

Sequenziamento dell'intero genoma su scala di produzione con Illumina Genomics Architecture v3

Struttura automatizzata dal DNA alla risposta progettata per i programmi di genomica della popolazione

Sequenziamento su larga scala

Fornisce un WGS efficiente per l'elaborazione della ricerca genomica della popolazione che coinvolge oltre 10.000 campioni all'anno

Flusso di lavoro integrato

Combina il software Clarity LIMS, la gestione automatizzata dei liquidi e gli strumenti di analisi dei dati

Risultati affidabili ogni volta

Assicura una qualità dei dati coerente tra i siti con il monitoraggio dei codici a barre e un rischio ridotto di errori manuali

Introduzione

La medicina di precisione sfrutta i progressi nella genomica per trasformare la comprensione delle malattie e migliorare la salute umana. Sono in corso sforzi di ricerca su larga scala per sequenziare centinaia di migliaia di genomi.^{1,2} Queste iniziative di genomica della popolazione (PopGen) mirano a esplorare la diversità genetica e a influenzare la salute pubblica. Poiché elaborano grandi volumi di campioni con tempistiche strette, gli studi PopGen richiedono flussi di lavoro ottimizzati per il sequenziamento di nuova generazione (NGS, Next-Generation Sequencing) per produttività, efficienza e accuratezza.³⁻⁵ Illumina Genomics Architecture fornisce un flusso di lavoro completo per il sequenziamento dell'intero genoma (WGS, Whole-Genome Sequencing), progettato per soddisfare le esigenze dei programmi PopGen che elaborano più di 10.000 campioni all'anno. Questa soluzione integrata include la gestione dei campioni, la preparazione automatizzata delle librerie, il sequenziamento, l'analisi dei dati e l'interpretazione dei risultati (Figura 1).

Illumina Genomics Architecture v2 è stato creato per NovaSeq™ 6000 System e ha consentito al progetto SG100K, parte del programma Singapore National Precision Medicine (NPM), di sequenziare oltre 100.000 genomi umani in tre anni.¹⁻⁵ Illumina Genomics Architecture v3 mantiene i punti di forza chiave dell'architettura v2 e aumenta la capacità dei campioni con la maggiore processività di NovaSeq X Plus System. Questa nota tecnica descrive il framework Illumina Genomics Architecture v3 e riporta la coerenza delle prestazioni in diversi siti.

Il framework Illumina Genomics Architecture

Illumina Genomics Architecture v3 include componenti hardware e software che automatizzano i flussi di lavoro sia in laboratorio umido che in laboratorio secco, consentendo:

- Implementazione accelerata dei flussi di lavoro NGS
- Adozione rapida grazie a interfacce intuitive guidate dall'utente
- Migliore gestione del flusso di lavoro e monitoraggio dei campioni
- Maggiore produttività con meno interventi da parte dell'utente
- Integrazione semplificata dei componenti del flusso di lavoro

L'hardware include una piattaforma automatizzata per la gestione dei liquidi, Hamilton Microlab STAR e NovaSeq X Plus System. Il software include il software Clarity LIMS™ (sistema di gestione delle informazioni di laboratorio), BaseSpace™ Sequence Hub, l'analisi secondaria DRAGEN™ e Illumina Connected Analytics (Figura 2). Il flusso di lavoro utilizza Illumina DNA PCR-Free Prep, un saggio di tagmentazione autonormalizzato basato su microsferi, per una preparazione efficiente delle librerie WGS. Dopo che un laboratorio ha acquistato tutto l'hardware, il software e i componenti dei reagenti appropriati, Illumina Genomics Architecture riduce il tempo necessario per raggiungere i flussi di lavoro WGS su scala di produzione da circa un anno a pochi mesi.³



Figura 1: flusso di lavoro Illumina Genomics Architecture v3

Dopo l'approvvigionamento dei campioni e l'estrazione del DNA, Illumina Genomics Architecture v3 fornisce il monitoraggio dei campioni, script per la preparazione automatizzata delle librerie, il sequenziamento e l'analisi intuitiva dei dati. L'efficiente framework WGS riduce i tempi di elaborazione del flusso di lavoro mantenendo un alto livello di prestazioni.

a. È richiesto un kit di estrazione separato del DNA.

b. Richiede la disposizione del piano di lavoro Illumina Genomics Architecture.

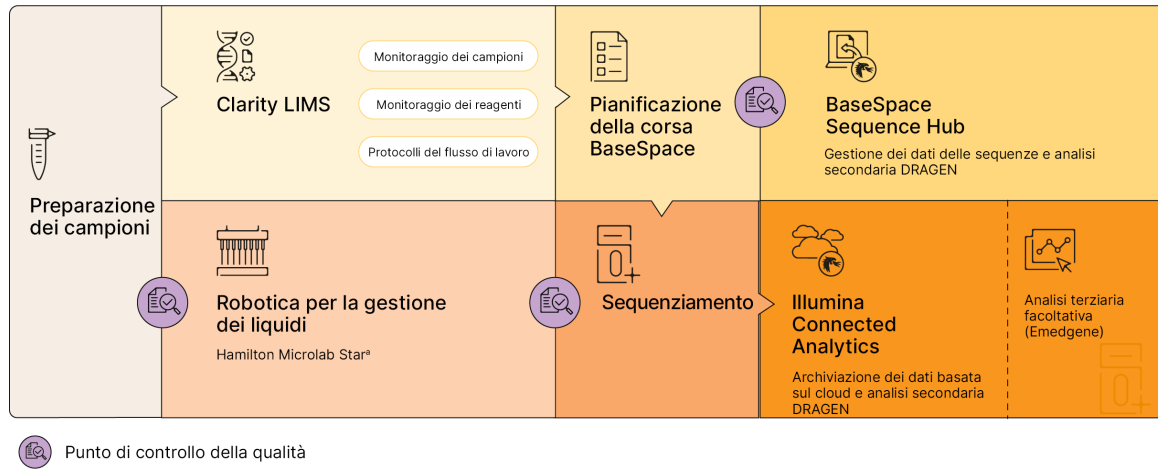


Figura 2: framework Illumina Genomics Architecture v3

Illumina Genomics Architecture dispone di script robotizzati dedicati per la preparazione delle librerie e l'integrazione del software per automatizzare e semplificare il sequenziamento e l'analisi dei dati. Il framework è costituito da hardware, tra cui una piattaforma di gestione dei liquidi e NovaSeq X Plus System, oltre che alcuni software, tra cui Clarity LIMS, BaseSpace Sequence Hub, analisi secondaria DRAGEN e Illumina Connected Analytics. Questi componenti si coordinano per fornire un flusso di lavoro DNA-dati per il WGS su scala di produzione. I checkpoint di controllo qualità sono inclusi nelle fasi chiave per aiutare a prevenire gli errori, consentire il monitoraggio e facilitare il recupero.

a. Richiede la disposizione del piano di lavoro Illumina Genomics Architecture.

Gestione del flusso di lavoro e monitoraggio dei campioni

Il software Clarity LIMS guida il flusso di lavoro e coordina il sistema di gestione dei liquidi, il sistema di sequenziamento e gli strumenti di analisi dei dati. I flussi di lavoro preconfigurati nel software Clarity LIMS, combinati con l'integrazione dello strumento, aiutano a ridurre i tempi di risposta, limitano al minimo i passaggi manuali e migliorano la processività dei campioni diminuendo al contempo il rischio di errori. La verifica univoca del codice a barre consente un audit trail completo.

Preparazione automatizzata delle librerie

Illumina Genomics Architecture v3 utilizza quattro script di automazione robotica dedicati per Illumina DNA PCR-Free Prep (Illumina, n. di catalogo 20041794), eseguiti sulla piattaforma di gestione dei liquidi Hamilton Microlab STAR con la disposizione del piano di lavoro Illumina Genomics Architecture. Questi script consentono la preparazione delle librerie end-to-end completamente automatizzata con un intervento manuale minimo e supportano flussi di lavoro affidabili e a elevata processività per il WGS su scala di produzione. L'automazione del laboratorio umido riduce l'errore umano e l'affaticamento, migliora la riproducibilità da pozzetto a pozzetto e l'accuratezza del trasferimento dei reagenti.

La verifica dei codici a barre dei reagenti e dei materiali di consumo durante l'intero flusso di lavoro supporta la tracciabilità completa e previene gli errori di posizione quando si caricano gli articoli sul piano robot.

Il flusso di lavoro automatizzato include le seguenti fasi chiave:

- **Preparazione del DNA di input utilizzando uno standard di 350 ng per pozzetto, elaborato in batch di 24 o 96 campioni.** Questo approccio di batching supporta prestazioni coerenti da pozzetto a pozzetto e sfrutta la chimica autonormalizzante per semplificare la normalizzazione degli input.
- **Creazione di librerie utilizzando un metodo di preparazione DNA PCR-Free Illumina di circa 155 minuti ottimizzato per l'automazione e l'esecuzione affidabile di fasi critiche, inclusa la purificazione con Illumina Purification Beads.** Questi perfezionamenti aiutano a soddisfare le specifiche delle dimensioni delle inserzioni.⁶ Il volume di eluizione finale di 30 µl per libreria supporta il raggruppamento in pool per un massimo di due corse di sequenziamento, consentendo il raggruppamento in pool se necessario o l'uso di un secondo pool come backup.

- **Raggruppamento delle librerie con i fattori di correzione dell'indice applicati da Clarity LIMS per bilanciare la rappresentazione tra le librerie.** I volumi di pooling vengono regolati automaticamente in base alla dimensione del batch, al tipo di cella a flusso e alle concentrazioni di caricamento target per garantire prestazioni di sequenziamento ottimali.
- **Denaturazione e trasferimento delle librerie sul supporto in provette a strisce per le cartucce di reagenti alla concentrazione di caricamento desiderata.** Questa fase completamente integrata riduce al minimo gli errori di manipolazione e assicura un caricamento preciso, con conseguente raggruppamento delle librerie pronte per essere sequenziate su NovaSeq X Plus System.

Sequenziamento

Le librerie preparate sono sequenziate su NovaSeq X Plus System (Illumina, n. di catalogo 20084804) con una configurazione della corsa di 2 × 151 bp. Ogni doppia cella a flusso può sequenziare fino a 128 genomi umani con una copertura di 30×, con 24 campioni per cella a flusso da 10B (Illumina, n. di catalogo 20085594) o 64 campioni per cella a flusso da 25B (Illumina, n. di catalogo 20104706). Come parte del flusso di lavoro automatizzato con Illumina Genomics Architecture, il software Clarity LIMS indirizza la piattaforma di gestione dei liquidi all'esecuzione del raggruppamento in pool, della denaturazione e del caricamento delle librerie in una provetta a striscia. L'utente trasferisce quindi la provetta a striscia a NovaSeq X Plus System. Clarity LIMS invia automaticamente le informazioni sulla pianificazione della corsa a BaseSpace, semplificando l'impostazione della corsa e l'analisi dei dati a valle in Illumina Connected Analytics.

Analisi dei dati

Illumina Connected Analytics è una piattaforma completa basata sul cloud per l'archiviazione, la gestione e l'analisi dei dati, creata con un approccio incentrato sulla sicurezza per fornire privacy e conformità dei dati. Si interfaccia direttamente con l'analisi secondaria DRAGEN per fornire analisi primarie (conversione da BCL a FASTQ) e secondarie (mappatura, allineamento e identificazione di varianti) rapide e automatizzate. Con Illumina Connected Analytics, gli utenti hanno accesso a strumenti potenti e modelli di apprendimento automatico per supportare la prioritizzazione e l'interpretazione delle varianti. Una volta disponibili i dati, le funzionalità di avvio automatico avviano l'analisi automaticamente, semplificando il processo.

Il flusso di lavoro verificato assicura prestazioni WGS coerenti

Illumina Genomics Architecture v3 per le celle a flusso 10B e 25B su NovaSeq X Plus System soddisfa gli standard comprovati di Illumina Genomics Architecture v2 (Tabella 1, Tabella 2, Figura 3).^{1,4,5} L'analisi della varianza (ANOVA) mostra che il flusso di lavoro di Illumina Genomics Architecture v3 fornisce risultati coerenti su diversi siti, robot e operatori quando si utilizzano gli stessi script di automazione e i protocolli di flusso di lavoro standard di Illumina Genomics Architecture (Figura 4).

Tabella 1: metriche della corsa e criteri di superamento di Illumina Genomics Architecture v3

Metrica	Cella a flusso 25B ^a	Cella a flusso 10B ^b
Resa media per corsa	9,68 Tb	3,81 Tb
Attraversamento del filtro	74,6%	76,7%
Resa media per campione	130 Gb	140 Gb
Basi medie Q30 ^c	110 Gb	120 Gb
N. medio di letture per campione	864 milioni	900 milioni
CV indice mediano (intervallo)	14,4% (13,4%-16,8%)	11,70% (10,5%-12,9%)
Copertura autosomica media	39×	41×
Lunghezza mediana dell'inserzione	479 bp	479 bp
Basi medie > Q30 ^d (media)	90,8%	89,5%
Letture duplicate	8,30%	6,85%
Copertura media del genoma (15×) ^e	93,23%	93,48%

a. Per le celle a flusso 25B sono stati analizzati 256 campioni con 64 campioni per cella a flusso.
b. Per le celle a flusso 10B sono stati analizzati 168 campioni con 24 campioni per cella a flusso.
c. Esclude le letture duplicate e le basi tagliate.
d. Esclude i dati di lettura indici.
e. Indica la percentuale del genoma coperto a una profondità di sequenziamento pari o superiore a 15×.

Tabella 2: precisione di identificazione e richiamo delle varianti Illumina Genomics Architecture v3

Campione ^a	Varianti di singolo nucleotide (SNV)			Inserzioni-delezioni (Indel)		
	Precisione	Richiamo	F1	Precisione	Richiamo	F1
NA12878	99,928%	99,956%	99,945%	99,623%	99,426%	99,525%
NA24385	99,929%	99,953%	99,944%	99,624%	99,426%	99,526%

a. I dati provengono da 17 replicati di ciascuna linea cellulare di riferimento ottenuti dal Coriell Institute for Medical Research.

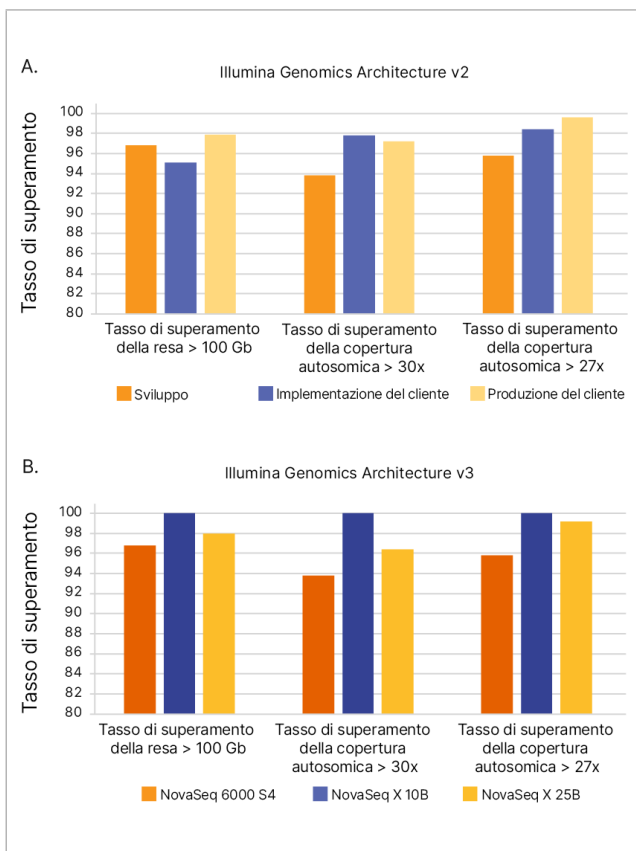


Figura 3: esempio di metriche delle prestazioni rispetto al WGS su scala di produzione

La velocità di superamento della resa di sequenziamento e la velocità di superamento della copertura autosomica a 30x e 27x per (A) Illumina Genomics Architecture v2, dallo sviluppo fino all'implementazione da parte del cliente e alla produttività su scala di produzione; e (B) Illumina Genomics Architecture v3 per le celle a flusso NovaSeq 6000 S4, NovaSeq X 10B e NovaSeq X 25B.

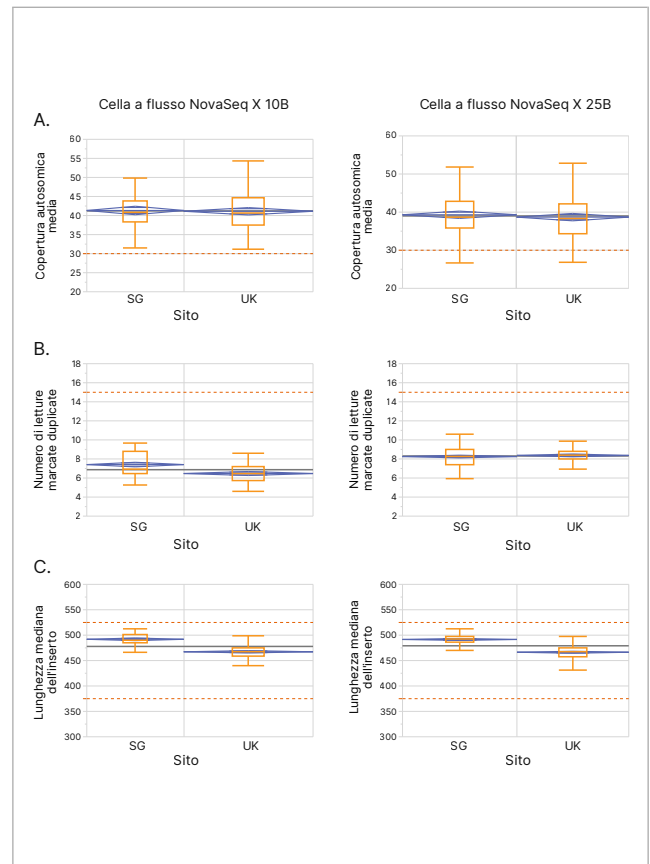



Figura 4: prestazioni dei dati e coerenza con operatori indipendenti in diversi siti

Illumina Genomics Architecture v3 ha supportato le operazioni WGS presso i siti di sviluppo a Singapore (SG) e nel Regno Unito (UK). L'ANOVA dei dati di sequenziamento tra i due siti ha mostrato prestazioni altamente coerenti come indicato da (A) copertura autosomica media, (B) numero di letture marcate duplicate e (C) lunghezza mediana dell'inserzione. Il WGS è stato eseguito con 24 campioni commerciali ottenuti dal Coriell Institute for Medical Research. Il software JMP è stato utilizzato per l'analisi statistica e per generare grafici.

Riepilogo

Illumina Genomics Architecture v3 fornisce un framework end-to-end integrato per il WGS ottimizzato e su scala di produzione utilizzando NovaSeq X Plus System. Il flusso di lavoro ottimizzato e scalabile e il software integrato offrono una soluzione di sequenziamento coerente e pronta per il sito. L'implementazione di Illumina Genomics Architecture v3 riduce gli interventi manuali e i tempi di risposta, limitando il rischio di errori e consentendo un WGS più efficiente su larga scala.

 Contattare il [team di assistenza Illumina](#) per iniziare a implementare l'architettura Illumina Genomics.

Maggiori informazioni →

[Illumina Genomics Architecture](#)

[Accelerazione dei flussi di lavoro NGS con Illumina Genomics Architecture](#)

[Set di dati disponibili su BaseSpace Sequence Hub](#)

[Cliente in evidenza](#)

[Software Clarity LIMS](#)

[Illumina DNA PCR-Free Prep](#)

[NovaSeq X Series](#)

[Illumina Connected Analytics](#)

Informazioni per gli ordini

Prodotto	N. di catalogo	Fornitore
Hamilton MicroLab STAR (disposizione del piano di lavoro e accessori di Illumina Genomics Architecture ^a)	173027	Hamilton
Illumina DNA PCR-Free Prep (24/96 samples)	20041794/20041795	Illumina
Indici DNA/RNA UD Illumina	20091654, 20091656, 20091658, 20091660	Illumina
NovaSeq X Plus System	20084804	Illumina
NovaSeq X 10B/25B 300 cycles	20104706/20085594	Illumina
Abbonamento annuale a Clarity LIMS Cloud Professional/Enterprise	20042028/20042029	Illumina
Abbonamento annuale a Illumina Connected Analytics Professional/Enterprise	20044976/20038994	Illumina
a. Per maggiori informazioni, contattare l'assistenza tecnica Illumina		

Bibliografia

1. Bellis C, Kolle G, Yong J, et al. [National Scale Genomic Engine for Precision Medicine: Singapore PRECISE-SG100K Experience](#). *bioRxiv*. Pubblicato il 15 marzo 2025. [biorxiv.org/content/10.1101/2025.03.13.642552v1](https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2025.03.13.642552v1)
2. Precision Health Research, Singapore (PRECISE). [npm.sg/](#). Consultato il 16 luglio 2025.
3. Illumina. The Illumina Genomics Architecture workflow enables sequencing of 100,000 genomes in Singapore. [illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/icommunity/genomics-architecture-workflow-novogeneait-m-gl-01045.pdf](#). Pubblicato nel 2023. Consultato il 16 luglio 2025.
4. Illumina. Illumina Genomics Architecture enables PopGen studies with Illumina DNA PCR-Free Prep. [illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/illumina-genomics-architecture-app-note-m-gl-01991/illumina-genomics-architecture-app-note-m-gl-01991.pdf](#). Pubblicato nel 2023. Consultato il 18 luglio 2025.
5. Illumina. Accelerating NGS workflows with Illumina Genomics Architecture. [illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/illumina-genomics-architecture-tech-note-m-gl-00508/illumina-genomics-architecture-tech-note-m-gl-00508.pdf](#). Pubblicato nel 2021. Consultato il 18 luglio 2025.
6. Illumina. Optimal variant calling with Illumina DNA PCR-Free Prep on the NovaSeq X Series. [illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/ilmn-dna-pcr-free-prep-novaseq-x-tech-note-m-gl-02388/ilmn-dna-pcr-free-prep-novaseq-x-tech-note-m-gl-02388.pdf](#). Pubblicato nel 2024. Consultato il 16 luglio 2025.



Numero verde 1.800.809.4566 (U.S.A.) | Tel. +1.858.202.4566
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2025 Illumina, Inc. Tutti i diritti riservati. Tutti i marchi di fabbrica sono di proprietà di Illumina, Inc. o dei rispettivi proprietari. Per informazioni specifiche sui marchi di fabbrica, visitare la pagina web www.illumina.com/company/legal.html.
M-GL-03657 ITA v1.0