni legati alle microsferi per favorire una reazione di tagmentazione uniforme. Questa strategia fornisce diversi vantaggi significativi:

- Per gli input di DNA genomico superiori o pari a 50 ng, non è richiesta una quantificazione accurata del campione di DNA iniziale, poiché la dimensione del frammento inserito non è influenzata; questo permette di risparmiare tempo e ridurre i costi associati ai kit e ai reagenti.
- Con la tagmentazione su microsferi non è più necessario separare le fasi di frammentazione del DNA, riducendo tempo e costi associati ai materiali di consumo relativi.
- Per input di DNA genomico di 50-1.000 ng, la normalizzazione del DNA basata sulla saturazione elimina anche la necessità di singole fasi di quantificazione e normalizzazione prima dell'arricchimento.

[†] Durata media per un pannello di geni target. Le durate possono variare a seconda della configurazione della corsa.

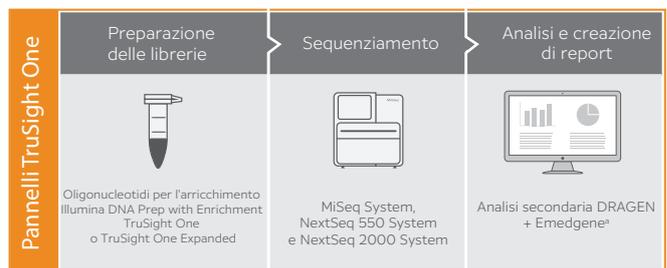


Figura 3: il flusso di lavoro di TruSight One Illumina offre una soluzione per ogni fase, dalla preparazione delle librerie all'analisi dei dati, fino alla creazione dei report.

- a. Emedgene è disponibile come piattaforma software opzionale per l'analisi del DNA della linea germinale compatibile con qualsiasi metodo di preparazione delle librerie per consentire l'interpretazione semplificata e definita dall'utente dei dati e la generazione di report per i flussi di lavoro di ricerca.
- Un nuovo protocollo di ibridazione singola di 90 minuti consente l'arricchimento in meno di quattro ore.

Rapido flusso di lavoro di arricchimento

Illumina DNA Prep with Enrichment è compatibile con i sistemi di gestione dei liquidi per automatizzare la preparazione delle librerie. Inoltre, il flusso di lavoro TruSight One utilizza un'esclusiva strategia di raggruppamento in pool dei campioni per il pre-arricchimento che riduce il numero delle reazioni di arricchimento necessarie. Questa strategia utilizza codici a barre integrati nei campioni che supportano il raggruppamento in pool fino a 12 campioni per un singolo pull-down di arricchimento. L'efficienza in queste fasi permette di ridurre la durata complessiva di preparazione delle librerie a 6,5 ore con circa 2 ore di interventi manuali. Inoltre, i reagenti Master Mix abbinati a protocolli basati su piastre permettono l'avanzamento contemporaneo di più reazioni. Le librerie preparate vengono caricate su una cella a flusso per il sequenziamento nello strumento appropriato.

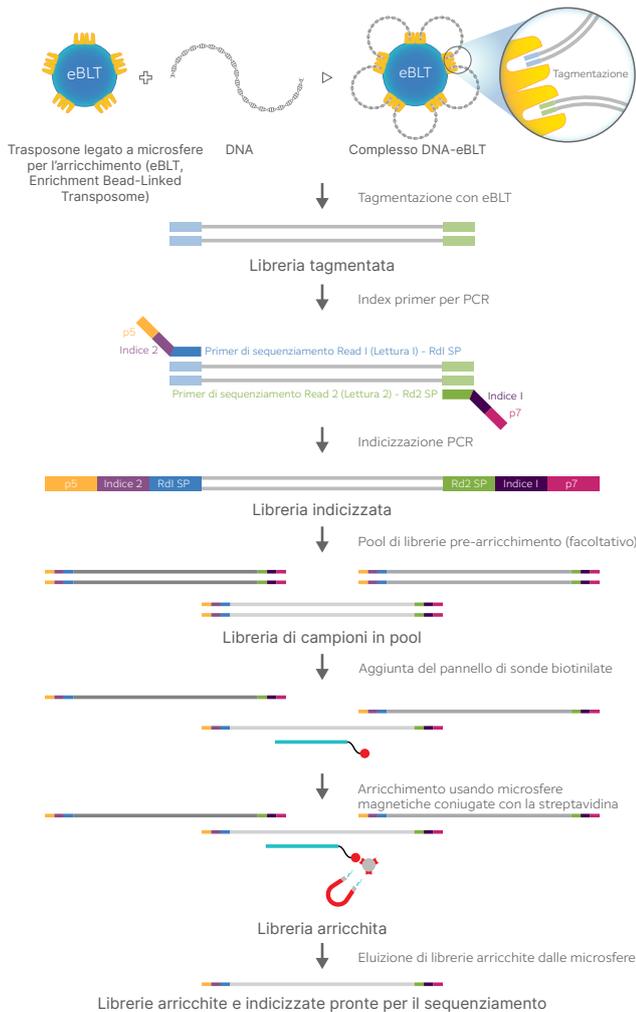


Figura 4: TruSight One e la chimica di tagmentazione Illumina. Gli oligonucleotidi per l'arricchimento TruSight One lavorano con la chimica di tagmentazione su microsferi per offrire un metodo semplice e rapido per l'arricchimento dei geni target. Il flusso di lavoro comprende sia la fase di preparazione delle librerie sia quella di arricchimento dei target e può essere portato a termine in 1,5 ore.

Analisi e creazione di report complete

Per l'analisi, l'interpretazione e la creazione di report complete dei dati TruSight One, Illumina offre Emedgene. Emedgene è uno strumento software opzionale per i flussi di lavoro di ricerca che si integra con BaseSpace™ Sequence Hub e Illumina Connected Analytics per accedere al monitoraggio della corsa, alle metriche della corsa e al caricamento automatizzato dei dati di sequenziamento. Include l'accesso basato sul cloud all'analisi secondaria DRAGEN™ (Dynamic Read Analysis for GENomics, analisi dinamica della lettura per la genomica), consentendo flussi di lavoro di analisi secondaria accurati, completi ed efficienti per sequenziamento di nuova generazione (NGS, Next-Generation Sequencing).

Ulteriori vantaggi dell'analisi Emedgene includono:

- Interfaccia semplificata con intelligenza artificiale (IA) spiegabile (XAI, explainable AI) per una prioritizzazione delle varianti altamente efficiente
- Automazione personalizzabile definita dall'utente per la standardizzazione dei flussi di lavoro
- Flusso di lavoro integrato con l'analisi secondaria DRAGEN e Illumina Connected Analytics per un movimento dei dati completamente automatizzato
- Analisi compatibile con ogni applicazione delle condizioni ereditarie e tipo di saggio (ad es. pannelli, pannelli virtuali, sequenziamento dell'intero esoma e sequenziamento dell'intero genoma)
- Piattaforma pronta per la collaborazione con la possibilità di formare reti private sicure

Supportato dalla piattaforma DRAGEN

Emedgene è supportato dall'analisi secondaria DRAGEN. Le caratteristiche principali della piattaforma DRAGEN consentono di affrontare le sfide comuni dell'analisi genomica, come i lunghi tempi di calcolo e gli enormi volumi di dati. Senza compromettere l'accuratezza, la piattaforma DRAGEN fornisce velocità, flessibilità ed efficacia in termini di costi che consentono ai laboratori di tutte le dimensioni e discipline di ottenere il massimo dai propri dati genomici.

Interpretazione intuitiva e altamente efficace

I clienti riferiscono che Emedgene consente di risparmiare normalmente il 50-75% delle tempistiche di interpretazione dei dati grazie all'efficiente generazione di report.⁸ Emedgene combina diverse caratteristiche

per potenziare l'interpretazione definita dall'utente, ad esempio, un grafico delle annotazioni e delle conoscenze sempre aggiornato, la XAI per classificazioni automatizzate trasparenti e supportate da prove di varianti potenzialmente causative per i campioni, la visualizzazione delle varianti, la selezione delle varianti, l'automazione definita dall'utente e molte altre funzionalità per favorire l'interpretazione efficace e informata delle varianti. Emedgene è stato progettato per offrire un'esperienza utente intuitiva e supportare gli utenti nella realizzazione dell'impatto e dell'efficienza ottimali per la loro missione.

Filtri basati su pannello con Emedgene

Emedgene è compatibile con le opzioni di saggi delle malattie ereditarie per l'analisi della linea germinale, inclusi pannelli, esomi e genomi. Inoltre, Emedgene consente agli utenti di creare bioinformaticamente "pannelli virtuali" da TruSight One Sequencing Panel o altri tipi di dati NGS, come il sequenziamento dell'intero esoma o dell'intero genoma (Figura 5). Questo approccio consente ai laboratori di standardizzare più saggi su un singolo flusso di lavoro, semplificando e snellendo le operazioni del laboratorio. Inoltre, la standardizzazione su un saggio backbone elimina la necessità di aggiornare e modificare il saggio per aggiungere più geni nel tempo e facilita la rianalisi efficiente di più geni quando necessario.

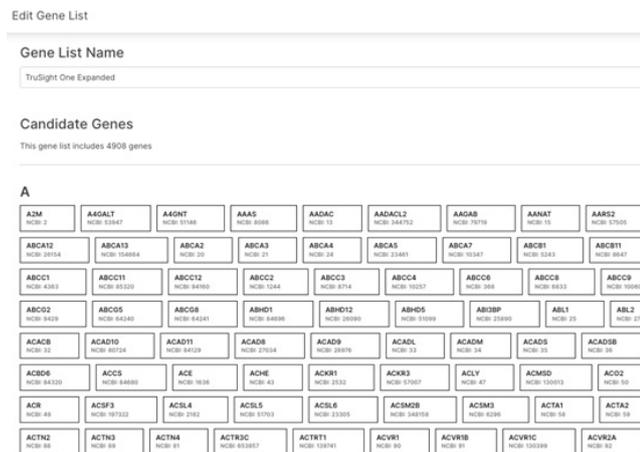


Figura 5: pannelli virtuali personalizzabili. Emedgene offre la possibilità di creare pannelli virtuali da un sottoinsieme di geni, aggiungendo i geni singolarmente o come batch.

Riepilogo

Il flusso di lavoro Illumina TruSight One rappresenta una soluzione completa dal DNA ai dati per il settore della

ricerca clinica. Utilizzando il TruSight One Sequencing Panel o il TruSight One Expanded Sequencing Panel, i ricercatori possono rapidamente sequenziare oltre 4.800 geni con associazioni note a fenotipi clinici. Grazie alla soluzione intuitiva ed esaustiva di Emedgene per l'analisi e la creazione di report per le malattie rare e genetiche di altro tipo, i set di dati completi di TruSight One possono fornire sottopannelli personalizzati in risposta ad aree specifiche della ricerca e forniscono una soluzione efficace ed efficiente per l'analisi della patologia genetica.

Maggiori informazioni

[TruSight One Sequencing Panel](#)

[Emedgene](#)

Informazioni per gli ordini

Oligonucleotidi per l'arricchimento	N. di catalogo
TruSight One Sequencing Combo (15 samples)	20042621
TruSight One - Enrichment Oligos only (6 enrichment reactions)	20029227
TruSight One Expanded - Enrichment Oligos only (6 enrichment reactions)	20029226
Kit per la preparazione delle librerie	N. di catalogo
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
Indici	N. di catalogo
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

Bibliografia

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](#). Consultato il 31 agosto 2023.
4. Adam MP, Mirzaa GM, Pagon RA, et al., editors. [GeneReviews® \[Internet\]](#). Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2023. Disponibile alla pagina web: [ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1116/](#). Consultato il 4 ottobre 2023.
5. Illumina. [TruSight One Sequencing Panels](#). [illumina.com/products/by-type/clinical-research-products/trusight-one.html](#). Consultato il 31 agosto 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](#). Consultato il 31 agosto 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](#). Pubblicato il 12 settembre 2019. Consultato il 22 settembre 2023.



Numero verde 1.800.809.4566 (U.S.A.) | Tel. +1.858.202.4566
techsupport@illumina.com | [www.illumina.com](#)

© 2023 Illumina, Inc. Tutti i diritti riservati. Tutti i marchi di fabbrica sono di proprietà di Illumina, Inc. o dei rispettivi proprietari. Per informazioni specifiche sui marchi di fabbrica, visitare la pagina web [www.illumina.com/company/legal.html](#).

M-GL-02149 ITA v1.0