

Solution de séquençage d'ARN NextSeq^{MC} 1000 et NextSeq 2000

Flux de travail intégré rentable
pour l'expression génique et
l'analyse du transcriptome

- Portefeuille innovant de préparation de bibliothèques pour les analyses à l'échelle du transcriptome avec flexibilité des échantillons et des entrées
- Débit de séquençage évolutif pour prendre en charge un large éventail d'applications de RNA-Seq
- Analyse secondaire DRAGEN intégrée pour une efficacité optimale du flux de travail



Introduction

La solution de séquençage d'ARN NextSeq 1000 et NextSeq 2000 (RNA-Seq) offre une vue claire et complète du transcriptome, le rendant plus accessible que jamais. La solution utilise la technologie de séquençage de nouvelle génération (SNG) d'Illumina, la chimie XLEAP-SBS^{MC} de séquençage optimisé par synthèse (SBS), un vaste portefeuille de solutions de préparation de bibliothèques et des outils d'analyse de données pour fournir des flux de travail rationalisés et efficaces (figure 1). La flexibilité et l'évolutivité des systèmes de séquençage NextSeq 1000 et NextSeq 2000 (figure 2) permettent aux utilisateurs de traiter efficacement une gamme de volumes d'échantillons, garantissant ainsi un équilibre optimal entre le budget de lecture et le débit des échantillons. Les solutions de RNA-Seq NextSeq 1000 et NextSeq 2000 prennent en charge une gamme d'applications d'ARN, du profilage de base de l'expression génique aux analyses complexes du transcriptome entier.

Avantages du RNA-Seq

Le RNA-Seq est rapidement apparu comme l'approche primordiale du profilage du transcriptome à débit élevé^{1,2}. Le RNA-Seq fournit un aperçu détaillé du transcriptome à un moment donné et offre de nombreux avantages par rapport à la PCR quantitative, notamment :

- Un modèle expérimental sans hypothèse, ne nécessitant aucune connaissance préalable du transcriptome
- Une puissance de découverte pour détecter les transcrits connus et les nouveaux
- Une capacité de débit élevée pour quantifier des centaines voire des milliers de régions lors de chaque test
- Une large plage dynamique, fournissant une mesure plus précise de l'expression génique
- Plus de données par test, fournissant des informations complètes sur la séquence et les variants



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.



Figure 1 : Flux de travail de RNA-Seq 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'ARN extrêmement précises. Les durées varieront selon le type d'expérience et de test.

Flux de travail SNG intégré

Les systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000 prennent en charge un vaste portefeuille de solutions de préparation de bibliothèques, répondant à un large éventail de besoins en matière d'étude du transcriptome. Les chercheurs peuvent choisir parmi plusieurs trousseaux de préparation de bibliothèques, ce qui leur permet de trouver celle qui correspond le mieux à leurs besoins expérimentaux et aide à surmonter les défis courants tels que l'ARN de démarrage de mauvaise qualité ou la disponibilité limitée des échantillons.

Préparation avancée de bibliothèques d'ARN d'Illumina

Fort d'une expérience bien établie dans le domaine du séquençage de l'ARN, Illumina propose des solutions fiables et éprouvées pour la préparation de bibliothèques d'ARN. Les avancées de la gamme de trousseaux de préparation de bibliothèques d'ARN d'Illumina fournissent les données de haute qualité dont les chercheurs ont besoin avec un flux de travail rationalisé qui peut être effectué en un seul quart de travail standard. Illumina propose trois trousseaux de préparation de bibliothèques d'ARN ([tableau 1](#)) :

- **Illumina Stranded Total RNA Prep** permet l'analyse du transcriptome entier à l'aide de Ribo-Zero^{MC} Plus, capturant ainsi l'ARN codant et plusieurs formes d'ARN non codant pour obtenir une image complète de la biologie. Illumina Stranded Total RNA Prep offre également une performance robuste lorsque vous travaillez avec des échantillons de faible qualité fixés au formol et imprégnés à la paraffine (FFIP).
- **Illumina Stranded mRNA Prep** offre une option rentable pour le codage de l'analyse axée sur l'ARN. Illumina Stranded mRNA Prep fonctionne avec tout ARN eucaryote provenant d'échantillons de haute qualité.*
- **Illumina RNA Prep with Enrichment** apporte la technologie de transposome lié aux billes (BLT) à RNA-Seq et fournit un flux de travail rapide d'enrichissement d'ARN d'une journée avec une durée de manipulation minimale (< 2 heures). Lorsqu'elles sont séquencées sur les systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000, les données d'ARN sans brin résultantes fournissent des renseignements précieux sur un grand nombre de positions génomiques.

* Numéro d'intégrité de l'ARN (RIN) > 8. Pour les échantillons FFIP ou de plus faible qualité, utilisez Illumina RNA Prep with Enrichment ou Illumina Stranded Total RNA Prep.

Tableau 1 : Trousseaux de préparation de bibliothèques d'ARN d'Illumina

	Illumina Stranded Total RNA Prep	Illumina Stranded mRNA Prep	Illumina RNA Prep with Enrichment
Méthode	Ligature avec Ribo-Zero Plus ^a	Ligature	(L) Tagmentation
Détection	Transcriptome codant et non codant	Codage du transcriptome avec la queue polyA	Régions de codage ciblées ^b
Compatibilité FFIP	Oui	Non	Oui
Entrée	1 à 1 000 ng ^c	25 à 1 000 ng	10 ng sans FFIP 20 ng FFIP
Durée totale du test ^d	7 h	< 7 h	< 9 h
Durée de manipulation ^d	< 3 h	< 3 h	< 2 h
Propice à l'automatisation	Oui	Oui	Oui

- a. Le Ribo-Zero Plus inclus élimine l'abondance d'ARN de plusieurs espèces, y compris les échantillons humains, de souris, de rat, de bactéries et d'épidémiologie.
- b. Pour les échantillons humains uniquement. Testé avec Illumina Exome Panel et Respiratory Oligos Panel v2. Illumina RNA Prep with Enrichment ne fournit pas de renseignements sur les brins.
- c. Entrée minimale pour l'ARN de haute qualité indiquée. 10 ng minimum recommandés pour une qualité optimale et FFIP pour la préparation d'ARN total à brins d'Illumina.
- d. Durée de manipulation et durée totale basée sur le traitement manuel de jusqu'à 24 échantillons pour les flux de travail d'ARN total et d'ARNm Illumina Stranded et 1 échantillon sur le flux de travail d'enrichissement.

Pour les utilisateurs de BaseSpace^{MC} Clarity LIMS, des protocoles prédéfinis pour Illumina Stranded mRNA Prep, Illumina Stranded Total RNA Prep et Illumina RNA Prep with Enrichment sont disponibles pour être utilisés avec les systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000.

Systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000

Les systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000 offrent flexibilité et évolutivité pour répondre à une gamme complète de besoins d'analyse du transcriptome. Quatre types de Flow Cell disponibles permettent aux chercheurs de sélectionner l'équilibre optimal entre le nombre d'échantillons et les lectures par échantillon (tableau 2). Par exemple, le profilage de l'expression génique (la mesure de l'abondance au niveau des gènes à travers les caractéristiques connues) peut être effectué efficacement à une capacité de débit élevé avec jusqu'à 170 échantillons[†] en une seule analyse. L'analyse du transcriptome entier permet de découvrir de nouvelles caractéristiques en interrogeant l'ARN codant et non codant jusqu'à 34 échantillons par analyse; les chercheurs peuvent également analyser l'ARN codant jusqu'à 68 échantillons par analyse (tableau 2, tableau 3). Illumina recommande de consulter la littérature principale pour votre domaine et votre organisme pour obtenir les conseils les plus récents sur la conception des expériences et la profondeur de séquençage.

[†] Le profilage de l'expression suppose 10 millions de lectures par échantillon.

Les systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000 offrent une flexibilité inter-applications, permettant aux chercheurs de passer facilement d'un projet de séquençage à l'autre. Les systèmes sont compatibles avec une gamme de trousse de préparation de bibliothèques d'Illumina et de tiers, ce qui permet une transition facile entre le séquençage de l'ARN en lots, le séquençage de l'ARN unicellulaire, le séquençage du transcriptome entier, le séquençage de l'exome et d'autres applications. Par exemple, les chercheurs peuvent associer le RNA-Seq au séquençage de l'exome sur le système NextSeq 1000 ou NextSeq 2000 pour évaluer si les variants de codage ont un impact sur l'expression des transcrits, ou effectuer l'ATAC-Seq[‡] pour analyser l'accessibilité à la chromatine et mieux caractériser la régulation fonctionnelle.

Allez plus loin avec la chimie XLEAP-SBS

Avec les systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000, les chercheurs peuvent enrichir leurs études avec une plus grande profondeur de lecture, ce qui permet d'obtenir des estimations de facteur de changement plus précises et une sensibilité élevée dans la détection des gènes, des transcrits et de l'expression différentielle. Les systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000 sont alimentés par la chimie XLEAP-SBS, la chimie SBS d'Illumina la plus rapide, de la plus haute qualité et la plus robuste à ce jour.

[‡] ATAC-Seq, test de la chromatine accessible à la transposase avec séquençage.

Tableau 2 : Solutions RNA-Seq d'Illumina et débit d'échantillons par Flow Cell

Méthode	Mesure	Paires de lectures typiques par échantillon ^a	Préparation des bibliothèques	Nombre d'échantillons par Flow Cell par analyse						
				NextSeq 1000 et NextSeq 2000				NovaSeq X Series ^d		
				P1	P2	P3 ^c	P4 ^c	1.5B	10B	25B
Quantification de l'expression génique	Abondance au niveau des gènes sur les caractéristiques connues	10 millions	Illumina Stranded mRNA Prep ^b	10	40	120	170	150	~ 1 000 ^e	~ 2 500 ^e
ARNm-Seq	Abondance de l'ARN codant et découverte	25 millions	Illumina RNA Prep with Enrichment	4	16	48	68	~ 60	~400 ^e	~1 000 ^e
Total RNA-Seq	Abondance et détection d'ARN codants et non codants	50 millions	Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus	2	8	24	34	~ 30	~ 200	~520 ^e

a. Les longueurs de lecture recommandées sont de 2 × 75 pb pour Illumina Stranded Total RNA Prep et Illumina Stranded mRNA Prep et de 2 × 100 pb pour Illumina RNA Prep with Enrichment.
 b. Illumina Stranded mRNA Prep n'est pas compatible avec les échantillons FFIP. Pour les échantillons FFIP ou de faible qualité, il est recommandé d'utiliser Illumina RNA Prep with Enrichment ou Illumina Stranded Total RNA Prep.
 c. Les réactifs P3 et P4 sont disponibles uniquement pour le système NextSeq 2000.
 d. 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.
 e. 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.

Tableau 3 : Paramètres de performance pour les systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000 pour le RNA-Seq

Flow Cell	Lecture à paire de bases unique ^a	Longueur de lecture	Débit ^a	Durée de l'analyse ^b	Qualité des données ^c	Entrée requise
NextSeq 1000/2000 P1 XLEAP-SBS Reagents ^d	100 millions	2 × 150 pb	30 Gb	17 h		
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagents ^d	400 millions	2 × 100 pb	80 Gb	19 h	≥ 85 % de bases au-dessus de Q30	10 ng–1 µg avec Illumina RNA Prep
NextSeq 2000 P3 XLEAP-SBS Reagents ^{d,e}	1,2 milliard	2 × 100 pb	240 Gb	31 h		
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagents ^e	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.

Les réactifs XLEAP-SBS permettent le débit de lecture le plus élevé et le prix le plus bas par million de lectures de tout système de séquençage de paillasse Illumina. La réduction du coût par million de lectures associée à une capacité de séquençage supplémentaire fournit :

- Plus de lectures par échantillon pour recueillir des renseignements sur les transcriptions à faible abondance
- Plus d'échantillons pour une conception expérimentale plus robuste dans un budget de recherche donné
- Des méthodes plus complètes pour capturer des facettes plus complexes du paysage de l'ARN afin de favoriser davantage de découvertes

Les multiples configurations de Flow Cell des systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000 (tableau 3) permettent aux chercheurs d'optimiser la conception des études en fonction du nombre d'échantillons et des exigences de débit. Par exemple, la capacité de séquençage supplémentaire offerte par la Flow Cell NextSeq 2000 P4 permet de concevoir plus facilement et plus économiquement des études correctement alimentées et de faire du RNA-Seq une partie de routine du répertoire d'outils moléculaires de tout laboratoire. Si un débit d'échantillons plus élevé est nécessaire, les études peuvent être étendues à des centaines d'échantillons par analyse à l'aide de la série NovaSeq^{MC} X (tableau 2).

Valeur du séquençage apparié

Avec les systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000, les chercheurs peuvent effectuer un séquençage à lecture unique ou à extrémité appariée. Le séquençage à lecture unique est une option économique pour le profilage de l'expression génique. Cependant, le séquençage

de l'ARN à extrémité appariée est nécessaire pour les renseignements bloqués et offre des avantages clés. Les renseignements sur la profondeur de lecture générés à partir des deux extrémités d'un insert permettent de différencier efficacement les isomères de transcrits, offrant ainsi une détection et une quantification plus précises de l'abondance au niveau du transcrit. Les renseignements appariés améliorent considérablement la sensibilité pour détecter les fusions de gènes et les variants d'insertion/suppression (indel).

Solutions d'analyse simplifiées d'Illumina

Analyse secondaire DRAGEN^{MC}

L'analyse des données de RNA-Seq peut être effectuée à l'aide des outils de l'analyse secondaire DRAGEN d'Illumina, une suite de pipelines d'analyse de données précis, complets et efficaces.[§] Le pipeline d'ARN DRAGEN d'Illumina effectue un alignement précis de l'ARN sur un génome de référence, un appel des variants et la quantification des gènes, et la caractérisation des jonctions d'épissure et des fusions de gènes candidats (figure 3). Le pipeline d'ARN DRAGEN peut être configuré dans le cadre de la configuration de l'analyse pour être lancé sur le nuage avec Illumina Connected Analytics ou BaseSpace Sequence Hub, ou comme flux de travail sur l'instrument à l'aide du matériel embarqué NextSeq 1000 et NextSeq 2000 DRAGEN.

§ 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.

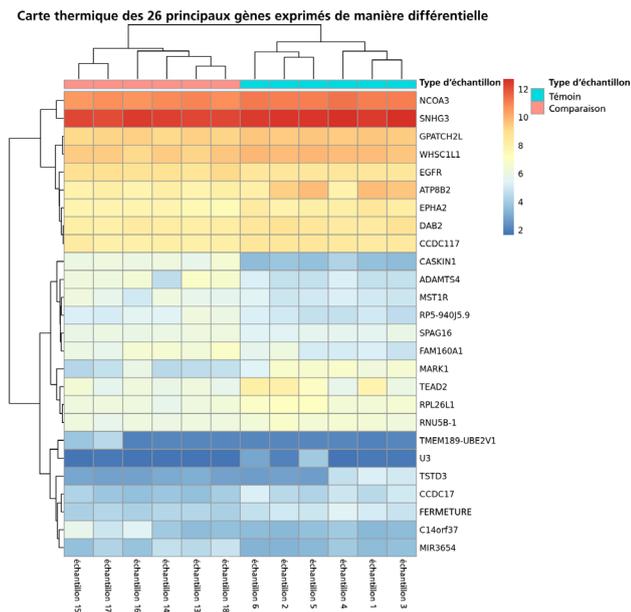


Figure 3 : Pipeline d'ARN DRAGEN : exemple de capture d'écran de la carte thermique d'expression différentielle avec le pipeline d'ARN DRAGEN, disponible à bord des systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000 ou sur le nuage avec BaseSpace Sequence Hub ou Illumina Connected Analytics.

Le pipeline d'ARN DRAGEN fournit des données de haute qualité regroupées dans une interface utilisateur intuitive. Des invites simples guident l'utilisateur tout au long du processus, à partir de la sélection des fichiers générés par le séquenceur jusqu'à l'affichage des données analysées et des résultats. La sortie du pipeline d'ARN DRAGEN peut être directement saisie dans une large gamme d'outils d'analyse en aval disponibles. Au-delà de la plateforme DRAGEN, Illumina Connected Analytics et BaseSpace Sequence Hub fournissent des outils 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.

Résumé

La solution de RNA-Seq NextSeq 1000 et NextSeq 2000 offre un flux de travail simplifié de l'ARN aux résultats qui combine la puissance, la vitesse et la flexibilité des systèmes de séquençage NextSeq 1000 et NextSeq 2000 avec un portefeuille avancé de préparation de bibliothèques d'ARN et des applications logicielles conviviales RNA-Seq. Quatre types de Flow Cell garantissent une rentabilité sur l'ensemble des types de projets RNA-Seq, du profilage de l'expression génique à la découverte du transcriptome entier.

En savoir plus

[Séquençage de l'ARN](#)

[Préparation de bibliothèques d'ARN d'Illumina](#)

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

[Analyse secondaire DRAGEN](#)

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

Références

- Geraci F, Saha I, Bianchini M. [Editorial: RNA-Seq Analysis: Methods, Applications and Challenges](#). *Front Genet.* 2020;11:220. doi:10.3389/fgene.2020.00220
- Corchete LA, Rojas EA, Alonso-López D, De Las Rivas J, Gutiérrez NC, Burguillo FJ. [Systematic comparison and assessment of RNA-seq procedures for gene expression quantitative analysis](#). *Sci Rep.* 2020;10(1):19737. doi:10.1038/s41598-020-76881-x

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) ^{a,b}	20100983
NextSeq 1000/2000 P1 XLEAP-SBS Reagent Kit (300 cycles) ^{a,b}	20100982
NextSeq 1000/2000 P1 XLEAP-SBS Reagent Kit (600 cycles) ^{a,b}	20100981
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (100 cycles) ^{a,b}	20100987
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (200 cycles) ^{a,b}	20100986
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (300 cycles) ^{a,b}	20100985
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (600 cycles) ^{a,b}	20100984
NextSeq 2000 P3 XLEAP-SBS Reagent Kit (100 cycles) ^{a,b}	20100990
NextSeq 2000 P3 XLEAP-SBS Reagent Kit (200 cycles) ^{a,b}	20100989
NextSeq 2000 P3 XLEAP-SBS Reagent Kit (300 cycles) ^{a,b}	20100988
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagent Kit (50 cycles) ^a	20100995
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagent Kit (100 cycles) ^a	20100994
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagent Kit (200 cycles) ^a	20100993
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagent Kit (300 cycles) ^a	20100992
NextSeq 1000/2000 XLEAP-SBS Read and Index Primers ^a	20112856
NextSeq 1000/2000 XLEAP-SBS Index Primer Kit ^a	20112858

Renseignements relatifs à la commande

Produit	N° de référence
NextSeq 1000/2000 XLEAP-SBS Read Primer Kit ^a	20112859
Illumina Stranded Total RNA Prep, Ligation with Ribo-Zero Plus (16 échantillons)	20040525
Illumina Stranded Total RNA Prep, Ligation with Ribo-Zero Plus (96 échantillons)	20040529
Illumina Stranded mRNA Prep, Ligation (16 échantillons)	20040532
Illumina Stranded mRNA Prep, Ligation (96 échantillons)	20040534
Illumina RNA Prep with Enrichment, (L) Tagmentation (16 échantillons)	20040536
Illumina RNA Prep with Enrichment, (L) Tagmentation (96 échantillons)	20040537
Illumina Exome Panel	20020183
Illumina RNA UD Indexes Set A, Ligation (96 index, 96 échantillons) ^c	20091655
Illumina RNA UD Indexes Set B, Ligation (96 index, 96 échantillons) ^c	20091657
Illumina RNA UD Indexes Set C, Ligation (96 index, 96 échantillons) ^c	20091659
Illumina RNA UD Indexes Set D, Ligation (96 index, 96 échantillons) ^c	20091661
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set A, Tagmentation (96 index, 96 échantillons) ^c	20091654
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set B, Tagmentation (96 index, 96 échantillons) ^c	20091656
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set C, Tagmentation (96 index, 96 échantillons) ^c	20091658
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set D, Tagmentation (96 index, 96 échantillons) ^c	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 2^e trimestre 2024.

c. Les index de ligature sont compatibles avec les trousse de préparation totale et d'ARNm. Les index de tagmentation sont compatibles avec les trousse de préparation d'enrichissement d'ADN et d'ARN.



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.
M-GL-00480 FRA v3.0