

Serie di pannelli di sequenziamento TruSight™ One

Pannelli completi studiati per esaminare con sensibilità analitica e specificità elevate specifiche regioni dell'esoma associate a patologie.

Punti principali

- **Contenuto completo e copertura elevata**
Mira a più di 6.700 geni associati a patologie umane con una copertura minima di 20x e due opzioni di pannello
- **Pannello singolo in sostituzione dei test iterativi**
Consolida il vostro portafoglio di sequenziamento con un unico saggio e un unico flusso di lavoro
- **Annotazione e creazione di report intuitive e altamente efficienti**
Semplifica l'interpretazione biologica con filtraggio del gene e creazione di report definiti dall'utente

Introduzione

I pannelli di sequenziamento TruSight One mirano sulle regioni esoniche che contengono mutazioni patogene note. Restringendo il campo ai sottoinsiemi di geni interni all'esoma già associati a malattie ereditarie è possibile identificare le varianti in maniera più efficiente rispetto al sequenziamento dell'intero genoma o dell'intero esoma.¹ Unendo i dati provenienti da diversi database genomici e grazie alla guida di esperti del settore provenienti da tutto il mondo, i pannelli TruSight One offrono un set completo di regioni target associate a patologie progettato per coprire i pannelli di geni generalmente più richiesti.

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. Gli investigatori possono scegliere di analizzare tutti i geni su un pannello o di concentrarsi su un determinato sottoinsieme. Con un singolo saggio, i laboratori possono ampliare l'attuale offerta, ottimizzare i flussi di lavoro o creare un intero portafoglio di opzioni di sequenziamento.

Pannello di sequenziamento TruSight One

I target genomici associati a patologie sono stati identificati dal Human Gene Mutation Database (HGMD),² dal catalogo Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM),³ da GeneTests.org,⁴ dai pannelli di sequenziamento TruSight Illumina sviluppati in precedenza⁵ e grazie al contributo di esperti del settore (Figura 1). Il pannello di sequenziamento TruSight One 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.

Pannello TruSight One Expanded

Il pannello di sequenziamento TruSight One Expanded 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 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.

Contenuto completo e copertura elevata

Design della sonda che garantisce una copertura esaustiva

Grazie al design altamente ottimizzato della sonda, i pannelli di sequenziamento TruSight One permettono l'analisi simultanea di più varianti. Entrambi i pannelli comprendono oltre 125.000 sonde costruite sulla base del genoma umano di riferimento NCBI37/hg19.⁶ Le sonde di TruSight One sono state costruite con un processo di design iterativo comprensivo di prove funzionali per assicurare prestazioni e profondità di copertura ottimali. Il risultato è una copertura $\geq 20\times$ sul 95% delle regioni target del pannello (Tabella 1).*

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



Figura 1: Collaboratori internazionali per i contenuti genici dei pannelli di sequenziamento TruSight One: 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. Acronimi: Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans using Ensembl Resources (DECIPHER), HUGO Gene Nomenclature Committee (HGNC), International Collaboration for Clinical Genomics (ICCG) e National Health Service (NHS).

Tabella 1: Specifiche del pannello di sequenziamento TruSight One

| Parametro | TruSight One | TruSight One Expanded |
|--|--------------|-----------------------|
| Dimensione cumulativa della 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 della sonda | 80-mer | 80-mer |
| N. di sonde | 125.395 | 183.809 |
| Dimensione del frammento | 150-220 bp | 150-220 bp |
| Copertura minima ^a | ≥ 20x | ≥ 20x |
| Copertura media | > 100x | > 100x |

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

Le sonde da 80-mer hanno come target le librerie DNA Prep with Enrichment Illumina 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 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.

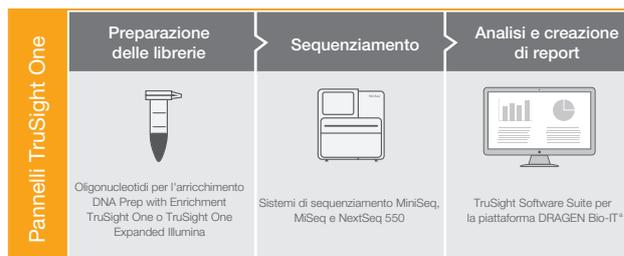


Figura 3: Flusso di lavoro di TruSight One: il flusso di lavoro di TruSight One Illumina offre una soluzione per ogni fase, dalla preparazione delle librerie all'analisi dei dati e alla creazione dei report.

a. TruSight Software Suite è disponibile come piattaforma a pagamento utilizzata come un servizio (Software As A Service, SaaS)

Copertura elevata con una gamma di strumenti di sequenziamento

I pannelli TruSight One sono ideali per l'utilizzo sui sequenziatori da banco Illumina. La Tabella 2 specifica la processività dei campioni raccomandata per i sistemi MiniSeq™, MiSeq™ e NextSeq™ 550. 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 sottoinsieme del genoma (ad es., sui 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).

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 assicurare il completamento dell'esperimento senza intoppi, passando quindi dal DNA ai dati 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, kit (S) Tagmentation e IDT for Illumina DNA UD Indexes (venduti separatamente). L'approccio modulare fornisce una maggiore flessibilità per l'elaborazione dei campioni.

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

Tabella 2: Processività dei campioni raccomandate per i pannelli di sequenziamento TruSight One

| | N. di campioni per corsa ^a per strumento e per configurazione del kit | | | |
|---|--|----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| | Sistema MiniSeq (High-Output) | Reagenti v3 per il sistema MiSeq | Sistema NextSeq 550 (Mid-Output) | Sistema NextSeq 550 (High-Output) |
| Pannello TruSight One | 2 | 3 | 12 | 36 |
| Pannello TruSight One Extended ^b | 1 | 1 | 7 | 24 |

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

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

Tabella 3: Elevata profondità di copertura con i pannelli di sequenziamento TruSight One

| | 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 Extended | 96,8% | 99,4% | 98,9% | 98,6% | 97,5% | 33 milioni |

Preparazione delle librerie semplice ed efficiente

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

- Per gli input di DNA genomico ≥ 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 meccanica o enzimatica del DNA, riducendo tempo e costi associati ai materiali di consumo associati.
- 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.
- Il nuovo protocollo di ibridazione singolo di 90 minuti consente l'arricchimento in meno di quattro ore.

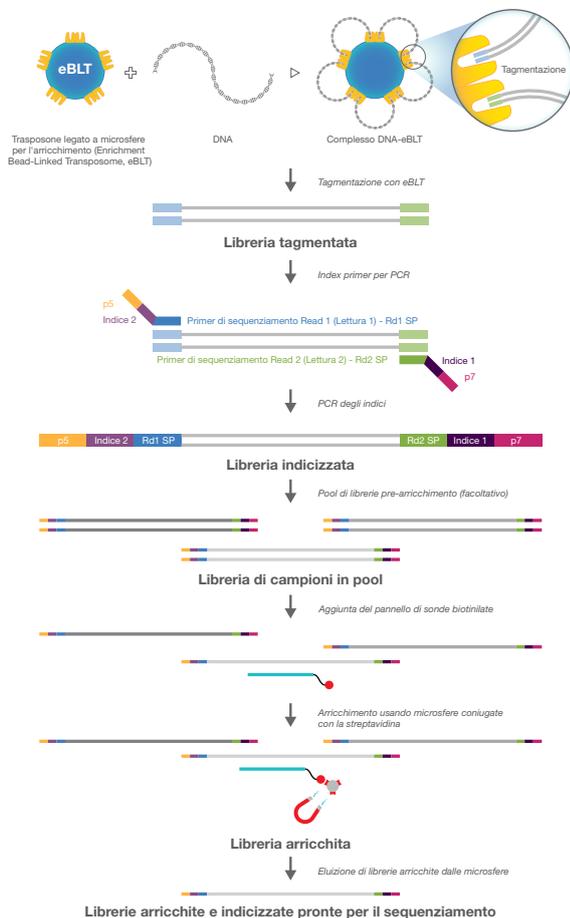


Figura 4: TruSight One e la chimica di tagmentazione Illumina: gli oligonucleotidi per l'arricchimento TruSight One lavorano con la chimica di tagmentazione su microsferi per offrire un metodo semplice e rapido per l'arricchimento dei geni target. Il flusso di lavoro comprende sia la fase di preparazione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

Il più veloce flusso di lavoro di arricchimento Illumina

La soluzione DNA Prep with Enrichment Illumina supporta i sistemi per la gestione dei liquidi per l'automazione della preparazione delle librerie e fornisce un flusso di lavoro con il minor numero di fasi e della più veloce durata complessiva nel portafoglio di arricchimento Illumina.

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, grazie ai quali è possibile raggruppare 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 due 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.

Analisi e creazione di report complete

Per l'analisi dei dati TruSight One, l'interpretazione e la creazione di report complete Illumina offre TruSight Software Suite, una piattaforma utilizzata come servizio (SaaS). TruSight Software Suite è integrata con BaseSpace™ Sequence Hub per consentire l'accesso al monitoraggio dei dati, alle metriche della corsa e al caricamento automatizzato dei dati del sequenziamento. Include l'accesso alla piattaforma DRAGEN™ Bio-IT sul cloud per consentire flussi di lavoro di analisi secondari e terziari ottimizzati ed esaustivi per NGS.

Analisi delle varianti in TruSight Software Suite

L'analisi secondaria include:

- Allineamento e identificazione delle varianti utilizzando la piattaforma DRAGEN

L'analisi terziaria include:

- Annotazione delle varianti
- Filtraggio e suddivisione delle varianti
- Visualizzazione delle varianti
- Selezione dei dati
- Interpretazione delle varianti e creazione di report personalizzati

Supportato dalla piattaforma DRAGEN

TruSight Software Suite è supportata dalla piattaforma DRAGEN (Dynamic Read Analysis for GENomics, analisi dinamica delle letture per genomica) Bio-IT che fornisce l'analisi secondaria dei dati genomici. 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 compromissione dell'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

TruSight Software Suite visualizza aggregazioni di dati critici, visualizzazione di varianti, selezione di varianti e strumenti di apprendimento automatico per promuovere l'interpretazione efficiente e consapevole.

Risultati e creazione di report personalizzati

L'interpretazione è completa quando le varianti sono state identificate e selezionate con associazioni note alla patologia. I clienti possono utilizzare i modelli disponibili in TruSight Software Suite per personalizzare i report per le associazioni di geni e varianti rilevanti per i casi (Figura 5). Il report può essere inviato per ulteriore visualizzazione e approvazione mediante il software. Per semplificare la condivisione dei dati, i report possono essere scaricati in formato PDF o JSON.

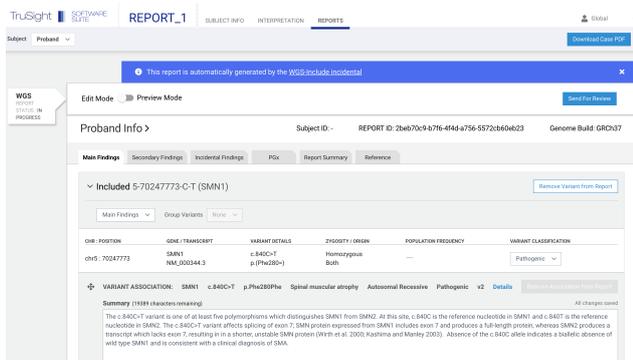


Figura 5: Creazione di report personalizzabile: TruSight Software Suite offre un modello per la personalizzazione di report sulle associazioni di geni e varianti rilevanti.

Ambiente sicuro e conforme

TruSight Software Suite è certificato ISO-27001 e ISO-13485 ed è conforme a Health Insurance Portability and Accountability Act (HIPAA) (audit di terze parti) e ai principi di General Data Protection Regulation (GDPR). TruSight Software Suite offre inoltre opzioni per l'integrazione con la politica di identificazione unica (Single sign-on, SSO) e altre impostazioni di sicurezza.

Riepilogo

Il flusso di lavoro TruSight One Illumina rappresenta una soluzione completa dal DNA ai dati per il settore della ricerca clinica. Utilizzando i pannelli di sequenziamento TruSight One o TruSight One Expanded i ricercatori possono rapidamente sequenziare oltre 4.800 geni con associazioni note a fenotipi clinici. Grazie alla soluzione intuitiva ed esaustiva di TruSight Software Suite per l'analisi, l'interpretazione e la creazione di report per malattie rare, i set di dati completi di TruSight One offrono sottopannelli personalizzati in risposta ad aree specifiche della ricerca e forniscono una soluzione efficace ed efficiente per l'analisi della patologia genetica.

Maggiori informazioni

Per maggiori informazioni sui pannelli di sequenziamento TruSight One, visitate la pagina Web www.illumina.com/trusightone.

Per maggiori informazioni su TruSight Software Suite, visitate la pagina Web www.illumina.com/products/by-type/informatics-products/trusight-software-suite.html.

Informazioni per gli ordini

| Oligonucleotidi per l'arricchimento | N. di catalogo |
|--|----------------|
| Pannello di sequenziamento TruSight One Combo (15 campioni) | 20042621 |
| TruSight One - solo oligonucleotidi per l'arricchimento (6 reazioni di arricchimento) | 20029227 |
| TruSight One Expanded - solo oligonucleotidi per l'arricchimento (6 reazioni di arricchimento) | 20029226 |
| Kit per la preparazione delle librerie | N. di catalogo |
| Illumina DNA Prep with Enrichment, (S) Tagmentation (96 campioni) | 20025524 |
| Illumina DNA Prep with Enrichment, (S) Tagmentation (16 campioni) | 20025523 |
| Illumina DNA Prep, (S) Tagmentazione (96 campioni) | 20025520 |
| Illumina DNA Prep, (S) Tagmentazione (16 campioni) | 20025519 |
| Indici | N. di catalogo |
| IDT for Illumina DNA/RNA UD Indexes Set A, Tagmentazione (96 indici, 96 campioni) | 20027213 |
| IDT for Illumina DNA/RNA UD Indexes Set D, Tagmentazione (96 indici, 96 campioni) | 20027214 |
| IDT for Illumina Nextera™ DNA UD Indexes Set C (96 indici, 96 campioni) | 20027215 |
| IDT for Illumina Nextera DNA UD Indexes Set D (96 indici, 96 campioni) | 20027216 |

Bibliografia

- 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.
- Human Gene Mutation Database (HGMD). www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php. Consultato il 12 novembre 2020.
- Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM). www.omim.org. Consultato il 12 novembre 2020.
- GeneTests. www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1116/. Consultato il 12 novembre 2020.
- Pannelli di sequenziamento TruSight. www.illumina.com/products/by-type/clinical-research-products/trusight-one.html. Consultato il 19 novembre 2020.
- UCSC Genome Browser. genome.ucsc.edu/. Consultato il 12 novembre 2020.
- Illumina. [Optimizing coverage for targeted resequencing technical note](https://www.illumina.com/products/by-type/clinical-research-products/trusight-one.html). Consultato il 19 ottobre 2020.