

# Solution de séquençage de l'exome NextSeq<sup>MC</sup> 1000 et NextSeq 2000

Flux de travail intégré pour une  
analyse efficace de l'exome et  
une définition précise des variants

- Préparation rationalisée de librairies et enrichissement de l'exome pour une couverture hautement uniforme des régions de codage
- Systèmes de séquençage de paillasse flexibles et évolutifs pour une qualité de données exceptionnelle
- Pipeline d'analyse de données intégré avec une performance primée pour appeler les mutations courantes et les variants somatiques rares



## Introduction

La solution de séquençage de l'exome NextSeq 1000 et NextSeq 2000 offre un flux de travail simplifié de l'ADN aux résultats pour étudier les régions codant les protéines du génome. La solution exploite la technologie de séquençage nouvelle génération (SNG) d'Illumina et la chimie XLEAP-SBS<sup>MC</sup> de séquençage par synthèse (SBS) optimisée pour fournir une qualité de données exceptionnelle. Cette couverture d'exome de haute précision permet d'identifier de véritables variants de codage pour un large éventail d'applications, y compris la génétique de population, la recherche sur les maladies génétiques et les études sur le cancer. Le flux de travail intégré fournit une préparation de bibliothèques rationalisée et un enrichissement en exome, un séquençage par bouton-poussoir et une analyse rapide et précise des données (figure 1). Avec une durée de manipulation minimale, la solution de séquençage de l'exome NextSeq 1000 et NextSeq 2000 est une méthode hautement flexible et efficace pour interroger l'exome.



Figure 2 : Systèmes de séquençage NextSeq 1000 et NextSeq 2000 : les systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000 exploitent la chimie XLEAP-SBS et intègrent l'analyse secondaire pour rationaliser les flux de travail de séquençage.

## Flux de travail simple et efficace

La solution de séquençage de l'exome NextSeq 1000 et NextSeq 2000 offre un flux de travail intégré simplifié, permettant aux chercheurs de maximiser leur productivité. Il commence par la préparation de bibliothèques et l'enrichissement de l'exome à l'aide d'une trousse de bibliothèques telle qu'Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment. Les bibliothèques préparées sont chargées sur une Flow Cell, puis sur le système NextSeq 1000 ou

NextSeq 2000 pour le séquençage (figure 2). Les systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000 disposent de plusieurs configurations de Flow Cell de séquençage qui permettent aux chercheurs de faire évoluer leurs études d'exome en fonction de leurs besoins. L'analyse des données, y compris l'alignement et l'appel des variants, est facile à réaliser avec le pipeline d'enrichissement DRAGEN<sup>MC</sup> intégré à l'instrument ou dans le nuage avec BaseSpace<sup>MC</sup> Sequence Hub ou Illumina Connected Analytics.

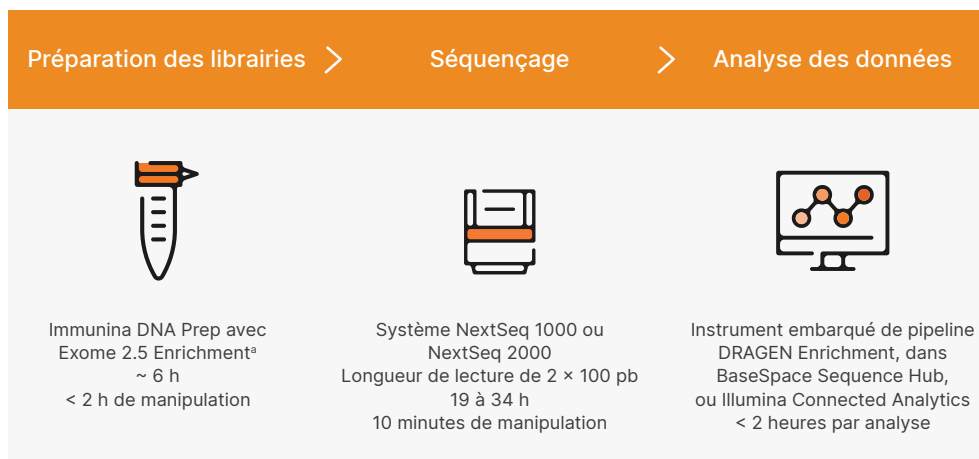


Figure 1 : Flux de travail de séquençage d'exome NextSeq 1000 et NextSeq 2000 : les systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000 font partie d'un flux de travail SNG simple et intégré qui fournit des données de séquençage d'exome extrêmement précises. Les durées varieront selon le type d'expérience et de test.

a. La configuration de la trousse comprend Illumina DNA Prep with Enrichment et Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel.

## Préparation de bibliothèques rationalisée et enrichissement de l'exome

Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment combine la préparation rapide de bibliothèques à l'aide de la chimie transposomique liée aux billes d'Illumina et l'enrichissement de l'exome avec le Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel. Offrant une couverture complète de l'exome à partir de seulement 10 ng d'entrée, Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment permet aux laboratoires d'analyser des échantillons d'ADN précieux, tout en produisant des taux d'uniformité et d'enrichissement élevés. La détection hautement sensible des variants à basse fréquence permet aux laboratoires d'identifier les véritables variants codants et les mutations somatiques rares.

La tagmentation sur billes élimine la nécessité d'un cisaillement mécanique pour fragmenter l'ADN. Cela rationalise le flux de travail pour une durée totale d'environ six heures avec moins de deux heures de manipulation. Les chercheurs peuvent également tirer parti de ces avantages en matière de flux de travail et de qualité des données en utilisant Illumina DNA Prep with Enrichment avec d'autres panels d'exomes. Choisissez le contenu du panel parmi divers fournisseurs, notamment Agilent, Twist Bioscience et Integrated DNA Technologies (IDT) (tableau 1).

## Systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000

Les systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000 fournissent puissance et polyvalence pour rationaliser et simplifier le flux de travail de séquençage de l'exome. Aucun lavage n'est nécessaire, il faut moins de 10 minutes pour charger et lancer le système. Pour le système NextSeq 2000, les réactifs P4 permettent le séquençage d'environ 41 échantillons en environ 34 heures avec des longueurs de lecture de 100 pb appariées.\*

Les systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000 sont compatibles avec une large gamme de trousse de préparation de bibliothèques d'Illumina et de tiers, et offrent une flexibilité inter-applications. Les chercheurs peuvent facilement passer d'un projet de séquençage à l'autre, comme le séquençage de l'exome, en lots et de l'ARN unicellulaire (RNA-Seq) et d'autres méthodes. Par exemple, les chercheurs peuvent associer le séquençage de l'exome au séquençage du transcriptome pour évaluer si les variants identifiés modifient l'expression des transcrits.

\* Le débit peut varier en fonction de nombreux facteurs, notamment la taille du panel d'exomes et la trousse de préparation de bibliothèques utilisée.

Tableau 1 : Spécifications du panel d'exomes

Caractéristiques du panel <sup>a</sup>	Illumina Exome 2.5 Panel <sup>b</sup>	Agilent	Twist	IDT
Taille du panel	37,5 Mb	36 Mb	33 Mb	39 Mb
Taille de la sonde	120 pb	S. O.	120 pb	120 pb
Type de sonde	ADNdb	ARN	ADNdb	ADNsb
Durée d'enrichissement (hybridation)	1,5 h	16 h	1,5 h	1,5 à 16 h
Bases de données utilisées pour la conception du panel d'exomes <sup>c</sup>				
RefSeq <sup>1</sup>	99,1 %	99,88 %	99,08 %	99,45 %
GENCODE <sup>2</sup>	98,02 %	97,29 %	96,01 %	96,82 %
CCDS <sup>3</sup>	99,90 %	99,91 %	99,76 %	99,67 %
UCSC de gènes connus <sup>4</sup>	99,89 %	98,72 %	97,63 %	98,13 %
ClinVar <sup>5</sup>	98,60 %	73,41 %	72,56 %	72,90 %

a. Taille du panel = longueur totale de la séquence dans les régions cibles; taille de la sonde = longueur de la sonde d'hybridation d'enrichissement (hybridation); type de sonde = les oligonucléotides de la sonde peuvent être l'ARN, l'ADN, un seul brin (ss) ou un double brin (ds).

b. Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel.

c. Les pourcentages font référence à la quantité de bases de données couvertes par chaque panel d'exomes.

Une large gamme de solutions de reséquençage ciblées Illumina personnalisables est également disponible pour valider les variants découverts à partir de n'importe quelle application de séquençage.

### Fournit de « véritables appels de variant de codage »

Un véritable variant de codage est une définition des bases précises qui diffère de la séquence de consensus au sein d'une région de codage. Il ne s'agit pas d'un faux positif (où un variant est appelé, mais n'existe pas vraiment) ou d'un faux négatif (où un variant qui existe réellement n'est pas appelé). Un système avec un taux d'appels faux positifs élevé nécessite une validation en aval approfondie, augmentant les coûts et le temps d'expérimentation. Un système avec un taux d'appel faux négatifs élevé ne parvient pas à détecter des résultats potentiellement importants, souvent dans des régions hautement répétitives ou qui contiennent des étirements d'homopolymère. L'obtention de véritables appels de variants de codage dépend de la préparation et de l'enrichissement de bibliothèques de haute qualité, de la précision du séquençage et de la précision de l'analyse secondaire.

## Allez plus loin avec la chimie XLEAP-SBS

Les systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000 sont alimentés par la chimie XLEAP-SBS, la chimie de séquençage la plus rapide, de la plus haute qualité et la plus robuste à ce jour. La chimie XLEAP-SBS sur les systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000 permet le débit de lecture le plus élevé et le prix le plus bas par lecture de tout séquenceur de paillasse Illumina. Les systèmes fournissent une précision d'au moins 85 % des bases supérieures à Q30<sup>†</sup> à 2 × 100 pb ([tableau 2](#)) et ont une précision élevée même dans les régions très difficiles (p. ex., régions riches en GC ou homopolymères), ce qui donne un pourcentage élevé de variants de codage réels. Les faibles taux de faux positifs et de faux négatifs réduisent considérablement le temps et le coût de la validation en aval. En offrant une qualité de données exceptionnelle, les systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000 offrent l'option idéale pour une étude complète de l'exome.

Grâce à la technologie éprouvée de SNG d'Illumina, les systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000 permettent aux chercheurs de comparer et d'intégrer les données générées sur tous les systèmes. Par exemple, les données de séquençage de l'exome NextSeq 1000 et NextSeq 2000 peuvent être intégrées aux données des études de suivi effectuées avec des panels ciblés ou des études de séquençage de l'exome à grande échelle exécutées sur la série NovaSeq<sup>MC</sup> X Series ([tableau 3](#)).

<sup>†</sup> Q30 = 1 erreur sur 1 000 définitions des bases ou une précision de 99,9 %.

## Analyse simplifiée avec l'analyse secondaire DRAGEN

Les laboratoires peuvent effectuer l'analyse des données de séquençage de l'exome à l'aide de l'analyse secondaire DRAGEN d'Illumina, une suite de pipelines d'analyse de données précis, complets et efficaces, intégrée à des systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000.<sup>‡</sup> Cette solution informatique primée de PrecisionFDA<sup>§</sup> utilise des algorithmes optimisés et accélérés par le matériel pour aider les utilisateurs à surmonter les goulots d'étranglement dans l'analyse des données et à réduire la dépendance aux experts informatiques externes.

Le pipeline d'enrichissement DRAGEN analyse les résultats des systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000 et effectue une définition précise des variants en moins de deux heures après la fin d'une analyse de séquençage ([figure 3](#)). Le pipeline fournit une précision de pointe dans la cartographie et l'appel des petits variants et est disponible en modes germinaux et somatiques<sup>6-8</sup>.

<sup>‡</sup> Le matériel DRAGEN est inclus dans les systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000. Une licence DRAGEN est incluse avec l'instrument et n'a pas besoin d'être achetée séparément.

<sup>§</sup> Les distinctions Meilleure performance pour les régions difficiles à mapper et Meilleure performance pour toutes les régions de comparaison sur les données de séquençage d'Illumina ont été accordées à l'analyse secondaire DRAGEN lors du 2020 PrecisionFDA Truth Challenge V2<sup>7,8</sup>.

Tableau 2 : Paramètres de performance pour les systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000 pour le séquençage de l'exome

	Lecture à paire de bases unique <sup>a</sup>	Longueur de lecture	Débit <sup>a</sup>	Durée de l'analyse <sup>b</sup>	Qualité des données <sup>c</sup>
NextSeq 1000/2000 P1 XLEAP-SBS Reagents <sup>d</sup>	100 millions	2 × 150 pb	30 Gb	17 h	≥ 85 % de bases au-dessus de Q30
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagents <sup>d</sup>	400 millions	2 × 100 pb	80 Gb	19 h	
NextSeq 2000 P3 XLEAP-SBS Reagents <sup>d,e</sup>	1,2 milliard	2 × 100 pb	240 Gb	31 h	
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagents <sup>e</sup>	1,7 milliard	2 × 100 pb	330 Gb	34 h	

a. Les données sur le rendement sont fondées sur le mode Flow Cell simple et l'utilisation d'une librairie de contrôle PhiX d'Illumina aux densités d'amplifiats prises en charge.

b. La durée d'analyse comprend la génération d'amplifiats, le séquençage et la définition des bases sur les systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000.

c. Les scores de qualité sont fondés sur une librairie de contrôle PhiX d'Illumina. La performance peut varier selon le type et la qualité de la librairie, la taille de l'insert, la concentration de chargement et autres facteurs expérimentaux. Le pourcentage de bases > Q30 est une moyenne calculée sur l'intégralité de l'analyse.

d. Réactifs XLEAP-SBS pour Flow Cell P1, P2 et P3 disponibles au 2e trimestre 2024.

e. Les réactifs P3 et P4 sont disponibles uniquement pour le système NextSeq 2000.

Avec l'application intégrée d'enrichissement DRAGEN, l'analyse peut être configurée pendant la planification des analyses, rationalisant ainsi le flux de travail de l'échantillon à la réponse. L'application d'enrichissement DRAGEN sur BaseSpace Sequence Hub et Illumina Connected Analytics offre des capacités avancées de visualisation des résultats et de tri des tables dans une interface intuitive adaptée aux utilisateurs nouveaux et expérimentés.

Le débit du pipeline d'enrichissement DRAGEN peut être directement saisi dans une large gamme d'outils d'analyse en aval disponibles dans BaseSpace Sequence Hub et Illumina Connected Analytics. Au-delà de l'analyse DRAGEN, les deux solutions en nuage comprennent une communauté croissante d'outils logiciels pour la visualisation, l'analyse et le partage.

### Assistance technique complète d'Illumina

Illumina fournit une équipe de soutien de catégorie mondiale composée de scientifiques expérimentés qui sont experts dans la préparation de bibliothèques, le séquençage et l'analyse. Cette équipe dévouée comprend des techniciens d'assistance sur le terrain (FSE) hautement qualifiés, des scientifiques des applications techniques (TAS), des scientifiques des applications de terrain (FAS), des ingénieurs de support système, des bio-informaticiens et des experts en réseaux informatiques, tous parfaitement familiarisés avec le séquençage de nouvelle génération (SNG) et les applications que les clients d'Illumina exécutent à travers le monde entier. [L'assistance technique](#) est disponible par téléphone cinq jours par semaine ou via l'assistance en ligne, offerte en tout temps, de partout dans le monde et en plusieurs langues.

Grâce à ce service et à cette assistance inégalés, Illumina aide les utilisateurs à maximiser l'efficacité de leurs systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000, à former les nouveaux employés et à apprendre les dernières techniques et meilleures pratiques.

Tableau 3 : Débit de séquençage de l'exome d'Illumina par système

Système de séquençage	Réactifs de séquençage	Nombre d'exomes par analyse <sup>a</sup>
Systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000	P1 300 cycles	~ 3
	P2 200 cycles	10
	P3 <sup>b</sup> 200 cycles	30
	P4 <sup>b</sup> 200 cycles	~ 41
NovaSeq X Series <sup>c</sup>	1.5B 200 cycles	~ 41
	10B 200 cycles	~ 250
	25B 300 cycles	~ 750 <sup>d</sup>

- a. On suppose que les exomes contiennent ~ 8 Gb par échantillon pour atteindre 100x couverture. Le débit peut varier en fonction de nombreux facteurs, notamment la taille du panel d'exomes et la trousse de préparation de bibliothèques utilisée.
- b. Les réactifs P3 et P4 sont disponibles uniquement pour le système NextSeq 2000.
- c. Le système NovaSeq X Plus peut analyser des Flow Cell uniques ou des doubles Flow Cell. Le système NovaSeq X peut analyser des Flow Cell uniques.
- d. Un maximum de 384 doubles index uniques est disponible. Pour la série NovaSeq X, le chargement indépendant des lignes permet le multiplexage d'un plus grand nombre d'échantillons.

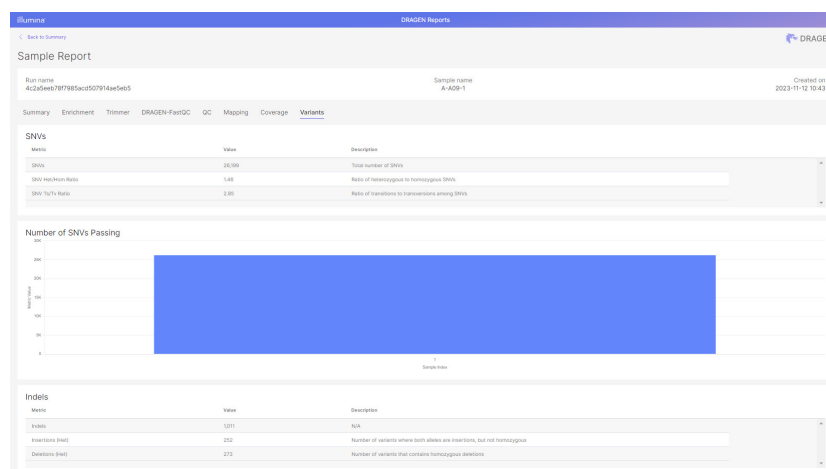


Figure 3 : Pipeline d'enrichissement DRAGEN : exemple de capture d'écran de la meilleure précision du secteur dans la cartographie et l'appel des petits variants avec le pipeline d'enrichissement DRAGEN, disponible à bord des systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000 ou sur le nuage avec BaseSpace Sequence Hub ou Illumina Connected Analytics.

## Résumé

La solution de séquençage de l'exome NextSeq 1000 et NextSeq 2000 offre un flux de travail intégré et évolutif pour l'identification des variants dans les régions de codage. La solution combine la puissance, la vitesse et la flexibilité des systèmes de séquençage NextSeq 1000 et NextSeq 2000 avec une chimie XLEAP-SBS hautement robuste, des options de préparation et d'enrichissement de bibliothèques de haute qualité et un logiciel d'analyse rapide et convivial.

## En savoir plus

[Séquençage des exomes](#)

[Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment](#)

[NextSeq 1000 and NextSeq 2000 Sequencing Systems](#)

[Analyse secondaire DRAGEN](#)

[Données de démonstration sur BaseSpace Sequence Hub](#)

## Références

1. NIH National Library of Medicine. RefSeq: NCBI Reference Sequence Database. [ncbi.nlm.nih.gov/refseq](https://ncbi.nlm.nih.gov/refseq). Mis à jour le 18 juillet 2023. Consulté le 25 août 2023.
2. The GENCODE Project. GENCODE: Encyclopedia of genes and gene variants. [encodegenes.org/](https://encodegenes.org/). Consulté le 25 août 2023.
3. NCBI website. Consensus coding sequences (CCDS) Database. [ncbi.nlm.nih.gov/projects/CCDS/CcidsBrowse.cgi](https://ncbi.nlm.nih.gov/projects/CCDS/CcidsBrowse.cgi). Mis à jour le 9 novembre 2022. Consulté le 25 août 2023.
4. University of California, Santa Cruz Genome Browser. UCSC Known Genes. [genome.ucsc.edu/](https://genome.ucsc.edu/). Mis à jour le 18 août 2023. Consulté le 25 août 2023.
5. NIH National Library of Medicine. ClinVar Database. [ncbi.nlm.nih.gov/clinvar](https://ncbi.nlm.nih.gov/clinvar). Mis à jour le 28 août 2023. Consulté le 28 août 2023.
6. Illumina. [Accuracy improvements in germline small variant calling with the DRAGEN Platform](#). Consulté le 25 août 2023.
7. PrecisionFDA website. 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). Consulté le 25 août 2023.
8. 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://illumina.com/science/genomics-research/dragen-wins-precisionfda-challenge-showcase-accuracy-gains.html). Consulté le 25 août 2023.

## Renseignements relatifs à la commande

Produit	N° de référence
NextSeq 2000 Sequencing System	20038897
NextSeq 1000 Sequencing System	20038898
Mise à niveau du NextSeq 1000 et NextSeq 2000	20047256
NextSeq 1000/2000 P1 XLEAP-SBS Reagent Kit (100 cycles) <sup>a,b</sup>	20100983
NextSeq 1000/2000 P1 XLEAP-SBS Reagent Kit (300 cycles) <sup>a,b</sup>	20100982
NextSeq 1000/2000 P1 XLEAP-SBS Reagent Kit (600 cycles) <sup>a,b</sup>	20100981
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (100 cycles) <sup>a,b</sup>	20100987
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (200 cycles) <sup>a,b</sup>	20100986
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (300 cycles) <sup>a,b</sup>	20100985
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (600 cycles) <sup>a,b</sup>	20100984
NextSeq 2000 P3 XLEAP-SBS Reagent Kit (100 cycles) <sup>a,b</sup>	20100990
NextSeq 2000 P3 XLEAP-SBS Reagent Kit (200 cycles) <sup>a,b</sup>	20100989
NextSeq 2000 P3 XLEAP-SBS Reagent Kit (300 cycles) <sup>a,b</sup>	20100988

a. Les trousse de réactifs XLEAP-SBS pour les instruments NextSeq 1000 et NextSeq 2000 sont expédiées et stockées à la même température que les trousse de réactifs SBS standard.

b. Réactifs XLEAP-SBS pour Flow Cell P1, P2 et P3 disponibles au 2e trimestre 2024. La configuration de la trousse comprend Illumina DNA Prep with Enrichment et Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel.

c. La configuration de la trousse comprend Illumina DNA Prep with Enrichment et Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel.

## Renseignements relatifs à la commande

Produit	N° de référence
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagent Kit (50 cycles) <sup>a</sup>	20100995
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagent Kit (100 cycles) <sup>a</sup>	20100994
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagent Kit (200 cycles) <sup>a</sup>	20100993
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagent Kit (300 cycles) <sup>a</sup>	20100992
NextSeq 1000/2000 XLEAP-SBS Read and Index Primers <sup>a</sup>	20112856
NextSeq 1000/2000 XLEAP-SBS Index Primer Kit <sup>a</sup>	20112858
NextSeq 1000/2000 XLEAP-SBS Read Primer Kit <sup>a</sup>	20112859
Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment, (S) Tagmentation Set B (96 échantillons, 12 niveaux) <sup>c</sup>	20077595
Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment, (S) Tagmentation Set D (96 échantillons, 12 niveaux) <sup>c</sup>	20077596
Illumina DNA Prep with Enrichment (S), Tagmentation (16 échantillons)	20025523
Illumina DNA Prep with Enrichment (S), Tagmentation (96 échantillons)	20025524
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set A, Tagmentation (96 index, 96 échantillons)	20091654
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set B, Tagmentation (96 index, 96 échantillons)	20091656
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set C, Tagmentation (96 index, 96 échantillons)	20091658
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set D, Tagmentation (96 index, 96 échantillons)	20091660

a. Les trousse de réactifs XLEAP-SBS pour les instruments NextSeq 1000 et NextSeq 2000 sont expédiées et stockées à la même température que les trousse de réactifs SBS standard.

b. Réactifs XLEAP-SBS pour Flow Cell P1, P2 et P3 disponibles au 2e trimestre 2024. La configuration de la trousse comprend Illumina DNA Prep with Enrichment et Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel.

c. La configuration de la trousse comprend Illumina DNA Prep with Enrichment et Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel.



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

© 2024 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-00479 FRA v3.0