

# Illumina Genomics Architecture consente di effettuare studi PopGen con Illumina DNA PCR-Free Prep

Prestazioni uniformi per la  
preparazione delle librerie,  
grazie all'ottimizzazione  
dei flussi di lavoro WGS



## Introduzione

La tecnologia di sequenziamento di nuova generazione (NGS, Next-Generation Sequencing) di Illumina fornisce dati accurati e di alta qualità e consente un'ampia gamma di applicazioni in genomica, trascrittomica ed epigenomica. Il flusso di lavoro NGS procede dalla preparazione delle librerie al sequenziamento, fino all'analisi e all'interpretazione dei dati. Il portafoglio di prodotti Illumina comprende una gamma di componenti concepiti per l'intero flusso di lavoro, che si occupano delle diverse aree di applicazione possibili. A causa della diversità dei prodotti Illumina, alcuni nuovi clienti ritengono che l'integrazione di singoli componenti in un unico flusso di lavoro (isolamento del materiale genetico attraverso la segnalazione delle varianti) sia dispendiosa in termini di risorse e tempo. Inoltre, sebbene molti flussi di lavoro Illumina siano compatibili con l'automazione, alcuni clienti sono intimiditi dal livello di esperienza tecnica richiesta per integrare e ottimizzare i metodi automatizzati nelle pratiche esistenti.

Illumina Genomics Architecture (IGA, architettura genomica Illumina) affronta queste complessità offrendo un **framework flessibile** standardizzato e modulare per l'adozione e l'implementazione rapide di **flussi di lavoro NGS "dal DNA alla risposta"** compatibili con l'automazione per le applicazioni di indagine e per quelle di ricerca clinica. L'IGA si basa sull'esperienza acquisita assistendo i clienti nell'implementazione di flussi di lavoro "dal DNA ai dati" per i programmi di sequenziamento dell'intero esoma (WES, whole-exome sequencing), di sequenziamento dell'intero genoma (WGS, whole-genome sequencing) e di genomica della popolazione (PopGen, Population Genomics) ([Figura 1](#)).

Un programma che sfrutta i vantaggi della IGA è il [progetto SG100K](#). SG100K nasce da una collaborazione tra Illumina e Precision Health Research Singapore (PRECISE) finalizzata a sequenziare i genomi di 100.000 individui sani a Singapore per comprendere meglio la diversità genomica asiatica. Questa nota sull'applicazione presenta i dati WGS interni generati da operatori indipendenti in diversi siti nel Regno Unito e a Singapore che valutano gli script all'interno di IGA per automatizzare il flusso di lavoro NGS nell'ambito del progetto SG100K.

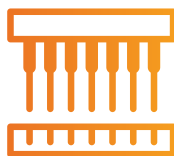
## Metodi

IGA dispone di script automatizzati dedicati alla preparazione delle librerie e alle integrazioni software per automatizzare e semplificare il sequenziamento e l'analisi dei dati.

### Preparazione delle librerie

Le librerie di sequenziamento sono state preparate utilizzando Illumina DNA PCR-Free Prep (Illumina, n. di catalogo 20041794) da 400 ng di DNA genomico (gDNA, genomic DNA) di alta qualità estratto da campioni di sangue prelevati da individui sani registrati come partecipanti al progetto SG100K. La preparazione delle librerie è stata automatizzata utilizzando la piattaforma di manipolazione dei liquidi Hamilton STAR.

Preparazione  
delle librerie



Illumina DNA PCR-Free  
Prep con robot per  
la manipolazione dei liquidi

Sequenziamento



NovaSeq 6000 System

Analisi dei dati



BaseSpace Sequence Hub  
Pipeline DRAGEN Germline

Figura 1. Flusso di lavoro Illumina Genomics Architecture WGS: IGA supporta un flusso di lavoro dal "DNA ai dati" per WGS che integra la preparazione automatizzata delle librerie con Illumina DNA PCR-Free Prep, il sequenziamento su NovaSeq 6000 System e l'analisi con DRAGEN Germline Pipeline.

## Sequenziamento

Le librerie preparate sono state sequenziate su NovaSeq™ 6000 System (Illumina, n. di catalogo 20012850) con una configurazione della corsa di 2 × 151 bp. Sono stati analizzati ventiquattro campioni per cella a flusso S4 a una copertura di 30× (Illumina, n. di catalogo 20028312). All'interno del flusso di lavoro automatizzato con IGA, Clarity™ LIMS software ha indicato alla piattaforma di gestione dei liquidi di eseguire il raggruppamento in pool in massa, la denaturazione e il caricamento delle librerie su NovaSeq 6000 System e ha inviato le informazioni richieste per avviare automaticamente la corsa di sequenziamento.

## Analisi dei dati

Al termine della corsa di sequenziamento, i dati sono stati trasmessi automaticamente a BaseSpace™ Sequence Hub per l'analisi con DRAGEN™ Germline pipeline v3.7.8. Per l'analisi statistica e per tracciare i grafici è stato utilizzato il JMP software.

## Risultati

Per valutare gli script all'interno di IGA al fine di automatizzare e semplificare un flusso di lavoro WGS con Illumina DNA PCR-Free Prep, è stata utilizzata l'analisi della varianza (ANOVA, Analysis of Variance) per confrontare i dati di sequenziamento ottenuti da operatori indipendenti in diversi siti a Singapore e nel Regno Unito. I risultati hanno dimostrato prestazioni attendibili e una variabilità minima tra gli operatori indipendenti che implementano gli script del flusso di lavoro IGA utilizzando strumentazione separata in diversi siti (Figura 2 e Tabella 1).

Tabella 1. Riepilogo della coerenza dei dati con IGA

Parametro	Valore medio ± deviazione standard
<b>Metrica chiave delle prestazioni (191 campioni<sup>a</sup>)</b>	
Copertura autosomica media	36,39 ± 5,9%
Percentuale di genoma con copertura (≥ 15×)	94,72 ± 7,8%
Basi Q30	102,1 ± 16,7 Gbp
Percentuale di identificabilità autosomica	97,05 ± 7,1%
Lunghezza mediana dell'inserzione	459,4 ± 20,2 bp
Contaminazione stimata del campione	0,001 ± 0,0002
<b>Analisi di SNV<sup>b</sup> (99 campioni)</b>	
Richiamo di SNV	99,84 ± 0,11%
Precisione di SNV	99,83 ± 0,03%
Richiamo delle indel	99,58 ± 0,31%
Precisione delle indel	99,66 ± 0,15%

a. DNA estratto da Coriell.  
b. In base ai dati di un singolo campione vero, NA12878.

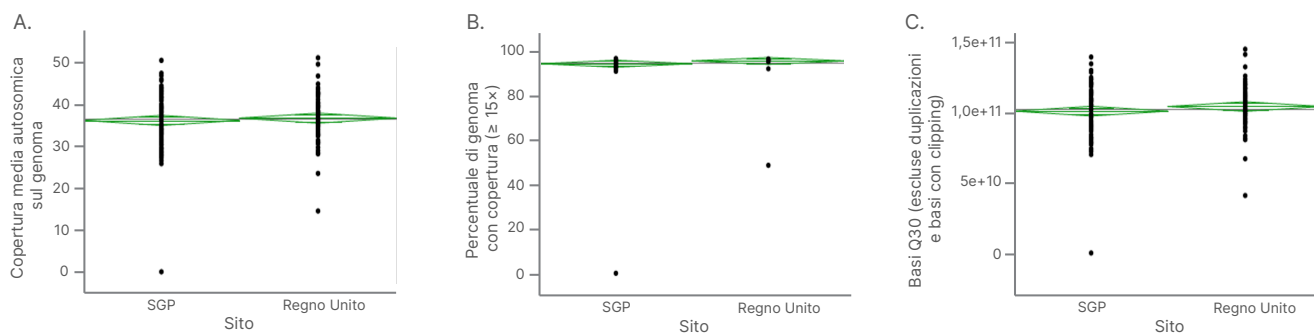


Figura 2. Prestazioni e coerenza dei dati con operatori indipendenti in diversi siti: l'ANOVA dei dati di sequenziamento su Singapore (SGP) e Regno Unito (UK) ha mostrato prestazioni altamente coerenti misurate mediante (A) copertura autosomica media, (B) percentuale di genoma con ≥ 15× e (C) basi Q30 (escluse le basi sottoposte a clipping e le duplicazioni).

## Riepilogo

IGA offre un framework flessibile standardizzato e modulare che consente di adottare rapidamente flussi di lavoro NGS "dal DNA alla risposta" compatibili con l'automazione. L'implementazione di IGA con Illumina DNA PCR-Free Prep for WGS consente la preparazione delle librerie e il raggruppamento in pool in giornata di 24 campioni per cella a flusso S4 e il sequenziamento per ottenere una copertura genomica di 30x. Come parte del programma PopGen SG100K, IGA offre prestazioni altamente coerenti e affidabili per tutti gli operatori indipendenti dei diversi siti. Questi risultati dimostrano la capacità di IGA di automatizzare i flussi di lavoro e di fornire prestazioni affidabili per i metodi NGS.

## Maggiori informazioni

[Illumina Genomics Architecture](#)

[Illumina DNA PCR-Free Prep](#)

[NovaSeq 6000 System](#)

[Analisi secondaria DRAGEN](#)



Numero verde 1.800.809.4566 (U.S.A.) | Tel. +1.858.202.4566  
[techsupport@illumina.com](mailto:techsupport@illumina.com) | [www.illumina.com](http://www.illumina.com)

© 2023 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](http://www.illumina.com/company/legal.html).

M-GL-01991 ITA v1.0