

Solução de sequenciamento de exoma NextSeq™ 1000 e NextSeq 2000

Fluxo de trabalho integrado
para análise eficiente de exoma
e identificação precisa de variante

- Preparação simplificada da biblioteca e enriquecimento do exoma para cobertura altamente uniforme de regiões de codificação.
- Sistemas de sequenciamento de bancada flexíveis e escaláveis para oferecer qualidade dos dados excepcional.
- Pipeline de análise de dados integrado com desempenho premiado para identificação de mutações comuns e variantes somáticas raras.



Introdução

A solução de sequenciamento de exoma NextSeq 1000 e NextSeq 2000 oferece um fluxo de trabalho simplificado de DNA-para-resultados para investigar as regiões de codificação de proteínas do genoma. A solução aproveita a tecnologia líder do setor de sequenciamento de última geração (NGS, next-generation sequencing) da Illumina e a química XLEAP-SBS™ de sequenciamento por síntese (SBS, sequencing by synthesis) otimizado para fornecer qualidade dos dados excepcional. Essa cobertura de exoma de alta precisão permite a identificação de variantes de codificação verdadeira para uma ampla gama de aplicações, incluindo genética populacional, pesquisa de doenças genéticas e estudos do câncer. O fluxo de trabalho integrado fornece preparação da biblioteca e enriquecimento do exoma simplificados, sequenciamento por botão e análise de dados rápida e precisa (Figura 1). Com tempo mínimo de trabalho efetivo, a solução de sequenciamento de exoma NextSeq 1000 e NextSeq 2000 é um método altamente flexível e eficiente para a interrogação do exoma.



Figura 2: NextSeq 1000 Sequencing System e NextSeq 2000 Sequencing System — Os sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000 Systems utilizam a química XLEAP-SBS e a análise secundária integrada para simplificar os fluxos de trabalho de sequenciamento.

Fluxo de trabalho simples e eficiente

A solução de sequenciamento de exoma NextSeq 1000 e NextSeq 2000 oferece um fluxo de trabalho simplificado e integrado, permitindo que os pesquisadores maximizem a produtividade. Ele começa com a preparação da biblioteca e o enriquecimento do exoma usando um kit de bibliotecas, como o Illumina DNA Prep with Exome 2.5

Enrichment. As bibliotecas preparadas são carregadas em uma lâmina de fluxo e, em seguida, no NextSeq 1000 ou NextSeq 2000 System para sequenciamento (Figura 2). Os sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000 apresentam várias configurações de sequenciamento de lâminas de fluxo que permitem aos pesquisadores aumentar a escala dos estudos de exoma de acordo com suas necessidades. A análise de dados, incluindo alinhamento e identificação de variantes, é facilmente realizada com o pipeline DRAGEN™ Enrichment, integrado ao instrumento ou na nuvem com o BaseSpace™ Sequence Hub ou o Illumina Connected Analytics.



Figura 1: Fluxo de trabalho de sequenciamento de exoma NextSeq 1000 e NextSeq 2000 — Os sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000 fazem parte de um fluxo de trabalho NGS simples e integrado que fornece dados de sequenciamento de exoma altamente precisos. Os tempos variam por tipo de experimento e ensaio.

a. A configuração do kit inclui Illumina DNA Prep with Enrichment e Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel.

Preparação da biblioteca e enriquecimento do exoma simplificados

O Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment combina a preparação rápida da biblioteca usando a química do transposoma ligado a beads da Illumina e o enriquecimento do exoma com o painel Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5. Fornecendo cobertura abrangente do exoma a partir de apenas 10 ng de entrada, o Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment permite que os laboratórios analisem amostras preciosas de DNA, sem abrir mão de altas taxas de uniformidade e enriquecimento de cobertura. A detecção altamente sensível de variantes de baixa frequência permite que os laboratórios identifiquem variantes de codificação verdadeiras e mutações somáticas raras.

A tagmentação em bead elimina a necessidade de corte mecânico para fragmentar o DNA. Isso simplifica o fluxo de trabalho para um tempo total de cerca de seis horas com menos de duas horas de trabalho efetivo. Os pesquisadores também podem aproveitar esses benefícios de fluxo de trabalho e qualidade dos dados usando o Illumina DNA Prep with Enrichment com outros painéis de exoma. Escolha o conteúdo do painel de vários fornecedores, incluindo Agilent, Twist Bioscience e Integrated DNA Technologies (IDT) (Tabela 1).

Sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000

Os sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000 fornecem energia e versatilidade para simplificar o fluxo de trabalho de sequenciamento de exoma. Sem necessidade de limpeza, leva menos de 10 minutos para carregar e iniciar o sistema. Para o NextSeq 2000 System, os reagentes P4 permitem o sequenciamento de ~41 amostras em aproximadamente 34 horas com comprimentos de leitura tipo paired-end de 100 bp.*

Os sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000 são compatíveis com uma ampla variedade de kits de preparação de bibliotecas da Illumina e de terceiros e oferecem flexibilidade entre aplicações. Os pesquisadores podem fazer a transição facilmente entre projetos de sequenciamento, como exoma, sequenciamento de RNA massivos e de célula única (RNA-Seq) e outros métodos. Por exemplo, os pesquisadores podem emparelhar o sequenciamento do exoma com o sequenciamento do transcriptoma para avaliar se as variantes identificadas alteram a expressão das transcrições.

* O rendimento pode variar com base em muitos fatores, incluindo o tamanho do painel do exoma e o kit de preparação da biblioteca usado.

Tabela 1: Especificações do Painel Exome

Recursos do painel ^a	Painel Illumina Exome 2.5 ^b	Agilent	Twist	IDT
Tamanho do painel	37,5 Mb	36 Mb	33 Mb	39 Mb
Tamanho da sonda	120 bp	N/A	120 bp	120 bp
Tipo de sonda	dsDNA	RNA	dsDNA	ssDNA
Tempo de enriquecimento (Hyb)	1,5 h	16 h	1,5 h	1,5–16 h
Bancos de dados usados para o desenho do painel de exoma^c				
RefSeq ¹	99,1%	99,88%	99,08%	99,45%
GENCODE ²	98,02%	97,29%	96,01%	96,82%
CCDS ³	99,90%	99,91%	99,76%	99,67%
UCSC Known Genes ⁴	99,89%	98,72%	97,63%	98,13%
ClinVar ⁵	98,60%	73,41%	72,56%	72,90%

a. Tamanho do painel = comprimento total da sequência nas regiões-alvo; tamanho da sonda = comprimento da sonda de hibridização de enriquecimento (Hyb); tipo de sonda = oligonucleotídeos da sonda podem ser RNA, DNA, fita simples (ss) ou fita dupla (ds).

b. Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel.

c. As porcentagens se referem a quanto dos bancos de dados cada painel de exoma abrange.

Uma ampla variedade de soluções de ressequenciamento direcionado da Illumina também está disponível para validar variantes descobertas de qualquer aplicativo de sequenciamento.

Fornecer identificações de “variantes de codificação verdadeira”

Uma variante de codificação verdadeira é uma identificação de bases precisa que difere da sequência de consenso dentro de uma região de codificação. Não é um falso positivo (em que uma variante é identificada, mas não existe de fato) ou um falso negativo (em que uma variante que existe de fato não é identificada). Um sistema com alta taxa de identificações de falsos positivos requer extensa validação posterior, aumentando os custos e o tempo de experiência. Um sistema com alta taxa de identificações de falsos negativos não consegue detectar achados potencialmente importantes, muitas vezes em regiões altamente repetitivas ou que contêm estiramentos de homopolímero. Obter identificações de variantes de codificação verdadeira é uma função de preparação e enriquecimento de bibliotecas de alta qualidade, precisão de sequenciamento e precisão de análise secundária.

Descubra mais com a química XLEAP-SBS

Os sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000 são alimentados pela química XLEAP-SBS, a química de sequenciamento mais rápida, de mais alta qualidade e mais robusta da Illumina até hoje. A química XLEAP-SBS nos sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000 permite a maior produtividade de leitura e o menor preço por leitura de qualquer sequenciador de bancada Illumina. Os sistemas fornecem precisão de pelo menos 85% de bases superiores a Q30[†] a 2 × 100 bp (Tabela 2) e têm alta precisão mesmo em regiões altamente difíceis (por exemplo, regiões ricas em GC ou homopolímeros), produzindo uma alta porcentagem de variantes de codificação verdadeira. As baixas taxas de falsos positivos e falsos negativos reduzem drasticamente o tempo e o custo da validação posterior. Ao oferecer qualidade dos dados excepcional, os sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000 oferecem a opção ideal para um estudo abrangente do exoma.

Usando a comprovada tecnologia Illumina NGS, os sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000 permitem que os pesquisadores comparem e integrem os dados gerados entre sistemas. Por exemplo, os dados de sequenciamento de exoma do NextSeq 1000 e do NextSeq 2000 podem ser integrados com dados de estudos de acompanhamento realizados com painéis direcionados ou estudos de sequenciamento de exoma de grande escala com corrida realizada no NovaSeq™ X Series (Tabela 3).

[†] Q30 = 1 erro em 1.000 identificações de base ou uma precisão de 99,9%.

Análise simplificada com DRAGEN secondary analysis

Os laboratórios podem realizar a análise de dados de sequenciamento de exoma usando o Illumina DRAGEN secondary analysis, um conjunto de pipelines de análise de dados precisos, abrangentes e eficientes disponível nos sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000.[‡] Essa solução de informática premiada da PrecisionFDA[§] usa algoritmos otimizados e acelerados por hardware para ajudar os usuários a superar gargalos na análise de dados e reduzir a dependência de especialistas de informática externos.

O pipeline DRAGEN Enrichment analisa a produtividade dos sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000 e realiza a identificação precisa de variantes em menos de duas horas após a conclusão de uma corrida do sequenciamento (Figura 3). O pipeline fornece precisão líder do setor em mapeamento e identificação de pequenas variantes e está disponível nos modos Germline e Somatic.⁶⁻⁸

[‡] O hardware DRAGEN está incluído nos sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000. Uma licença DRAGEN está incluída no instrumento e não precisa ser comprada separadamente.

[§] O DRAGEN secondary analysis recebeu o prêmio de Melhor desempenho para regiões difíceis de mapear e Melhor desempenho para todas as regiões de referência nos dados de sequenciamento da Illumina no PrecisionFDA Truth Challenge V2. de 2020^{7,8}

Tabela 2: Parâmetros de desempenho do NextSeq 1000 e do NextSeq 2000 para sequenciamento de exoma

	Leitura tipo single-end ^a	Duração da leitura	Produtividade ^a	Tempo de corrida ^b	Qualidade dos dados ^c
Reagentes NextSeq 1000/2000 P1 XLEAP-SBS ^d	100 milhões	2 × 150 bp	30 Gb	17 h	bases ≥ 85% acima de Q30
Reagentes NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS ^d	400 milhões	2 × 100 bp	80 Gb	19 h	
Reagentes NextSeq 2000 P3 XLEAP-SBS ^{d,e}	1,2 bilhão	2 × 100 bp	240 Gb	31 h	
Reagentes NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS ^e	1,7 bilhão	2 × 100 bp	330 Gb	34 h	

- a. Especificações de produtividade com base em uma lâmina de fluxo única utilizando a biblioteca de controle Illumina PhiX com densidades de clusters compatíveis.
b. O tempo de corrida inclui a clusterização, o sequenciamento e a identificação de bases nos sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000.
c. As pontuações de qualidade são baseadas em uma biblioteca de controle Illumina PhiX. O desempenho pode variar conforme o tipo e a qualidade da biblioteca, o tamanho do inserto, a concentração do carregamento e outros fatores experimentais. É estabelecida uma média da porcentagem das bases > Q30 em toda a corrida.
d. Reagentes XLEAP-SBS para lâminas de fluxo P1, P2 e P3 disponíveis no segundo trimestre de 2024.
e. Os reagentes P3 e P4 estão disponíveis apenas para o NextSeq 2000 System.

Com o aplicativo integrado DRAGEN Enrichment, a análise pode ser configurada durante o planejamento da corrida, simplificando o fluxo de trabalho da amostra à resposta. O aplicativo DRAGEN Enrichment no BaseSpace Sequence Hub e no Illumina Connected Analytics apresenta recursos avançados de visualização de resultados e classificação de tabelas em uma interface intuitiva adequada para usuários novos e experientes.

A produtividade do pipeline DRAGEN Enrichment pode ser inserida diretamente em uma ampla gama de ferramentas de análise posterior disponíveis no BaseSpace Sequence Hub e no Illumina Connected Analytics. Além da análise do DRAGEN, ambas as soluções em nuvem incluem uma comunidade crescente de ferramentas de software para visualização, análise e compartilhamento.

Suporte técnico abrangente da Illumina

A Illumina fornece uma equipe de suporte de qualidade internacional composta por cientistas experientes especializados em preparação de bibliotecas, sequenciamento e análise. Essa equipe dedicada inclui engenheiros de serviço de campo (FSE, field service engineers) altamente qualificados, cientistas de aplicação técnica (TAS, technical applications scientists), cientistas de aplicação de campo (FAS, field applications scientists), engenheiros de suporte de sistemas, bioinformáticos e especialistas em rede de TI, todos profundamente familiarizados com o NGS e as aplicações que os clientes da Illumina realizam em todo o mundo. [Suporte técnico](#) está disponível por telefone cinco dias por semana ou on-line 24 horas por dia, 7 dias por semana, em todo o mundo e em vários idiomas.

Com esse serviço e suporte incomparáveis, a Illumina ajuda os usuários a maximizar a eficácia de seus sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000, treinar novos funcionários e aprender as técnicas e práticas recomendadas mais recentes.

Tabela 3: Rendimento do sequenciamento de exoma da Illumina por sistema

Sistema de sequenciamento	Reagentes de sequenciamento	Número de exomas por corrida ^a
Sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000	P1 300 cycles	~3
	P2 200 cycles	10
	P3 ^b 200 cycles	30
	P4 ^b 200 cycles	~41
NovaSeq X Series ^c	1.5B 200 ciclos	~41
	10B 200 ciclos	~250
	25B 300 ciclos	~750 ^d

- a. O número de cálculos de exomas supõe ~8 Gb por amostra para alcançar uma cobertura de 100x. O rendimento pode variar com base em muitos fatores, incluindo o tamanho do painel do exoma e o kit de preparação da biblioteca usado.
- b. Os reagentes P3 e P4 estão disponíveis apenas para o NextSeq 2000 System.
- c. O NovaSeq X Plus System é capaz de executar corridas de lâmina de fluxo simples ou de lâmina de fluxo duplo. O NovaSeq X System é capaz de executar corridas de lâmina de fluxo simples.
- d. Estão disponíveis no máximo 384 índices duplos exclusivos. Para o NovaSeq X Series, o carregamento independente de cavidades permite a multiplexação de mais amostras.

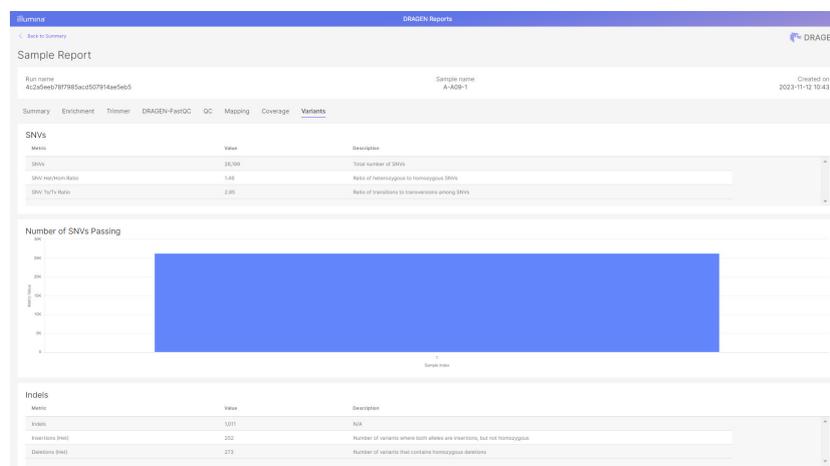


Figura 3: Pipeline DRAGEN Enrichment — Exemplo de captura de tela da precisão líder do setor em mapeamento e identificação de pequenas variantes com pipeline DRAGEN Enrichment, disponível nos sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000 ou na nuvem com BaseSpace Sequence Hub ou Illumina Connected Analytics.

Resumo

A solução de sequenciamento de exoma NextSeq 1000 e NextSeq 2000 oferece um fluxo de trabalho integrado e escalável para a identificação de variantes em regiões de codificação. A solução combina a potência, velocidade e flexibilidade dos sistemas de sequenciamento NextSeq 1000 e NextSeq 2000 com química XLEAP-SBS altamente completa, preparação de bibliotecas e opções de enriquecimento de alta qualidade e software de análise rápido e fácil de usar.

Saiba mais

[Sequenciamento de exoma](#)

[Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Plus Enrichment](#)

[Sistemas de Sequenciamento NextSeq 1000 e NextSeq 2000](#)

[DRAGEN secondary analysis](#)

[Dados de demonstração no BaseSpace Sequence Hub](#)

Referências

1. NIH National Library of Medicine. RefSeq: NCBI Reference Sequence Database. ncbi.nlm.nih.gov/refseq. Atualizado em 18 de julho de 2023. Acessado em 25 de agosto de 2023.
2. The GENCODE Project. GENCODE: Encyclopedia of genes and gene variants. genencodegenes.org/. Acessado em 25 de agosto de 2023.
3. NCBI website. Consensus coding sequences (CCDS) Database. ncbi.nlm.nih.gov/projects/CCDS/CcidsBrowse.cgi. Atualizado em 9 de novembro de 2022. Acessado em 25 de agosto de 2023.
4. University of California, Santa Cruz Genome Browser. UCSC Known Genes. genome.ucsc.edu/. Atualizado em 18 de agosto de 2023. Acessado em 25 de agosto de 2023.
5. NIH National Library of Medicine. ClinVar Database. ncbi.nlm.nih.gov/clinvar. Atualizado em 28 de agosto de 2023. Acessado em 28 de agosto de 2023.
6. Illumina. [Accuracy improvements in germline small variant calling with the DRAGEN Platform](#). Acessado em 25 de agosto de 2023.
7. PrecisionFDA website. Truth Challenge V2: Calling variants from short and long reads in difficult-to-map regions. precision.fda.gov/challenges/10. Acessado em 25 de agosto de 2023.
8. 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. illumina.com/science/genomics-research/dragen-wins-precisionfda-challenge-showcase-accuracy-gains.html. Acessado em 25 de agosto de 2023.

Informações para pedido

Produto	N.º do catálogo
NextSeq 2000 Sequencing System	20038897
NextSeq 1000 Sequencing System	20038898
NextSeq 1000 to NextSeq 2000 upgrade	20047256
NextSeq 1000/2000 P1 XLEAP-SBS Reagent Kit (100 cycles) ^{a,b}	20100983
NextSeq 1000/2000 P1 XLEAP-SBS Reagent Kit (300 cycles) ^{a,b}	20100982
NextSeq 1000/2000 P1 XLEAP-SBS Reagent Kit (600 cycles) ^{a,b}	20100981
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (100 cycles) ^{a,b}	20100987
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (200 cycles) ^{a,b}	20100986
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (300 cycles) ^{a,b}	20100985
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (600 cycles) ^{a,b}	20100984
NextSeq 2000 P3 XLEAP-SBS Reagent Kit (100 cycles) ^{a,b}	20100990
NextSeq 2000 P3 XLEAP-SBS Reagent Kit (200 cycles) ^{a,b}	20100989
NextSeq 2000 P3 XLEAP-SBS Reagent Kit (300 cycles) ^{a,b}	20100988

a. Os kits de reagentes XLEAP-SBS para os instrumentos NextSeq 1000 e NextSeq 2000 são enviados e armazenados na mesma temperatura que os kits de reagentes SBS padrão.

b. Reagentes XLEAP-SBS para lâminas de fluxo P1, P2 e P3 disponíveis no segundo trimestre de 2024. A configuração do kit inclui Illumina DNA Prep with Enrichment e Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel.

c. A configuração do kit inclui Illumina DNA Prep with Enrichment e Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel.

Informações para pedido

Produto	N.º do catálogo
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagent Kit (50 cycles) ^a	20100995
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagent Kit (100 cycles) ^a	20100994
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagent Kit (200 cycles) ^a	20100993
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagent Kit (300 cycles) ^a	20100992
NextSeq 1000/2000 XLEAP-SBS Read and Index Primers ^a	20112856
NextSeq 1000/2000 XLEAP-SBS Index Primer Kit ^a	20112858
NextSeq 1000/2000 XLEAP-SBS Read Primer Kit ^a	20112859
Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment, (S) Tagmentation Set B (96 samples, 12-plex) ^c	20077595
Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment, (S) Tagmentation Set D (96 samples, 12-plex) ^c	20077596
Illumina DNA Prep with Enrichment, (S) Tagmentation (16 samples)	20025523
Illumina DNA Prep with Enrichment, (S) Tagmentation (96 samples)	20025524
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set A, Tagmentation (96 índices, 96 samples)	20091654
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set B, Tagmentation (96 indexes, 96 samples)	20091656
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set C, Tagmentation (96 indexes, 96 samples)	20091658
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set D, Tagmentation (96 indexes, 96 samples)	20091660

a. Os kits de reagentes XLEAP-SBS para os instrumentos NextSeq 1000 e NextSeq 2000 são enviados e armazenados na mesma temperatura que os kits de reagentes SBS padrão.

b. Reagentes XLEAP-SBS para lâminas de fluxo P1, P2 e P3 disponíveis no segundo trimestre de 2024. A configuração do kit inclui Illumina DNA Prep with Enrichment e Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel.

c. A configuração do kit inclui Illumina DNA Prep with Enrichment e Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel.



1.800.809.4566, ligação gratuita (EUA) | +1.858.202.4566 tel.
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-00479 PTB v3.0