

# 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**<sup>®</sup>

## 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) éprouvée d'Illumina, utilisée de concert avec l'analyse secondaire primée DRAGEN<sup>MC</sup>, permet d'obtenir des données de séquençage du génome entier (WGS) avec une précision exceptionnelle<sup>1</sup>. Les dernières avancées dans l'analyse DRAGEN comblent les lacunes subsistant dans les gènes les plus difficiles à mapper<sup>2,3</sup>. Une infime fraction des régions géniques peut pourtant bénéficier de longueurs de lecture plus longues pour obtenir une résolution et un mappage précis de ces régions complexes. De nombreuses solutions de séquençage à lectures longues ont toutefois été gangrenées par les exigences élevées en matière d'entrées d'ADN, les flux de travail complexes à faible débit et l'extrême variabilité des résultats. Tout ceci a remis en question leur utilité et leur adoption<sup>4-7</sup>.

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 séquençage de nouvelle génération (SNG) standard pour produire des séquences contiguës de lecture longue sur le système NovaSeq<sup>MC</sup> 6000 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 mapper 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) 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 le système NovaSeq 6000 ou la série NovaSeq X et analyse secondaire DRAGEN. Une librairie de séquençage du génome entier (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<sup>a,b,c</sup>

Trousses de réactifs de 300 cycles	Échantillons par Flow Cell	Débit par Flow Cell	Durée de l'analyse
NovaSeq 6000 S4 Reagent	4	Env. 3 Tb	Env. 44 h
NovaSeq X Series 10B Reagent	4	Env. 3 Tb	Env. 24 h
NovaSeq X Series 25B Reagent	10 à 11	Env. 8 Tb	Env. 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 trousseaux 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.

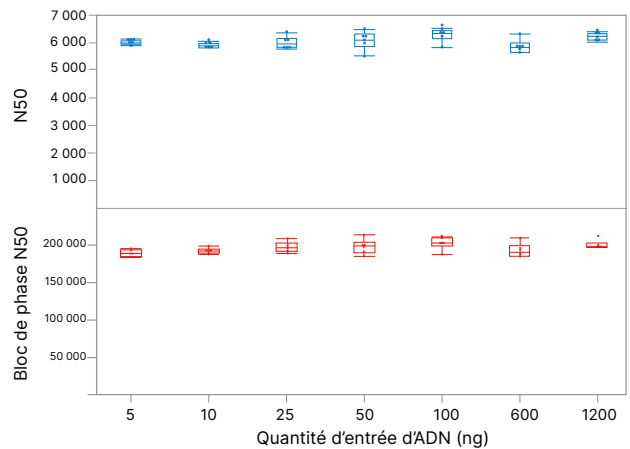


Figure 2: Le test Illumina Complete Long Read produit des résultats cohérents pour l'ensemble des quantités d'entrées d'ADN – des entrées d'ADN de 5 ng à 1 200 ng génèrent une qualité de données similaire pour N50 et le bloc de phase N50. N50 est définie en tant que longueur de séquence du contig le 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.

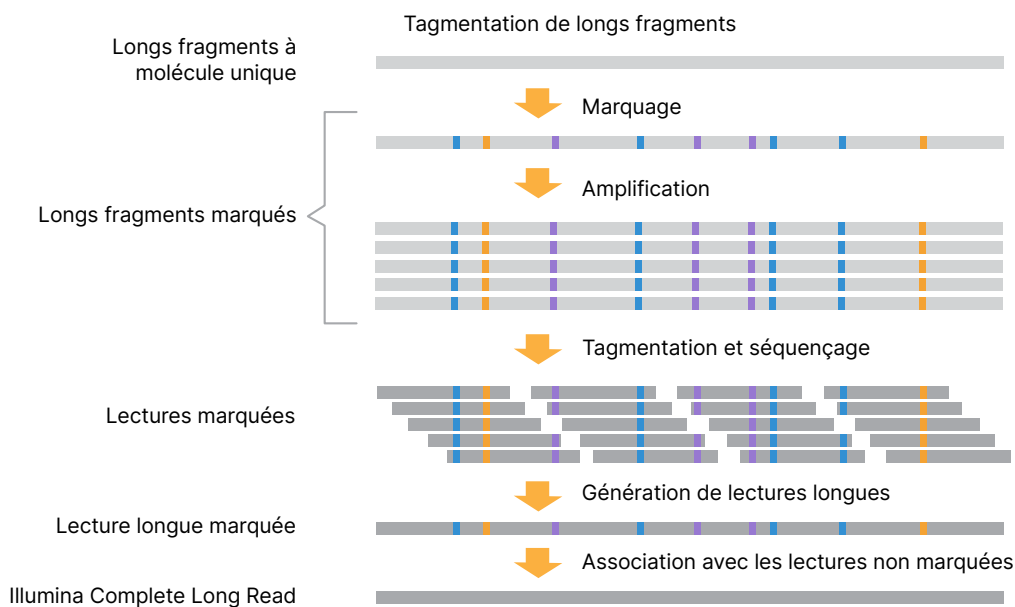


Figure 3: Mode de fonctionnement du test Illumina Complete Long Read – le test utilise la tagmentation<sup>8</sup> pour fabriquer de longs fragments d'ADN (> 10 kb), ce qui permet d'éviter d'avoir à effectuer le cisaillement ou la sélection de la taille. Les longs fragments sont « marqués » à l'échelle 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 (WGS) de très haute précision

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

- L'appel de variants dans les régions complexes, difficiles à mapper avec une homologie élevée ou dans les régions répétitives
- La résolution de variants structurels, 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 DRAGEN<sup>3</sup> (figure 4). Avec les ensembles de données PrecisionFDA Truth Challenge v2, le score F1 reflétant la précision et le rappel pour le séquençage du génome entier (WGS) au moyen du test Illumina Complete Long Read était de 99,87 % (figure 5)<sup>9,10</sup>.

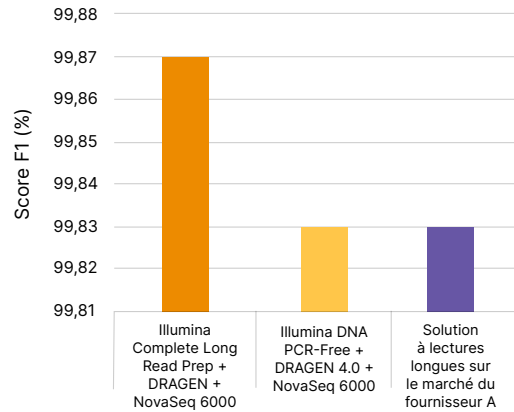


Figure 5: Un nouvel étalon de précision – Illumina Complete Long Read Prep, Human offre une précision sans précédent pour l'appel des variants, qui est mesurée par le score F1 (%), reflétant la précision et le rappel pour le séquençage du génome entier (WGS).

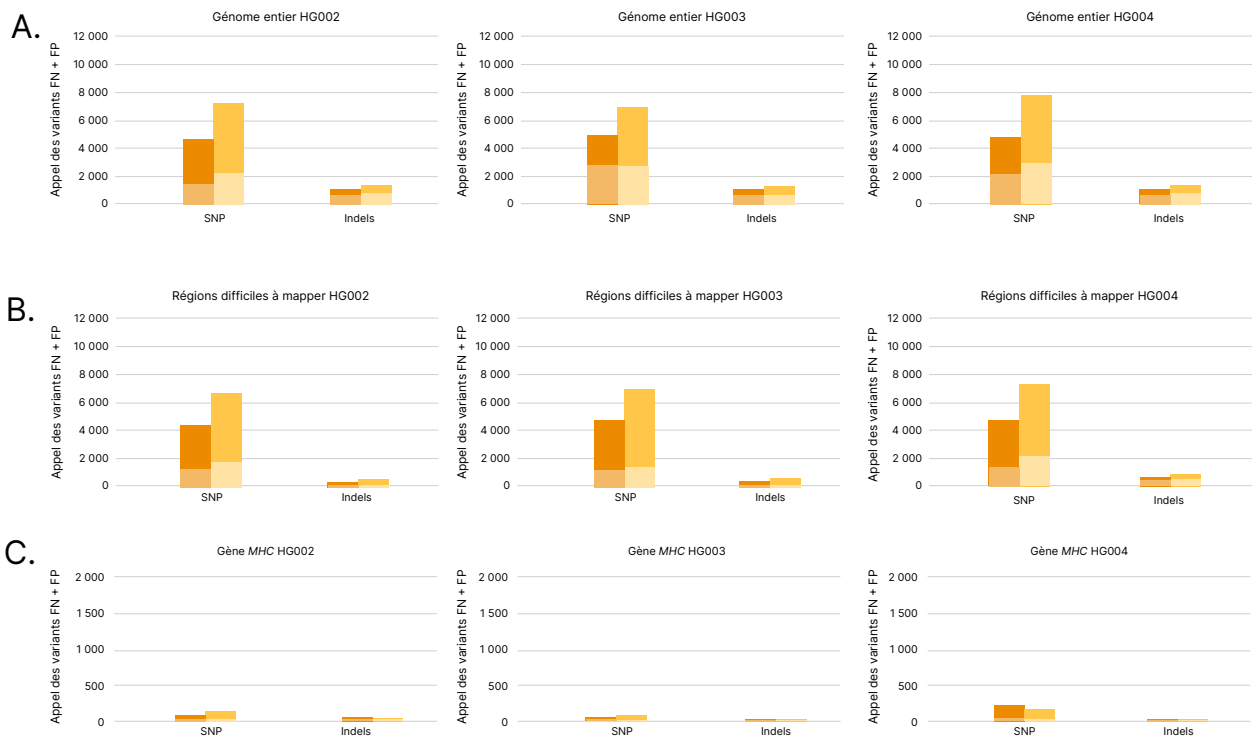


Figure 4: Le test Illumina Complete Long Read effectue un appel des variants extrêmement précis pour les régions géniques complexes – précision de l'appel des variants indels et des polymorphismes mononucléotidiques (Single Nucleotide Polymorphism, SNP) mesurée en tant que faux positifs (FP) et faux négatifs (FN) pour les échantillons de référence humains du projet Genome in a Bottle HG002, HG003 et HG004<sup>11</sup>. Comparaison des données de séquençage du génome entier (WGS) issues du test Illumina Complete Long Read (orange) et de l'Illumina DNA PCR-Free Prep (jaune) sur (A) le génome entier, (B) les régions difficiles à mapper et (C) le gène *MHC*.

## 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 8 heures (dont 4 heures de manipulation), requiert uniquement l'équipement de laboratoire standard et est facile à automatiser. Avec le système NovaSeq X Plus, les utilisateurs peuvent générer jusqu'à 3 000 génomes de haute précision par an.\* Illumina Complete Long Read 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 rend le séquençage du génome entier (WGS) complet facilement accessible aux 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 séquençage par synthèse (SBS) éprouvée d'Illumina et l'analyse DRAGEN génère le génome entier le plus précis et le plus évolutif du marché. L'offre de produits futurs élargira l'utilité d'Illumina Complete Long Read.

## En savoir plus

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

[Technologie de séquençage à lecture longue](#)

## 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. [illumina.com/science/genomics-research/dragen-wins-precisionfda-challenge-showcase-accuracy-gains.html](https://www.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](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). 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](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). 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](https://www.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](https://www.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](https://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](https://www.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](https://www.illumina.com/techniques/sequencing/ngs-library-prep/tagmentation.html). Accessed January 12, 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](https://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](https://www.nist.gov/programs-projects/genome-bottle). Accessed January 12, 2023.

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

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 Complete Long Read WGS App	20100421



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

© 2023 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](http://www.illumina.com/company/legal.html).  
M-GL-01420 FRA v1.1