

Illumina Complete Long Read Prep, Human

高性能、可扩展的解决方案，
用于人类全基因组长读长测序

- 在一台仪器上即可进行长读长和短读长人全基因组测序，获取全面信息
- 优化的文库制备和分析性能，可获得高准确度和可靠的结果
- 仅需一天即可完成建库，DNA 起始量要求低，可兼容自动化

illumina®

简介

新一代测序 (NGS) 助力科学家破译基因组, 更深入地了解生物学。成熟的因美纳边合成边测序 (SBS) 化学技术与屡获殊荣的 DRAGEN™ Bio-IT 平台相结合, 可提供高准确度的全基因组测序 (WGS) 数据¹。DRAGEN 分析的最新进展正在填补难绘制基因的空白^{2,3}, 而一小部分基因区域则受益于更长的读长, 以实现针对这些复杂区域的准确分辨率和定位。然而, 许多长读长测序解决方案一直饱受 DNA 起始量要求高、工作流程复杂且通量低和结果高度差异化的困扰, 这也限制了它们的实用性和采用率⁴⁻⁷。

Illumina Complete Long Read 可帮助基因组实验室实现并简化长读长测序。Illumina Complete Long Prep, Human 是第一款基于这种新型长读长技术的产品。高性能 WGS 检测采用标准的 NGS 工作流程, 在 NovaSeq™ 6000 系统和 NovaSeq X 系列上生成连续的长读长序列 (图 1)。高效的文库制备方案只需一天即可完成, 并且易于扩展, 适用于高通量研究。DNA 起始量仅需 50 ng, 无需专门的提取、剪切或片段长度筛选。

利用 NovaSeq 平台生成高质量长读长

Illumina Complete Long Read Prep, Human 可兼容 NovaSeq X Plus、NovaSeq X 和 NovaSeq 6000 测序系统, 用户能够在同一台仪器上获取长读长和短读长数据 (表 1)。该检测方法灵活, 针对不同质量的样本可提供一致的结果, 同时与其他长读长解决方案相比, 所需的 DNA 起始量减少了 90% (图 2)。该方法不受常见抑制剂和污染物的影响, 因此从血液、唾液或组织中提取的 DNA 表现良好。

表 1: Illumina Complete Long Read 的推荐样本通量^{a,b}

300 循环试剂盒	每个流动槽的样本数	每个流动槽的产出	运行时间
NovaSeq 6000 S4 试剂	4	约 3 Tb	约 44 小时
NovaSeq X 系列 10B 试剂	4	约 3 Tb	约 24 小时
NovaSeq X 系列 25B 试剂	10–11	约 8 Tb	约 48 小时

a. 需要 2 × 150 bp 测序运行, 生成大约 30× 覆盖度的 Illumina Complete Long Read。
b. 需要来自同一样本的 30× 标准短读长人类全基因组数据用于分析。推荐使用 Illumina DNA PCR-Free Prep, 也兼容第三方 WGS 试剂盒。未标记的文库无需同时制备或测序, 可以使用之前运行的样本中的 FASTQ 文件。



图 1: Illumina Complete Long Read 工作流程——采用可扩展、优化的文库制备方案, 使用 NovaSeq 6000 系统或 NovaSeq X 系列进行测序, 结合 DRAGEN 分析, 可获得全面的 WGS 长读长数据。标准的 30×WGS 文库应制备、测序, 并和 Illumina Complete Long Read 文库一起分析

Illumina Complete Long Read 结合了专利的文库制备分析、成熟的因美纳 SBS 化学技术和强大的 DRAGEN 分析，可生成高度准确的长读长数据（图 3）。单分子 DNA 长片段以独特的模式被酶切标记（或称为“界标”），然后扩增并进行测序。软件能够根据界标区分重复或难绘制的区域，并生成 N50 为 5-7 kb 的长读长（图 2）。长读长数据与未标记的 WGS 文库相结合，生成连续的长读长，可完整、准确地展示原始单分子片段。

实现高度准确的 WGS

Illumina Complete Long Read 数据可完善标准短读长 WGS 数据，并通过以下方式提供更全面的全基因组图谱：

- 在复杂、难绘制的区域检出具有高度同源性或重复区域的变异
- 解析复杂的结构变异、假基因和大片段插入 / 缺失 (indel)
- 定相变异，检出单倍型

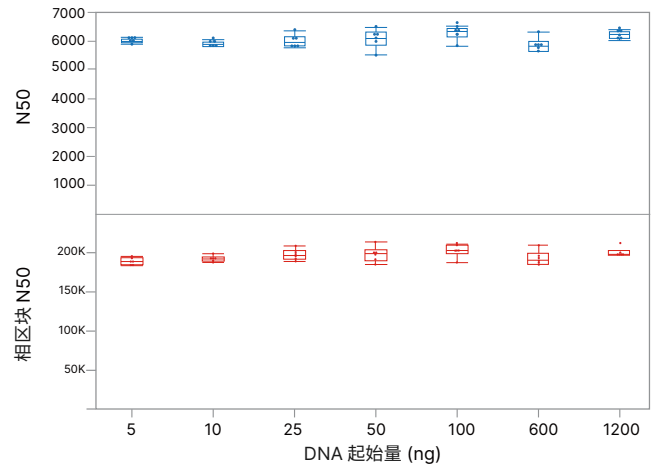


图 2: Illumina Complete Long Read 可在不同 DNA 起始量下提供一致的结果——从 5 ng 到 1200 ng DNA 起始量的 N50 和相区块 N50 具有相似的数据质量。N50 表示占总组装长度 50% 的最短 contig 的序列长度。它也可以用于度量相区块的大小。

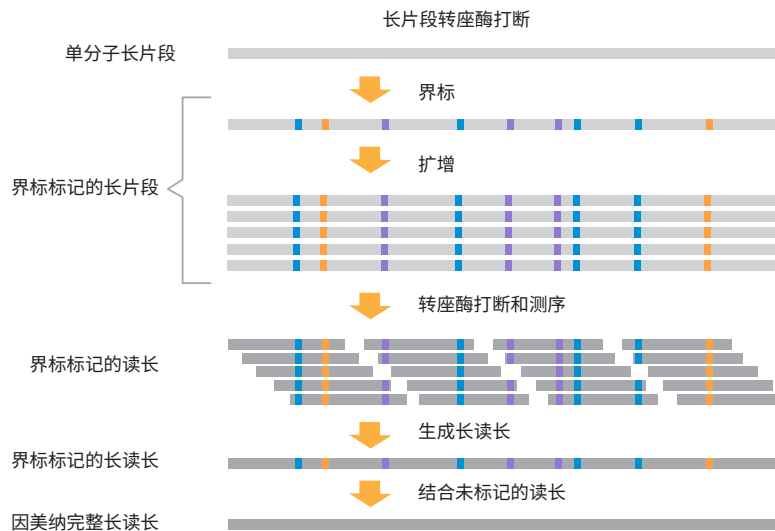


图 3: Illumina Complete Long Read 检测的工作原理——该检测使用转座酶片段化⁸生成 DNA 长片段 (> 10 kb)，无需剪切或片段长度筛选。在单分子水平上对长片段进行“界标标记”，以捕获和保存片段内的长读长信息（无需复杂的条形码或接头）。首先扩增界标标记的长片段，然后在第二次转座酶片段化步骤中制备文库进行测序。在分析过程中，功能强大的 DRAGEN 软件将生成长读长，并将数据与未标记的标准 WGS 库（来自同一样本，分别测序）相结合，生成高准确度的完整长读长。

与使用 Illumina DNA PCR-Free Prep 进行文库制备结合 DRAGEN 4.0 分析生成的高准确度人类 WGS 数据相比，Illumina Complete Long Read 数据显示出更高的各变异类型检出准确度³ (图 4)。通过 PrecisionFDA Truth Challenge v2 数据集，使用 Illumina Complete Long Read 检测的 F1 评分为 99.87%，F1 评分反映 WGS 的精确率和召回率 (图 5)^{9,10}。

可扩展的一体化工作流程，适用于高通量研究

Illumina Complete Long Read Prep 工作流程具有高度可扩展性，支持更多样本的全面 WGS。简单的文库制备方案大约需要 8 小时（手动操作时间为 4 小时），只需标准的实验室设备，且易于实现建库自动化。使用 NovaSeq X Plus 系统，用户每年可以生成多达 3000 个高准确度基因组。^{*} Illumina Complete Long Reads 可用于扩展现有的 WGS 数据集，或作为反复检测工具更深入地探索变异。

* 当 Illumina Complete Long Read Prep, Human 与 NovaSeq X Plus 系统（使用 25B 流动槽运行双流动槽）联用时的潜在吞吐量。

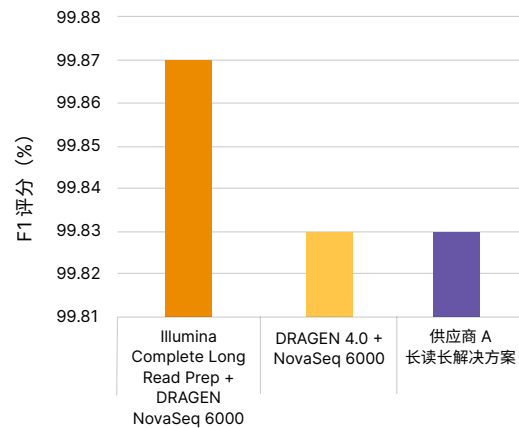


图 5: 准确性的新标准——Illumina Complete Long Read Prep, Human 为变异检出提供了前所未有的准确性，以 F1 评分 (%) 衡量，该评分反映 WGS 的精确率和召回率。

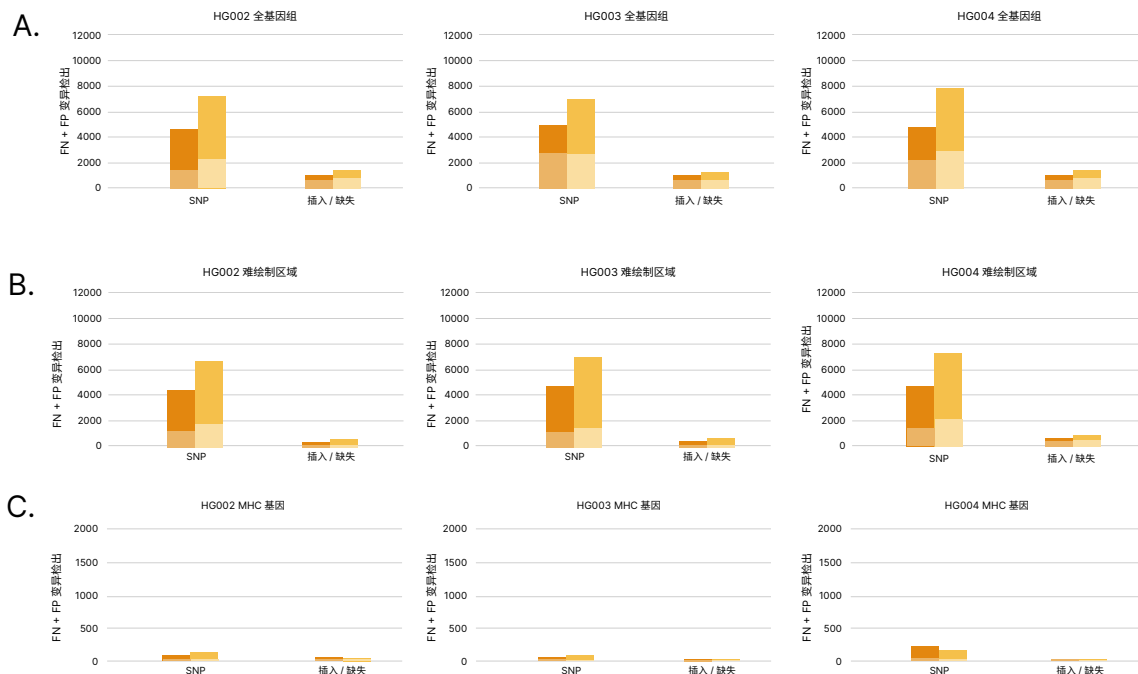


图 4: Illumina Complete Long Read 检测可对复杂基因区域进行高度准确的变异检出——以瓶中基因组联盟人类参考样本 HG002、HG003 和 HG004，测定单核苷酸多态性 (SNP) 和插入/缺失变异检出准确性的假阳性 (FP) 和假阴性 (FN)¹¹。比较来自 Illumina Complete Long Read 检测 (粉色) 和 Illumina DNA PCR-Free Prep (橙色) 的 WGS 数据，这些数据涉及 (A) 全基因组、(B) 难绘制区域和 (C) MHC 基因。

总结

长读长信息有助于分析最复杂基因组区域。Illumina Complete Long Read Prep, Human 支持在同一台仪器上进行长读长和短读长测序，助力基因组学实验室轻松实现全面的 WGS。一体化、相似的工作流程，搭配成熟的因美纳 SBS 化学技术和 DRAGEN 分析，可为用户提供市场上具有出色可扩展性和准确性的全基因组。未来的产品将拓展 Illumina Complete Long Read 的更多功能。

了解更多

Illumina Complete Long Read Prep, Human
illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/complete-long-read-prep-human.html

长读长测序技术

illumina.com/science/technology/next-generation-sequencing/long-read-sequencing.html

参考文献

1. Mehio R, Rühle 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. Accessed January 12, 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. Published 2022. Accessed February 1, 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. Published 2022. Accessed February 1, 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. Published 2022. Accessed January 12, 2023.
5. Pacific Biosciences. Preparing whole genome and metagenome libraries using SMRTbell prep kit 3.0. pacb.com/wp-content/uploads/Procedure-checklist-Preparing-whole-genome-and-metagenome-libraries-using-SMRTbell-prep-kit-3.0.pdf. Published 2022. Accessed January 12, 2023.
6. Oxford Nanopore Technologies. Ligation Sequencing Kit. store.nanoporetech.com/us/ligation-sequencing-kit110.html. Accessed January 12, 2023.
7. Pacific Biosciences. Low Yield Troubleshooting Guide. pacb.com/wp-content/uploads/Guide-Low-Yield-Troubleshooting.pdf. Published 2018. Accessed January 12, 2023.
8. Illumina. Tagmentation. illumina.com/techniques/sequencing/ngs-library-prep/tagmentation.html. Accessed January 12, 2023.
9. Illumina. Data on file. 2022.
10. PrecisionFDA. Truth Challenge V2: Calling Variants from Short and Long Reads in Difficult-to-Map Regions. precision.fda.gov/challenges/10. Accessed January 12, 2023.
11. Genome in a Bottle. National Institute of Standards and Technology. nist.gov/programs-projects/genome-bottle. Accessed January 12, 2023.

订购信息

产品	货号
Illumina Complete Long Read Prep, Human (24 样本)	20089108
Illumina Complete Long Read Prep, Human (8 样本)	20086823
Illumina UD Indexes, LT (48 标签, 48 样本)	20098166
Illumina Complete Long Read WGS App	20100421

illumina®

Illumina 中国

上海办公室 • 电话 (021) 6032-1066 • 传真 (021) 6090-6279
北京办公室 • 电话 (010) 8455-4866 • 传真 (010) 8455-4855
技术支持热线 400-066-5835 • chinasupport@illumina.com • www.illumina.com.cn

© 2023 Illumina, Inc. 保留所有权利。所有商标均为因美纳公司或其各自所有者的财产。
关于具体的商标信息, 请访问 www.illumina.com/company/legal.html。
M-GL-01420 v1.0

