

# TruSeq™ Custom Amplicon Kit Dx

Ein validiertes, FDA-konformes Kit mit CE-IVD-Kennzeichnung, das es klinischen Labors ermöglicht, anwendungsspezifische Assays für MiSeq™ Dx- und NextSeq™ 550Dx-Sequenziergeräte zu entwickeln.

## Vorteile

- **Flexibles Assay-Design**  
Für die Erfüllung individueller, benutzerdefinierter Anforderungen konzipiert
- **Validiertes Kit**  
Validierte Leistungsdaten für die Bibliotheksvorbereitung bei Verwendung mit Dx-Sequenziergeräten und entsprechenden Reagenzien von Illumina
- **Für eine Vielzahl von Probenotypen geeignet**  
Optimierte Bibliotheksvorbereitung für die Sequenzierung von DNA, die aus FFPE-Gewebe (formalinfixiertes, in Paraffin eingebettetes Gewebe) und Vollblutproben extrahiert wurde
- **Hohe Assay-Reproduzierbarkeit**  
Einheitliche Ergebnisse bei mehreren Bedienern und Systemen

## Einleitung

Das TruSeq Custom Amplicon Kit Dx (Abbildung 1) ist ein validiertes, FDA-konformes (Food and Drug Administration) Amplicon-Sequenzierungs-Kit mit CE-IVD-Kennzeichnung (Conformité Européenne/*In-vitro*-Diagnostikum), das es klinischen Labors ermöglicht, anwendungsspezifische NGS-Assays (Next Generation Sequencing) zu entwickeln. Diese Sequenzierungs-Assays können mit den FDA-konformen MiSeqDx- und NextSeq550Dx-Geräten mit CE-IVD-Kennzeichnung verwendet werden. Zusammen bieten das TruSeq Custom Amplicon Kit Dx und die Dx-Sequenziergeräte von Illumina eine umfassende DNA-zu-Daten-Lösung mit der Genauigkeit und Zuverlässigkeit, die in einem regulierten Umfeld benötigt werden. Mit der Leistungsfähigkeit von NGS können klinische Labors ihren Kunden ein ständig wachsendes Angebot an diagnostischen Anwendungen zur Verfügung stellen.

## Validierte Lösung zur Bibliotheksvorbereitung

Das TruSeq Custom Amplicon Kit Dx bietet eine validierte Lösung zur Bibliotheksvorbereitung, die hochwertige Reagenzien und einen optimierten Workflow beinhaltet. Die Validierung von Reagenzien für die Bibliotheksvorbereitung gewährleistet eine konsistente Leistung von Charge zu Charge, ermöglicht die langfristige Verwendung von entwickelten Assays und erleichtert das Change Management. Die Verwendung validierter Reagenzien macht es überflüssig, wertvolle Laborressourcen für die erneute Validierung von Reagenzien oder Assays für zukünftige Läufe aufzuwenden.

## Für *In-vitro*-Diagnostik.

Informationen zur Verfügbarkeit in Ihrer Region erhalten Sie von einem Illumina-Vertreter.

Der schnelle, effiziente Workflow liefert mit nur 50 ng genomischer DNA (gDNA) oder 10 µl geeigneter FFPE-DNA in weniger als zwei Tagen qualitativ hochwertige Sequenzierungsbibliotheken.

## Benutzerdefiniertes Assay-Design

Mit dem TruSeq Custom Amplicon Kit Dx entwickeln klinische Labors Assays unter Verwendung selbst entworfener Oligonukleotidsonden. Diese Anpassungsmöglichkeit bietet Benutzern die Flexibilität, auf bestimmte Regionen von Interesse abzielen zu können.



**Abbildung 1: TruSeq Custom Amplicon Kit Dx:** Das FDA-konforme TruSeq Custom Amplicon Kit Dx mit CE-IVD-Kennzeichnung bietet Reagenzien für die Bibliotheksvorbereitung, die es klinischen Labors ermöglichen, eigene Diagnostest zu entwickeln, die für die Verwendung auf Illumina Dx-Sequenziergeräten vorgesehen sind.

**Tabelle 1: Erkennungsleistung von TruSeq Custom Amplicon Kit Dx**

Parameter	Keimbahn	Somatisch
<b>Genomischer Kontext</b>		
GC-Inhalt	19–78 %	19–73 % <sup>a</sup>
PolyA-Länge	≤ 8	≤ 8
PolyT-Länge	≤ 10	≤ 10
PolyG-Länge	≤ 7	≤ 6
PolyC-Länge	≤ 6	≤ 6
Länge von Dinukleotid-Wiederholungen	≤ 11x	≤ 4x
Länge von Trinukleotid-Wiederholungen	≤ 5x	≤ 5x
<b>Varianten</b>		
Einzelnukleotid-Polymorphismen	Ja	Ja, Nachweisgrenze bei 5 %
Insertionslänge	≤ 24 bp	≤ 24 bp
Deletionslänge	≤ 25 bp	≤ 25 bp

a. Bis zu 78 % mit dem NextSeq 550Dx-Gerät.

Target-Spezifikationen (Tabelle 1) unterstützen die Sequenzierung von über 90 % der Exons in RefSeq<sup>1</sup>, abhängig vom Assay-Design. Die Anpassung der Kit-Konfiguration bietet zudem Flexibilität beim Probendurchsatz.

### Bibliotheksvorbereitungs-Workflow

Das TruSeq Custom Amplicon Kit Dx generiert sequenzierfähige Bibliotheken, die auf ein Illumina Dx-Sequenziergerät geladen werden können, um in weniger als zwei Tagen zuverlässige Sequenzierungsdaten zu erzeugen.



**Abbildung 2: Optimierter Workflow für anwendungsspezifische Assays:** Der TruSeq Custom Amplicon Kit Dx-Workflow liefert in einem optimierten sechsstufigen Prozess DNA-zu-Daten-Ergebnisse.

### Optimierter Workflow

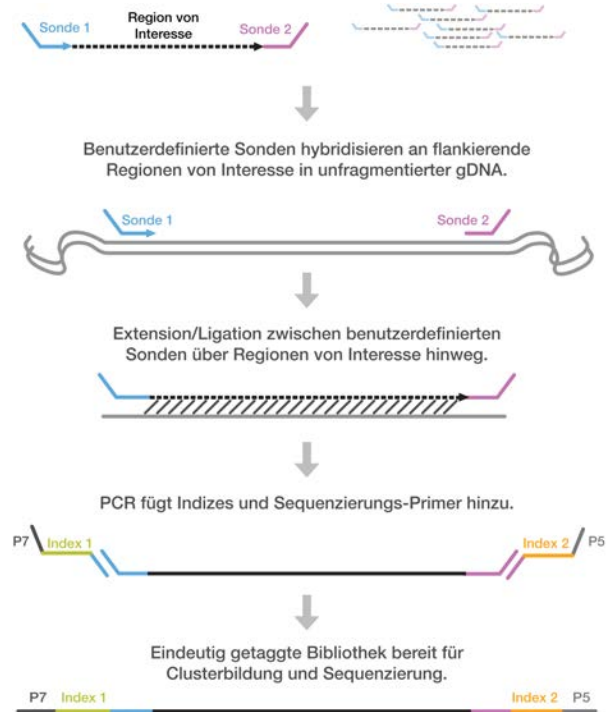
Der TruSeq Custom Amplicon Kit Dx-Workflow besteht aus sechs grundlegenden Schritten (Abbildung 2). Während der Bibliotheksvorbereitung werden Oligonukleotidsonden, die auf Regionen von Interesse abzielen, mit der DNA-Probe vermischt. Die Bibliotheken werden in einem Pool zusammengefasst und dann auf einem Dx-Sequenziergerät von Illumina sequenziert. Daten werden in Echtzeit erfasst und mithilfe der Local Run Manager-Software analysiert.

### Für In-vitro-Diagnostik.

Informationen zur Verfügbarkeit in Ihrer Region erhalten Sie von einem Illumina-Vertreter.

### gDNA- oder FFPE-DNA-Zugabe

Das TruSeq Custom Amplicon Kit Dx ist für die Verwendung mit 50 ng gDNA oder 10 µl geeigneter, aus FFPE-Gewebe gewonnener DNA optimiert. Die Eignung der FFPE-DNA kann mit dem TruSeq Custom Amplicon Dx-FFPE QC Kit ermittelt werden, das die Qualität der FFPE-DNA über eine einfache qPCR-Reaktion bestimmt. Die Ergebnisse des FFPE QC Kit dienen als Anhaltspunkt für die Qualität und Menge der zugegebenen FFPE-DNA.



**Abbildung 3: Bibliotheksvorbereitungs-Chemie des TruSeq Custom Amplicon Kit Dx** – das TruSeq Custom Amplicon Kit Dx verwendet anwendungsspezifische Oligonukleotidsonden zur Erfassung und Sequenzierung definierter Targets von Interesse.

### Assay-Chemie

In Kombination mit der bewährten SBS-Chemie (Sequencing by Synthesis) ermöglicht das TruSeq Custom Amplicon Kit Dx die ausschließliche Erfassung und Sequenzierung der Regionen von Interesse (Abbildung 3). Die gDNA bzw. die FFPE-DNA wird mit einem Pool von benutzerdefinierten Oligonukleotidsonden gemischt. Jede Sonde enthält Sequenzen zum Erfassen von Regionen von Interesse sowie eine Adaptersequenz, die in einer nachfolgenden Amplifikationsreaktion verwendet wird. Die Sonden hybridisieren an die DNA, eine vor und eine hinter der Target-DNA-Sequenz. Eine proprietäre Extension-Ligation-Reaktion erstreckt sich über die Region von Interesse, gefolgt von Ligation, um die beiden Sonden zusammenzuführen. Diese Reaktion erzeugt einen Matrizenstrang und bietet eine hervorragende Assay-Spezifität.

Tabelle 2: Varianten-Calling-Studie zeigt hohe Assay-Reproduzierbarkeit<sup>2</sup>

Analyse	Metrik	Variantentyp	MiSeqDx (8 Läufe)	NextSeq 550Dx (9 Läufe)
Calling von Keimbahn-Varianten	PPA	SNV	99,8 %	> 99,9 %
	PPA	Insertion	98,1 %	98,9 %
	PPA	Deletion	99,8 %	100 %
	NPA		100 %	100 %
Calling somatischer Varianten	PPA	SNV	100 %	99,9 %
	PPA	Insertion	100 %	99,9 %
	PPA	Deletion	100 %	99,9 %
	NPA		> 99,9 %	> 99,9 %

Die Prozentwerte repräsentieren den niedrigsten Wert über alle Läufe hinweg. Abkürzungen: positive prozentuale Übereinstimmung (Positive Percent Agreement, PPA), negative prozentuale Übereinstimmung (Negative Percent Agreement, NPA), Einzelnukleotid-Variante (Single Nucleotide Variant, SNV).

Um die gleichzeitige Analyse mehrerer Proben innerhalb eines einzelnen Sequenzierungslaufs (Multiplexing) zu ermöglichen, werden einzelne Bibliotheken mit einem eindeutigen Bezeichner bzw. Index „getaggt“. Diese eindeutigen probenspezifischen Indizes werden während des PCR-Amplifikationsschritts im Bibliotheksvorbereitungsprotokoll hinzugefügt. Das endgültige Produkt enthält die benutzerdefinierten Regionen, die Adapter und die Indizes, die für die Sequenzierung auf einem Illumina Dx-Sequenziergerät erforderlich sind.

### Weit verbreitete NGS-Technologie

Die SBS-Chemie von Illumina ist die branchenweit am häufigsten eingesetzte NGS-Technologie.<sup>3</sup> Durch die massiv-parallele Sequenzierung mithilfe einer eigens entwickelten Methode auf der Basis reversibler Terminatoren werden einzelne Basen erkannt, wenn sie in wachsende DNA-Stränge integriert werden. Ein mit einem Fluoreszenz-Farbstoff markierter Terminator wird dargestellt, während jedes dNTP (dATP, dCTP, dGTP oder dTTP) hinzugefügt und anschließend gespalten wird, um die Integration der nächsten Base zu ermöglichen. Da alle vier mit einem reversiblen Terminator gebundenen dNTPs in jedem Sequenzierungszyklus vorhanden sind, werden Integrationsfehler durch natürliche Mechanismen minimiert. Das Ergebnis ist eine Sequenzierung Base für Base, die sehr genaue Daten erzeugt.<sup>4</sup>

### Hohe Reproduzierbarkeit von Daten

Um die hohe Reproduzierbarkeit der mit dem TruSeq Custom Amplicon Kit Dx und der SBS-Chemie erzeugten Daten zu demonstrieren, wurde eine Varianten-Calling-Präzisionsstudie mit einem repräsentativen Assay durchgeführt. Die Studie umfasste mehrere Bediener, Geräte und Chargen über acht bis neun Läufe (Tabelle 2).

### Zusammenfassung

Das TruSeq Custom Amplicon Kit Dx bietet eine validierte, FDA-konforme Lösung für das Design von NGS-Assays, die auf benutzerdefinierte genomische Regionen von Interesse abzielen.

### Für *In-vitro*-Diagnostik.

Informationen zur Verfügbarkeit in Ihrer Region erhalten Sie von einem Illumina-Vertreter.

Dieses Kit ermöglicht es klinischen Labors, die Geschwindigkeit und Genauigkeit von NGS zu nutzen und ihren Kunden ein wachsendes Spektrum diagnostischer Dienstleistungen anzubieten.

### Weitere Informationen

Weitere Informationen zu TruSeq Custom Amplicon Kit Dx finden Sie unter [www.illumina.com/TSCAKitDx](http://www.illumina.com/TSCAKitDx).

Weitere Informationen über das MiSeqDx-Gerät finden Sie unter [www.illumina.com/MiSeqDx](http://www.illumina.com/MiSeqDx).

Weitere Informationen über das NextSeq 550Dx-Gerät finden Sie unter [www.illumina.com/nextseq550dx](http://www.illumina.com/nextseq550dx).

### Bestellinformationen

Produkt	Katalog-Nr.
TruSeq Custom Amplicon Kit Dx <sup>a</sup>	20005718
TruSeq Custom Amplicon Dx–FFPE QC Kit <sup>a</sup>	20006259
MiSeqDx-Gerät	DX-410-1001
MiSeqDx Reagent Kit v3 <sup>a,b</sup>	20012552
MiSeqDx Reagent Kit v3 <sup>a,b</sup>	20037124
NextSeq 550Dx-Gerät	20005715
NextSeq 550Dx High-Output Reagent Kit v2 (300 Zyklen) <sup>a</sup>	20019554
TruSeq Index Plate Fixture Kit	DX-130-1005
TruSeq Index Plate Fixture and Collar Kit	DX-130-1007

- Sequenzierungsverbrauchsmaterialien der Klasse I werden in Einzelchargen ausgeliefert. Die Kits werden chargenweise geprüft. Änderungen werden vorab bekannt gegeben. Jede Charge erhält ein individuelles Analyse-zertifikat. Die Reagenzien werden nach den Prinzipien der Designkontrolle entwickelt und unter Einhaltung der aktuellen Richtlinien für gute Herstellungspraxis (Good Manufacturing Practices, cGMP) hergestellt und verifiziert, um die Einhaltung der Spezifikationen zu gewährleisten.
- Die Katalognummern 20012552 und 20037124 enthalten dieselben Reagenzien. Welche Katalognummer verwendet wird, ist abhängig vom Land bzw. der Region des Kunden.

## Quellen

1. NCBI Reference Sequence Database (RefSeq). [www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/). Aufgerufen am 10. Oktober 2017.
2. Archivdaten. Illumina, Inc. 2017.
3. Archivierte Datenberechnungen. Illumina, Inc. 2015.
4. Bentley DR, Balasubramanian S, Swerdlow HP, Smith GP, Milton J, Brown CG, et al. *Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry. Nature.* 2008;456(7218):53–9.

## Erklärungen zur bestimmungsgemäßen Verwendung

### Bestimmungsgemäße Verwendung des TruSeq™ Custom Amplicon Kit Dx

Das Illumina TruSeq Custom Amplicon Kit Dx besteht aus einem Satz Reagenzien und Verbrauchsmaterialien, die zur Vorbereitung von Probenbibliotheken aus DNA verwendet werden, die aus peripherem Vollblut und FFPE-Gewebe (formalinfixiertes, in Paraffin eingebettetes Gewebe) gewonnen wurde. Vom Benutzer bereitgestellte analytischspezifische Reagenzien werden für die Vorbereitung von Bibliotheken benötigt, die auf spezifische genomische Regionen von Interesse abzielen. Die generierten Probenbibliotheken sind für die Verwendung auf Hochdurchsatz-DNA-Sequenzanalysegeräten von Illumina vorgesehen.

### Bestimmungsgemäße Verwendung des TruSeq™ Custom Amplicon Dx – FFPE QC Kit

Das Illumina TruSeq Custom Amplicon Dx – FFPE QC Kit besteht aus einem Satz Reagenzien und Verbrauchsmaterialien zur Bestimmung des Amplifikationspotenzials von genomischer DNA (gDNA), die aus peripherem Vollblut und formalinfixiertem, in Paraffin eingebettetem (FFPE) Gewebe gewonnen wurde.

### Bestimmungsgemäße Verwendung des MiSeq™Dx-Geräts

Das MiSeqDx-Gerät ist für die zielgerichtete Sequenzierung von DNA-Bibliotheken aus humangenomischer DNA bestimmt, wenn sie für *In-vitro*-Diagnostik-Assays (IVD) auf dem Gerät verwendet werden. Die genomische DNA wird aus peripherem Vollblut oder aus formalinfixiertem, in Paraffin eingebettetem (FFPE) Gewebe gewonnen. Das MiSeqDx-Gerät ist nicht für die Gesamtgenom- oder *De-novo*-Sequenzierung vorgesehen. Auf dem MiSeqDx-Gerät dürfen nur registrierte und gelistete, freigegebene oder zugelassene IVD-Reagenzien und Analysesoftware verwendet werden.

### Bestimmungsgemäße Verwendung des MiSeq™Dx Reagent Kit v3

Das Illumina MiSeqDx Reagent Kit v3 von Illumina ist ein Satz von Reagenzien und Verbrauchsmaterialien für die Sequenzierung von Probenbibliotheken bei Verwendung von validierten Assays. Das MiSeqDx Reagent Kit v3 ist zur Verwendung mit dem MiSeqDx-Gerät und Analysesoftware vorgesehen.

### Bestimmungsgemäße Verwendung des NextSeq™ 550Dx-Geräts (Europäische Union/andere Länder)

Das NextSeq 550Dx-Gerät ist für die Sequenzierung von DNA-Bibliotheken bei Verwendung von *In-vitro*-Diagnostik-Assays (IVD-Assays) vorgesehen, die auf dem Gerät durchgeführt werden. Auf dem NextSeq 550Dx-Gerät dürfen nur spezielle registrierte, zertifizierte oder zugelassene IVD-Reagenzien und Analysesoftware verwendet werden.

### Bestimmungsgemäße Verwendung des NextSeq™ 550Dx High-Output Reagent Kit v2 (300 Zyklen)

Das NextSeq 550Dx High-Output Reagent Kit v2 (300 Zyklen) von Illumina ist ein Satz von Reagenzien und Verbrauchsmaterialien für die Sequenzierung von Probenbibliotheken bei Verwendung von validierten Assays. Das Kit ist zur Verwendung mit dem NextSeq 550Dx-Gerät und Analysesoftware vorgesehen.

Illumina, Inc. • 1.800.809.4566 (USA, gebührenfrei) • +1.858.202.4566 (Tel. außerhalb der USA) • [techsupport@illumina.com](mailto:techsupport@illumina.com) • [www.illumina.com](http://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](http://www.illumina.com/company/legal.html). Dokument-Nr. 100000046944 v01 DEU QB9686

**Für *In-vitro*-Diagnostik.**

**Informationen zur Verfügbarkeit in Ihrer Region erhalten Sie von einem Illumina-Vertreter.**

**illumina®**

100000046944 v01 DEU

Englische Quelle: 100000043654 v01 | 4