

InfiniumTM XT- Genotypisierungslösung

Die Präzision und Zuverlässigkeit der bewährten Infinium-Chemie vereint mit bislang unerreichter Skalierbarkeit

- Genotypisierung im Produktionsmaßstab mit einem optimierten Assay und einem BeadChip für 96 Proben
- Zielgerichtete Assays für eine oder mehrere Spezies mit einigen Hundert bis zu 50.000 SNPs (Single-Nucleotide Polymorphisms, Einzelnukleotid-Polymorphismen)
- Anwenderfreundlicher optimierter Workflow mit weniger manuellem Aufwand und kürzerer Gesamtdauer des Assays

illumina[®]

Einleitung

Die Genotypisierungs-Assays der Infinium-Familie vereinen bewährte Chemie mit einer zuverlässigen BeadChip-Plattform und sorgen so für eine hohe Datenqualität, hohe Call-Raten sowie eine hohe Reproduzierbarkeit. Auf diesem Erfolg baut die Infinium XT-Technologie auf. Mit einem BeadChip, der 96 Proben umfasst, und der Optimierung des Infinium-Workflows bietet Illumina nun eine Genotypisierungslösung mit einem bislang einzigartig hohen Durchsatz an. Das Produkt wurde für Kunden entwickelt, die groß angelegte Screenings (bis zu 50.000 SNPs) beliebiger Spezies mit benutzerdefiniertem Inhalt durchführen müssen. Die Infinium XT-Lösung vereinfacht die Gestaltung kundenspezifischer Assays, der manuelle Aufwand wird insgesamt verringert und Automatisierungsroboter werden intensiver und mit höherer Leistung genutzt. Der Workflow ermöglicht die Verkürzung der Gesamtdurchlaufzeit, wenn es wichtiger ist, schnell ein Ergebnis zu erhalten, als einen möglichst hohen Output pro Woche zu erreichen. Darüber hinaus wird mit der Infinium XT-Lösung eine verbesserte Softwarelösung zur Datenanalyse eingeführt, die Funktionen für die Datengenerierung in Echtzeit sowie für On-Demand-Berichte zur Qualitätskontrolle (QC, Quality Control) bietet. Probleme im Produktionsbetrieb können so früher erkannt und behoben werden.

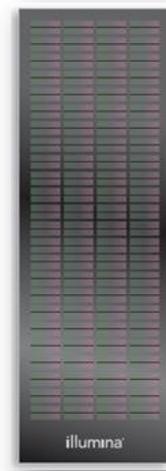


Abbildung 1: Infinium XT BeadChip für 96 Proben: Der Infinium XT BeadChip zeichnet sich durch die bewährte Leistungsfähigkeit und Flexibilität des Infinium-Assays aus und erreicht zugleich den höchsten Durchsatz, den Illumina anbietet.

Dank seiner Vielseitigkeit ist der Infinium XT BeadChip eine kostengünstige, zuverlässige Lösung für die Kontrolle der Probenqualität, die Nachverfolgung und die Validierung während des gesamten Workflows.

Genotypisierung im Produktionsmaßstab

Die Infinium XT-Lösung umfasst einen BeadChip für 96 Proben ([Abbildung 1](#)) und ermöglicht damit die effiziente Genotypisierung einer hohen Anzahl von Proben. Durchsätze zwischen mehreren Hunderttausend und bis zu einer Million Proben pro Jahr sind problemlos möglich. Infinium XT kann bereits ab wenigen Hundert SNPs eingesetzt werden. Damit erhalten Sie eine Lösung für die gezielte Genotypisierung im Produktionsmaßstab, etwa zur Abstammung von Tieren, für die Probenrückverfolgbarkeit oder für die Kontrolle der Probenqualität. Zudem eignet sich das Produkt für bis zu 50.000 SNPs, die für wichtige landwirtschaftliche Anwendungen wie die genomische Auswahl sowohl bei diploiden als auch bei polyploiden Organismen erforderlich sind.

Auch in Anwendungen im Humanbereich wie Biobanken, Bevölkerungsscreening und Initiativen im Bereich personalisierter Medizin lässt sich die Technologie vorteilhaft einsetzen. Dank der geringen bis mittelgroßen Anzahl an SNPs und der niedrigen Kosten eignet sich die Lösung ideal für Labore, die einfache Qualitätskontrollen für umfangreiche Probensätze benötigen oder die eine gründlichere Bevölkerungsschichtung durchführen müssen, bevor sie mit tiefergehenden genomischen Tests fortfahren.

Flexibler, anwendungsspezifischer Inhalt

Der Infinium XT BeadChip eignet sich ohne Einschränkung für anwendungsspezifische iSelect™-Arrays, Konsortien oder die Entwicklung kommerzieller Produkte im Rahmen von Anwendungen im Humanbereich oder in der Agrar genomik mit entsprechenden Anforderungen an Inhalt und Durchsatz (≤ 50.000 Marker, ≥ 100.000 Proben pro Jahr). Die online verfügbare DesignStudio™ Software umfasst einen Designer für anwendungsspezifische Microarray-Sonden zur Genotypisierung. Dieser dient zur Zusammenstellung anwendungsspezifischer Inhalte für Infinium XT BeadChips und ersetzt die bisherige Software Assay Design Tool. Mit der DesignStudio Software lässt sich eigener Inhalt über eine einfach zu bedienende Oberfläche mit Benutzerführung entwickeln und anordnen, wobei eine garantierte Konversionsrate von mindestens 95 % für die eigenen Inhalte erreicht wird. Dies ist eine erhebliche Steigerung gegenüber der garantierten Konversionsrate von 80 % bei den standardmäßigen Infinium-BeadChips. Damit wird das Screening großer Probengruppen auf eine bestimmte Anzahl kritischer SNPs möglich. Die erforderliche Zugabemenge beträgt auch beim Infinium XT-Assay 200 ng Proben-DNA. Damit erzielen Anwender die von der Infinium-Technologie gewohnte hohe Qualität.

Hocheffizienter Infinium-Workflow

Alle Schritte des vollständig automatisierten Infinium HD-Workflows wurden beim Infinium XT-Workflow optimiert. Die Durchlaufzeit verkürzt sich damit von drei Tagen auf zwei Tage (Abbildung 2). Am ersten Tag wird DNA amplifiziert, enzymatisch fragmentiert, präzipitiert und resuspendiert. Anschließend werden die Proben während einer Inkubation über Nacht auf BeadChips hybridisiert, wo die DNA an lokusspezifische 50-mer-Sonden bindet, die kovalent an einen der Infinium-Bead-Typen gebunden sind. Am zweiten Tag wird der Infinium XT-Workflow mit einer enzymatischen Basenverlängerung zur Erzeugung von allelischer Spezifität, gefolgt von fluoreszierender Färbung, fortgesetzt. Das iScan™ System erkennt die Fluoreszenzintensitäten der Beads und die Illumina-Software führt automatisch die Analyse und das Genotyp-Calling durch.

Dank neuer effizienter Abläufe im Infinium-Workflow lässt sich mit dem Infinium XT BeadChip eine höhere Skalierbarkeit erzielen (Tabelle 1).

- DNA-Amplifikation: Die Chargengröße wurde verdreifacht und die Inkubationszeit von einer Nacht auf drei Stunden verkürzt.
- Enzymatische Fragmentierung: Die Fragmentierungszeit wurde um 50 % verkürzt.
- Alkoholpräzipitation: Ein 30-minütiger Inkubationsschritt entfällt und die Trockenzeit wurde um 75 % verkürzt (von einer Stunde auf 15 Minuten).
- DNA-Resuspension: Die Gesamtinkubationszeit wurde um 75 % verkürzt (von einer Stunde auf 15 Minuten).
- BeadChip-Hybridisierung: Die Probenkapazität wurde unter Beibehaltung des gleichen Tecan-Robotersystems verdreifacht.
- Probenerweiterung/-färbung: Die Kapazität wurde verdoppelt, pro Lauf können bis zu 48 BeadChips (4.608 Proben) verarbeitet werden.

Infinium XT ermöglicht einen flexiblen Workflow. Die Konfiguration kann der jeweiligen Priorität entsprechend auf maximalen wöchentlichen Output oder möglichst kurze Durchlaufzeit optimiert werden.

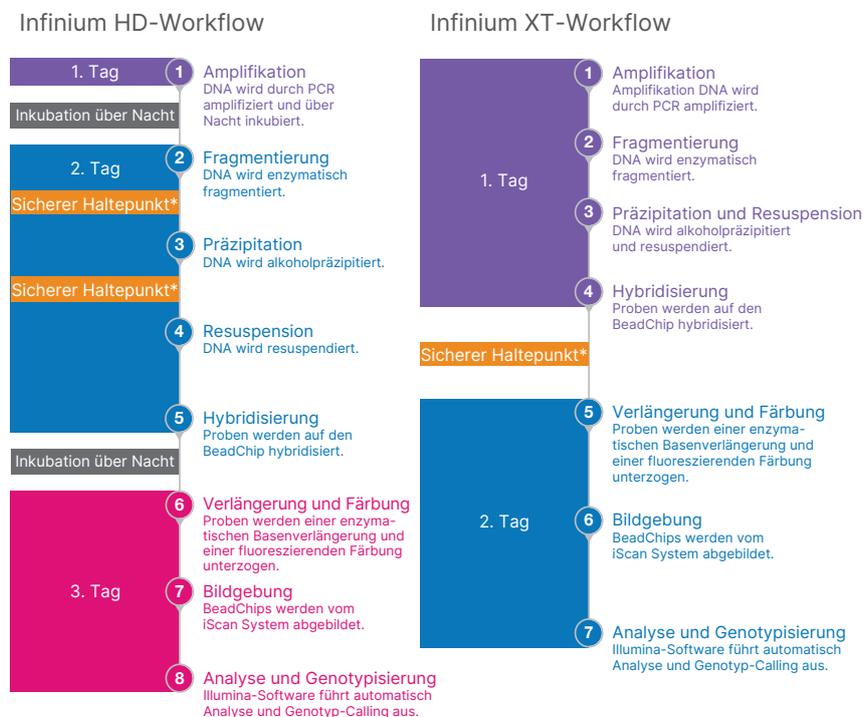


Abbildung 2: Verbesserungen des Infinium XT-Workflows: Sämtliche Schritte des Infinium HD-Workflows wurden im Infinium XT-Workflow optimiert. Die Durchlaufzeit verkürzt sich von drei Tagen auf zwei Tage.

* Illumina empfiehlt, an diesem Punkt anzuhalten und den Workflow bei Bedarf am nächsten Tag fortzusetzen.

Tabelle 1: Vergleich der Infinium-Workflows

Workflow-Schritt	Verarbeitungsschritt	Infinium HD-Workflow	Automatisierter Infinium XT-Workflow
DNA amplifizieren	Aufbringen einer Ölschicht im ersten MA-Schritt	Enthalten	Entfernt
	Inkubationszeit	Über Nacht	3 h
	Chargengröße	Eine Platte (96 Proben)	Drei Platten (288 Proben)
DNA fragmentieren	Inkubationszeit	1 h	30 min
	Chargengröße	Sechs Platten (30 min, 576 Proben)	Sechs Platten (18 min, 576 Proben)
DNA präzipitieren	Vor dem Zugeben von 2-Propanol mit dem Vortexer mischen	Enthalten	Entfernt
	Inkubationszeit	30 min	Entfernt
	Trockenzeit	1 h	15 min
	Chargengröße	Sechs Platten (> 75 min, 576 Proben)	Sechs Platten (65 min, 576 Proben)
DNA resuspendieren	Inkubationszeit	1 h	15 min
	Chargengröße	Sechs Platten (> 90 min, 576 Proben)	Sechs Platten (65 min, 576 Proben)
Auf BeadChip hybridisieren	Spitzenführungen	Einzelne Spitzenführung	Drei Spitzenführungen
	Hybridisierungskammer	Vier BeadChips pro Kammer	Sechs BeadChips pro Kammer (neues Design)
	Chargengröße	288 Proben	576 Proben
BeadChip waschen und färben	Mindestcharge (kein Reagenzienabfall)	Vier BeadChips	24 BeadChips
	X-Stain-Reagenzien	Röhrchen	Plattenbasiert
	Abdeckglasplatten	Mylar-Spacer	Integrierte Spacer
	Neue Assemblierungsvorrichtung	Vier-BeadChip-Kapazität	Sechs-BeadChip-Kapazität
	Reagenz zur Vorbereitung von BeadChips auf die Hybridisierung	Mit 1-facher Konzentration bereitgestellt	Mit 20-facher Konzentration bereitgestellt
	Chargengröße	24 BeadChips	48 BeadChips
BeadChip scannen	Unterstützte Scanner	HiScan System und iScan System	Nur iScan System
	SDF	HD	XT
	ICS	v3.3.28	v3.4

Abkürzungen: MA, Multi-Sample Amplification (Mehrprobenamplifikation); SDF, Sentrix Descriptor File (Sentrix-Beschreibungsdatei); ICS, iScan Control Software (iScan-Steuerungssoftware).

Optimales Labor-Layout

Der Infinium XT BeadChip ist für Großlabore im industriellen Maßstab ausgelegt und vereinfacht dort die Prozessskalierung und die Verarbeitung von Chargen mit großer Probenanzahl. Illumina bietet eine Beratung zu weiteren Effizienzsteigerungen im Labor an. Beispiel: Ein Labor, in dem pro Jahr über 1.000.000 Proben verarbeitet werden, benötigt drei Tecan-Roboter (mit acht Spitzen), drei iScan Systems, zwei AutoLoader 2.x-Einheiten sowie weitere Laborausrüstung (Abbildung 3).

Automatisierung und LIMS auf dem neuesten Stand

Um eine zunehmende Anzahl von Proben effizient verarbeiten zu können, bedarf es skalierbarer, sofort einsatzfähiger Lösungen. Dazu zählen integrierte Systeme zur einfacheren Probenvorbereitung, die die fortlaufende Skalierung des Betriebs erforderliche Zuverlässigkeit bieten. Die Software Illumina Automation Control (IAC) für den Liquid-Handling-Roboter von Tecan sorgt für eine effizientere Probenverarbeitung. Dies umfasst Aktualisierungen der Schritte zur Übertragung der Reagenzien vor der PCR sowie die Verdoppelung des Durchsatzes bei der X-Stain-Aufgabe innerhalb des Infinium-Workflows.

Verbesserte Datenanalyse

Mit der auf hohen Durchsatz ausgelegten Infinium XT-Lösung geht eine natürliche Ausweitung der Datenanalyse einher. Vor diesem Hintergrund wurden diverse Verbesserungen an der GenomeStudio™ Software und der Beeline Software vorgenommen. Bei der GenomeStudio Software handelt es sich um das Visualisierungs- und Analyseprogramm von Illumina für auf Microarrays basierende Genotypisierungsdaten. Darin werden die Daten tabellarisch dargestellt, sodass ein schneller Zugriff auf alle Daten in einem Versuch möglich ist und Daten für die Verwendung in diversen Drittanbieteranwendungen exportiert werden können. Das GenomeStudio Genotyping Module unterstützt die Analyse von Genotypisierungsdaten des Infinium-Arrays mit Normalisierung, Genotyp-Calling, Clustering, Analyse der Datenintensität und vielem mehr. Außerdem ist die GenomeStudio Software zum Erstellen und Modifizieren von Clustern für das Genotyp-Calling aus den Signalintensitäten gescannter Microarrays erforderlich. Mit der GenomeStudio 2.0 Software werden Genotyp-Cluster noch schneller gebildet, wodurch sich die Durchlaufzeit der Analyse insgesamt verringert. Außerdem eignet sich das Polyploid Genotyping Module für landwirtschaftliche Anwendungen und andere Anwendungen im Zusammenhang mit polyploiden Organismen (Abbildung 4). In Kombination mit Illumina LIMS bietet die GenomeStudio Software eine integrierte Umgebung für die Anzeige und Analyse von Daten aus verarbeiteten Proben in Echtzeit.

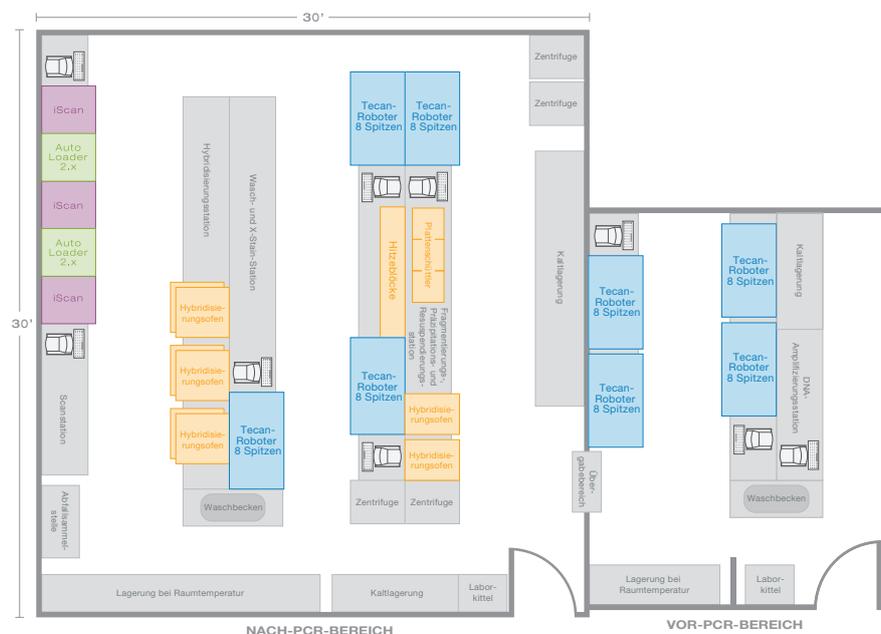


Abbildung 3: Beispiel einer Laboranordnung für die Genotypisierung im Produktionsmaßstab mit Infinium XT: Die Laboranordnung im Beispiel ist für die Verarbeitung von mehr als 1.000.000 Proben pro Jahr ausgelegt und umfasst drei Tecan-Roboter (acht Spitzen), drei iScan Systems, zwei AutoLoader 2.x-Einheiten sowie weitere Laborausrüstung. Für diese Beispielanordnung ist eine Fläche von rund 110 Quadratmetern erforderlich. Die Anordnung ist nicht maßstabsgetreu.

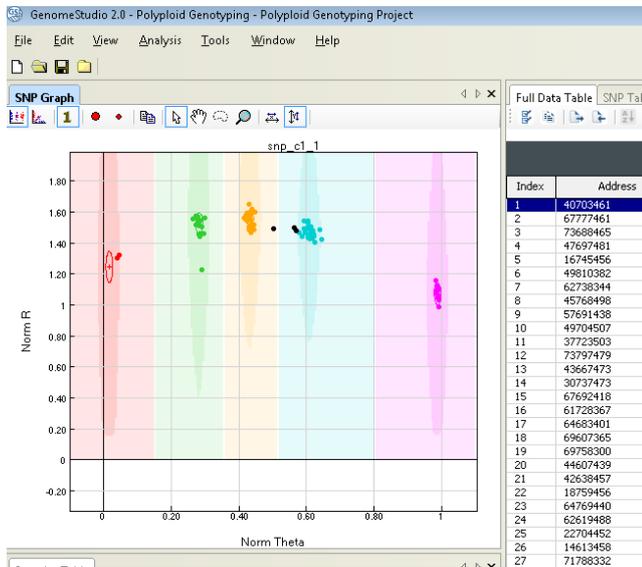


Abbildung 4: GenomeStudio 2.0 Software: Die GenomeStudio 2.0 Software enthält das Polyploid Genotyping Module für Anwendungen in Zusammenhang mit der Genotypisierung polyploider Organismen.

Nach der Erstellung einer Clusterdatei lässt sich die Analyse der Produktionsstufe in die Beeline Software übertragen. Die Beeline Software ist das Werkzeug von Illumina für die Microarray-Datenanalyse, das für die automatische Vorabfilterung von Daten aus der Hochdurchsatzverarbeitung und die Erstellung von Berichten zu diesen Daten eingesetzt wird. Somit ist die Software ideal für den routinemäßigen Einsatz mit Infinium XT-Daten und bietet klare Vorteile für alle groß angelegten Infinium-Genotypisierungsprojekte. Die Beeline Software bietet flexible Filterfunktionen, verringert die Größe der Array-Daten zu Versuchen und erkennt alle Proben oder Marker, die den benutzerdefinierten Leistungsspezifikationen nicht entsprechen. Gefilterte Daten können auch direkt in die GenomeStudio Software importiert werden, um bei Bedarf eine interaktivere Analyse vorzunehmen.

Die Beeline 2.0 Software zeichnet sich durch optimierte Analyse- und Berichtsfunktionen für die Verarbeitung von Genotypisierungsstudien mit hohem Durchsatz aus. Zudem bietet die Software neue Funktionen wie On-Demand-Qualitätskontrolle, Genotyp-Calling für polyploide Organismen sowie schnellere Generierung von Genotypisierungsberichten. Durch die Umstellung von der GenomeStudio Software auf die Beeline Software wird der Zeitaufwand für die Einhaltung von Leistungsspezifikationen, die Generierung von Genotypisierungsberichten sowie die Analyse von Daten zu polyploiden Organismen erheblich reduziert, ohne die Flexibilität manueller Eingriffe einzuschränken.

Zusammenfassung

Mit dem Infinium XT BeadChip und dem zugehörigen Workflow wird eine erhebliche Steigerung des Probendurchsatzes bei der auf Microarrays basierenden Genotypisierung erreicht. Die umfassende Lösung ermöglicht groß angelegte Programme für die genetische Verbesserung in der Agrar genomik und unterstützt weitreichende Screenings für Biobanken und Initiativen für die personalisierte Medizin. Zu den Vorteilen des Infinium XT-Workflows gehören die Design-Software, eine Vervielfachung der BeadChip-Kapazität, eine Verkürzung der Probendurchlaufzeit um 33 %, eine höhere Konversionsrate von anwendungsspezifischem Inhalt, Design-Funktionen für mehrere Spezies sowie eine verbesserte Datenanalyse für sowohl diploide als auch polyploide Organismen. Mit dem von hohem Durchsatz geprägten Workflow in Kombination mit den geringen Kosten pro Probe ist die Infinium XT-Lösung die richtige Wahl für kommerzielle Genotypisierungslabore, die ihren Durchsatz und ihre Effizienz auf industrielles Niveau steigern möchten, ohne Zugeständnisse an Leistung und Zuverlässigkeit machen zu müssen.

Weitere Informationen

Infinium XT: illumina.com/InfiniumXT

Bestellinformationen

Produkt	Katalog-Nr.	Produkt	Katalog-Nr.
Infinium XT Starter Kit (48 BeadChip batches)	20011069	AutoLoader 2.x, Single-Scanner Configuration, 110/220 V	SY-202-1001
Infinium XT Starter Kit (24 BeadChip batches)	20011100	AutoLoader 2.x, Single-Dual Configuration, 110/220 V	SY-202-1002
Infinium XT Upgrade Kit (24 BeadChip batches)	20011101	Infinium Automation Kit 8-tip Tecan LIMS ready, 100/220 V	SC-30-403/404
Infinium XT Upgrade Kit (12 BeadChip batches)	20011102	Infinium Automation Kit 8-tip Tecan non-LIMS, 110/220 V	SC-30-401/402
Illumina LIMS Annual Subscription	20073865	Infinium XT iSelect-96 Kit (1152 samples)	20006613
Illumina LIMS One-Time Onboarding	20073866	Infinium XT iSelect-96 Kit (4608 samples) ^a	20006614
Infinium XT PB20 Reagent Kit	20007420	Infinium XT iSelect-96 Kit (23,040 samples) ^a	20006615
iScan System, 110/220 V	SY-101-1001		

a. Nur für automatisierte Hochdurchsatz-Verarbeitung. Wenden Sie sich an Ihren Vertriebsbeauftragten vor Ort, falls Sie weitere Informationen benötigen.



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

© 2022 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-01137 DEU v1.0