

# ILLUMINA Genomics Architecture permite realizar estudios PopGen con Illumina DNA PCR-Free Prep

Rendimiento de preparación  
de librerías uniforme mediante  
la automatización de los flujos  
de trabajo de WGS



## Introducción

La tecnología de secuenciación de nueva generación (NGS, Next-Generation Sequencing) de Illumina ofrece datos precisos y de alta calidad y permite una amplia gama de aplicaciones en genómica, transcriptómica y epigenómica. El flujo de trabajo de NGS pasa de la preparación de librerías a la secuenciación y al análisis e interpretación de los datos. La gama de soluciones de Illumina abarca una serie de componentes a lo largo del flujo de trabajo que abordan las numerosas áreas de aplicación posibles. Debido a la gran variedad de productos de Illumina, algunos nuevos clientes descubren que la integración de componentes individuales en un único flujo de trabajo (aislamiento del material genético mediante la generación de informes de variantes) es laboriosa y lleva mucho tiempo. Además, aunque muchos flujos de trabajo de Illumina son compatibles con la automatización, algunos clientes se ven abrumados por la experiencia técnica necesaria para integrar y optimizar los métodos automatizados en sus prácticas existentes.

Illumina Genomics Architecture (IGA) aborda estos desafíos ofreciendo un marco **estandarizado, modular y flexible** para adoptar e implantar rápidamente flujos de trabajo **de NGS de ADN a respuesta** compatibles con la automatización para aplicaciones tanto de investigación como de investigación clínica. IGA se obtuvo a partir de la experiencia adquirida en la asistencia a los clientes en la implementación de flujos de trabajo de ADN a datos para programas de secuenciación del exoma completo (WES, Whole-Exome Sequencing), de secuenciación del genoma completo (WGS, Whole-Genome Sequencing) y de genómica poblacional (PopGen) (Figura 1).

Un programa que se beneficia de IGA es el **proyecto SG100K**. SG100K es un esfuerzo de colaboración entre Illumina y Precision Health Research Singapore (PRECISE) para secuenciar los genomas de 100 000 personas sanas en Singapur para comprender mejor la diversidad genómica asiática. Esta nota de aplicación presenta los datos internos de WGS generados por operadores independientes en sitios dispares en el Reino Unido y Singapur que evalúan los scripts dentro de IGA para automatizar el flujo de trabajo de NGS, como parte del proyecto SG100K.

## Métodos

IGA cuenta con scripts de robot dedicados para la preparación de librerías e integraciones de software para automatizar y optimizar la secuenciación y el análisis de datos.

### Preparación de librerías

Las librerías de secuenciación se prepararon con Illumina DNA PCR-Free Prep (Illumina, n.º de catálogo 20041794) a partir de 400 ng de ADN genómico (ADNg) de alta calidad extraído de muestras de sangre recogidas de personas sanas registradas como parte del proyecto SG100K. La preparación de librerías se automatizó con la plataforma de manipulación de líquidos Hamilton STAR.



Figura 1: Flujo de trabajo de WGS de Illumina Genomics Architecture. IGA admite un flujo de trabajo de ADN a datos para WGS que integra la preparación automatizada de librerías con Illumina DNA PCR-Free Prep, la secuenciación en NovaSeq 6000 System y el análisis con el proceso DRAGEN Germline.

## Secuenciación

Las librerías preparadas se secuenciaron en NovaSeq™ 6000 System (Illumina, n.º de catálogo 20012850) con una configuración de experimento de 2 × 151 pb. Se procesaron veinticuatro muestras por celda de flujo S4 a una cobertura de 30× (Illumina, n.º de catálogo 20028312). Como parte del flujo de trabajo automatizado con IGA, el software Clarity™ LIMS indicó a la plataforma de manipulación de líquidos que realizara la agrupación masiva, la desnaturalización y la carga de librerías en NovaSeq 6000 System y envió la información necesaria para iniciar el experimento de secuenciación automáticamente.

## Análisis de datos

Una vez finalizado el experimento de secuenciación, los datos se transmitieron automáticamente a BaseSpace™ Sequence Hub para su análisis con el proceso DRAGEN™ Germline v3.7.8. Se utilizó el software JMP para el análisis estadístico y la representación gráfica.

## Resultados

Para evaluar scripts dentro de IGA para automatizar y optimizar un flujo de trabajo de WGS con Illumina DNA PCR-Free Prep, se utilizó análisis de la varianza (ANOVA) para comparar los datos de secuenciación obtenidos por operadores independientes en diferentes centros de Singapur y el Reino Unido. Los resultados demostraron un rendimiento sólido y una variabilidad mínima entre los operadores independientes que implementaron scripts de flujo de trabajo de IGA utilizando distintos instrumentos en diferentes centros (Figura 2 y Tabla 1).

Tabla 1: Resumen de la coherencia de los datos con IGA

Parámetro	Valor medio ± desviación estándar
<b>Criterio de medición clave del rendimiento (191 muestras<sup>a</sup>)</b>	
Cobertura autosómica media	36,39 ± 5,9 %
Porcentaje de genoma con cobertura (≥15×)	94,72 ± 7,8 %
Bases Q30	102,1 ± 16,7 Gpb
Porcentaje de capacidad de llamada de autosomas	97,05 ± 7,1 %
Mediana de longitud de fragmentos	459,4 ± 20,2 pb
Contaminación estimada de la muestra	0,001 ± 0,0002
<b>Análisis de SNV<sup>b</sup> (99 muestras)</b>	
Recuperación de SNV	99,84 ± 0,11 %
Precisión de SNV	99,83 ± 0,03 %
Recuperación de indel	99,58 ± 0,31 %
Precisión de indel	99,66 ± 0,15 %

a. ADN extraído de Coriell.  
b. Basado en datos de una única muestra veraz, NA12878.

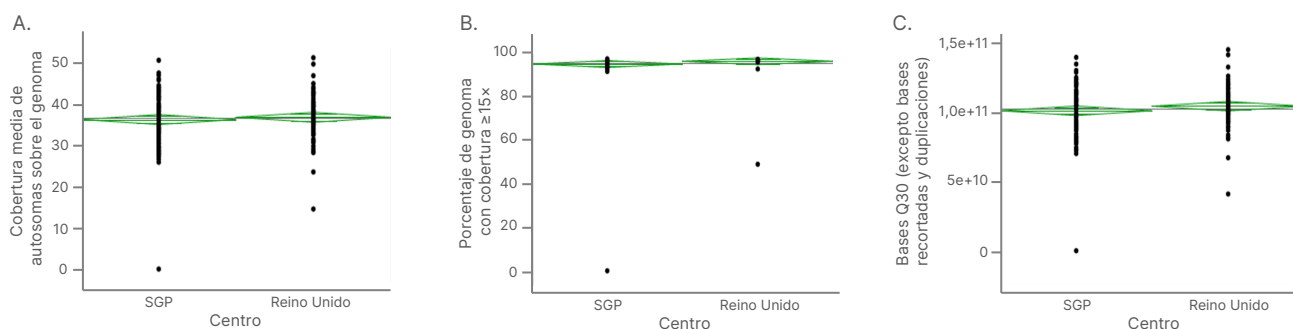


Figura 2: Rendimiento y uniformidad de datos con operadores independientes en diferentes centros. Un ANOVA de los datos de secuenciación en Singapur (SGP) y el Reino Unido (R. U.) mostró un rendimiento muy uniforme, medido por (A) la cobertura media de autosomas, (B) el porcentaje de genoma con ≥15× y (C) bases Q30 (excluyendo bases recortadas y duplicaciones).

## Resumen

IGA ofrece un marco estandarizado, modular y flexible para adoptar rápidamente flujos de trabajo de NGS de ADN a respuesta compatibles con la automatización. La implementación de IGA con Illumina DNA PCR-Free Prep para WGS permite la preparación de librerías en el mismo día y la agrupación de 24 muestras por celda de flujo S4 y la secuenciación para lograr una cobertura genómica de 30x. Como parte del programa SG100K de PopGen, IGA permite un rendimiento altamente uniforme y sólido entre operadores independientes de diferentes centros. Estos resultados demuestran el poder de IGA para automatizar los flujos de trabajo y proporcionar un rendimiento fiable para los métodos de NGS.

## Información adicional

[Illumina Genomics Architecture](#)

[Illumina DNA PCR-Free Prep](#)

[NovaSeq 6000 System](#)

[Análisis secundario DRAGEN](#)



1 800 809 4566 (llamada gratuita, EE. UU.) | tel.: +1 858 202 4566  
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2023 Illumina, Inc. Todos los derechos reservados. Todas las marcas comerciales pertenecen a Illumina, Inc. o a sus respectivos propietarios. Si desea consultar información específica sobre las marcas comerciales, consulte [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html).

M-GL-01991 ESP v1.0