

# TruSight™ Whole Genome

Eine validierte, skalierbare und IVDR-konforme Lösung für die klinische Genomsequenzierung

- Einfache Anwendung zur Genomsequenzierung für klinische Diagnosetests mit einem umfassenden DNA-zu-VCF-Workflow
- Minimale Verzerrung und überlegene Coverage-Einheitlichkeit mit Bibliotheksvorbereitungsschemie ohne PCR
- Hochgenaues und präzises Keimbahn-Varianten-Calling für verschiedene nachgeschaltete klinische Anwendungen
- Optimale Leistung mit analytischen Kontrollen, einschließlich Metriken zur Lauf- und Proben-Qualitätskontrolle, ohne dass externe Batchkontrollen erforderlich sind



## Einleitung

Herkömmliche Methoden für klinische Tests, einschließlich PCR und chromosomales Microarray, sind von begrenztem Nutzen bei der Erkennung von mit Krankheiten assoziierten genetischen Varianten. Methoden für die Sequenzierung der nächsten Generation (NGS, Next-Generation Sequencing), einschließlich der Genomsequenzierung (WGS, Whole-Genome Sequencing), führen zu bahnbrechenden Verbesserungen bei klinischen genetischen Tests und beschleunigen Diagnosen. Einzelgen-Tests und Multigen-NGS-Panels sind jedoch gezielte Verfahren mit begrenztem Umfang, bei denen möglicherweise verwertbare Varianten übersehen werden. Außerdem finden bei diesen Methoden möglicherweise neu entdeckte Assoziationen für genetisch bedingte Erkrankungen keine Berücksichtigung, was klinische Labore zu zeitaufwendigen Zyklen in Zusammenhang mit der Änderung und Validierung neuer Tests zwingt.

Die WGS bietet den umfassendsten Überblick über das Humangenom und umfasst oft Regionen, die von anderen Methoden nicht erfasst werden. Mit der WGS ohne PCR lassen sich Tausende Gene mit bekannten oder mutmaßlichen Erkrankungsassoziationen gleichzeitig analysieren sowie neue verursachende Varianten ermitteln.

Für klinische Labore, die auf einen mit der Verordnung der Europäischen Union (EU) über *In-vitro*-Diagnostika (IVDR, In Vitro Diagnostic Regulation) konformen genomischen Assay umsteigen oder diesen integrieren möchten, bietet Illumina TruSight Whole Genome. Dieser Assay bietet einen umfassenden DNA-zu-VCF(Variant Call Format)-Workflow für die klinische WGS (Abbildung 1). Diese Nasslabor-zu-Sekundäranalyse-Lösung optimiert die Assayvalidierung über interne Kontrollen, automatisiertes Varianten-Calling und analytische Validierungsstudien.

## Vollständige Erfassung genomischer Variationen

Die WGS überwindet Inhaltsbeschränkungen herkömmlicher Testmethoden, indem sie durch die Erfassung jeder einzelnen Base praktisch alle genomischen Veränderungen in einer Probe erkennt. TruSight Whole Genome hat die Leistung für die folgenden Variantenklassen charakterisiert:

- Einzelnukleotid-Varianten (SNVs, Single-Nucleotide Variants)
- Insertionen und Deletionen (Indels)
- Kopienzahlvarianten (CNVs, Copy Number Variants)
- Homozygotie-Läufe (ROH, Runs Of Homozygosity)
- Expansionen kurzer Tandemwiederholungen (STR, Short Tandem Repeat)
- Varianten der mitochondrialen DNA (mtDNA)

## Eine validierte klinische WGS-Lösung

Die analytische Validierung des TruSight Whole Genome-Assays wurde gemäß den Richtlinien des Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) mit über 450 Proben im Rahmen von mehr als 150 Sequenzierungsläufen durchgeführt. Metriken zur Qualitätssicherung (QS) sowie Konfidenzstufenannotationen, die von TruSight Whole Genome ausgegeben werden, identifizieren Proben mit schlechter Leistung und ermöglichen die Filterung von Daten. Dies reduziert falsch positive und falsch negative Calls und verbessert die Leistung signifikant (Tabelle 1, Abbildung 2).

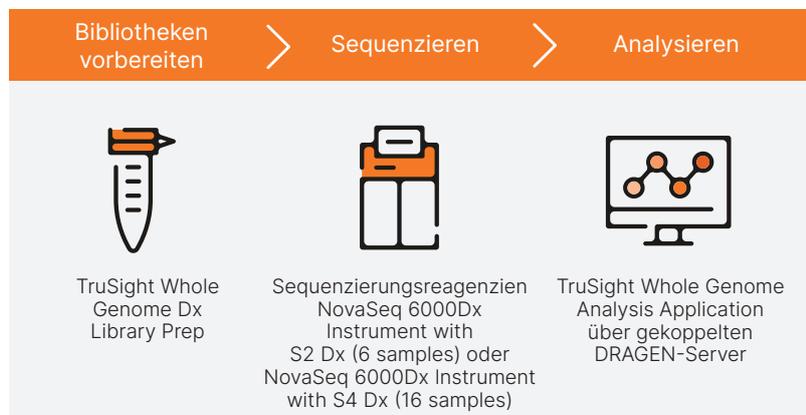


Abbildung 1: TruSight Whole Genome Workflow: TruSight Whole Genome bietet einen umfassenden DNA-zu-VCF-Workflow, der die Bibliotheksvorbereitung, die Sequenzierung auf dem NovaSeq 6000Dx Instrument und die Analyse mit der TruSight Whole Genome Analysis-App umfasst.

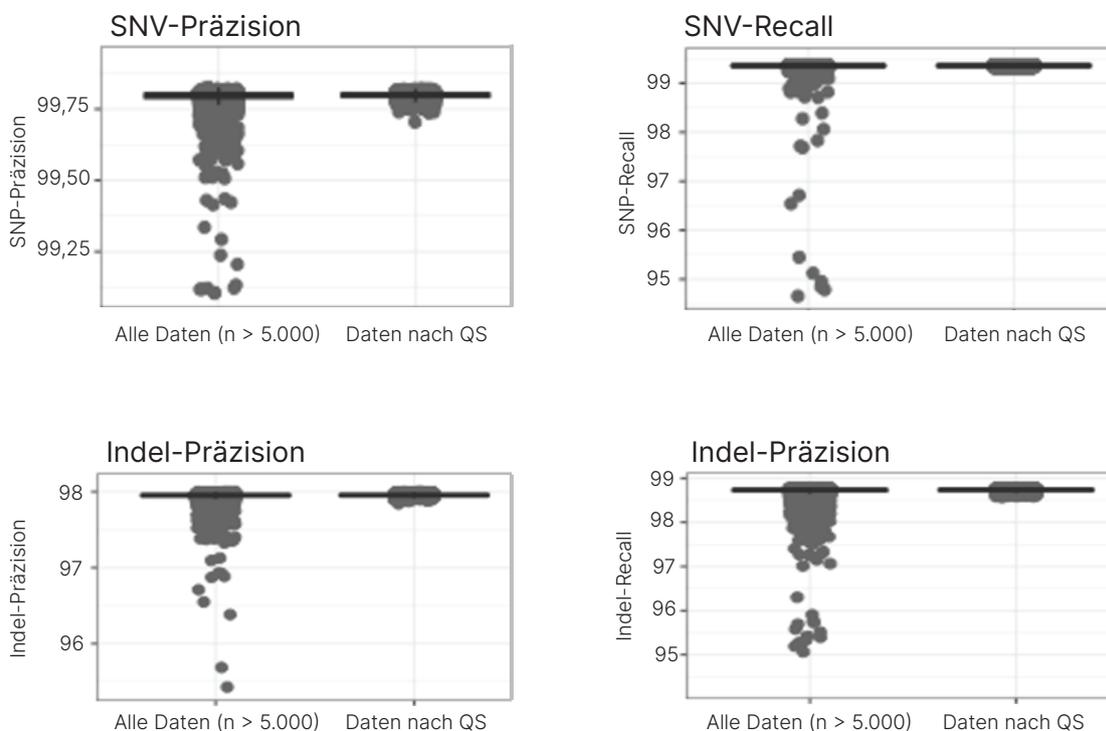


Abbildung 2: Überzeugende Leistung durch integrierte analytische QS-Metriken: Die Qualitätssicherung auf Grundlage von Lauf- und Proben-Leistungsspezifikationen sowie Metriken, einschließlich Coverage, Einheitlichkeit und Basen-Qualität, macht Proben mit schlechter Leistung ungültig, um eine optimale analytische Leistung zu gewährleisten, ohne dass externe Batch-Kontrollen erforderlich sind.

Tabelle 1: Filterung nach Varianten mit hoher und mittlerer Konfidenz verbessert die Leistung

	Ungefiltert	Hohe Konfidenz	Mittlere Konfidenz	Niedrige Konfidenz
SNVs	99,79 %	99,99 %	99,85 %	94,36 %
Insertionen ≤ 5 bp	99,87 %	99,99 %	99,93 %	99,05 %
Deletionen ≤ 5 bp	99,84 %	99,97 %	99,91 %	99,12 %
Insertionen ≤ 15 bp	99,75 %	—	99,96 %	99,43 %
Deletionen ≤ 15 bp	99,70 %	—	99,93 %	99,34 %

## Flexibler, skalierbarer Workflow

TruSight Whole Genome bietet einen flexiblen und zuverlässigen Workflow (Tabelle 2), mit dem bis zu 24 Bibliotheken in nur 2,5 Stunden vorbereitet werden können.

Tabelle 2: TruSight Whole Genome im Überblick

Merkmal	Beschreibung
Sequenziersystem	NovaSeq 6000Dx Instrument
Probentypen	aus Vollblut extrahierte gDNA
Erforderliche DNA-Zugabe	280 ng
Probendurchsatz <sup>a</sup>	6 Proben je S2 Dx-Fließzelle und 16 Proben je S4 Dx-Fließzelle
Erkannte Variantentypen	SNVs, Indels, CNVs, ROH, STR-Expansionen, mtDNA-Varianten
Assay-Zeit insgesamt	< 3 Tage
Dauer der Bibliotheksvorbereitung	ca. 2,5–4 h
Laufzeit der Sequenzierung	ca. 44 h
Sequenzierungszyklen	2 × 150 bp
<p>a. Es können zwei Fließzellen parallel eingesetzt werden, um den Durchsatz zu verdoppeln.</p>	

## Bewährte Illumina-Sequenzierung

Vorbereitete Bibliotheken werden auf dem NovaSeq™ 6000Dx Instrument mit S2 Dx- oder S4 Dx-Fließzellen und entsprechenden Reagenzien sequenziert. Das NovaSeq 6000Dx Instrument ist ein Gerät für die *In-vitro*-Diagnostik (IVD) mit CE-Kennzeichnung, mit dem klinische Labore NGS-basierte IVD-Assays entwickeln und durchführen können.

## Automatisierte Datenanalyse

Die Analyse wird in der TruSight Whole Genome Analysis-App automatisch durchgeführt. Über die DRAGEN™-Sekundäranalyse bietet die App Varianten-Calling und Annotation mit höchster Genauigkeit. Ausgegeben wird eine gVCF-Datei (genome Variant Call Format), die für beliebige Interpretationsplattformen geeignet ist. Dank ORA-Komprimierung (Original Read Archive) benötigen WGS FASTQ.ORA-Dateien im Vergleich zum herkömmlichen FASTQ.GZ-Format 5-mal weniger Speicherplatz.

## Außergewöhnliche Leistung

### Hochgenaues und reproduzierbares Varianten-Calling

Analytische Validierungsstudien zeigen, dass TruSight Whole Genome für alle durch den Assay abgedeckten Variantentypen und Unterklassifizierungen eine genaue und reproduzierbare Varianten-Calling-Leistung bietet (Tabelle 3). Die im Rahmen der Präzisionsstudie innerhalb des Labors durchgeführte Varianzkomponentenanalyse ergab im Schnitt nur eine minimale Varianz bei Reagenziencharge (< 1,8 %), Sequenzierungsgerät (1,2 %) und Sequenzierungskitcharge (9,7 %).

Die Genauigkeitsstudie zeigte eine geringe Fehlerinzidenz (1,4 %) bei Tests mit 496 Proben, 40 Vorbereitungen, 59 Läufen, 6 Bibliotheksvorbereitungschargen, 4 Sequenzierungs-Verbrauchsmaterialienchargen, 7 Sequenziersystemen und 8 Anwendern.

Tabelle 3: Varianten-Calling-Leistung von TruSight Whole Genome

Variantentyp	Unterklassifizierung	Analytische Genauigkeit			Präzision im Labor	
		PPA	TPPV	NPA	APA	ANA
SNVs	Hohe Konfidenz	99,4	99,9	99,9	99,9	> 99,9
	Mittlere Konfidenz	94,1	97,7	97,7	98,8	98,8
Indels 1–5 bp	Hohe Konfidenz	98,6/98,3	99,6/99,5	n. z.	99,9/99,6	n. z.
	Mittlere Konfidenz	96,0/98,4	96,5/98,5	n. z.	98,8/98,8	n. z.
Indels 6–15 bp	Mittlere Konfidenz	97,8/97,7	97,9/97,9	n. z.	99,2/98,1	n. z.
Indels 16–31 bp	Mittlere Konfidenz	98,1/96,0	94,9/91,5	n. z.	96,8/94,6	n. z.
CNVs	Zunahme > 10 kbp	86,6	88,7	> 99,9	95,2	> 99,9
	Verringerung > 10 kbp	93,3	91,0	> 99,9	95,6	> 99,9
ROH	> 500 kbp	> 99,9	85,5	n. z.	98,3	n. z.
mtDNA-SNVs		> 99,99	99,91	99,24	97,2 <sup>a</sup>	99,9 <sup>a, b</sup>
STR exp	<i>AR</i>	> 99,99	> 99,99	> 99,99	n. z.	> 99,99 <sup>b</sup>
	<i>ATN1</i>	> 99,99	> 99,99	> 99,99	n. z.	> 99,99 <sup>b</sup>
	<i>ATXN1</i>		> 99,99	> 99,99	n. z.	> 99,99 <sup>b</sup>
	<i>C9ORF72</i>	> 99,99	> 99,99	> 99,99	n. z.	> 99,99 <sup>b</sup>
	<i>DMPK</i>	> 99,99	> 99,99	> 99,99	n. z.	> 99,99 <sup>b</sup>
	<i>FMR1</i>	> 99,99	> 99,99	> 99,99	> 99,99 <sup>b</sup>	> 99,99 <sup>b</sup>
	<i>HTT</i>	> 99,99	99,49	83,33	> 99,99 <sup>b</sup>	99,8 <sup>b</sup>
<i>SMN1</i>	c. 840C (negativ)	> 99,99	> 99,99	> 99,99	> 99,99 <sup>b</sup>	> 99,99 <sup>b</sup>

a. Ergebnisse auf Grundlage einer künstlichen Mischung, die auf 32–40 Loci mit der 1-fachen LoD (4,75 % VAF) abzielt.

b. Ergebnisse werden als PPC und PNC anstelle von APA und ANA angegeben, wenn der Vergleich mit der Grundreferenz und nicht mit einem Charakterisierungslauf durchgeführt wird.

PPA (Positive Percent Agreement), positive prozentuale Übereinstimmung; PPC (Percent Positive Calls), positive Calls in Prozent; TPPV (Technical Positive Predictive Value), technischer positiver prädikativer Wert; NPA (Negative Percent Agreement), negative prozentuale Übereinstimmung; PNC (Percent Negative Calls), negative Calls in Prozent; APA (Average Positive Agreement), durchschnittliche positive Übereinstimmung; ANA (Average Negative Agreement), durchschnittliche negative Übereinstimmung; exp, Expansionen; VAF, Variantenallelfrequenz

Weitere Informationen zur anfänglichen Charakterisierung von Variantentypen, die zur Messung der Genauigkeit verwendet werden, finden Sie in der Packungsbeilage zu TruSight Whole Genome.

## Zusammenfassung

TruSight Whole Genome ist ein validierter klinischer WGS-Workflow, der eine genaue und reproduzierbare Erkennung von Keimbahnvarianten ermöglicht. Diese DNA-zu-Daten-Lösung erleichtert die Implementierung, indem die Entwicklung von Kontrollen und Bioinformatik-Pipelines sowie die Durchführung kostspieliger und zeitaufwendiger analytischer Validierungsstudien optimiert werden. Die vom System generierten gefilterten und annotierten geome.vcf-Dateien eignen sich für die Verwendung in verschiedenen nachgeschalteten klinischen Keimbahntestanwendungen.

## Weitere Informationen

[TruSight Whole Genome](#)

[NovaSeq 6000Dx Instrument](#)

[DRAGEN-Sekundäranalyse](#)

## Bestellinformationen

Produkt	Katalog-Nr.
TruSight Whole Genome Dx Library Prep with UD Indexes, 24 sample	20093209

## Erklärung zur bestimmungsgemäßen Verwendung

Bei TruSight Whole Genome handelt es sich um ein hochwertiges System für die *In-vitro*-Diagnostik, das für die Genomsequenzierung sowie die Erkennung von Einzelnukleotidvarianten, Insertionen/Deletionen, Kopienzahlvarianten, Homozygotie-Läufen, Expansionen kurzer Tandemwiederholungen und mitochondriale Variationen in Humangenom-DNA aus Blut vorgesehen ist.

TruSight Whole Genome umfasst die TruSight Whole Genome Dx Library Prep with UD Indexes und die TruSight Whole Genome Analysis Application-Software. Das Gerät ist für die Verwendung mit kompatiblen nachgeschalteten Keimbahnanwendungen zur Entwicklung von Assays für die *In-vitro*-Diagnostik durch qualifiziertes Laborpersonal und qualifizierte Assay-Entwickler vorgesehen.

TruSight Whole Genome ist für die Verwendung mit dem NovaSeq 6000Dx Instrument vorgesehen.



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](http://www.illumina.com/company/legal.html).  
M-EMEA-01012 DEU v1.0