

# Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment

Gezielte, konsistente  
Exomergebnisse von  
einem einzigen Partner

- Kostengünstige Exom-Coverage mit einem gezielten, umfassenden und aktuellen Exom-Panel
- Für die einfache Anwendung mit zahlreichen Automatisierungsplattformen geeignetes Bibliotheksvorbereitungskit
- Hochwertige Komplettlösung und Unterstützung im gesamten Workflow
- Coverage des mitochondrialen Genoms lässt sich mithilfe eines Spike-in-Panels einfach ergänzen

**illumina**<sup>®</sup>

## Umfassende Exomsequenzierung mit einem einzigen zuverlässigen Partner

ILLUMINA DNA Prep with Exome 2.5 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 Kompletzworkflows von den Proben bis zum Befund (Abbildung 1). Illumina Qualified Methods stehen auf zahlreichen von unseren Partnern angebotenen Automatisierungsplattformen zur Verfügung. Illumina DNA Prep with Exome 2.5 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).<sup>1</sup> Die Illumina DNA Prep with Enrichment-Chemie eignet sich für die integrierte Normalisierung hochwertiger DNA-Zugaben ( $\geq 50$  ng), was ein einfaches volumenbasiertes Pooling für die Hybridisierung ermöglicht und gleichmäßige Sequenzierungsergebnisse bei jeder angereicherten Exombibliothek liefert. Die Bibliotheken werden auf dem NovaSeq™ 6000 System, dem NextSeq™ 1000 System, dem NextSeq 2000 System oder dem NextSeq 550 System sequenziert. Die preisgekrönte DRAGEN™-Sekundäranalyse kommt für das Varianten-Calling zum Einsatz.<sup>2</sup> Zur Bestimmung genetischer Erkrankungen nutzt die Emedgene-Plattform XAI (Explainable Artificial Intelligence, erklärbare künstliche Intelligenz) und Automatisierung zur Optimierung von Auswertung und Befunderstellung bei Exom-Panels.

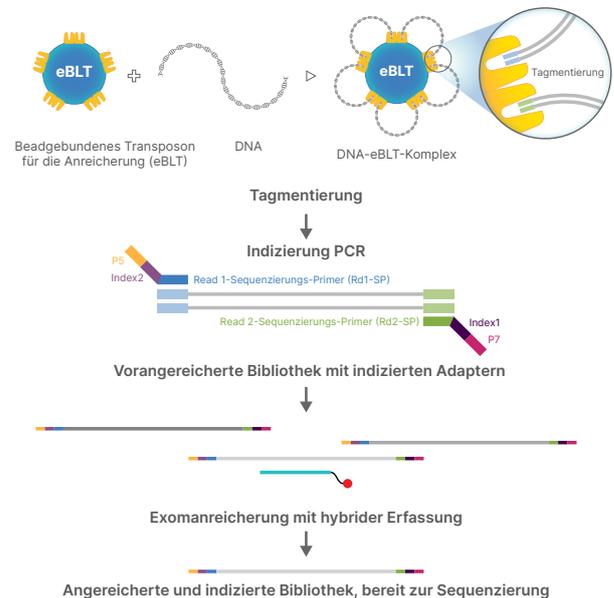


Abbildung 2: Optimierte Bibliotheksvorbereitung mit Exomanreicherung auf Basis von Tagmentierung: eBLT (Enrichment Bead-Linked Transposomes, beadgebundene Transposons zur Anreicherung) sorgen für eine einheitliche Tagmentierungsreaktion mit hoher Toleranz gegenüber schwankenden Zugabemengen bei den DNA-Proben.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



Abbildung 1: Von den Proben bis zur Befunderstellung mit einem einzigen Partner: Illumina ermöglicht den kompletten Workflow für WES. Extrahierte gDNA (oder direkt aus Blut oder Speichel extrahierte DNA) dient als Ausgangsmaterial für die Bibliotheksvorbereitung mit Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment. Qualified Methods stehen auf zahlreichen Automatisierungsplattformen zur Verfügung. Führen Sie die Sequenzierung entsprechend den Anforderungen an Umfang und Durchsatz auf Illumina-Geräten durch. Die genaue, schnelle Sekundäranalyse sowie das Varianten-Calling erfolgen mit der DRAGEN Enrichment App. Bei genetischen Erkrankungen ermöglicht Emedgene die intuitive Auswertung und Befunderstellung.

\* 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 2.5 Enrichment basiert auf einem gezielten, umfassenden und aktuellen Exomanreicherungs-Panel. Das im Kit enthaltene Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 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 2.5 Panel deckt CDS (Curated Coding Sequences, kuratierte Codierungssequenzen) aus RefSeq, Consensus Coding Sequence (CCDS), American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG), dem Cancer Gene Census aus dem Catalog of Somatic Mutations in Cancer (COSMIC) sowie Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) (Tabelle 1) mit herausragender Coverage pathogener oder wahrscheinlich pathogener Varianten ab, die in den Datenbanken ClinVar und ACMG enthalten sind (Tabelle 2).<sup>3-9</sup>

Die Coverage des mitochondrialen Genoms (chrM) lässt sich einfach ergänzen, indem das Twist Bioscience for Illumina Mitochondrial Panel als Spike-in-Panel im Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment-Protokoll verwendet wird. Das Mitochondrial Panel bietet die vollständige Coverage der 16.659 bp und 37 Gene des chrM und ermöglicht die Anreicherung und Sequenzierung von mtDNA-Varianten (mitochondriale DNA).

Tabelle 1: Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel – höhere Zielregion-Coverage und kosteneffektiver Umfang

Exom-Panel	Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel	Illumina Exome Panel
Größe	37,5 Mb	45 Mb
RefSeq CDS <sup>3</sup>	99,1 %	98,2 %
CCDS CDS <sup>4</sup>	99,9 %	99,5 %
ACMG 73 Gene CDS <sup>5</sup>	99,9 %	99,3 %
COSMIC Cancer Gene Census CDS <sup>6,7</sup>	99,9 %	99,3 %
OMIM <sup>8</sup>	99,1 %	97,7 %

Tabelle 2: Klinische Forschung: fokussierter Inhalt des Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel

Pathogene/wahrscheinlich pathogene Varianten in ClinVar, CDS <sup>a,9</sup>	98,6 %
Pathogene/wahrscheinlich pathogene Varianten in ACMG 73, CDS <sup>b,5</sup>	99,9 %

- Das öffentliche ClinVar-Archiv enthält Informationen zu Varianten-Phänotyp-Beziehungen beim Menschen sowie entsprechende Evidenzdaten. Pathogene/wahrscheinlich pathogene Varianten werden gemäß ClinVar-Klassifizierungsrichtlinien in den Befund aufgenommen.
- Die Liste der pathogenen/wahrscheinlich pathogenen ACMG-Varianten enthält die überlagerten Varianten zwischen den kuratierten codierenden Sequenzen der ACMG-Gene und pathogenen/wahrscheinlich pathogenen ClinVar-Varianten.

Tabelle 3: Geschätzte Anzahl der angereicherten Exome 2.5 Enrichment-Bibliotheken pro Fließzelle und Sequenziersystem<sup>a</sup>

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

- 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.
- NextSeq 550-Reagenzien-Kits unterstützen Read-Längen von 2 × 150 bp.
- Für das NextSeq 1000 System sind ebenfalls P2-Fließzellen mit demselben Probendurchsatz verfügbar.
- Für das Pooling so vieler angereicherter Bibliotheken sind zusätzliche Indizes erforderlich.

ILLUMINA DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment zeigt 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).

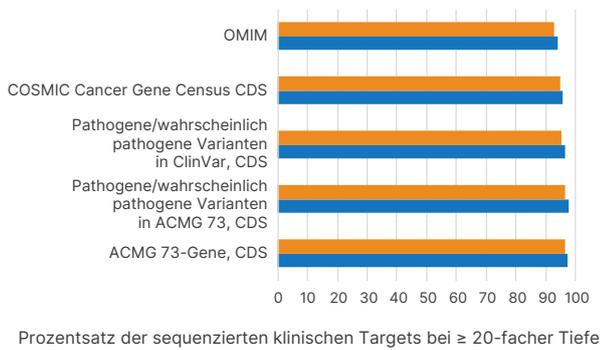


Abbildung 3: Weitreichende, umfassende Coverage in öffentlichen Datenbanken enthaltener krankheitsassoziiertes Varianten: Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment zeigt mit einer Hybridisierungsdauer von 1,5 Stunden (orange) oder 16 Stunden (blau) einen hohen Prozentsatz für die durchschnittliche Coverage mit  $\geq 20\times$  für in öffentlichen Datenbanken wie ACMG, ClinVar, OMIM und COSMIC enthaltene Targets.<sup>5-9</sup>

## Leistung mit hoher Qualität

ILLUMINA DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment zeigt eine herausragende Leistung als Assay für die Anreicherung. Die Daten wurden mit dem Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment Kit und dem darin enthaltenen Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 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-Pipeline<sup>10</sup> 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 2.5 Enrichment mit Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel-Sonden (Abbildung 4).

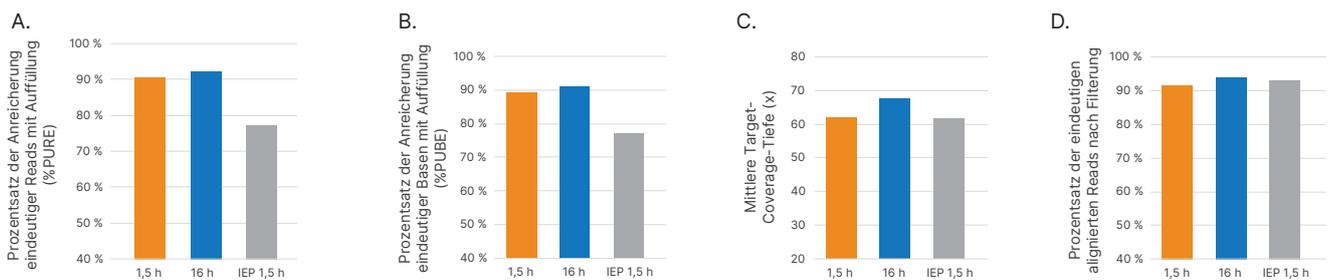


Abbildung 4: Herausragende Leistung von Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment als Assay für die Anreicherung: Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment mit einer Hybridisierungsdauer von 1,5 Stunden (orange) oder 16 Stunden (blau) zeigt im Vergleich zum Illumina Exome Panel (IEP 1,5 h, grau) 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  $2 \times 101$  bp sequenziert.

## Tiefe und Einheitlichkeit der Coverage

Eine zusätzliche Analyse zeigt die hervorragende Einheitlichkeit der Coverage von Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment im Vergleich zum Illumina Exome Panel (Abbildung 5). Illumina DNA Prep with Exome 2.5 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.

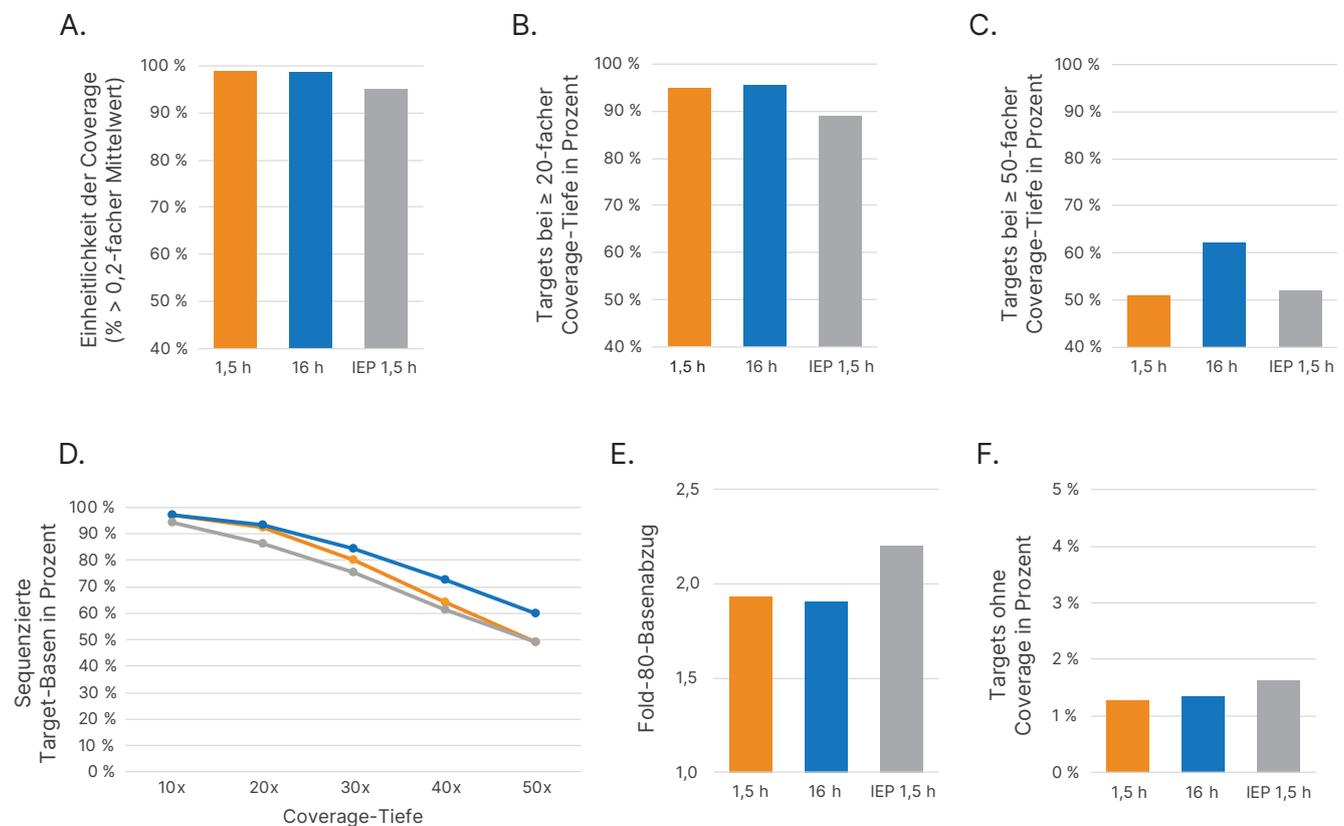


Abbildung 5: Herausragende Coverage und Einheitlichkeit unabhängig von der Hybridisierungsdauer: Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment mit einer Hybridisierungsdauer von 1,5 Stunden (orangefarben) oder 16 Stunden (blau) zeigt bei paralleler Ausführung im Vergleich zum Illumina Exome Panel (IEP 1,5 h, grau) eine herausragende Einheitlichkeit der Coverage. DRAGEN-Metriken: (A) Coverage-Einheitlichkeit (Prozent > 0,2-fache mittlere Coverage); (B) Prozentsatz der Targets mit Coverage bei  $\geq 20$ -fach; und (C) Prozentsatz der Targets mit Coverage bei  $\geq 50$ -fach. Picard-Metriken: (D) Prozentsatz der Target-Basen mit 10-facher, 20-facher, 30-facher, 40-facher und 50-facher Coverage-Tiefe; (E) Fold-80-Basenabzug (erforderliche Fold-over-Coverage zur Erfassung von 80 % der Basen in Targets mit Coverage ungleich null im Vergleich zur mittleren Coverage dieser Targets); und (F) 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  $2 \times 101$  bp sequenziert.

Mitochondriale DNA ist in der Zelle häufiger vorhanden als nukleäre DNA. Das Twist Bioscience for Illumina Mitochondrial Panel kann in unterschiedlichen Konzentrationen im Verhältnis zum Exom-Panel verwendet werden. Dies zeigt die Flexibilität hinsichtlich der veränderlichen mtDNA-Coverage, ohne die mittlere Target-Coverage oder die Coverage-Einheitlichkeit in Bezug auf das Exom zu beeinträchtigen (Abbildung 6).

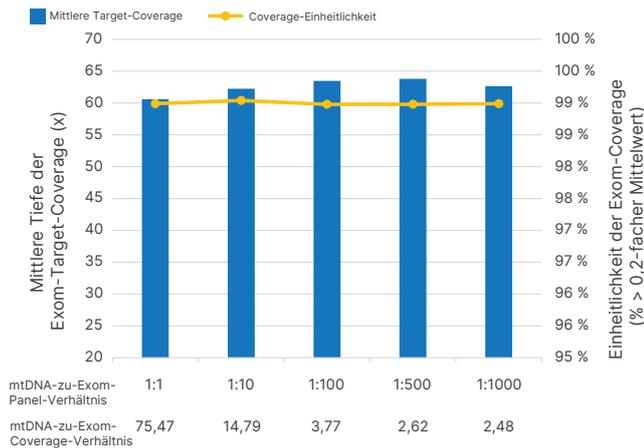


Abbildung 6: Einheitliche Exom-Coverage mit zusätzlicher Mitochondrien-Coverage: Unterschiedliche Verhältnisse von Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel und Twist Bioscience for Illumina Mitochondrial Panel zeigen eine konsistente mittlere Target-Coverage (blaue Balken) und Coverage-Einheitlichkeit (gelbe Linie) für Exome. Insgesamt wurden 72 Human-Zelllinien-DNA-Proben des Coriell Institute (NA24143, NA24149 und NA24385) mit mtDNA-zu-Exom-Panel-Verhältnissen von 1:1 bis 1:1.000 in 16-stündigen Hybridisierungsreaktionen angereichert (6 × 12-Plex-Pools). Alle 72 angereicherten Bibliotheken wurden auf einem NovaSeq 6000 System mit einer einzelnen S4-Fließzelle mit 5-Gb-Ausgabe (50 Mio. Paired-End-Reads, 25 Mio. Cluster) sequenziert. Die Anreicherungsanalyse wurde mit der DRAGEN Enrichment-App durchgeführt.

## Zusammenfassung

Bei Illumina DNA Prep with Exome 2.5 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 2.5 Panel liefert umfassende, aktuelle Inhalte für in öffentlichen Datenbanken aufgeführte krankheitsassoziierte Varianten. Mit dem optionalen Twist Bioscience for Illumina Mitochondrial Panel kommt eine umfassende chrM-Coverage hinzu. Das optimierte Anreicherungspanel ermöglicht einen hohen Probendurchsatz und damit die kostengünstige Exomsequenzierung. Zusätzliche Effizienzsteigerungen lassen sich mit Illumina Qualified Methods erzielen, die auf zahlreichen von unseren Partnern angebotenen Automatisierungsplattformen zur Verfügung stehen. Die hervorragende, einheitliche Coverage vereinfacht die nachgeschaltete Analyse und Auswertung. Labore profitieren ab sofort von einem hochwertigen Komplet workflow von den Proben bis zum Befund aus einer Hand.

## Weitere Informationen

[Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment](#)

[Illumina Qualified Methods für die Automatisierung](#)

[DRAGEN-Sekundäranalyse](#)

[Emedgene-Tertiäranalyse](#)

## Bestellinformationen

Produkt	Katalog-Nr.
ILLUMINA DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment, (S) Tagmentation Set B (96 samples, 12-plex) <sup>a</sup>	20077595
ILLUMINA DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment, (S) Tagmentation Set D (96 samples, 12-plex) <sup>a</sup>	20077596
Flex Lysis Reagent Kit (96 reactions) <sup>b</sup>	20018706
ILLUMINA DNA/RNA UD Indexes Set A, Tagmentation (96 indexes, 96 samples) <sup>c</sup>	20091654
ILLUMINA DNA/RNA UD Indexes Set B, Tagmentation (96 indexes, 96 samples) <sup>c</sup>	20091656
ILLUMINA DNA/RNA UD Indexes Set C, Tagmentation (96 indexes, 96 samples) <sup>c</sup>	20091658
ILLUMINA DNA/RNA UD Indexes Set D, Tagmentation (96 indexes, 96 samples) <sup>c</sup>	20091650
Twist Bioscience for ILLUMINA Mitochondrial Panel (96 samples, 12-plex) <sup>d</sup>	20093180

a. 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 2.5 Panel-Anreicherungs sonden und eine Index-Adapterplatte.

b. Kit für die direkte Zugabe von Blut erforderlich.

c. Auf Wunsch kann ein anderer Indexsatz gewählt werden.

d. Das Twist Bioscience for ILLUMINA Mitochondrial Panel enthält 32 µl Oligo-Panel, d. h. ausreichend Material für 8 Hybridisierungsreaktionen mit je 4 µl.

## 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](https://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 am 29. Oktober 2020. Aufgerufen am 27. Juli 2023.
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/articles/dragen-wins-precisionfda-challenge-accuracy-gains](https://illumina.com/science/genomics-research/articles/dragen-wins-precisionfda-challenge-accuracy-gains). Veröffentlicht am 2. Juni 2021. Aufgerufen am 27. Juli 2023.
3. NIH National Library of Medicine. RefSeq: NCBI Reference Sequence Database. NCBI-Website. [ncbi.nlm.nih.gov/refseq](https://ncbi.nlm.nih.gov/refseq). Aktualisiert am 18. Juli 2023. Aufgerufen am 27. Juli 2023.
4. CCDS - Consensus CDS (CCDS) Database. NCBI-Website. [ncbi.nlm.nih.gov/projects/CCDS/CcdfsBrowse.cgi](https://ncbi.nlm.nih.gov/projects/CCDS/CcdfsBrowse.cgi). Aktualisiert am 9. November 2022. Aufgerufen am 27. Juli 2023.
5. NIH National Library of Medicine. ACMG Recommendations for Reporting of Secondary Findings in Clinical Exome and Genome Sequencing. NCBI-Website. [ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/docs/acmg](https://ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/docs/acmg). Aktualisiert am 27. Juni 2023. Aufgerufen am 27. Juli 2023.
6. Catalog of Somatic Mutations in Cancer (COSMIC). COSMIC-Website. [cancer.sanger.ac.uk/cosmic/download](https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/download). Veröffentlicht am 23. Mai 2023. Aufgerufen am 27. Juli 2023.
7. Cancer Gene Census. COSMIC-Website. [cancer.sanger.ac.uk/census](https://cancer.sanger.ac.uk/census). Veröffentlicht am 23. Mai 2023. Aufgerufen am 27. Juli 2023.
8. Catalog of Human Genes and Genetic Disorders. OMIM-Website. [omim.org](https://omim.org). Aktualisiert am 26. Juli 2023. Aufgerufen am 27. Juli 2023.
9. ClinVar Database. NCBI-Website. [ncbi.nlm.nih.gov/clinvar](https://ncbi.nlm.nih.gov/clinvar). Aktualisiert am 24. Juli 2023. Aufgerufen am 27. Juli 2023.
10. Genome Analysis Toolkit (GATK). The Broad Institute. [gatk.broadinstitute.org/hc/en-us/articles/360037428871-CollectHsMetrics-Picard](https://gatk.broadinstitute.org/hc/en-us/articles/360037428871-CollectHsMetrics-Picard). Veröffentlicht am 7. Januar 2020. Aufgerufen am 27. Juli 2023.



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

© 2023 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](https://www.illumina.com/company/legal.html).  
 M-GL-00002 DEU v4.0