

# TruSeq<sup>®</sup> Neurodegeneration Sequencing Panel

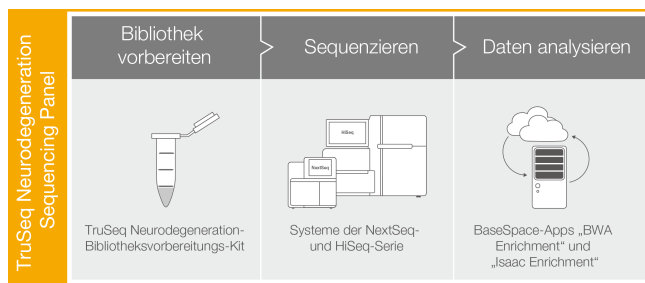
Eine zielgerichtete Sequenzierungslösung für die Untersuchung von Kandidatengenen, die Assoziationen mit bedeutenden neurodegenerativen Erkrankungen aufweisen.

## Vorteile

- **Von Experten ausgewähltes Panel zielt auf die genomischen Regionen von Interesse ab**  
Deckt 118 Gene mit einem Inhalt von über 8,7 Mb ab, darunter Exons, Introns, nicht translatierte Regionen (untranslated regions, UTRs) und Promotorregionen.
- **Breite Abdeckung neurodegenerativer Erkrankungen**  
Umfasst unter anderem die Erkrankungen Morbus Alzheimer, Morbus Parkinson und amyotrophe Lateralsklerose.
- **Integrierter, optimierter Workflow**  
Bietet eine Bibliotheksvorbereitung mit minimalem manuellem Aufwand, eine zuverlässige Sequenzierung und eine benutzerfreundliche Datenanalyse.

## Einleitung

Das TruSeq Neurodegeneration Sequencing Panel ermöglicht die systematische Untersuchung von Genen, die Assoziationen mit neurodegenerativen Erkrankungen aufweisen. Dieses zielgerichtete Panel vereint die Techniken der Nextera<sup>®</sup>-Bibliotheksvorbereitung und Target-Anreicherung, die bewährte Sequenzierungstechnologie der nächsten Generation (NGS) von Illumina und eine benutzerfreundliche Datenanalyse in einem integrierten, optimierten Sequenzierungsworkflow (Abbildung 1). Das TruSeq Neurodegeneration Sequencing Panel erleichtert die Feinmapping-Validierung und die Identifikation seltener putativer funktionaler Allele sowie zusätzlicher Risikoallele. Da sowohl die proteincodierenden als auch die nicht codierenden regulatorischen Regionen der Kandidatengene untersucht werden können, ermöglicht das Sequenzierungspanel die effiziente und kostengünstige Erforschung von bedeutenden neurodegenerativen Erkrankungen.



**Abbildung 1: Überblick über den Workflow des TruSeq Neurodegeneration Sequencing Panel** – Das TruSeq Neurodegeneration Sequencing Panel ist Teil eines integrierten, optimierten Workflows, der die Bibliotheksvorbereitung, die Sequenzierung und die Datenanalyse umfasst.

## Von Experten ausgewählter Inhalt

Das TruSeq Neurodegeneration Sequencing Panel deckt 118 Gene ab, die mit bedeutenden neurodegenerativen Erkrankungen assoziiert sind. Hierzu gehören Morbus Alzheimer, Morbus Parkinson, Morbus Pick, die amyotrophe Lateralsklerose, die Lewy-Body-Demenz, Dystonie und die früh einsetzende Alzheimer-Demenz. Die Zielgene auf dem Panel wurden mit Input von der wissenschaftlichen Gemeinschaft und basierend auf den aktuellen wissenschaftlichen Erkenntnissen als risikovalidierte Gene oder als Gene in Loci, die in genomweiten Assoziationsstudien (GWAS) ermittelt wurden, ausgewählt.

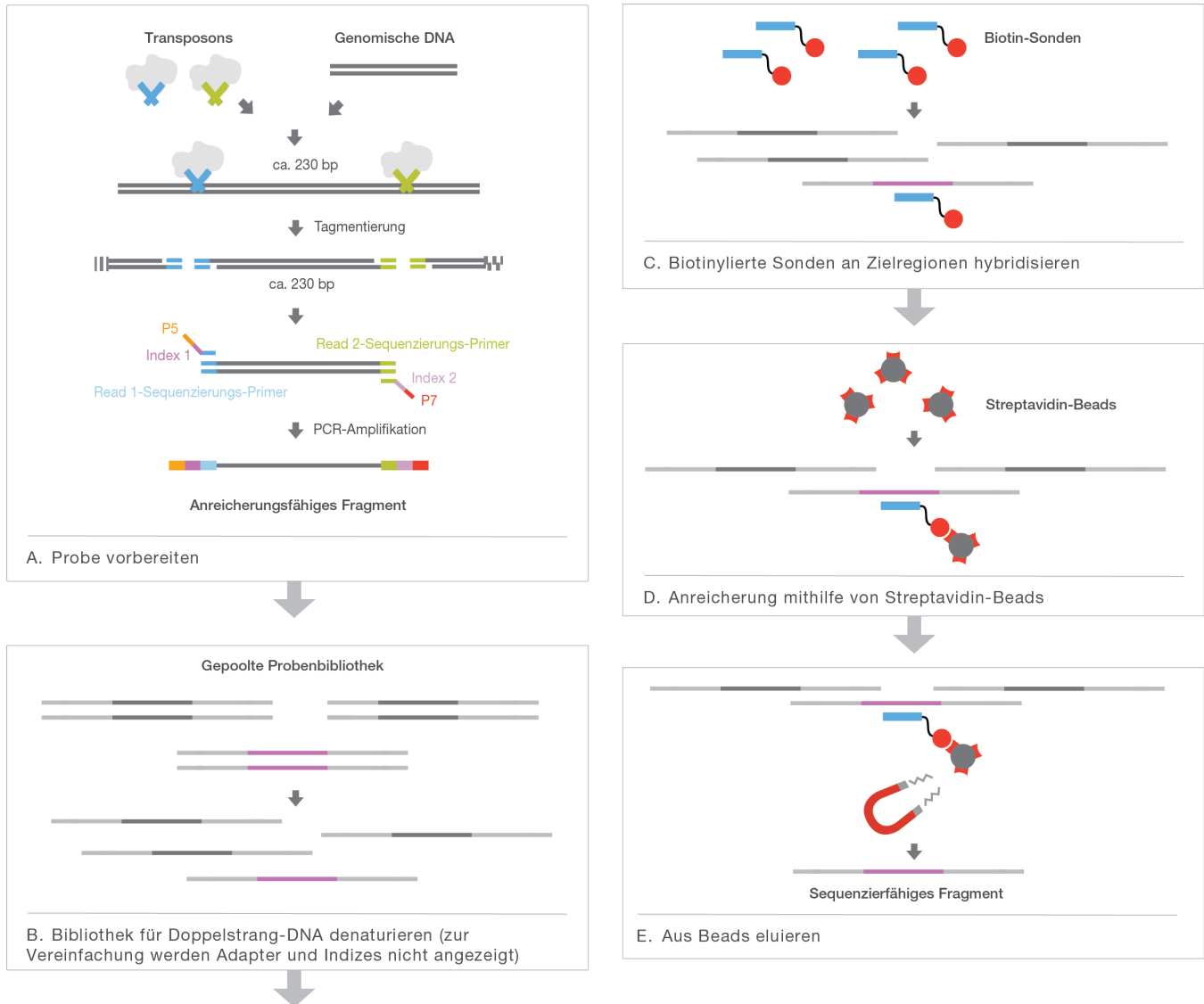
Das TruSeq Neurodegeneration Sequencing Panel enthält ein hochoptimiertes Sondenset mit ca. 43.600 80-mer-Sonden, wobei jede Sonde anhand des menschlichen Referenzgenoms NCBI37/hg19 konstruiert wurde. Das Sondenset deckt 8,7 Mb genomischen Inhalt ab, darunter Exons, Introns, UTRs und Promotorregionen innerhalb von 1.300 bp stromaufwärts ab dem Transkriptionsstartpunkt (TSP) der Kandidatengene (Tabelle 1). Die Sonden des TruSeq Neurodegeneration Sequencing Panel wurden unter Verwendung eines iterativen Konstruktions- und Funktionsprüfungsprozesses entwickelt, um eine hervorragende Leistung und Einheitlichkeit sicherzustellen.

**Tabelle 1: Abdeckungsdetails**

Parameter	Wert
Kumulative Größe der Zielregion	8,7 Mb
Anzahl der Gene im Panel	118
Sondengröße	80 bp
Anzahl der Sonden	ca. 43.600
Target-Inhalt	Exons, Introns, UTRs, Promotorregionen (1.300 bp)
Abdeckungseinheitlichkeit (0,2-fache mittlere Abdeckung)	> 85 %
Gepoolte Proben vor der Anreicherung	Bis zu 12
Probenvolumen	50 ng
Bibliotheks-Insert-Größe	230 bp
Empfohlener Sequenzierungslauf	2 x 150 bp
Qualitätssicherungs-Marker (QC)	57 auf Y-Chromosom und 7 auf X-Chromosom

## Optimierte Bibliotheksvorbereitung

Das TruSeq Neurodegeneration Sequencing Panel nutzt die Vorteile des Nextera Rapid Capture-Assays für eine einfache optimierte Vorbereitung von sequenzierfähigen Bibliotheken. Der Bibliotheksvorbereitungsprozess beginnt mit der Nextera-Taggmentierung. Hierbei wird die DNA gleichzeitig fragmentiert und getaggt, um adaptermarkierte Bibliotheken zu generieren, ohne dass ein mechanisches Schneiden erforderlich ist (Abbildung 2A).



**Abbildung 2: Nextera Rapid Capture-Chemie** – Durch die Nutzung der Nextera-Tagmentierungstechnologie, die die Schritte für die Vorbereitung und Anreicherung der Bibliothek vereint, bietet das TruSeq Neurodegeneration Sequencing Panel einen optimierten Workflow, der bei einem manuellen Aufwand von 5 Stunden in nur 1,5 Tagen durchgeführt werden kann.

Als Nächstes werden Bibliotheken denaturiert (Abbildung 2B) und mit Biotin gekennzeichnete, zielregionsspezifische Sonden für die Hybridisierung (Abbildung 2C) verwendet. Der Pool wird für die gewünschten Regionen angereichert, indem Streptavidin-Beads hinzugefügt werden, die sich an die biotinylierten Sonden binden (Abbildung 2D). An die streptavidinbeschichteten Beads gebundene biotinylierte DNA-Fragmente werden magnetisch von der Lösung nach unten gezogen (Pull-down) (Abbildung 2E). Die integrierten Proben-Barcodes ermöglichen die gleichzeitige Erfassung von drei bis 12 Proben in einem einzelnen Röhrchen. Die angereicherten DNA-Fragmente werden daraufhin aus den Beads eluiert und für eine zweite Erfassung hybridisiert.

Diese Methode erfordert 50 ng Zugabe-DNA und dauert bei einer Platte mit drei bis 12 Proben weniger als drei Stunden.

### Bewährte Illumina-Sequenzierung

Die vorbereiteten Bibliotheken werden zur Sequenzierung direkt auf eine Illumina-NGS-Plattform geladen. Diese Sequenzierungssysteme nutzen die branchenführende Chemie zur Sequenzierung durch Synthese (Sequencing by Synthesis – SBS) von Illumina. Mehr als 90 % der Sequenzierungsdaten weltweit werden mit der SBS-Chemie von Illumina generiert.\* Die Sequenzierungssysteme von

Illumina bieten große Flexibilität für eine breite Palette an Anwendungen und einen skalierbaren Durchsatz, um verschiedene Studiumfänge zu unterstützen.

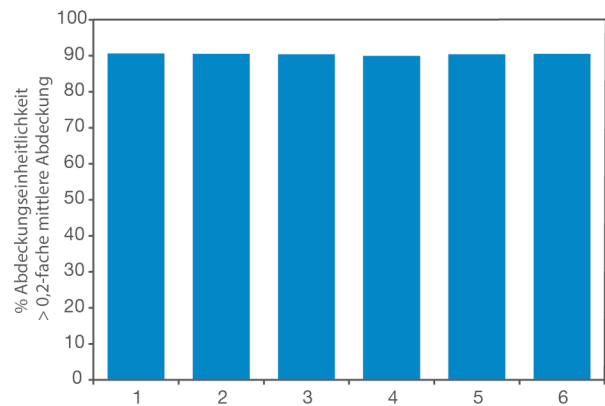
## Intuitive Datenanalyse

Die Sequenzierungsdaten können sofort und sicher in BaseSpace® Sequence Hub, die cloudbasierte Genomik-Computing-Umgebung von Illumina, übertragen, gespeichert und analysiert werden. BaseSpace Sequence Hub bietet eine breite Palette an BaseSpace-Apps, darunter kommerzielle und Open-Source-Tools, die eine Reihe gängiger Anforderungen an die Datenanalyse, z. B. Alignment, Varianten-Calling und weitere, erfüllen. Diese Apps haben intuitive, „auf Knopfdruck“ funktionierende Benutzerschnittstellen, sodass keine Bioinformatik-Fachkenntnisse erforderlich sind.

Die Daten des TruSeq Neurodegeneration Sequencing Panel werden mithilfe von zwei Enrichment Core Apps analysiert. Die BWA Enrichment App v2.0 bietet Burrows-Wheeler Alignment (BWA) und GATK-Varianten-Calling (Genome Analysis Toolkit) gemäß dem Industriestandard. Die Isaac™ Enrichment App v2.0 ist das für die schnelle Analyse und das Varianten-Calling optimierte Illumina-Produkt.

## Qualitativ hochwertige Daten

Sechs Probenbibliotheken wurden mit dem TruSeq Neurodegeneration-Bibliotheksvorbereitungs-Kit als 6-Plex-Pools vorbereitet und auf dem NextSeq® 500-System sequenziert. Die anschließende Analyse erfolgte in BaseSpace Sequence Hub gemäß dem beschriebenen Workflow (Abbildung 1). Der Sequenzierungslauf wies eine 155-fache mittlere Abdeckung auf. Der prozentuale Anteil der Zielbasen mit mehr als 31-facher Abdeckung zeigt, dass bei allen Proben über 90 % der Basen abgedeckt wurden (Abbildung 3).



**Abbildung 3: Abdeckungseinheitlichkeit über die 6-Plex-Pools hinweg:** Sechs Probenbibliotheken wurden mit dem TruSeq Neurodegeneration-Bibliotheksvorbereitungs-Kit vorbereitet. Die Bibliotheken wurden auf dem NextSeq 500-System sequenziert. Bei diesem Sequenzierungslauf wurde eine 155-fache mittlere Abdeckung erzielt. In der Abbildung ist für jede Probe der prozentuale Anteil der Zielbasen mit mehr als 31-facher Abdeckung dargestellt.

## Zusammenfassung

Das TruSeq Neurodegeneration Sequencing Panel bietet eine integrierte Workflow-Lösung für die Erforschung seltener putativer funktionaler und Hochrisikoallele, die mit bedeutenden neurodegenerativen Erkrankungen assoziiert sind. Das Panel wurde mit Beiträgen der wissenschaftlichen Gemeinschaft entwickelt, einschließlich aktueller wissenschaftlicher Erkenntnisse. Es ermöglicht die systematische Untersuchung von 118 mit neurodegenerativen Erkrankungen assoziierten Genen, einschließlich proteincodierender und regulatorischer Regionen. Mithilfe der Nextera-Technologie werden die Bibliotheken mit den Zielregionen effizient und mit minimalem manuellem Aufwand vorbereitet. Die Sequenzierung auf Illumina-Systemen bietet in Verbindung mit der Datenanalyse mit intuitiven BaseSpace Apps eine optimierte Lösung für die Erforschung neurodegenerativer Erkrankungen.

## Bestellinformationen

Wenn Sie mehr über das TruSeq Neurodegeneration Sequencing Panel erfahren oder eine Bestellung aufgeben möchten, wenden Sie sich an einen zuständigen Vertriebsmitarbeiter Ihrer Region:

Nordamerika: 800.809.4566

Europa, Naher Osten, Afrika: +44.1799.534000

Andere Regionen: [www.illumina.com/company/contact-us.html](http://www.illumina.com/company/contact-us.html)

\*Archivierte Datenberechnungen. Illumina, Inc. 2015.

## Weitere Informationen

Weitere Informationen zu Lösungen für die zielgerichtete Resequenzierung finden Sie unter [www.illumina.com/techniques/sequencing/dna-sequencing/targeted-resequencing.html](http://www.illumina.com/techniques/sequencing/dna-sequencing/targeted-resequencing.html).

## Quellen

1. Karch CM, Cruchaga C, Goate A (2014) Alzheimer's Disease Genetics: From the bench to the clinic. *Neuron* 83(1): 11–26.
2. Karch CM, Goate AM (2015) Alzheimer's disease risk genes and mechanisms of disease pathogenesis. *Biol Psychiatry* 77(1): 43–51.
3. Turner MR, Hardiman O, Benatar M, et al. (2013) Controversies and priorities in amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet Neurol* 12(3): 310–322.
4. Bras J, Guerreiro R, Hardy J (2012) Use of next-generation sequencing and other whole-genome strategies to dissect neurological disease. *Nat Rev Neurosci* 13(7): 453–464.
5. Renton AE, Chio A, Traynor BJ (2014) State of play in amyotrophic lateral sclerosis genetics. *Nat Neurosci* 17(1): 17–23.
6. Ferrari R, Grassi M, Salvi E, et al. (2015) A genome-wide screening and SNPs-to-genes approach to identify novel genetic risk factors associated with frontotemporal dementia. *Neurobiol Aging* 36(10): 2904.e13–26.
7. Kouri N, Ross OA, Dombroski B, et al. (2015) Genome-wide association study of corticobasal degeneration identifies risk variants shared with progressive supranuclear palsy. *Nat Commun* 6: 7247.
8. Scholz SW, Bras J. (2015) Genetics Underlying Atypical Parkinsonism and Related Neurodegenerative Disorders. *Int J Mol Sci* 16(10): 24629–24655.
9. Nalls MA, Pankratz N, Lill CM, et al. (2014) Large-scale meta-analysis of genome-wide association data identifies six new risk loci for Parkinson's disease. *Nat Genet* 46(9): 989–993.