

Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment

Gezielte, konsistente
Exom-Ergebnisse von
einem einzigen Partner

- Kostengünstige Exom-Coverage mit einem gezielten, umfassenden und aktuellen Panel
- Einfach zu handhabendes, für die Automatisierung geeignetes Bibliotheksvorbereitungskit mit ausreichenden Komponenten
- Hochwertige Lösung und Unterstützung für den gesamten Workflow

illumina[®]

Umfassende Exomsequenzierung mit einem einzigen zuverlässigen Partner

ILLUMINA DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment liefert mit herausragender Leistung und Datenqualität kostengünstig Ergebnisse bei der Human-Exomsequenzierung (WES, Whole-Exome Sequencing). Die anwenderfreundliche Lösung zur Bibliotheksvorbereitung und Anreicherung ist Teil eines Komplet workflows von den Proben bis zum Bericht (Abbildung 1). ILLUMINA DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment nutzt genomische DNA (gDNA) – oder die direkte Zugabe von Blut bzw. Speichel* – als Ausgangsmaterial und vereint die schnelle Bibliotheksvorbereitung auf Basis von On-Bead-Tagmentierungsschemie sowie die nachfolgende Exomanreicherung mit hybrider Erfassung (Abbildung 2).¹ Die ILLUMINA DNA Prep with Enrichment-Chemie eignet sich für die integrierte Normalisierung hochwertiger DNA-Zugaben (≥ 50 ng), was ein einfaches volumenbasiertes Pooling für die Hybridisierung ermöglicht und gleichmäßige Sequenzierungsergebnisse bei angereicherten Exombibliotheken jeder Art liefert. Die Hochleistungssequenzierung auf ILLUMINA-Geräten und die preisgekrönte Datenanalyse mit der DRAGEN™ Bio-IT Plattform vervollständigen den WES-Workflow.² Zur Bestimmung genetischer Erkrankungen nutzt die ILLUMINA Connected Insights - Germline-Plattform XAI (Explainable Artificial Intelligence) und Automatisierung zur Optimierung von Auswertung und Berichterstellung bei Exom-Panels.

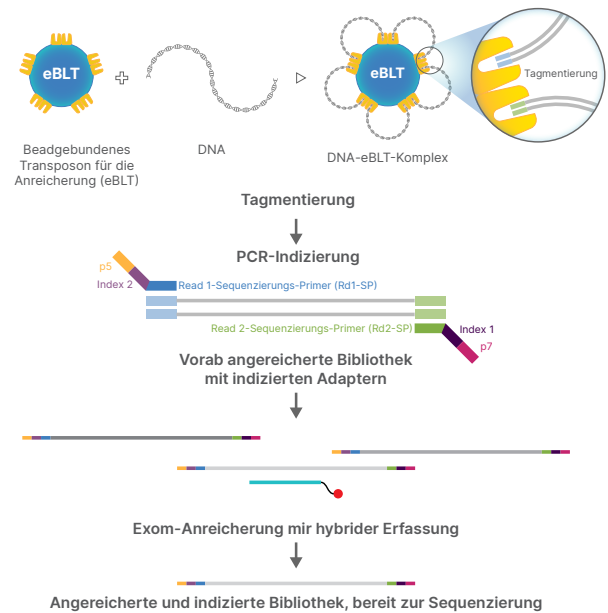


Abbildung 2: Optimierte Bibliotheksvorbereitung mit Exomanreicherung auf Basis von Tagmentierung: eBLT (Enrichment Bead-Linked Transposomes, beadgebundene Transposomen zur Anreicherung) sorgen für eine einheitliche Tagmentierungsreaktion mit hoher Toleranz gegenüber schwankenden Zugabemengen bei den DNA-Proben.¹ Nach der Anreicherung mit Hybriderfassung sind die Exombibliotheken bereit für die Sequenzierung.



Abbildung 1: Von den Proben bis zur Berichterstellung mit einem einzigen Partner: ILLUMINA ermöglicht den kompletten Workflow für Exomsequenzierungsprojekte. Nutzen Sie gDNA (oder direkt aus Blut oder Speichel extrahierte DNA) als Ausgangsmaterial und bereiten Sie Bibliotheken mit ILLUMINA DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment vor. Führen Sie die Sequenzierung entsprechend den Anforderungen an Umfang und Durchsatz auf dem System NovaSeq™ 6000, NextSeq™ 2000, NextSeq 1000 oder NextSeq 550 durch. Nach der Sequenzierung folgen die genaue, schnelle Sekundäranalyse sowie das Varianten-Calling mit der DRAGEN Enrichment App. Bei genetischen Erkrankungen ermöglicht ILLUMINA Connected Insights - Germline die intuitive Auswertung und Berichterstellung.

* Für die direkte Verwendung von Blut und Speichel ist das Flex Lysis Reagent Kit erforderlich. Die gezeigten Daten wurden anhand von extrahierter gDNA gewonnen (nicht aus Blut oder Speichel). Die Leistung bei Verwendung von Blut und Speichel hängt von der jeweiligen Probenqualität ab.

Kosteneffektive, umfassende Coverage krankheitsassoziiierter Varianten in öffentlichen Datenbanken

ILLUMINA DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment basiert auf einem gezielten, umfassenden und aktuellen Exomanreicherungs-Panel. Das im Kit enthaltene Twist Bioscience® for Illumina Exome 2.0 Plus Panel ist kompakter als das Illumina Exome Panel und zeichnet sich durch eine verbesserte Zielregion-Coverage bei in öffentlichen Datenbanken enthaltenen Varianten aus (Tabelle 1 und Tabelle 2). Diese gezielte Coverage sorgt für eine kosteneffektive WES-Lösung mit einer optimalen Anzahl von Proben pro Sequenzierungslauf (Tabelle 3).

Das Twist Bioscience for Illumina Exome 2.0 Plus Panel deckt CDS (Curated Coding Sequences, kuratierte Codierungssequenzen) aus RefSeq, Consensus Coding Sequence (CCDS), American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) sowie dem Cancer Gene Census aus dem Catalog of Somatic Mutations in Cancer (COSMIC) und aus Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) (Tabelle 1) mit herausragender Coverage pathogener und wahrscheinlich pathogener Varianten ab, die in den Datenbanken ClinVar und ACMG enthalten sind (Tabelle 2).³⁻⁹

Tabelle 1: Twist Bioscience for Illumina Exome 2.0 Plus Panel – höhere Zielregion-Coverage und kosteneffektiver Umfang

Exom-Panel	Twist Bioscience for Illumina Exome 2.0 Plus Panel	Illumina Exome Panel
Größe	37,5 Mb	42,21 Mb
RefSeq CDS ³	99,1 %	98,2 %
CCDS CDS ⁴	99,9 %	99,5 %
ACMG 73-Gene, CDS ⁵	99,9 %	99,3 %
COSMIC Cancer Gene Census CDS ^{6,7}	99,9 %	99,3 %
OMIM ⁸	99,1 %	97,7 %

Tabelle 2: Klinische Forschung: zielgerichtete Inhalte des Twist Bioscience for Illumina Exome 2.0 Plus Panel

CDS pathogener/wahrscheinlich pathogener Varianten in ClinVar ^{a,9}	98,6 %
CDS pathogener/wahrscheinlich pathogener Varianten in ACMG 73 ^{b,5}	99,9 %

- a. Das öffentliche ClinVar-Archiv liefert Angaben zu Beziehungen zwischen Variationen und Phänotypen bei Menschen sowie die entsprechende Evidenz. Pathogene/wahrscheinlich pathogene Varianten werden auf der Grundlage der ClinVar-Klassifizierungsrichtlinien angegeben.
- b. Bei den pathogenen/wahrscheinlich pathogenen Varianten in ACMG handelt es sich um die Varianten, die sowohl in den gelisteten Codierungssequenzen der ACMG-Gene als auch in den pathogenen/wahrscheinlich pathogenen Varianten in ClinVar enthalten sind.

Tabelle 3: Geschätzte Anzahl der angereicherten Exome 2.0 Plus-Bibliotheken pro Fließzelle und Sequenziersystem^a

Angestrebte mittlere Target-Coverage-Tiefe	NextSeq 550-System ^b		NextSeq 2000-System		NovaSeq 6000-System			
	Mid-output	High-output	P2 ^c	P3	SP	S1	S2	S4
50×	6	19	19	57	34	69	176	428 ^d
100×	3	9	9	28	17	34	88	214
200×	1	4	4	14	8	17	45	109

- a. Die Schätzungen basieren auf einer Read-Länge von 2 × 101 bp, die auf der Grundlage typischer interner Versuche berechnet wurde. Die Anzahl der Proben kann in Abhängigkeit vom Workflow, von der Qualität der zugegebenen Proben bzw. Bibliotheken und von den tatsächlichen Sequenzierungsergebnissen der einzelnen Plattformen und Fließzellen variieren. Die tatsächlichen Daten wurden auf dem NovaSeq 6000-System mit S4-Fließzellen erfasst und auf andere Geräte und Fließzellen extrapoliert.
- b. NextSeq 550-Reagenzien-Kits unterstützen Read-Längen von 2 × 150 bp.
- c. Für das NextSeq 1000-System sind ebenfalls P2-Fließzellen mit demselben Probendurchsatz verfügbar.
- d. Für das Pooling so vieler angereicherter Bibliotheken sind zusätzliche Indizes erforderlich.

Sequenzierungsdaten von Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment zeigen eine herausragende Coverage-Konsistenz mit einem hohen Prozentsatz an mit mindestens 20-facher Sequenzierungstiefe erfassten Targets bei einer Ausgabe von 5 Gb und zwei unterschiedlichen Hybridisierungszeiten für die Anreicherung (Abbildung 3).

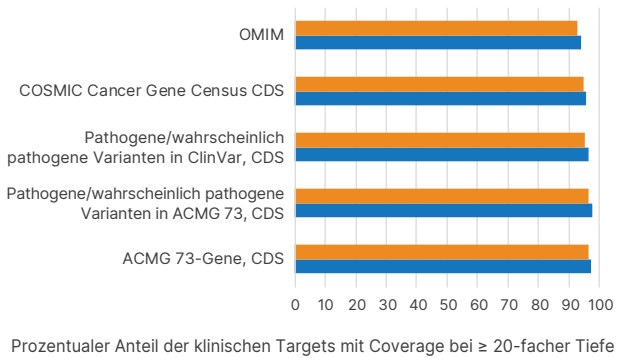


Abbildung 3: Weitreichende, umfassende Coverage in öffentlichen Datenbanken enthaltener krankheitsassoziierter Varianten: Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment zeigt mit einer Hybridisierungsdauer von 1,5 Stunden (orangefarben) oder 16 Stunden (blau) einen hohen Prozentsatz für die durchschnittliche Coverage mit $\geq 20\times$ für in öffentlichen Datenbanken wie ACMG, ClinVar, OMIM und COSMIC enthaltene Targets.⁵⁻⁹

Hohe Leistung bei hoher Qualität

Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment zeigt eine herausragende Leistung als Assay für die Anreicherung. Die Daten wurden mit dem Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment Kit und dem darin enthaltenen Twist Bioscience for Illumina Exome 2.0 Plus Panel mit einer Hybridisierungsdauer von 1,5 bzw. 16 Stunden generiert. Zum Vergleich wurde der Assay unter Verwendung desselben Protokolls auch mit dem ursprünglichen Illumina Exome Panel durchgeführt. Unterschiede bestanden lediglich in der 1,5-stündigen Hybridisierung und der Verringerung der Waschttemperaturen aufgrund der Verwendung kürzerer Sonden auf 58 °C (gekennzeichnet mit „IEP 1,5 h“ in Abbildung 4 und Abbildung 5).

Die Leistungsmetriken der DRAGEN Enrichment App und der Picard-Pipeline¹⁰ zeigen einen optimalen Prozentsatz mappbarer Reads, On-Target-Reads (basierend auf dem Prozentsatz der eindeutigen alignierten Reads nach Filterung, dem Prozentsatz der Anreicherung eindeutiger Reads mit Auffüllung und dem Prozentsatz der Anreicherung eindeutiger Basen mit Auffüllung) und eine hervorragende mittlere Target-Coverage für Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment mit Twist Bioscience for Illumina Exome 2.0 Plus-Sonden (Abbildung 4).

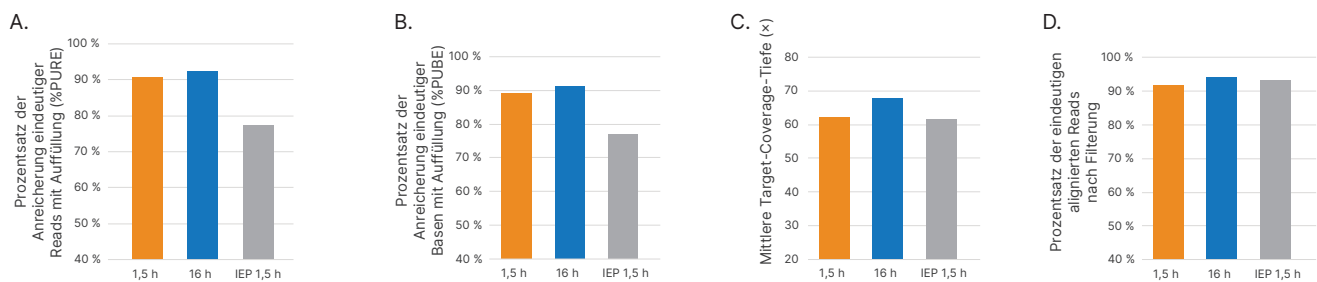


Abbildung 4: Herausragende Leistung von Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment als Assay für die Anreicherung: Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment mit einer Hybridisierungsdauer von 1,5 Stunden (orangefarben) oder 16 Stunden (blau) zeigt im Vergleich zum Illumina Exome Panel (IEP 1,5 h, grau) eine robuste Leistung. DRAGEN-Metriken: (A) Prozentsatz der Anreicherung eindeutiger Reads mit Auffüllung (% PURE, 150 bp Auffüllungsvolumen); (B) Prozentsatz der Anreicherung eindeutiger Basen mit Auffüllung (% PUBE, 150 bp Auffüllungsvolumen); und (C) mittlere Target-Coverage-Tiefe. Picard-Metriken: (D) Prozentsatz der eindeutigen alignierten Reads nach Filterung. Die angereicherten Bibliotheken wurden auf dem NovaSeq 6000-System unter Verwendung einer S4-Fließzelle mit einer Ausgabeleistung von 5 Gb (50 Mio. Paired-End-Reads, 25 Mio. Cluster) und Readlängen von 2×101 bp sequenziert.

Tiefe und Einheitlichkeit der Coverage

Eine zusätzliche Analyse zeigt die hervorragende Einheitlichkeit der Coverage von Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment im Vergleich zum Illumina Exome Panel (Abbildung 5). Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment gewährleistet eine gleichmäßige Coverage bei einem hohen Prozentsatz von Basen mit 20-facher oder höherer Read-Tiefe sowie einen niedrigen Fold-80-Basenabzug und einen geringen Prozentsatz von Targets ohne Coverage.

Die gleichbleibende Leistung bei der 1,5-stündigen und der 16-stündigen Hybridisierungsdauer verdeutlicht, dass Labore ihre Arbeitsabläufe je nach Workflow mit der 1,5-stündigen Hybridisierungsdauer beschleunigen oder die Hybridisierung über Nacht durchführen können.

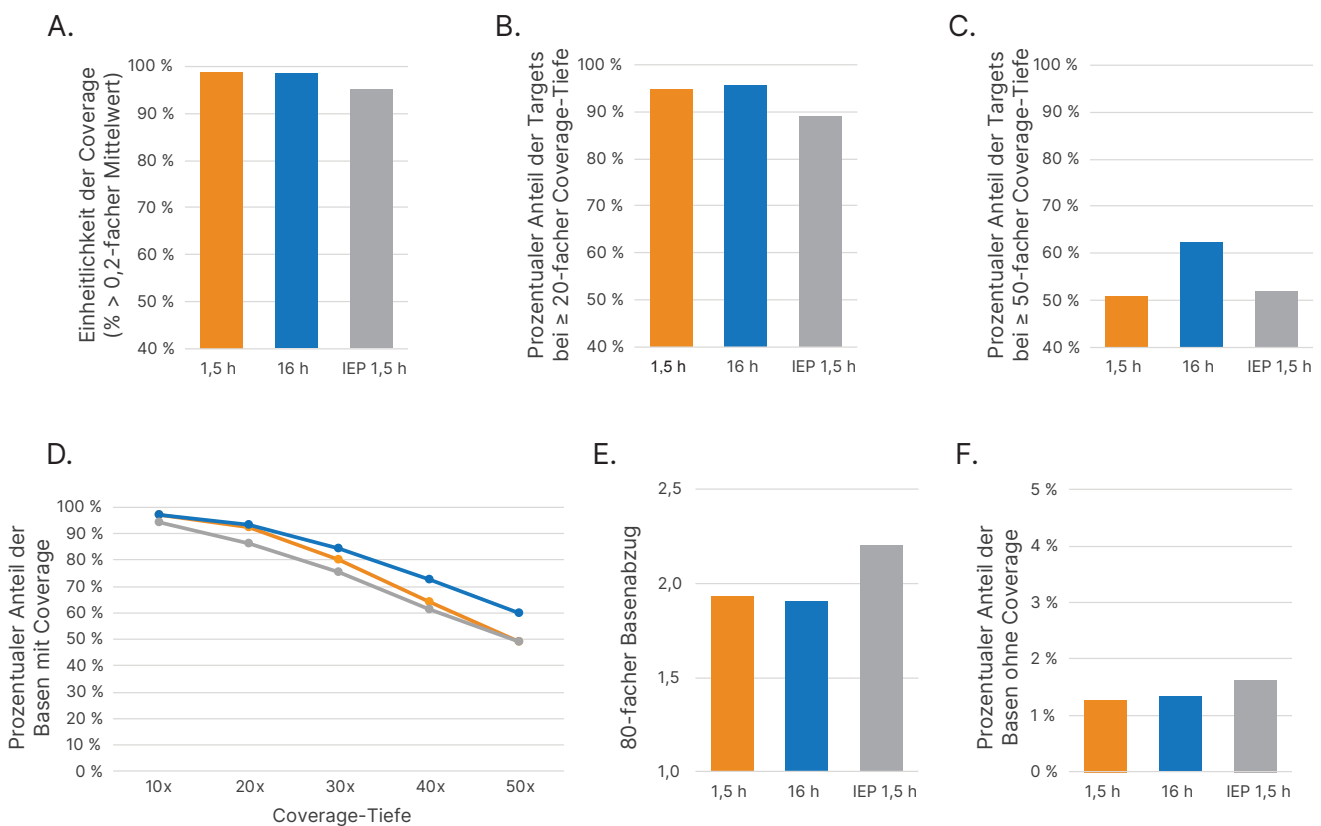


Abbildung 5: Herausragende Coverage und Einheitlichkeit unabhängig von der Hybridisierungsdauer: Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment mit einer Hybridisierungsdauer von 1,5 Stunden (orange) oder 16 Stunden (blau) zeigt bei paralleler Ausführung im Vergleich zum Illumina Exome Panel (IEP 1,5 h, grau) eine hervorragende Einheitlichkeit der Coverage. DRAGEN-Metriken: (A) Coverage-Einheitlichkeit (Prozent > 0,2-fache mittlere Coverage); (B) Prozentsatz der Targets mit Coverage bei $\geq 20\times$; und (C) Prozentsatz der Targets mit Coverage $\geq 50\times$. Picard-Metriken: (D) 80-Fold-Basenabzug (erforderliche Fold-over-Coverage zur Erfassung von 80 % der Basen in Targets mit Coverage im Vergleich zur mittleren Coverage dieser Targets); und (E) Prozentsatz der Targets ohne Coverage. Die angereicherten Bibliotheken wurden auf dem NovaSeq 6000-System unter Verwendung einer S4-Fließzelle mit einer Ausgabeleistung von 5 Gb (50 Mio. Paired-End-Reads, 25 Mio. Cluster) und Readlängen von 2×101 bp sequenziert.

Zusammenfassung

Bei Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment handelt es sich um eine durchdachte, zuverlässige Lösung für die Human-WES, die sich durch hohe Effektivität und Effizienz auszeichnet. Das enthaltene Twist Bioscience for Illumina Exome 2.0 Plus Panel liefert umfassende, aktuelle Inhalte für in öffentlichen Datenbanken aufgeführte krankheitsassoziierte Varianten. Das optimierte Anreicherungspanel ermöglicht einen hohen Probendurchsatz und damit die kostengünstige Exomsequenzierung. Die hervorragende, einheitliche Coverage vereinfacht die nachgeschaltete Analyse und Auswertung. Labore profitieren ab sofort von einem hochwertigen Komplet workflow von den Proben bis zum Bericht aus einer Hand.

Weitere Informationen

Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment: illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/dna-prep-exome-enrichment.html

DRAGEN Bio-IT Platform: illumina.com/products/by-type/informatics-products/dragen-bio-it-platform.html

Illumina Connected Insights - Germline: [developer.illumina.com/news-updates/illumina-connected-insights-germline-available-now](https://illumina.com/news-updates/illumina-connected-insights-germline-available-now)

Bestellinformationen

Produkt	Katalog-Nr.
Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment, (S) Tagmentation Set B (96 samples, 12-plex) ^a	20077595
Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment, (S) Tagmentation Set D (96 samples, 12-plex) ^a	20077596
Flex Lysis Reagent Kit (96 reactions) ^b	20018706
IDT for Illumina DNA/RNA Unique Dual Indexes Set A, Tagmentation (96 indexes, 96 samples) ^c	20027213
IDT for Illumina Nextera™ DNA Unique Dual Indexes Set C (96 indexes, 96 samples) ^c	20027215

- Die Kits enthalten die Illumina DNA Prep with Enrichment-Reagenzien für die Bibliotheksvorbereitung und die Hybridisierung, Illumina Purification Beads für die Reinigung/Größenauswahl, Twist Bioscience for Illumina Exome 2.0 Plus Panel-Anreicherungs sonden und eine Indexadapterplatte.
- Kit für die direkte Zugabe von Blut erforderlich.
- Auf Wunsch kann ein anderer Indexsatz gewählt werden.

Quellen

1. Illumina. Illumina DNA Prep with Enrichment Data Sheet. illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/illumina-dna-prep-for-enrichment-770-2020-010/illumina-dna-prep-enrichment-data-sheet-770-2020-010.pdf. Veröffentlicht 2020. Aufgerufen im Juli 2022.
2. Mehio R, Ruehle M, Catreux S, et al. DRAGEN Wins at PrecisionFDA Truth Challenge V2 Showcase Accuracy Gains from Alt-aware Mapping and Graph Reference Genomes. illumina.com/science/genomics-research/dragen-wins-precisionfda-challenge-showcase-accuracy-gains.html. Veröffentlicht 2021. Aufgerufen im Juli 2022.
3. NIH National Library of Medicine. RefSeq - NCBI Reference Sequence Database. NCBI-Website. ncbi.nlm.nih.gov/refseq. Aufgerufen im März 2022.
4. CCDS - Consensus CDS (CCDS) Database. NCBI-Website. ncbi.nlm.nih.gov/projects/CCDS/CcidsBrowse.cgi. Aufgerufen im März 2022.
5. American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). ACMG Recommendations for Reporting of Incidental Findings in Clinical Exome and Genome Sequencing. NCBI-Website. ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/docs/acmg. Aktualisiert im Juni 2021. Aufgerufen im März 2022.
6. Catalog of Somatic Mutations in Cancer (COSMIC). COSMIC-Website. cancer.sanger.ac.uk/cosmic/download. Aufgerufen im März 2022.
7. Cancer Gene Census. COSMIC-Website. cancer.sanger.ac.uk/census. Aufgerufen im März 2022.
8. Catalog of Human Genes and Genetic Disorders. OMIM-Website. omim.org. Aufgerufen im März 2022.
9. ClinVar Database. NCBI-Website. ncbi.nlm.nih.gov/clinvar. Aufgerufen im März 2022.
10. Genome Analysis Toolkit (GATK). The Broad Institute. gatk.broadinstitute.org/hc/en-us/articles/360037428871-CollectHsMetrics-Picard-. Aufgerufen im März 2022.

illumina®

+1.800.809.4566 (USA, gebührenfrei) | +1.858.202.4566
(Tel. außerhalb der USA)
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2022 Illumina, Inc. Alle Rechte vorbehalten. Alle Marken sind Eigentum von Illumina, Inc. bzw. der jeweiligen Eigentümer. Spezifische Informationen zu Marken finden Sie unter www.illumina.com/company/legal.html.
M-GL-00002 DEU v1.0