

NextSeq™ 550Dx- Gerät

Eine FDA-konforme
Hochdurchsatz-
Sequenzierungsplattform
mit CE-Kennzeichnung

- Geeignet für klinische und Forschungsanwendungen mit flexiblen Read-Längen und verschiedenen Leistungskonfigurationen
- Beschleunigt Forschungsstudien dank kurzer Durchlaufzeiten und benutzerfreundlicher Datenanalyse
- Greift auf eine wachsende Zahl an in Laboren entwickelten Tests zurück, die sich auf wissenschaftliche Erkenntnisse und Kompetenzen von Illumina stützen

illumina®

Einleitung

Das NextSeq 550Dx-Gerät ist die erste von der FDA zugelassene Hochdurchsatz-Plattform mit CE-Kennzeichnung, mit der klinische Labore von der leistungsfähigen NGS (Next-Generation Sequencing, Sequenzierung der nächsten Generation) profitieren (Abbildung 1). Dank der Dual-Boot-Funktionalität kann die NextSeq 550Dx-Plattform im Diagnosemodus (Dx-Modus) oder* im Forschungsmodus betrieben werden. Die beiden Modi ermöglichen es, IVD-Tests, LDT-Entwicklung und klinische Forschung mit einem einzigen Gerät durchzuführen.† Großen klinischen Laboren bietet das NextSeq 550Dx-Gerät eine validierte Hochdurchsatzplattform und ermöglicht den Zugang zu einer ständig wachsenden Pipeline klinischer Anwendungen in den Bereichen Onkologie, Reproduktionsmedizin und mehr.

Das NextSeq 550Dx-Gerät kann in weniger als zwei Tagen mehr als 90 GB an Daten erzeugen und bietet dabei die Konsistenz einer geregelten Plattform sowie Robustheitsverbesserungen im Software- und Gerätedesign. Darüber hinaus unterstützt die Ausführung im Forschungsmodus alle derzeit verfügbaren Forschungsanwendungen, einschließlich Exom-Sequenzierung, Transkriptom-Profilierung, kundenspezifische zielgerichtete Panels und Microarray-Scans. Mit dem NextSeq 550Dx-Gerät können klinische Labore im konformen Dx-Modus IVD-Tests oder im Forschungsmodus klinische Studien durchführen, ohne auf die Geschwindigkeit und Leistung eines Sequenzierers mit hohem Durchsatz verzichten zu müssen.

SBS-Chemie von Illumina liefert herausragende Genauigkeit

Das Herzstück des NextSeq 550Dx-Geräts ist die bewährte Chemie zur Sequenzierung durch Synthese (SBS) von Illumina – die weltweit am häufigsten eingesetzte NGS-Chemie.¹ Diese Methode auf Grundlage reversibler Terminatoren erkennt einzelne Basen, während sie in wachsende DNA-Stränge eingebaut werden, und ermöglicht die parallele Sequenzierung von Millionen von DNA-Fragmenten.

* Bei Läufen im Dx-Modus handelt es sich um von US- und EU-Regulierungsbehörden geregelte Verfahren.

† Wenden Sie sich hinsichtlich weiterer Informationen über IVD-Entwicklungspartnerschaften bitte an einen Vertreter von Illumina.



Abbildung 1: NextSeq 550Dx-Gerät: Durch die Nutzung der neuesten Entwicklungen der SBS-Chemie und benutzerfreundlicher, konformer Workflows bietet das NextSeq 550Dx-Gerät sowohl für klinische als auch für wissenschaftliche Anwendungen Ergebnisse von hoher Qualität.

Die Illumina SBS-Chemie nutzt die natürlichen Mechanismen zwischen allen vier markierten Nukleotiden, was die Integrationsfehler reduziert und eine zuverlässigere Sequenzierung von repetitiven Regionen und Homopolymeren ermöglicht.²

Im Vergleich zu der auf der Kapillarelektrophorese basierenden Sanger-Sequenzierung kann mit der NGS in kürzerer Zeit und mit einem geringeren manuellen Aufwand ein breiteres Spektrum an DNA-Varianten, einschließlich niedrigfrequenter Varianten und benachbarter phasengesteuerter Varianten, erkannt werden.^{3, 4} Darüber hinaus ermöglichen die NextSeq-Sequenzierungsreagenzien verbesserte Signalintensitäten und eine geringere Anzahl von falsch positiven und falsch negativen Ergebnissen.⁵ Mit der NextSeq-SBS-Chemie bietet das NextSeq 550Dx-Gerät außergewöhnliche Genauigkeit bei klinischen Tests und Forschungsanwendungen.

Einfacher Workflow mit drei Schritten

Assays, die auf dem NextSeq 550Dx-Gerät ausgeführt werden, folgen einem einfachen dreistufigen Prozess, der die Bibliotheksvorbereitung, Sequenzierung und Datenanalyse umfasst (Abbildung 2). Der dreistufige Prozess ist ein vollständig integrierter, von Illumina unterstützter Workflow.



Abbildung 2: Dreistufiger NextSeq 550Dx-Assay-Prozess: Das NextSeq 550Dx-Gerät ist Teil eines integrierten, dreistufigen Prozesses. Detaillierte Ergebnisberichte erhalten Sie mit dem TruSeq™ Custom Amplicon Dx-Assay.

Tabelle 1: Leistungsparameter des NextSeq 550Dx-Geräts – Dx-Modus^{a, b}

Konfiguration der Fließzelle	Read-Länge	Ausgabe	Laufzeit	Datenqualität ^c
Fließzelle mit hoher Leistung	2 × 150 bp	≥ 90 Gb	< 35 Stunden	> 75 % ≥ Q30

a. Mit dem TruSeq Custom Amplicon Kit Dx generierte Bibliotheken.
 b. Die Leistungsparameter im Forschungsmodus finden Sie im Datenblatt für das NextSeq 550-System.
 c. Ein Qualitäts-Score von Q30 entspricht einer Fehlerquote von 0,1 Prozent beim Base-Calling.

Bibliotheksvorbereitung

Die Bibliotheksvorbereitung beginnt mit der Zugabe von Primern zu genomischen DNA-Proben (gDNA) und generiert indizierte Bibliotheken für die gleichzeitige Erfassung und Amplifikation von Hunderten von Zielregionen. Für eine Reihe von klinischen Anwendungen unterstützt das TruSeq™ Custom Amplicon Dx Library Preparation Kit benutzerdefinierte Oligo-Panels. Das schnelle, effiziente Bibliotheksvorbereitungskit benötigt nur 50 ng gDNA oder 10 µl qualifizierter, aus formalinfixiertem und in Paraffin eingebettetem Gewebe (FFPE-Gewebe) gewonnener DNA, um in weniger als zwei Tagen qualitativ hochwertige Sequenzierungsbibliotheken zu erzeugen.

FFPE-DNA kann mit dem TruSeq Custom Amplicon Dx-FFPE QC Kit qualifiziert 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.

Sequenzierung auf dem NextSeq 550Dx-Gerät

Mit den vorgefüllten Reagenzienkartuschen ist das Starten eines Laufs mit einem NextSeq 550Dx denkbar einfach: auftauen, laden und loslegen – mit einem manuellen Aufwand von etwa 30 Minuten. Dank der intuitiven Benutzeroberfläche können Forscher mit minimalem Aufwand für Benutzertraining und Geräteeinrichtung zahlreiche Sequenzierungsanwendungen durchführen. Darüber hinaus ermöglicht das NextSeq 550Dx-Gerät die Durchführung von Clusterbildung und SBS-Sequenzierung in einem einzigen Gerät. Das NextSeq 550Dx-Gerät bietet einen einfachen Übergang zur Onboard- oder Cloud-basierten Datenanalyse. Wie das NextSeq 550-System liefert auch das NextSeq 550Dx-Gerät qualitativ hochwertige Daten. Über 75 % der Basen werden mit einem Qualitäts-Score von Q30 oder höher sequenziert (Tabelle 1).

Das NextSeq 550Dx-Gerät ist einfach zu konfigurieren und bietet Forschern die nötige Skalierbarkeit, um Projekte mit niedrigem und hohem Durchsatz zu verarbeiten. Im Forschungsmodus können Forscher zwischen zwei Fließzellenkonfigurationen (mittlere Leistung und Hochleistung) wählen und so bei Bedarf leicht von einer Hochdurchsatzverarbeitung zu einer Verarbeitung mit niedrigerem Durchsatz wechseln. Das wachsende Portfolio von Dx-Lösungen erlaubt es Forschern, mühelos vom MiSeqDx- zum NextSeq 550Dx-Gerät (Abbildung 3) zu wechseln.

Integrierte System-Software

Das NextSeq 550Dx-Gerät bietet eine vollständig integrierte Analysesoftware mit modularer Software-Architektur zur Unterstützung aktueller und zukünftiger Assays. Der Zugriff auf die Gerätesteuersoftware erfolgt über eine benutzerfreundliche Touchscreen-Oberfläche. Die Local Run Manager-Software unterstützt die Planung von Sequenzierungsläufen, die Verfolgung von Bibliotheken und Läufen über Prüfpfade sowie die Integration geräteinterner Datenanalysemodule. Während Local Run Manager auf dem Gerätecomputer läuft, können Benutzer den Fortschritt der Ausführung überwachen und die Analyseergebnisse von anderen Computern, die mit demselben Netzwerk verbunden sind, einsehen. Nach Abschluss eines Sequenzierungslaufs startet Local Run Manager automatisch die Datenanalyse mit einem der anwendungsspezifischen Analysemodule.



NextSeq™ 550Dx

MiSeq™ Dx

Abbildung 3: Angebot an NGS Dx-Geräten von Illumina: Die NGS-Systeme von Illumina bieten Lösungen für ein breites Spektrum von Anwendungen, Probenarten und Sequenzierungsumfängen. Jede einzelne Lösung bietet Daten hoher Qualität und Genauigkeit mit flexiblem Datendurchsatz und einfachen, optimierten Workflows.

Verfügbare Dx-Anwendungen

Im Dx-Modus-Betrieb unterstützt das NextSeq 550Dx-Gerät derzeit die nachfolgenden Anwendungen, die mit dem TruSeq Custom Amplicon Dx-Assay ausgeführt werden:

- **Calling somatischer Varianten:** Mit der Bibliotheksvorbereitung mit gDNA aus FFPE-Gewebe erzielt der Workflow für das Calling somatischer Varianten qualitative Ergebnisse mit einer Nachweisgrenze von 0,05.¹ Der Workflow für das Calling somatischer Varianten unterstützt 4–48 multiplexierte Proben auf dem NextSeq 550Dx-Gerät.
- **Calling von Keimbahn-Varianten:** Mit der Bibliotheksvorbereitung mit gDNA aus peripherem Vollblut liefert der Workflow für das Keimbahn-Varianten-Calling qualitative Ergebnisse für das Calling homozygoter oder heterozygoter Keimbahn-Varianten. Der Workflow für das Calling von Keimbahn-Varianten unterstützt 8–96 multiplexierte Proben auf dem NextSeq 550Dx-Gerät.

Varianten-Calling und Korrelation mit dem MiSeqDx

Die Genauigkeit des Varianten-Callings mit dem NextSeq 550Dx-Gerät wurde mit dem TruSeq Custom Amplicon Variant Panel (TSAVP) untersucht, einem repräsentativen Assay, der darauf ausgelegt ist, verschiedene Gene abzufragen, die 12.588 Basen über 23 unterschiedliche Chromosomen hinweg abdecken. Der TSAVP-Assay weist darüber hinaus ein breites Spektrum an GC-Inhalt (18 %– 87 %), Indels (bis zu 25 Basenpaare) und Homopolymeren (7–13 Nukleotide) auf. Die Genauigkeit wurde mithilfe von Platinum Genome-Proben gemessen,

Tabelle 2: Varianten-Calling im Dx-Modus

	Anzahl der Proben	Analysedauer ^a	PPA ^b			NPA ^b	OPA ^b
			SNVs	Ins.	Del.		
Somatischer Varianten-Caller	48	7,5 Stunden	99,9 %	99,9 %	99,9 %	99,99 %	99,98 %
Keimbahn-Varianten-Caller	96	7,0 Stunden	> 99,9 %	98,9 %	100,0 %	100,00 %	99,99 %

a. Durchschnittliche Onboard-Analysedauer in zwei Studien mit neun Läufen.

b. Niedrigste beobachtete positive prozentuale Übereinstimmung (PPA) für Einzelnukleotidvarianten (SNVs), Insertionen (Ins.), Deletionen (Del.), negative prozentuale Übereinstimmung (NPA) und prozentuale Gesamtübereinstimmung (OPA) in jeder Studie mit neun Läufen, die jeweils drei Reagenzienchargen, drei Geräte und drei Bediener umfasste. Mit einem repräsentativen Assay, dem TruSeq Custom Amplicon Variant Panel (TSAVP), wurden Platinum Genome-Proben getestet. Somatisch: N = 378. Keimbahn: N = 819.

einem Stammbaum von Individuen, deren DNA zuvor mit großer Tiefe sequenziert wurde, wobei sich hoch zuverlässige Varianten-Calls ergaben.⁶ Die positive, negative und gesamte prozentuale Übereinstimmung lagen sehr nahe bei 100 %, was auf einen hohen Genauigkeitsgrad des Varianten-Callings hindeutet (Tabelle 2).

In einer separaten Studie wurde die Übereinstimmung zwischen Proben, die sowohl mit MiSeqDx- als auch mit NextSeq 550Dx-Geräten getestet worden waren, bewertet. Somatische Ergebnisse stammten von den TSAVP- und TruSight™ Tumor 26-Assays (N = 8.599), die Keimbahn-Ergebnisse von den TSAVP- und TruSight Myeloid-Assays (N = 13.828). Die R2-Korrelation der Allelhäufigkeit der somatischen und der Keimbahn-Varianten mit MiSeqDx betrug 0,997 bzw. 0,989. Die Übereinstimmung beim qualitativen Varianten-Calling mit dem MiSeqDx lag bei $\geq 99,8$ % für somatische Varianten und bei $\geq 99,6$ % für Keimbahn-Varianten, mit einem unteren Konfidenzintervall von 95 % für beide Variantentypen. Insgesamt weisen diese Daten auf eine hohe Varianten-Calling-Korrelation mit MiSeqDx-Daten hin.

Array-Scannen im Forschungsmodus

Im Forschungsmodus bietet das NextSeq 550Dx-Gerät experimentelle Flexibilität, indem es sowohl die Sequenzierung als auch das Microarray-Scannen von Illumina-BeadChips unterstützt.[‡] Mit dem Microarray-Scannen haben Forscher sofortigen Zugang zu einer hochgradig komplementären Technologie, die für Nachfolgestudien, die Bestätigung der durch die Sequenzierung entdeckten Kopienzahlvarianten oder andere Forschungsansätze eingesetzt werden kann (Tabelle 3). Die integrierten DNA-zu-Daten-Workflows ermöglichen eine schnelle Sequenzierung von Exomen, zielgerichteten Sequenzierungspanels sowie Transkriptomen mit Laufkonfigurationen für mittlere und hohe Leistung. Weitere Informationen über das breite Spektrum an Sequenzierungs- und Microarray-Anwendungen, die vom NextSeq 550Dx-Gerät im Forschungsmodus unterstützt werden, finden Sie in den Spezifikationen des NextSeq 550-Systems.

[‡] Im Forschungsmodus unterstützt das NextSeq 550Dx-Gerät die Microarray-Scan-Funktion des Infinium CytoSnp-850K BeadChip, des HUMANCYTO SNP-12 BeadChip und des HUMAN KARYOMAP-12 DNA BeadChip.

Tabelle 3: Parameter für das Array-Scannen auf dem NextSeq 550Dx-Gerät im Forschungsmodus

BeadChip	Scandauer je BeadChip	Scandauer je Probe
Infinium MethylationEPIC BeadChip	40 Minuten	5 Minuten
Infinium HumanCytoSNP-850K BeadChip	40 Minuten	5 Minuten
Infinium CytoSNP-12 BeadChip	40 Minuten	3,3 Minuten
Infinium HumanKaryomap-12 BeadChip	40 Minuten	3,3 Minuten

Zusammenfassung

Das NextSeq 550Dx-Gerät ist ein bahnbrechendes FDA-konformes Gerät mit CE-Kennzeichnung, dank dem klinische Labore bei NGS von hohem Durchsatz bei Anwendungen in den Bereichen Forschung und Diagnostik profitieren. Das NextSeq 550Dx-Gerät zeichnet sich durch einen einfachen 3-Schritte-Workflow und die Flexibilität aus, zeitkritische klinische IVD-Daten zu liefern oder die neuesten Fragestellungen der klinischen Forschung zu verfolgen. Das NextSeq 550Dx-Gerät bietet schnelle, geregelte Workflows für Anwendungen für das Calling von somatischen und Keimbahn-Varianten und ermöglicht den Zugriff auf das wachsende Angebot der klinischen, NGS-basierten Assays von Illumina.

Weitere Informationen

NextSeq 550Dx-Gerät, illumina.com/systems/sequencing-platforms/nextseq-dx.html

Bestellinformationen

Produkt	Katalog-Nr.
NextSeq 550Dx-Gerät	20005715
NextSeq 550Dx High-Output Reagent Kit v2.5 (75 Zyklen) ^a	20028870
NextSeq 550Dx High-Output Reagent Kit v2.5 (300 Zyklen) ^a	20028871
TruSeq Custom Amplicon Kit Dx ^a	20005718
TruSeq Custom Amplicon Kit Dx FFPE QC Kit ^a	20006259
NextSeq-Luftfilter	20022240

a. Für die Sequenzierungs-Verbrauchsmaterialien der Klasse I gibt es Einzelchargenlieferungen, Kit-Chargen-Tests, Vorabänderungsbenachrichtigungen sowie für jede Charge erhältliche Analysezertifikate. 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.

Quellen

1. Archivierte Datenberechnungen. Illumina, Inc. 2017.
2. Bentley DR, Balasubramanian S, Swerdlow HP, et al. [Accurate Whole Human Genome Sequencing using Reversible Terminator Chemistry](#). *Nature*. 2008;456(7218):53-59.
3. Shokralla S, Porter TM, Gibson JF, et al. [Massively parallel multiplex DNA sequencing for specimen identification using an Illumina MiSeq platform](#). *Sci Rep*. 2015;5:9687.
4. Precone V, Monaco VD, Esposito MV. [Cracking the Code of Human Diseases Using Next-Generation Sequencing: Applications, Challenges, and Perspectives](#). *Biomed Res Int*. 2015;161648.
5. Illumina (2017). [NextSeq 550-Sequenziersystem – Datenblatt](#). Abgerufen: 10. Februar 2021.
6. Eberle MA, Fritzilas E, Krusche P, et al. [A reference data set of 5.4 million phased human variants validated by genetic inheritance from sequencing a three-generation 17-member pedigree](#). *Genome Res*. 2017;27:157-164.

NextSeq 550Dx-Gerät – Spezifikationen

Parameter	Spezifikation
Gerätekonfiguration	RFID-Tracking für Verbrauchsmaterialien
Gerätesteuerecomputer	Prozessor: Dual Intel® Xeon® E5-2648L v3 1,8-GHz-CPU, Speicher: 128 GB Festplatte, Dx-Modus: 2 × 2 TB (RAID 1) Festplatte, Forschungsmodus: 2 × 2 TB (RAID 1) Betriebssystem: Windows 10
Betriebsbedingungen	Temperatur: 19 °C bis 25 °C (22 °C ± 3 °C) Luftfeuchtigkeit: 20–80 % relative Luftfeuchtigkeit (nicht kondensierend) Höhenlage: 0–2.000 m Belüftung: bis zu 2.048 BTU/h bei 600 W Nur für den Innengebrauch
Leuchtdiode (LED)	Green 510–525 nm, Red 645–655 nm; Laser diode: 780 nm, Class IIIb
Abmessungen	B × T × H: 54 cm × 69 cm × 58 cm Gewicht: 84,4 kg, Gewicht mit Transportkiste: 163,3 kg
Leistungsbedarf	100–120 VAC 15 A, 220–240 VAC 10 A
RFID (Radio Frequency Identification)	Frequenz: 13,56 MHz Leistung: Versorgungsstrom 120 mA, RF-Ausgangsleistung 200 mW
Produktsicherheit und Compliance	NRTL-Zertifizierung IEC-Kennzeichnung gemäß 61010-1 FCC/IC-Zulassung

Erklärungen zur bestimmungsgemäßen Verwendung

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-Geräts (USA)

Das NextSeq 550Dx-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 Gewebe (FFPE-Gewebe) gewonnen. Das NextSeq 550Dx-Gerät ist nicht für die Gesamtgenom- oder De-novo-Sequenzierung vorgesehen. Auf dem NextSeq 550Dx-Gerät dürfen nur registrierte und gelistete, freigegebene oder zugelassene IVD-Reagenzien und Analysesoftware verwendet werden.

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-Sequenzierungsgeräten 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.

illumina[®]

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

© 2021 Illumina, Inc. Alle Rechte vorbehalten. Alle Marken sind Eigentum von Illumina, Inc. bzw. der jeweiligen Eigentümer. Spezifische Informationen zu Marken finden Sie unter www.illumina.com/company/legal.html.
M-GL-00035 DEU v3.0