

Performances de TruPath^{MC} Genome avec des échantillons de types et de qualités variés

Compatible avec différents types d'échantillons, y compris le sang, les cellules isolées, la salive, les taches de sang séché et les prélèvements buccaux

Résultats de haute qualité obtenus à partir de différentes qualités d'échantillons, y compris l'ADN issu de trousse d'extraction standards et de trousse d'extraction de poids moléculaire élevé

Performance robuste avec des quantités d'ADN d'entrée comprises entre 175 ng et 550 ng

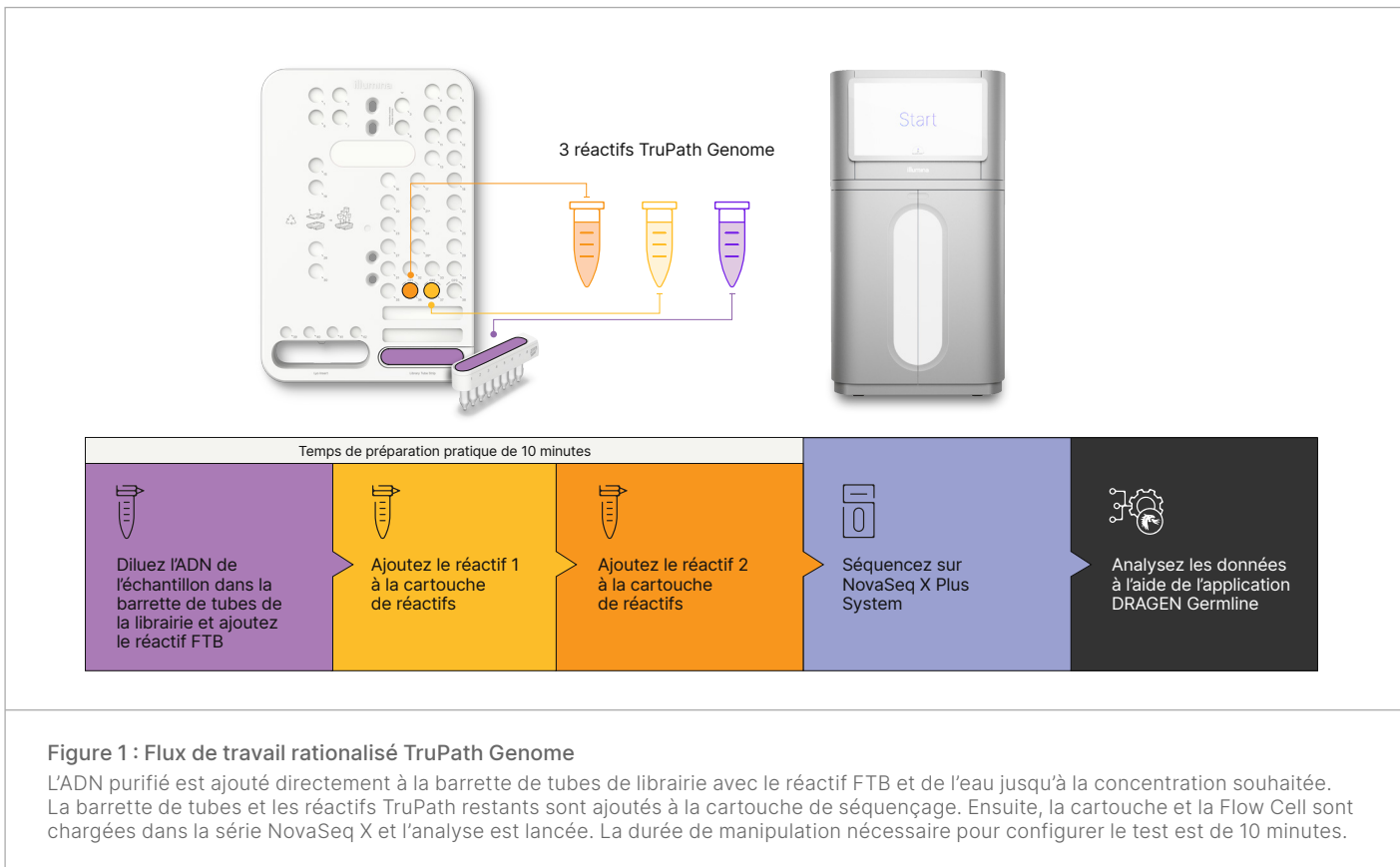
Introduction

Le séquençage à lectures courtes offre une méthode flexible et fiable pour réaliser un séquençage du génome entier (WGS) à haute précision. Cependant, une petite proportion du génome humain reste difficile à cartographier (par ex., des régions présentant une forte homologie de séquence ou des séquences répétitives, ainsi que certains types de variants tels que les variants structurels, par ex., inversions, translocations, insertions et suppressions, et réarrangements complexes). Les méthodes de séquençage à longues lectures peuvent aider à résoudre ces régions et types de variants, mais elles sont limitées par la nécessité de grandes quantités d'entrée d'ADN, des exigences strictes de qualité d'entrée, des flux de travail complexes et des résultats variables¹⁻⁴.

Illumina TruPath Genome révolutionne le flux de travail du séquençage de nouvelle génération (SNG), offrant un séquençage complet du génome avec une simplicité sans précédent⁵. Propulsé par la technologie de lecture à cartographie de proximité, TruPath Genome utilise un flux de travail très simplifié qui supprime pratiquement l'étape traditionnelle de préparation de librairie et fournit un flux de travail rationalisé qui permet de passer de l'ADN purifié au chargement du système de séquençage en environ 10 minutes ([figure 1](#)).

En plus de changer le paradigme du flux de travail du WGS, TruPath Genome utilise une informatique avancée pour combiner des données de lectures courtes à haute précision avec les renseignements de proximité des nanopuits provenant des modèles d'ADN sur la Flow Cell. Ces renseignements de proximité permettent aux laboratoires de générer des données génomiques sur de longues distances pour des séquences séparées par des millions de bases. En combinant ces données génomiques sur de longues distances avec les avantages du séquençage à lectures courtes, TruPath Genome permet de rendre accessibles des génomes complets.

Cette note technique démontre les capacités très robustes de TruPath Genome à résoudre des régions du génome auparavant difficiles à cartographier et à effectuer une détection complète des variants, quel que soit le type d'échantillon, la qualité de l'ADN ou la quantité d'ADN d'entrée.



Test des types d'échantillons

Méthodes

Échantillons

Une variété de types d'échantillons, incluant le sang, les cellules isolées, la salive, les prélèvements buccaux et les taches de sang séché (DBS, Dry Blood Spots), a été utilisée pour évaluer les performances de TruPath Genome (tableau 1). L'extraction d'ADN a été réalisée à l'aide de plusieurs méthodes de purification (par ex., colonnes à silice, billes magnétiques, précipitation alcoolique) et comprenait des méthodes d'extraction standard ainsi que des méthodes pour obtenir de l'ADN de poids moléculaire élevé (HMW, High Molecular Weight) (tableau 2).

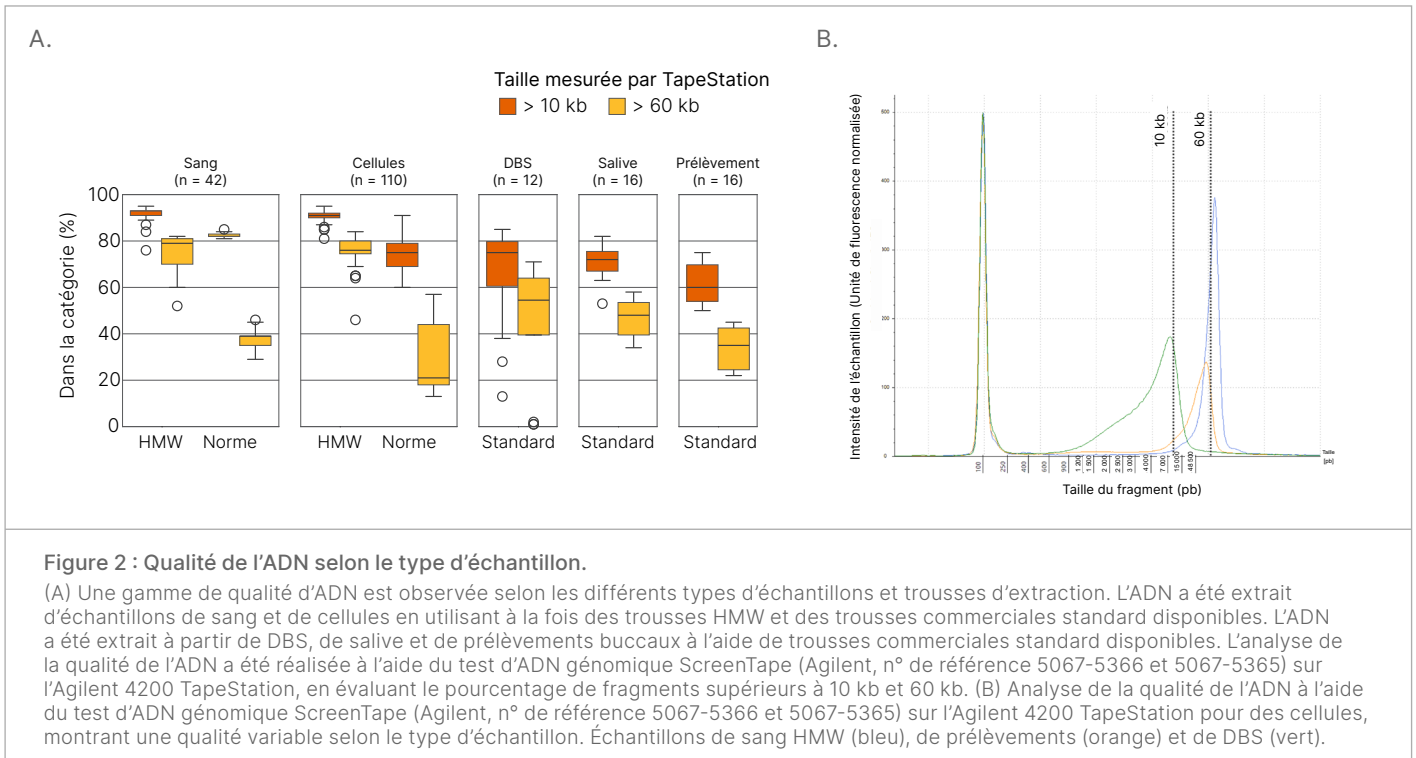
La quantité d'ADN a été mesurée à l'aide du test Qubit dsDNA High Sensitivity sur le fluorimètre Qubit 4 (Thermo Fisher Scientific, n° de référence Q32851). La qualité de l'ADN a été évaluée à l'aide de 4200 TapeStation System (Agilent, n° de référence G2991BA) (figure 2).

Tableau 1 : Échantillons utilisés dans le test TruPath Genome

| Type d'échantillon | Source |
|----------------------|--|
| Sang total | Des échantillons de sang conservés dans K ₂ EDTA provenant de donneurs sains ont été achetés auprès de Research Donors (Londres, Royaume-Uni) |
| Culots de cellules | Plusieurs cultures de lignées cellulaires lymphoblastoïdes ou fibroblastes ont été commandées auprès du Coriell Institute for Medical Research Des échantillons d'ADN HMW et standard, incluant les échantillons de référence du Genome in a Bottle Consortium (GIAB) HG001, HG002, HG003, HG004, HG005, HG006 et HG007 (Coriell Institute for Medical Research; NJ, États-Unis). |
| Salive | Des échantillons de salive provenant de donneurs sains ont été achetés auprès de Research Donors (Londres, Royaume-Uni) |
| Prélèvements buccaux | Des échantillons de prélèvements buccaux provenant de donneurs sains ont été achetés auprès de Research Donors (Londres, Royaume-Uni) |
| DBS | Les DBS ont été préparés sur Whatman 903 Protein Saver Cards à l'aide de 50 µl de sang total K ₂ EDTA de moins de 3 jours provenant de Research Donors (Londres, Royaume-Uni) |

Tableau 2 : Trousses d'extraction d'ADN utilisés dans le test TruPath Genome

| Type d'échantillon : méthode de prélèvement | Trousses d'extraction |
|---|--|
| Sang : K ₂ EDTA | Monarch HMW DNA Extraction Kit for Cells & Blood (NEB, n° de référence T3050S) |
| | Wizard HMW DNA Extraction Kit (Promega, n° de référence A2920) |
| | MagAttract HMW DNA Kit (48) (Qiagen, n° de référence 67563) |
| | chemagic DNA Universal Kit H96 (Revvity, n° de référence CMG-718) |
| | Mag-Bind Blood & Tissue DNA HDQ 96 Kit (OmegaBiotek, n° de référence M6399) |
| | QIAamp DNA Blood Mini Kit (50) (Qiagen, n° de référence 51104) |
| Cellules : culot sec | Monarch HMW DNA Extraction Kit for Cells & Blood (NEB, n° de référence T3050S) |
| | QIAamp DNA Blood Mini Kit (50) (Qiagen, n° de référence 51104) |
| DBS : Whatman 903 | chemagic DNA Universal Kit H96 (Revvity, n° de référence CMG-718) |
| | sparQ Lysis Kit (Quantabio, n° de référence 95220) |
| | MagMAX DNA Multi-Sample Ultra 2.0 Kit (Thermo Fisher Scientific, n° de référence A36570) |
| Salive : GFX-02 | GeneFix Saliva-Prep 2 DNA Isolation Kit (Isohelix, n° de référence GSPN) |
| | chemagic DNA Universal Kit H96 (Revvity, n° de référence CMG-718) |
| Salive : OGD-600 | prepIT•L2P DNA extraction reagent (DNAGenotek, n° de référence PT-L2P) |
| | chemagic DNA Universal Kit H96 (Revvity, n° de référence CMG-718) |
| | MagMAX Saliva gDNA Isolation Kit (Thermo Fisher Scientific, n° de référence A39059) |
| Prélèvements : OCR-100 | prepIT•L2P DNA extraction reagent (DNAGenotek, n° de référence PT-L2P) |
| | chemagic DNA Universal Kit H96 (Revvity, n° de référence CMG-718) |
| Whatman 903, Protein saver cards (Millipore Sigma, n° de référence WHA10534612); GFX-02, GeneFix Saliva DNA/RNA Collector GFX-02 (Isohelix, n° de référence GFX-02); Oragene•Dx saliva collection device (DNA Genotek, n° de référence OGD-600); OCR100, ORACollect•DNA (DNAGenotek, n° de référence OCR-100) | |



Configuration et séquençage de l'analyse

L'ADN a été ajouté à une barrette de tubes de librairie d'échantillons avec les réactifs TruPath Genome (Illumina, n° de référence 20157406) conformément aux instructions du fabricant. La quantité standard d'entrée était de 350 ng d'ADN; toutefois, pour les échantillons DBS, la totalité de l'ADN extrait a été utilisée. La quantité minimale d'ADN d'entrée était de 175 ng. La barrette de tubes de librairie, les réactifs TruPath Genome et une Flow Cell NovaSeq^{MC} X C8 ont été chargés sur NovaSeq X Plus System (Illumina, n° de référence 20084804) pour le séquençage, conformément au manuel d'utilisation.

Analyse

Après le séquençage, le pipeline DRAGEN^{MC} Germline a été utilisé pour combiner les données de séquençage à lectures courtes avec les renseignements de proximité des nanopuits. Le génome de référence GRCh38 a été utilisé pour l'appel des variants à partir des lectures mises en phase.

Résultats

TruPath Genome fournit des résultats de haute qualité à partir d'échantillons de qualité variable

Les indicateurs standard du génome entier, incluant la couverture autosomique et l'exactitude de la définition des bases, obtenues avec TruPath Genome n'ont pas été affectées par la qualité de l'ADN, et des performances robustes ont été observées pour tous les types d'échantillons (figure 3). La couverture autosomique moyenne était d'environ 64× et le Q30 moyen était de 92 %. Pour certains échantillons de salive et de prélèvements, la diminution de la couverture était due à la présence naturelle de lectures bactériennes dans les échantillons, ce qui a réduit le pourcentage de lectures cartographiées sur le génome humain.

La qualité des échantillons d'ADN était fortement associée aux indicateurs de proximité TruPath Genome (figure 4). Pour la plupart des types d'échantillons, le pourcentage de fragments d'ADN supérieurs à 10 kb était un fort indicateur de la performance du taux de proximité, un pourcentage plus élevé de fragments > 10 kb produisant un taux de proximité Q25 plus élevé (c'est-à-dire le pourcentage de lectures ayant au moins une autre lecture à proximité avec un score de qualité qui était supérieur à Q25*).

* Le score de qualité de proximité correspond à la probabilité, de l'échelle Phred, que deux lectures provenant de la même région du génome se retrouvent par hasard dans le même voisinage sur la Flow Cell, laquelle est calculée par le modèle de proximité DRAGEN. Un score de qualité de proximité plus élevé indique une plus grande confiance que deux lectures proches dans le génome et sur la Flow Cell proviennent de la même molécule d'ADN d'entrée.

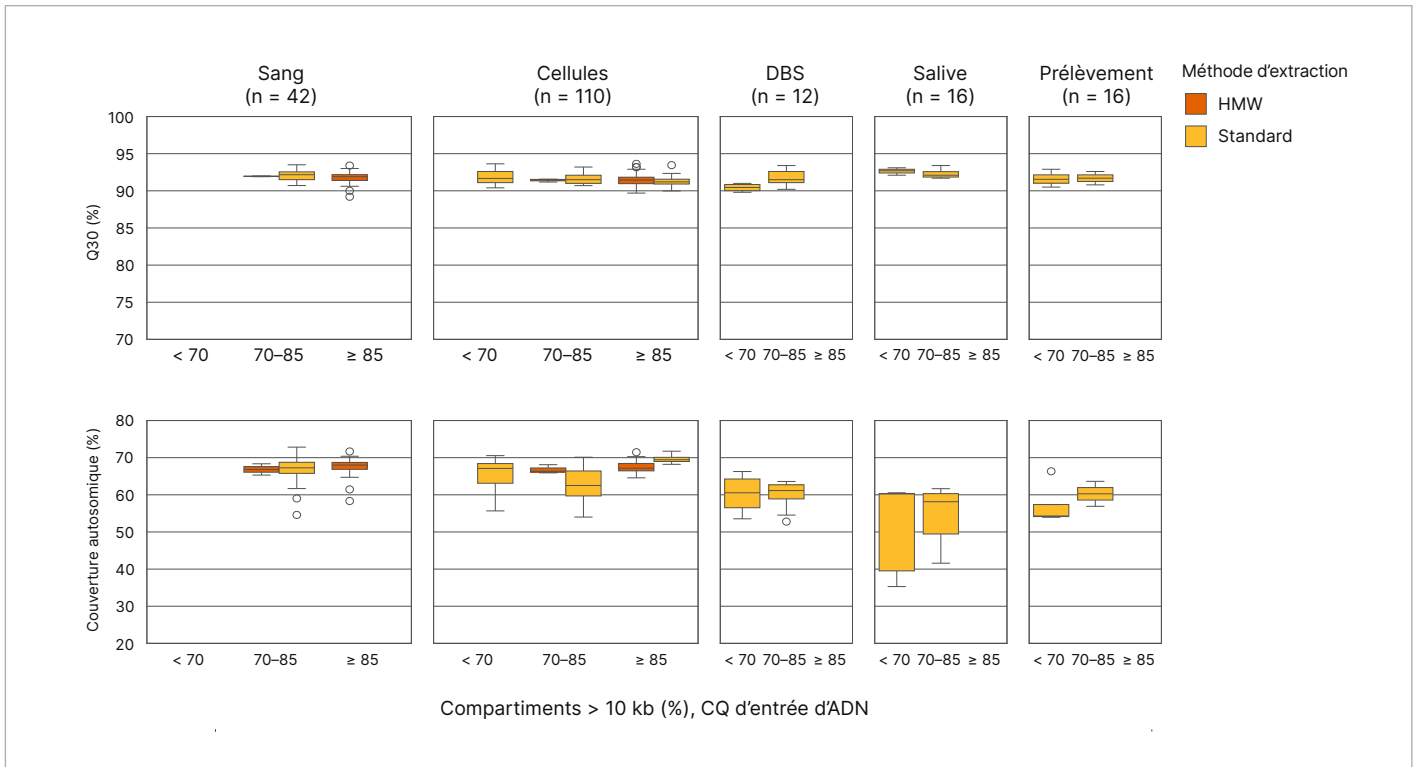


Figure 3 : La couverture autosomique et le pourcentage moyen de Q30 ne sont pas affectés par la qualité de l'ADN selon les différents types d'échantillons

L'ADN a été extrait du sang et des cellules en utilisant des méthodes HMW et standard. L'ADN a été extrait à partir de DBS, de salive et de prélèvements buccaux à l'aide de méthodes standard. Une performance élevée en termes de couverture et de scores de qualité a été observée pour tous les échantillons, quel que soit le mode de purification de l'ADN. L'intégrité de l'ADN a été évaluée sur l'Agilent 4200 TapeStation à l'aide d'une analyse régionale, le pourcentage de fragments supérieurs à 10 kb étant compartimenté le long de l'axe X.

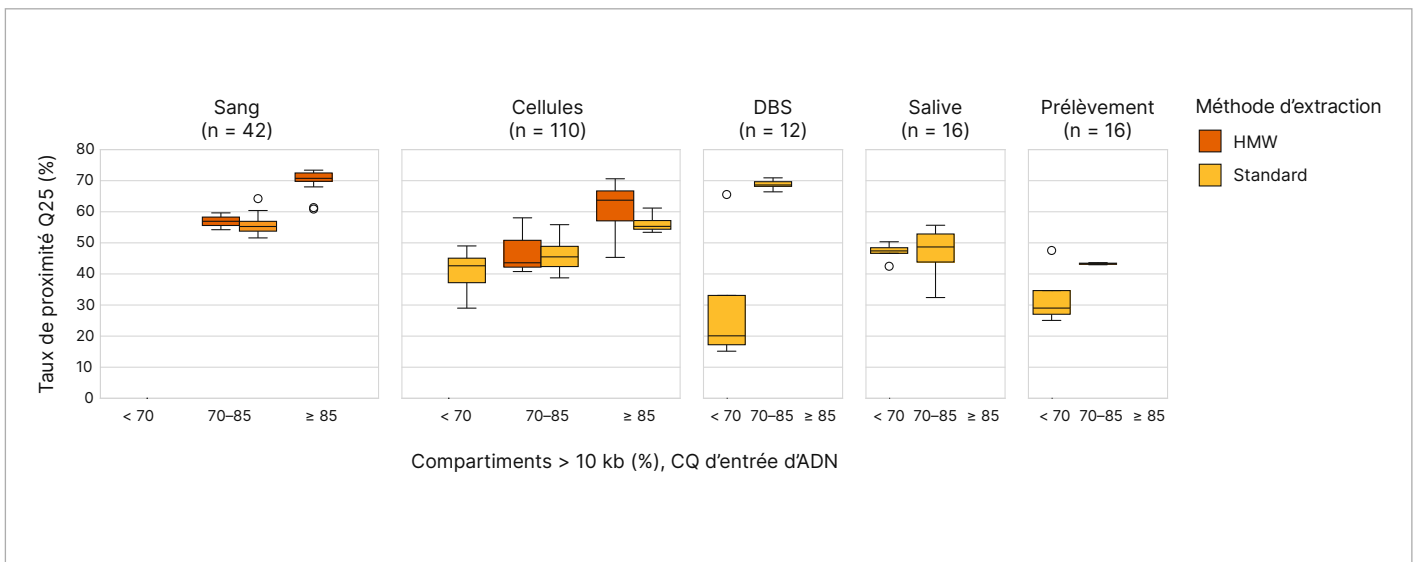


Figure 4 : Impact de la qualité de l'ADN sur le taux de proximité Q25

L'ADN a été extrait du sang et des cellules en utilisant des méthodes HMW et standard. L'ADN a été extrait à partir de DBS, de salive et de prélèvements buccaux à l'aide de méthodes standard. Les taux de proximité Q25 sont fortement associés à la qualité de l'ADN, en particulier au pourcentage de fragments d'ADN supérieurs à 10 kb mesuré sur l'Agilent 4200 TapeStation et compartimenté le long de l'axe X.

TruPath Genome prend en charge le séquençage mis en phase

La présence de fragments d'ADN plus grands est un fort indicateur de performance de la mise en phase : plus le pourcentage de fragments d'ADN supérieurs à 60 kb est élevé, plus la taille du bloc de mise en phase NG50 est grande[†] et meilleures sont les performances d'appel des petits variants. TruPath Genome permet l'étude de modèles d'ADN pleine longueur, ce qui le rend particulièrement adapté aux études de mise en phase du génome humain (figure 5).

TruPath Genome donne les meilleurs résultats avec des échantillons frais et de haute qualité

Pour évaluer l'impact de l'âge des échantillons sur les performances de TruPath Genome, l'ADN a été extrait d'échantillons de sang et de DBS à deux moments précis. Pour les échantillons sanguins, l'ADN a été extrait dans les trois jours suivant la collecte et après sept jours de stockage à 4 °C. Les échantillons DBS ont été stockés soit pendant un mois, soit pendant un an à température ambiante.

Pour les échantillons de sang et de DBS, la taille du bloc de mise en phase NG50 variait en fonction du pourcentage de fragments d'ADN supérieurs à 60 kb (figure 6). Les deux indicateurs étaient plus faibles pour les échantillons âgés par rapport aux échantillons frais. Pour les échantillons sanguins, plus de 40 % des fragments > 60 kb ont été obtenus, même pour les échantillons dont l'ADN a été isolé après une semaine, lorsque l'ADN a été extrait avec une méthode HMW.

TruPath Genome fonctionne de manière robuste sur une plage de quantités d'ADN d'entrée

Les performances du test TruPath Genome ont été évaluées sur une plage de quantités d'ADN d'entrée : 175, 200, 350 et 550 ng. Les résultats de séquençage avec une entrée de 175 ng ont montré des indicateurs de qualité élevée pour le génome entier standard (par ex., couverture autosomique et pourcentage > Q30) ainsi que pour les indicateurs de proximité (par ex., taux de proximité Q25 et le bloc de mise en phase NG50). Bien que la quantité d'entrée recommandée soit de 350 ng, des quantités inférieures peuvent également être utilisées (figure 7).

[†] Le bloc de mise en phase NG50 correspond à la longueur du bloc de mise en phase lorsque 50 % de la région cible (génomique ou autre) a été mise en phase.

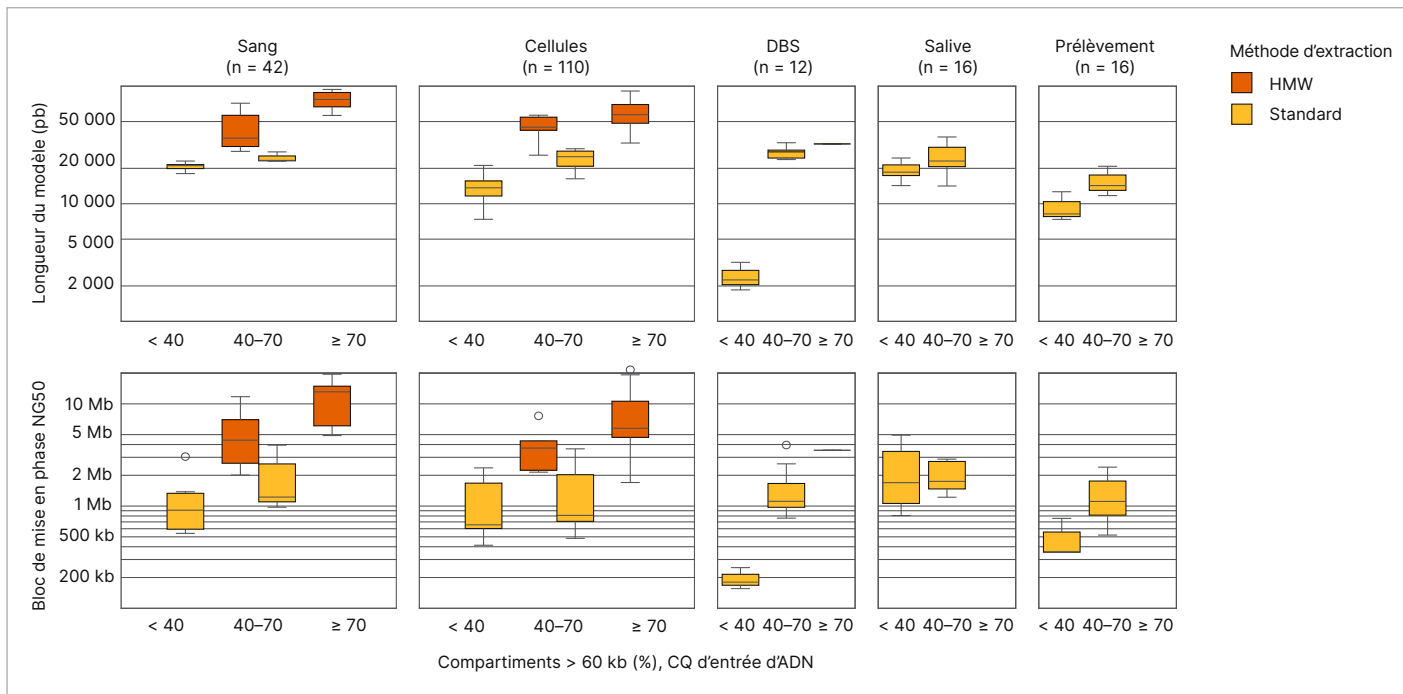


Figure 5 : Les performances de mise en phase de TruPath Genome sont très robustes, quel que soit le type d'échantillon

L'ADN a été extrait du sang et des cellules en utilisant des méthodes HMW et standard. L'ADN a été extrait à partir de DBS, de salive et de prélèvements buccaux à l'aide de méthodes standard. L'intégrité de l'ADN a été évaluée sur l'Agilent 4200 TapeStation à l'aide d'une analyse régionale, le pourcentage de fragments supérieurs à 60 kb étant compartimenté le long de l'axe X. La longueur du modèle sur l'axe Y représente la taille du 75^e percentile des molécules modèles. Une qualité d'ADN plus élevée, avec un pourcentage plus important > 60 kb, est corrélée à une augmentation de la longueur de modèle et du bloc de mise en phase NG50.

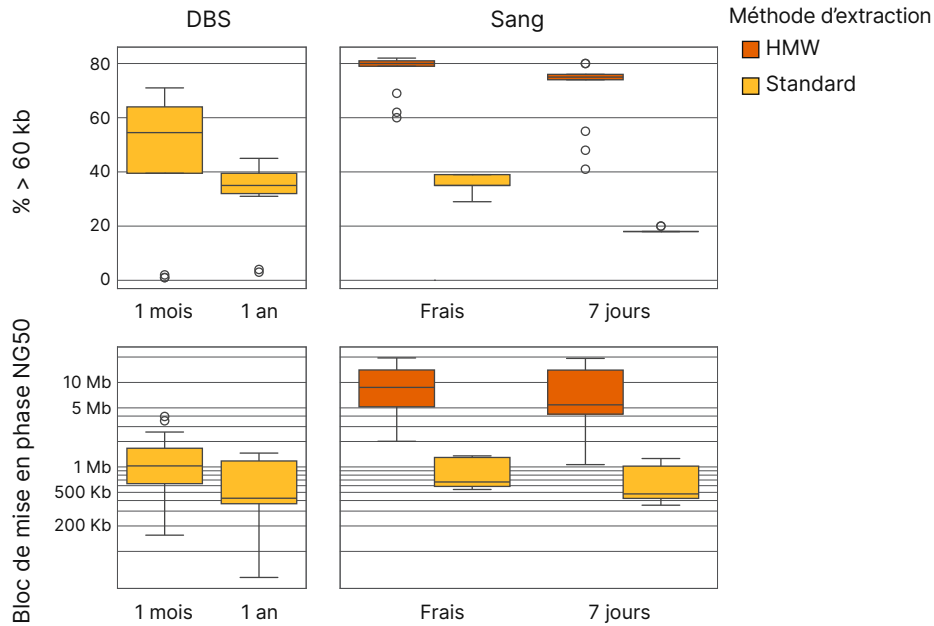


Figure 6 : Impact du stockage des échantillons sanguins sur la qualité de l'ADN et le bloc de mise en phase NG50

Les échantillons de sang ont été conservés à 4 °C pendant moins de 3 jours (frais) ou pendant 7 jours. Les échantillons DBS ont été conservés à température ambiante pendant moins de 30 jours ou environ 1 an. L'ADN a été extrait du sang en utilisant des méthodes HMW et standard. L'ADN a été extrait des échantillons DBS à l'aide de méthodes standard. Impact de l'âge des échantillons primaires sur la qualité de l'ADN (pourcentage > 60 kb) et le bloc de mise en phase NG50. Le pourcentage > 60 kb est mesuré à l'aide du test d'ADN génomique ScreenTape sur l'Agilent 4200 TapeStation. Pour les deux types d'échantillons, le pourcentage de fragments supérieurs à 60 kb et la taille du bloc de mise en phase NG50 sont plus faibles pour les échantillons ayant été stockés plus longtemps avant l'extraction.

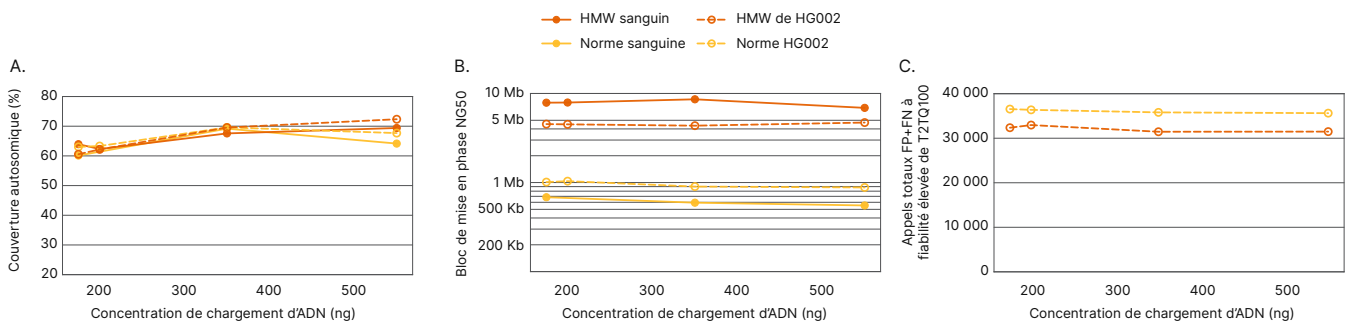


Figure 7 : TruPath Genome fonctionne efficacement avec une gamme variée de quantités d'entrée

Les résultats de séquençage pour TruPath Genome, préparés avec des quantités d'entrée de 175, 200, 350 et 550 ng, génèrent une qualité de données similaire pour le génome entier standard ainsi que pour les indicateurs de proximité TruPath Genome, incluant : (A) la couverture autosomique, (B) le bloc de mise en phase NG50 et, (C) la performance de l'appel des petits variants (nombre total d'appels FP + FN). L'ADN a été extrait du sang et des cellules en utilisant des méthodes HMW et standard. La performance de l'appel des petits variants (SNP + Indel) a été évaluée par rapport à l'ensemble vérifonctionnel T2T-Q100 V1.1 V0.019.

Résumé

TruPath Genome utilise la technologie de lecture à cartographie de proximité pour offrir une solution complète de séquençage du génome entier avec une simplicité sans précédent. Ce flux de travail unique exploite les avantages des méthodes de séquençage à lectures courtes, combinées aux renseignements de proximité sur la Flow Cell, pour accéder à des données sur de longues distances. Cette note technique démontre les performances robustes et de haute qualité obtenues avec TruPath Genome à partir d'échantillons de types, de quantités, de qualités et de conditions de stockage variés.

Références

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. Publié en 2022. Consulté le 8 décembre 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. Publié en 2022. Consulté le 8 décembre 2025.
3. Oxford Nanopore Technologies. Ligation Sequencing Kit. store.nanoporetech.com/us/ligation-sequencing-kit-v14.html. Consulté le 8 décembre 2025.
4. Pacific Biosciences. Low Yield Troubleshooting Guide. pacb.com/wp-content/uploads/Guide-Low-Yield-Troubleshooting.pdf. Publié en 2018. Consulté le 8 décembre 2025.
5. Illumina. TruPath Genome data sheet. illumina.com//content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/trupath-genome-data-sheet-m-gl-03931/trupath-genome-data-sheet-m-gl-03931.pdf. Publié en février 2026. Consulté le 24 février 2026.



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

© 2026 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.
M-GL-03932 FRA v1.0