

Illumina Complete Long Read Prep, Human

Une solution évolutive haute performance pour le séquençage du génome humain entier à lectures longues

- Séquençage du génome humain entier complet avec les lectures courtes et longues activées à partir du même instrument
- Préparation de la librairie et de la performance d'analyse qui sont optimisées pour des résultats fiables et d'une grande précision
- Flux de travail compatible avec l'automatisation, qui peut être réalisé en un jour, avec des exigences minimales d'entrées d'ADN

illumina^{MD}

Introduction

Le séquençage de nouvelle génération (SNG) permet aux scientifiques de déchiffrer le génome afin de mieux comprendre la biologie. La chimie de séquençage par synthèse (SBS, Sequencing by Synthesis) éprouvée d'Illumina, utilisée de concert avec l'analyse secondaire primée DRAGEN^{MC}, permet d'obtenir des données de séquençage du génome entier (WGS, Whole-genome Sequencing) avec une précision exceptionnelle¹. Les dernières avancées dans l'analyse DRAGEN comblent les lacunes subsistant dans les gènes les plus difficiles à cartographier^{2,3}. Une infime fraction des régions géniques peut pourtant bénéficier de longueurs de lecture plus longues pour obtenir une résolution et une cartographie précises. Cependant, l'utilité et l'adoption de nombreuses solutions de séquençage à lectures longues ont été remises en question par les exigences élevées en matière d'entrées d'ADN, les flux de travail complexes à faible débit et l'extrême variabilité des résultats⁴⁻⁷.

Illumina Complete Long Read simplifie le séquençage à lectures longues et le rend accessible aux laboratoires de génomique. Illumina Complete Long Prep, Human est le premier produit qui repose sur cette technologie novatrice de lecture longue. Le test de séquençage du génome entier (WGS) haute performance utilise un flux de travail de SNG standard pour produire des séquences contiguës de lecture longue sur NovaSeq^{MC} 6000 System et la série NovaSeq X (figure 1). Le protocole de préparation de la librairie en une journée, très efficace, s'adapte aisément aux études à haut débit et ne nécessite que 50 ng d'entrée d'ADN sans extraction spécifique, cisaillement, ni sélection de taille.

Génération de lectures longues de haute qualité sur les plateformes NovaSeq

Illumina Complete Long Read Prep, Human est compatible avec les systèmes de séquençage NovaSeq X Plus, NovaSeq X et NovaSeq 6000, permettant aux utilisateurs d'accéder aux données de lectures longues et courtes sur le même instrument (tableau 1). Le test flexible produit des résultats cohérents sur l'ensemble des échantillons de qualité variable et avec 90 % d'entrées d'ADN en moins qu'avec les autres solutions de lectures longues (figure 2). Étant donné que le test résiste aux inhibiteurs et contaminants communs, il fonctionne bien avec l'ADN prélevé du sang, de la salive ou des tissus.

Illumina Complete Long Read combine un test de préparation de librairies exclusif, la chimie de séquençage par synthèse (SBS) éprouvée d'Illumina et la puissante analyse secondaire DRAGEN pour produire des données de lectures longues extrêmement précises (figure 3). Les longs fragments d'ADN à molécule unique subissent un marquage enzymatique avec des formes uniques (ou « points de repère »). Ils sont ensuite amplifiés, puis séquencés. Les points de repère permettent au logiciel de différencier les régions répétitives ou difficiles à cartographier et de générer des lectures longues avec un N50 de 5 à 7 kb (figure 2). Les données de lectures longues sont combinées à une librairie de séquençage du génome entier (WGS) à lectures courtes non marquée pour produire de longues lectures contiguës offrant une représentation complète et précise du fragment à molécule unique d'origine.

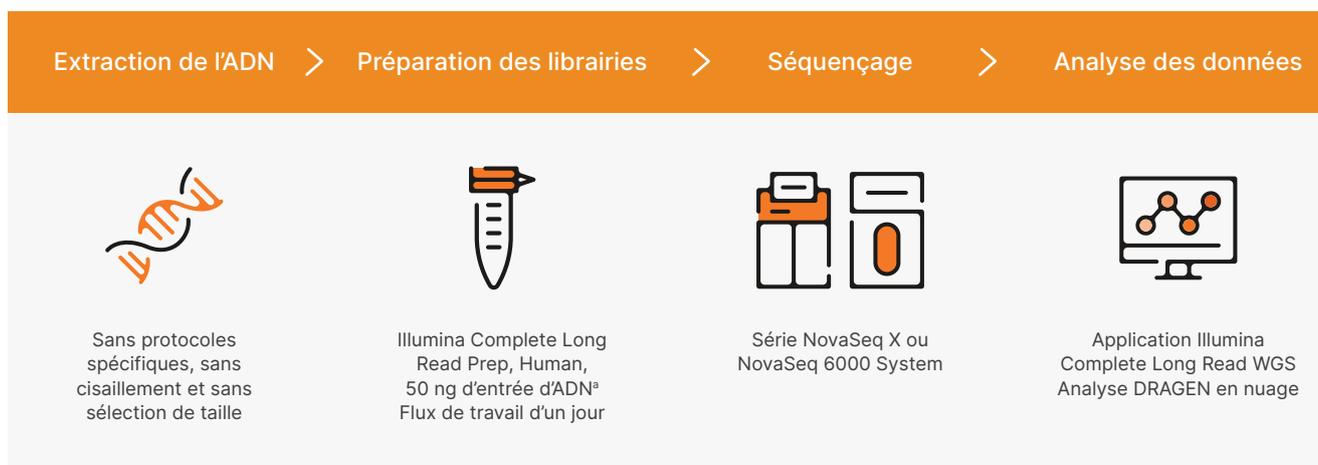


Figure 1 : Flux de travail d'Illumina Complete Long Read : accès à des données complètes de séquençage du génome entier (WGS) à lectures longues via un protocole optimisé et évolutif de préparation de la librairie, séquençage sur NovaSeq 6000 System ou la série NovaSeq X et analyse secondaire DRAGEN. Une librairie de WGS 30× la librairie standard doit être préparée, séquencée et analysée avec la librairie d'Illumina Complete Long Read.

a. Bien qu'il soit possible d'avoir des entrées aussi faibles que 10 ng, Illumina recommande d'utiliser 50 ng d'ADN.

Tableau 1 : Débit d'échantillons recommandé pour le test Illumina Complete Long Read^{a,b,c}

Trousses de réactifs de 300 cycles	Échantillons par Flow Cell	Débit par Flow Cell	Durée de l'analyse
NovaSeq 6000 S4 Reagents	4	~ 3 Tb	~ 44 h
NovaSeq X Series 10B Reagents	4	~ 3 Tb	~ 24 h
NovaSeq X Series 25B Reagents	11	~ 8 Tb	~ 48 h

- a. Requiert une analyse de séquençage de 2 × 150 pb, générant environ 30× la couverture d'Illumina Complete Long Read.
- b. Requiert 30 fois plus de données du génome entier humain de lecture courte standard du même échantillon pour l'analyse. *Illumina DNA PCR-Free Prep* est recommandé. Les trousse de séquençage du génome entier (WGS) tierces sont également compatibles. La librairie non marquée n'a pas besoin d'être préparée ou séquençée en parallèle; il est possible d'utiliser les fichiers FASTQ d'un échantillon d'analyse antérieur.
- c. Le séquençage des librairies Illumina Complete Long Read sur les plateformes NovaSeq pourrait faire passer le score Q30 rapporté d'une analyse en deçà de la valeur NovaSeq spécifiée. Il ne s'agit pas d'un problème de performance en lien avec l'analyse de séquençage ou la librairie.

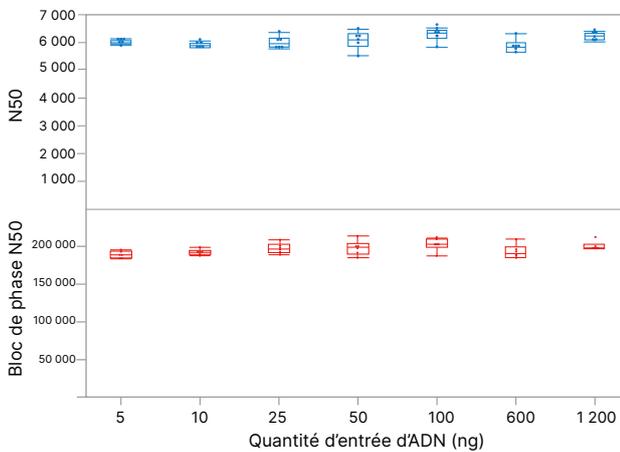


Figure 2 : Le test Illumina Complete Long Read produit des résultats cohérents pour l'ensemble des quantités d'entrées d'ADN : des entrées d'ADN de 5 ng à 1 200 ng génèrent une qualité de données similaire pour N50 et le bloc de phase N50. N50 est définie en tant que longueur de séquence du contig le plus court à 50 % de la longueur totale de l'ensemble. Elle peut également être utilisée en tant que mesure pour la taille des blocs de mise en phase.

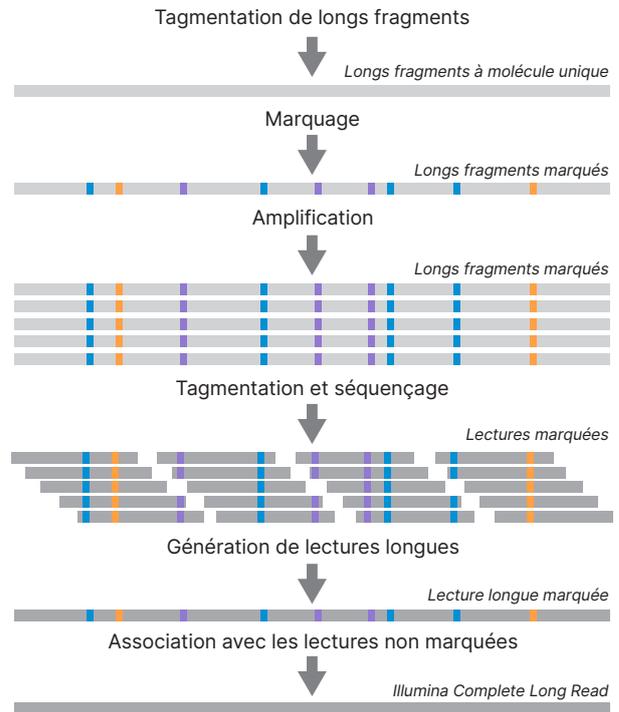


Figure 3 : Mode de fonctionnement du test Illumina Complete Long Read : le test utilise la tagmentation⁸ pour fabriquer de longs fragments d'ADN (> 10 kb), ce qui permet d'éviter d'avoir à effectuer le cisaillement ou la sélection de la taille. Les longs fragments sont « marqués » à l'échelle de la molécule unique pour capturer et préserver les renseignements de lectures longues du fragment (sans adaptateurs ni codes à barres complexes). Les longs fragments marqués sont amplifiés, puis une deuxième étape de tagmentation prépare les librairies pour le séquençage. Durant l'analyse, le puissant logiciel DRAGEN génère des lectures longues et combine les données avec la librairie de séquençage du génome entier (WGS) standard non marquée (du même échantillon, séquençé séparément) pour produire des lectures longues complètes d'une extrême précision.

Accès au séquençage du génome entier de très haute précision

Les données d'Illumina Complete Long Read viennent compléter les données du WGS à lectures courtes standard et fournissent une vue plus complète sur les génomes entiers via :

- l'appel de variants dans les régions difficiles à cartographier avec une homologie élevée ou dans les régions répétitives;
- la résolution de variants structuraux, pseudogènes et grandes insertions/suppressions (indels) complexes;
- la mise en phase des variants et la définition des haplotypes.

Les données d'Illumina Complete Long Read démontrent une précision accrue des appels de variants pour l'ensemble des types de variants par rapport aux données de séquençage du génome entier (WGS) humain de haute précision qui sont produites par Illumina DNA PCR-Free Prep pour la préparation de bibliothèques et l'analyse secondaire DRAGEN³ (figure 4). Avec les ensembles de données PrecisionFDA Truth Challenge v2, le score F1 reflétant la précision et le rappel pour le WGS au moyen du test Illumina Complete Long Read était de 99,90 % (figure 5)^{9,10}.

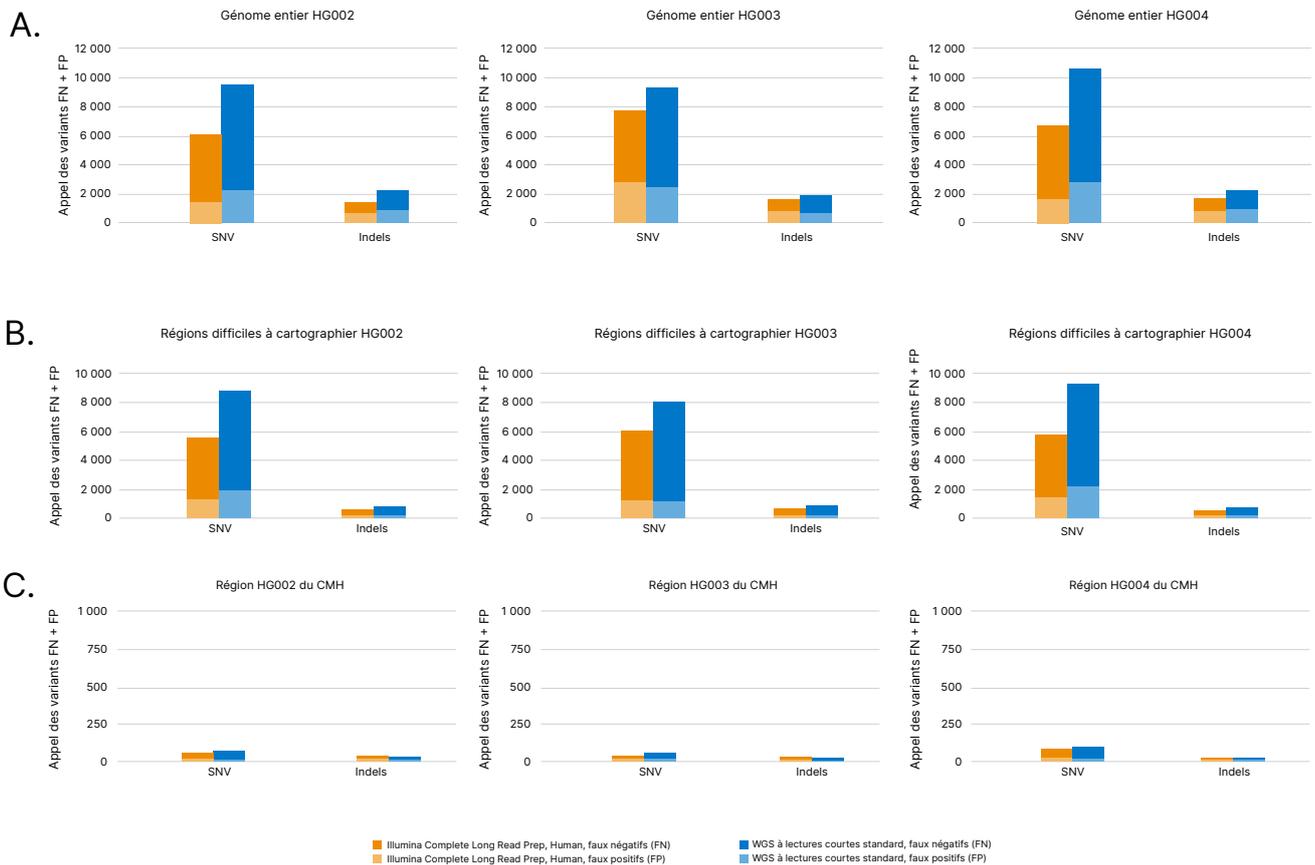


Figure 4 : Le test Illumina Complete Long Read effectue un appel des variants extrêmement précis pour les régions géniques complexes : précision de l'appel des variants indels et des polymorphismes mononucléotidiques (SNP, Single Nucleotide Polymorphism) mesurée en tant que faux positifs (FP) et faux négatifs (FN) pour les échantillons de référence humains du projet Genome in a Bottle HG002, HG003 et HG004¹¹. Comparaison des données de WGS issues du test Illumina Complete Long Read (orange) et d'Illumina DNA PCR-Free Prep (bleu) sur (A) le génome entier, (B) les régions difficiles à cartographier et (C) la région du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH).

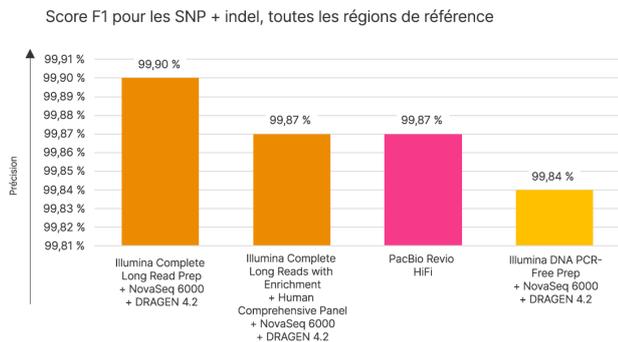


Figure 5 : Un nouvel étalon de précision : Illumina Complete Long Read Prep, Human offre une précision sans précédent pour l'appel des variants, qui est mesurée par le score F1 (%), reflétant la précision et le rappel pour le WGS. Données générées à l'aide de l'échantillon de référence HG002 du PrecisionFDA Challenge v2.

En savoir plus

[Illumina Complete Long Read Prep, Human](#)

[Technologie de séquençage à lectures longues](#)

Renseignements relatifs à la commande

Produit	N° de référence
Illumina Complete Long Read Prep, Human (24 échantillons)	20089108
Illumina Complete Long Read Prep, Human (8 échantillons)	20086823
Illumina Unique Dual Indexes, LT (48 index, 48 échantillons)	20098166
Illumina Analytics – 1 iCredit	20042038

Flux de travail rationalisé et évolutif pour les études à haut débit

Le flux de travail d'Illumina Complete Long Read Prep est hautement évolutif pour prendre en charge le séquençage du génome entier (WGS) complet de plus d'échantillons. Le protocole de préparation de la librairie simple prend environ huit heures (dont cinq heures de manipulation), requiert uniquement l'équipement de laboratoire standard et est facile à automatiser. Grâce à NovaSeq X Plus System, les utilisateurs peuvent générer jusqu'à 3 000 génomes de haute précision par an*. Illumina Complete Long Reads peut être utilisé pour accroître le volume de données de séquençage du génome entier (WGS) existant ou en tant qu'outils à réflexes pour parvenir à une meilleure recherche de variants.

Résumé

Les renseignements des lectures longues peuvent aider à surmonter les difficultés que posent les régions du génome les plus complexes. Illumina Complete Long Read Prep, Human facilite l'accès au séquençage du génome entier (WGS) complet des laboratoires de génomique en leur permettant d'utiliser des lectures longues et courtes sur le même instrument. Le flux de travail familier rationalisé et la synergie avec la chimie de SBS éprouvée d'Illumina et l'analyse DRAGEN génèrent le génome entier le plus précis et le plus évolutif du marché.

* Débit potentiel lorsqu'Illumina Complete Long Read Prep, Human est utilisé avec NovaSeq X Plus System, l'analyse de double Flow Cell avec des Flow Cell 25B.

Références

1. Mehio R, Ruehle M, Catreux S, et al. DRAGEN wins at Precision- FDA Truth Challenge V2 showcase accuracy gains from alt-aware mapping and graph reference genomes. <https://www.illumina.com/science/genomics-research/articles/dragen-wins-precisionfda-challenge-accuracy-gains.html>. Publié le 9 novembre 2020. Consulté le 12 janvier 2023.
2. Illumina. DRAGEN Bio-IT Platform data sheet. [illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/dragen-bio-it-data-sheet-m-gl-00680/dragen-bio-it-data-sheet-m-gl-00680.pdf](https://www.illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/dragen-bio-it-data-sheet-m-gl-00680/dragen-bio-it-data-sheet-m-gl-00680.pdf). Publié en 2022. Consulté le 1er février 2023.
3. Illumina. Accuracy improvements in germline small variant calling with the DRAGEN Bio-IT Platform. [illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/dragen-v4-accuracy-app-note-m-gl-01016/dragen-v4-accuracy-app-note-m-gl-01016.pdf](https://www.illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/dragen-v4-accuracy-app-note-m-gl-01016/dragen-v4-accuracy-app-note-m-gl-01016.pdf). Publié en 2022. Consulté le 1er février 2023.
4. Pacific Biosciences. Preparing DNA for PacBio HiFi sequencing—Extraction and quality control. [pacb.com/wp-content/uploads/Technical-Note-Preparing-DNA-for-PacBio-HiFi-Sequencing-Extraction-and-Quality-Control.pdf](https://www.pacb.com/wp-content/uploads/Technical-Note-Preparing-DNA-for-PacBio-HiFi-Sequencing-Extraction-and-Quality-Control.pdf). Publié en 2022. Consulté le 12 janvier 2023.
5. Pacific Biosciences. Preparing whole genome and metagenome libraries using SMRTbell prep kit 3.0. <https://www.pacb.com/wp-content/uploads/Procedure-checklist-Preparing-whole-genome-and-metagenome-libraries-using-SMRTbell-prep-kit-3.0.pdf>. Publié en 2022. Consulté le 12 janvier 2023.
6. Oxford Nanopore Technologies. Ligation Sequencing Kit. [store.nanoporetech.com/us/ligation-sequencing-kit110.html](https://www.nanoporetech.com/us/ligation-sequencing-kit110.html). Consulté le 12 janvier 2023.
7. Pacific Biosciences. Low Yield Troubleshooting Guide. [pacb.com/wp-content/uploads/Guide-Low-Yield-Troubleshooting.pdf](https://www.pacb.com/wp-content/uploads/Guide-Low-Yield-Troubleshooting.pdf). Publié en 2018. Consulté le 12 janvier 2023.
8. Illumina. Tagmentation. [illumina.com/techniques/sequencing/ngs-library-prep/tagmentation.html](https://www.illumina.com/techniques/sequencing/ngs-library-prep/tagmentation.html). Consulté le 12 janvier 2023.
9. Illumina. Données internes. 2022.
10. PrecisionFDA. Truth Challenge V2: Calling Variants from Short and Long Reads in Difficult-to-Map Regions. precision.fda.gov/challenges/10. Consulté le 12 janvier 2023.
11. Genome in a Bottle. National Institute of Standards and Technology. [nist.gov/programs-projects/genome-bottle](https://www.nist.gov/programs-projects/genome-bottle). Consulté le 12 janvier 2023.



Numéro sans frais aux États-Unis : + (1) 800 809-4566 | Téléphone : + (1) 858 202-4566
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2024 Illumina, Inc. Tous droits réservés. Toutes les marques de commerce sont la propriété d'Illumina, Inc. ou de leurs détenteurs respectifs. Pour obtenir des renseignements sur les marques de commerce, consultez la page www.illumina.com/company/legal.html.
M-GL-01420 FRA v2.0