

# TruSight™ One-Sequenzierungspanels

Umfassende kuratierte Panels mit hoher analytischer Sensitivität und Spezifität zum Ermitteln spezifischer Regionen des Exoms mit Krankheitsassoziationen.

## Vorteile

- **Umfangreiche Inhalte und hohe Coverage**  
Die mindestens 20-fache Coverage und zwei Panel-Optionen ermöglichen das Targeting von über 6.700 Genen, die mit Humanerkrankungen assoziiert sind.
- **Einzelnes Panel statt iterativer Tests**  
Konsolidieren Sie Ihr Sequenzierungsportfolio mit einem Assay und einem Workflow.
- **Intuitive Hochleistungsannotation und -berichterstellung**  
Vereinfachen Sie die biologische Interpretation mit benutzerdefinierter Genfilterung und Berichterstellung.

## Einleitung

Die TruSight One-Sequenzierungspanels konzentrieren sich auf exonische Zielregionen, die bekannte krankheitsverursachende Mutationen enthalten. Durch den Fokus auf die Teilmenge der Gene mit bekannten Erberkrankungsassoziationen innerhalb des Exoms ist im Vergleich zur Gesamtgenom- oder Gesamtexom-Sequenzierung eine effizientere Variantenermittlung möglich.<sup>1</sup> Die TruSight One-Panels vereinen Daten aus mehreren genomischen Datenbanken und die Prüfberatung durch Experten der Branche aus der ganzen Welt. So wird ein umfassender Satz an Zielregionen mit Krankheitsassoziationen bereitgestellt, der die am häufigsten bestellten Krankheitsgenpanels abdeckt.

Mit den TruSight One- und TruSight One Expanded-Panels erhalten klinische Forschungslabore eine kostengünstige Lösung für ein vielfältiges Assay-Portfolio. | Forscher können alle Gene in einem Panel untersuchen oder sich auf eine bestimmte Auswahl konzentrieren. Labore erhalten einen Assay, mit dem sie ihr Testspektrum erweitern, Workflows optimieren oder ein komplettes Portfolio an Sequenzierungsoptionen zusammenstellen können.

## TruSight One-Sequenzierungspanel

Genomische Ziele mit Krankheitsassoziationen wurden in der Human Gene Mutation Database (HGMD),<sup>2</sup> im Katalog Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM),<sup>3</sup> unter GeneTests.org,<sup>4</sup> in zuvor entwickelten Illumina TruSight-Sequenzierungspanels<sup>5</sup> und durch direkte Eingabe von Branchenexperten identifiziert (Abbildung 1). Das TruSight One-Sequenzierungspanel deckt 12 Mb genomischen Inhalt ab, darunter sind mehr als 4.800 mit spezifischen klinischen Phänotypen assoziierte Gene. So können Forscher ihre Zeit und ihre Ressourcen für Gene mit bekannten Krankheitsassoziationen nutzen.

## TruSight One Expanded-Sequenzierungspanel

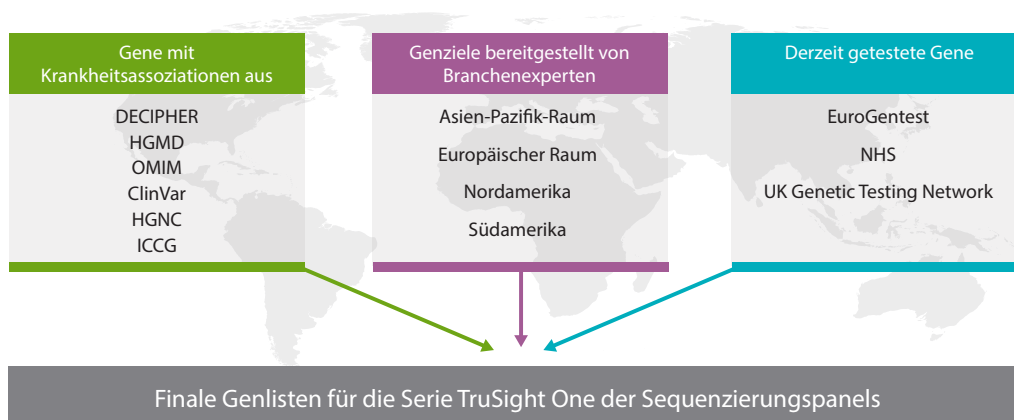
Das TruSight One Expanded-Sequenzierungspanel wurde unter denselben Richtlinien wie das Originalpanel entwickelt. Es wurde weiter optimiert, um die Coverage von Regionen zu verbessern, bei denen eine suboptimale Leistung bekannt ist. Das Expanded-Panels weist einen Zielinhalt von 16,5 Mb auf, einschließlich der über 4.800 ursprünglichen und ca. 1.900 zusätzlichen Gene mit neuen Krankheitsassoziationen in den Referenzdatenbanken.

## Umfangreiche Inhalte und hohe Coverage

### Sondendesign ermöglicht eine umfassende Coverage

TruSight One-Sequenzierungspanels bieten ein höchst optimiertes Sondendesign, das die simultane Analyse mehrerer Varianten ermöglicht. Beide Panels umfassen mehr als 125.000 Sonden, die in Hinblick auf das menschliche Referenzgenom NCBI37/hg19 konstruiert wurden.<sup>6</sup> TruSight One-Sonden wurden über ein iteratives Entwicklungsverfahren mit funktionalen Tests erstellt, um eine optimale Leistung und eine tiefe Coverage sicherzustellen. Das Ergebnis ist eine mindestens 20-fache Coverage bei 95 % der Zielregionen im Panel (Tabelle 1).\*

\* Der Prozentwert wird durch Mittelung der mittleren Coverage für jedes Exon und nicht für jede Base berechnet.



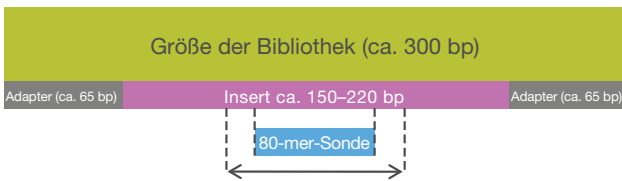
**Abbildung 1: Beitragende zu den globalen Geninhalten der TruSight One-Sequenzierungspanels:** Der Fokus der TruSight One-Panels liegt auf exonischen Regionen des Genoms mit Varianten, die bekannte Krankheitsassoziationen aufweisen. Durch das Verwenden von Daten aus mehreren öffentlichen Quellen wird sichergestellt, dass die Panels alle aktuell in klinischen Forschungseinrichtungen geprüften Gene abdecken. Akronyme: Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans using Ensembl Resources (DECIIPHER), HUGO Gene Nomenclature Committee (HGNC), International Collaboration for Clinical Genomics (ICCG) und National Health Service (NHS).

**Tabelle 1: TruSight One-Sequenzierungspanel – Spezifikationen**

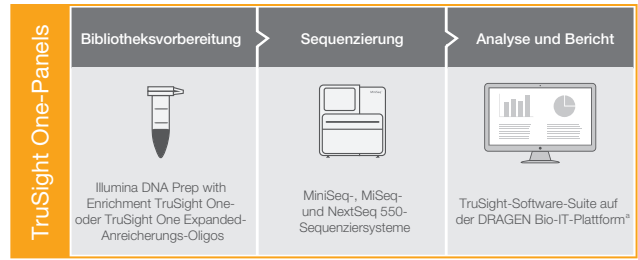
Parameter	TruSight One	TruSight One Expanded
Kumulative Größe der Zielregion	12 Mb	16,5 Mb
Anzahl der Zielgene	4.811	6.704
Anzahl der Ziel-Exons	ca. 62.000	ca. 86.000
Sondengröße	80-mer	80-mer
Anzahl der Sonden	125.395	183.809
Fragmentgröße	150–220 bp	150–220 bp
Minimale Coverage <sup>a</sup>	≥ 20x	≥ 20x
Durchschnittliche Coverage	> 100x	> 100x

a. 95 % der Zielregionen haben in der Regel eine mehr als 20-fache Coverage (eine Coverage mit prozentual besserem Ergebnis ist bei weniger Proben je Lauf möglich).

Die 80-mer-Sonden zielen auf Illumina DNA Prep with Enrichment-Bibliotheken mit | mittleren Fragmentgrößen von ca. 300 bp und Insertgrößen von 150–220 bp und bieten einen breiten Basenumfang über den Mittelpunkt der Sonde hinaus (Abbildung 2).<sup>7</sup> So decken die Panels zusätzlich zu den Hauptexonregionen die flankierenden Exonregionen ab, die wichtige biologische Informationen enthalten können (z. B. Spleißstellen, regulatorische Regionen).



**Abbildung 2: TruSight One-Sondenumfang:** Mit einer 300-bp-DNA-Bibliothek (Insertgröße von 150–220 bp) reichert die Sonde einen weiten Bereich an Basen um ihren Mittelpunkt herum an.



**Abbildung 3: TruSight One-Workflow:** Der Illumina TruSight One-Workflow bietet eine Lösung für jeden Schritt – von der Bibliotheksvorbereitung bis zur Datenanalyse und der Datenberichterstellung.

a. Die TruSight Software Suite ist als kostenpflichtige SaaS-Plattform (Software-as-a-Service) verfügbar.

**Hohe Coverage auf zahlreichen Sequenzierungsgeräten**

Die TruSight One-Panels sind bestens für Illumina-Tischsequenzierer geeignet. Tabelle 2 gibt den empfohlenen Probendurchsatz für die Systeme MiniSeq™, MiSeq™ und NextSeq™ 550 an. Die TruSight One-Panels liefern bei allen Illumina-Sequenziersystemen stets eine hohe Coverage-Tiefe. Da der Fokus der TruSight One-Panels auf der Sequenzierung einer Teilmenge der Genome liegt (z. B. Gene mit Phänotypassoziationen), können diese Gene bzw. Zielregionen mit hoher Coverage-Tiefe sequenziert werden, wodurch sich zuverlässige Ergebnisse erzielen lassen (Tabelle 3).

**Optimierter, vollständig unterstützter Workflow**

Jeder Schritt des TruSight One-Panel-Workflows von der Bibliotheksvorbereitung bis zur abschließenden Datenanalyse ist so optimiert, dass ein DNA-zu-Daten-Versuch in nur zwei Tagen durchgeführt werden kann (Abbildung 3).<sup>†</sup> TruSight One-Panels werden als modulare Kits angeboten, die ausschließlich Anreicherungs-Oligos enthalten. Die Panels lassen sich problemlos in Illumina DNA Prep with Enrichment, (S) Tagmentation-Kits und IDT für Illumina DNA UD Indexes (separat erhältlich) integrieren. Der modulare Ansatz gewährleistet eine höhere Flexibilität bei der Probenverarbeitung.

<sup>†</sup> Durchschnittliche Dauer für ein spezifisches Gen-Panel. Die Zeiten können je nach Laufkonfiguration variieren.

**Tabelle 2: Empfohlener Probendurchsatz für TruSight One-Sequenzierungspanels**

	Anzahl der Proben pro Lauf <sup>a</sup> nach Gerät und Kit-Konfiguration			
	MiniSeq-System (hohe Leistung)	MiSeq System (v3-Reagenzien)	NextSeq 550-System (mittlere Leistung)	NextSeq 550-System (hohe Leistung)
TruSight One Panel	2	3	12	36
TruSight One Extended Panel <sup>b</sup>	1	1	7	24

a. Read-Längen von bis zu 2 x 150 bp; ausgehend von 100-facher mittlerer Coverage der Zielinhalte  
 b. Höherer Durchsatz auf dem NovaSeq™ 6000-System (96 Proben pro Lauf, S1-Fließzelle) für das TruSight One Expanded-Panel

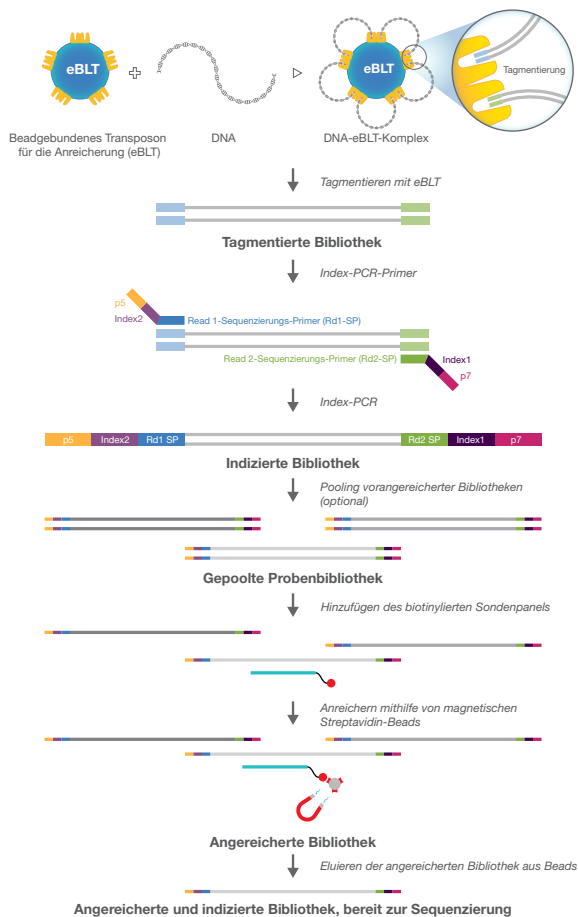
**Tabelle 3: Große Coverage-Tiefe mit TruSight One-Sequenzierungspanels**

	Coverage-Einheitlichkeit	Ziel-Coverage bei				Read-Tiefe je Probe (Reads nach Filterung)
		1x	10x	20x	50x	
TruSight One-Panel	95,3 %	99,1 %	98,3 %	97,6 %	94,7 %	22 Mio.
TruSight One Extended-Panel	96,8 %	99,4 %	98,9 %	98,6 %	97,5 %	33 Mio.

## Einfache, effiziente Bibliotheksvorbereitung

Eine entscheidende Komponente bei Illumina DNA Prep with Enrichment ist die On-Bead-Tagmentierung (Abbildung 4). Diese liefert mithilfe beadgebundener Transposons eine einheitliche Tagmentierungsreaktion. Diese Methode bietet mehrere signifikante Vorteile:

- Für genomische DNA-Zugabemengen  $\geq 50$  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 Zugaben von 50–1.000 ng genomischer DNA 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.



**Abbildung 4: TruSight One und Illumina-Tagmentierungsschemie:** Die TruSight One-Anreicherungs-Oligos nutzen die Illumina On-Bead-Tagmentierungsschemie und ermöglichen so ein schnelles, einfaches Verfahren zur Anreicherung von Zielgenen. Der Workflow vereint Schritte zur Bibliotheksvorbereitung und zur Zielanreicherung und kann in 1,5 Stunden durchgeführt werden.

## Schnellster Anreicherungs-Workflow von Illumina

Illumina DNA Prep with Enrichment ist kompatibel mit Liquid-Handling-Systemen für die Automatisierung der Bibliotheksvorbereitung und ermöglicht einen Workflow mit den wenigsten Schritten und der schnellsten Gesamtverarbeitungszeit im Anreicherungs-Portfolio von Illumina.

Zusätzlich verwendet der TruSight One-Workflow eine einzigartige Proben-Pooling-Strategie zur Vorabanreicherung, durch die die Anzahl der notwendigen Anreicherungsreaktionen reduziert wird. Bei dieser Strategie werden integrierte Probenbarcodes verwendet, die das Pooling von bis zu 12 Proben bei einem Anreicherungsverfahren ermöglichen. Diese Effizienz reduziert die Gesamtzubereitungszeit der Bibliotheken auf 6,5 Tage mit einem manuellen Aufwand von etwa 2 Stunden. Außerdem ermöglichen Master-Mix-Reagenzien in Verbindung mit plattenbasierten Protokollen die simultane Verarbeitung mehrerer Reaktionen. Vorbereitete Bibliotheken werden auf eine Fließzelle zur Sequenzierung im entsprechenden Gerät geladen.

## Umfassende Analyse und Berichterstellung

Für die umfassende Analyse und Interpretation von TruSight One-Daten sowie die entsprechende Berichterstellung bietet Illumina die TruSight Software Suite, eine SaaS-Plattform. Die TruSight Software Suite lässt sich für den Zugriff auf Laufüberwachung, Laufmetriken und den automatischen Upload von Sequenzierungsdaten in BaseSpace™ Sequence Hub integrieren. Die Lösung bietet Cloudzugang zur DRAGEN™ Bio-IT-Plattform, die umfassende, optimierte Workflows für die Sekundär- und Tertiäranalyse von NGS-Daten ermöglicht.

### Variantenanalyse in der TruSight Software Suite

Umfang der Sekundäranalyse:

- Alignment und Varianten-Calling mit der DRAGEN-Plattform

Umfang der Tertiäranalyse:

- Variantenannotation
- Variantenfilterung und -triage
- Variantenvisualisierung
- Variantenkuratierung
- Varianteninterpretation und anwendungsspezifische Berichterstellung

### Nutzt die DRAGEN-Plattform

Die TruSight Software Suite nutzt die DRAGEN (Dynamic Read Analysis for GENomics) Bio-IT-Plattform für die Sekundäranalyse genomischer Daten. Grundlegende Funktionen der DRAGEN-Plattform stellen Lösungen für häufige Probleme bei der Genomanalyse bereit, beispielsweise die lange Berechnungsdauer und die riesigen Datenmengen. Die DRAGEN-Plattform zeichnet sich ohne Abstriche bei der Genauigkeit durch Schnelligkeit, Flexibilität und Kosteneffizienz aus, sodass Labore aller Größen genomische Daten umfassender auswerten können.

### Intuitive, leistungsstarke Unterstützung bei der Interpretation

Die TruSight Software Suite führt wichtige Daten zusammen, bietet eine Variantenvisualisierung, ermöglicht die Variantenkuratierung und enthält Machine-Learning-Tools für die effiziente und fundierte Interpretation.

## Ergebnisse und Generieren anwendungsspezifischer Berichte

Die Interpretation ist abgeschlossen, wenn die Varianten ermittelt und mit bekannten Erkrankungsassoziationen kuratiert wurden. Anwender können die Vorlagen in der TruSight Software Suite verwenden, um anwendungsspezifische Berichte zu Gen- und Variantenassoziationen zu erstellen, die für die jeweiligen Fälle relevant sind (Abbildung 5). Der Bericht lässt sich aus der Software zur weiterführenden Überprüfung und Genehmigung versenden. Zur einfachen Freigabe von Daten lassen sich Berichte im PDF- oder JSON-Format herunterladen.

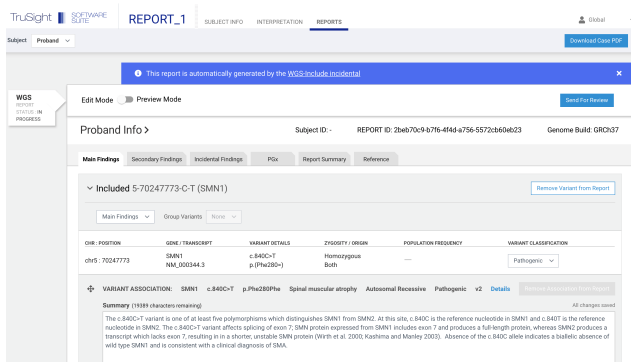


Abbildung 5: Erstellen anwendungsspezifischer Berichte: Die TruSight Software Suite bietet eine Vorlage für Berichte zu relevanten Gen- und Variantenassoziationen.

## Sichere, konforme Umgebung

Die TruSight Software Suite ist gemäß ISO-27001 und ISO-13485 zertifiziert und konform mit dem Health Insurance Portability and Accountability Act (HIPAA) (Audit durch Drittpartei) und der Datenschutz-Grundverordnung (DSGVO). Außerdem bietet die TruSight Software Suite Optionen zur Integration der Single-Sign-on-Richtlinie des Labors sowie von anderen Sicherheitseinstellungen.

## Zusammenfassung

Der Illumina TruSight One-Workflow bietet eine umfassende DNA-zu-Daten-Lösung für klinische Forschungseinrichtungen. Mithilfe des TruSight One- oder des TruSight One Expanded-Sequenzierungspanels können Forscher schnell mehr als 4.800 Gene mit bekannten klinischen Phänotypassoziationen sequenzieren. Mit der intuitiven und umfassenden Lösung für die Analyse und Interpretation seltener Erkrankungen sowie die entsprechende Berichterstellung, die die TruSight Software Suite bietet, lassen sich die umfassenden TruSight One-Daten in einzelne Unterpanels für spezifische Forschungsbereiche aufteilen. Damit profitieren Sie von einer effizienten und effektiven Möglichkeit zur Analyse von Daten in Zusammenhang mit genetischen Erkrankungen.

## Weitere Informationen

Weitere Informationen zu den TruSight One-Panels finden Sie unter [www.illumina.com/trusightone](http://www.illumina.com/trusightone).

Weitere Informationen zur TruSight Software Suite finden Sie unter [www.illumina.com/products/by-type/informatics-products/trusight-software-suite.html](http://www.illumina.com/products/by-type/informatics-products/trusight-software-suite.html).

## Bestellinformationen

Anreicherungs-Oligos	Katalog-Nr.
TruSight One Sequencing Combo (15 Proben)	20042621
TruSight One – Enrichment Oligos only (6 Anreicherungsreaktionen)	20029227
TruSight One Expanded – Enrichment Oligos only (6 Anreicherungsreaktionen)	20029226
Bibliotheksvorbereitungskits	Katalog-Nr.
Illumina DNA Prep with Enrichment, (S) Tagmentation (96 Proben)	20025524
Illumina DNA Prep with Enrichment, (S) Tagmentation (16 Proben)	20025523
Illumina DNA Prep, (S) Tagmentation (96 Proben)	20025520
Illumina DNA Prep, (S) Tagmentation (16 Proben)	20025519
Indizes	Katalog-Nr.
IDT for Illumina DNA/RNA UD Indexes Set A, Tagmentation (96 Indizes, 96 Proben)	20027213
IDT for Illumina DNA/RNA UD Indexes Set B, Tagmentation (96 Indizes, 96 Proben)	20027214
IDT for Illumina Nextera™ DNA UD Indexes Set C (96 Indizes, 96 Proben)	20027215
IDT for Illumina Nextera DNA UD Indexes Set D (96 Indizes, 96 Proben)	20027216

## Quellen

- Bainbridge MN, Wang M, Wu YQ, et al. Targeted enrichment beyond the consensus coding DNA sequence exome reveals higher variant densities. *Genome Biol.* 2011;12:R68.
- Human Gene Mutation Database (HGMD). [www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php](http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php). Abgerufen am 12. November 2020.
- Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM). [www.omim.org](http://www.omim.org). Abgerufen am 12. November 2020.
- GeneTests. [www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1116/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1116/). Abgerufen am 12. November 2020.
- TruSight Sequencing Panels. [www.illumina.com/products/by-type/clinical-research-products/trusight-one.html](http://www.illumina.com/products/by-type/clinical-research-products/trusight-one.html). Abgerufen am 19. November 2020.
- UCSC Genome Browser. [genome.ucsc.edu/](http://genome.ucsc.edu/). Abgerufen am 12. November 2020.
- Illumina. Optimizing coverage for targeted resequencing technical note. Abgerufen am 19. Oktober 2020.