

illumina®

# Illumina TruPath Genome

Documentazione sui prodotti

PROPRIETÀ DI ILLUMINA

Documento n. 200065852 v00

Febbraio 2026

**Solo per uso di ricerca. Non usare in procedure diagnostiche.**

Questo documento e il suo contenuto sono di proprietà di Illumina, Inc. e delle aziende a essa affiliate ("Illumina") e sono destinati esclusivamente a uso contrattuale da parte dei clienti di Illumina, per quanto concerne l'utilizzo dei prodotti qui descritti, con esclusione di qualsiasi altro scopo. Questo documento e il suo contenuto non possono essere usati o distribuiti per altri scopi e/o in altro modo diffusi, resi pubblici o riprodotti, senza previa approvazione scritta da parte di Illumina. Mediante questo documento, Illumina non trasferisce a terzi alcuna licenza ai sensi dei suoi brevetti, marchi, copyright o diritti riconosciuti dal diritto consuetudinario, né diritti simili di alcun genere.

Al fine di garantire un uso sicuro e corretto dei prodotti ivi descritti, le istruzioni riportate nel presente documento devono essere scrupolosamente ed esplicitamente seguite da personale qualificato e adeguatamente formato. Leggere e comprendere a fondo l'intero contenuto di questo documento prima di usare tali prodotti.

LA LETTURA INCOMPLETA DEL CONTENUTO DEL PRESENTE DOCUMENTO E IL MANCATO RISPETTO DI TUTTE LE ISTRUZIONI IVI CONTENUTE POSSONO CAUSARE DANNI AL/I PRODOTTO/I, LESIONI PERSONALI A UTENTI E TERZI E DANNI MATERIALI E RENDERANNO NULLA QUALSIASI GARANZIA APPLICABILE AL/I PRODOTTO/I.

ILLUMINA DECLINA QUALSIASI RESPONSABILITÀ DERIVANTE DALL'USO IMPROPRIO DEL/DEI PRODOTTO/I IVI DESCRITTO/I (INCLUSI SOFTWARE O PARTI DI ESSI).

© 2026 Illumina, Inc. Tutti i diritti riservati.

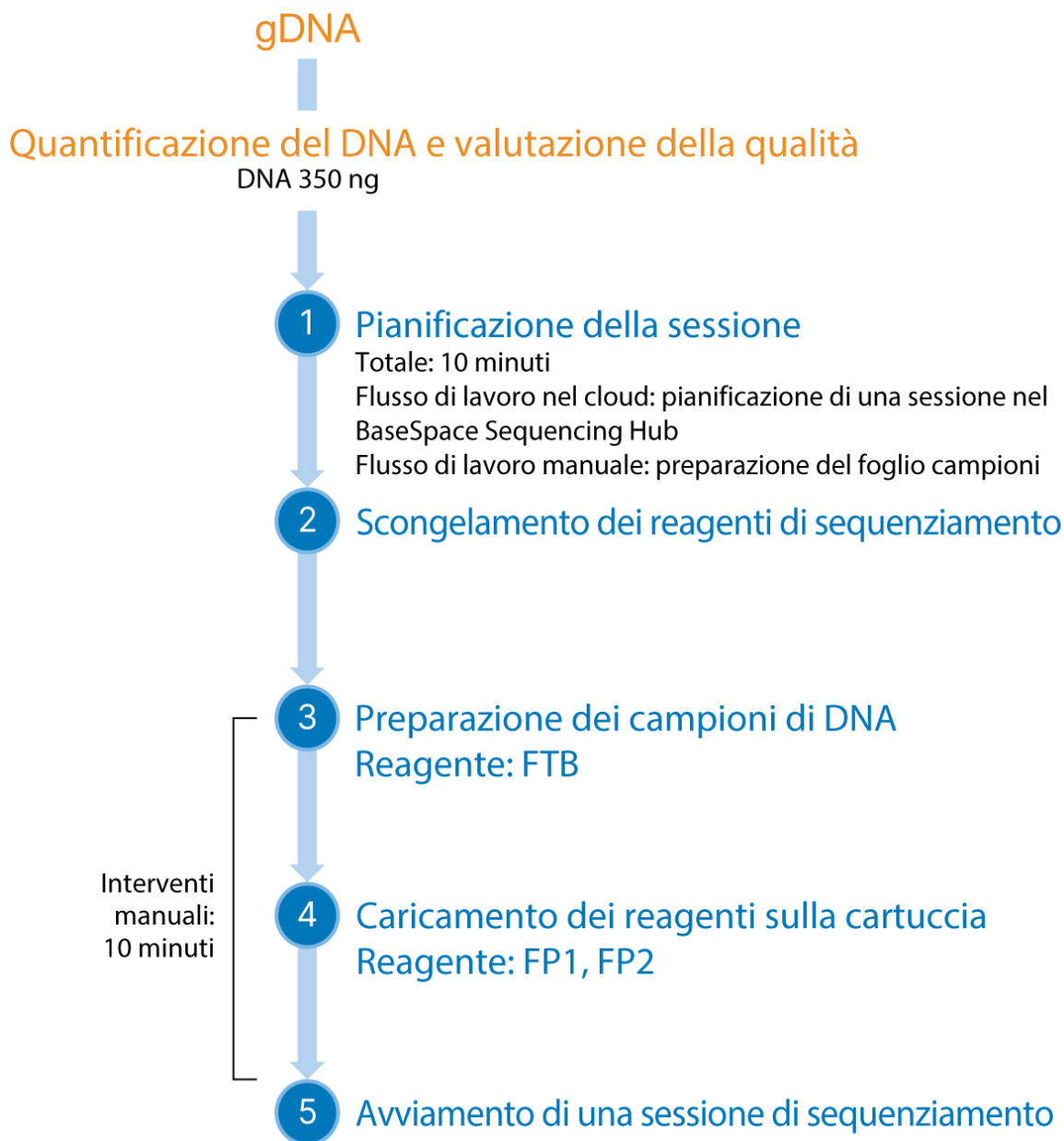
Tutti i marchi di fabbrica sono di proprietà di Illumina, Inc. o dei rispettivi proprietari. Per informazioni specifiche sui marchi di fabbrica, consultare la pagina web [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html).

# Sommario

<b>Descrizione generale</b> .....	<b>1</b>
Raccomandazioni in merito agli input di DNA .....	2
<b>Materiali di consumo e apparecchiature</b> .....	<b>4</b>
TruPath Genome Materiali di consumo/reagenti .....	4
Materiali di consumo/apparecchiature forniti dall'utente .....	5
<b>Protocollo</b> .....	<b>7</b>
Quantificazione del gDNA e valutazione della qualità .....	7
Pianificazione della corsa .....	7
Scongelamento dei reagenti di sequenziamento .....	7
Preparazione dei campioni di DNA .....	8
Caricamento dei reagenti sulla cartuccia .....	9
<b>Risorse e riferimenti</b> .....	<b>11</b>
Cronologia delle revisioni .....	11

# Descrizione generale

La presente documentazione del prodotto descrive in dettaglio il flusso di lavoro Illumina TruPath Genome, illustrato graficamente nel diagramma che segue.



## Raccomandazioni in merito agli input di DNA

### Qualità del DNA genomico

Il flusso di lavoro TruPath Genome richiede l'uso di DNA genomico purificato (gDNA) estratto da cellule o sangue in provette di raccolta K2EDTA, con un kit adatto al tipo di campione. Per una gamma più ampia di tipologie di campioni, consultare la nota tecnica [TruPath Genome Prestazioni con campioni di tipo e qualità variabili](#). Questo flusso di lavoro non è adatto ai campioni di gDNA FFPE o alle estrazioni di cfDNA. Valutare la qualità del gDNA con uno dei seguenti metodi:

- **Saggio Agilent gDNA ScreenTape:** utilizzare lo strumento di analisi delle regioni per valutare le proporzioni di frammenti superiori a 10 kb e 60 kb; almeno il 50% dei frammenti di DNA contenuti nel campione deve avere un valore superiore a 10 kb; i campioni di qualità inferiore possono comunque consentire l'acquisizione di dati accettabili di sequenziamento di letture brevi, ma forniscono dati aggiuntivi minimi di prossimità; per massimizzare le prestazioni in termini di dati di prossimità, il campione deve contenere almeno per il 70% frammenti di DNA con valore compreso tra 10 kb e 500 kb, e almeno per il 40% frammenti di DNA con valore compreso tra 60 kb e 500 kb.
- **Kit Agilent Femto Pulse gDNA 165 kb:** il campione deve ottenere almeno un valore GQN di 5,0; i campioni di qualità inferiore possono comunque consentire l'acquisizione di dati accettabili di sequenziamento di letture brevi, ma forniscono dati aggiuntivi minimi di prossimità; per massimizzare le prestazioni in termini di dati di prossimità, il campione deve avere un valore GON minimo di 7,0 alla soglia dei 10 kb e almeno 4,0 alla soglia dei 60 kb.

Per istruzioni sull'utilizzo di Agilent TapeStation o Agilent Femto Pulse, consultare il sito Web del fabbricante. Per migliorare la qualità del DNA e i parametri di prossimità TruPath Genome, utilizzare un kit di estrazione del DNA ad alto peso molecolare (High Molecular Weight, HMW).

### Quantità del DNA genomico

TruPath Genome consiglia un campione di DNA con valore pari a 350 ng di gDNA per campione, per corsia. I campioni con valore inferiore a 175 ng producono sì dati sulla copertura di prossimità, ma la profondità di copertura autosomica potrebbe risultare ridotta.

- Prima dell'estrazione, conservare i campioni di sangue per un massimo di tre giorni a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C. Oltre i tre giorni di conservazione, i campioni vanno mantenuti a una temperatura compresa tra -25 °C e -15 °C.
- Non superare i 10 cicli di congelamento e scongelamento del DNA.
- Misurare la concentrazione di DNA di ciascun campione con un fluorimetro Qubit utilizzando il saggio Qubit del kit dsDNA. Consultare il sito Web del fabbricante.

## Manipolazione del DNA

- Nel caso del DNA ad alto peso molecolare, il pipettaggio < 20 µl può risultare difficoltoso a causa della possibile viscosità e filettatura tipiche di questo tipo di DNA. Premere la punta della pipetta sul fondo della provetta per rompere le filettature del campione e consentire un pipettaggio accurato.
- Il DNA ad alto peso molecolare non deve essere agitato con vortex.
- Per miscelarlo, utilizzare punte per pipette a foro largo onde prevenire il rischio di lacerazione.

# Materiali di consumo e apparecchiature

Il TruPath Genome protocollo richiede i seguenti materiali di consumo e apparecchiature:

- Una cella a flusso C2 (per due campioni, una per corsia) abbinata a una cartuccia di reagenti NovaSeq X da 1,5 miliardi o una cella a flusso C8 (per otto campioni, una per corsia) abbinata a una cartuccia di reagenti NovaSeq X da 10B.
- Reagenti TruPath Genome.
- Apparecchiature e materiali di consumo forniti dall'utente.

## TruPath Genome Materiali di consumo/reagenti

### Materiali di consumo del kit a due campioni

Illumina N. di catalogo 20157406

Componente del kit	Temperatura di conservazione
TruPath Genome Kit di reagenti	Tra -25 °C e -15 °C
NovaSeq X Cella a flusso serie C2	Tra 2 °C e 8 °C
NovaSeq X Inserto serie 1.5B Lyo	Tra -25 °C e -15 °C
NovaSeq X Cartuccia di reagenti serie 1.5B (300 cicli)	Tra -25 °C e -15 °C
NovaSeq X Striscia per provette della libreria serie 1.5B	Temperatura ambiente
NovaSeq X Cartuccia serie tamponi	Temperatura ambiente

### Materiali di consumo del kit a otto campioni

Illumina N. catalogo 20157405

Componente del kit	Temperatura di conservazione
TruPath Genome Kit di reagenti	Tra -25 °C e -15 °C
NovaSeq X Cella a flusso serie C8	Tra 2 °C e 8 °C
NovaSeq X Inserto Lyo serie 10B	Tra -25 °C e -15 °C
NovaSeq X Cartuccia di reagenti serie 10B (300 cicli)	Tra -25 °C e -15 °C
NovaSeq X Striscia per provette della libreria serie 10B/25B	Temperatura ambiente
NovaSeq X Cartuccia serie tamponi	Temperatura ambiente

## TruPath Genome Kit di reagenti

Illumina (n. di catalogo 20138424)

Reagente	Temperatura di conservazione
FP1 (miscela di preparazione della cella a flusso 1)	Tra -25 °C e -15 °C
FT2 (trasposone della cella a flusso 2)	Tra -25 °C e -15 °C
FTB (FC Tagment Buffer)	Tra -25 °C e -15 °C

## Materiali di consumo/apparecchiature forniti dall'utente

Materiali di consumo/apparecchiature	Fornitore
Microcentrifuga	Fornitore di laboratorio generico
Fluorometro Qubit 4	Thermo Fisher Scientific, n. di catalogo Q33238
Kit del saggio Qubit dsDNA, HS o BR	Uno dei seguenti, a seconda del metodo di quantificazione: Saggio HS, Thermo Fisher Scientific, n. di catalogo Q32851 o Q32854 Saggio BR, Thermo Fisher Scientific, n. di catalogo Q32850 o Q32853
Acqua priva di nucleasi	Fornitore di laboratorio generico
Pipetta a canale singolo, 1 o 5 ml	Fornitore di laboratorio generico
Pipetta a canale singolo da 200 µl	Fornitore di laboratorio generico
Punte per pipette a foro largo, 200 µl*	Fornitore di laboratorio generico
Pipetta a canale singolo da 20 µl	Fornitore di laboratorio generico
Punte per pipette a foro largo, 20 µl*	Fornitore di laboratorio generico

\*Per la manipolazione del DNA ad alto peso molecolare (HMW) si consiglia l'uso di punte a foro largo, perché le punte standard rischiano di frammentarlo, determinando un profilo inferiore a quello richiesto. Se non sono disponibili punte per pipette a foro largo, le punte standard possono essere utilizzate, ma vanno evitati cicli di aspirazione/erogazione ripetuti.

Si consiglia vivamente di valutare la qualità del gDNA per assicurarsi che il campione di DNA soddisfi i valori soglia di qualità stabiliti. Per il dimensionamento del DNA sono indicati i seguenti materiali di consumo e apparecchiature.

<b>Materiali di consumo/apparecchiature (facoltativi)</b>	<b>Fornitore</b>
TapeStation	Agilent, n. di catalogo G2991BA o G2992AA
Analisi del DNA genomico	Agilent, n. di catalogo 5067-5366 e 5067-5365
Sistema Femto Pulse	Agilent, n. di catalogo M5330AA
Kit di analisi Femto Pulse gDNA 165kb	Agilent, n. di catalogo FP-1002-0275

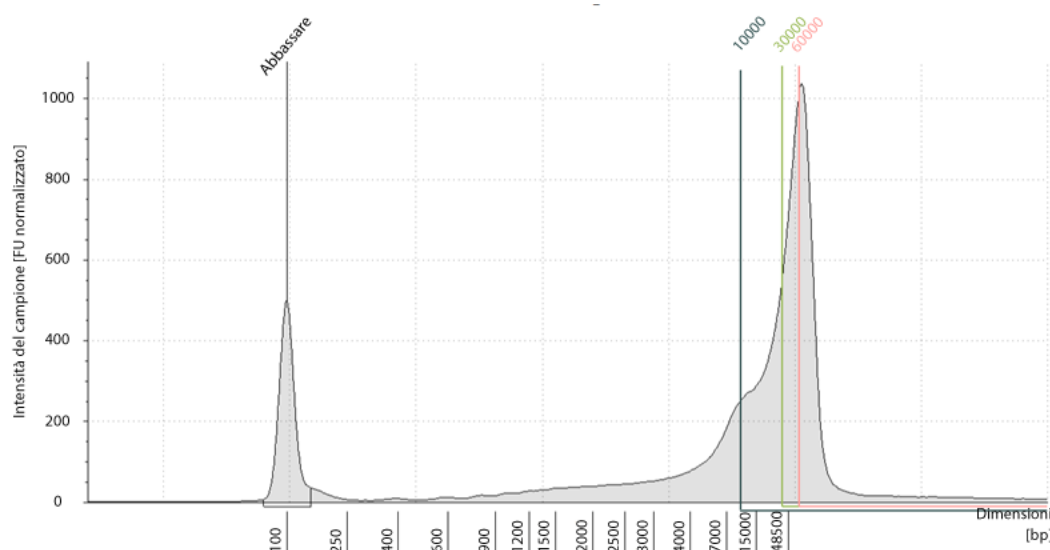
# Protocollo

Questa sezione descrive il protocollo TruPath Genome.

## Quantificazione del gDNA e valutazione della qualità

1. Quantificazione del DNA con fluorimetro Qubit e kit dsDNA. Illumina consiglia l'uso di una soluzione madre di gDNA inferiore a 100 ng/μl per consentire estrema accuratezza nella quantificazione, nella valutazione della qualità e il pipettaggio nelle fasi successive del protocollo. Il valore target di caricamento finale è 350 ng.
2. Illumina consiglia di eseguire il controllo qualità del DNA su TapeStation (nastro gDNA) o Femto Pulse (kit gDNA da 165 kb). Consultare [Raccomandazioni in merito agli input di DNA alla pagina 2](#) per le specifiche di qualità.

Figura 1 Profilazione delle dimensioni dell'input di gDNA tramite Agilent TapeStation



## Pianificazione della corsa


Per istruzioni dettagliate su come pianificare una corsa in BaseSpace Sequence Hub o per preparare un foglio campioni, consultare la [TruPath Genome Guida per l'utente del software](#).

## Scongelamento dei reagenti di sequenziamento

Per istruzioni dettagliate sullo scongelamento dei reagenti, consultare [Documentazione del prodotto NovaSeq X Series \(n. documento 200027529\)](#).

## Preparazione dei campioni di DNA

- Estrarre i reagenti TruPath Genome dal kit e scongelare a temperatura ambiente per 20 minuti.
  - FP1 (striscia blu sull'etichetta)
  - FT2 (striscia rossa sull'etichetta)
  - FTB (striscia trasparente sull'etichetta)
- Dopo averli scongelati, conservare i reagenti su ghiaccio per un massimo di quattro ore. Se non vengono utilizzati, riporli reagenti nel congelatore.
- Pipettare lentamente l'intero volume di FTB cinque volte e centrifugare brevemente con una centrifuga da banco.
- Assicurarsi che la soluzione madre di DNA sia scongelata correttamente. Pipettare lentamente cinque volte per assicurarsi che sia completamente risospesa, in particolare il DNA ad alto peso molecolare.  
Si consiglia l'uso di una punta da 200 µl a foro largo.
- Togliere il tappo dalla striscia (a otto) provette della libreria.
- Per ogni campione, aggiungere quanto segue a una **singola** provetta di campione della striscia delle provette della libreria nell'ordine mostrato:

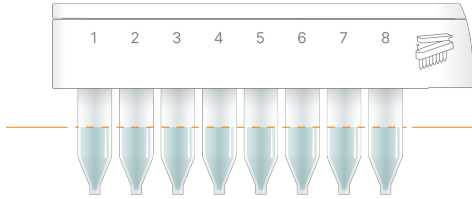
 Assicurarsi che la provetta del campione corrisponda alla corsia corretta assegnata nel foglio campioni.

Ordine	Reagente	Volume
1	Acqua priva di nucleasi	Variabile (153 µl - 350 ng di volume della soluzione madre di gDNA)
2	FTB	17 µl
3	350 ng di soluzione madre di gDNA	Variabile (in base alla concentrazione della soluzione madre di gDNA)
<b>Volume totale:</b>		<b>170 µl</b>

Ad esempio, se la concentrazione della soluzione madre di gDNA è 100 ng/µl, il volume della soluzione madre di gDNA 350 ng sarà 3,5 µl (350 ng ÷ 100 ng/µl). Il volume di acqua priva di nucleasi sarà 149,5 µl (153 µl - 3,5 µl di gDNA).

- Impostare una pipetta P200 a 150 µl.
- Utilizzando una nuova punta per pipetta per ogni campione, pipettare lentamente cinque volte per miscelare, avendo cura di evitare la formazione di bolle. Assicurarsi che non vi siano vuoti d'aria nella parte inferiore.  
Si consiglia l'uso di una punta da 200 µl a foro largo. Non utilizzare la punta P1000.
- Mettere il tappo sulla striscia provette della libreria.

10. Ruotare brevemente la striscia della provetta **opzionale** e assicurarsi che non vi siano vuoti d'aria nella parte inferiore delle provette. Consultare [Documentazione del prodotto NovaSeq X Series \(n. documento 200027529\)](#).
11. Assicurarsi che il volume sia uniforme in tutte le provette.



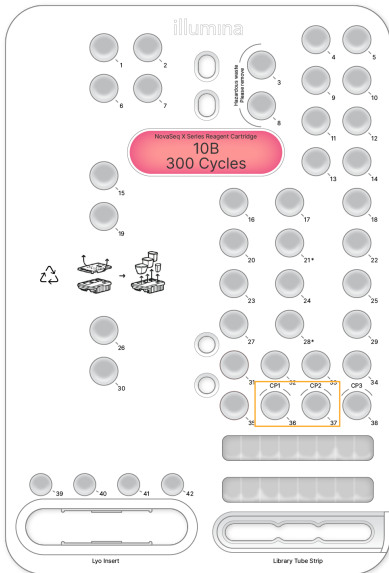
12. Inserire la striscia (a otto) provette della libreria nella cartuccia di reagenti e premere verso il basso. Quando la striscia provette della libreria è in posizione si avverte un lieve “clic”. Assicurarsi che la striscia provette della libreria sia piatta all'interno della cartuccia.

## Caricamento dei reagenti sulla cartuccia

I volumi di reagenti specificati nelle seguenti istruzioni sono gli stessi per la cartuccia 1,5B e la cartuccia 10B.

- ⚠ Non capovolgere la cartuccia di reagenti scongelata dopo avere aggiunto FP1 o FT2. Consultare [Documentazione del prodotto NovaSeq X Series \(n. documento 200027529\)](#).

1. Con la punta della pipetta pulita, perforare il sigillo in pellicola di alluminio delle posizioni CP1 e CP2 della cartuccia di reagenti. Le posizioni CP1 e CP2 sono evidenziate nell'immagine che segue.



- i** La posizione CP3 non viene utilizzata per il flusso di lavoro TruPath Genome.

2. Capovolgere delicatamente più volte la FP1 (striscia blu sull'etichetta) per miscelare.

3. Utilizzare una pipetta per trasferire 3 ml di FP1 nella posizione CP1 della cartuccia.  
Il volume di riempimento completo è 3 ml. Non è detto che venga raggiunto con tutto il contenuto della provetta FP1.
4. Capovolgere delicatamente più volte la FT2 (striscia rossa sull'etichetta) per miscelare.
5. Utilizzare una pipetta per trasferire 2,6 ml di FT2 nella posizione CP2 della cartuccia.  
Il volume di riempimento completo è 2,6 ml. Non è detto che venga raggiunto con tutto il contenuto della provetta FT2.
6. Inserire l'inserto Iyo nella cartuccia di reagenti e premere verso il basso. Quando l'inserto Iyo è in posizione si avverte un "clic".
7. Proseguire con la procedura standard di caricamento dello strumento. Consultare [Documentazione del prodotto NovaSeq X Series \(n. documento 200027529\)](#).

## Risorse e riferimenti

Le pagine di supporto di [Illumina sul sito web](#) forniscono informazioni su software, risorse per la formazione, compatibilità dei prodotti e la documentazione seguente. Controllare sempre le pagine di supporto per verificare le ultime versioni disponibili.

### Risorse aggiuntive

Risorsa	Descrizione
<a href="#">Documentazione del prodotto NovaSeq X Series</a>	Fornisce informazioni tecniche per l'utilizzo Illumina di NovaSeq X Series.
<a href="#">Illumina TruPath Genome Guida per l'utente del software</a>	Fornisce informazioni tecniche per l'utilizzo del software Illumina TruPath Genome.
<a href="#">TruPath Genome Prestazioni con campioni di tipo e qualità variabili</a>	Fornisce informazioni tecniche per una gamma più ampia di tipi di campioni con TruPath Genome.
<a href="#">Illumina TruPath Genome Scheda tecnica</a>	Fornisce informazioni tecniche sulle caratteristiche di TruPath Genome.

## Cronologia delle revisioni

Documento	Data	Descrizione della modifica
Documento n. 200065852 v00	Febbraio 2026	Versione iniziale.



Illumina, Inc.  
5200 Illumina Way  
San Diego, California 92122 U.S.A.  
+1.800.809.ILMN (4566)  
+1.858.202.4566 (fuori dal Nord America)  
techsupport@illumina.com  
www.illumina.com

**Solo per uso di ricerca. Non usare in procedure diagnostiche.**

© 2026 Illumina, Inc. Tutti i diritti riservati.

**illumina®**