

Trousse d'amplicons personnalisés TruSeq^{MC} Dx

Une trousse validée et réglementée par la FDA, portant le marquage CE-IVD et permettant aux laboratoires cliniques de concevoir des tests personnalisés pour les instruments de séquençage MiSeq^{MC} Dx et NextSeq^{MC} 550Dx.

Points saillants

- **Conception de test flexible**
Trousse développée pour répondre à des besoins uniques, définis par l'utilisateur
- **Trousse validée**
Caractéristiques de performance validées pour la préparation des librairies lorsque la trousse est utilisée avec les réactifs et les instruments de séquençage Dx d'Illumina
- **Compatibilité avec divers types d'échantillons**
Préparation de librairies optimisée pour l'ADN extrait d'échantillons de sang entier et de tissus fixés au formol et imprégnés à la paraffine (FFPE)
- **Reproductibilité élevée des tests**
Résultats cohérents entre plusieurs opérateurs et systèmes

Introduction

La trousse d'amplicons personnalisés TruSeq Dx (figure 1) est une trousse de séquençage d'amplicons validée et réglementée par la Food and Drug Administration (FDA) américaine et portant le marquage de la conformité européenne relative aux dispositifs de diagnostic *in vitro* (CE-IVD) qui permet aux laboratoires cliniques de développer des tests de séquençage nouvelle génération (SNG) personnalisés. Ces tests de séquençage peuvent être utilisés avec les instruments MiSeqDx et NextSeq 550Dx réglementés par la FDA et portant le marquage CE-IVD. Ensemble, la trousse d'amplicons personnalisés TruSeq Dx et les instruments de séquençage Dx d'Illumina fournissent une solution exhaustive, de l'ADN aux données, apportant la précision et la fiabilité nécessaires dans un environnement régulé. Grâce à la puissance du SNG, les laboratoires cliniques peuvent offrir à leurs clients une vaste gamme d'applications diagnostiques.

Solution de préparation de librairies validée

La trousse d'amplicons personnalisés TruSeq Dx offre une solution de préparation de librairies validée qui comprend des réactifs de haute qualité et un flux de travail rationalisé. La validation des réactifs de préparation de librairies assure une performance uniforme d'un lot à l'autre, permettant ainsi une utilisation à long terme des tests conçus et une gestion de changement facilitée.

Destiné au diagnostic *in vitro*.

Communiquez avec un représentant d'Illumina pour vérifier la disponibilité dans votre région.

L'utilisation des réactifs validés élimine la nécessité de consacrer de précieuses ressources de laboratoire à la revalidation des réactifs ou des tests pour les analyses suivantes. Le flux de travail rapide et efficace ne nécessite simplement que 50 ng d'ADN génomique (ADNg) ou 10 µl d'ADN FFPE qualifié pour générer des librairies de séquençage de grande qualité en moins de deux jours.



Figure 1 : Trousse d'amplicons personnalisés TruSeq Dx : la trousse d'amplicons personnalisés TruSeq Dx, réglementée par la FDA et portant le marquage CE-IVD, fournit des réactifs de préparation de librairies qui permettent aux laboratoires cliniques de développer leurs propres tests diagnostiques à utiliser sur les instruments de séquençage Dx d'Illumina.

Conception de test personnalisée

Grâce à la trousse d'amplicons personnalisés TruSeq Dx, les laboratoires cliniques élaborent des tests au moyen de sondes d'oligonucléotides conçues sur mesure. Cette personnalisation donne à l'utilisateur la souplesse de cibler des régions d'intérêt précises. Les caractéristiques de cible (tableau 1) permettent un séquençage supérieur à 90 % des exons dans RefSeq¹, selon la conception du test. La personnalisation de la configuration de la trousse donne de la flexibilité au débit d'échantillons.

Flux de travail pour la préparation des librairies

La trousse d'amplicons personnalisés TruSeq Dx génère des librairies prêtes au séquençage qui peuvent être chargées dans l'instrument de séquençage Dx d'Illumina pour la production de données de séquençage fiables en moins de deux jours.

Tableau 1 : Capacité de détection de la trousse d'amplicons personnalisés TruSeq Dx

Paramètre	Variant germlinal	Variant somatique
Contexte génomique		
Teneur en GC	19 à 78 %	19 à 73 % ^a
Longueur de PolyA	≤ 8	≤ 8
Longueur de PolyT	≤ 10	≤ 10
Longueur de PolyG	≤ 7	≤ 6
Longueur de PolyC	≤ 6	≤ 6
Longueur de répétition de dinucléotides	≤ 11x	≤ 4x
Longueur de répétition de trinucléotides	≤ 5x	≤ 5x
Variants		
Polymorphismes de nucléotide simple	Oui	Oui, limite de détection de 5 %
Longueur de l'insertion	≤ 24 pb	≤ 24 pb
Longueur de la délétion	≤ 25 pb	≤ 25 pb

a. Jusqu'à 78 % avec l'instrument NextSeq 550Dx.

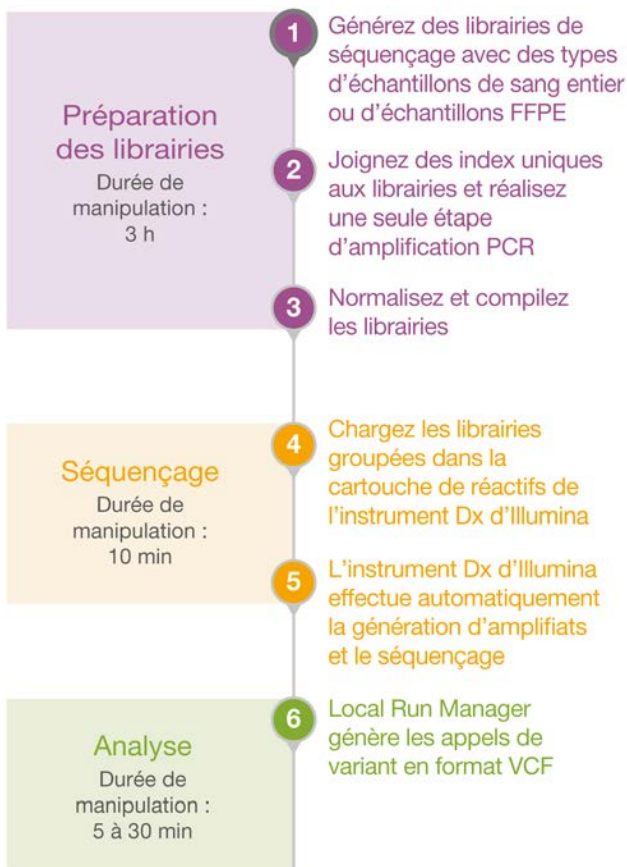


Figure 2 : Flux de travail rationalisé du test personnalisé : le flux de travail de la trousse d'amplicons personnalisés TruSeq Dx fournit un processus rationalisé de l'ADN aux données comportant six étapes.

Flux de travail rationalisé

Le flux de travail de la trousse d'amplicons personnalisés TruSeq Dx comprend six étapes de base (figure 2). Les sondes oligonucléotidiques ciblant les régions d'intérêt sont mélangées à l'échantillon d'ADN au cours de la préparation des librairies. Les librairies sont regroupées puis sont séquençées sur l'instrument de séquençage Dx d'Illumina. Les données sont recueillies en temps réel et analysées par le logiciel Local Run Manager.

Entrée d'ADN (ADNg ou FFPE)

La trousse d'amplicons personnalisés TruSeq Dx est optimisée pour être utilisée avec 50 ng d'ADNg ou 10 µl d'ADN FFPE qualifié extrait de tissu FFPE. L'ADN FFPE peut être qualifié au moyen de la trousse d'amplicons personnalisés TruSeq Dx – FFPE CQ, qui exploite une simple réaction qPCR pour déterminer la qualité de l'ADN FFPE. Les résultats produits par la trousse FFPE CQ servent à établir la qualité et la quantité de l'ADN FFPE entrée.

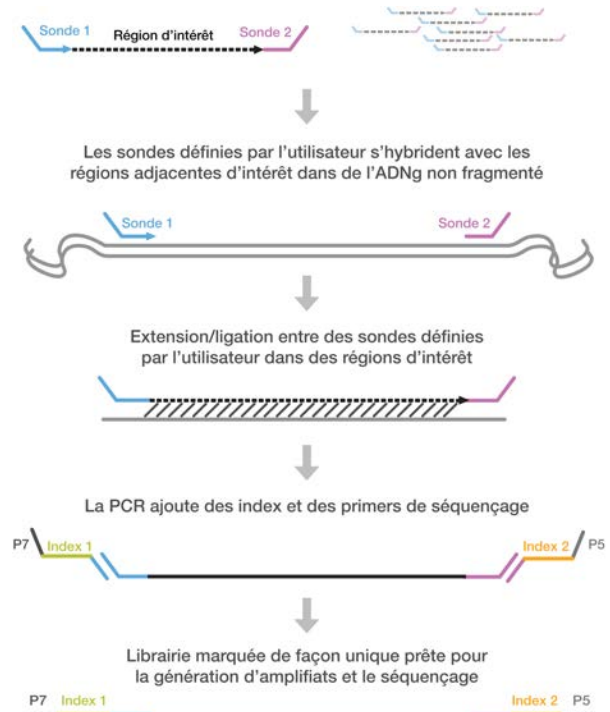


Figure 3 : Chimie utilisée pour la préparation des librairies de la trousse d'amplicons personnalisés TruSeq Dx : la trousse d'amplicons personnalisés TruSeq Dx utilise des sondes conçues sur mesure pour capturer et séquençer des cibles d'intérêt définies.

Chimie de test

La trousse d'amplicons personnalisés TruSeq Dx combinée à la chimie éprouvée de séquençage par synthèse (SBS) permet la capture et le séquençage des régions d'intérêt uniquement (figure 3). L'ADNg ou l'ADN FFPE est mélangé à un ensemble de sondes oligonucléotidiques réglées par l'utilisateur.

Tableau 2 : Étude des appels de variant démontrant l'extrême reproductibilité de l'analyse²

Analyse	Indicateur	Type de variant	MiSeqDx (8 analyses)	NextSeq 550Dx (9 analyses)
Appel des variants germinaux	CPP	SNV	99,8 %	> 99,9 %
	CPP	Insertion	98,1 %	98,9 %
	CPP	Délétion	99,8 %	100 %
	CNP		100 %	100 %
Appel des variants somatiques	CPP	SNV	100 %	99,9 %
	CPP	Insertion	100 %	99,9 %
	CPP	Délétion	100 %	99,9 %
	CNP		> 99,9 %	> 99,9 %

Les pourcentages représentent la valeur la plus basse obtenue lors des analyses. Abréviations : concordance positive en pourcentage (CPP), concordance négative en pourcentage (CNP), variant à simple nucléotide (SNV).

Chaque sonde comprend des séquences, conçues pour saisir des régions d'intérêt, et une séquence d'adaptateur, utilisée dans une réaction d'amplification consécutive. Les sondes s'hybrident avec l'ADN, une en amont et l'autre en aval de la séquence d'ADN ciblée. Une réaction d'extension-ligation de propriété exclusive s'étend sur la région d'intérêt, suivie d'une ligation pour lier les deux sondes. Cela crée un modèle de brin et donne une excellente spécificité au test.

Pour permettre une analyse simultanée de plusieurs échantillons dans une même analyse de séquençage (multiplexage), des librairies sont « marquées » de façon individuelle avec un identifiant ou un index unique. Ces index uniques propres aux échantillons sont ajoutés au cours de l'étape d'amplification par PCR dans le protocole de préparation de librairies. Le produit final comprend les régions définies par l'utilisateur, les adaptateurs et les index nécessaires au séquençage sur l'instrument de séquençage Dx d'Illumina.

Technologie SNG très répandue

La chimie SBS d'Illumina est la technologie SNG la plus répandue dans le domaine du séquençage.³ Grâce à une méthode brevetée basée sur un terminateur réversible permettant un séquençage massivement parallèle, des bases uniques sont détectées lorsqu'elles sont intégrées à des brins d'ADN croissant.

Un terminateur à marqueur fluorescent est imagé à mesure que chaque dNTP (dATP, dCTP, dGTP ou dTTP) est ajouté, puis clivé afin de permettre l'intégration de la base suivante. Dans la mesure où les quatre dNTP liés à des terminateurs réversibles sont présents au cours de chaque cycle de séquençage, la compétition naturelle réduit au minimum le biais lié à l'incorporation. Le résultat est un séquençage base par base qui permet une saisie extrêmement précise des données.⁴

Données extrêmement reproductibles

Une étude de précision des appels de variant a été effectuée avec un test représentatif pour démontrer l'extrême reproductibilité des données générées grâce à la trousse d'amplicons personnalisés TruSeq Dx et de la chimie SBS. L'étude a été faite par de multiples opérateurs, sur plusieurs instruments et lots, dans huit ou neuf analyses (tableau 2).

Destiné au diagnostic in vitro.

Communiquez avec un représentant d'Illumina pour vérifier la disponibilité dans votre région.

Résumé

La trousse d'amplicons personnalisés TruSeq Dx propose une solution validée et réglementée par la FDA servant à la conception de tests de SNG ciblant les régions d'intérêt génomiques définies par l'utilisateur. Cette trousse permet aux laboratoires cliniques d'exploiter la vitesse et la précision du SNG et d'offrir à leurs clients une gamme croissante de services de diagnostic.

En savoir plus

Pour en savoir plus sur la trousse d'amplicons personnalisés TruSeq Dx, rendez-vous à l'adresse www.illumina.com/TSCAKitDx

Pour en savoir plus sur l'instrument MiSeqDx, rendez-vous à l'adresse www.illumina.com/MiSeqDx.

Pour en savoir plus sur l'instrument NextSeq 550Dx, rendez-vous à l'adresse www.illumina.com/nextseq550dx.

Renseignements relatifs à la commande

Produit	N° de référence
Trousse d'amplicons personnalisés TruSeq Dx ^a	20005718
Trousse d'amplicons personnalisés TruSeq Dx – FFPE CQ ^a	20006259
Instrument MiSeqDx	DX-410-1001
Trousse de réactifs MiSeqDx v3 ^{a,b}	20012552
Trousse de réactifs MiSeqDx v3 ^{a,b}	20037124
Instrument NextSeq 550Dx	20005715
Trousse de réactifs à débit élevé NextSeq 550Dx v2 (300 cycles) ^a	20019554
Trousse de montage de la plaque d'index TruSeq	DX-130-1005
Trousse de fixation de plaque d'index et de collet TruSeq	DX-130-1007

- Les consommables de séquençage de classe I comprennent l'expédition en lot unique, le contrôle des lots de trousse, les préavis de modification et un certificat d'analyse pour chaque lot. Les réactifs sont développés selon des principes de contrôle de la conception, fabriqués en conformité avec les normes Current Good Manufacturing Practices (cGMP) américaines et vérifiés pour assurer la conformité avec les caractéristiques techniques.
- Les n° de référence 20012552 et 20037124 fournissent les mêmes réactifs. Les n° de référence utilisés varient en fonction de la région ou du pays du client.

Références

1. Base de données de séquences de référence de la NCBI (RefSeq). www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/. Consulté le 10 octobre 2017.
2. Données internes. Illumina, Inc. 2017.
3. Calcul des données internes. Illumina, Inc. 2015.
4. Bentley D. R., Balasubramanian S., Swerdlow H. P., Smith G. P., Milton J., Brown C. G., et coll. [Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry](#). *Nature*. 2008; 456 (7218) : 53–9.

Déclarations relatives à l'utilisation prévue

Utilisation prévue de la trousse d'amplicons personnalisés TruSeq^{MC} Dx

La trousse d'amplicons personnalisés TruSeq Dx d'Illumina est un ensemble de réactifs et de consommables utilisés dans la préparation de librairies d'échantillons à base d'ADN extrait de sang total périphérique et de tissus fixés au formol et imprégnés à la paraffine (FFPE). Les réactifs spécifiques aux analyses fournis par l'utilisateur sont nécessaires pour la préparation des librairies ciblant des régions génomiques d'intérêt spécifiques. Les librairies d'échantillons ainsi générées sont destinées aux analyseurs de séquence d'ADN à débit élevé d'Illumina.

Utilisation prévue de la trousse d'amplicons personnalisés TruSeq^{MC} Dx – FFPE CQ

La trousse d'amplicons personnalisés TruSeq Dx – FFPE CQ d'Illumina est un ensemble de réactifs utilisés pour déterminer le potentiel d'amplification de l'ADN génomique (ADNg) extrait d'échantillons fixés au formol et imprégnés à la paraffine (FFPE).

Utilisation prévue de l'instrument MiSeq^{MC}Dx

L'instrument MiSeqDx est destiné au séquençage ciblé de librairies d'ADN provenant d'ADN génomique humain extrait de sang entier périphérique ou de tissus fixés au formol et imprégnés à la paraffine (FFPE), à utiliser avec les tests de diagnostic *in vitro* (DIV) réalisés sur l'instrument. L'instrument MiSeqDx n'est pas destiné au séquençage de génome entier ou *de novo*. L'instrument MiSeqDx doit être utilisé avec les réactifs de diagnostic *in vitro* enregistrés, répertoriés, homologués et approuvés, ainsi qu'avec le logiciel d'analyse.

Utilisation prévue de la trousse de réactifs MiSeq^{MC}Dx v3

La trousse de réactifs MiSeqDx v3 d'Illumina est un ensemble de réactifs et de consommables conçu pour le séquençage de librairies d'échantillons, à utiliser avec des tests validés. La trousse de réactifs MiSeqDx v3 est prévue pour une utilisation avec l'instrument MiSeqDx et un logiciel d'analyse.

Utilisation prévue de l'instrument NextSeq^{MC} 550Dx (Union européenne/autre)

L'instrument NextSeq 550Dx est destiné au séquençage de librairies d'ADN lorsqu'il est utilisé dans le cadre de tests de diagnostic *in vitro* (DIV) réalisés sur l'instrument. L'instrument NextSeq 550Dx doit être utilisé avec les réactifs de DIV enregistrés, homologués ou approuvés, ainsi qu'avec le logiciel d'analyse.

Utilisation prévue de la trousse de réactifs à rendement élevé NextSeq^{MC} 550Dx v2 (300 cycles)

La trousse de réactifs à rendement élevé NextSeq 550Dx v2 (300 cycles) d'Illumina est un ensemble de réactifs et de consommables conçu pour le séquençage de librairies d'échantillons, à utiliser avec des tests validés. La trousse est prévue pour une utilisation avec l'instrument NextSeq 550Dx et un logiciel d'analyse.