

Genomsequenzierung im Produktionsmaßstab mit Illumina Genomics Architecture v3

Automatisiertes DNA-Analyseframework
für Populationsgenomikprogramme

Sequenzierung in großem Maßstab

Effiziente WGS für die Verarbeitung von über 10.000 Proben pro Jahr in der Populationsgenomikforschung

Integrierter Workflow

Vereint Clarity LIMS-Software, automatisiertes Liquid-Handling und Datenanalysetools

Stets zuverlässige Ergebnisse

Gewährleistet durch Barcode-Tracking und geringeres Risiko von Bedienfehlern standortübergreifend konsistente Datenqualität

Einleitung

Präzisionsmedizin erweitert auf Basis von Fortschritten in der Genomik das Verständnis von Erkrankungen und trägt so zur Verbesserung der Gesundheit von Menschen bei. Derzeit laufen umfangreiche Forschungsvorhaben zur Sequenzierung Hunderttausender Genome.^{1,2} Diese Initiativen im Bereich der Populationsgenomik (PopGen) dienen der Erforschung genetischer Vielfalt und liefern Daten für das öffentliche Gesundheitswesen. Da eine große Anzahl von Proben in kurzer Zeit verarbeitet werden muss, sind für PopGen-Studien optimierte NGS-Workflows (Next-Generation Sequencing, Sequenzierung der nächsten Generation) erforderlich, um Produktivität, Effizienz und Genauigkeit zu gewährleisten.³⁻⁵ Illumina Genomics Architecture bietet einen umfassenden WGS-Workflow (Whole-Genome Sequencing, Genomsequenzierung), der auf PopGen-Programme zugeschnitten ist, bei denen mehr als 10.000 Proben pro Jahr verarbeitet werden. Diese integrierte Lösung umfasst das Probenmanagement sowie die automatisierte Bibliotheksvorbereitung, Sequenzierung, Datenanalyse und Ergebnisinterpretation (Abbildung 1).

Illumina Genomics Architecture v2 wurde für das NovaSeq™ 6000 System entwickelt und ermöglichte im Rahmen des Projekts SG100K, das zum NPM-Programm (National Precision Medicine, nationale Präzisionsmedizin) von Singapur gehört, die Sequenzierung von mehr als 100.000 Humangenomen innerhalb von drei Jahren.¹⁻⁵ Illumina Genomics Architecture v3 zeichnet sich durch sämtliche Vorteile der v2-Architektur aus, da sich dank des beim NovaSeq X Plus System höheren Durchsatzes mehr Proben verarbeiten lassen. Der vorliegende technische Hinweis erläutert das Illumina Genomics Architecture v3-Framework und gibt die an verschiedenen Standorten erzielte Performance an.

Das Illumina Genomics Architecture-Framework

Illumina Genomics Architecture v3 umfasst Hardware- und Softwarekomponenten, die sowohl Nass- als auch Trockenlabor-Workflows automatisieren und Folgendes ermöglichen:

- Schnellere Bereitstellung von NGS-Workflows
- Schnelle Einführung durch intuitive Oberflächen mit Benutzerführung
- Verbessertes Workflow-Management und entsprechende Probenverfolgung
- Erhöhter Durchsatz bei weniger Benutzereingriffen
- Vereinfachte Integration der Workflow-Komponenten

Zur Hardware gehören die automatisierte Liquid-Handling-Plattform Hamilton Microlab STAR und das NovaSeq X Plus System. Die Software umfasst das Clarity LIMS™ (Laborinformationsmanagementsystem), BaseSpace™ Sequence Hub, die DRAGEN™-Sekundäranalyse und Illumina Connected Analytics (Abbildung 2). Im Workflow kommt Illumina DNA PCR-Free Prep zum Einsatz, ein selbstnormalisierter, beadbasierter Tagmentations-Assay, der die effiziente Vorbereitung von WGS-Bibliotheken gewährleistet. Nach der Anschaffung sämtlicher Hardware-, Software- und geeigneter Reagenzienkomponenten in einem Labor verkürzt Illumina Genomics Architecture die Zeit bis zum Einsatz von WGS-Workflows im Produktionsmaßstab von etwa einem Jahr auf nur wenige Monate.³

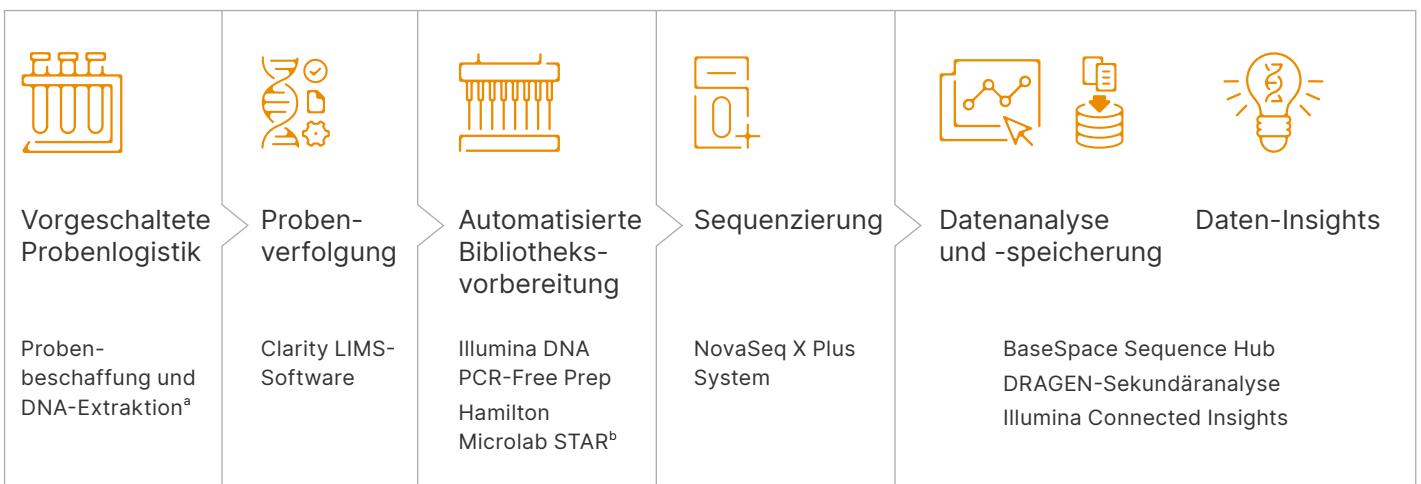


Abbildung 1: Illumina Genomics Architecture v3-Workflow

Illumina Genomics Architecture v3 sorgt im Anschluss an die Probenbeschaffung und DNA-Extraktion für die Probenverfolgung, stellt Skripte für die automatisierte Bibliotheksvorbereitung bereit und ermöglicht die Sequenzierung sowie die intuitive Datenanalyse. Das effiziente WGS-Framework verkürzt die Workflow-Durchlaufzeit und sorgt gleichzeitig für hohe Performance.

a. Es ist ein separates DNA-Extraktionskit erforderlich.

b. Erfordert das Illumina Genomics Architecture-Decklayout.

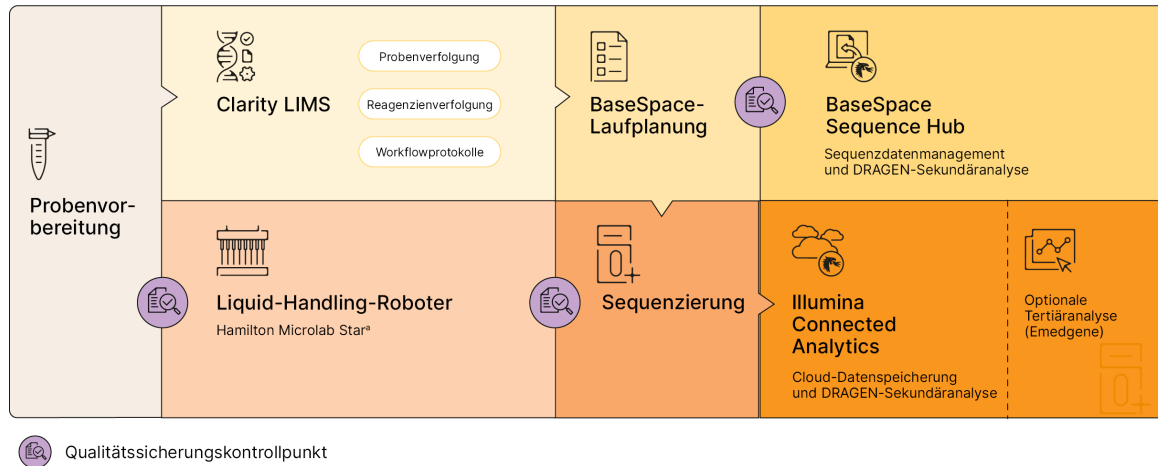


Abbildung 2: Illumina Genomics Architecture v3-Framework

Illumina Genomics Architecture umfasst spezielle Roboterskripte für die Bibliotheksvorbereitung und Softwareintegration, was zur Automatisierung sowie zur Rationalisierung von Sequenzierung und Datenanalyse beiträgt. Das Framework umfasst Hardware, zu der eine Liquid-Handling-Plattform und das NovaSeq X Plus System zählen, sowie Software, einschließlich Clarity LIMS, BaseSpace Sequence Hub, der DRAGEN-Sekundäranalyse und Illumina Connected Analytics. In Kombination stellen diese Komponenten einen DNA-zu-Daten-Workflow für die WGS im Produktionsmaßstab bereit. Wichtige Schritte enthalten Kontrollpunkte für die Qualitätssicherung, was Fehler unterbindet, die Überwachung ermöglicht und die Wiederherstellung erleichtert.

a. Erfordert das Illumina Genomics Architecture-Decklayout.

Workflow-Management und Probenverfolgung

Die Clarity LIMS-Software steuert den Workflow und koordiniert den Liquid-Handler, das Sequenziersystem und die Datenanalysetools. Vorkonfigurierte Workflows in der Clarity LIMS-Software verringern in Kombination mit der Geräteintegration die Durchlaufzeiten, minimieren die Anzahl manueller Schritte und steigern bei gleichzeitiger Verringerung des Fehlerrisikos den Probendurchsatz. Dank der einzigartigen Barcode-Verifizierung steht ein vollständiger Audit-Trail zur Verfügung.

Automatisierte Bibliotheksvorbereitung

Illumina Genomics Architecture v3 nutzt vier spezifische Roboterautomatisierungsskripte für Illumina DNA PCR-Free Prep (Illumina, Katalog-Nr. 20041794), die auf der Liquid-Handling-Plattform Hamilton Microlab STAR mit dem Illumina Genomics Architecture-Decklayout ausgeführt werden. Diese Skripte ermöglichen die vollautomatische End-to-End-Bibliotheksvorbereitung mit minimalem Benutzereingriff sowie zuverlässige Workflows mit hohem Durchsatz für die WGS im Produktionsmaßstab. Die Nasslaborautomatisierung eliminiert Fehler, die bei der manuellen Verarbeitung auftreten, reduziert den Aufwand für Anwender, verbessert die Reproduzierbarkeit zwischen Wells und erhöht die Genauigkeit der Reagenzienübertragung.

Die Barcode-Verifizierung von Reagenzien und Verbrauchsmaterialien während des gesamten Workflows ermöglicht vollständige Rückverfolgbarkeit und verhindert Positionsfehler beim Beladen des Roboterdecks.

Der automatisierte Workflow umfasst folgende wichtige Schritte:

- **Vorbereitung der Zugabe-DNA mit standardmäßig 350 ng pro Well zur Verarbeitung in Batches von 24 oder 96 Proben:** Dieses Batch-Verfahren sorgt für eine konsistente Performance bei den einzelnen Wells und nutzt die selbstnormalisierende Chemie zur Optimierung der Zugabenormalisierung.
- **Erstellung von Bibliotheken mit einem ca. 155 Minuten dauernden Illumina DNA PCR-Free Prep-Verfahren, das in Bezug auf Automatisierung und zuverlässige Ausführung kritischer Schritte optimiert ist, einschließlich der Reinigung mit Illumina Purification Beads:** Diese Verfeinerungen tragen dazu bei, die Spezifikationen bezüglich der Insertgröße zu erfüllen.⁶ Das endgültige Elutionsvolumen von 30 µl je Bibliothek ist für das Pooling für bis zu zwei Sequenzierungsläufe geeignet, was bei Bedarf ein Repooling oder die Verwendung eines zweiten Pools als Backup ermöglicht.

- **Pooling-Bibliotheken mit von Clarity LIMS angewendeten Indexkorrekturfaktoren zum bibliotheksübergreifenden Ausgleich der Repräsentation:** Die Pooling-Volumen werden automatisch anhand von Batchgröße, Fließzellentyp und Zielladekonzentrationen angepasst, was eine optimale Sequenzierungsleistung gewährleistet.
- **Denaturierung und Übertragung der Bibliotheken auf dem Deck in Streifenröhrchen für Reagenzienkartuschen mit der gewünschten Ladekonzentration:** Dieser vollständig integrierte Schritt minimiert Handhabungsfehler und gewährleistet das präzise Laden, sodass die gepoolten Bibliotheken auf dem NovaSeq X Plus System sequenziert werden können.

Sequenzierung

Vorbereitete Bibliotheken werden auf dem NovaSeq X Plus System (Illumina, Katalog-Nr. 20084804) mit einer Laufkonfiguration von 2 × 151 bp sequenziert. Bei Läufen mit zwei Fließzellen lassen sich bis zu 128 Humangenome mit 30-facher Coverage sequenzieren (24 Proben pro 10B-Fließzelle (Illumina, Katalog-Nr. 20085594) oder 64 Proben pro 25B-Fließzelle (Illumina, Katalog-Nr. 20104706)). Im Rahmen des automatisierten Workflows mit Illumina Genomics Architecture steuert die Clarity LIMS-Software die Liquid-Handling-Plattform beim Bulk-Pooling, der Denaturierung und dem Laden der Bibliothek in ein Streifenröhrchen. Der Anwender platziert das Streifenröhrchen anschließend im NovaSeq X Plus System. Clarity LIMS sendet automatisch Laufplanungsdaten an BaseSpace, was die Laufkonfiguration und die nachgeschaltete Datenanalyse in Illumina Connected Analytics vereinfacht.

Datenanalyse

Bei Illumina Connected Analytics handelt es sich um eine umfassende Cloudplattform für die Speicherung, das Management und die Analyse von Daten. Die Lösung wurde speziell in Hinblick auf die Sicherheit entwickelt, was Datenschutz und Compliance gewährleistet. Sie lässt sich direkt mit der DRAGEN-Sekundäranalyse koppeln, sodass sich Primäranalyse (BCL-zu-FASTQ-Konvertierung) und Sekundäranalyse (Mapping, Alignment und Varianten-Calling) schnell und automatisiert bereitstellen lassen. Mit Illumina Connected Analytics erhalten Anwender Zugriff auf leistungsstarke Tools und Machine-Learning-Modelle, die die Priorisierung und Interpretation von Varianten unterstützen. Sobald Daten verfügbar sind, starten die Autolaunch-Funktionen die Analyse automatisch, was den Prozess rationalisiert.

Verifizierter Workflow, der eine konsistente WGS-Performance gewährleistet

Illumina Genomics Architecture v3 für die Fließzellen 10B und 25B auf dem NovaSeq X Plus System erfüllt die bewährten Standards der Illumina Genomics Architecture v2 (Tabelle 1, Tabelle 2, Abbildung 3)^{1,4,5}. Die Varianzanalyse (ANOVA, Analysis of Variance) zeigt, dass der Workflow der Illumina Genomics Architecture v3 standort-, roboter- und bedienerübergreifend konsistente Ergebnisse liefert, wenn dieselben Automatisierungsskripte und Standard-Workflowprotokolle für Illumina Genomics Architecture verwendet werden (Abbildung 4).

Tabelle 1: Illumina Genomics Architecture v3 – Laufmetriken und Kriterien für das Bestehen

Metrik	25B-Fließzelle ^a	10B-Fließzelle ^b
Mittleres Ergebnis je Lauf	9,68 Tb	3,81 Tb
Nach Filterung	74,6 %	76,7 %
Mittleres Ergebnis je Probe	130 Gb	140 Gb
Mittlere Anzahl an Q30-Basen ^c	110 Gb	120 Gb
Mittlere Anzahl der Reads je Probe	864 Mio.	900 Mio.
Medianer Index-CV (Bereich)	14,4 % (13,4 %–16,8 %)	11,70 % (10,5 %–12,9 %)
Durchschnittliche Autosomen-Coverage	39-fach	41-fach
Mediane Insertionslänge	479 bp	479 bp
Mittlere Anzahl der Basen > Q30 ^d (Mittelwert)	90,8 %	89,5 %
Doppelte Reads	8,30 %	6,85 %
Mittlere Genom-Coverage (15-fach) ^e	93,23 %	93,48 %

a. Für 25B-Fließzellen wurden 256 Proben mit 64 Proben pro Fließzelle getestet.
b. Für 10B-Fließzellen wurden 168 Proben mit 24 Proben pro Fließzelle getestet.
c. Ausgenommen doppelte Reads und geclippte Basen.
d. Ausgenommen Index-Read-Daten.
e. Gibt den Prozentsatz des Genoms an, der mit mindestens 15-facher Sequenzierungstiefe verarbeitet wurde.

Tabelle 2: Illumina Genomics Architecture v3 – Varianten-Calling-Präzision und Recall

Probe ^a	Einzelnukleotid-Varianten (SNVs, Single-Nucleotide Variants)			Insertionen und Deletionen (Indels)		
	Präzision	Recall	F1	Präzision	Recall	F1
NA12878	99,928 %	99,956 %	99,945 %	99,623 %	99,426 %	99,525 %
NA24385	99,929 %	99,953 %	99,944 %	99,624 %	99,426 %	99,526 %

a. Die Daten stammen aus 17 Replikaten der einzelnen Referenzzelllinien, die vom Coriell Institute for Medical Research bezogen wurden.

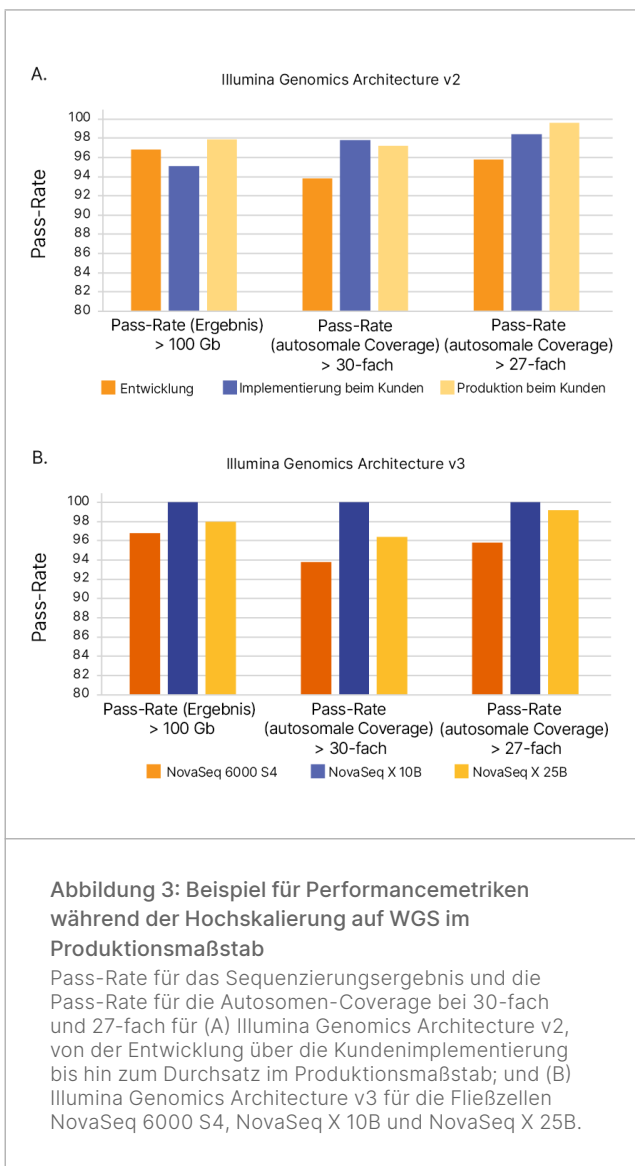


Abbildung 3: Beispiel für Performancemetriken während der Hochskalierung auf WGS im Produktionsmaßstab

Pass-Rate für das Sequenzierungsergebnis und die Pass-Rate für die Autosomen-Coverage bei 30-fach und 27-fach für (A) Illumina Genomics Architecture v2, von der Entwicklung über die Kundenimplementierung bis hin zum Durchsatz im Produktionsmaßstab; und (B) Illumina Genomics Architecture v3 für die Fließzellen NovaSeq 6000 S4, NovaSeq X 10B und NovaSeq X 25B.

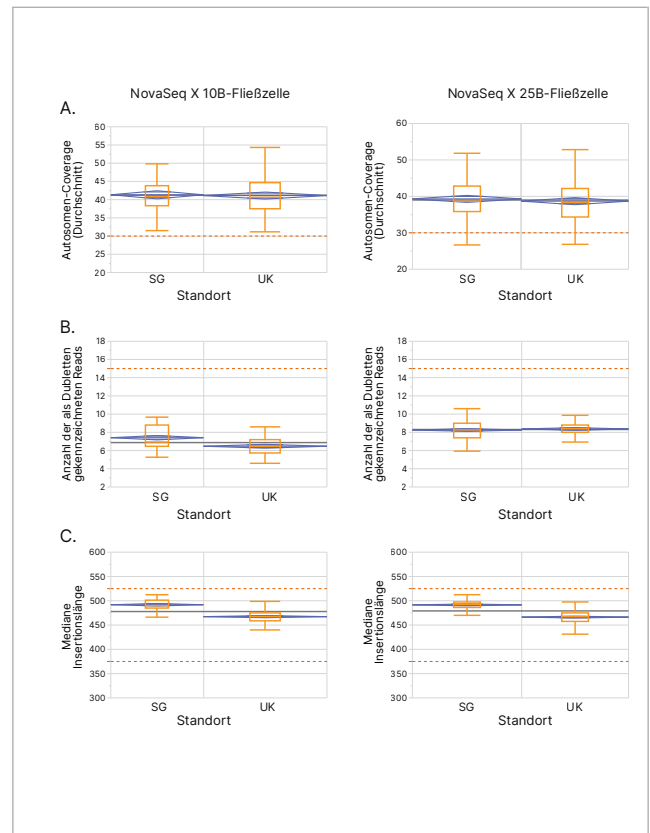



Abbildung 4: Datenperformance und -konsistenz bei unabhängigen Betreibern an unterschiedlichen Standorten

Illumina Genomics Architecture v3 wurde für WGS-Prozesse an Entwicklungsstandorten in Singapur (SG) und im Vereinigten Königreich (UK) eingesetzt. Die ANOVA der Sequenzierungsdaten beider Standorte wies eine hochgradig konsistente Performance auf, was sich durch (A) die durchschnittliche Autosomen-Coverage, (B) die Anzahl der als Dublette markierten Reads und (C) die mediane Insertlänge zeigt. Die WGS wurde mit 24 gewerblichen Proben des Coriell Institute for Medical Research durchgeführt. Die JMP-Software wurde für die statistische Analyse und die Erstellung von Diagrammen verwendet.

Zusammenfassung

Illumina Genomics Architecture v3 bietet ein integriertes End-to-End-Framework für die optimierte WGS im Produktionsmaßstab auf dem NovaSeq X Plus System. Der optimierte, skalierbare Workflow und die integrierte Software gewährleisten eine konsistente Sequenzierungslösung, die sich unmittelbar an Standorten einsetzen lässt. Die Implementierung von Illumina Genomics Architecture v3 verringert den manuellen Aufwand und verkürzt die Durchlaufzeit, senkt das Fehlerrisiko und ermöglicht eine effizientere WGS im großen Maßstab.

 Wenden Sie sich an den [Illumina-Support](#), wenn Sie mit der Implementierung von Illumina Genomics Architecture beginnen möchten.

Weitere Informationen →

[Illumina Genomics Architecture](#)

[Beschleunigen von NGS-Workflows mit Illumina Genomics Architecture](#)

[Datensätze auf BaseSpace Sequence Hub verfügbar](#)

[Kundenbeispiel](#)

[Clarity LIMS-Software](#)

[Illumina DNA PCR-Free Prep](#)

[NovaSeq X Series](#)

[Illumina Connected Analytics](#)

Bestellinformationen

Produkt	Katalog-Nr.	Anbieter
Hamilton MicroLab STAR (Illumina Genomics Architecture deck layout and accessories ^a)	173027	Hamilton
Illumina DNA PCR-Free Prep (24/96 samples)	20041794/20041795	Illumina
Illumina DNA/RNA UD Indexes	20091654, 20091656, 20091658, 20091660	Illumina
NovaSeq X Plus System	20084804	Illumina
NovaSeq X 10B/25B 300 cycles	20104706/20085594	Illumina
Clarity LIMS cloud Professional/Enterprise annual subscription	20042028/20042029	Illumina
Illumina Connected Analytics Professional/Enterprise annual subscription	20044976/20038994	Illumina

a. Wenn Sie weitere Informationen benötigen, wenden Sie sich bitte an den Support von Illumina.

Quellen

1. Bellis C, Kolle G, Yong J, et al. [National Scale Genomic Engine for Precision Medicine: Singapore PRECISE-SG100K Experience](#). *bioRxiv*. Veröffentlicht am 15. März 2025. [biorxiv.org/content/10.1101/2025.03.13.642552v1](https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2025.03.13.642552v1)
2. Precision Health Research, Singapore (PRECISE). [npm.sg/](#). Abgerufen am 16. Juli 2025.
3. Illumina. The Illumina Genomics Architecture workflow enables sequencing of 100,000 genomes in Singapore. [illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/icomunity/genomics-architecture-workflow-novogeneait-m-gl-01045.pdf](#). Veröffentlicht 2023. Abgerufen am 16. Juli 2025.
4. Illumina. Illumina Genomics Architecture enables PopGen studies with Illumina DNA PCR-Free Prep. [illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/illumina-genomics-architecture-app-note-m-gl-01991/illumina-genomics-architecture-app-note-m-gl-01991.pdf](#). Veröffentlicht 2023. Abgerufen am 18. Juli 2025.
5. Illumina. Accelerating NGS workflows with Illumina Genomics Architecture. [illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/illumina-genomics-architecture-tech-note-m-gl-00508/illumina-genomics-architecture-tech-note-m-gl-00508.pdf](#). Veröffentlicht 2021. Abgerufen am 18. Juli 2025.
6. Illumina. Optimal variant calling with Illumina DNA PCR-Free Prep on the NovaSeq X Series. [illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/ilmn-dna-pcr-free-prep-novaseq-x-tech-note-m-gl-02388/ilmn-dna-pcr-free-prep-novaseq-x-tech-note-m-gl-02388.pdf](#). Veröffentlicht 2024. Abgerufen am 16. Juli 2025.



1 800 8094566 (USA, gebührenfrei) | +1 858 2024566 (Tel. außerhalb der USA)
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2025 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-03657 DEU v1.0