

Nextera™ Flex for Enrichment

Ein schneller, integrierter Workflow für ein breites Spektrum von Target-Anreicherungsanwendungen. Hierzu gehören anwendungsspezifische Panels, feste Panels und die Gesamtexom-Sequenzierung.

Vorteile

- **Schneller Workflow für die Bibliotheksvorbereitung und Anreicherung**

Zeitsparende Lösung, die 85 % schneller ist als die herkömmliche Bibliotheksvorbereitung und Anreicherung von Illumina

- **Integrierte Probenzugabe**

Höhere Effizienz bei der Bibliotheksvorbereitung dank integrierter Protokolle für Blut und Speichel

- **Breites Anwendungsspektrum**

Schnelleres Studiendesign in der Krebsforschung, bei der Erforschung genetischer Erkrankungen und bei der Gesamtexom-Sequenzierung

- Die On-Bead-Tagmentierung erfordert keine separate DNA-Fragmentierung, wodurch Zeit und Kosten für die zugehörigen 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.

Einleitung

Die Nextera Flex for 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 sowie eine große Anzahl von unterstützten Anreicherungs-Sequenzierungsanwendungen. Hierzu gehören anwendungsspezifische Panels, feste Panels und die Gesamtexom-Sequenzierung von Illumina oder Drittanbietern (Tabelle 1).

Nextera Flex for Enrichment nutzt innovative beadbasierte Chemie mit einem vereinfachten, einzelnen Hybridisierungsschritt (Abbildung 1). Mit dem Nextera Flex for 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.

Schneller und flexibler Workflow für die Bibliotheksvorbereitung und Anreicherung

Ein entscheidender Bestandteil der Nextera Flex for Enrichment-Lösung ist die On-Bead-Tagmentierung, die mit beadgebundenen Transposons für eine einheitliche Tagmentierungsreaktion sorgt. Diese Methode bietet mehrere signifikante Vorteile.

- Für gDNA-Zugaben ≥ 50 ng ist eine genaue Quantifizierung der ursprünglichen DNA-Probe nicht erforderlich, da die Insertfragmentgröße nicht betroffen ist. Dies spart Zeit und Kosten für Kits und Reagenzien.

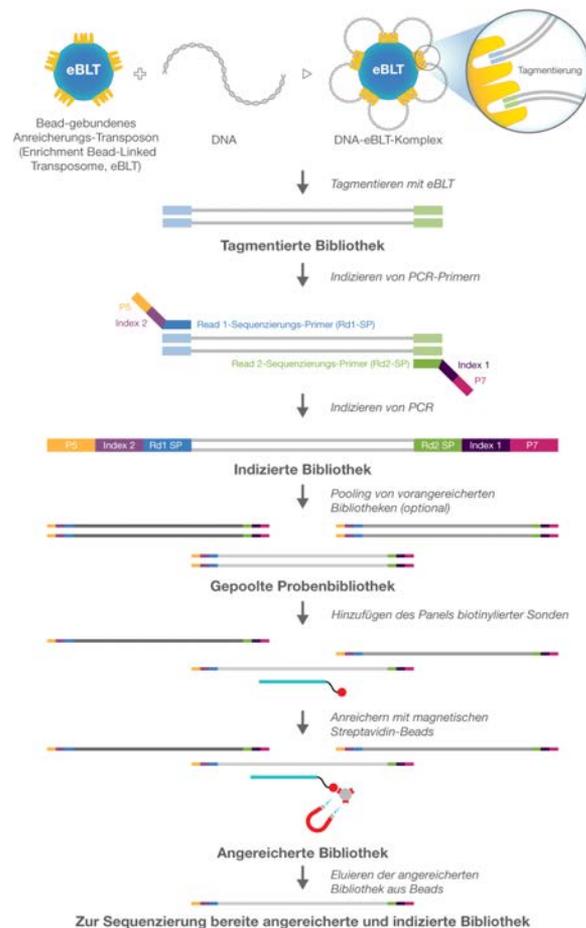
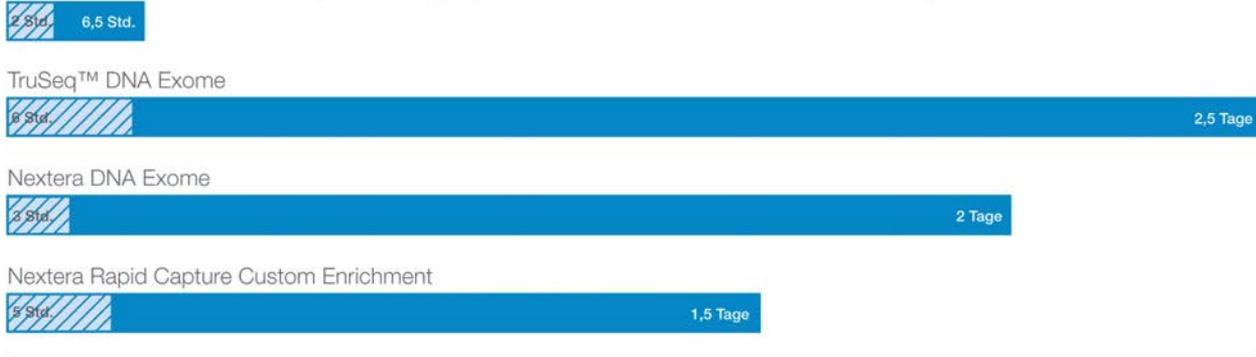


Abbildung 1: Nextera Flex for Enrichment-Assay-Chemie: Eine durch eBLTs vermittelte einheitliche Tagmentierungsreaktion, gefolgt von einer Einzelhybridisierungsreaktion ermöglicht einen schnellen und flexiblen Workflow.

Nextera Flex for Enrichment (anwendungsspezifische oder Exom-Panels von Illumina)



Manueller Aufwand Gesamtdauer des Workflows

Abbildung 2: Nextera Flex for 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 1: Nextera Flex for 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	96 eindeutige doppelte Indizes (Unique Dual Indexes, UDIs)
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

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

Die Lyseprotokolle beinhalten beadbasierte Reagenzien und erfordern weniger als 30 Minuten manuellen Aufwand.



Illumina bietet ein breit gefächertes Angebot an Serviceleistungen für die unterschiedlichsten Anwendungen, einschließlich Servicepartnerschaften und -programmen, Schulungen sowie Beratung hinsichtlich des gesamten NGS-Workflows. [Weitere Informationen >](#)

Optimale Leistungsfähigkeit auf den Sequenziersystemen von Illumina

Die robuste und unkomplizierte Nextera Flex for 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). Nextera Flex for Enrichment ist für Systeme mit hohem Durchsatz optimiert (Abbildung 3) (Tabelle 4).

Schnellster Anreicherungs-Workflow von Illumina

Die Nextera Flex for 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 Nextera Flex for Enrichment-Bibliotheksvorbereitung aus Vollblut geprüfte sowie validierte optionale Flex Lysis Reagent Kit ist in den Workflow integriert und ermöglicht damit maximale Effizienz.



Abbildung 3: Nextera Flex for Enrichment bietet eine optimierte Performance auf allen Illumina-Sequenziersystemen: Die Nextera Flex for Enrichment-Lösung ist mit allen Illumina-Sequenziersystemen kompatibel, einschließlich Produktionssystemen mit hohem Durchsatz.

Tabelle 2: Vergleich der Anreicherungs-Workflows von Illumina

	Nextera Flex for Enrichment	TruSeq RNA Exome	Nextera DNA Exome	Nextera Rapid Capture Custom Enrichment
Integrierte DNA-Option ^a	✓	–	–	–
Flexibler, großer DNA-Zugabebereich	✓	–	–	–
Bibliotheksnormalisierung enthalten ^b	✓	–	–	–
FFPE-kompatibel	✓	✓	–	–
Erforderliche DNA-Zugabe	10–1.000 ng	100 ng	50 ng	50 ng
Gesamtdauer von Bibliotheksvorbereitung und Anreicherung ^c	ca. 6,5 Stunden	2,5 Tage	2 Tage	1,5 Tage
Insertgröße ^d	150–220 bp	150 bp	150–220 bp	230 bp
Probenindexsätze	96 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 von Bibliotheksvorbereitung und Anreicherung umfasst Bibliotheksvorbereitung, Bibliotheksnormalisierung/-Pooling und Anreicherung
- d. Degradierete FFPE-DNA kann zu kleineren Insertgrößen führen

Tabelle 3: Leistungsvergleich^a

Parameter ^b	Nextera Flex for Enrichment	Nextera Flex for Enrichment	Nextera Flex for Enrichment	TruSeq DNA Exome	Nextera DNA Exome
Panel	Illumina Exome Panel	Exome Panel X	Exome 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
Read-Anreicherung mit Auffüllung (On-Target) ^c	85 %	91 %	91 %	85 %	75 %
Durchschnittliche Fragmentlänge	ca. 200 bp	ca. 200 bp	ca. 200 bp	ca. 150 bp	ca. 200 bp
Coverage bei 20x	93 %	96 %	97 %	90 %	85 %
Coverage-Einheitlichkeit ^c	95 %	97 %	98 %	85 %	85 %
Read-Tiefe je Probe	30 Mio. PF-Cluster	25 Mio. PF-Cluster	20 Mio. PF-Cluster	40 Mio. PF-Cluster	40 Mio. PF-Cluster
SNV-Präzision	99 %	99 %	99 %	99 %	99 %
SNV-Recall	94 %	94 %	95 %	89 %	91 %

- a. Daten sind Beispielvergleichsdaten. Die tatsächlichen Leistungsspezifikationen können 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. Zusätzliche Informationen finden Sie im Benutzerhandbuch zur BaseSpace App³.

Tabelle 4: Probendurchsatz je Fließzelle mit Nextera Flex für Enrichment

Panel	iSeq 100-System	MiniSeq-System	MiSeq-System			NextSeq-Serie		
		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 Cardio	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

Abkürzungen: Mittel, mittlere Ausgabe; Hoch, hohe Ausgabe; NE, nicht empfohlen

Panel	NextSeq-Serie		HiSeq-Serie		NovaSeq 6000-System			
	Mittel Hoch	2500 SL/HL	3000/4000	SP	S1	S2	S4	
Illumina Exome	5	16	12/80	100	64	128	164	384
Exome Panel X	5	16	12/80	100	64	128	164	384
Exome Panel Y	6	20	15/100	125	80	160	205	384

Abkürzungen: Mittel, mittlere Ausgabe; Hoch, hohe Ausgabe; SL, Schnelllaufmodus; HL, Hochleistungs-Modus (v4)

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 Nextera Flex for Enrichment-Lösung für feste und anwendungsspezifische Panels unterschiedlicher Größen (einschließlich Gesamtexom-Sequenzierung) für komplexe Studiendesigns in unterschiedlichen Bereichen (Abbildung 6). Des Weiteren ist Nextera Flex for Enrichment mit Anreicherungs sonden/-panels von Illumina und Drittanbietern kompatibel, was die Übertragbarkeit von Inhalten ermöglicht und eine höhere Flexibilität bietet.

Genauere Daten

Nextera Flex for Enrichment generiert äußerst einheitliche und konsistente Insertgrößen über einen großen DNA-Zugabebereich hinweg und erzielt einheitliche und konsistente Bibliotheksergebnisse.¹ Außerdem bietet Nextera Flex for Enrichment eine hohe Coverage-Einheitlichkeit sowie eine Padded-Read-Anreicherung für anwendungsspezifische, feste und Exom-Panels (Abbildung 4). Nextera Flex for Enrichment ermöglicht im Vergleich zu anderen Anreicherungs-lösungen von Illumina genaue Recall- und Präzisionswerte für

Einzelnukleotidvarianten (Single Nucleotide Variant, SNV) (Abbildung 5 und Tabelle 3) und Insertionen/Deletionen (Indels).

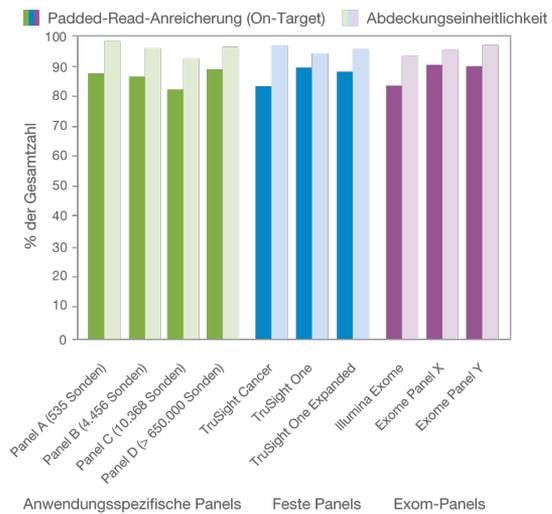


Abbildung 4: Hohe Coverage-Einheitlichkeit und Padded-Read-Anreicherung:

Nextera Flex for Enrichment zeichnet sich durch eine hohe Coverage-Einheitlichkeit sowie On-Target-Padded-Read-Anreicherung für anwendungsspezifische, feste und Exom-Panels aus.

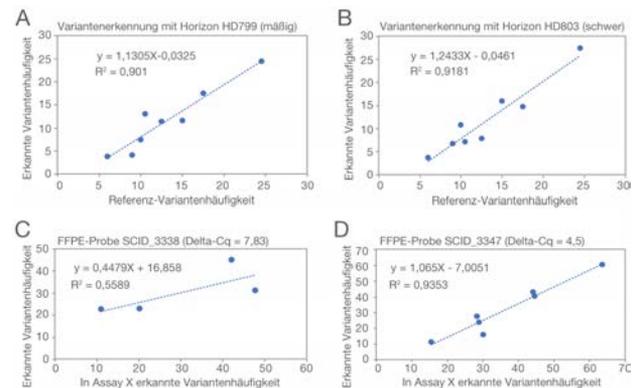


Abbildung 5: Genaues Varianten-Calling: Nextera Flex for Enrichment ermöglicht das Calling seltener somatischer Varianten bei Zelllinien-FFPE-Kontrollproben aus humaner Referenz-DNA (A, B) und realen FFPE-Proben mit beobachteter Varianten-häufigkeit (C, D) und zeigt eine signifikante Korrelation mit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



Abbildung 6: Breites Anwendungsspektrum mit Nextera Flex for Enrichment: Nextera Flex for Enrichment eignet sich für ein breites Anwendungsspektrum. Hierzu gehören feste und anwendungsspezifische Panels sowie die Gesamt-Exomsequenzierung.

Zusammenfassung

Nextera Flex for Enrichment zeichnet sich durch den schnellsten Workflow bei den Anreicherungs-lösungen von Illumina aus. Die benutzerfreundliche und automatisierbare Lösung eignet sich für Benutzer aller Erfahrungsniveaus und bietet einen gängigen Workflow für zahlreiche Versuchsdesigns. On-Bead-Tagmentierungschemie unterstützt einen großen DNA-Zugabebereich, verschiedene Proben-typen und eine breite Palette an Anwendungen wie feste Panels, anwendungsspezifische Panels und Gesamtexom-Sequenzierung. Des Weiteren ist Nextera Flex for Enrichment mit Anreicherungs-sonden/-panels von Illumina und Drittanbietern kompatibel, was die Übertragbarkeit von Inhalten ermöglicht. Die innovative Nextera Flex for Enrichment-Lösung bietet zusammen mit der Leistungsfähigkeit der Illumina-SBS-Chemie eine optimale zielgerichtete Anreicherung und Exomsequenzierung.

Quellen

1. Illumina (2017). *Nextera DNA Flex Library Preparation Kit Datenblatt*. Aufgerufen am 10. September 2018.
2. Illumina (2017). *BWA Enrichment v2.1 BaseSpace App Handbuch*. Aufgerufen am 28. September 2018.

Bestellinformationen

Bestellen Sie die Nextera Flex-Produkte online unter www.illumina.com.

Produkt	Katalog-Nr.
Nextera DNA Flex Pre-Enrichment Library Prep and Enrichment Reagents 96 Proben (8, 12-Plex-Anreicherungsreaktionen)	20025524
Nextera DNA Flex Pre-Enrichment Library Prep and Enrichment Reagents 16 Proben (16, 1-Plex-Anreicherungsreaktionen)	20025523
Nextera DNA Flex Pre-Enrichment Library Prep Reagents (96 Proben)	20025520
Nextera DNA Flex Pre-Enrichment Library Prep Reagents (16 Proben)	20025519
Flex Lysis Reagent Kit (für Blutlyse)	20018706
IDT for Illumina - Nextera DNA Unique Dual Indexes - Set A (96 Indizes, 96 Proben)	20027213
IDT for Illumina - Nextera DNA Unique Dual Indexes - Set B (96 Indizes, 96 Proben)	20027214
IDT for Illumina - Nextera DNA Unique Dual Indexes - Set C (96 Indizes, 96 Proben)	20027215
IDT for Illumina - Nextera DNA Unique Dual Indexes - Set D (96 Indizes, 96 Proben)	20027216
IDT for Illumina - Nextera DNA Unique Dual Indexes - Set A-D (384 Indizes, 384 Proben)	20027217
Illumina Exome Panel (8 Anreicherungsreaktionen)	20020183
TruSight Cancer (8 Anreicherungsreaktionen)	FC-121-0202
TruSight One (6 Anreicherungsreaktionen)	20029227
TruSight One Expanded (6 Anreicherungsreaktionen)	20029226
TruSight Cardio (8 Anreicherungsreaktionen)	20029229
TruSeq Neurodegeneration (8 Anreicherungsreaktionen)	20029550
Illumina Custom Enrichment Panel	20025371

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

© 2018 Illumina, Inc. Alle Rechte vorbehalten. Alle Marken sind Eigentum von Illumina, Inc. bzw. der jeweiligen Eigentümer. Weitere Informationen zu Marken finden Sie unter www.illumina.com/companyp/legall.html. Pub.-Nr. 770-2018-002-B DEU QB8890

