

# Illumina Cell-Free DNA Prep with Enrichment

Schnelle, flexible Lösung zum  
Nachweis von Mutationen mit  
geringer Häufigkeit in cfDNA

- Nachweis seltener Varianten mit Allelfrequenzen von nur 0,2 % anhand von lediglich 20 ng aus Plasma extrahierter cfDNA
- Vorbereitung von sequenzierungsgerechten Bibliotheken anhand vom Anwender bereitgestellter Panels in ca. 8,5–9,5 Stunden mit 2,5–3 Stunden manuellem Aufwand
- Datenanalyse und Varianten-Calling mit hoher analytischer Sensitivität mithilfe der DRAGEN™-Sekundäranalyse
- Benutzerdefinierte Interpretation und Generierung von Forschungsbefunden mit Illumina Connected Insights



## Einleitung

Zirkulierende zellfreie DNA (cfDNA, cell-free DNA) im Plasma hat sich bei Krebserkrankungen, kardiovaskulären Erkrankungen und Organtransplantationen als wichtiger nicht invasiv nachweisbarer Biomarker erwiesen. Im Bereich der Krebsforschung liefert die Sequenzierung von cfDNA aus Liquid-Biopsy-Proben wertvolle Erkenntnisse zur Tumorheterogenität, ermöglicht das Biomarker-Profilung und dient als Ergänzung bzw. Alternative zu Gewebebiopsieproben, wenn Gewebe nicht ohne Weiteres verfügbar ist. Da Plasmaproben in der Regel geringe Mengen an cfDNA aus Zellen von Interesse enthalten, ist für den Nachweis seltener somatischer Varianten ein zuverlässiger und sensitiver Assay erforderlich. Mit festen Genpanels lassen sich Varianten bestimmen. Sie sind jedoch von begrenztem Nutzen für die Untersuchung neuer Targets und die Erfassung von Veränderungen in Genen von Interesse.

Bei Illumina Cell-Free DNA Prep with Enrichment handelt es sich um eine vielseitige Lösung zur Bibliotheksvorbereitung (Tabelle 1), die auf der Leistung von NGS-Technologie (Next-Generation Sequencing, Sequenzierung der nächsten Generation) basiert für die hochgradig sensitive Erkennung von Varianten mit geringer Häufigkeit in cfDNA-Proben.

Tabelle 1: Überblick über Illumina Cell-Free DNA Prep with Enrichment

Parameter	Spezifikation
DNA-Typ	cfDNA aus Plasma oder Vollblut
DNA-Zugabe <sup>a</sup>	10–30 ng
Proben-Multiplexing	192 eindeutige doppelte Indizes
Dublettenkennzeichnung	Nicht zufällige UMIs (Unique Molecular Identifiers, eindeutige molekulare Identifikatoren)
Anreicherungsplexität	1-Plex oder 4-Plex
Unterstützte Sequenziersysteme	NextSeq 550 System NextSeq 2000 System, P3- oder P4-Fließzellen NovaSeq 6000 System oder NovaSeq 6000Dx System (im Forschungsmodus), P3- oder P4-Fließzellen NovaSeq X Series, 1.5B- oder 10B-Fließzellen
Gesamtdauer des Workflows <sup>b</sup>	ca. 8,5–9,5 Stunden <sup>c</sup>
Manueller Aufwand insgesamt	ca. 2,5–3 Stunden

a. Empfohlen wird eine cfDNA-Zugabe von 20 ng.

b. Umfasst die Schritte Bibliotheksvorbereitung, Anreicherung und Normalisierung.

c. Workflow-Zeiten für Einzelstrang- bzw. Doppelstrangsonden.

Diese Lösung aus einer Hand umfasst das Bibliotheksvorbereitungskit, kundenspezifische Panels sowie Illumina-Sequenziersysteme mit mittlerem bis hohem Durchsatz wie beispielsweise die NovaSeq™ X Series. Die Datenanalyse erfolgt mit der DRAGEN for ILMN cfDNA Prep with Enrichment App. Mit Illumina Connected Insights können benutzerdefinierte Analysen und Interpretationen durchgeführt werden.

## Optimierter Workflow

Illumina Cell-Free DNA Prep with Enrichment gehört zu einem integrierten cfDNA-Sequenzierungsworkflow, der sich durch herausragende Leistung und Datenqualität auszeichnet. Der skalierbare Workflow beginnt mit der Extraktion von cfDNA aus Plasma oder Vollblut, gefolgt von der Sequenzierung auf Illumina-Systemen mit mittlerem oder hohem Durchsatz sowie dem hochpräzisen Varianten-Calling mit der DRAGEN for ILMN cfDNA Prep with Enrichment App (Abbildung 1). Diese benutzerfreundliche Lösung zeichnet sich durch eine hohe Leistung bei einem breiten Spektrum von Inhaltsgrößen aus, ist für Liquid-Handling-Systeme geeignet und ermöglicht eine effiziente Skalierung anhand von Proben-Multiplexing.

## Schnelle, flexible Bibliotheksvorbereitung

Bei Illumina Cell-Free DNA Prep with Enrichment handelt es sich um einen ligationsbasierten Assay zur schnellen Bibliotheksvorbereitung mit einem einzigen Hybridisierungsschritt (Abbildung 2). Illumina Cell-Free DNA Prep with Enrichment ist mit Anreicherungsoligonukleotiden von Illumina (vom Anwender bereitzustellen) kompatibel. Erstellen Sie mit dem kostenlosen Online-Tool [DesignStudio™](#) von Illumina anwendungsspezifische Anreicherungspanels basierend auf Ihrer Liste mit Zielgenen. Das DesignStudio-Tool ist mit Einzelstrang-DNA-Anreicherungs sonden (ssDNA, single-stranded DNA) und Doppelstrang-DNA-Anreicherungs sonden der Version 2 (dsDNA, double-stranded DNA) kompatibel. Für eine bessere Übertragbarkeit von Inhalten kann Illumina Cell-Free DNA Prep with Enrichment mit ssDNA-Sonden von Integrated DNA Technologies und dsDNA-Sonden von Twist Bioscience verwendet werden. Das Kit eignet sich für Panelinhalte mit 55–2000 kb ssDNA sowie 70–2.000 kb dsDNA und ermöglicht ein flexibles Studiendesign. Sequenzierungsgerechte Bibliotheken werden in ca. 8,5–9,5 Stunden bei lediglich ca. 2,5–3 Stunden manuellem Aufwand vorbereitet, sodass die Sequenzierung der extrahierten cfDNA innerhalb eines einzigen Tages beginnen kann. Das Kit ist kompatibel mit cfDNA, die mithilfe handelsüblicher säulen- oder beadbasierter Reinigungsmethoden direkt aus peripherem Blut oder Plasma extrahiert wurde, und bietet damit maximale Effizienz und Flexibilität.



Abbildung 1: Von der cfDNA bis zu den Ergebnissen mit einem einzigen Partner: Illumina ermöglicht einen optimierten Workflow für die cfDNA-Sequenzierung von der Bibliotheksvorbereitung über die Sequenzierung bis hin zur Datenanalyse.

a. Die Illumina Connected Insights-Produktlinie ermöglicht benutzerdefinierte Analysen anhand von API-Abfragen (Application Programming Interface, Anwendungsprogrammierschnittstelle) an Datenquellen von Drittanbietern.

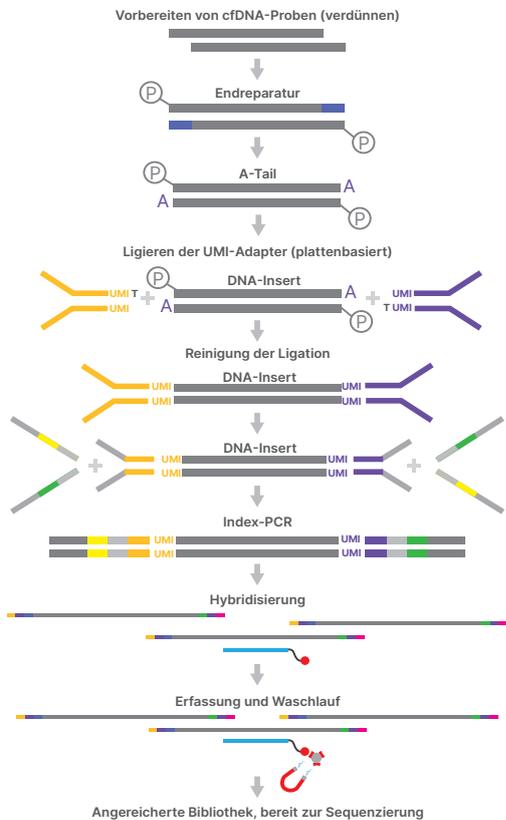


Abbildung 2: Illumina Cell-Free DNA Prep with Enrichment-Chemie: Zunächst werden cfDNA-Fragmente repariert und an nicht zufällige Unique Molecular Identifiers (UMIs) ligiert. Für das Multiplexing werden während der PCR-Amplifikation eindeutige doppelte Indizes integriert. Anschließend werden Bibliotheken mit biotinylierten Sonden in einem einzigen Hybridisierungsschritt in Bezug auf Zielregionen von Interesse angereichert. Angereicherte Bibliotheken werden für die Sequenzierung auf Illumina-Sequenziersystemen mit mittlerem oder hohem Durchsatz amplifiziert und normalisiert.

Für den Nachweis der Eignung von Illumina Cell-Free DNA Prep with Enrichment für unterschiedliche Größen und Formate von Anreicherungspanels wurden Bibliotheken aus 20 ng cfDNA mit kleinen, mittleren oder großen Anreicherungspanels vorbereitet (Tabelle 2). Vorbereitete Bibliotheken wurden auf dem NextSeq™ 550 System, dem NovaSeq 6000 System oder dem NovaSeq X System sequenziert. Die Daten wurden mit der DRAGEN for ILMN cfDNA Prep with Enrichment App in BaseSpace™ Sequence Hub analysiert. Die Ergebnisse zeigen, dass Illumina Cell-Free DNA Prep with Enrichment sich bei durch UMI zusammengefasste Reads durch eine > 1.500-fache Coverage-Tiefe und eine hohe Coverage-Einheitlichkeit auszeichnet, die anhand des Prozentsatzes der Targets mit > 1.000-facher Coverage über Anreicherungspanels mit unterschiedlichen Größen und Formaten hinweg ermittelt wurden (Abbildung 3).

Tabelle 2: Parameter für das Design von Anreicherungspanels

Panel	Größe	Sondenformat	Variantentypen
Klein-A <sup>a</sup>	55 kb	80-bp-ssDNA	SNVs, Indels
Klein-B <sup>a</sup>	180 kb	80-bp-ssDNA	SNVs, Indels
Mittel-A <sup>b</sup>	250 kb	120-bp-dsDNA	SNVs, Indels, Fusionen
Mittel-B <sup>c</sup>	300 kb	80-bp-ssDNA	SNVs, Indels, Fusionen, CNVs
Groß <sup>d</sup>	2.000 kb	80-bp-ssDNA	SNVs, Indels, Fusionen, CNVs

- a. Die Sonden wurden mit einer Überlappung von 20 bp über die codierenden Regionen für Gene von Interesse gerastert.
- b. Die Sonden wurden direkt aneinander anschließend über die codierenden Regionen für Gene von Interesse gerastert. Fusionsbruchpunkte wurden mit überlappenden Sonden bei 2-facher Rasterung anvisiert.
- c. Die Sonden wurden mit einer Überlappung von 20 bp über die codierenden Regionen für Gene von Interesse und Fusionsbruchpunkte gerastert. Für den CNV-Nachweis von Genen mit kleinen CDS-Regionen (z. B. MYC) wurden Sonden bei geringer Dichte intronübergreifend ergänzt.
- d. Anwendungsspezifisches Design mit Optimierung für Nasslabore. SNV = Single Nucleotide Variant (Einzelnukleotid-Variante); Indel = Insertion-Deletion; CNV = Copy Number Variant (Kopienzahlvariante)

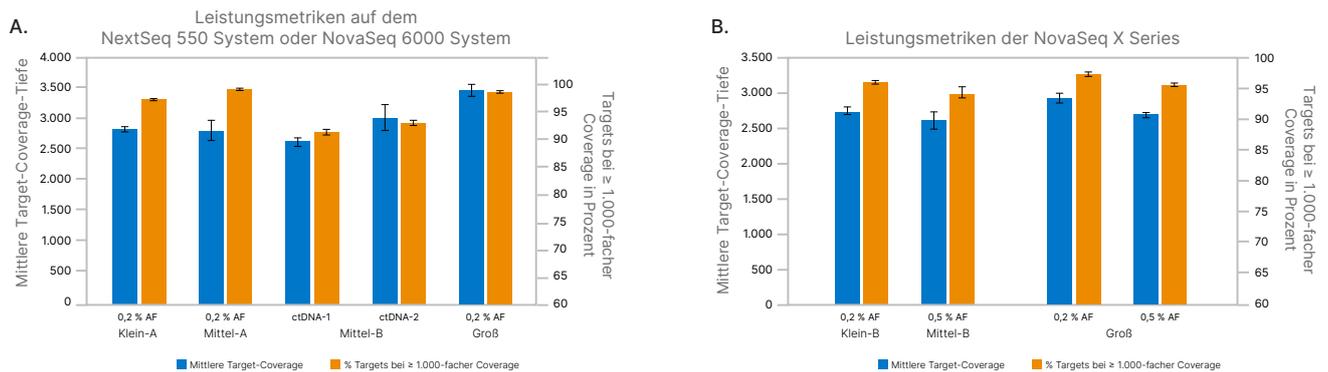


Abbildung 3: Kompatibilität mit einer Reihe von Panelgrößen: Mehrere Bibliotheksreplikate (4–8) wurden aus 20 ng cfDNA aus Plasma, 20 ng cfDNA aus Vollblutproben, versetzt mit SNVs bei einer VAF von 0,2 %, oder 20 ng Seraseq ctDNA Complete Mutation Mix AF0.5% (SeraCare\*, Katalog-Nr. 0710-0531) unter Verwendung von Illumina Cell-Free DNA Prep with Enrichment vorbereitet. Die Daten wurden mit der DRAGEN for ILMN cfDNA Prep with Enrichment App in BaseSpace Sequence Hub analysiert. (A) Die Bibliotheken wurden auf dem NextSeq 550 System (Klein-A-Panel) oder dem NovaSeq 6000 System (Mittel-A-, Mittel-B- und großes Panel) mit einer durchschnittlichen Read-Tiefe von 10 Mio., 46 Mio., 54 Mio. bzw. 450 Mio. Single-Reads für kleine, mittlere bzw. große Panels sequenziert. Das Klein-A- und das Mittel-A-Panel wurden mit ca. 30.000-facher und das große Panel mit ca. 35.000-facher On-Target-Coverage sequenziert. (B) Die Bibliotheken für das Klein-B- und das Mittel-B-Panel wurden auf einzelnen Lanes einer 10B-Fließzelle und die Bibliotheken für das große Panel wurden auf einer 1.5B-Fließzelle des NovaSeq X System sequenziert. Die durchschnittliche Read-Tiefe betrug 32 Mio., 54 Mio. bzw. 340 Mio. Single-Reads für das Klein-B-, das Mittel-B- bzw. das große Panel. Alle Panels wurden mit ca. 30.000-facher On-Target-Coverage sequenziert. \* Seracare gehört zu LGC Diagnostics.

## Sensitive Erkennung von Varianten mit geringer Häufigkeit

Illumina Cell-Free DNA Prep with Enrichment zeichnet sich durch eine verbesserte Bibliotheksvorbereitungsschemie aus, die die Effizienz der Bibliotheksvorbereitung erhöht und den Nachweis von Varianten mit geringer Häufigkeit ermöglicht, die eine Variantenallelfrequenz (VAF) von nur 0,2 % aufweisen. Zum Nachweis der qualitativ hochwertigen Ergebnisse, die sich mit Illumina Cell-Free DNA Prep with Enrichment erzielen lassen, hat Illumina die Fähigkeit zum Calling von Einzelnukleotid-Varianten (SNVs, Single-Nucleotide Variants), Kopienzahlvarianten (CNVs, Copy Number Variations) und Genfusionen in Studien ausgewertet. Mit Illumina Cell-Free DNA Prep with Enrichment vorbereitete Bibliotheken wurden auf dem NextSeq 550 System, dem NovaSeq 6000 System oder dem NovaSeq X System sequenziert. Das Varianten-Calling erfolgte mit der DRAGEN for ILMN cfDNA Prep with Enrichment App in BaseSpace Sequence Hub. Die Ergebnisse belegen die Fähigkeit zum Nachweis von Mutationen mit 0,2 % VAF anhand von lediglich 20 ng cfDNA bei kleinen Varianten mit einer analytischen Sensitivität von mehr als 90 % (Tabelle 3, Abbildungen 4–5) und einer analytischen Spezifität von 99,98 %.

Illumina Cell-Free DNA Prep with Enrichment unterstützt Proben-Multiplexing und wurde hinsichtlich der Recall-Genauigkeit bei SNVs, Insertionen-Deletionen (Indels), CNV- und Genfusionen für mit 1-Plex und 4-Plex angereicherte Bibliotheken verifiziert (Abbildungen 5–7).

Tabelle 3: Hochpräzise Erkennung von Varianten mit geringer Häufigkeit

Variantentyp	Analytische Sensitivität <sup>a</sup>
Kleine Varianten (0,2 % VAF)	$\geq 90 \%$
Indels (0,5 % VAF)	$\geq 90 \%$
Genamplifikationen (Fold-Change von 1,3)	$\geq 95 \%$
Gendeletionen (Fold-Change von 0,6)	$\geq 95 \%$
Genrearrangements (0,5 % VAF)	$\geq 95 \%$

a. Die analytische Sensitivität ist die Erkennungsrate in Prozent bei der angegebenen Variantenkonzentration.

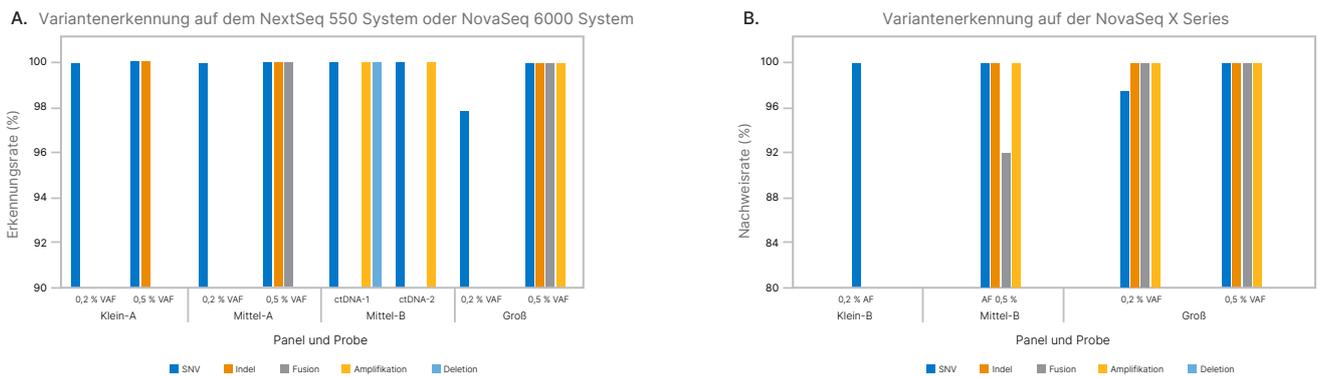


Abbildung 4: Variantennachweis bei niedriger VAF: Illumina Cell-Free DNA Prep with Enrichment-Bibliotheken wurden mit 20 ng cfDNA aus Plasma, 20 ng cfDNA aus Vollblutproben, die mit SNVs mit einer VAF von 0,2 % versetzt wurden, oder mit 20 ng cfDNA aus Seraseq ctDNA Complete Mutation Mix AF0.5% (SeraCare, Katalog-Nr. 0710-0531) vorbereitet. Das Varianten-Calling erfolgte mit der DRAGEN für ILMN cfDNA Prep with Enrichment App in BaseSpace Sequence Hub. (A) Die vorbereiteten Bibliotheken wurden auf dem NextSeq 550 System (55 kb ssDNA Klein-A-Panel) oder dem NovaSeq 6000 System (250 kb Mittel-A-, 300 kb Mittel-B- und 2.000 kb großes Panel) mit einer durchschnittlichen Read-Tiefe von 10 Mio., 46 Mio., 54 Mio. bzw. 450 Mio. Single-Reads für kleine, mittlere bzw. große Panels sequenziert. Klein-A-, Mittel-A- und Mittel-B-Panel wurden mit ca. 30.000-facher und das große Panel mit ca. 35.000-facher On-Target-Coverage sequenziert. (B) Die Bibliotheken für das Klein-B- und das Mittel-B-Panel wurden auf einzelnen Lanes einer 10B-Fließzelle und die Bibliotheken für das große Panel wurden auf einer 1.5B-Fließzelle des NovaSeq X System sequenziert. Die durchschnittliche Read-Tiefe betrug 32 Mio., 54 Mio. bzw. 340 Mio. Single-Reads für das Klein-B-, das Mittel-B- bzw. das große Panel. Alle Panels wurden mit ca. 30.000-facher On-Target-Coverage sequenziert.

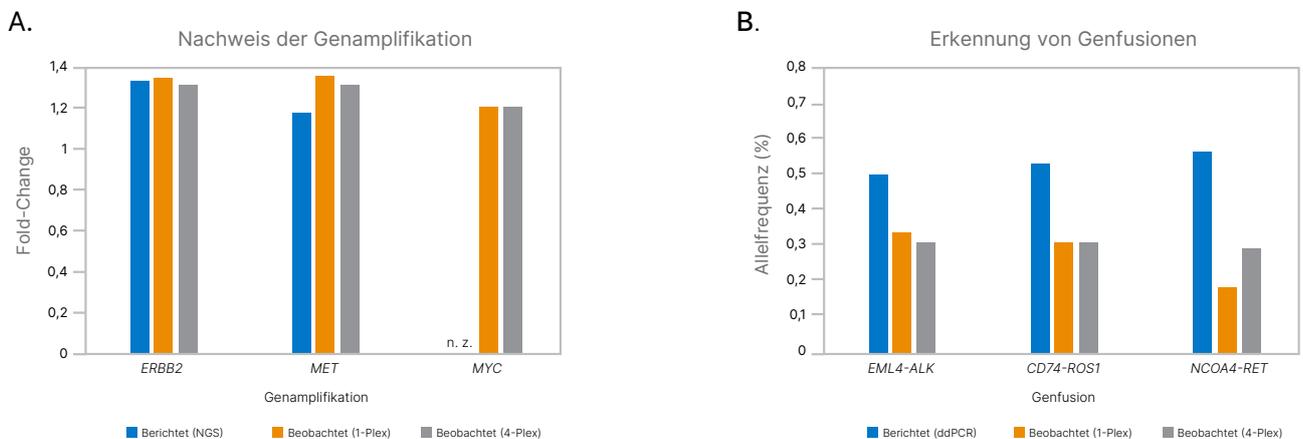


Abbildung 5: Nachweis von Genamplifikationen und Genfusionen mit geringer Häufigkeit: Illumina Cell-Free DNA Prep with Enrichment zeigt eine ausgezeichnete Leistung beim Nachweis von Genamplifikationen (A) und Genfusionen (B) sowohl bei mit 1-Plex als auch mit 4-Plex angereicherten Bibliotheken mit anwendungsspezifischen Inhalten. Die Bibliotheken wurden aus 20 ng cfDNA aus Seraseq ctDNA Complete Mutation Mix AF-0.5% (SeraCare, Katalog-Nr. 0710-0531) vorbereitet. Vier Bibliotheken wurden einzeln mit einem 80-bp-ssDNA-Panel mit einer Größe von 2.000 kb (1-Plex) angereichert. Die gleichen vier Bibliotheken wurden mit demselben Panel im Multiplex-Format (4-Plex) erneut angereichert. Die Bibliotheken wurden auf dem NovaSeq 6000 System mit einer durchschnittlichen Read-Tiefe von 400 Mio. Single-Reads ( $\geq 35.000$ -fache On-Target-Coverage) sequenziert. Die Daten wurden mit der DRAGEN für ILMN cfDNA Prep with Enrichment App in BaseSpace Sequence Hub analysiert. Die drei Genamplifikationen und Fusionen in der Referenzprobe wurden in allen Replikaten von mit 1-Plex und 4-Plex angereicherten Bibliotheken beim angegebenen Fold-Change und der entsprechenden Allelfrequenz nachgewiesen. Abweichungen bei der VAF für Fusionen werden auf Unterschiede zwischen Testmethoden zurückgeführt. Hinweis: SeraCare verifiziert die MYC-Genamplifikation nicht mit NGS-Methoden.

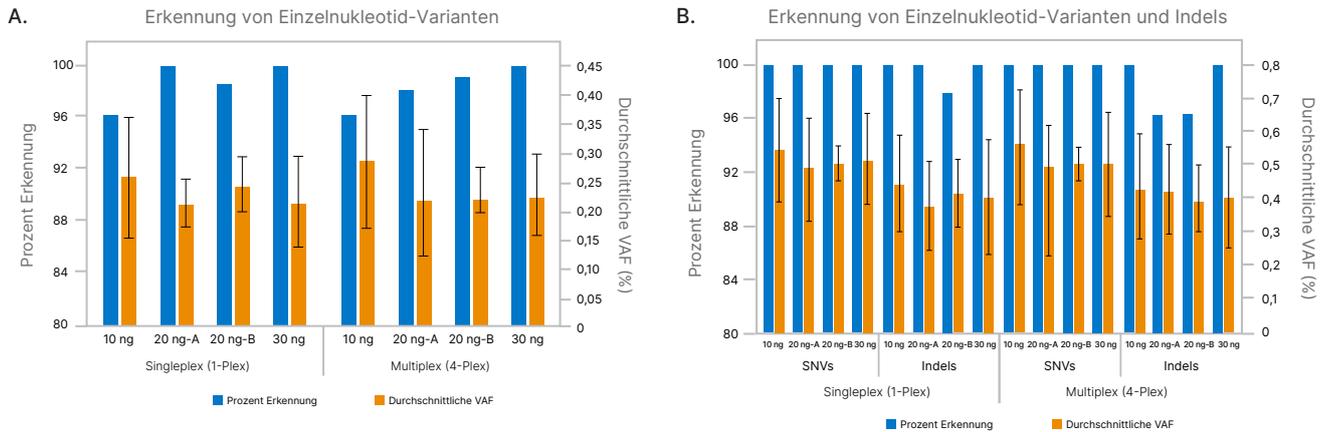


Abbildung 6: Sensitiver Variantennachweis von mit 1-Plex und 4-Plex angereicherten Bibliotheken: Illumina Cell-Free DNA Prep with Enrichment-Bibliotheken wurden aus cfDNA-Proben (10 ng, 20 ng oder 30 ng) vorbereitet, die mit SNVs bei 0,2 % VAF (A) oder 0,5 % VAF (B) mit cfDNA aus Seraseq ctDNA Complete Mutation Mix AF-0.5 % (SeraCare, Katalog-Nr. 0710-0531) versetzt wurden. Vier Bibliotheken wurden einzeln mit einem 80-bp-ssDNA-Panel mit einer Größe von 180 kb (10 ng, 20 ng-A und 30 ng) bzw. einem 80-bp-dsDNA-Panel mit einer Größe von 180 kb (20 ng-B) für das Singleplex-Format (1-Plex) angereichert. Die gleichen vier Bibliotheken wurden mit demselben Panel für das Multiplex-Format (4-Plex) erneut angereichert. Die Bibliotheken wurden auf dem NextSeq 550 System mit einer durchschnittlichen Read-Tiefe von 33 Mio. Single-Reads ( $\geq 30.000$ -fache On-Target-Coverage) sequenziert. Datenanalyse und Varianten-Calling erfolgten mit der DRAGEN for ILMN cfDNA Prep with Enrichment App in BaseSpace Sequence Hub.

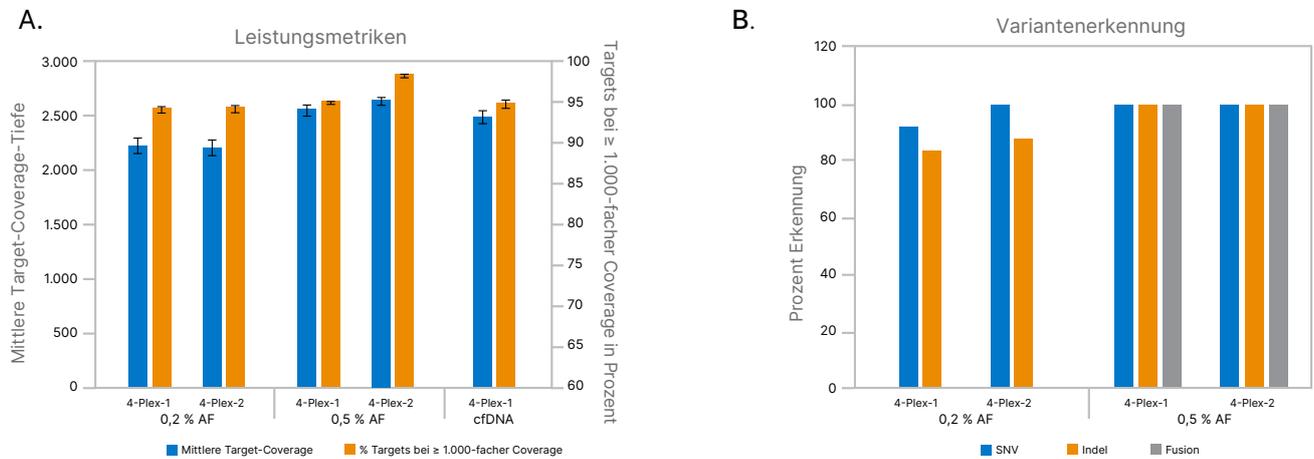


Abbildung 7: Kompatibilität von mit 4-Plex angereicherten Bibliotheken mit der NovaSeq X Series: Illumina Cell-Free DNA Prep with Enrichment-Bibliotheken wurden mit 20 ng cfDNA von gesunden Spendern (cfDNA), mit cfDNA, versetzt mit SNVs mit einer VAF von 0,2 % (0,2 % AF), oder mit Seraseq ctDNA Complete Mutation Mix AF-0.5% (0,5 % AF) vorbereitet. Die Bibliotheken wurden mit IDT für Illumina UMI DNA/RNA UD Indexes (0,2 % AF und cfDNA) oder Illumina UMI DNA/RNA UD v3 indexes (0,5 % AF) indiziert und nach dem 4-Plex-Anreicherungsformat mit einem 250-kb-Panel mit 120 bp dsDNA angereichert. Die Bibliotheken wurden auf einer 1.5B-Fließzelle des NovaSeq X System mit einer durchschnittlichen Read-Tiefe von 46 Mio. Single-Reads (ca. 30.000-fache On-Target-Coverage) sequenziert. Bibliotheksleistungsmetriken (A) und Varianten-Calling-Analyse für erwartete Varianten (B) wurden mit der DRAGEN for ILMN cfDNA Prep with Enrichment App in BaseSpace Sequence Hub durchgeführt.

## Optimale Leistungsfähigkeit auf den Sequenziersystemen von Illumina

Um die hervorragende Leistung von Illumina Cell-Free DNA Prep with Enrichment auf Illumina-Systemen mit mittlerem und hohem Durchsatz zu demonstrieren, wurden vorbereitete Bibliotheken auf mehreren Illumina-Systemen angereichert und sequenziert. Die robuste und unkomplizierte Illumina Cell-Free DNA Prep with Enrichment-Lösung liefert auf sämtlichen Illumina-Sequenziersystemen zuverlässige Ergebnisse und bietet bei durch UMI zusammengefassten Reads eine mehr als 1.500-fache Coverage-Tiefe und eine hohe Coverage-Einheitlichkeit, die anhand des Prozentsatzes der Targets mit mehr als 1.000-facher Coverage ermittelt wurden (Abbildung 8A). Eine hohe Variantenerkennungsrate wurde für alle Variantentypen über die verschiedenen Sequenziersysteme hinweg erreicht (Abbildung 8B).

## Integrierte Datenanalyse

Die DRAGEN for ILMN cfDNA Prep with Enrichment App gewährleistet anhand von beschleunigten, vollständig integrierten Bioinformatikalgorithmen eine optimale Assayleistung. Die Software führt eine Fehlerkorrektur auf Basis von UMI, das Sequenz-Alignment und das Calling somatischer Varianten für kleine Varianten, CNVs und Genfusionen durch. Die DRAGEN for ILMN cfDNA Prep with Enrichment App wird lokal auf einem Illumina

DRAGEN Server v4.0.3 der Phase 4 oder auf dem NovaSeq 6000Dx System (im Forschungsmodus) ausgeführt. Die Analysepipeline kann auch als Cloudanwendung auf BaseSpace Sequence Hub ausgeführt oder über die sichere Genomik-Cloudplattform Illumina Connected Analytics (ICA) aufgerufen werden, wodurch höhere Kapazitäten für die Sekundäranalyse bereitstehen, ohne dass lokale Infrastruktur erworben und gewartet werden muss.

Die integrierte Analysepipeline bietet Anwendern die Flexibilität, ihre Daten anhand der Panels zu analysieren, die für die Target-Anreicherung verwendet werden, mit Optionen zum Alignment der Sequenzierungsdaten anhand von hg19 oder hg38, und ermöglicht die Durchführung spezifischer Analysen und die Abstimmung von Workflows auf Forschungsziele. Das standortspezifische Rauschen lässt sich anhand vom Anwender bereitgestellter Rauschdateien herausfiltern, was den Nachweis kleiner Varianten verbessert. Mit der Software können Anwender zudem klonale Hämatopoesevarianten kennzeichnen, beim Calling kleiner Varianten bestimmte Regionen ausschließen, ein genaues CNV-Calling durchführen und somatische Hotspots anhand einer anwendungsspezifischen somatischen Hotspotdatei mit hoher analytischer Sensitivität nachweisen oder alternativ die integrierten somatischen DRAGEN-Hotspotregionen verwenden. Anwender, die auf die DRAGEN for ILMN cfDNA Prep with Enrichment App in der Cloud zugreifen, profitieren von weiteren Optionen zur Optimierung ihrer Analyse, anhand derer sich die Schwellenwerte für das UMI-Collapsing und das Calling kleiner Varianten ändern lassen.

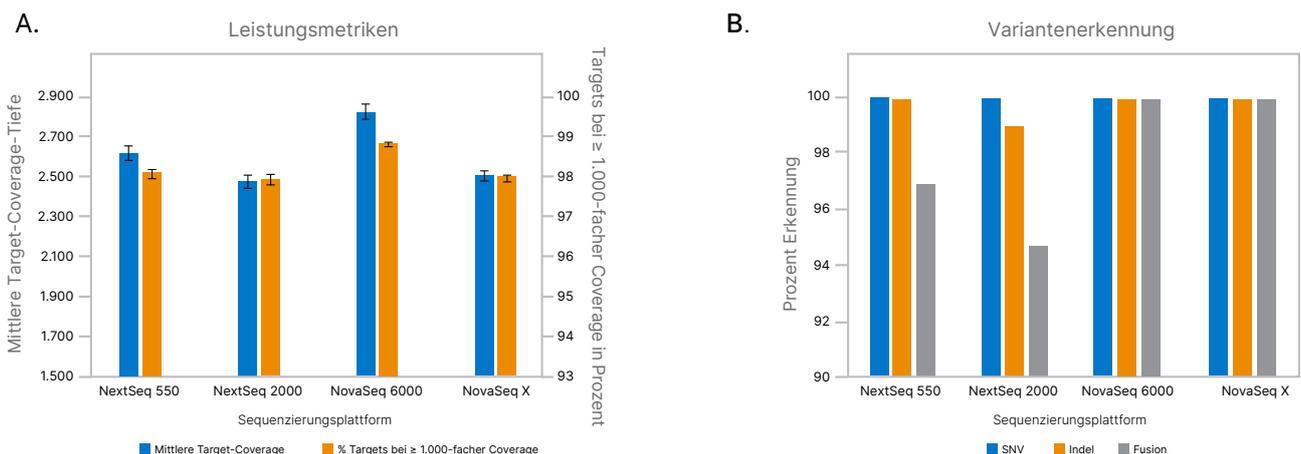


Abbildung 8: Kompatibilität mit Illumina-Systemen mit mittlerem und hohem Durchsatz: Die Illumina Cell-Free DNA Prep with Enrichment-Bibliotheken wurden mit 20 ng cfDNA aus Seraseq ctDNA Complete Mutation Mix AF-0.5% (SeraCare, Katalog-Nr. 0710-0531) und mit einem 120-bp-dsDNA-Panel mit einer Größe von 250 kb vorbereitet. Die Bibliotheken wurden auf dem NextSeq 550 System, dem NextSeq 2000 System, dem NovaSeq 6000 System bzw. dem NovaSeq X System mit einer durchschnittlichen Lesetiefe von 46 Mio. Single-Reads und  $\geq 30.000$ -facher On-Target-Coverage sequenziert. Es wurden acht Bibliotheken für den Lauf auf dem NextSeq 550 System, 25 Bibliotheken für den Lauf auf dem NextSeq 2000 System, 51 Bibliotheken für den Lauf auf einer Lane der S4-Fließzelle auf dem NovaSeq 6000 System sowie 27 Bibliotheken auf einer einzelnen Lane einer 10B-Fließzelle auf dem NovaSeq X System gepoolt. Datenanalyse und Varianten-Calling erfolgten mit der DRAGEN for ILMN cfDNA Prep with Enrichment App in BaseSpace Sequence Hub.

Labore können Illumina Connected Insights für benutzerdefinierte Interpretationen und Analysen verwenden. Varianten-Calling-Dateien, die lokal oder in der Cloud mit DRAGEN in Illumina Connected Analytics generiert wurden, können automatisch in Illumina Connected Insights eingelesen werden. In Kombination mit der Integration des Sequenziersystems und den Autolaunch-Funktionen von Illumina Connected Analytics kann der Analyse-Workflow vollständig automatisiert werden, sodass keine manuellen Eingriffe erforderlich sind. Dadurch wird der Workflow von der Sequenzierung bis zu den Erkenntnissen und der Erstellung des Befunds optimiert.

## Für die Automatisierung geeigneter Workflow

Illumina Cell-Free DNA Prep with Enrichment eignet sich für die Automatisierung der Bibliotheksvorbereitung mithilfe von Liquid-Handling-Systemen, sodass Labore den Durchsatz je nach Anforderungen anpassen können. Mit einem automatisierten Workflow profitieren Labore von einer hochgradig reproduzierbarer Probenhandhabung, konsistenten Ergebnissen und höherer Effizienz. Außerdem ermöglicht die Automatisierung die schnelle Skalierung des Durchsatzes, ohne dass zusätzlicher manueller Aufwand erforderlich ist. Weitere Effizienzsteigerungen lassen sich durch die Einführung von Illumina Qualified Methods erzielen, die von unseren Automatisierungspartnern erhältlich\* sind und von Illumina hinsichtlich Leistung und Datenqualität überprüft werden.

\* Illumina Qualified Methods sind ab erstem Halbjahr 2025 verfügbar.

## Verbesserte Produktmerkmale

Illumina sichert mit herausragendem Service und Support den Erfolg von Laboren. Für eine höhere Effizienz bietet Illumina Cell-Free DNA Prep with Enrichment folgende Funktionen:

- **Längere Haltbarkeit:** Die garantierte Mindesthaltbarkeit von Illumina Cell-Free DNA Prep with Enrichment-Reagenzien wurde auf sechs Monate verlängert, wodurch das Risiko eines Verfalls des Produkts verringert wird und Labore Reagenzien gemäß dem aktuellen Testaufkommen einsetzen können.
- **Erweiterte Änderungsbenachrichtigung:** Illumina benachrichtigt Labore sechs Monate bevor wesentliche Änderungen an einem Produkt im Illumina Cell-Free DNA Prep with Enrichment Kit vorgenommen werden.

## Zusammenfassung

Bei Illumina Cell-Free DNA Prep with Enrichment handelt es sich um eine vielseitige Lösung aus einer Hand für die Bibliotheksvorbereitung, die für niedrige Zugabemengen aus Plasmaproben extrahierter cfDNA optimiert ist. Die anwenderfreundliche Lösung eignet sich für eine Reihe von Panelgrößen und ist mit Anreicherungspanels von Illumina oder Drittanbietern kompatibel, was Flexibilität hinsichtlich der Inhalte bietet. Die Illumina Cell-Free DNA Prep with Enrichment-Lösung ermöglicht in Forschungsanwendungen den Nachweis mit geringer Häufigkeit auftretender somatischer Varianten mit außergewöhnlicher analytischer Sensitivität. Die leistungsstarke Illumina Cell-Free DNA Prep with Enrichment-Lösung bietet in Kombination mit der Sequenzierung auf leistungsstarken Illumina-Sequenziersystemen und beschleunigter Datenanalyse für die cfDNA-Sequenzierung einen hochwertigen Workflow von der Probenverarbeitung bis hin zur Datenanalyse von einem einzigen zuverlässigen Partner.

## Weitere Informationen

[Illumina Cell-Free DNA Prep with Enrichment](#)

[Illumina Connected Insights](#)

## Bestellinformationen

Produkt	Katalog-Nr.
Illumina Cell-Free DNA Prep, Ligation (16 samples)	20104105
Illumina Cell-Free DNA Prep, Ligation (96 samples)	20104106
Illumina Cell-Free DNA Prep, Enrichment (16 reactions)	20104107
Illumina Cell-Free DNA Prep with Enrichment, Ligation (192 samples, 4-plex)	20104103
Illumina Cell-Free DNA Prep with Enrichment, Ligation (192 samples, 4-plex) On-premises	20104104
Illumina Custom Enrichment Panel v2 (32 µl, 120-bp)	20073953
Illumina Custom Enrichment Panel v2 (384 µl, 120-bp)	20073952

Produkt	Katalog-Nr.
Illumina Custom Enrichment Panel v2 (1536 µl, 120-bp)	20111339
IDT for Illumina UMI DNA/RNA UD Indexes Set A, Ligation (96 Indexes, 96 Samples)	20034701
IDT for Illumina UMI DNA/RNA UD Indexes Set B, Ligation (96 Indexes, 96 Samples)	20034702
IDT for Illumina UMI DNA/DNA Index Anchors Set A for Automation	20066404
IDT for Illumina UMI DNA/DNA Index Anchors Set B for Automation	20063213
Illumina UMI DNA/RNA UD v3 indexes Set A, Ligation (96 indexes, 96 samples)	20126235
Illumina UMI DNA/RNA UD v3 indexes Set B, Ligation (96 indexes, 96 samples)	20126237
Illumina Connected Insights—Genome Equivalent Sample—VCF	20090138
Illumina Connected Insights Starter Implementation Package	20071787
Illumina Connected Insights Expanded Implementation Package	20071787 (je nach Umfang)



1 800 8094566 (USA, gebührenfrei) | +1 858 2024566 (Tel. außerhalb der USA)  
 techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2024 Illumina, Inc. Alle Rechte vorbehalten. Alle Marken sind Eigentum von Illumina, Inc. bzw. der jeweiligen Inhaber.  
 Spezifische Informationen zu Marken finden Sie unter [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html).  
 M-GL-02096 DEU v3.0