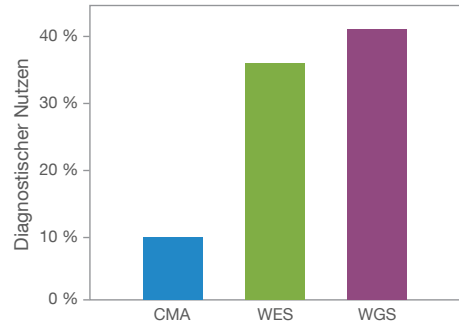


TruSight™ Software Suite

Effizienz und hohe Konfidenz für Fallmanagement, Variantenanalyse und Interpretation bei seltenen Erkrankungen

Vorteile

- Umfassende genomische Evaluierung**
 Analysieren, visualisieren und interpretieren Sie kleine, strukturelle und mitochondriale Varianten sowie Repeat-Expansionen, Homozygotie-Läufe und *SMN1/SMN2*-Varianten.
- Vorgefertigter, integrierter Workflow**
 Halten Sie Schritt mit der technologischen Entwicklung und profitieren Sie dank der vorgefertigten Infrastruktur und der vereinfachten Integration vielfältiger Analysetools von den Vorteilen der NGS.



Einleitung

Bei der Gesamtgenomsequenzierung (Whole-Genome Sequencing, WGS) und der Gesamtexom-Sequenzierung (Whole-Exome Sequencing, WES) mit NGS-Technologien (Next-Generation Sequencing, Sequenzierung der nächsten Generation) handelt es sich um herausragende Verfahren zur Untersuchung von Varianten in Zusammenhang mit genetischen Erkrankungen. In einer Metaanalyse zwischen Januar 2011 und August 2017 veröffentlichter Fachpublikationen wurden 37 Studien mit insgesamt 20.068 teilnehmenden Kindern im Hinblick auf den diagnostischen Nutzen von drei Testverfahren untersucht: chromosomales Microarray (CMA), WES und WGS. Die Ergebnisse zeigen, dass die Wahrscheinlichkeit einer Diagnose mit NGS 8,3x höher liegt als mit CMA (Abbildung 1).¹

WGS und WES bieten einen hochauflösenden, unverzerrten Blick auf das gesamte Genom und ermöglichen so die Ermittlung von Varianten, die ursächlich für seltene Erkrankungen sind. Die große Menge der erzeugten Daten stellt hierbei jedoch eine beachtliche Herausforderung dar und erfordert umfassende Datenanalysetools zur effizienten Überführung der Sequenzierungsrohdaten in aussagekräftige, interpretierbare Ergebnisse. Zur Bewältigung dieser Herausforderung bietet Illumina die TruSight Software Suite. Diese SaaS-Lösung (Software as a Service) lässt sich für den Zugriff auf Laufüberwachung, Laufmetriken und den automatischen Upload von Sequenzierungsdaten in BaseSpace™ Sequence Hub und Illumina-Sequenziersysteme integrieren. Die Software bietet Cloudzugang zur DRAGEN™ Bio-IT-Plattform, die umfassende, optimierte Workflows für die Sekundär- und Tertiäranalyse von NGS-Daten ermöglicht (Abbildung 2).

Abbildung 1: WGS und WES sind von höherem diagnostischen Nutzen als CMA: Quantitative Analysen von 37 Studien mit insgesamt 20.068 teilnehmenden Kindern zum diagnostischen Nutzen genetischer Ersttests haben einen Nutzen von 36 % und 41 % für WES bzw. WGS ergeben. Der Nutzen von CMA beträgt lediglich 10 %. 95 % CI: 4,7–14,9, P < 0,0001.

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.

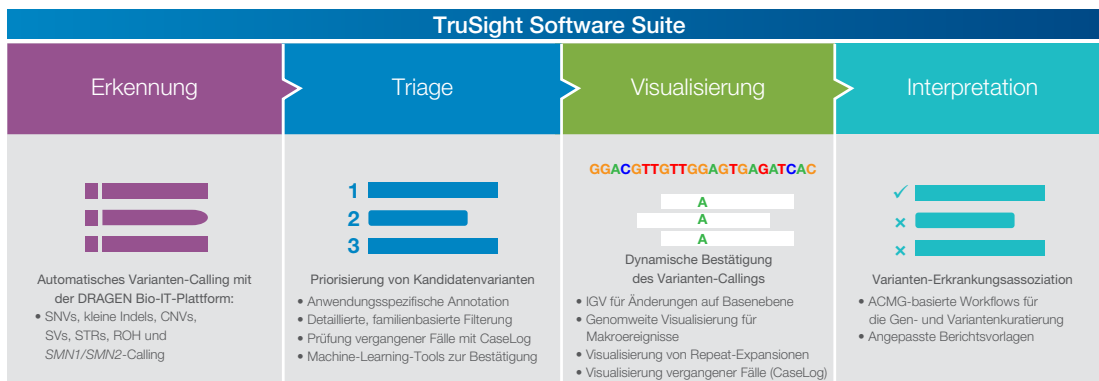


Abbildung 2: Variantenanalyse in der TruSight Software Suite: Die Variantenanalyse in der TruSight Software Suite beginnt mit dem automatischen Alignment und Varianten-Calling mithilfe der DRAGEN-Plattform. Für ein 30x-Trio sind ca. 3 Stunden erforderlich. Anschließend folgen Triage, Visualisierung und Interpretation der Varianten.

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. Das umfangreiche Varianten-Calling umfasst Einzelnukleotidvarianten (Single Nucleotide Variants, SNVs), Insertionen/Deletionen (Indels), Kopienzahlvarianten (Copy Number Variants, CNVs), strukturelle Varianten (SVs), kurze Tandemwiederholungen (Short Tandem Repeats, STRs), Repeat-Erweiterungen, Homozygotie-Läufe (Runs of Homozygosity, ROH), *SMN1/SMN2*-Calling u. v. m. (Abbildung 3). Die TruSight Software Suite ist sowohl mit WGS- als auch mit WES-Ausgaben kompatibel. Die DRAGEN-Plattform unterstützt bei Gesamtgenomproben jedoch nur das Calling von Repeat-Expansionen sowie das *SMN1/SMN2*-Calling. Weitere Informationen finden Sie im Handbuch zur TruSight Software Suite.

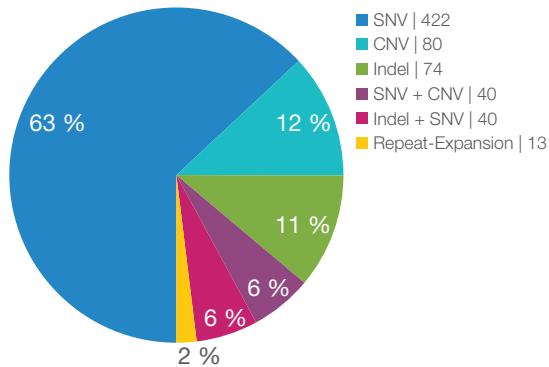


Abbildung 3: Mit der TruSight Software Suite erkannte Variantentypen: Bei der Analyse von WGS-Daten wurden unterschiedliche Variantentypen erkannt. Die Prozentangaben beziehen sich auf den jeweiligen Anteil von insgesamt 669 Fällen.

Integration in andere Plattformen und Systeme

Viele Labore haben Schwierigkeiten, mit der Integration neuer genomischer Technologien, Geräte und Verfahren Schritt zu halten. Die TruSight Software Suite vereinfacht den Prozess, da sie sich über BaseSpace Sequence Hub zur Automatisierung der WGS- und WES-Analyse nahtlos in NovaSeq™ 6000-, NextSeq™ 2000- und weitere Systeme integrieren lässt. Außerdem ist die TruSight Software Suite der finale Baustein im Workflow

für seltene Krankheiten einer integrierten WGS-Lösung von der DNA bis zum Bericht, zu der auch Illumina DNA PCR-Free Prep, Tagmentation und das NovaSeq 6000-System gehören. Die API-Kompatibilität (Application Programming Interface) ermöglicht die Integration in andere Laborinformationsmanagementsysteme (LIMS) der Einrichtung. Die Software bietet eine umfassende Datenspeicherungsarchitektur für die kostengünstige und sichere kurz- und langfristige Speicherung von FASTQ-, VCF-, BAM- und anderen Dateien.

Einfaches, anpassbares Fallmanagement

Die TruSight Software Suite enthält ein Fallmanagementportal, in dem Anwender neue Fälle erstellen, Datendateien importieren und Dateien mit Sequenzierungsdaten für die einzelnen Fälle zuordnen können. Selbstverständlich lassen sich diese Daten auch einfach über eine API importieren. Anwender können für die einzelnen Fälle Daten zu Familienbeziehungen eingeben (bis zu fünf Personen pro Fall), um die Variantenfilterung und -priorisierung zu verbessern. Hierzu gehören Informationen wie die Familienstruktur, das Geschlecht des Probanden, die Phänotypmerkmale des Probanden (optional) und ob Familienmitglieder betroffen sind.

Zur Verbesserung der Effizienz lassen sich Fälle im Labor bestimmten Rollen oder Funktionen zuweisen. Statusupdates zum Fall werden in Echtzeit auf dem TruSight Software Suite-Dashboard angezeigt, das eine Übersicht über alle Fälle des Labors bietet. Dies ermöglicht Vorgesetzten und anderen Mitarbeitern die Verfolgung von Fortschritten beim Analyseworkflow.

Intuitive, leistungsstarke Unterstützung bei der Interpretation

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

Variantentriage

Auf der Registerkarte „Interpretation“ der TruSight Software Suite lassen sich Varianten anhand eines anwendungsspezifischen Plans oder eines voreingestellten Filterplans filtern. Die familienbasierte Filterung in der TruSight Software Suite ermöglicht den Vergleich von Proband und anderen Mitgliedern der Familie. Weitere Funktionen sind beispielsweise die Filterung nach Bevölkerungshäufigkeiten anhand von Quellen wie der Genome Aggregation Database (*gnomAD*) sowie anhand von Variantenfolgen, Vererbungsmodi, *ClinVar*-Pathogenität usw.

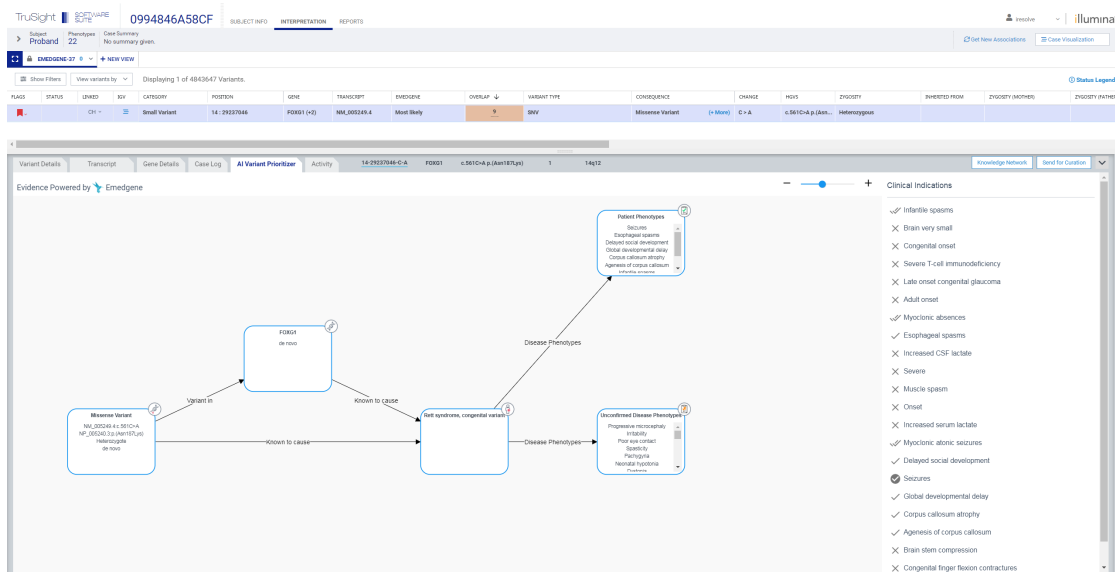


Abbildung 4: Variantenfilterung und -priorisierung: Die familienbasierte Variantenfilterung ermöglicht die Unterscheidung zwischen vererbten und De-novo-Varianten. Die Variantentabelle, die von jedem Benutzer angepasst werden kann, enthält Angaben zur Kategorie von Varianten, der Chromosomenposition, zum betroffenen Gen, zur Überlappung (Anzahl der überlappten Phänotypen für die Varianten), zu den Folgen der Varianten, der Populationshäufigkeit der Varianten (falls bekannt) u. v. m.

Variantenanalyse und maschinelles Lernen

Die TruSight Software Suite enthält eine Genomik-KI-Engine auf Basis von **Emedgene** für das Scoring von Varianten und die Hervorhebung der wahrscheinlichsten Kandidaten. Die Engine generiert ein Diagramm mit den Belegen für die Variantpriorisierung wie beispielsweise Erkrankungs-Gen-Zusammenhängen, die durch die Anwendung von NLP (Natural Language Processing) aus unterschiedlichen Datenquellen ermittelt werden (**Abbildung 4**).

Illumina hat bei der Entwicklung der Analysetools SpliceAI und PrimateAI mit Mitarbeitern der Stanford University, der University of California (San Francisco), der University of Florida, der University of Chicago und des Broad Institute zusammengearbeitet. Diese hochmodernen tiefen neuronalen Netze nutzen maschinelles Lernen zur Ermittlung krankheitsverursachender Mutationen. SpliceAI und PrimateAI liefern eine unverzerrte, hochgradig genaue Klassifikation von mRNA-Spleißstellen und Missense-Varianten.¹⁻³ Mit diesen automatischen Priorisierungstools können Benutzer Analysen vertiefen und schnell Millionen Varianten herausfiltern und so die Visualisierung sowie die Interpretation auf die wichtigsten Kandidatenvarianten konzentrieren.

Variantevisualisierungen

Die TruSight Software Suite verfügt über eingebettete Visualisierungstools wie den Integrative Genomics Viewer (**IGV**) zur weiterführenden Untersuchung genomischer Daten, einschließlich Read-Alignments, Varianten, B-Allelfrequenz und Coverage-Tracks für alle Subjekte innerhalb eines Falls. Zusätzlich zur Visualisierung auf Variantenebene ermöglicht der IGV die Suche nach großen Anomalien in einer Ansicht eines gesamten Chromosoms bzw. Genoms.

Varianteinterpretation und -kuratierung

Die TruSight Software Suite bietet zahlreiche Funktionen zur Bestimmung, welche priorisierten Varianten relevant für den aktuellen Fall sind, und ermöglicht damit die Untersuchung gen- und variantenbezogener Krankheitsassoziationen mit überlappenden phänotypischen Merkmalen, die mit denen des Probanden vergleichbar sind. Die TruSight Software Suite führt Daten aus bevorzugten externen Datenbanken wie dem Online Mendelian

Inheritance in Man (**OMIM**)-Katalog, **ClinVar** usw. auf der Registerkarte „Variant Details“ (Variantendetails) zusammen. Aus den zusammengeführten Daten lassen sich wertvolle Erkenntnisse in Bezug auf Varianten ziehen. Wiederholte Online-Recherchen in separaten Datenbanken sind nicht länger erforderlich. Außerdem integriert die TruSight Software Suite die vom American College of Medical Genetics (**ACMG**) entwickelte Standardterminologie für die Variantklassifikation, was die Protokollierung von Informationen zu Varianten und Assoziationen vereinfacht. Dies ermöglicht den Zugang zu und die Speicherung von Informationen auf Genebene (z. B. Toleranz gegenüber Loss-of-Function-Mutationen usw.) sowie der Merkmale von Gen-Krankheits-Beziehungen (über bevorzugte externe Datenbanken). Außerdem werden für jede Variante Informationen auf Transkriptebene angezeigt. Sowohl kanonische als auch nicht kanonische Transkripte lassen sich zur Interpretation auswählen. Funktionen wie das Feld „Note“ (Notiz) können zur Verzeichnung von fallspezifischen Notizen zu bestimmten Varianten verwendet werden. Das Feld „Comments“ (Kommentare) kann zur Verzeichnung fallunabhängiger Informationen zu einer Variante oder einem Gen verwendet werden, die bei zukünftigen Fällen von Nutzen sein können.

CaseLog: eine kundenspezifische Datenbank

CaseLog dient der Anzeige und Zusammenführung von Gen-, Varianten- und Phänotypinformationen zu den einzelnen Fällen aus privaten und öffentlichen Datensätzen (**Abbildung 5**). Diese interaktive Datenbank speichert öffentliche Datensätze zu seltenen Erkrankungen sowie zu einem früheren Zeitpunkt im Labor bearbeitete Fälle für die Kuratierung und Interpretation von sowie die Berichterstellung zu Genen oder Varianten von Interesse auf Basis neuer wissenschaftlicher Erkenntnisse.

Ergebnisse und Generieren anwendungsspezifischer Berichte

Die Interpretation ist abgeschlossen, wenn die Varianten ermittelt und mit bekannten Erkrankungsassoziationen kuratiert wurden. Anschließend können Anwender 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 6**). 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.

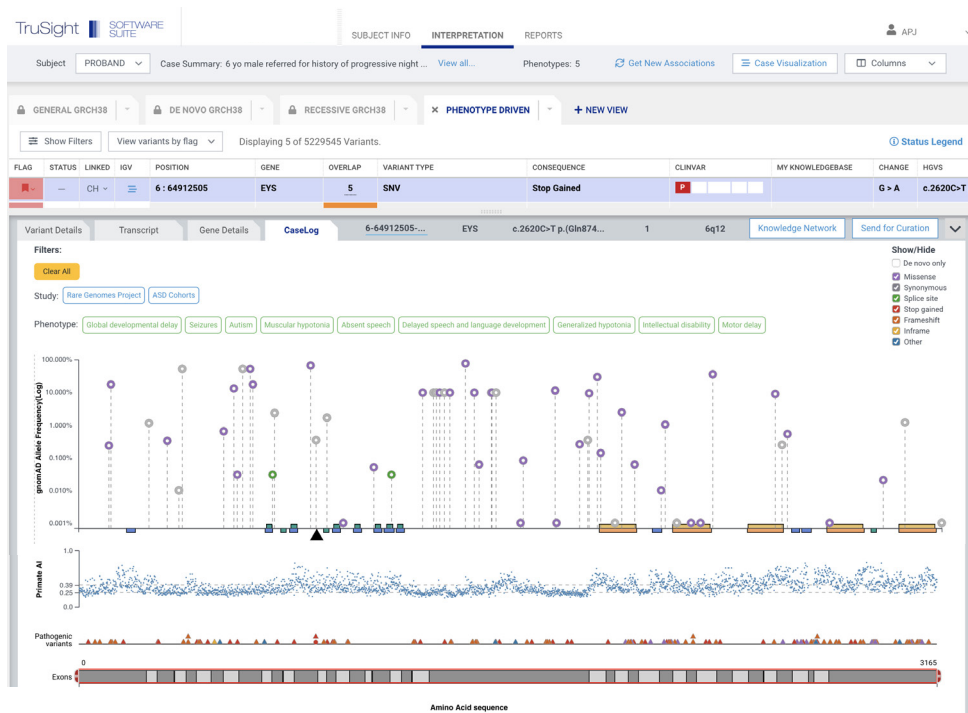


Abbildung 5: CaseLog: Die CaseLog-Funktion in der TruSight Software Suite ermöglicht die Visualisierung aggregierter Daten zu Varianten und Genen von Interesse.

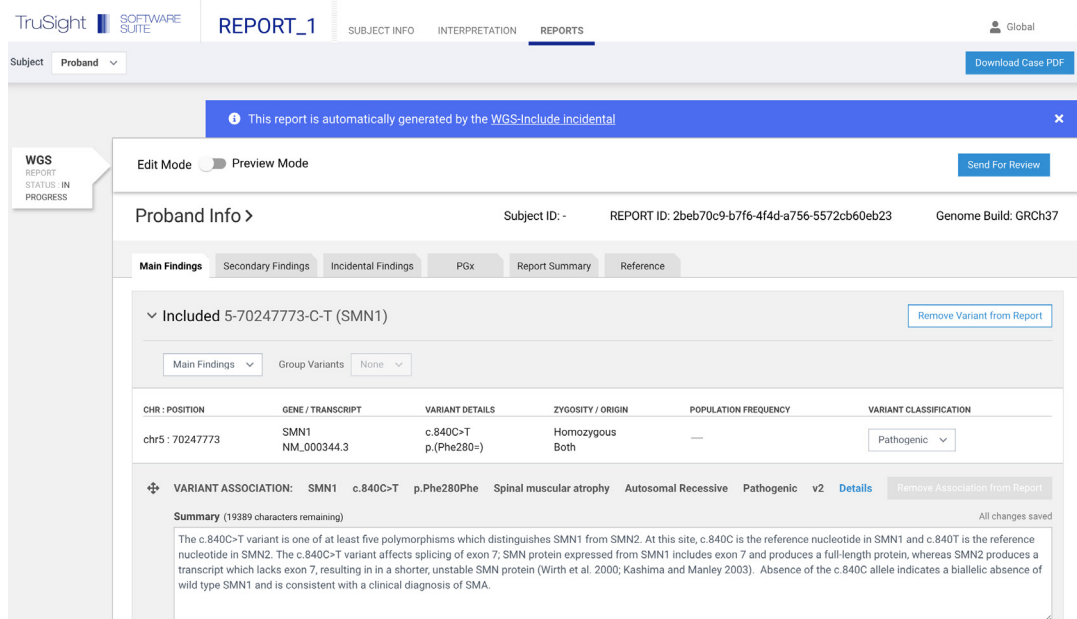


Abbildung 6: Erstellen anwendungsspezifischer Berichte: Die TruSight Software Suite bietet eine Vorlage für Berichte zu Gen- und Variantenassoziationen, die für den Fall relevant sind.

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 Dritte) 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

Die TruSight Software Suite bietet eine intuitive und umfassende Lösung für die Analyse und Interpretation seltener Erkrankungen. Sie lässt sich in Sequenziersysteme von Illumina integrieren und enthält die DRAGEN Bio-IT-Plattform für das besonders schnelle Varianten-Calling sowie Tools für die Visualisierung, Triage und Interpretation von Varianten, die in Zusammenhang mit seltenen Erkrankungen stehen. Die Ergebnisse lassen sich mithilfe anpassbarer Vorlagen für kundenspezifische Berichte ausgeben.

Weitere Informationen

Weitere Informationen zur TruSight Software Suite finden Sie unter www.illumina.com/trusight-software-suite.

Quellen

- Clark MM, Stark Z, Farnaes L, et al. [Meta-analysis of the diagnostic and clinical utility of genome and exome sequencing and chromosomal microarray in children with suspected diseases.](#) *NPJ Genom Med.* 2018;3:16.
- Jaganathan K, Kyriazopoulou Panagiotopoulou S, McRae JF, et al. [Predicting splicing from primary sequence with deep learning.](#) *Cell.* 2019;176(3):535–548.
- Sundaram L, Gao H, Padigepati SR, et al. [Predicting the clinical impact of human mutation with deep neural networks.](#) *Nat Genet.* 2018;50(8):1161–1170.

Bestellinformationen

Illumina bietet eine kostenlose 30-tägige Testphase an, während der Kunden mit in der TruSight Software Suite enthaltenen Beispielfällen arbeiten oder eigene Fälle hochladen können, um diese mit der Software zu evaluieren.

Produkt	Anzahl der Proben	Katalog-Nr.
TruSight Software Suite	48 WGS/96 WES	20041943
TruSight Software Suite	96 WGS/192 WES	20041944
TruSight Software Suite	288 WGS/576 WES	20041945
TruSight Software Suite	480 WGS/960 WES	20041946
TruSight Software Suite	960 WGS/1.920 WES	20041947
TruSight Software Suite	2.400 WGS/4.800 WES	20041948
TruSight Software Suite	4.800 WGS/9.600 WES	20041949
TruSight Software Suite	9.600 WGS/19.200 WES	20042010
Kostenlose TruSight Software Suite-Testversion für 30 Tage und 15 Proben		20042019
TruSight Software Suite-Schulung vor Ort beim Kunden (eintägig)		20042020
TruSight Software Suite-Schulung im Illumina Solutions Center (eintägig)		20042021

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

© 2020 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/company/legal.html. 970-2020-007-B DEU QB11207

Nur für Forschungszwecke. Nicht zur Verwendung in Diagnoseverfahren.

970-2020-007-B DEU | 4