

Appel des variants de haute qualité avec l'instrument NovaSeq^{MC} 6000Dx

Bénéficiez d'un flux de travail
validé pour un appel des variants
germinaux et somatiques d'une
grande précision

illumina^{MD}

Introduction

L'instrument NovaSeq 6000Dx marque le début d'une nouvelle ère pour les laboratoires cliniques. Ce système, qui peut générer jusqu'à 6 Tb de données en moins de deux jours, offre la puissance et l'évolutivité du séquençage de nouvelle génération (SNG) à débit élevé dans une plateforme réglementée par la Food and Drug Administration (FDA) et portant le marquage Conformité Européenne (CE) pour les applications de diagnostic *in vitro* (DIV) (figure 1). L'instrument NovaSeq 6000Dx est compatible avec la nouvelle solution de préparation de bibliothèques de DIV d'Illumina pour le séquençage ciblé, Illumina DNA Prep with Enrichment Dx. Cette trousse est dotée de la tagmentation sur billes innovante, qui utilise des transposomes comme agents médiateurs pour produire une réaction normalisée. Associée à une seule étape d'hybridation simplifiée, Illumina DNA Prep with Enrichment Dx offre une solution rapide de préparation de bibliothèques et d'enrichissement à des fins de DIV.

Cette note d'application présente une solution de l'ADN aux données qui associe Illumina DNA Prep with Enrichment Dx avec l'instrument NovaSeq 6000Dx à l'analyse secondaire sur un DRAGEN[™] Server apparié avec l'application Illumina DNA Prep with Enrichment Dx. Cette solution génère des données de séquençage de haute qualité et une détection sensible des variants germinaux et somatiques.

Méthodes

Préparation des échantillons

Pour l'évaluation de la détection des variants germinaux, l'ADN génomique (ADNg) a été extrait des échantillons NA12877-NA12880 de l'arbre généalogique 1463 du CEPH/UTAH (Coriell Institute).

Pour l'évaluation de la détection des variants somatiques, l'ADN a été extrait des traitements FFIP des échantillons NA12877 (Coriell Institute, référence n° GM12877) et NA12878 (Coriell Institute, référence n° GM12878) préparés par Horizon Diagnostics.

Préparation des bibliothèques

Les bibliothèques ont été préparées à l'aide d'Illumina DNA Prep with Enrichment Dx à partir de 50 ng d'entrée d'ADN pour la détection des variants germinaux et somatiques.

Séquençage

Les bibliothèques préparées ont été séquencées sur l'instrument NovaSeq 6000Dx en mode DIV en utilisant une longueur de lecture de 2 × 151 pb. L'analyse des données avec l'application DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx a été configurée dans le cadre de la planification de l'analyse de séquençage avec Illumina Run Manager.

Analyse des données

Les données de séquençage ont été analysées à l'aide de l'application DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx sur l'instrument NovaSeq 6000Dx. L'analyse des données a été configurée dans le cadre de l'analyse de séquençage définie dans Illumina Run Manager et a été lancée automatiquement une fois l'analyse de séquençage terminée, éliminant ainsi la nécessité de points de contact manuels pour lancer l'analyse après le séquençage (figure 2).

Les durées d'analyse ont été calculées pour les Flow Cell de DIV S2 et S4 et comprenaient la conversion BCL, la cartographie/l'alignement et l'appel des variants au sein du module d'analyse DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx (tableau 1).

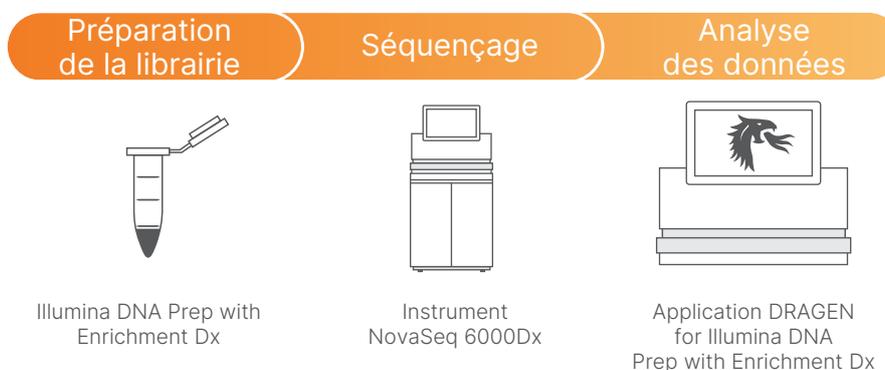


Figure 1 : Flux de travail de l'appel des variants : l'instrument NovaSeq 6000Dx fait partie d'un flux de travail intégré en trois étapes qui comprend la préparation des bibliothèques, le séquençage à débit élevé en mode DIV ou RUO ainsi que l'analyse secondaire accélérée des données avec un DRAGEN Server apparié.

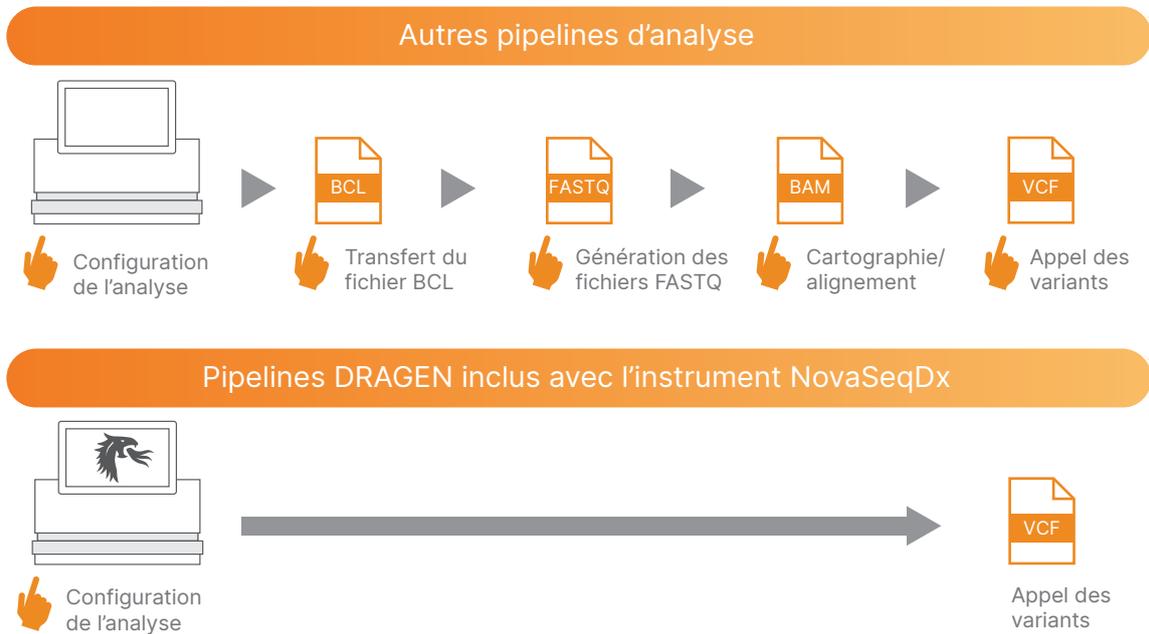


Figure 2 : Moins de points de contact avec la plateforme DRAGEN : les autres pipelines d'analyse nécessitent plusieurs points de contact manuels pour exécuter l'analyse après le séquençage. La plateforme DRAGEN automatise bon nombre de ces étapes, réduisant les points de contact manuels lors de la configuration initiale de l'analyse de séquençage et de l'analyse tertiaire en aval.

Les fichiers FASTQ ont été compressés avec DRAGEN ORA Compression, une option qui peut être activée dans le module d'analyse DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx, offrant des fichiers environ cinq fois plus petits, des transferts de fichiers plus rapides et des coûts de stockage de données réduits (figure 3).

Tableau 1 : Durées d'analyse sur le DRAGEN Server

Paramètre	Flow Cell S2	Flow Cell S4
Flux de travail	Variants germinaux	Variants somatiques
Nombre d'échantillons par Flow Cell ^a	47	47
Durée d'analyse ^b	4,3 heures	9,8 heures

a. Échantillons d'enrichissement humains avec un panel d'enrichissement de 1,9 Mb.

b. Moyenne de 8 analyses de séquençage.

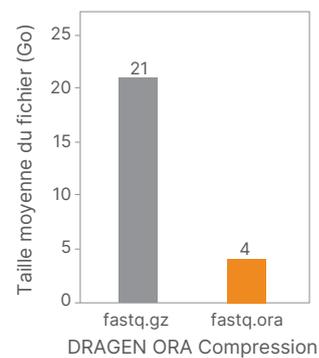


Figure 3 : Compression DRAGEN des fichiers FASTQ : DRAGEN ORA Compression réduit la taille du fichier FASTQ d'environ 5,2 fois. Moyenne de 98 fichiers FASTQ analysés sur une Flow Cell S4 dans un flux de travail somatique.

Résultats

Appel des variants de grande précision

La précision de l'appel des variants a été mesurée par divers indicateurs qui ont évalué la précision de l'appel des variants par rapport à une référence connue :

- **Concordance positive en pourcentage (CPP) :** correspond à la proportion de locus classifiés comme étant des variants par une méthode de référence qui ont été correctement analysés par le test.
- **Concordance négative en pourcentage (CNP) :** correspond à la proportion de locus classifiés comme étant de type sauvage par une méthode de référence qui ont été correctement analysés par le test.
- **Pourcentage global de concordance (PGC) :** correspond à la proportion de locus correctement analysés par le test relativement à une méthode de référence.
- **Pourcentage d'appels négatifs :** correspond au nombre d'observations dépassant la référence comme résultat à une position divisé par le nombre total d'observations testées, à l'exclusion des observations non valides ou celles filtrées comme étant de faible profondeur.

- **Pourcentage d'appels positifs :** correspond au nombre d'observations avec un variant détecté divisé par le nombre total d'observations testées, à l'exclusion des observations non valides ou celles filtrées comme étant de faible profondeur.

Des données de séquençage de haute qualité ont été obtenues, ce qui permet d'obtenir une grande exactitude et une grande précision pour l'appel des variants germinaux et somatiques ([tableau 2](#), [tableau 3](#)).

Tableau 3 : Indicateurs de précision pour la détection des variants

Flux de travail	Indicateur	Résultat
Variants germinaux	Pourcentage d'appels négatifs	100 %
	Pourcentage d'appels positifs	99,7 %
Variants somatiques	Pourcentage d'appels négatifs	100 %
	Pourcentage d'appels positifs	99,2 %

Tableau 2 : Indicateurs d'exactitude pour la détection des variants germinaux et somatiques

Critères	Nbre d'observations ^a	Résultat des observations ^b	Résultat en fonction de l'analyse ^c
CPP pour les SNV germinaux	846	99,8	99,9
CPP pour insertions germinales	846	97,9	> 99,9
CPP pour les suppressions germinales	846	96,9	99,9
CNP pour la détection des variants germinaux	846	> 99,9	> 99,9
PGC pour la détection des variants germinaux	846	> 99,9	> 99,9
CPP pour les SNV somatiques	846	99,8	98,9
CPP pour les insertions somatiques	846	100	100
CPP pour les suppressions somatiques	846	100	100
CNP pour la détection des variants somatiques	846	> 99,9	> 99,9
PGC pour la détection des variants somatiques	846	> 99,9	> 99,9

a. Calculées en fonction du nombre d'échantillons par analyse (47) × nombre d'analyses (18) = 846.

b. Valeur la plus faible observée par réplicat d'échantillon lors des 18 analyses.

c. Valeur la plus faible lorsque les données provenant de chacune des analyses sont analysées de façon regroupée.

Résumé

Cette note d'application décrit la précision et l'efficacité exceptionnelles d'un flux de travail validé de l'ADN aux données à l'aide d'Illumina DNA Prep with Enrichment Dx, de l'instrument NovaSeq 6000Dx et d'un DRAGEN Server apparié pour l'appel des variants germinaux et somatiques.

En savoir plus

Instrument NovaSeq 6000Dx, illumina.com/systems/sequencing-platforms/novaseq-6000dx

Illumina DNA Prep with Enrichment Dx, illumina.com/products/by-type/ivd-products/dna-prep-enrichment-dx

Déclarations relatives à l'utilisation prévue

Utilisation prévue de l'instrument NovaSeq 6000Dx (Union européenne/autre)

L'instrument NovaSeq 6000Dx est destiné au séquençage de bibliothèques d'ADN lorsqu'il est utilisé dans le cadre de tests de diagnostic *in vitro* (DIV). L'instrument NovaSeq 6000Dx est destiné à être utilisé avec les réactifs de DIV enregistrés, homologués ou approuvés ainsi qu'avec le logiciel d'analyse.

Utilisation prévue de l'instrument NovaSeq 6000Dx (États-Unis)

L'instrument NovaSeq 6000Dx est destiné au séquençage ciblé de bibliothèques d'ADN provenant d'ADN génomique humain extrait de sang total périphérique ou de tissus fixés au formol et imprégnés à la paraffine (FFIP) à utiliser avec les tests de diagnostic *in vitro* (DIV). L'instrument NovaSeq 6000Dx n'est pas destiné au séquençage de génome entier ou *de novo*. L'instrument NovaSeq 6000Dx est destiné à être utilisé avec les réactifs de DIV enregistrés, homologués ou approuvés ainsi qu'avec le logiciel d'analyse.

Illumina DNA Prep with Enrichment Dx (Union européenne/autre)

Illumina DNA Prep with Enrichment Dx est un ensemble de réactifs et de consommables utilisés pour préparer les bibliothèques d'échantillons à partir d'ADN génomique dérivé de cellules et de tissus humains. Des panels de sondes fournis par l'utilisateur sont nécessaires pour la préparation de bibliothèques qui ciblent des régions génomiques d'intérêt spécifiques. Les bibliothèques d'échantillons ainsi générées sont destinées aux systèmes de séquençage d'Illumina.

Illumina DNA Prep with Enrichment Dx (États-Unis)

Illumina DNA Prep with Enrichment Dx Kit est un ensemble de réactifs et de consommables utilisés dans la préparation de bibliothèques d'échantillons à base d'ADN extrait de sang total périphérique et de tissus fixés au formol et inclus en paraffine (FFIP). Des panels de sondes fournis par l'utilisateur sont nécessaires pour la préparation de bibliothèques qui ciblent des régions génomiques d'intérêt spécifiques. Les bibliothèques d'échantillons ainsi générées sont destinées aux systèmes de séquençage d'Illumina.

illumina^{MD}

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

© 2022 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-00770 FRA v1.0