

# Nextera™ Flex for Enrichment

Un flusso di lavoro veloce e integrato per un'ampia gamma di applicazioni di arricchimento mirato che include pannelli personalizzati, pannelli fissi e sequenziamento dell'intero esoma.

## Punti principali

- **Veloce flusso di lavoro per la preparazione delle librerie e l'arricchimento**

Offre una soluzione dell'85% più veloce rispetto alla preparazione delle librerie e all'arricchimento standard Illumina

- **Input del campione integrato**

Preparazione delle librerie più efficiente grazie a protocolli integrati per sangue e saliva

- **Ampia gamma di applicazioni**

Consente la progettazione di studi più avanzati nel campo della ricerca sul cancro, della ricerca su malattie genetiche e del sequenziamento dell'intero genoma

- Con la tagmentazione su microsfere non sono più necessarie fasi separate di frammentazione del DNA, pertanto tempo e costi associati ai relativi materiali di consumo sono ridotti.
- Per input di gDNA tra 50-1.000 ng, la normalizzazione del DNA basata sulla saturazione elimina le singole fasi di quantificazione e normalizzazione prima dell'arricchimento.
- Il nuovo protocollo di singola ibridazione da 90 minuti consente l'arricchimento in meno di quattro ore.

## Introduzione

La soluzione Nextera Flex for Enrichment unisce la preparazione delle librerie e l'arricchimento veloci, semplici e versatili per le applicazioni di arricchimento mirato e di sequenziamento dell'esoma. La soluzione offre straordinaria flessibilità per tipo di input e quantità di input nonché un'ampia gamma di applicazioni supportate per l'arricchimento ai fini del sequenziamento includendo pannelli personalizzati, pannelli fissi e sequenziamento dell'intero esoma prodotti da Illumina o da fornitori di terze parti (Tabella 1).

Nextera Flex for Enrichment utilizza l'innovativa chimica basata sulle microsfere con una sola e semplice fase di ibridazione (Figura 1). Con il flusso di lavoro Nextera Flex for Enrichment, l'estrazione del DNA può essere eseguita direttamente da campioni di sangue e saliva freschi con Flex Lysis Reagent Kit e il protocollo Saliva Lysis, rispettivamente, per risparmiare ulteriore tempo.

## Flusso di lavoro di preparazione delle librerie e di arricchimento veloce e flessibile

Una componente chiave della soluzione Nextera Flex for Enrichment è la tagmentazione su microsfere, che utilizza i trasposoni legati alle microsfere per mediare una reazione di tagmentazione uniforme. Questa strategia fornisce diversi vantaggi significativi.

- Per input di gDNA  $\geq 50$  ng, non è richiesta la quantificazione accurata del campione iniziale di DNA, in quanto non incide sulla dimensione del frammento dell'insero, quindi i tempi e i costi associati a kit e a reagenti sono inferiori.

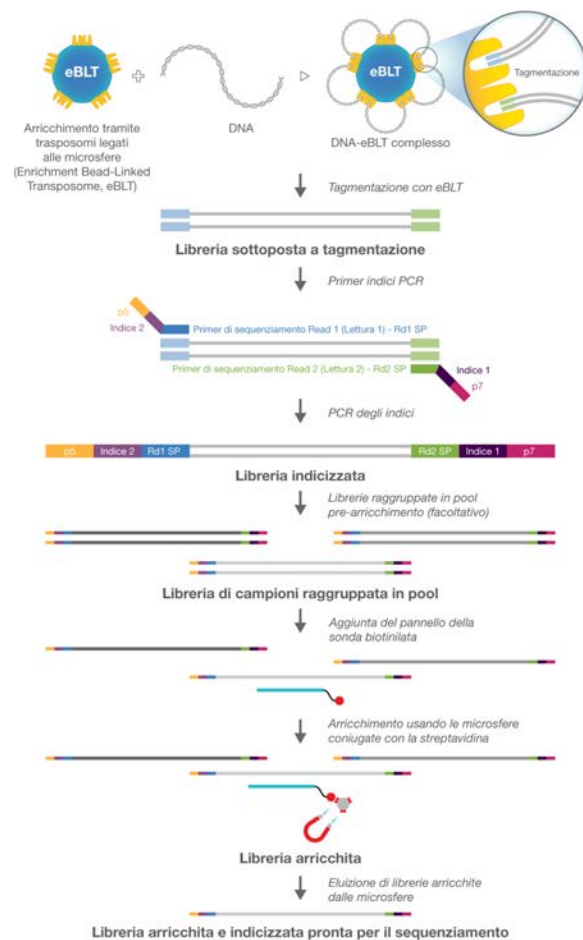


Figura 1: Chimica del saggio Nextera Flex for Enrichment: una reazione di tagmentazione uniforme mediata da eBLT e seguita da una singola reazione di ibridazione che consente un flusso di lavoro veloce e flessibile.

**Nextera Flex for Enrichment (esoma o personalizzato Illumina)**

Durata interventi manuali
  Durata totale del flusso di lavoro

**Figura 2: Nextera Flex for Enrichment fornisce il flusso di lavoro di arricchimento Illumina più veloce:** le durate dei flussi di lavoro si basano sull'elaborazione di 12 campioni con un arricchimento di 12 plex. Le durate possono variare in base all'apparecchiatura utilizzata, al numero di campioni analizzati, alle procedure automatizzate e all'esperienza dell'utente.

**Tabella 1: Specifiche di Nextera Flex for Enrichment**

Parametro	Specifica
Tipo di input di DNA	gDNA, sangue intero, saliva, DNA estratto da tessuti fissati in formalina e inclusi in paraffina (Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded, FFPE)
Input di DNA verificato <sup>a</sup>	10-1.000 ng
Multiplex campioni	96 indici doppi univoci (UDI)
Raggruppamento in pool pre-arricchimento <sup>b</sup>	1 plex o 12 plex verificati e supportati
Sistemi di sequenziamento supportati	Tutti i sistemi Illumina
Durata totale del flusso di lavoro <sup>c</sup>	circa 6,5 ore

- È possibile utilizzare input di DNA di appena 10 ng, ma non forniscono la normalizzazione del DNA basata sulla saturazione
- Sono possibili altri plex di arricchimento, ma non sono stati verificati. Potrebbe essere richiesta ulteriore ottimizzazione e non sono garantiti risultati ottimali
- Include le fasi di preparazione delle librerie, arricchimento e normalizzazione/raggruppamento in pool delle librerie

## Il più veloce flusso di lavoro di arricchimento Illumina

La soluzione Nextera Flex for Enrichment 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 (Figura 2) (Tabella 2).

### Input di DNA integrato

L'estrazione del DNA può essere eseguita direttamente da campioni di sangue intero o saliva. Flex Lysis Reagent Kit è facoltativo ed è stato ottimizzato e convalidato per la preparazione delle librerie Nextera Flex for Enrichment a partire da sangue intero ed è integrato in un flusso di lavoro per ottenere la massima efficienza. Il protocollo di lisi dispone di reagenti basati su microsfere e richiede meno di 30 minuti di interventi manuali.



Illumina offre un portafoglio di servizi diversificato che supporta un'ampia gamma di applicazioni, inclusi partnership e programmi di servizi, formazione e consulenza per tutta la durata del flusso di lavoro NGS. [Maggiori informazioni >](#)

## Prestazioni ottimizzate sui sistemi di sequenziamento Illumina

La soluzione Nextera Flex for Enrichment è efficace, semplice e fornisce risultati affidabili su tutti i sistemi di sequenziamento Illumina con più del 90% di letture sul target, più del 95% di uniformità e con basso tasso di duplicati della PCR (Tabella 3). Nextera Flex for Enrichment è ottimizzata per i sistemi a elevata processività (Figura 3) (Tabella 4).



**Figura 3: Nextera Flex for Enrichment fornisce prestazioni ottimizzate sui sistemi di sequenziamento Illumina:** la soluzione Nextera Flex for Enrichment è compatibile con tutti i sistemi di sequenziamento Illumina, inclusi i sistemi a elevata processività e su scala di produzione.

Tabella 2: Confronto dei flussi di lavoro di arricchimento Illumina

	Nextera Flex for Enrichment	TruSeq DNA Exome	Nextera DNA Exome	Nextera Rapid Capture Custom Enrichment
Opzione di DNA integrata <sup>a</sup>	✓	—	—	—
Ampia gamma di input di DNA flessibile	✓	—	—	—
Normalizzazione delle librerie inclusa <sup>b</sup>	✓	—	—	—
Compatibile con FFPE	✓	✓	—	—
Input di DNA richiesto	10-1.000 ng	100 ng	50 ng	50 ng
Durata totale della preparazione delle librerie e dell'arricchimento <sup>c</sup>	circa 6,5 ore	2,5 giorni	2 giorni	1,5 giorni
Dimensione inserto <sup>d</sup>	150-220 bp	150 bp	150-220 bp	230 bp
Set di indici campione	96 indici doppi univoci	24 indici singoli, 96 indici doppi	24 indici singoli, 96 indici doppi	24 indici singoli, 96 indici doppi

a. Protocolli di lisi integrati disponibili per sangue e saliva

b. La normalizzazione delle librerie si verifica con  $\geq 50$  ng di input di gDNA.

c. La durata totale della preparazione delle librerie e dell'arricchimento include le fasi di preparazione delle librerie, normalizzazione/raggruppamento in pool delle librerie e arricchimento

d. Il DNA in FFPE degradato può generare dimensioni di inserto più piccole

Tabella 3: Confronto delle prestazioni<sup>a</sup>

Parametro <sup>b</sup>	Nextera Flex for Enrichment	Nextera Flex for Enrichment	Nextera Flex for Enrichment	TruSeq DNA Exome	Nextera DNA Exome
Pannello	Pannello Exome Illumina	Pannello Exome X	Pannello Exome Y	Pannello Exome Illumina	Pannello Exome Illumina
Dimensione del pannello	45 Mb	39 Mb	33 Mb	45 Mb	45 Mb
Dimensione della sonda	80 bp	120 bp	120 bp	80 bp	80 bp
Arricchimento di letture "padded" (sul target) <sup>c</sup>	85%	91%	91%	85%	75%
Lunghezza mediana frammento	circa 200 bp	circa 200 bp	circa 200 bp	circa 150 bp	circa 200 bp
Copertura a 20x	93%	96%	97%	90%	85%
Uniformità di copertura <sup>c</sup>	95%	97%	98%	85%	85%
Profondità lettura per campione	30 milioni di cluster che attraversano il filtro	25 milioni di cluster che attraversano il filtro	20 milioni di cluster che attraversano il filtro	40 milioni di cluster che attraversano il filtro	40 milioni di cluster che attraversano il filtro
Precisione SNV	99%	99%	99%	99%	99%
Identificazione ripetuta di SNV	94%	94%	95%	89%	91%

a. I dati rappresentano un esempio di dati di confronto. Le effettive specifiche delle prestazioni possono variare.

b. L'analisi è stata eseguita su 48 campioni (tutti campioni Coriell NA12878) per condizione. L'analisi dei dati è stata eseguita utilizzando l'app Enrichment BaseSpace.

c. Per ulteriori dettagli, vedere BaseSpace App User Guide<sup>3</sup> (Guida per l'utente dell'app BaseSpace).

**Tabella 4: Rendimento dei campioni per cella a flusso con Nextera Flex for Enrichment**

Pannello	Sistema iSeq 100	Sistema MiniSeq	Sistema MiSeq			Serie NextSeq		
		Medio	Elevato	v2	Nano/ Micro v2	v3	Medio	Elevato
<b>Pannelli fissi</b>								
TruSight One	NR	NR	2	1	0/0	3	12	36
TruSight One Expanded	NR	NR	1	0	0/0	1	7	24
TruSight Cancer	4	8	24	12	1/4	24	96	384
TruSight Cardio	4	8	24	12	1/4	24	96	384
<b>Pannelli Custom (Personalizzato)</b>								
2.000 sonde	8	16	50	30	2/8	50	260	384
5.000 sonde	2	4	12	8	1/2	12	65	200
10.000 sonde	1	2	6	4	0/1	6	33	100

Abbreviazioni: Medio, output medio; Elevato, output elevato; NR, non raccomandato

Pannello	Serie NextSeq		Serie HiSeq		Sistema NovaSeq 6000			
	Medio	Elevato	2500 RR/HO	3000/4000	SP	S1	S2	S4
Exome Illumina	5	16	12/80	100	64	128	164	384
Pannello Exome X	5	16	12/80	100	64	128	164	384
Pannello Exome Y	6	20	15/100	125	80	160	205	384

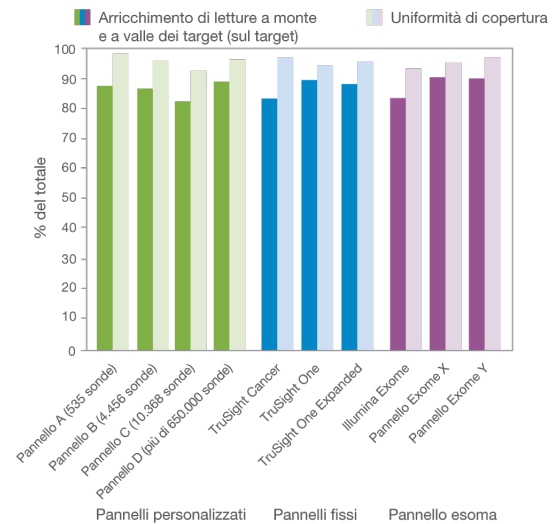
Abbreviazioni: Medio, output medio; Elevato, output elevato; RR, modalità Rapida Run (Corsa rapida); HO, modalità High Output (Output Elevato) (v4)

### Arricchimento del DNA per un'ampia gamma di applicazioni

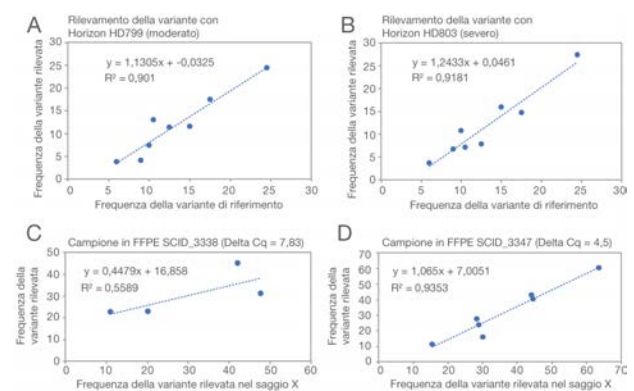
Unendo le eccellenti prestazioni di arricchimento e la comprovata accuratezza della chimica di sequenziamento mediante sintesi (Sequencing By Synthesis, SBS) Illumina, la soluzione Nextera Flex for Enrichment supporta sia i pannelli fissi che i pannelli personalizzati di diverse dimensioni, incluso il sequenziamento dell'intero esoma, per i clienti che desiderano progettazioni per studi avanzati in diverse aree (Figura 6). Inoltre, Nextera Flex for Enrichment è compatibile con i pannelli/sonde di arricchimento Illumina e di terze parti, per consentire la portabilità dei contenuti e fornire una maggiore flessibilità.

### Dati accurati

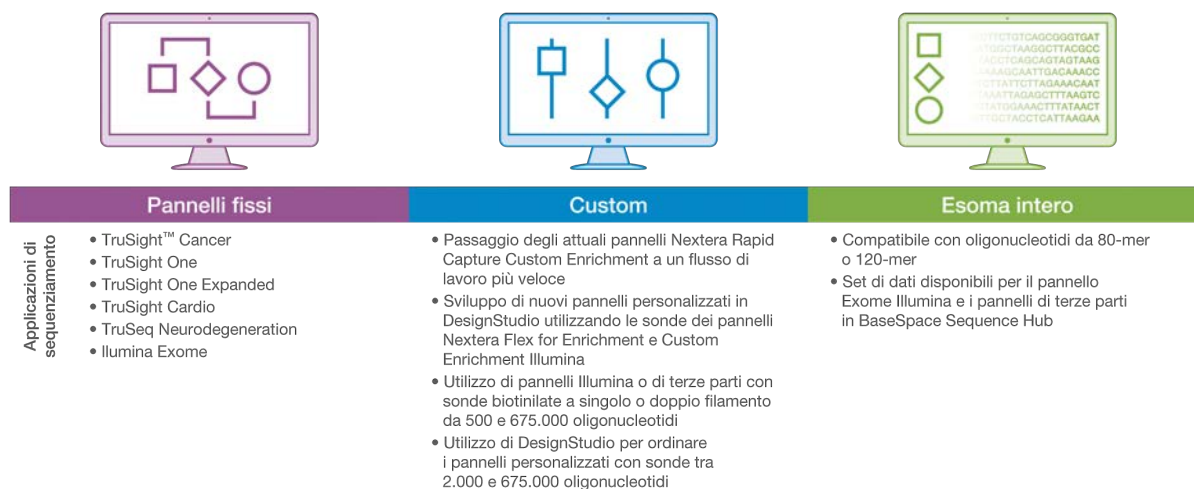
Nextera Flex for Enrichment fornisce elevata uniformità e dimensioni di inserto coerenti, su un'ampia gamma di input di DNA, offrendo una resa delle librerie uniforme e coerente.<sup>1</sup> Fornisce inoltre elevata uniformità di copertura e arricchimento di letture "padded" per pannelli personalizzati, fissi e per esoma (Figura 4). Nextera Flex for Enrichment consente l'identificazione ripetuta e la precisione accurate di varianti di singolo nucleotide (Single Nucleotide Variant, SNV) (Figura 5 e Tabella 3) e di inserzioni/delezioni (Indel), rispetto ad altre soluzioni di arricchimento Illumina.



**Figura 4: Elevata uniformità di copertura e arricchimento di letture "padded":** Nextera Flex for Enrichment fornisce elevata uniformità di copertura e arricchimento di letture "padded" per pannelli personalizzati, fissi e per esoma.



**Figura 5: Accurata identificazione delle varianti:** Nextera Flex for Enrichment fornisce bassa quantità di identificazione di varianti somatiche per campioni di DNA in FFPE della linea cellulare (A, B) utilizzati come controllo rispetto al riferimento umano e campioni in FFPE reali (C, D) con frequenza della variante osservata che mostra una correlazione significativa con le frequenze da un saggio di sequenziamento ortologo.



**Figura 6: Ampia gamma di applicazioni con Nextera Flex for Enrichment:** Nextera Flex for Enrichment può essere utilizzato per supportare un'ampia gamma di applicazioni inclusi i pannelli fissi, i pannelli personalizzati e il sequenziamento dell'intero esoma.

## Riepilogo

Nextera Flex for Enrichment offre il flusso di lavoro più veloce nel portafoglio di arricchimento Illumina. La soluzione di facile utilizzo e compatibile con l'automazione supporta utenti con tutti i livelli di esperienza fornendo un flusso di lavoro comune per diverse progettazioni sperimentali. La chimica di tagmentazione su microsferi supporta un'ampia gamma di quantità di input di DNA, diversi tipi di campione e una vasta gamma di applicazioni, inclusi i pannelli fissi, i pannelli personalizzati e il sequenziamento dell'intero esoma. Inoltre, Nextera Flex for Enrichment è compatibile con i pannelli/sonde di arricchimento Illumina e di terze parti, per consentire la portabilità dei contenuti. L'innovativa soluzione Nextera Flex for Enrichment unita all'efficacia della chimica SBS Illumina fornisce l'arricchimento mirato e il sequenziamento dell'esoma ottimali.

## Bibliografia

1. Illumina (2017). [Scheda tecnica di Nextera DNA Flex Library Preparation Kit](#). Consultato il 10 settembre 2018.
2. Illumina (2017). [BWA Enrichment v2.1 BaseSpace App Guide](#) (Guida all'app BWA Enrichment v2.1 BaseSpace). Consultato il 28 settembre 2018.

## Informazioni per gli ordini

Ordinate online i prodotti Nextera Flex alla pagina Web [www.illumina.com](http://www.illumina.com)

Prodotto	N. di catalogo
Nextera DNA Flex Pre-Enrichment Library Prep e Enrichment Reagents 96 campioni (8, reazioni di arricchimento di 12 plex)	20025524
Nextera DNA Flex Pre-Enrichment Library Prep e Enrichment Reagents 16 campioni (16, reazioni di arricchimento di 1 plex)	20025523
Nextera DNA Flex Pre-Enrichment Library Prep Reagents (96 campioni)	20025520
Nextera DNA Flex Pre-Enrichment Library Prep Reagents (16 campioni)	20025519
Flex Lysis Reagent Kit (per lisi del sangue)	20018706
IDT per Illumina - Nextera DNA Unique Dual Indexes - Set A (96 indici, 96 campioni)	20027213
IDT per Illumina - Nextera DNA Unique Dual Indexes - Set B (96 indici, 96 campioni)	20027214
IDT per Illumina - Nextera DNA Unique Dual Indexes - Set C (96 indici, 96 campioni)	20027215
IDT per Illumina - Nextera DNA Unique Dual Indexes - Set D (96 indici, 96 campioni)	20027216
IDT per Illumina - Nextera DNA Unique Dual Indexes - Set A-D (384 indici, 384 campioni)	20027217
Pannello Exome Illumina (8 reazioni di arricchimento)	20020183
TruSight Cancer (8 reazioni di arricchimento)	FC-121-0202
TruSight One (6 reazioni di arricchimento)	20029227
TruSight One Expanded (6 reazioni di arricchimento)	20029226
TruSight Cardio (8 reazioni di arricchimento)	20029229
TruSeq Neurodegeneration (8 reazioni di arricchimento)	20029550
Pannello Custom Enrichment Illumina	20025371

Illumina, Inc. • N. verde 1.800.809.4566 (U.S.A.) • Tel. +1.858.202.4566 • [techsupport@illumina.com](mailto:techsupport@illumina.com) • [www.illumina.com](http://www.illumina.com)

© 2018 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, visitate la pagina Web [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html). Pubbl. n. 770-2018-002-B-ITA QB890

**illumina**<sup>®</sup>