

Illumina Complete Long Read Prep, Human

Uma solução escalável de alto desempenho para sequenciamento de genoma completo humano de leitura longa

- WGS humano abrangente com leituras longas e curtas do mesmo instrumento
- Desempenho otimizado de preparação e análise de biblioteca para resultados altamente precisos e confiáveis
- Fluxo de trabalho compatível com automação de um dia com baixos requisitos de entrada de DNA

illumina[®]

Introdução

O sequenciamento de última geração (NGS) permite que os cientistas decifrem o genoma para uma compreensão mais profunda da biologia. A comprovada química de sequenciamento por síntese (SBS) da Illumina combinada com a premiada análise secundária DRAGEN™ fornece dados de sequência do genoma completo (WGS) com precisão excepcional.¹ Os avanços mais recentes na análise DRAGEN estão fechando lacunas restantes nos genes mais difíceis de mapear.^{2,3} Ainda assim, uma fração muito pequena de regiões gênicas pode se beneficiar de uma duração da leitura mais longa para resolução e mapeamento precisos. No entanto, muitas soluções de sequenciamento de leitura longa tiveram utilidade e adoção limitadas devido a altos requisitos de entrada de DNA, fluxos de trabalho complexos com baixo rendimento e resultados altamente variáveis.⁴⁻⁷

O Illumina Complete Long Reads torna o sequenciamento de leitura longa acessível e simplificado para laboratórios genômicos. O Illumina Complete Long Read Prep, Human é o primeiro produto baseado nesta nova tecnologia de leitura longa. O ensaio de WGS de alto desempenho usa um fluxo de trabalho NGS padrão para gerar sequências de leitura longa contíguas no NovaSeq™ 6000 System e NovaSeq X Series (Figura 1). O protocolo de preparação de biblioteca eficiente de um dia é fácil de dimensionar para estudos de alto rendimento e requer apenas 50 ng de entrada de DNA sem extrações especializadas, cisalhamento ou seleção de tamanho.

Gere leituras longas de alta qualidade nas plataformas NovaSeq

O Illumina Complete Long Read Prep, Human é compatível com os sistemas de sequenciamento NovaSeq X Plus, NovaSeq X e NovaSeq 6000, dando aos usuários acesso a dados de leitura longa e curta no mesmo instrumento (Tabela 1). O ensaio flexível fornece resultados consistentes em amostras de qualidade variável, exigindo 90% menos entrada de DNA do que outras soluções de leitura longa (Figura 2). Como o ensaio é resistente a inibidores e contaminantes comuns, ele funciona bem com o DNA do sangue, saliva ou tecido.

O Illumina Complete Long Reads combina um ensaio de preparação de biblioteca proprietário, química comprovada do Illumina SBS e análise secundária DRAGEN poderosa para gerar dados de leitura longa altamente precisos (Figura 3). Fragmentos longos de DNA de molécula única são marcados enzimaticamente com padrões exclusivos (ou “marcas de referência”), depois amplificados e sequenciados. As marcas de referência permitem que o software distinga regiões repetitivas ou difíceis de mapear e gere leituras longas com um N50 de 5–7 kb (Figura 2). Os dados de leitura longa são combinados com uma biblioteca WGS de leitura curta não marcada para produzir leituras longas e contíguas que são uma representação completa e precisa do fragmento original de molécula única.



Figura 1: Fluxo de trabalho Illumina Complete Long Read: Acesse dados WGS abrangentes de leitura longa usando um protocolo de preparação de biblioteca escalável e otimizado, sequenciamento no NovaSeq 6000 System ou NovaSeq X Series e análise secundária DRAGEN. Uma biblioteca padrão de 30× WGS deve ser preparada, sequenciada e analisada com a biblioteca Illumina Complete Long Read.

a. Embora entradas tão baixas quanto 10 ng sejam possíveis, a Illumina recomenda 50 ng de DNA.

Tabela 1: Rendimento recomendado da amostra para o ensaio Illumina Complete Long Read^{a,b,c}

Kits de reagentes de 300 ciclos	Amostras por lâmina de fluxo	Saída por lâmina de fluxo	Tempo de corrida
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. Requer uma corrida de sequenciamento de 2 x 150 bp, gerando aproximadamente 30x de cobertura do Illumina Complete Long Reads.
- b. Requer 30x dados padrão de leitura curta do genoma completo humano da mesma amostra para análise. Recomenda-se o [Illumina DNA PCR-Free Prep](#). Kits WGS de terceiros também são compatíveis. A biblioteca não marcada não precisa ser preparada nem sequenciada em paralelo; podem ser usados arquivos FASTQ da amostra de uma corrida anterior.
- c. Sequenciar bibliotecas de leitura longa completas da Illumina nas plataformas NovaSeq pode fazer com que a pontuação Q30 relatada em uma corrida fique abaixo da especificação NovaSeq. Isso não indica um problema de desempenho com a corrida de sequenciamento ou a biblioteca.

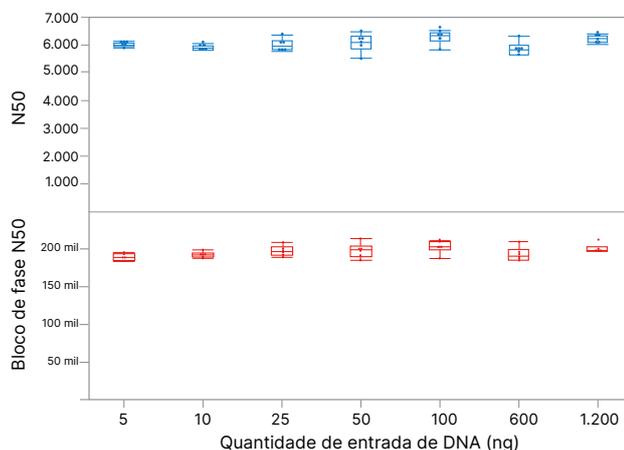


Figura 2: O ensaio Illumina Complete Long Read fornece resultados consistentes em quantidades de entrada de DNA: entradas de DNA de 5 ng a 1.200 ng geram qualidade de dados semelhante para N50 e bloco de fase N50. N50 é definido como o comprimento da sequência do contig mais curto a 50% do comprimento total do conjunto. Ele também pode ser usado como medida do tamanho dos blocos de faseamento.

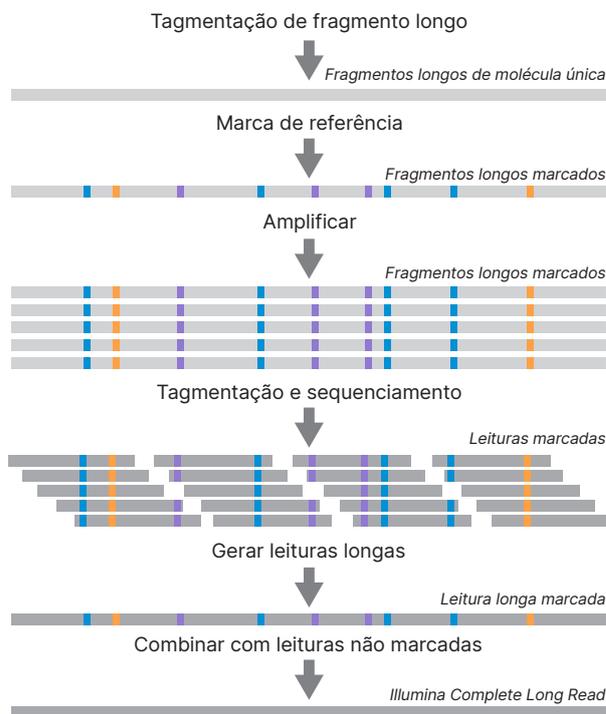


Figura 3: Como funciona o ensaio Illumina Complete Long Reads: O ensaio usa a tagmentação⁸ para produzir fragmentos longos de DNA (> 10 kb), eliminando a necessidade de cisalhamento ou seleção de tamanho. Fragmentos longos são “marcados” na escala de molécula única para capturar e preservar informações de leitura longa dentro do fragmento (sem códigos de barras ou adaptadores complexos). Fragmentos longos marcados são amplificados e, em seguida, uma segunda etapa de tagmentação prepara as bibliotecas para sequenciamento. Durante a análise, o poderoso software DRAGEN gera leituras longas e combina os dados com uma biblioteca WGS padrão não marcada (da mesma amostra, sequenciada separadamente) para produzir leituras longas completas e altamente precisas.

Acesso a WGS altamente preciso

Os dados do Illumina Complete Long Read complementam os dados WGS de leitura curta padrão e fornecem genomas completos mais abrangentes por:

- Identificação de variantes em regiões difíceis de mapear com alta homologia ou regiões repetitivas
- Resolução de variantes estruturais complexas, pseudogenes e grandes deleções de inserção (indels)
- Variantes de faseamento e identificação de haplótipos

Os dados do Illumina Complete Long Read demonstram maior precisão de identificação entre os tipos de variantes em comparação com os dados de WGS humanos de alta precisão gerados usando o Illumina DNA PCR-Free Prep para preparação da biblioteca e análise secundária DRAGEN³ (Figura 4). Com os conjuntos de dados do PrecisionFDA Truth Challenge v2, a pontuação F1 que reflete a precisão e o recall do WGS usando o ensaio Illumina Complete Long Read foi de 99,90% (Figura 5).^{9,10}

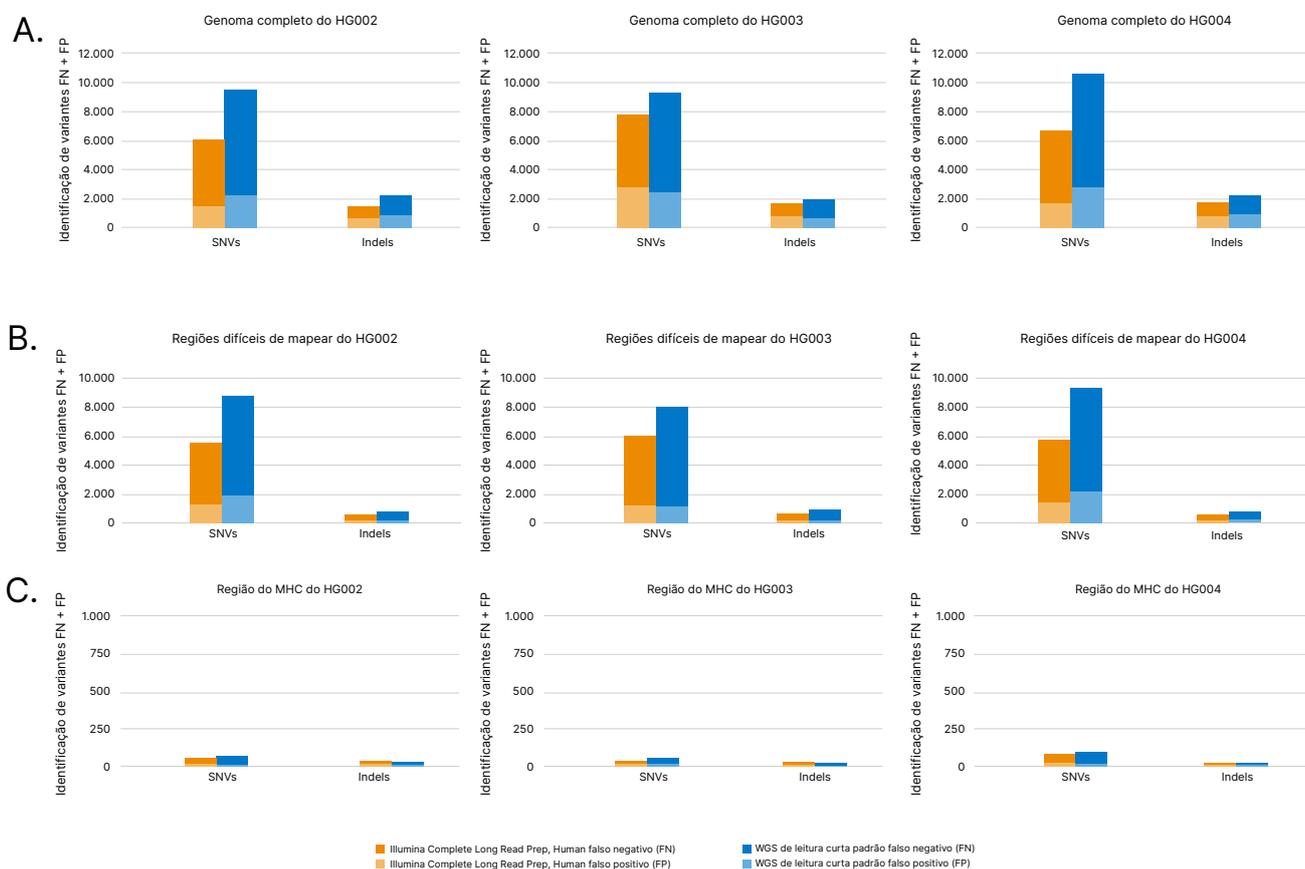


Figura 4: O ensaio do Illumina Complete Long Read realiza identificações de variantes altamente precisas para regiões gênicas desafiadoras: polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) e precisão de identificação de variantes indel medidas como falsos positivos (FP) e falsos negativos (FN) para genoma em amostras de referência humanas de frascos HG002, HG003, e HG004.¹¹ Comparação dos dados de WGS do ensaio do Illumina Complete Long Read (laranja) e do Illumina DNA PCR-Free Prep (azul) em (A) genoma completo, (B) regiões difíceis de mapear, e (C) a principal região do complexo de histocompatibilidade (MHC).

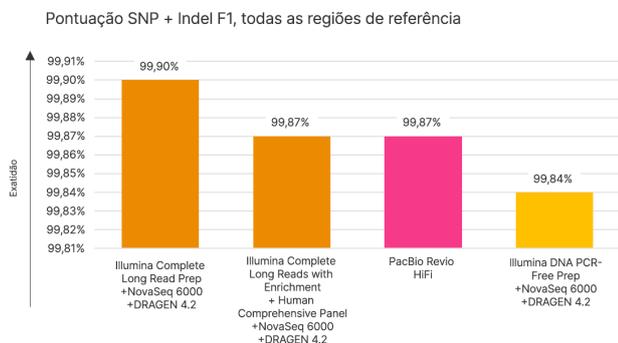


Figura 5: Um novo padrão de precisão: o Illumina Complete Long Read Prep, Human oferece precisão sem precedentes para identificação de variantes, conforme medido pela pontuação F1 (%), refletindo precisão e recall para WGS. Dados gerados usando a amostra de referência do PrecisionFDA Challenge v2 HG002.

Saiba mais

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

[Tecnologia de sequenciamento de leitura longa](#)

Informações para pedido

Produto	Nº do catálogo
Illumina Complete Long Read Prep, Human (24 samples)	20089108
Illumina Complete Long Read Prep, Human (8 samples)	20086823
Illumina Unique Dual Indexes, LT (48 indexes, 48 samples)	20098166
Illumina Analytics - 1 iCredit	20042038

Fluxo de trabalho escalável e simplificado para estudos de alto rendimento

O fluxo de trabalho do Illumina Complete Long Read Prep é altamente escalável para suportar WGS abrangente para mais amostras. O protocolo simples de preparação de biblioteca leva aproximadamente oito horas (com cinco horas de tempo de manuseio), requer apenas equipamentos de laboratório padrão e é fácil de automatizar. Com o NovaSeq X Plus System, os usuários podem gerar até 3.000 genomas de alta precisão por ano.* O Illumina Complete Long Reads pode ser usado para aumentar os conjuntos de dados WGS existentes ou como uma ferramenta reflexa para uma descoberta mais profunda de variantes.

Resumo

Informações de leitura longa podem ajudar a resolver as regiões mais desafiadoras do genoma. O Illumina Complete Long Read Prep, Human torna o WGS abrangente facilmente acessível para laboratórios de genômica, permitindo leituras longas e curtas no mesmo instrumento. O fluxo de trabalho simplificado e familiar e a sinergia com a química comprovada do Illumina SBS e a análise DRAGEN oferecem o genoma completo mais escalável e preciso do mercado.

* Produtividade potencial quando o Illumina Complete Long Read Prep, Human é usado com o NovaSeq X Plus System, corrida de lâmina de fluxo duplo com lâminas de fluxo 25B.

Referências

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>. Publicado em 9 de novembro de 2020. Acessado em 12 de janeiro de 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). Publicado em 2022. Acessado em 1 de fevereiro de 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). Publicado em 2022. Acessado em 1 de fevereiro de 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). Publicado em 2022. Acessado em 12 de janeiro de 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>. Publicado em 2022. Acessado em 12 de janeiro de 2023.
6. Oxford Nanopore Technologies. Ligation Sequencing Kit. [store.nanoporetech.com/us/ligation-sequencing-kit110.html](https://www.store.nanoporetech.com/us/ligation-sequencing-kit110.html). Acessado em 12 de janeiro de 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). Publicado em 2018. Acessado em 12 de janeiro de 2023.
8. Illumina. Tagmentation. [illumina.com/techniques/sequencing/ngs-library-prep/tagmentation.html](https://www.illumina.com/techniques/sequencing/ngs-library-prep/tagmentation.html). Acessado em 12 de janeiro de 2023.
9. Illumina. Dados em arquivo. 2022.
10. PrecisionFDA. Truth Challenge V2: Calling Variants from Short and Long Reads in Difficult-to-Map Regions. [precision.fda.gov/challenges/10](https://www.precision.fda.gov/challenges/10). Acessado em 12 de janeiro de 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). Acessado em 12 de janeiro de 2023.



1 800-809-4566, ligação gratuita (EUA) | tel. +1 (858) 202-4566
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2024 Illumina, Inc. Todos os direitos reservados. Todas as marcas comerciais pertencem à Illumina, Inc. ou aos respectivos proprietários. Para obter informações específicas sobre marcas comerciais, consulte www.illumina.com/company/legal.html.
M-GL-01420 PTB v2.0