

illumina®

# Illumina TruPath Genome

Documentação do produto

PROPRIEDADE DA ILLUMINA

Documento n.º 200065852 v00

Fevereiro de 2026

**Somente para uso em pesquisa. Não deve ser usado para fins de diagnóstico.**

Este documento e seu conteúdo são de propriedade da Illumina, Inc. e de suas afiliadas (“Illumina”) e destinam-se exclusivamente ao uso contratual de seu cliente com relação ao uso do(s) produto(s) descrito(s) neste documento e para nenhuma outra finalidade. Este documento e seu conteúdo não devem ser usados ou distribuídos para nenhuma outra finalidade nem comunicados, divulgados ou reproduzidos de nenhuma forma sem o consentimento prévio por escrito da Illumina. A Illumina não concede nenhuma licença sob seus direitos de patente, marca registrada, direitos autorais ou lei comum nem direitos semelhantes de terceiros por meio deste documento.

As instruções neste documento devem ser estrita e explicitamente seguidas por pessoal devidamente treinado e qualificado para garantir o uso adequado e seguro do(s) produto(s) descrito(s) neste documento. Todo o conteúdo deste documento deve ser lido e compreendido por completo antes da utilização de tais produtos.

NÃO FAZER UMA LEITURA COMPLETA E NÃO SEGUIR EXPLICITAMENTE TODAS AS INSTRUÇÕES AQUI CONTIDAS PODE RESULTAR EM DANOS AO(S) PRODUTO(S), FERIMENTOS A PESSOAS, INCLUSIVE USUÁRIOS OU OUTROS, E DANOS A OUTROS BENS, ANULANDO TODA GARANTIA APLICÁVEL AO(S) PRODUTO(S).

A ILLUMINA NÃO SE RESPONSABILIZA POR QUALQUER PROBLEMA CAUSADO PELO USO INDEVIDO DO(S) PRODUTO(S) MENCIONADO(S) ACIMA (INCLUINDO PARTES SEPARADAS OU O SOFTWARE).

© 2026 Illumina, Inc. Todos os direitos reservados.

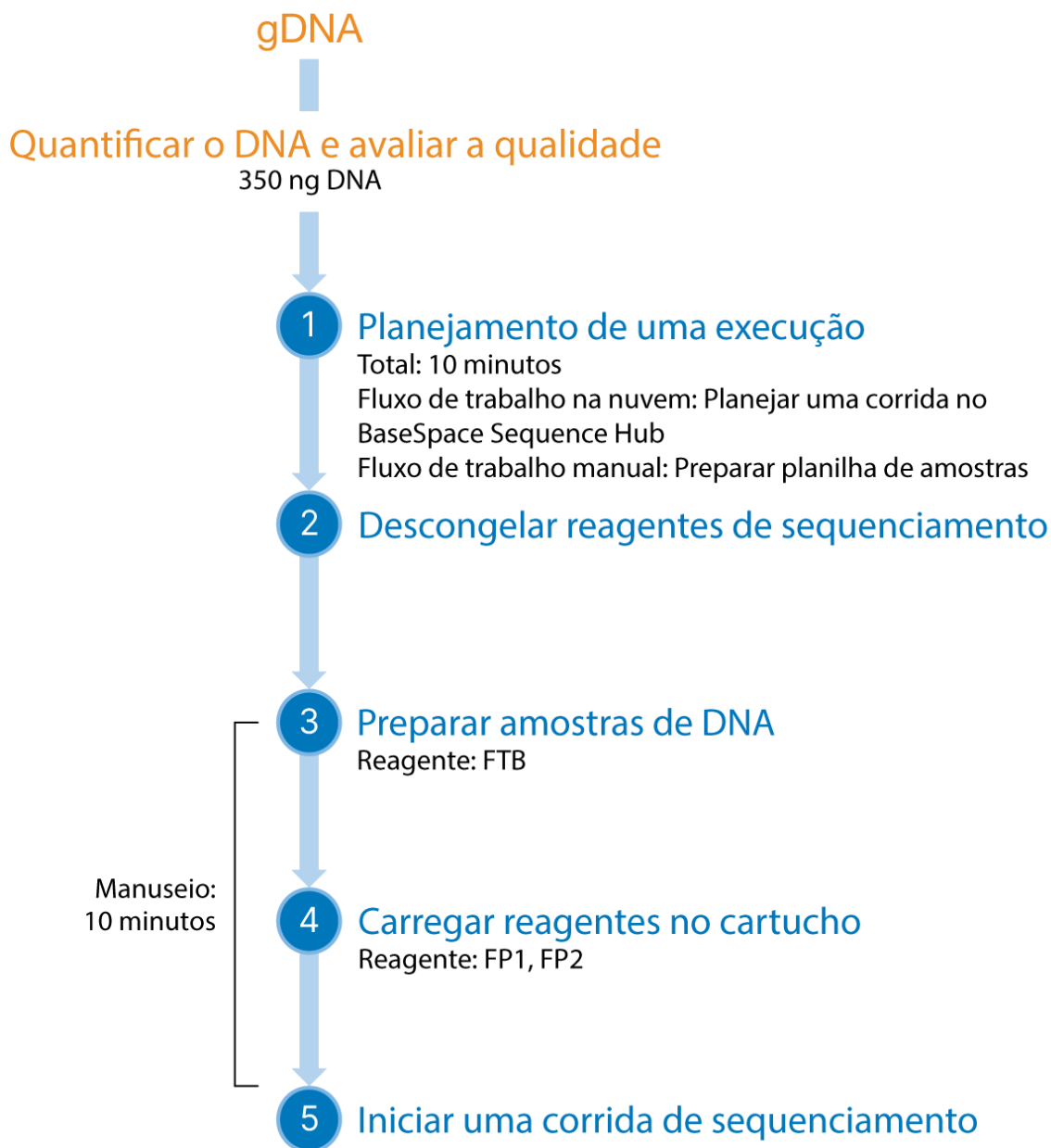
Todas as marcas comerciais pertencem à Illumina, Inc. ou aos respectivos proprietários. Para obter informações específicas sobre marcas comerciais, consulte [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html).

# Índice

<b>Visão geral</b> .....	<b>1</b>
Recomendações para entrada de RNA .....	2
<b>Consumíveis e equipamentos</b> .....	<b>4</b>
TruPath Genome Materiais de consumo/reagentes .....	4
Consumíveis e equipamentos fornecidos pelo usuário .....	5
<b>Protocolo</b> .....	<b>7</b>
Quantificar o gDNA e avaliar a qualidade .....	7
Planejamento de uma execução .....	7
Descongelar reagentes de sequenciamento .....	7
Preparação de amostras de DNA .....	8
Carregar reagentes no cartucho .....	9
<b>Recursos e Referências</b> .....	<b>11</b>
Histórico de revisões .....	11

# Visão geral

Esta documentação do produto detalha o fluxo de trabalho Illumina TruPath Genome e o diagrama a seguir ilustra o fluxo de trabalho.



# Recomendações para entrada de RNA

## Qualidade genômica do DNA

O fluxo de trabalho TruPath Genome requer DNA genômico purificado (gDNA) extraído de células ou de sangue em tubos de coleta K2EDTA, com um kit apropriado por tipo de amostra. Consulte a nota técnica [TruPath Genome Desempenho com amostras de tipo e qualidade variáveis](#) para obter uma variedade mais ampla de tipos de amostras. Esse fluxo de trabalho não é adequado para amostras gDNA FFPE ou extrações de cfDNA. Avalie a qualidade do gDNA usando um dos métodos abaixo:

- Ensaio Agilent gDNA ScreenTape – use a ferramenta de análise de região para avaliar proporções de fragmentos superiores a 10 kb e 60 kb. No mínimo, a amostra deve conter 50% de fragmentos de DNA superiores a 10 kb. Amostras de qualidade inferior ainda podem obter dados aceitáveis de sequenciamento de leitura curta, mas produzem dados mínimos de proximidade adicionais. Para obter os dados de proximidade de melhor desempenho, use uma amostra com 70% ou mais de fragmentos de DNA entre 10 kb e 500 kb e 40% ou mais de fragmentos entre 60 kb e 500 kb.
- Kit Agilent Femto Pulse gDNA 165 kb – no mínimo, a amostra deve obter um valor de GQN de 5,0. Amostras de qualidade inferior ainda podem obter dados aceitáveis de sequenciamento de leitura curta, mas produzem dados mínimos de proximidade adicionais. Para obter os dados de proximidade de melhor desempenho, use uma amostra com um valor de GQN de pelo menos 7,0 no limite de 10 kb e de pelo menos 4,0 no limite de 60 kb.

Consulte o site do fabricante para obter instruções sobre usar o Agilent TapeStation ou o Agilent Femto Pulse. Para melhorar a qualidade do DNA e as métricas de proximidade de TruPath Genome, use um kit de extração de DNA de alto peso molecular (HMW).

## Quantidade de DNA genômico

TruPath Genome recomenda uma entrada de DNA com 350 ng de gDNA por amostra, por via. Amostras de entrada mais baixas até 175 ng produzem dados de cobertura de proximidade, mas a profundidade da cobertura autossômica pode ser reduzida.

- Antes da extração, armazene as amostras de sangue por até três dias entre 2 °C e 8 °C. No caso de armazenar amostras por mais de três dias, as mantenha entre -25 °C e -15 °C.
- Evite mais de 10 ciclos de congelamento-descongelamento do DNA.
- Meça a concentração de DNA de cada amostra com um fluorômetro Qubit usando o ensaio Qubit do kit de dsDNA. Consulte o site do fabricante.

## Manuseio de DNA

- Se estiver usando o HMW DNA, ele pode ser viscoso e formar fios, dificultando uma pipetagem <20 µl. Pressione a ponta da pipeta contra a parte inferior do tubo para quebrar os fios da amostra e permitir uma pipetagem precisa.
- Não agite o DNA HMW em vórtex.

- Ao misturar o DNA, use pontas de pipeta de diâmetro amplo para evitar cisalhamento.

## Consumíveis e equipamentos

O protocolo TruPath Genome requer os seguintes materiais de consumo e equipamentos:

- Uma lâmina de fluxo C2 (para duas amostras, uma por cavidade) emparelhada com um cartucho de reagente NovaSeq X 1,5 B ou uma lâmina de fluxo C8 (para oito amostras, uma por cavidade) emparelhada com um cartucho de reagente NovaSeq X 10B.
- TruPath Genome reagentes.
- Materiais de consumo e equipamentos fornecidos por diversos usuários

## TruPath Genome Materiais de consumo/reagentes

### Materiais de consumo do kit de duas amostras

Illumina nº do catálogo 20157406

Componente do kit	Temperatura de armazenamento
TruPath Genome Reagent Kits	-25 °C a -15 °C
NovaSeq X Series C2 Flow Cell	2 °C a 8 °C
NovaSeq X Series 1.5B Lyo Insert	-25 °C a -15 °C
NovaSeq X Series 1.5B Reagent Cartridge (300 ciclos)	-25 °C a -15 °C
NovaSeq X Series 1.5B library tube strip	Temperatura ambiente
NovaSeq X Series Buffer Cartridge	Temperatura ambiente

### Materiais de consumo do kit de oito amostras

Illumina nº do catálogo 20157405

Componente do kit	Temperatura de armazenamento
TruPath Genome Reagent Kit	-25 °C a -15 °C
NovaSeq X Series C8 Flow Cell	2 °C a 8 °C
NovaSeq X Series 10B Lyo Insert	-25 °C a -15 °C
NovaSeq X Series 10B Reagent Cartridge (300 ciclos)	-25 °C a -15 °C
NovaSeq X Series 10B/25B library tube strip	Temperatura ambiente
NovaSeq X Series Buffer Cartridge	Temperatura ambiente

## TruPath Genome Reagent Kit

Illumina nº do catálogo 20138424

Reagente	Temperatura de armazenamento
FP1 (Mistura 1 de preparação de lâmina de fluxo)	-25 °C a -15 °C
FT2 (Transpossoma 2 de lâmina de fluxo)	-25 °C a -15 °C
FTB (Tagment buffer FC)	-25 °C a -15 °C

## Consumíveis e equipamentos fornecidos pelo usuário

Consumíveis/equipamentos	Fornecedor
Microcentrífuga	Fornecedor de itens de uso comum do laboratório
Fluorômetro Qubit 4	Thermo Fisher Scientific, nº de catálogo Q33238
Kit de ensaio de Qubit dsDNA, HS ou BR	Um dos seguintes, dependendo do método de quantificação: Ensaio HS, Thermo Fisher Scientific, catálogo nº Q32851 ou Q32854 Ensaio BR, Thermo Fisher Scientific, catálogo nº Q32850 ou Q32853
Água livre de nuclease	Fornecedor de itens de uso comum do laboratório
Pipeta de canal único, 1 ou 5 ml	Fornecedor de itens de uso comum do laboratório
Pipetas de canal único, 200 µl	Fornecedor de itens de uso comum do laboratório
Pontas de pipeta de diâmetro amplo, 200 µl*	Fornecedor de itens de uso comum do laboratório
Pipetas de canal único, 20 µl	Fornecedor de itens de uso comum do laboratório
Pontas de pipeta de diâmetro amplo, 20 µl*	Fornecedor de itens de uso comum do laboratório

\*Pontas de diâmetro amplo são recomendadas ao manusear DNA de HMW. Pontas padrão podem causar fragmentação do DNA, levando a um perfil de DNA com tamanho menor do que o necessário. Não havendo pontas de pipeta de diâmetro amplo disponíveis, pontas regulares podem ser usadas; no entanto, evite ciclos repetidos de aspiração/dispensação.

É altamente recomendável avaliar a qualidade do gDNA para garantir que a amostra de DNA esteja atendendo aos limites de qualidade estabelecidos. Os seguintes equipamentos e materiais de consumo são adequados para o dimensionamento do DNA.

Material de consumo/equipamento (opcional)	Fornecedor
TapeStation	Agilent, Catálogo nº G2991BA ou G2992AA
Análise genômica de DNA	Agilent, Catálogo nº 5067-5366 e 5067-5365
Sistema Femto Pulse	Agilent, Catálogo nº M5330AA
Kit de análise Femto Pulse gDNA 165 kb	Agilent, Catálogo nº FP-1002-0275

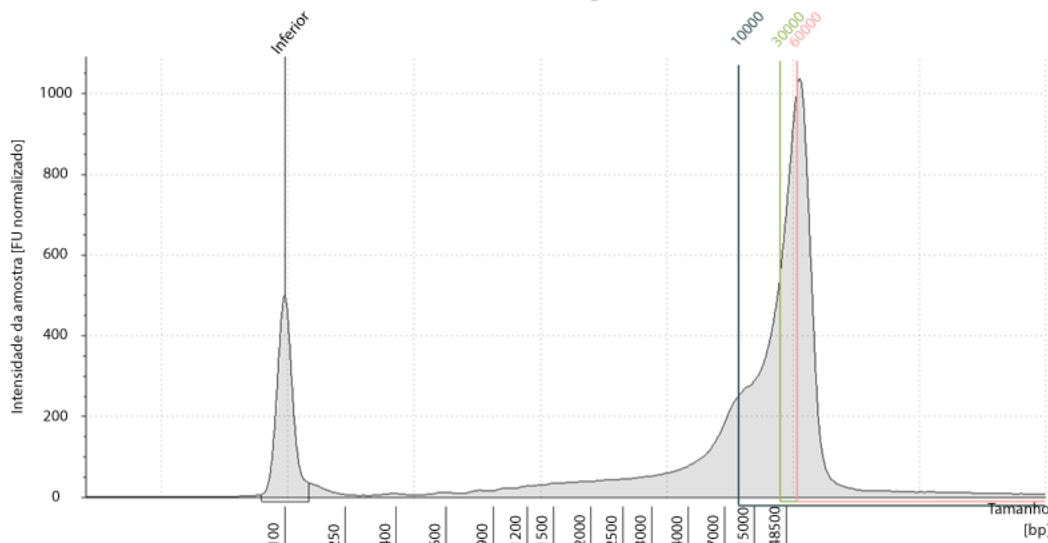
# Protocolo

Esta seção descreve o protocolo TruPath Genome.

## Quantificar o gDNA e avaliar a qualidade

1. Quantifique o DNA usando um fluorômetro Qubit com um kit de dsDNA. A Illumina recomenda o uso de estoque de gDNA inferior a 100 ng/μl para permitir quantificação, avaliação de qualidade e pipetagem altamente precisas ao longo do protocolo. A entrada de carga final alvo é de 350 ng.
2. A Illumina recomenda um DNA para controle de qualidade no TapeStation (fita gDNA) ou no Femto Pulse (kit gDNA de 165 kb). Consulte [Recomendações para entrada de RNA na página 2](#) para obter especificações de qualidade.

Figura 1 Determinação do perfil de tamanho da entrada de gDNA por meio do Agilent TapeStation



## Planejamento de uma execução


Para obter instruções detalhadas sobre como planejar uma execução no BaseSpace Sequence Hub ou preparar uma planilha de amostras, consulte o [TruPath Genome Guia do usuário do software](#).

## Descongelar reagentes de sequenciamento

Para obter instruções detalhadas sobre como descongelar os reagentes, consulte [Documentação do produto NovaSeq X Series \(documento n.º 200027529\)](#).

## Preparação de amostras de DNA

1. Remova TruPath Genome reagentes do kit e descongele-os à temperatura ambiente por 20 minutos.
  - FP1 (faixa azul no rótulo)
  - FT2 (faixa vermelha no rótulo)
  - FTB (faixa transparente no rótulo)
2. Após o descongelamento, armazene os reagentes em gelo por até quatro horas. Devolva os reagentes ao armazenamento no congelador se não forem usados.
3. Pipete o volume total de FTB cinco vezes lentamente e gire brevemente para reduzir usando uma centrífuga de bancada.
4. Certifique-se de que o estoque de DNA seja corretamente descongelado. Pipete cinco vezes lentamente para uma ressuspensão total, especialmente o DNA de HMW. É recomendável usar uma ponta de diâmetro amplo de 200 µl.
5. Retire a tampa da tira de tubo da biblioteca.
6. Por amostra, adicione o seguinte a um único tubo de amostra da tira de tubos da biblioteca na ordem mostrada:

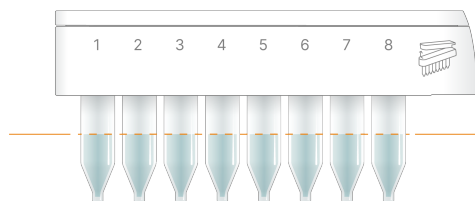
 Certifique-se de que o tubo de amostra corresponda à faixa correta atribuída na planilha de amostras.

Ordem	Reagente	Volume
1	Água livre de nuclease	Variável (volume de estoque de gDNA de 153 µl a 350 ng)
2	FTB	17 µl
3	Estoque de gDNA de 350 ng	Variável (dependendo da concentração de estoque de gDNA)
	Volume total:	170 µl

Por exemplo, se a concentração de estoque de gDNA for de 100 ng/µl, o volume de estoque de gDNA de 350 ng será de 3,5 µl ( $350 \text{ ng} \div 100 \text{ ng}/\mu\text{l}$ ). O volume de água livre de nuclease será de 149,5 µl ( $153 \mu\text{l} - 3,5 \mu\text{l}$  de estoque de gDNA).

7. Defina uma pipeta P200 para 150 µl.
8. Usando uma nova ponta de pipeta por amostra, pipete lentamente cinco vezes para misturar, evitando formar bolhas. Certifique-se de não haver bolsas de ar no fundo. É recomendável usar uma ponta de diâmetro amplo de 200 µl. Não use uma ponta P1000.
9. Tampe a tira de tubo da biblioteca.
10. Opcional Gire a tira de tubo brevemente e certifique-se de não haver bolsas de ar no fundo dos tubos. Consulte [Documentação do produto NovaSeq X Series \(documento n.º 200027529\)](#).

11. Certifique-se de que o volume seja consistente em todos os tubos.



12. Insira a tira de tubo da biblioteca no cartucho de reagente e pressione para baixo. Um clique suave indica que a tira de tubo da biblioteca está no lugar. Certifique-se de que a tira de tubo da biblioteca esteja plana dentro do cartucho.

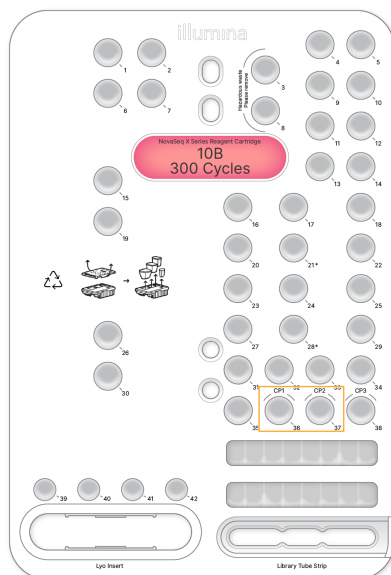
## Carregar reagentes no cartucho

Os volumes de reagentes especificados nas instruções a seguir são os mesmos para os cartuchos 1.5B e 10B.

- ⚠ Não inverta o cartucho de reagente descongelado depois de adicionar FP1 ou FT2. Consulte [Documentação do produto NovaSeq X Series \(documento n.º 200027529\)](#).

1. Com uma ponta de pipeta limpa, perfure o selo de alumínio das posições CP1 e CP2 do cartucho de reagente.

As posições CP1 e CP2 são destacadas na imagem a seguir.



- i** A posição CP3 não é usada para o fluxo de trabalho TruPath Genome.

2. Inverta suavemente a FP1 (faixa azul no rótulo) várias vezes para misturar.
3. Use uma pipeta para transferir 3 ml de FP1 para a posição CP1 do cartucho. O volume de preenchimento completo é de 3 ml. Isso pode ou não usar todo o conteúdo do tubo FP1.
4. Inverta suavemente a FT2 (faixa vermelha no rótulo) várias vezes para misturar.

5. Use uma pipeta para transferir 2,6 ml de FT2 para a posição CP2 do cartucho.  
O volume de preenchimento completo é de 2,6 ml. Isso pode ou não usar todo o conteúdo do tubo FP2.
6. Insira o inserto liofilizado no cartucho de reagentes e pressione para baixo. Um clique audível indica que o inserto liofilizado está no lugar.
7. Continue com o procedimento padrão de carregamento do instrumento. Consulte [Documentação do produto NovaSeq X Series \(documento n.º 200027529\)](#).

## Recursos e Referências

As páginas de suporte no [Illumina site](#) fornecem software, recursos de treinamento, informações de compatibilidade do produto e a seguinte documentação. Verifique sempre as páginas de suporte quanto às versões mais recentes.

### Recursos adicionais

Recurso	Descrição
<a href="#">Documentação do produto NovaSeq X Series</a>	Fornecer informações técnicas para usar a Illumina NovaSeq X Series.
<a href="#">Illumina TruPath Genome Guia do usuário do software</a>	Fornecer informações técnicas para usar o software Illumina TruPath Genome.
<a href="#">TruPath Genome Desempenho com amostras de tipos e qualidade variáveis</a>	Fornecer informações técnicas para uma variedade mais ampla de tipos de amostras com TruPath Genome.
<a href="#">Illumina TruPath Genome Planilha de dados</a>	Fornecer informações técnicas sobre os recursos do TruPath Genome.

### Histórico de revisões

Documento	Data	Descrição da alteração
Documento nº 200065852 v00	Fevereiro de 2026	Versão inicial.



Illumina, Inc.  
5200 Illumina Way  
San Diego, Califórnia 92122, EUA  
+1 (800) 809-ILMN (4566)  
+1 (858) 202-4566 (fora da América do Norte)  
techsupport@illumina.com  
www.illumina.com

**Somente para uso em pesquisa. Não deve ser usado para fins de diagnóstico.**

© 2026 Illumina, Inc. Todos os direitos reservados.

**illumina**<sup>®</sup>