

Illumina DNA Prep with Enrichment

Schneller, integrierter
Workflow für eine
Vielzahl von Target-
Anreicherungsanwendungen

- Ermöglicht einen schnellen Workflow zur Bibliotheksvorbereitung und -anreicherung mit einer Gesamtdurchlaufzeit von ca. 6,5 Stunden
- 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 -anreicherungs-funktionen und ist für Anwendungen im Bereich zielgerichtete Anreicherung und Exom-Sequenzierung bestimmt. Sie bietet außerordentliche Flexibilität im Hinblick auf Zugabetypp 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-Zugabetypp	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

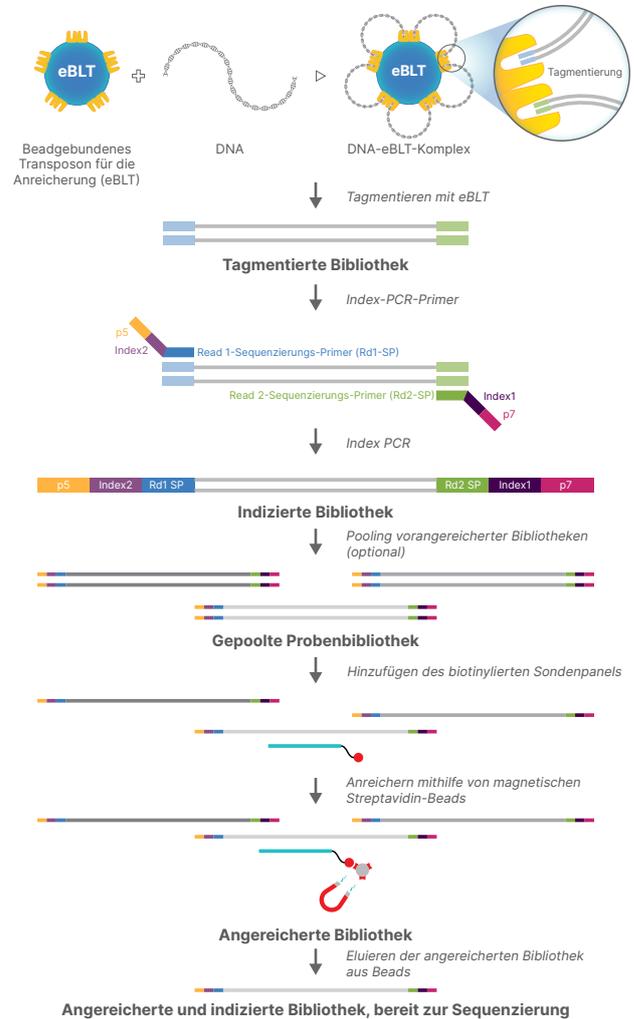


Abbildung 1: Illumina-Tagmentierungsschema: Die eBLT-vermittelte einheitliche Tagmentierungsreaktion und die anschließende Einzelhybridisierungsreaktion sorgen für einen schnellen und flexiblen Workflow.

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.

Schneller Anreicherungs-Workflow

Die Illumina DNA Prep with Enrichment-Lösung unterstützt Liquid-Handling-Systeme für die automatisierte Bibliotheksvorbereitung und sorgt für einen schnellen, optimierten Workflow mit wenigen Schritten, geringem manuellen Aufwand und kurzen Durchlaufzeiten ([Abbildung 2](#), [Tabelle 2](#)).

Tabelle 2: Anreicherungs-Workflow von Illumina

Parameter	Illumina DNA Prep with Enrichment
Integrierte DNA-Option ^a	✓
Flexibler, großer DNA-Zugabebereich	✓
Bibliotheksnormalisierung enthalten ^b	✓
Für FFPE-Proben geeignet	✓
DNA-Zugabe	10–1.000 ng
Gesamtdauer von Bibliotheksvorbereitung und Anreicherung ^c	ca. 6,5 h
Insertgröße ^d	150–220 bp
Probenindexsets	384 eindeutige 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.

Geschwindigkeit, Anwenderfreundlichkeit, Flexibilität



Schneller Workflow

ca. 2 Stunden HOT
ca. 6,5 Stunden TAT



Viele Probenotypen

gDNA, Blut,
Speichel, FFPE



Normalisierte Ausgabe

Bead-basierte
Bibliotheksnormalisierung



Flexible Panel-Optionen

Feste oder benutzerdefinierte
Panels, Exom-Panels, Panels von
Illumina oder Drittanbietern



Komplettlösung

DRAGEN-Sekundäranalyse
Variant Interpreter
Automatisierungsskripte

Abbildung 2: Illumina DNA Prep with Enrichment bietet einen schnellen und flexiblen Anreicherungs-Workflow von Illumina: Die Workflow-Zeiten basieren auf der Verarbeitung von 12 Proben bei der 12-Plex-Anreicherung mit manuellem Workflow. Die Dauer kann abhängig von der verwendeten Ausstattung, der Anzahl der verarbeiteten Proben sowie den Automatisierungsverfahren oder der Erfahrung des Anwenders variieren. HOT, Hands-on Time (manueller Aufwand); TAT, Turnaround Time (Durchlaufzeit); FFPE, formalinfixiertes, in Paraffin eingebettetes Gewebe.

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](#)).

Tabelle 3: Leistungsvergleich zwischen Anreicherungspanels^a

Parameter ^b	Illumina Exome Panel	Exom-Panel X	Exom-Panel Y
Panelgröße	45 Mb	39 Mb	33 Mb
Sondengröße	80 bp	120 bp	120 bp
Padded-Read-Anreicherung (On-Target) ^d	85 %	91 %	91 %
Median der Fragmentlänge	ca. 200 bp	ca. 200 bp	ca. 200 bp
Coverage bei 20×	93 %	96 %	97 %
Coverage-Einheitlichkeit ^d	95 %	97 %	98 %
Read-Tiefe je Probe ^e	30 Mio CPF	25 Mio CPF	20 Mio CPF
SNV-Präzision	99 %	99 %	99 %
SNV-Recall	94 %	94 %	95 %

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

Panel	Target-Coverage	iSeq 100 System	MiniSeq System		MiSeq System			NextSeq 550 System	
			Mittel	Hoch	v2	v2 Nano/Micro	v3	Mittel	Hoch
Feste Panels									
TruSight™ Cancer	395-fach	4	8	24	12	1/4	24	96	384
TruSight Hereditary Cancer	395-fach	4	8	24	12	1/4	24	96	384
Anwendungsspezifische Panels^b									
2.000 Sonden	450-fach	6	12	37	22	NR/6	37	260	384
5.000 Sonden	370-fach	3	6	18	11	NR/3	18	65	200
10.000 Sonden	180-fach	3	6	19	11	NR/3	19	33	100
50.000 Sonden	100-fach	NE	2	7	4	NE	7	35	107
100.000 Sonden	100-fach	NE	NE	3	2	NE	3	17	53
300.000 Sonden	100-fach	NE	NE	NE	NE	NE	NE	6	18

Panel	Target-Coverage	NextSeq 2000 System			NovaSeq 6000 Series			NovaSeq X Series		
		P1	P2	P3	S1	S2	S4	1.5B	10B	25B
Anwendungsspezifische Panels^b										
2.000 Sonden	450-fach	148	593	1.778	2.370	6.074	14.815	2.370	14.815	38.519
5.000 Sonden	370-fach	72	288	865	1.153	2.955	7.207	1.153	7.207	18.739
10.000 Sonden	180-fach	74	296	889	1.185	3.037	7.407	1.185	7.407	19.259
50.000 Sonden	100-fach	27	107	320	427	1.093	2.667	427	2.667	6.933
100.000 Sonden	100-fach	13	53	160	213	547	1.333	213	1.333	3.467
300.000 Sonden	100-fach	4	18	53	71	182	444	71	444	1.156

a. Mittel, mittlere Ausgabe; Hoch, hohe Ausgabe; NE, nicht empfohlen

b. Die Berechnungen der anwendungsspezifischen Panelproben beziehen sich auf die angegebenen Target-Coverage-Tiefen, wobei doppelsträngige 120-bp-DNA-Oligo-Panels für die Target-Erfassung (Illumina Custom Enrichment Panel v2) bei einer Anreicherungs-effizienz von 80 % und einer Read-Längenchemie von 2 × 101 bp verwendet werden. 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.

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).

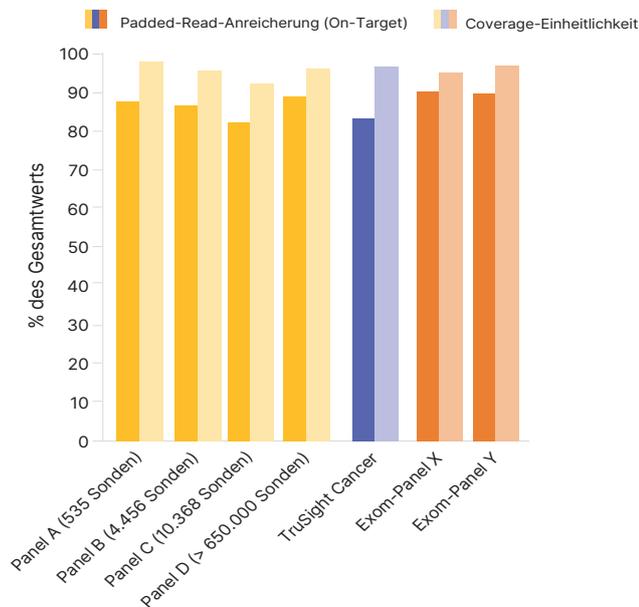


Abbildung 4: Hohe Coverage-Einheitlichkeit und Padded-Read-Anreicherung: ILLUMINA DNA Prep with Enrichment zeichnet sich durch eine hohe Coverage-Einheitlichkeit sowie On-Target-Padded-Read-Anreicherung für anwendungsspezifische (Panel A–D), feste (TruSight Cancer) und Exom-Panels aus.

Anwendungsspezifische Anreicherungspanels von ILLUMINA

Anwendungsspezifische Anreicherungspanels von ILLUMINA bieten schnelle, flexible Inhalte für verschiedene gezielte Anreicherungsworkflows. Erstellen Sie umfassende anwendungsspezifische Panels, Spike-in-Panels als Ergänzung zu Exom- oder anderen festen Panels oder passen Sie ein Paneldesign an Ihre Anforderungen an. Gestalten Sie Inhalte mit DesignStudio™, einem kostenlosen Online-Tool, und erstellen Sie Panels, die für Ihre Inhalte von Interesse spezifisch sind. Erhalten Sie während des Designs dynamisches Feedback, um die Coverage zu optimieren. Designunterstützung für nicht humane Inhalte bietet das ILLUMINA Concierge-Designteam. ILLUMINA Custom Enrichment Panel v2, das neueste verfügbare Sondenformat, ermöglicht doppelsträngige Sonden mit 120 bp, die eine hohe On-Target-Anreicherung und Einheitlichkeit bieten und mit ILLUMINA DNA Prep with Enrichment sowie anderen Anreicherungs-vorbereitungen kompatibel sind ([Abbildung 6](#), [Tabelle 5](#)).

DNA-Anreicherung für ein breites Anwendungsspektrum

Mit der Kombination aus überragender Anreicherungsleistung sowie der bewährten Genauigkeit der SBS-Chemie (Sequencing by Synthesis, Sequenzierung durch Synthese) und der XLEAP-SBS™-Chemie 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 7](#)).

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.

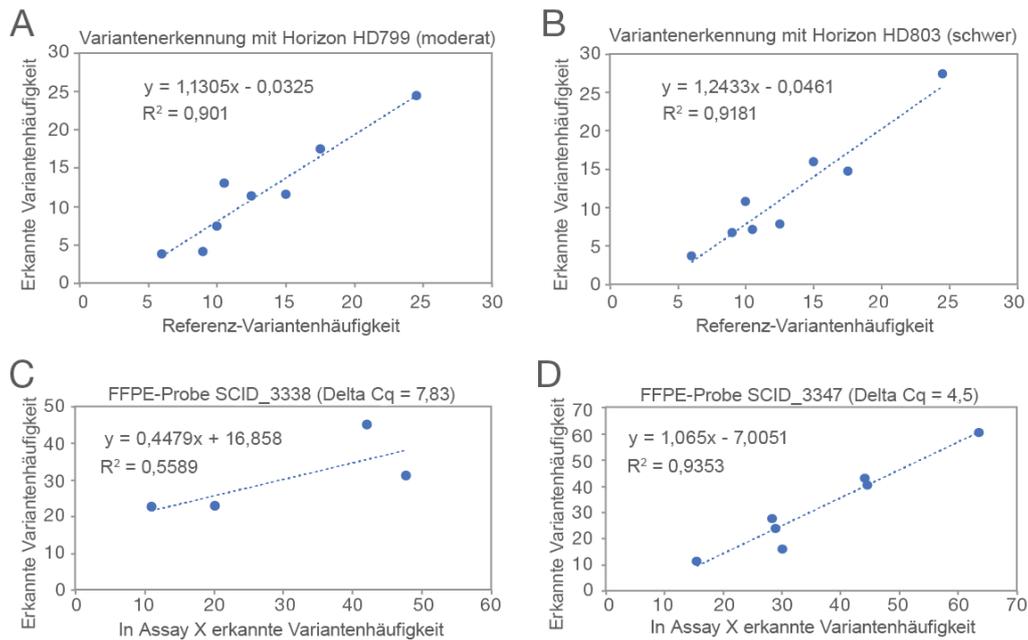


Abbildung 5: Genaues Varianten-Calling: Illumina DNA Prep with Enrichment ermöglicht das Calling seltener somatischer Varianten bei Zelllinien-FFPE-Kontrollproben aus humaner Referenz-DNA (a, B) und realen FFPE-Proben mit beobachteter Variantenhäufigkeit (c, D) und zeigt eine signifikante Korrelation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

Tabelle 5: Anwendungsspezifische Anreicherungspanels von Illumina

Parameter	Illumina Custom Enrichment Panel	Illumina Custom Enrichment Panel v2
Panelgröße	2.000–67.000 Sonden	100–1.000.000 Sonden
Oligo-Format	80-mer-Oligo-Einzelstrangsonden	Doppelsträngige 120-bp-Oligo-Sonden ^a
> 99,9 % der Sonden vorhanden, QS bestätigt ^b	Nein	Ja
Kompatible Illumina-Bibliotheksvorbereitungskits	Illumina DNA Prep with Enrichment	Illumina DNA Prep with Enrichment Illumina Cell-Free DNA Prep with Enrichment Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment Illumina Complete Long Reads with Enrichment
Panel-Design-Tool	DesignStudio oder Concierge-Designteam	DesignStudio oder Concierge-Designteam
Durchlaufzeit	5–7 Wochen	3–6 Wochen
Panel-Kosten	\$\$\$	\$

a. Doppelsträngige 80-bp-Oligo-Sonden für mikrobielle Sequenzierungsanwendungen können über das Concierge-Designteam entwickelt werden.
b. Bestätigt durch Sequenzierung der nächsten Generation (NGS, Next-Generation Sequencing).

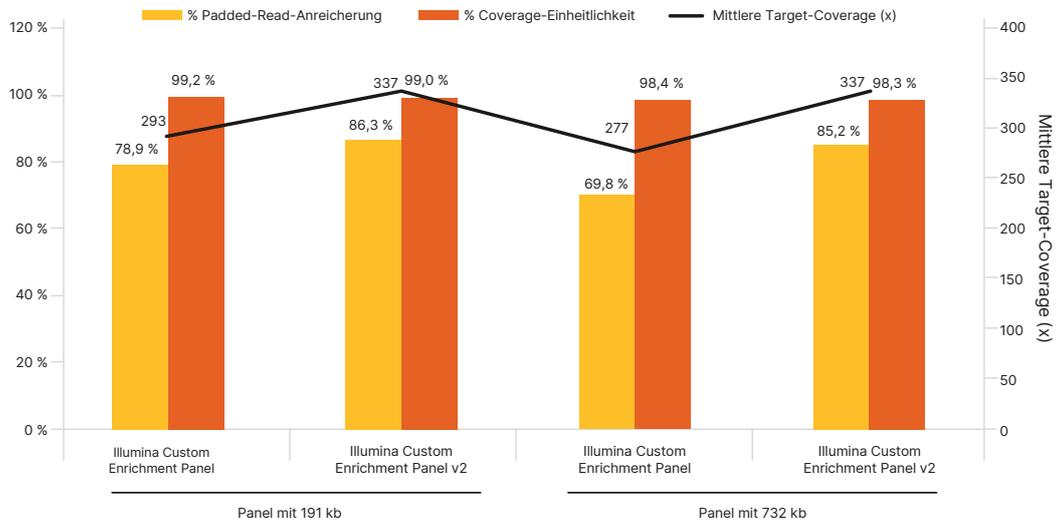


Abbildung 6: Performance des Illumina Custom Enrichment Panel mit Illumina DNA Prep with Enrichment: Das Illumina Custom Enrichment Panel v2 mit Illumina DNA Prep with Enrichment bietet im Vergleich zum Illumina Custom Enrichment Panel eine höhere Padded-Read-Anreicherung.

Tabelle 6: Breites Anwendungsspektrum mit Illumina DNA Prep with Enrichment

Panel-Typ	Anwendung
Feste Panels	TruSight Cancer
	TruSight Hereditary Cancer
Anwendungsspezifische Panels	Anreicherungspanels erstellen, die für Ihre Targets von Interesse spezifisch sind
	Neue anwendungsspezifische Panels im DesignStudio-Tool entwickeln
	Panels von Illumina oder Drittanbietern mit 500 bis 675.000 ein- oder doppelsträngigen biotinylierten Sonden verwenden
	Mit ein- oder doppelsträngigen 80-mer- oder 120-mer-Oligos kompatibel
	Zum Bestellen von Illumina Custom Enrichment Panel und Illumina Custom Enrichment Panel v2 das DesignStudio-Tool verwenden
Exom-Panels	Illumina Exome Panel
	In BaseSpace Sequence Hub stehen Datensätze für das Illumina Exome Panel und Exom-Panels von Drittanbietern zur Verfügung

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](#)

[Anwendungsspezifische Anreicherungs-panels von Illumina](#)

[DesignStudio-Tool](#)

Bestellinformationen

Produkt	Katalog-Nr.
Illumina DNA Prep with Enrichment, (S) Tagmentation (96 samples) ^a	20025524
Illumina DNA Prep with Enrichment, (S) Tagmentation (16 samples) ^a	20025523
Illumina DNA Prep, (S) Tagmentation (96 samples) ^b	20025520
Illumina DNA Prep, (S) Tagmentation (16 samples) ^b	20025519
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
TruSeq Hereditary Cancer (8 enrichment reactions)	20029551
Illumina Custom Enrichment Panel v2 (32 µl, 120 bp) ^c	20073953
Illumina Custom Enrichment Panel v2 (384 µl, 120 bp) ^c	20073952
Illumina Custom Enrichment Panel v2 (1536 µl, 120 bp) ^c	20111339
Illumina Custom Enrichment Panel ^c	20025371

- a. Die Kits enthalten Bibliotheksvorbereitungs- und Hybridisierungsreagenzien für acht Hybridisierungsreaktionen mit 12 Proben pro Hybridisierung (12-Plex). Reinigungsbeads und die Index-Adapterplatte sind separat erhältlich.
- b. Die Kits enthalten nur Bibliotheksvorbereitungsreagenzien und sollten mit den vollständigen Bibliotheksvorbereitungs- und Hybridisierungskits kombiniert werden, um alternative Hybridisierungsplexitäten zu unterstützen.
- c. Anwendungsspezifische Anreicherungspanels für humane Proben können mit dem Illumina DesignStudio-Tool erstellt werden. Designunterstützung für nicht humane Inhalte bietet das Illumina Concierge-Designteam. Wenden Sie sich an den Vertrieb von Illumina, um weitere Informationen zu Concierge-Designservices zu erhalten.

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. 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.



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.
M-GL-02147 DEU v2.0