

Illumina DNA Prep with Enrichment

Schneller, integrierter
Workflow für eine
Vielzahl von Target-
Anreicherungsanwendungen

- Zeitsparende Lösung, die 85 % schneller ist als die standardmäßige Bibliotheksvorbereitung und -anreicherung von Illumina
- Höhere Effizienz bei der Bibliotheksvorbereitung dank integrierter Protokolle für Blut und Speichel
- Ermöglicht erweiterte Studiendesigns in der Krebsforschung, bei der Erforschung genetischer Erkrankungen und bei der Exomsequenzierung



Einleitung

Die Illumina DNA Prep with Enrichment-Lösung vereint vielseitige, einfache und schnelle Bibliotheksvorbereitungs- und -anreicherungsfunktionen und ist für Anwendungen im Bereich zielgerichtete Anreicherung und Exom-Sequenzierung bestimmt. Sie bietet außerordentliche Flexibilität im Hinblick auf Zugabetyp und -menge (Tabelle 1) sowie eine große Anzahl von unterstützten Anreicherungs-Sequenzierungsanwendungen. Hierzu gehören anwendungsspezifische Panels, feste Panels und die Exomsequenzierung von Illumina oder Drittanbietern.

Illumina DNA Prep with Enrichment nutzt innovative beadbasierte Chemie mit einem vereinfachten, einzelnen Hybridisierungsschritt (Abbildung 1). Mit dem Illumina DNA Prep with Enrichment-Workflow und dem Flex Lysis Reagent Kit bzw. dem Saliva Lysis Protocol kann die DNA-Extraktion direkt aus frischen Blut- oder Speichelproben durchgeführt werden, was zusätzlich Zeit spart.

Tabelle 1: Illumina DNA Prep with Enrichment – Spezifikationen

Parameter	Spezifikation
DNA-Zugabetyp	gDNA, Vollblut, Speichel, aus FFPE-Gewebe (formalinfixiertes, in Paraffin eingebettetes Gewebe) extrahierte DNA
Verifizierte DNA-Zugabe ^a	10–1.000 ng
Proben-Multiplexing	384 eindeutige doppelte Indizes (UDIs, Unique Dual Indexes)
Pooling vor der Anreicherung ^b	1-Plex oder 12-Plex verifiziert und unterstützt
Unterstützte Sequenziersysteme	Alle Illumina-Systeme
Gesamtdauer des Workflows ^c	ca. 6,5 Stunden

- DNA-Zugaben bis zu einem Minimum von 10 ng sind möglich, ergeben jedoch keine sättigungsbasierte DNA-Normalisierung.
- Andere Anreicherungsplexitäten sind möglich, wurden jedoch nicht verifiziert. Möglicherweise ist eine zusätzliche Optimierung erforderlich und optimale Ergebnisse können nicht garantiert werden.
- Umfasst Bibliotheksvorbereitung, Anreicherung und Bibliotheksnormalisierung/-Pooling

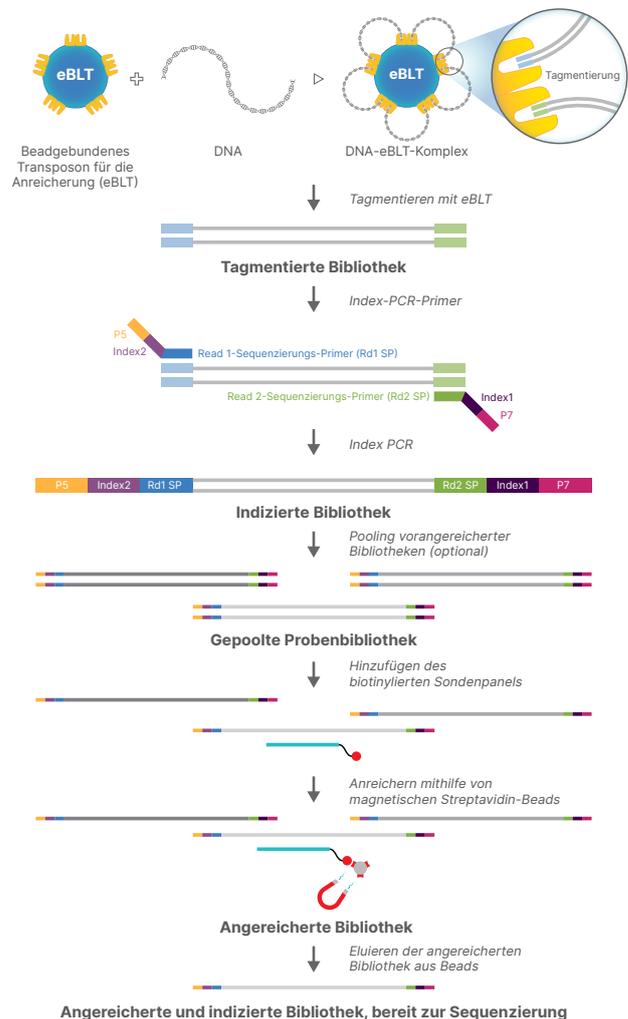


Abbildung 1: Illumina-Tagmentierungsschema: Die eBLT-vermittelte einheitliche Tagmentierungsreaktion und die anschließende Einzelhybridisierungsreaktion sorgen für einen schnellen und flexiblen Workflow.

Schneller und flexibler Workflow für die Bibliotheksvorbereitung und -anreicherung

Eine entscheidende Komponente der Illumina DNA Prep with Enrichment-Lösung ist die On-Bead-Tagmentierung. Diese liefert mithilfe beadgebundener Transposons eine einheitliche Tagmentierungsreaktion. Diese Methode bietet mehrere signifikante Vorteile:

- Für gDNA-Zugabemengen ≥ 50 ng ist eine genaue Quantifizierung der ursprünglichen DNA-Probe nicht erforderlich, da die Insertfragmentgröße nicht betroffen ist. Dies spart Zeit und Kosten in Zusammenhang mit Kits und Reagenzien.
- Die On-Bead-Tagmentierung erfordert keine separate DNA-Fragmentierung, wodurch Zeit und Kosten für entsprechende Verbrauchsmaterialien entfallen.
- Bei gDNA-Zugaben von 50–1.000 ng sind dank dem sättigungsbasierten DNA-Normalisierungsverfahren vor der Anreicherung weder eine individuelle Bibliotheksquantifizierung noch Normalisierungsschritte erforderlich.
- Das neue 90-minütige Einzelhybridisierungsprotokoll ermöglicht die Anreicherung in weniger als vier Stunden.

Schnellster Anreicherungs-Workflow von Illumina

Die Illumina DNA Prep with Enrichment-Lösung unterstützt Liquid-Handling-Systeme für die Automatisierung der Bibliotheksvorbereitung und ermöglicht einen Workflow mit den wenigsten Schritten und der schnellsten Gesamtverarbeitungsdauer im Anreicherungs-Portfolio von Illumina (Abbildung 2, Tabelle 2).

Integrierte DNA-Zugabe

Die DNA-Extraktion kann direkt aus Vollblut- oder Speichelproben durchgeführt werden. Das für die Verwendung von Vollblutproben und Illumina DNA Prep with Enrichment optimierte und validierte optionale Flex Lysis Reagent Kit ist in den Workflow integriert und ermöglicht damit maximale Effizienz. Die Lyseprotokolle beinhalten beadbasierte Reagenzien und erfordern weniger als 30 Minuten manuellen Aufwand.

Optimale Leistungsfähigkeit auf den Sequenziersystemen von Illumina

Die robuste und unkomplizierte Illumina DNA Prep with Enrichment-Lösung liefert auf allen Illumina-Sequenziersystemen zuverlässige Ergebnisse mit $> 90\%$ On-Target-Reads, einer Einheitlichkeit von $> 95\%$ und einer niedrigen PCR-Duplikatrate (Tabelle 3). Illumina DNA Prep with Enrichment ist mit zahlreichen Illumina-Anreicherungspanels kompatibel und für Systeme mit niedrigem, mittlerem und hohem Durchsatz optimiert (Abbildung 3, Tabelle 4).

Illumina DNA Prep with Enrichment (Exom von Illumina oder anwendungsspezifisch)



Abbildung 2: Illumina DNA Prep with Enrichment bietet den schnellsten Anreicherungs-Workflow von Illumina: Die Workflow-Zeiten basieren auf der Verarbeitung von 12 Proben bei der 12-plex-Anreicherung. Die Dauer kann abhängig von den verwendeten Gerätschaften, der Anzahl der verarbeiteten Proben sowie den Automatisierungsverfahren oder der Erfahrung des Benutzers variieren.

Tabelle 2: Vergleich der Anreicherungs-Workflows von Illumina

	Illumina DNA Prep with Enrichment	TruSeq DNA Exome	Nextera DNA Exome	Nextera Rapid Capture Custom Enrichment
Integrierte DNA-Option ^a	✓	—	—	—
Flexibler, großer DNA-Zugabebereich	✓	—	—	—
Bibliotheksnormalisierung enthalten ^b	✓	—	—	—
Für FFPE-Proben geeignet	✓	✓	—	—
DNA-Zugabe	10–1.000 ng	100 ng	50 ng	50 ng
Gesamtdauer von Bibliotheksvorbereitung und Anreicherung ^c	ca. 6,5 h	2,5 Tage	2 Tage	1,5 Tage
Insertgröße ^d	150–220 bp	150 bp	150–220 bp	230 bp
Probenindexsets	384 eindeutige doppelte Indizes	24 einfache Indizes, 96 doppelte Indizes	24 einfache Indizes, 96 doppelte Indizes	24 einfache Indizes, 96 doppelte Indizes

a. Integrierte Lyseprotokolle für Blut und Speichel verfügbar.

b. Bibliotheksnormalisierung erfolgt mit ≥ 50 ng gDNA-Zugabe.

c. Gesamtdauer der Bibliotheksvorbereitung und -anreicherung umfasst Bibliotheksvorbereitung und Bibliotheksnormalisierung/-Pooling sowie -anreicherung.

d. Degradierete FFPE-DNA kann zu kleineren Insertgrößen führen.

Tabelle 3: Leistungsvergleich der Anreicherungs-Workflows von Illumina^a

Parameter ^b	Illumina DNA Prep with Enrichment	Illumina DNA Prep with Enrichment	Illumina DNA Prep with Enrichment	TruSeq DNA Exome	Nextera DNA Exome
Panel	Illumina Exome Panel ^c	Exom-Panel X	Exom-Panel Y	Illumina Exome Panel	Illumina Exome Panel
Panelgröße	45 Mb	39 Mb	33 Mb	45 Mb	45 Mb
Sondengröße	80 bp	120 bp	120 bp	80 bp	80 bp
Padded-Read-Anreicherung (On-Target) ^d	85 %	91 %	91 %	85 %	75 %
Median der Fragmentlänge	ca. 200 bp	ca. 200 bp	ca. 200 bp	ca. 150 bp	ca. 200 bp
Coverage bei 20 \times	93 %	96 %	97 %	90 %	85 %
Coverage-Einheitlichkeit ^d	95 %	97 %	98 %	85 %	85 %
Read-Tiefe je Probe ^e	30 Mio CPF	25 Mio CPF	20 Mio CPF	40 Mio CPF	40 Mio CPF
SNV-Präzision	99 %	99 %	99 %	99 %	99 %
SNV-Recall	94 %	94 %	95 %	89 %	91 %

a. Daten sind Beispielvergleichsdaten. Die tatsächlichen Leistungsspezifikationen können basierend auf Read-Tiefe und Probenotyp abweichen.

b. Die Analyse wurde mit 48 Proben (alle NA12878 Coriell-Proben) pro Bedingung durchgeführt. Die Datenanalyse wurde mit der Enrichment BaseSpace™ App durchgeführt.

c. [Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment](#) ist die empfohlene Lösung für die Human-Exomsequenzierung.

d. Zusätzliche Informationen finden Sie im Benutzerhandbuch zur BaseSpace™ App².

e. CPF, Clusters Passing Filter (Cluster nach Filterung).



Abbildung 3: Optimierte Performance auf allen Illumina-Sequenziersystemen: Die Illumina DNA Prep with Enrichment-Lösung ist mit allen Illumina-Sequenziersystemen kompatibel, einschließlich den hier abgebildeten Hochleistungssystemen. Systeme mit niedrigem Durchsatz wie das iSeq™ 100 System, das MiniSeq™ System und das MiSeq™ System sind ebenfalls mit Illumina DNA Prep with Enrichment kompatibel.

Tabelle 4: Probendurchsatz je Fließzelle mit Illumina DNA Prep with Enrichment^a

	iSeq 100 System		MiniSeq System		MiSeq System			NextSeq 550 System			
			Mittel	Hoch	v2	v2 Nano/Micro	v3	Mittel	Hoch		
Feste Panels											
TruSight™ One	NE	NE	2	1	0/0	3	12	36			
TruSight One Expanded	NE	NE	1	0	0/0	1	7	24			
TruSight Cancer	4	8	24	12	1/4	24	96	384			
TruSight Hereditary Cancer	4	8	24	12	1/4	24	96	384			
Anwendungsspezifische Panels											
2.000 Sonden	8	16	50	30	2/8	50	260	384			
5.000 Sonden	2	4	12	8	1/2	12	65	200			
10.000 Sonden	1	2	6	4	0/1	6	33	100			
NextSeq 550 System											
	NextSeq 550 System		NextSeq 2000 System		NovaSeq 6000 System				NovaSeq X Series		
	Mittel	Hoch	P2	P3	SP	S1	S2	S4	1.5B	10B	25B
Exom-Panel ^b	ca. 4	ca. 12	ca. 10	ca. 30	ca. 20	ca. 41	ca. 104	ca. 250	ca. 41	ca. 250	ca. 750 ^c

a. Mittel, mittlere Ausgabe; Hoch, hohe Ausgabe; NE, nicht empfohlen
 b. Bei den Schätzungen für Exome wird von ca. 8 Gb Daten pro Probe für eine 100-fache Coverage ausgegangen.
 c. Es stehen 384 eindeutige doppelte Indizes zur Verfügung.

Genauere Daten

Illumina DNA Prep with Enrichment generiert äußerst einheitliche und konsistente Insertgrößen über einen großen DNA-Zugabebereich hinweg und erzielt einheitliche und konsistente Bibliotheksergebnisse.¹ Außerdem bietet Illumina DNA Prep with Enrichment eine hohe Coverage-Einheitlichkeit sowie eine Padded-Read-Anreicherung für anwendungsspezifische, feste und Exom-Panels (Abbildung 4). Illumina DNA Prep with Enrichment ermöglicht im Vergleich zu anderen Anreicherungs-lösungen von Illumina genaue Recall- und Präzisionswerte für Einzelnukleotidvarianten (SNV, Single Nucleotide Variant) (Abbildung 5, Tabelle 3) und Insertionen/Deletionen (Indels).

DNA-Anreicherung für ein breites Anwendungsspektrum

Mit der Kombination aus überragender Anreicherungsleistung und der bewährten Genauigkeit der SBS-Chemie (Sequencing by Synthesis, Sequenzierung durch Synthese) von Illumina eignet sich die Illumina DNA Prep with Enrichment-Lösung für feste und anwendungsspezifische Panels unterschiedlicher Größen, einschließlich Panels für die Exomsequenzierung, und für komplexe Studiendesigns in verschiedenen Bereichen (Abbildung 6). Des Weiteren ist Illumina DNA Prep with Enrichment mit Anreicherungs-sonden/-panels von Illumina und Drittanbietern kompatibel, was die Übertragbarkeit von Inhalten ermöglicht und eine höhere Flexibilität bietet.

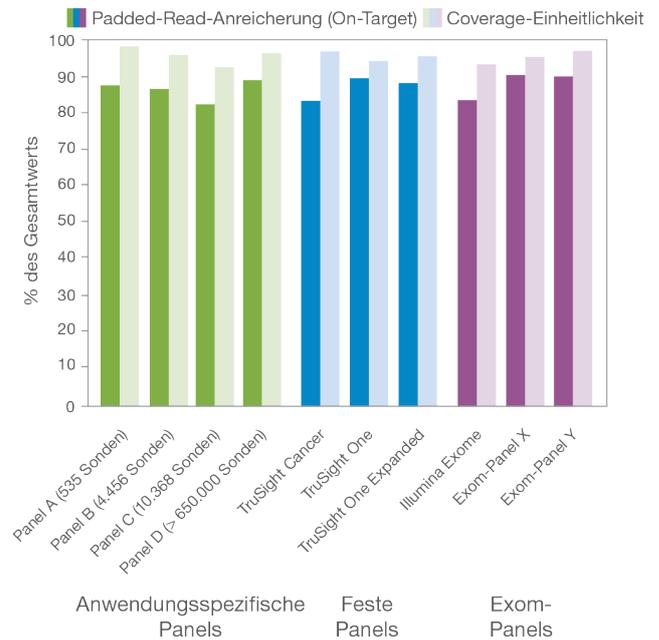


Abbildung 4: Hohe Coverage-Einheitlichkeit und Padded-Read-Anreicherung: Illumina DNA Prep with Enrichment zeichnet sich durch eine hohe Coverage-Einheitlichkeit sowie On-Target-Padded-Read-Anreicherung für anwendungsspezifische, feste und Exom-Panels aus.

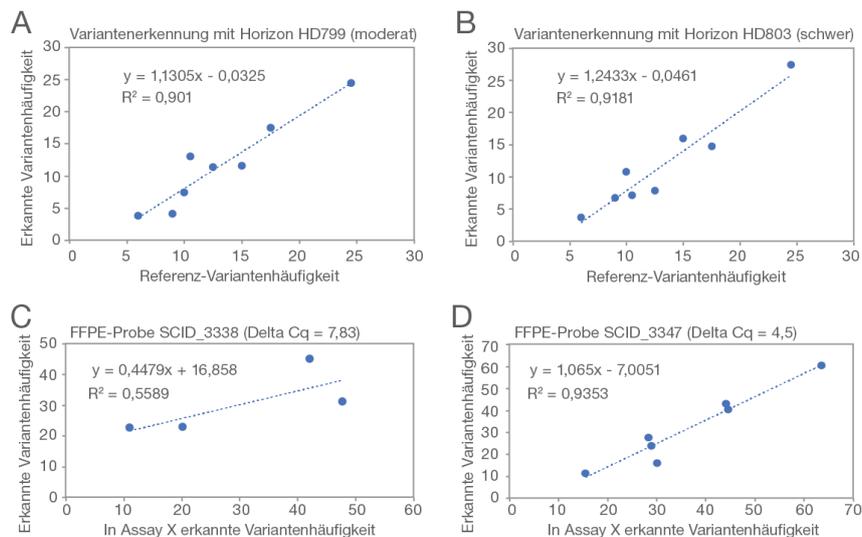


Abbildung 5: Genaues Varianten-Calling: Illumina DNA Prep with Enrichment ermöglicht das Calling seltener somatischer Varianten bei Zelllinien-FFPE-Kontrollproben aus humaner Referenz-DNA (A, B) und realen FFPE-Proben mit beobachteter Varianten-häufigkeit (C, D) und zeigt eine signifikante Korrelation mit den Häufigkeiten eines orthologen Sequenzierungs-Assays.



Abbildung 6: Breites Anwendungsspektrum mit Illumina DNA Prep with Enrichment: Illumina DNA Prep with Enrichment eignet sich für ein breites Anwendungsspektrum. Hierzu gehören anwendungsspezifische, feste und Exom-Panels.

Zusammenfassung

Illumina DNA Prep with Enrichment zeichnet sich durch den schnellsten Workflow aller Anreicherungs-lösungen von Illumina aus. Die benutzerfreundliche und automatisierbare Lösung eignet sich für Benutzer aller Erfahrungsniveaus und bietet einen gängigen Workflow für zahlreiche Versuchsdesigns, einschließlich fester und benutzerdefinierter Panels sowie Exomsequenzierung. On-Bead-Tagmentierung unterstützt eine große Bandbreite an DNA-Zugabemengen und verschiedene Proben-typen. Illumina DNA Prep with Enrichment ist mit Anreicherungs-sonden/-panels von Illumina und Drittanbietern kompatibel, was die Übertragbarkeit von Inhalten ermöglicht. Die innovative Illumina DNA Prep with Enrichment-Lösung bietet zusammen mit der Leistungsfähigkeit der Illumina-SBS-Chemie eine optimale zielgerichtete Anreicherung und Exomsequenzierung.

Weitere Informationen

[Illumina DNA Prep with Enrichment](#)

[On-Bead-Tagmentierung](#)

Quellen

1. Illumina. Illumina DNA Prep Data Sheet. [illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/illumina-dna-prep-data-sheet-m-gl-10373/illumina-dna-prep-data-sheet-m-gl-10373.pdf](https://www.illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/illumina-dna-prep-data-sheet-m-gl-10373/illumina-dna-prep-data-sheet-m-gl-10373.pdf). Aktualisiert 2022. Aufgerufen am 17. August 2023.
2. Illumina. BWA Enrichment v2.1 BaseSpace App Guide. support.illumina.com/content/dam/illumina-support/documents/documentation/software_documentation/basespace/basespace-bwa-enrichment-v2-1-app-guide-15050958-01.pdf. Aktualisiert 2016. Aufgerufen am 22. September 2023.

Bestellinformationen

Produkt	Katalog-Nr.
Illumina DNA Prep with Enrichment, (S) Tagmentation (96 samples)	20025524
Illumina DNA Prep with Enrichment, (S) Tagmentation (16 samples)	20025523
Flex Lysis Reagent Kit	20018706
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set A, Tagmentation (96 indexes, 96 samples)	20091654
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set B, Tagmentation (96 indexes, 96 samples)	20091656
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set C, Tagmentation (96 indexes, 96 samples)	20091658
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set D, Tagmentation (96 indexes, 96 samples)	20091660
TruSight Cancer (8 enrichment reactions)	FC-121-0202
TruSight One (6 enrichment reactions)	20029227
TruSight One Expanded (6 enrichment reactions)	20029226
TruSeq Hereditary Cancer (8 enrichment reactions)	20029551
Illumina Custom Enrichment Panel	20025371



1 800 8094566 (USA, gebührenfrei) | +1 858 2024566 (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 Eigentümer. Spezifische Informationen zu Marken finden Sie unter www.illumina.com/company/legal.html.
M-GL-02147 DEU v1.0