

TruPath™ Genome 在不同样本类型和 样本质量中的性能 表现

兼容多种样本类型，包括血液、分离细胞、唾液、干血斑和口腔拭子

从多种质量水平的样本中获得高质量结果，包括采用标准及高分子量提取试剂盒获得的DNA样本

性能稳定，DNA起始量为175–550 ng

简介

短读长测序为开展高精度的全基因组测序（WGS）提供了一种灵活可靠的方法。然而，人类基因组仍有一小部分难以比对定位（例如，具有高序列同源性或重复序列的区域以及一些变异类型，如结构变异[例如，倒位、易位、插入和缺失以及复杂重排]）。长读长测序方法可以帮助分辨这些区域和变异类型，但受限于对高DNA起始量的需求、严格的起始质量要求、复杂的工作流程以及结果稳定性不足等问题¹⁻⁴。

Illumina TruPath Genome彻底革新了下一代测序（NGS）工作流程，以开创性的简便性提供全面的全基因组测序。依托邻位映射读取技术，TruPath Genome采用高度简化的流程，省去了传统的文库制备步骤，从纯化到上机测序仅需约10分钟即可完成（图1）。

除了颠覆WGS流程范式之外，TruPath Genome还借助先进的生物信息学手段，将高精度短读长数据与流动槽上DNA模版的纳米孔邻近位置信息相结合。这种邻近位置信息可帮助研究人员获得长达相隔数百万个碱基的长距离基因组信息。将这些长距离信息与短读长测序的优势相结合，使TruPath Genome能够实现更全面的基因组解析。

本技术说明展示了TruPath Genome极强的稳健性，可解析以往难以比对的基因组区域，并可针对不同样本类型、不同DNA质量及不同DNA投入量，实现全面的变异检测。



样本类型测试

方法

样本

我们采用了多种样本类型评估TruPath Genome的性能，包括血液、分离细胞、唾液、口腔拭子及干血斑（表1）。DNA提取采用多种纯化方法（例如，二氧化硅离心柱、磁珠、乙醇沉淀法）进行，包括高分子量（HMW）提取和标准提取方法（表2）。

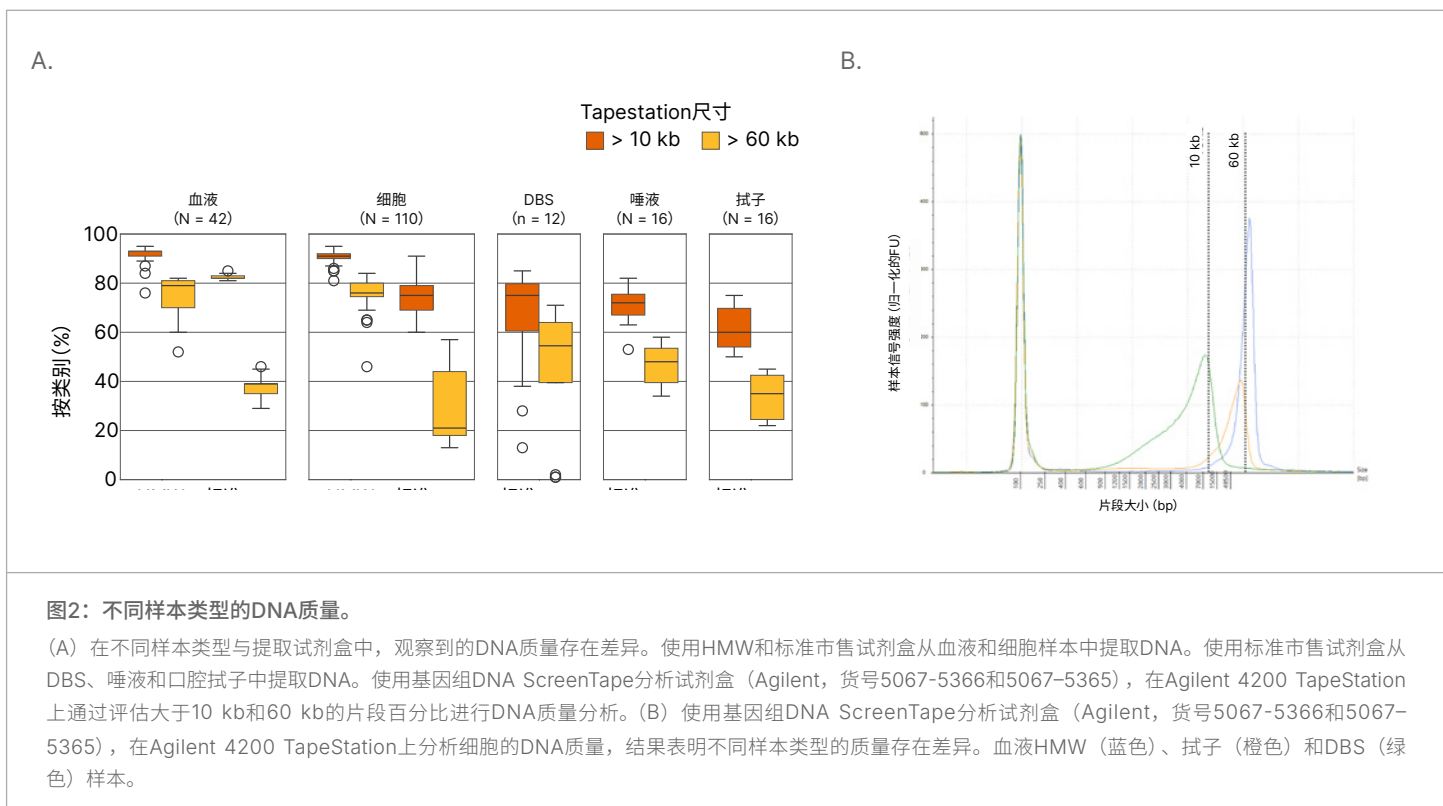
DNA量采用Qubit dsDNA高灵敏度测定法在Qubit 4荧光计（Thermo Fisher Scientific，货号Q32851）上测量。DNA质量通过4200 TapeStation系统（Agilent，货号G2991BA）进行评估（图2）。

表1: TruPath Genome检测所使用的样本

| 样本类型 | 来源 |
|------|---|
| 全血 | 储存在K ₂ EDTA中的健康供体血液样本购自Research Donors（英国伦敦） |
| 细胞沉淀 | 从科里尔医学研究所订购的类淋巴母细胞或成纤维细胞系的多种培养物 HMW和标准DNA样本，包括来自Genome in a Bottle Consortium（GIAB）的参比样本HG001、HG002、HG003、HG004、HG005、HG006和HG007（科里尔医学研究所；美国新泽西州） |
| 唾液 | 健康供体的唾液样本购自Research Donors（英国伦敦） |
| 口腔拭子 | 健康供体的口腔拭子样本购自Research Donors（英国伦敦） |
| DBS | 在Whatman 903蛋白保存卡上，使用来自Research Donors（英国伦敦）的50 μL < 3天的K ₂ EDTA全血制备DBS |

表2: 用于TruPath Genome检测的DNA提取试剂盒

| 样本类型: 采集方法 | 提取试剂盒 |
|--|--|
| 血液: K ₂ EDTA | Monarch HMW DNA提取试剂盒（适用于细胞和血液）（NEB，货号T3050S） |
| | Wizard HMW DNA提取试剂盒（Promega，货号A2920） |
| | MagAttract HMW DNA试剂盒（48）（Qiagen，货号67563） |
| | chemagic DNA通用试剂盒H96（Revvity，货号CMG-718） |
| | Mag-Bind血液和组织DNA HDQ 96试剂盒（OmegaBiotek，货号M6399） |
| 细胞: 干燥沉淀 | Monarch HMW DNA提取试剂盒（适用于细胞和血液）（NEB，货号T3050S） |
| | QIAamp DNA血液迷你试剂盒（50）（Qiagen，货号51104） |
| DBS: Whatman 903 | chemagic DNA通用试剂盒H96（Revvity，货号CMG-718） |
| | sparQ裂解试剂盒（Quantabio，货号95220） |
| | MagMAX DNA多样本Ultra 2.0试剂盒（Thermo Fisher Scientific，货号A36570） |
| 唾液: GFX-02 | chemagic DNA通用试剂盒H96（Revvity，货号CMG-718） |
| | GeneFix Saliva-Prep 2 DNA分离试剂盒（Isohelix，货号GSPN） |
| 唾液: OGD-600 | preplT•L2P DNA提取试剂（DNA Genotek，货号PT-L2P） |
| | chemagic DNA通用试剂盒H96（Revvity，货号CMG-718） |
| | MagMAX唾液gDNA分离试剂盒（Thermo Fisher Scientific，货号A39059） |
| 拭子: OCR-100 | preplT•L2P DNA提取试剂（DNA Genotek，货号PT-L2P） |
| | chemagic DNA通用试剂盒H96（Revvity，货号CMG-718） |
| Whatman 903，蛋白保存卡（Millipore Sigma，货号WHA10534612）；GFX-02，GeneFix唾液DNA/RNA收集器GFX-02（Isohelix，货号GFX-02）；Oragene•Dx唾液采集装置（DNA Genotek，货号OGD-600）；OCR100，ORAcollct•DNA（DNA Genotek，货号OCR-100） | |



运行设置和测序

根据制造商的说明书，将DNA连同TruPath Genome试剂 (Illumina, 货号20157406) 一起添加到样本文库联管中。标准起始量为350 ng DNA，但DBS样本使用了全部提取产物。最小DNA起始量为175 ng。根据用户手册，将文库联管、TruPath Genome试剂和NovaSeq™ X C8流动槽上样至NovaSeq™ X Plus测序仪 (Illumina, 货号20084804) 进行测序。

数据分析

测序完成后，使用DRAGEN™ Germline分析流程将短读长测序数据与纳米孔邻近位置信息进行整合。使用GRCh38参考基因组，基于定相read进行变异检测。

结果

TruPath Genome可从不同质量的样本中获得高质量结果

使用TruPath Genome获得的标准全基因组指标 (包括常染色体覆盖度和碱基识别准确率) 不受DNA质量的影响，并且在所有样本类型中均可表现出稳健的性能 (图3)。常染色体平均覆盖度约为64X，平均Q30为92%。对于一些唾液和拭子样本，覆盖度的降低是由于样本中自然存在细菌read，这会降低人类基因组比对的read百分比。

DNA样本质量与TruPath Genome邻近度指标密切相关 (图4)。对于大多数样本类型，超过10 kb的DNA片段百分比是邻近率性能的强有力预测因子，超过10 kb的片段百分比越高，Q25邻近率越高 (即至少有一个其他read非常接近且质量分值高于Q25的read的百分比)。

* 邻近质量分值是Phred标度的似然值，表示来自基因组同一区域的两条read偶然落在同一流动槽领域内，通过DRAGEN邻近模型计算而得。邻近质量分值越高表示两个在基因组与流动槽空间上均邻近的read源于同一起始DNA分子的可信度越高。

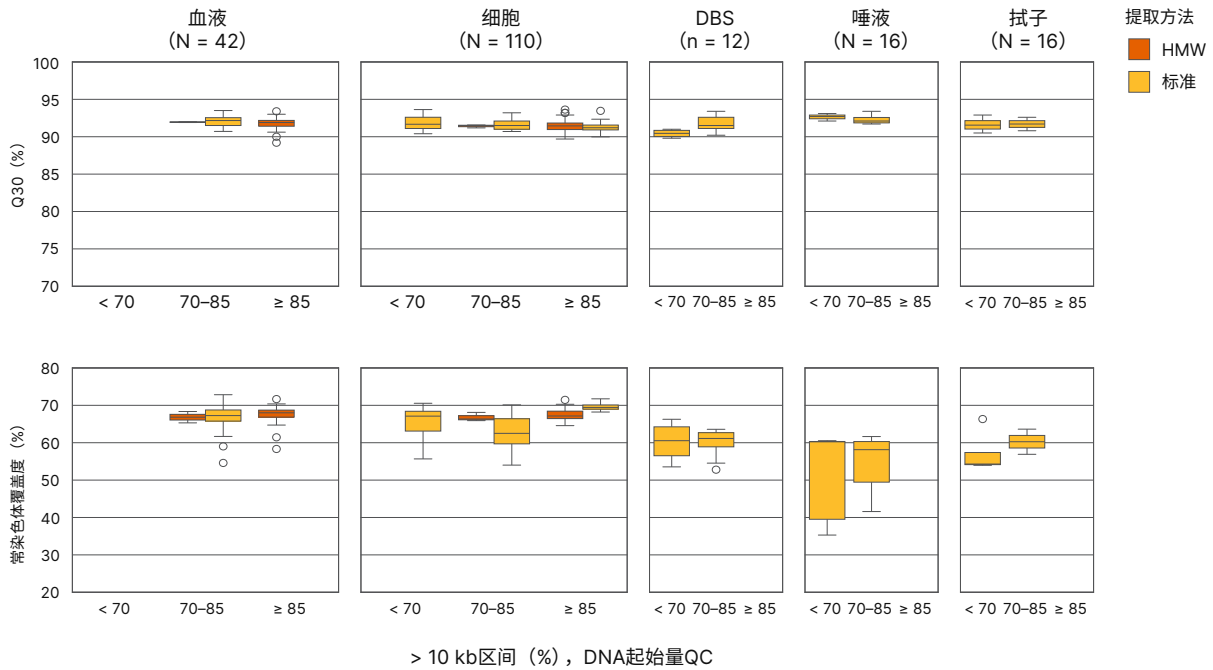


图3: 在不同样本类型中, 常染色体覆盖度和平均Q30百分比不受DNA质量的影响

使用HMW和标准方法从血液和细胞中提取DNA。使用标准方法从DBS、唾液和口腔拭子中提取DNA。无论采用何种DNA纯化方法, 所有样本在覆盖度和质量分值方面均表现优异。在Agilent 4200 TapeStation上通过区域分析法测量DNA完整性, 片段 > 10 kb的百分占比沿X轴分组显示。

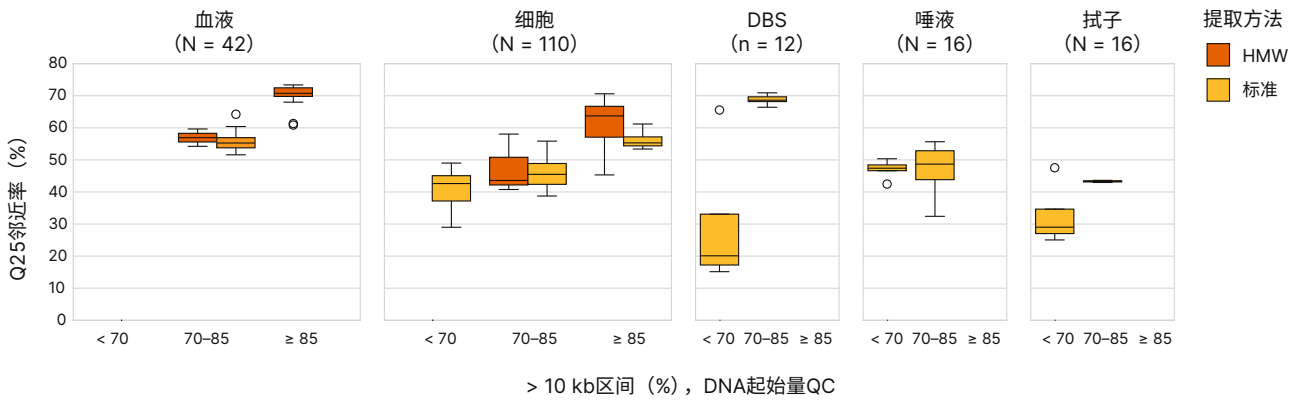


图4: DNA质量对Q25邻近率的影响

使用HMW和标准方法从血液和细胞中提取DNA。使用标准方法从DBS、唾液和口腔拭子中提取DNA。Q25邻近率与DNA质量密切相关, 特别是在Agilent 4200 TapeStation上测量并沿X轴分组的 > 10 kb的DNA片段百分比。

TruPath Genome支持定相测序

存在较大的DNA片段是预测定相性能的有力指标——超过60 kb的DNA片段百分比越高，相区块NG50[†]的尺寸越大，小变异检出性能越高。TruPath Genome可用于研究全长DNA模板，非常适用于人类基因组定相研究（图5）。

TruPath Genome在高质量、新鲜样本中表现更佳

为了评估样本存放时间对TruPath Genome性能的影响，研究人员在两个特定时间点从血液和DBS样本中提取了DNA。对于血液样本，DNA提取分别在采血后三天内及4 °C储存七天后进行。DBS样本在室温下储存一个月或一年。

[†]相区块NG50指当目标区域（如基因组）的50%完成定相时，对应的相区块长度。

对于血液和DBS样本，定相区块NG50的尺寸随超过60 kb的DNA片段百分比而变化（图6）。与新鲜样本相比，存放时间较长样本的两个指标均较低。对于血液样本，使用HMW法提取DNA时，即使在采血一周后提取DNA，仍可获得超过40%的>60 kb的片段。

TruPath Genome在一系列DNA起始量范围内均表现稳定

研究评估了TruPath Genome在不同DNA起始量下的检测性能，包括：175、200、350、550 ng。使用175 ng起始量获得的测序结果显示，在标准全基因组指标（如常染色体覆盖度、Q30以上百分比）及邻近指标（如Q25邻近率、定相区块NG50）上均表现出高质量。尽管推荐起始量为350 ng，更低的起始量也可使用（图7）。

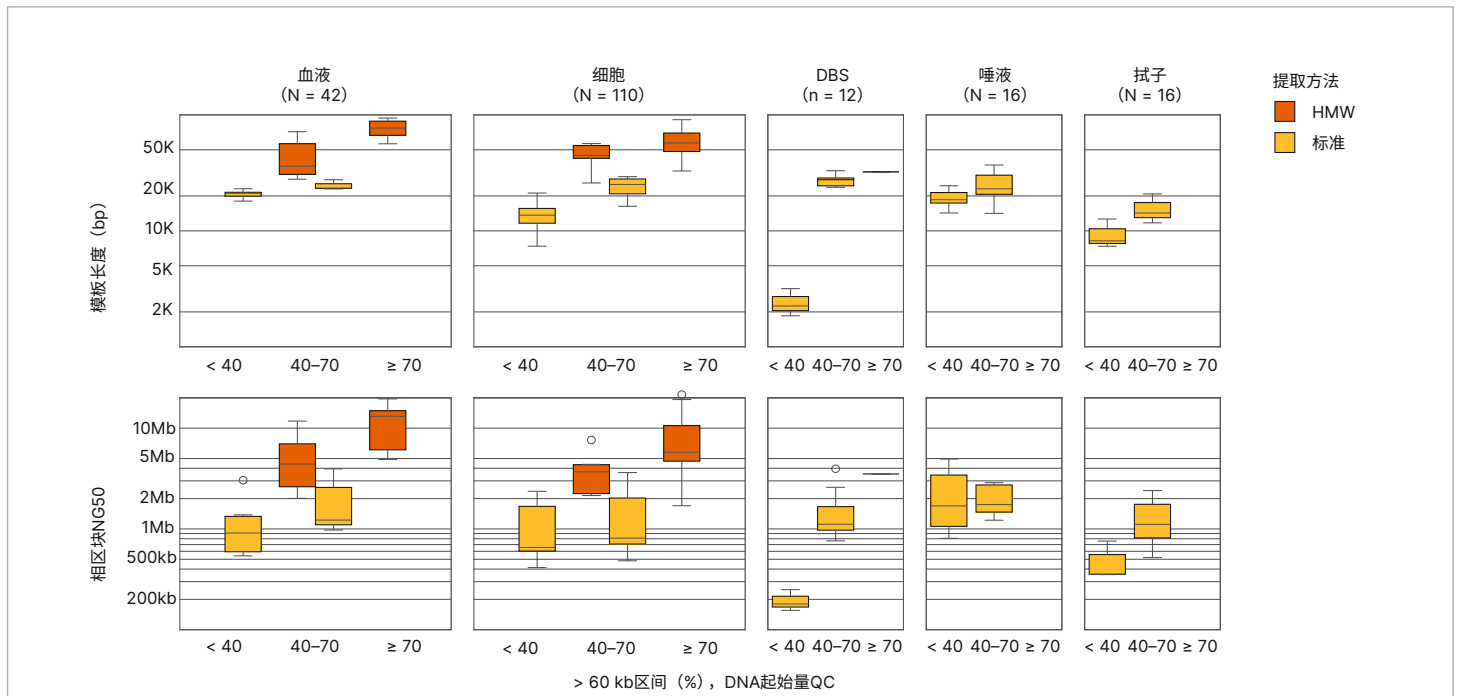


图5：不同样本类型下TruPath Genome均表现出高度稳定的定相性能

使用HMW和标准方法从血液和细胞中提取DNA。使用标准方法从DBS、唾液和口腔拭子中提取DNA。在Agilent 4200 TapeStation上通过区域分析法测量DNA完整性，片段> 60 kb的百分比沿X轴分组显示。Y轴上的模板长度表示第75百分位数的模板分子大小。DNA质量提高（表现为> 60 kb的片段百分比增大）与模板长度及定相区块NG50的增加呈正相关。

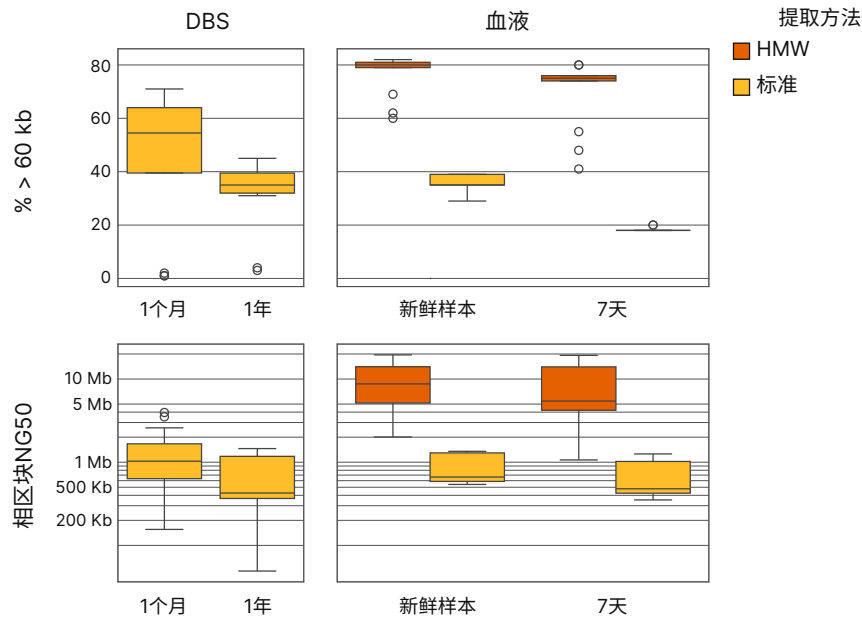


图6：血液样本存放时间对DNA质量和定相区块NG50的影响

血液样本在4 °C下储存< 3天（新鲜）或7天。DBS样本在室温下储存< 30天或约1年。使用HMW和标准方法从血液中提取DNA。使用标准方法从DBS样本中提取DNA。主要样本储存时间对DNA质量（> 60 kb的片段百分占比）和定相区块NG50的影响。使用Agilent 4200 TapeStation上ScreenTape分析中的基因组DNA测量> 60 kb片段的百分比。对于这两种样本类型，高于60 kb的片段百分比和定相区块NG50大小在提取前储存时间较长的样本中较低。

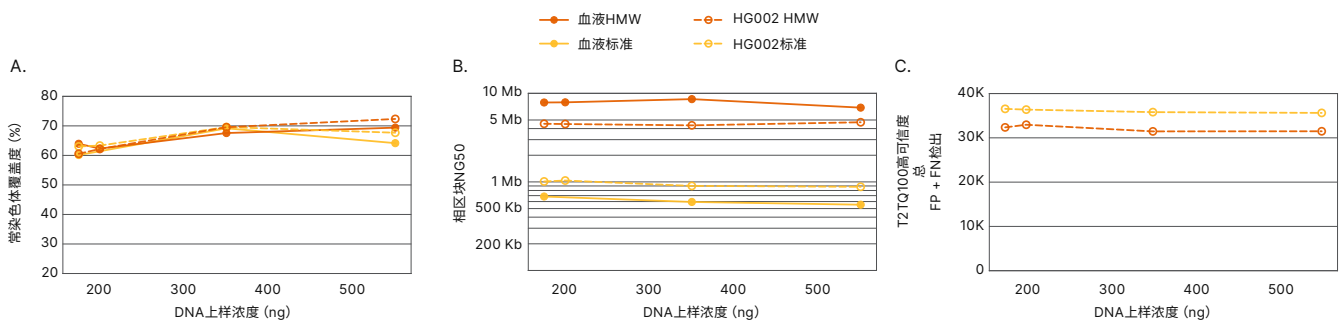


图7：TruPath Genome在一系列起始量条件下均表现优异

分别使用175、200、350和550 ng起始量制备的TruPath Genome测序结果在标准全基因组和TruPath Genome邻近度指标方面产生了相似的数据质量；包括（A）常染色体覆盖度，（B）定相区块NG50，以及（C）小变异检出性能（总FP+FN检出）。使用HMW和标准方法从血液和细胞中提取DNA。以T2T-Q100 V1.1 V0.019真实集为基准，对小变异检出性能（SNP + 插入缺失）进行了基准测试。

总结

TruPath Genome采用邻位映射读取技术，以前所未见的简便性提供了全面的全基因组测序解决方案。其独特流程将短读长测序的优势与流动槽上的邻近位置信息相结合，从而实现更深入见解。本技术说明展示了TruPath Genome在不同类型、数量、质量和储存条件的样本均表现出高质量、稳定可靠的性能。

参考文献

1. Pacific Biosciences. Preparing DNA for PacBio HiFi sequencing—Extraction and quality control. pacb.com/wp-content/uploads/Technical-Note-Preparing-DNA-forPacBio-HiFi-Sequencing-Extraction-and-Quality-Control.pdf. Published 2022. Accessed December 8, 2025.
2. Pacific Biosciences. Preparing whole genome and metagenome libraries using SMRTbell prep kit 3.0. pacb.com/wp-content/uploads/Procedure-checklist-Preparing-whole-genomeand-metagenome-libraries-using-SMRTbell-prep-kit-3.0.pdf. Published 2022. Accessed December 8, 2025.
3. Oxford Nanopore Technologies. Ligation Sequencing Kit. store.nanoporetech.com/us/ligation-sequencing-kit-v14.html. Accessed December 8, 2025.
4. Pacific Biosciences. Low Yield Troubleshooting Guide. pacb.com/wp-content/uploads/Guide-Low-Yield-Troubleshooting.pdf. Published 2018. Accessed December 8, 2025.
5. Illumina. TruPath Genome data sheet. [URL待定]. Published February 2026. Accessed February XX, 2026.

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) 8441-6900 • 传真 (010) 8455-4855
技术支持热线 400-066-5835 • chinasupport@illumina.com
市场销售热线 400-066-5875 • china_info@illumina.com • www.illumina.com.cn

© 2026 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.cn/company/legal.html。
M-GL-03932 v1.0



因美纳企业动态



因美纳讲堂



因美纳中国官方商城

illumina[®]