

Piattaforma DRAGEN™ Bio-IT

Analisi secondaria accurata,
completa ed efficace per
i dati NGS

- Risultati accurati
- Applicazioni complete
- Analisi efficace

illumina®

Introduzione

Per progredire nel campo della ricerca e della medicina è fondamentale sfruttare al massimo tutte le potenzialità del genoma, grazie al sequenziamento di nuova generazione (NGS, Next-Generation Sequencing). Per utilizzare al meglio le informazioni genetiche raccolte durante il sequenziamento di nuova generazione, i ricercatori necessitano di strumenti di analisi dei dati in grado di tradurre, in modo accurato ed efficace, le informazioni di sequenziamento non elaborate in risultati pertinenti. Inoltre, per mettere a frutto i vantaggi della tecnologia NGS, le organizzazioni necessitano di soluzioni facili da usare, adatte a ogni tipo di utente e in grado di ridurre le barriere finanziarie e tecniche legate all'adozione della tecnologia.

La piattaforma DRAGEN (Dynamic Read Analysis for GENomics) Bio-IT Illumina è stata sviluppata per andare incontro alle sfide importanti poste dall'analisi dei dati NGS per una varietà di applicazioni, inclusi gli studi sul genoma, sull'esoma, sul trascrittoma e sul metiloma. La piattaforma DRAGEN è una suite di software di analisi secondaria che elabora i dati NGS e consente l'analisi terziaria per ottenere una panoramica approfondita. Gli strumenti disponibili forniscono una soluzione altamente accurata, completa ed efficace che consente ai laboratori di qualsiasi dimensione e disciplina di ottenere di più dai propri dati genomici.

Risultati accurati

La piattaforma DRAGEN Bio-IT genera risultati straordinariamente accurati. Nel concorso di precisione indetto dalla FDA, *Precision FDA Truth Challenge V2* (PrecisionFDA V2) del 2020, DRAGEN v3.7 ha vinto un premio per la tecnologia più precisa nei dati di sequenziamento Illumina per tutte le regioni comparative e difficili da mappare.^{1,2} Le innovazioni introdotte in Graph Genomes e in Illumina Machine Learning (ML) con DRAGEN 4.0 dimostrano una straordinaria accuratezza dei dati in tutte le tecnologie di sequenziamento, con un punteggio F1 del 99,83% (combinazione di misura di precisione e di identificazione ripetuta) in tutte le regioni comparative (Figura 1).^{1,2} DRAGEN 4.0 con Graph (ML attivato come impostazione predefinita) hanno inoltre ottenuto il punteggio F1 più alto nell'identificazione più accurata nelle regioni del complesso maggiore di istocompatibilità (MHC, Major Histocompatibility Complex) rispetto a tutte le altre tecnologie presentate al PrecisionFDA V2.

Piattaforma completa

La piattaforma DRAGEN Bio-IT soddisfa le esigenze dei laboratori che eseguono un'ampia gamma di applicazioni NGS e offre, in una singola piattaforma, una copertura completa per vari tipi di esperimenti.

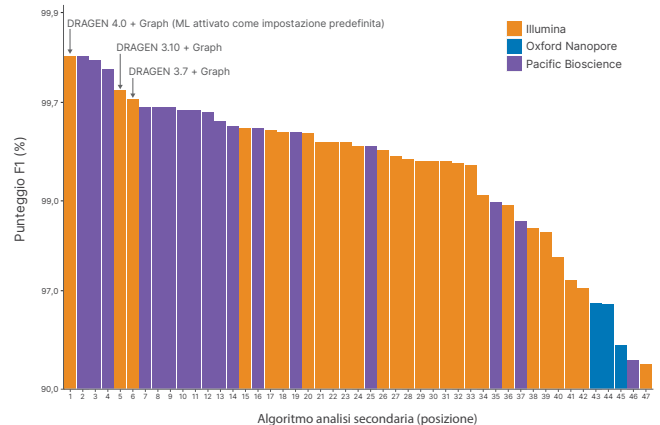


Figura 1: Accuratezza di DRAGEN 4.0 + Graph (ML attivato come impostazione predefinita) rispetto ad altri produttori nel PrecisionFDA Truth Challenge v2 per i set di dati di tutte le regioni comparative: DRAGEN 4.0 + Graph (ML attivato come impostazione predefinita) dimostra straordinaria accuratezza assieme a Google DeepVariant sui dati di sequenziamento Pacific Biosciences. DRAGEN 3.10 + Graph mostra un potenziamento rispetto a DRAGEN 3.7 + Graph grazie ai miglioramenti nei grafici e nei riferimenti/nella gestione di contig alternati. L'asse Y contiene il punteggio F1 (%) che è un calcolo dei risultati veri positivi e veri negativi sotto forma di proporzione dei risultati finali.^{3,4}

Le pipeline di analisi secondaria DRAGEN supportano diversi tipi di esperimenti, inclusi sequenziamento dell'intero genoma (WGS, Whole-Genome Sequencing), pannelli di arricchimento, RNA-Seq di singole cellule, ATAC-Seq di singole cellule, multiomica di singole cellule, RNA-Seq collettivo e analisi di metilazione (Tabella 1). Per replicare parzialmente l'ampia gamma di funzionalità del software DRAGEN sarebbero necessari 30 strumenti open-source.^{3,4}

Il software DRAGEN offre un'ampia copertura genomica grazie alla suite di Variant Caller, che comprende: espansione di ripetizione, variazione strutturale (SV, Structural Variation), variazione del numero di copie (CNV, Copy Number Variation), ExpansionHunter e Caller mirati come *SMN*, *GBA*, *CYP2B6*, *CYP2D6* e *HLA*. Inoltre, DRAGEN Graph, grazie all'architettura di calcolo parallela, estende in modo efficace le letture Illumina ed è in grado di raggiungere le regioni a bassa complessità, risolvendo aree del genoma difficili da valutare a causa di sequenze di ripetizioni. Questo consente di migliorare la copertura di geni rilevanti dal punto di vista medico e di identificare singoli nucleotidi, numero di copie e varianti strutturali in regioni difficili da mappare.

Analisi efficace

La piattaforma DRAGEN Bio-IT è stata progettata proprio per consentire ai laboratori di velocizzare l'analisi dei dati e di avere a disposizione opzioni di file necessari per sfruttare al massimo i set di dati NGS. L'accelerazione hardware del software DRAGEN e l'architettura delle matrici di porte logiche programmabili sul campo (FPGA, Field-Programmable Gate Array) consentono una rapida elaborazione. L'efficacia degli algoritmi di analisi DRAGEN ha consentito di ottenere due record mondiali di velocità per l'analisi dei dati genomici.^{5,6} Nelle applicazioni pratiche di laboratorio, la piattaforma DRAGEN Bio-IT può elaborare in loco dati NGS per l'equivalente di un intero genoma a 34x di copertura in circa 30 minuti, rispetto alle oltre 15 ore impiegate da un sistema tradizionale basato su CPU.⁷

Per gestire la richiesta di archiviazione di grossi file di dati NGS, la tecnologia DRAGEN Original Read Archive (ORA) fornisce 5x di compressione dei dati dei file FASTQ senza perdita. La compressione dei dati senza perdita di DRAGEN ORA mantiene i dettagli dei file FASTQ ed è molto rapida, infatti richiede circa 8 minuti per la compressione di file FASTQ da 50 GB-70 GB. Il gruppo di pipeline versatili DRAGEN è inoltre in grado di gestire file di dati di input e di creare file di output in diverse fasi della pipeline (Figura 2).

FPGA e accelerazione hardware

La programmazione FPGA altamente configurabile consente un'implementazione ultra efficiente, con accelerazione hardware, di algoritmi di analisi genomica, come conversione di file di identificazione delle basi (BCL), mappatura, allineamento, ordinamento, indicazione dei duplicati e identificazione di varianti dell'aplotipo. La natura flessibile della tecnologia FPGA consente a Illumina di sviluppare un'ampia suite di pipeline di applicazioni DRAGEN, con continui aggiornamenti e aggiunte per fornire la migliore accuratezza, completezza ed efficacia possibili.

Riferimenti del cliente

DRAGEN Reference Builder consente di generare riferimenti umani, non umani o non standard, tutti chiamati tabelle hash. I riferimenti creati possono essere utilizzati come input per tutte le applicazioni DRAGEN che supportano i file dei riferimenti del cliente. L'applicazione DRAGEN Reference Builder su Basespace™ Sequence Hub richiede un file FASTA. La maggior parte delle pipeline DRAGEN include il supporto integrato per hg19, hg38 (con o senza HLA*), GRCh37 e hs37d5. DRAGEN Graph Toolkit consente di ampliare le funzionalità relative alle visualizzazioni grafiche dei riferimenti anche per diverse rappresentazioni grafiche dei riferimenti umani.

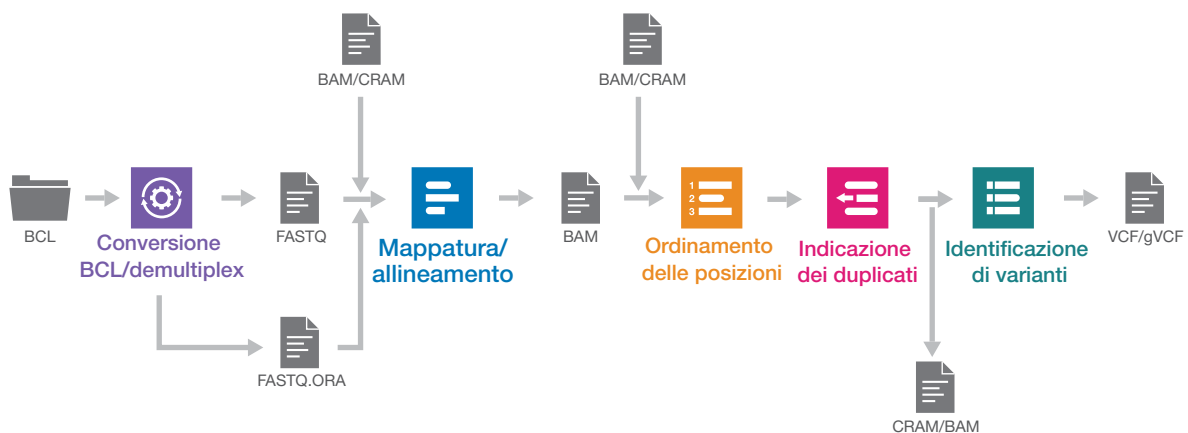


Figura 2: Flessibilità delle pipeline DRAGEN: ogni pipeline DRAGEN contiene un set specifico di passaggi che supporta l'analisi accurata ed efficace. La pipeline DRAGEN fornisce la flessibilità di utilizzare diversi file di input e generare diversi tipi di output, in questo modo gli utenti possono personalizzare la propria esperienza e generare il formato file desiderato.

Tabella 1: La piattaforma DRAGEN Bio-IT supporta un ampio gruppo di applicazioni di analisi secondarie

Applicazione	DRAGEN server in laboratorio	Sistema NextSeq 1000, NextSeq 2000	BaseSpace Sequence Hub	Illumina Connected Analytics		Multi-Cloud porta con te la tua licenza (BYOL)
				Preconfigurato	Porta con te la tua licenza (BYOL)	
Conversione BCL	✓	✓	✓		✓	Non raccomandato su FPGA
Compressione DRAGEN ORA	✓	✓			✓	✓
DRAGEN FASTQ + MultiQC	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Genoma intero	Linea germinale + somatico	Solo linea germinale	Linea germinale + somatico	Linea germinale + somatico	Linea germinale + somatico	Linea germinale + somatico
Arricchimento (incluso l'esoma)	Linea germinale + somatico	Linea germinale + somatico	Linea germinale + somatico	Linea germinale + somatico	Linea germinale + somatico	Linea germinale + somatico
DNA Amplicon	✓	✓	✓	✓	✓	✓
RNA	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Single-Cell RNA	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Espressione differenziale		✓	✓			
NanoString GeoMx NGS		✓	✓			
RNA Amplicon	✓		✓	Disponibile a breve	✓	✓
Metilazione	✓		✓	✓	✓	✓
Metagenomica			✓			
Rilevamento RNA patogeno			✓			
COVID lineage	✓		✓	Disponibile a breve	Disponibile a breve	
TruSight Oncology 500 ctDNA	ctDNA e solido disponibile a breve per DRAGEN v4.0			ctDNA e solido disponibile a breve per DRAGEN v4.0		
ScATAC-Seq	✓		✓	✓	✓	✓
Imputazione	✓		✓	✓	✓	✓
PGx Star Allele Caller	✓		✓	✓	✓	✓

Scalabilità

La piattaforma DRAGEN Bio-IT consente ai laboratori di scalare il lavoro in base alle esigenze mantenendo al contempo costi e tempi di elaborazione bassi. Il software DRAGEN può contribuire all'ampliamento delle funzionalità di ricerca in diversi modi:

- 1. Tenere il passo con il sistema NovaSeq™ 6000:** un singolo server DRAGEN può eseguire in meno di due ore il demultiplex su una corsa con il sistema NovaSeq 6000 utilizzando una cella a flusso S4.
- 2. Massima capacità:** nei periodi in cui aumenta il carico di lavoro a causa di elevati volumi di campioni, i laboratori possono aumentare la capacità mediante le opzioni di accesso disponibili della piattaforma DRAGEN parallela (Figura 3).
- 3. Ampliamento delle operazioni:** una singola piattaforma DRAGEN consente di eseguire tutte le pipeline DRAGEN e di elaborare tutti i tipi di campione supportati. L'accuratezza, la completezza e l'efficienza degli strumenti DRAGEN consentono agli utenti di scalare le operazioni senza compromissione dei tempi di elaborazione o della qualità dei risultati.
- 4. Dagli esomi ai genomi:** il passaggio dal sequenziamento dell'intero esoma (WES, Whole-Exome Sequencing) a WGS comporta un significativo aumento dei dati generati. Il software DRAGEN consente ai clienti di eseguire le analisi dagli esomi ai genomi senza grossi investimenti in un'ulteriore infrastruttura hardware o soluzioni basate sul cloud.

- 5. Set di dati molto grandi:** la piattaforma DRAGEN offre un flusso di lavoro semplificato per l'analisi di coorti su larga scala; quando vengono utilizzate più pipeline assieme è possibile identificare varianti piccole e grandi con elevata accuratezza da un campionamento delle coorti. Il software DRAGEN consente l'aggregazione e la genotipizzazione da migliaia a milioni di file nel formato di identificazione delle varianti del genoma (gVCF, Genome Variant Call Format) e aggrega nuovi batch senza dover rielaborare i batch esistenti. La pipeline DRAGEN Joint Genotyping identifica congiuntamente le varianti su più genomi e scala rapidamente a grandi coorti senza compromettere l'accuratezza.⁸ L'implementazione della piattaforma DRAGEN sui dati di [1000 Genomes Project](#), ad esempio, consente l'identificazione di varianti accurate e su larga scala di diversi campioni e l'identificazione di regioni in cui i dati di copertura non sono uniformi o deviano dalle ipotesi.

Accessibilità su più piattaforme

Alla suite di pipeline DRAGEN si accede tramite le soluzioni disponibili in laboratorio, integrate sullo strumento o sul cloud, che consentono ai laboratori di selezionare la soluzione che meglio soddisfa le proprie esigenze.

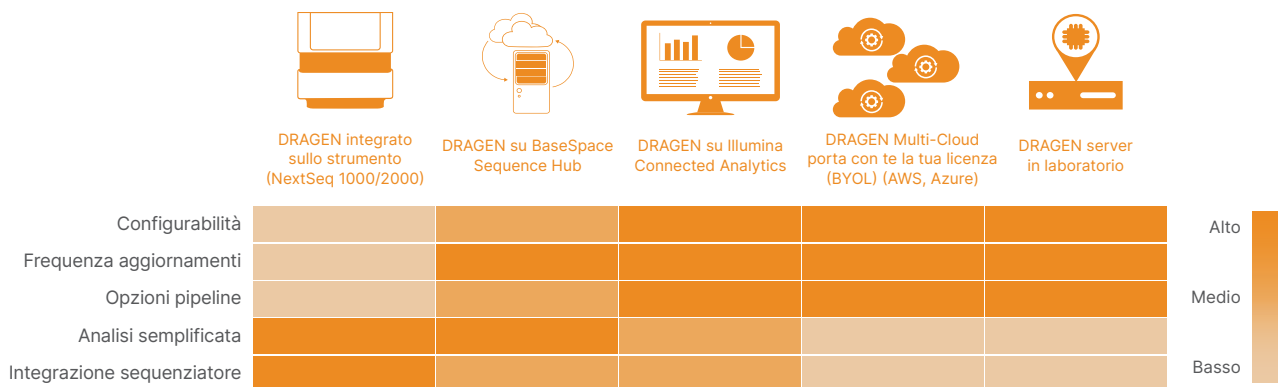


Figura 3: Opzioni di accesso della pipeline DRAGEN con caratteristiche progettate per soddisfare le esigenze di ogni laboratorio per l'analisi dei dati NGS.

DRAGEN server in laboratorio

DRAGEN in laboratorio si affida a una soluzione di archiviazione locale per raccogliere e archiviare i dati NGS. Dopo che i dati del sequenziamento non elaborati sono stati trasferiti dallo strumento di sequenziamento all'archivio locale mediante una connessione di rete locale, i dati vengono trasferiti al server DRAGEN per eseguire il flusso di lavoro selezionato. Dopo l'analisi, il software scrive i file di output generati nella posizione di archiviazione locale. DRAGEN server in laboratorio:

- Supporta diversi livelli di interfaccia con linea di comando
- Sostituisce fino a 30 istanze di calcolo tradizionali
- Elabora i dati NGS di un intero genoma umano a una copertura di 34x in circa 30 minuti

Piattaforma DRAGEN Bio-IT integrata sui sistemi NextSeq™ 1000 e NextSeq 2000

I sistemi NextSeq 1000 e NextSeq 2000 includono il software DRAGEN integrato per una soluzione di analisi secondaria accurata e rapida. La suite di software DRAGEN integrata offre una serie selezionata di pipeline per una gamma di applicazioni NGS comuni ([Tabella 1](#)) con un'interfaccia utente di facile utilizzo che consente agli utenti esperti e non esperti di eseguire rapidamente le analisi necessarie e generare risultati. La piattaforma DRAGEN Bio-IT integrata:

- Consente di accedere a pipeline informatiche DRAGEN selezionate
- Consente agli utenti di generare risultati in appena due ore
- Utilizza algoritmi della pipeline intuitivi per ridurre la necessità di affidarsi a esperti informatici esterni

BaseSpace Sequence Hub

La suite DRAGEN basata sul cloud è disponibile su BaseSpace Sequence Hub e unisce analisi accurata ed efficace con un ecosistema sicuro e scalabilità versatile. Il software DRAGEN su BaseSpace Sequence Hub semplifica l'analisi secondaria per i laboratori di tutte le dimensioni e discipline. BaseSpace Sequence Hub è un'estensione diretta dei vostri strumenti Illumina. I dati codificati vengono trasferiti dallo strumento a BaseSpace Sequence Hub e un set di applicazioni selezionate semplifica l'analisi e la gestione dei dati.

BaseSpace Sequence Hub, alimentato da Amazon Web Services (AWS):

- Offre una soluzione semplice e di facile utilizzo per l'analisi DRAGEN.
- Utilizza un'interfaccia grafica utente intuitiva che consente a utenti esperti e non esperti di lavorare in modo efficiente.
- Fornisce accesso a fonti di calcolo efficaci senza spese di capitale per l'acquisto di ulteriore infrastruttura.

Illumina Connected Analytics

DRAGEN Bio-IT su Illumina Connected Analytics è una piattaforma per la gestione e l'analisi dei dati completa e basata sul cloud che consente ai ricercatori di gestire, analizzare e interpretare grandi volumi di dati multiomici in un ambiente sicuro, scalabile e flessibile. Illumina Connected Analytics:

- Consente di accedere alla suite completa DRAGEN Bio-IT, disponibile in pipeline preconfezionate o singoli strumenti per pipeline personalizzate;
- Supporta flussi di lavoro altamente automatizzati e soluzioni personalizzate per studi ottimizzati e a elevata processività;
- Offre un ambiente altamente sicuro con residenza di dati garantita, accesso singolo (SSO, Single Sign-On), registri di audit e controllo dell'accesso che supporta la conformità a Health Insurance Portability and Accountability Act (HIPAA) e ai principi del regolamento generale sulla protezione dei dati (RGPD) dell'Unione Europea.

DRAGEN Multi-Cloud porta con te la tua licenza (BYOL)

I laboratori che dispongono già di servizi basati sul cloud possono eseguire l'analisi DRAGEN su AWS o Azure di Microsoft acquistando la piattaforma DRAGEN Bio-IT come immagine virtuale. DRAGEN Multi-Cloud porta con te la tua licenza (BYOL):

- Utilizza lo stesso software e opzioni di linea di comando di DRAGEN server in laboratorio (fatta eccezione per le pipeline TruSight™ Oncology 500).
- È adatta per utenti esperti che vogliono integrare le pipeline DRAGEN nell'ambiente cloud e nei flussi di lavoro esistenti.

Riepilogo

La piattaforma DRAGEN Bio-IT è una suite efficace di strumenti software che fornisce analisi secondaria accurata, completa ed efficiente dei dati NGS. I laboratori possono selezionare tra le diverse opzioni di piattaforma DRAGEN e scegliere la soluzione che meglio si adatta al tipo e alla scala dei propri progetti. La tecnologia NGS continua a progredire e gli aggiornamenti tempestivi della piattaforma DRAGEN Bio-IT consentono di ottenere le migliori prestazioni possibili dalle pipeline attuali, mentre nuove pipeline continuano ad essere aggiunte mentre le applicazioni diventano disponibili.

Maggiori informazioni

Piattaforma Illumina DRAGEN Bio-IT, illumina.com/dragen

Pagina di supporto DRAGEN, support.illumina.com/sequencing/sequencing_software/dragen-bio-it-platform

Contattateci, illumina.com/company/contact-us.html#/united-states/customer-care

Bibliografia

1. Food and Drug Administration. Truth Challenge V2: Calling Variants from Short and Long Reads in Difficult-to-Map Regions. precision.fda.gov/challenges/10. Consultato il 14 marzo 2022.
2. Illumina. DRAGEN Sets New Standard for Data Accuracy in PrecisionFDA Benchmark Data. Optimizing Variant Calling Performance with Illumina Machine Learning and DRAGEN Graph. illumina.com/science/genomics-research/articles/dragen-shines-again-precisionfda-truth-challenge-v2.html. Consultato il 14 marzo 2022.
3. Illumina. DRAGEN Wins at PrecisionFDA Truth Challenge V2 Showcase Accuracy Gains from Alt-aware Mapping and Graph Reference Genomes. illumina.com/science/genomics-research/articles/dragen-wins-precisionfda-challenge-accuracy-gains.html. Consultato il 14 marzo 2022.
4. Dati interni in archivio. Illumina, Inc., 2022.
5. BioIT World. Children's Hospital Of Philadelphia, Edico Set World Record For Secondary Analysis Speed. bio-itworld.com/news/2017/10/23/children-s-hospital-of-philadelphia-edico-set-world-record-for-secondary-analysis-speed. Consultato il 14 marzo 2022.
6. The San Diego Union Tribune. Rady Children's Institute sets Guinness world record. <https://www.sandiegouniontribune.com/95899028-132.html>. Published February 12, 2018. Consultato il 14 marzo 2022.
7. Miller NA, Farrow EG, Gibson M, et al. A 26-hour system of highly sensitive whole genome sequencing for emergency management of genetic diseases. *Genome Med.* 2015;7:100. doi: 10.1186/s13073-015-0221-8.
8. Illumina. Accurate and Efficient Calling of Small and Large Variants from PopGen Datasets Using the DRAGEN Bio-IT Platform. www.illumina.com/science/genomics-research/articles/popgen-variant-calling-with-dragen.html. Consultato il 14 marzo 2022.

illumina®

Numero verde 1.800.809.4566 (U.S.A.) | Tel. +1.858.202.4566
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2022 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, consultare la pagina Web www.illumina.com/company/legal.html.

M-GL-00680 ITA v3.0