

ILLUMINA Genomics Architecture ermöglicht PopGen-Studien mit Illumina DNA PCR-Free Prep

Konsistente
Bibliotheksvorbereitungs-
leistung durch
die Automatisierung
von WGS-Workflows



Einleitung

Die NGS-Technologie (Next-Generation Sequencing, Sequenzierung der nächsten Generation) von Illumina liefert hochwertige, hochgenaue Daten und ermöglicht eine breite Palette an Anwendungen in den Bereichen Genomik, Transkriptomik und Epigenomik. Der NGS-Workflow umfasst Bibliotheksvorbereitung und Sequenzierung bis hin zu Datenanalyse und Dateninterpretation. Das Produktportfolio von Illumina deckt eine Vielzahl von Komponenten im gesamten Workflow und damit zahlreiche Anwendungsbereiche ab. Aufgrund der Vielfalt der Illumina-Produkte empfinden manche Neukunden die Integration einzelner Komponenten in einen einzigen Workflow (von der Isolierung genetischen Materials bis hin zur Erstellung von Variantenberichten) mühsam und zeitaufwendig. Auch wenn viele Illumina-Workflows automatisiert werden können, fehlt manchen Kunden das technische Know-how, das für die Integration und Optimierung automatisierter Methoden in ihre vorhandenen Verfahren erforderlich ist.

Illumina Genomics Architecture (IGA) bewältigt diese Herausforderungen durch ein standardisiertes, modulares und [flexibles Framework](#) zur schnellen Einführung und Implementierung von automatisierungsfähigen [DNA-zu-Ergebnis-NGS-Workflows](#) für Anwendungen in Wissenschaft und klinischer Forschung. IGA basiert auf Erfahrungen bei der Unterstützung von Kunden bei der Implementierung von DNA-zu-Daten-Workflows für Programme in den Bereichen Exomsequenzierung (WES, Whole-Exome Sequencing), Genomsequenzierung (WGS, Whole-Genome Sequencing) und Populationsgenomik (PopGen, Population Genomics) ([Abbildung 1](#)).

Das [SG100K-Projekt](#) hat beispielsweise von IGA profitiert. SG100K ist ein Gemeinschaftsprojekt von Illumina und Precision Health Research Singapore (PRECISE), bei dem Genome von 100.000 gesunden Personen in Singapur sequenziert werden, um mehr Informationen zur genomischen Vielfalt Asiens zu erhalten. Dieser Anwendungshinweis enthält interne WGS-Daten von unabhängigen Bedienern an unterschiedlichen Standorten in Großbritannien und Singapur, die Skripte innerhalb von IGA auswerten, um den NGS-Workflow im Rahmen des SG100K-Projekts zu automatisieren.

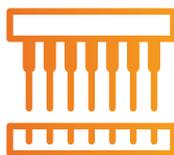
Methoden

In IGA sind dedizierte Roboterskripte für die Bibliotheksvorbereitung und Softwareintegrationen zur Automatisierung und Optimierung der Sequenzierung und Datenanalyse enthalten.

Bibliotheksvorbereitung

Sequenzierungsbibliotheken wurden mit Illumina DNA PCR-Free Prep (Illumina, Katalog-Nr. 20041794) aus 400 ng hochwertiger genomischer DNA (gDNA) aus Blutproben vorbereitet, die gesunden Personen entnommen wurden, die am SG100K-Projekt teilnehmen. Die Bibliotheksvorbereitung wurde mit der Hamilton STAR-Plattform für Liquid-Handling automatisiert.

Bibliotheken
vorbereiten



Illumina DNA PCR-Free Prep
mit Liquid-Handling-Roboter

Sequenzieren



NovaSeq 6000 System

Daten analysieren



BaseSpace Sequence Hub
DRAGEN Germline-Pipeline

Abbildung 1: Illumina Genomics Architecture WGS-Workflow: IGA unterstützt einen DNA-zu-Daten-Workflow für WGS, der die automatisierte Bibliotheksvorbereitung mit Illumina DNA PCR-Free Prep, die Sequenzierung auf dem NovaSeq 6000 System und die Analyse mit der DRAGEN Germline-Pipeline integriert.

Sequenzierung

Die vorbereiteten Bibliotheken wurden auf dem NovaSeq™ 6000 System (Illumina, Katalog-Nr. 20012850) mit einer Laufkonfiguration von 2 × 151 bp sequenziert. Pro S4-Fließzelle wurden 24 Proben mit 30-facher Coverage verarbeitet (Illumina, Katalog-Nr. 20028312). Beim automatisierten Workflow mit IGA wies die Clarity™ LIMS-Software die Liquid-Handling-Plattform an, das Massenpooling, die Denaturierung und das Laden der Bibliothek auf das NovaSeq 6000 System zu übernehmen. Außerdem wurden die für den automatischen Start des Sequenzierens erforderlichen Informationen übermittelt.

Datenanalyse

Nach Abschluss des Sequenzierens wurden die Daten automatisch an BaseSpace™ Sequence Hub zur Analyse mit der DRAGEN™ Germline-Pipeline v3.7.8 gestreamt. Die JMP-Software wurde für die statistische Analyse und die Darstellung von Diagrammen verwendet.

Ergebnisse

Die interne IGA-Skriptauswertung für die Automatisierung und Optimierung eines WGS-Workflows mit Illumina DNA PCR-Free Prep wurde mithilfe von Analysis of Variance (ANOVA) durchgeführt. So konnten Sequenzierungsdaten von unabhängigen Bedienern an verschiedenen Standorten in Singapur und Großbritannien verglichen werden. Die Ergebnisse haben eine zuverlässige Leistung und eine minimale Variabilität zwischen unabhängigen Bedienern gezeigt, wenn IGA-Workflow-Skripte mit unterschiedlichen Geräten an verschiedenen Standorten implementiert wurden (Abbildung 2 und Tabelle 1).

Tabelle 1: Zusammenfassung der Datenkonsistenz mit IGA

Parameter	Mittelwert ± Standardabweichung
Leistungskennzahlen (191 Proben^a)	
Mittlere Autosomen-Coverage	36,39 ± 5,9 %
Prozentsatz der Genom-Coverage (≥ 15-fach)	94,72 ± 7,8 %
Q30-Basen	102,1 ± 16,7 Gbp
Prozentsatz der Callfähigkeit bei Autosomen	97,05 ± 7,1 %
Mittlere Insertionslänge	459,4 ± 20,2 bp
Geschätzte Probenkontamination	0,001 ± 0,0002
SNV-Analyse^b (99 Proben)	
SNV-Recall	99,84 ± 0,11 %
SNV-Präzision	99,83 ± 0,03 %
Indel-Recall	99,58 ± 0,31 %
Indel-Präzision	99,66 ± 0,15 %

a. Extrahierte DNA aus Coriell.
b. Basierend auf Daten aus einer Single Source Sample (Einzelquellprobe), NA12878.

Zusammenfassung

IGA bietet ein standardisiertes, modulares und flexibles Framework zur schnellen Einführung von automatisierungsfähigen DNA-zu-Ergebnis-NGS-Workflows. Durch die IGA-Implementierung mit Illumina DNA PCR-Free Prep für WGS-Workflows

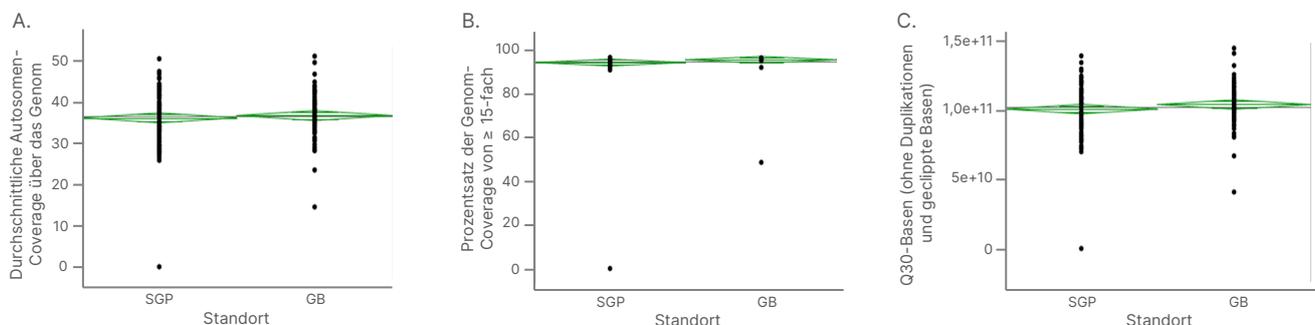


Abbildung 2: Datenleistung und -konsistenz mit unabhängigen Bedienern an verschiedenen Standorten: ANOVA der Sequenzierungsdaten in Singapur (SGP) und Großbritannien (GB) zeigte eine äußerst konsistente Leistung, gemessen anhand von (A) durchschnittlicher Autosomen-Coverage, (B) Prozentsatz der Genom-Coverage von ≥ 15-fach und (C) Q30-Basen (ohne geclippte Basen und Duplikationen).

sind Bibliotheksvorbereitung und Pooling von 24 Proben pro S4-Fließzelle und Sequenzierung am selben Tag möglich zur Erzielung einer 30-fachen Genom-Coverage. Beim PopGen SG100K-Programm ermöglicht IGA über mehrere unabhängige Bediener an verschiedenen Standorten hinweg eine äußerst konsistente und zuverlässige Leistung. Diese Ergebnisse zeigen die Leistungsfähigkeit von IGA für die Automatisierung von Workflows und die Sicherstellung einer zuverlässigen Leistung für NGS-Methoden.

Weitere Informationen

[Illumina Genomics Architecture](#)

[Illumina DNA PCR-Free Prep](#)

[NovaSeq 6000 System](#)

[Sekundäranalyse mit DRAGEN](#)



+1.800.809.4566 (USA, gebührenfrei) | +1.858.202.4566 (Tel. außerhalb der USA)
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2023 Illumina, Inc. Alle Rechte vorbehalten. Alle Marken sind Eigentum von Illumina, Inc. bzw. der jeweiligen Inhaber. Spezifische Informationen zu Marken finden Sie unter www.illumina.com/company/legal.html.
M-GL-01991 DEU v1.0