

Contrôle qualité des bibliothèques avec la série MiSeq^{MC} i100

Évaluez la qualité des bibliothèques et
optimisez leur regroupement avant
de procéder au séquençage sur
des systèmes à débit élevé



Rationalisez le contrôle
de la qualité des bibliothèques
avec des résultats le
jour même grâce à
un séquençage rapide
et flexible



Simplifiez le rééquilibrage
des bibliothèques guidé par des
calculs automatisés intégrés



Renforcez la confiance dans
les résultats générés sur les
systèmes à débit élevé avec
une corrélation élevée de
la représentation des index

Introduction

Pour maximiser l'efficacité du séquençage à débit élevé, il est important de connaître la qualité de la librairie initiale. Une librairie de mauvaise qualité peut nuire au succès des projets de séquençage à grande échelle et entraîner une répétition onéreuse et chronophage des expériences. Les méthodes traditionnelles de contrôle de la qualité (CQ) des librairies, telles que la quantification/qualification des librairies par fluorimétrie ou qPCR, ne sont pas des tests fonctionnels et n'évaluent pas si la librairie d'intérêt a été préparée avec les index appropriés. La série MiSeq i100 permet de réaliser un test rapide et fonctionnel de la qualité des librairies avant de s'engager dans une analyse à grande échelle sur NovaSeq^{MC} 6000 System ou sur la série NovaSeq X, ce qui permet d'économiser du temps et de l'argent tout en générant de meilleurs résultats.

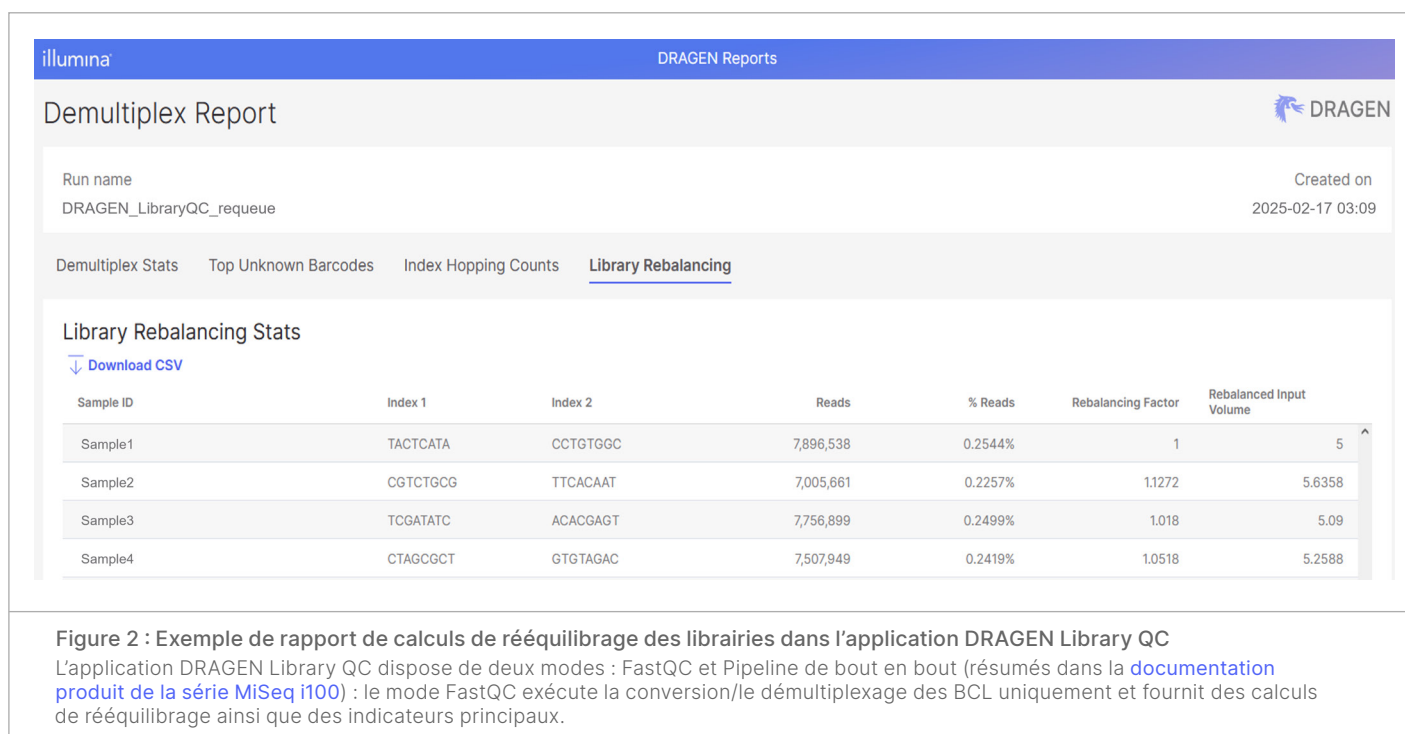
Grâce à un flux de travail simple et rationalisé, la série MiSeq i100 génère rapidement des indicateurs de qualité détaillés. Ces indicateurs peuvent être utilisés pour détecter les pertes d'échantillons découlant soit de l'échec de la préparation des librairies, soit d'une mauvaise attribution d'index lors de la planification de l'analyse, et fournir des calculs automatisés pour le rééquilibrage des regroupements afin de garantir une représentation équilibrée des index entre les échantillons.

Cette note d'application démontre un flux de travail de CQ des librairies rapide, simple et rentable sur la série MiSeq i100 qui offre une excellente représentation des librairies avant le séquençage sur la série NovaSeq X ou sur NovaSeq 6000 System (figure 1).

Rééquilibrage des librairies avec la série MiSeq i100

La série MiSeq i100 peut être utilisée comme outil de CQ des librairies pour détecter la perte de librairies et rééquilibrer les librairies pour une représentation plus uniforme des index dans un regroupement. La série MiSeq i100 comprend l'application DRAGEN Library QC v1.0.13, un logiciel intégré qui démultiplexe automatiquement les lectures de séquençage, effectue les calculs et fournit un rapport pour guider le rééquilibrage des librairies avant le séquençage sur un système de séquençage à débit élevé (figure 2). En combinant les calculs de rééquilibrage automatisés avec le séquençage des index en premier, la série MiSeq i100 peut fournir des renseignements démultiplexés sur les librairies en seulement 3,2 heures environ.





Méthodes

Préparation des librairies

Les librairies ont été préparées sur Biomek NGenius Next Generation Library Prep System (Beckman Coulter, référence n° C62703) à partir de 300 ng d'entrée d'ADN génomique (ADNg) NA12878 (Coriell Institute for Medical Research, référence n° NA12878) à l'aide d'Illumina DNA PCR-Free Prep (Illumina, référence n° 20041795) avec Illumina DNA/RNA UD Indexes Set A, Tagmentation (96 index, 96 échantillons) (Illumina, référence n° 20091654) et Illumina DNA/RNA UD Indexes Set B, Tagmentation (96 index, 96 échantillons) (Illumina, référence n° 20091656). Les librairies ont également été préparées manuellement à partir de 100 ng d'entrée d'ADNg à l'aide de TruSeq^{MC} DNA Nano (Illumina, référence n° 20015965) avec IDT for Illumina DNA UD Indexes v2 (96 index, 96 échantillons) (Illumina, référence n° 20040870).

Séquençage et rééquilibrage

Les librairies préparées ont été regroupées à volumes égaux et séquencées sur MiSeq i100 Plus System avec la trousse MiSeq i100 Series 5M Reagent Kit (300 cycles) (Illumina, référence n° 20126566) en utilisant une configuration d'analyse de 2 × 151 pb à 24 niveaux ([tableau 1](#)). À titre de comparaison, les mêmes librairies ont été séquencées sur iSeq^{MC} 100 System avec la trousse iSeq 100 i1 Reagent v2 Kit (300 cycles) (Illumina, référence n° 20031371).

Les données de séquençage ont été analysées sur MiSeq i100 Plus System à l'aide de l'application DRAGEN^{MC} Library QC v1.0.13, qui effectue automatiquement les calculs pour le rééquilibrage des librairies. Une fois rééquilibrés, les groupes de librairies ont été séquencés sur les systèmes NovaSeq X Plus et NovaSeq 6000 à l'aide d'une configuration d'analyse de 2 × 151 pb pour examiner le coefficient de variation (CV) des index.

Résultats

Le rééquilibrage des librairies améliore le CV des index

Les librairies préparées avec Illumina DNA PCR-Free Prep et TruSeq DNA Nano ont été séquencées sur la série MiSeq i100. Les facteurs de rééquilibrage des librairies ont été obtenus avec l'application DRAGEN Library QC v1.0.13 intégrée. Les librairies rééquilibrées et déséquilibrées ont été séquencées sur les systèmes NovaSeq X Plus et NovaSeq 6000. Les résultats montrent qu'une amélioration du CV des index est observée après le rééquilibrage des trois groupes de librairies pour les systèmes NovaSeq X Plus ([figure 3A](#)) et NovaSeq 6000 ([figure 3B](#)).

Tableau 1 : CQ des bibliothèques sur la série MiSeq i100

Paramètre	Illumina DNA PCR-Free Prep	Illumina DNA PCR-Free Prep	TruSeq DNA Nano
Automatisation	Beckman Coulter Biomek NGenius	Beckman Coulter Biomek NGenius	Manuel
ADN génomique	Humain NA12878 Coriell	Humain NA12878 Coriell	Humain NA12878 Coriell
Entrée d'ADN	300 ng	300 ng	100 ng
Adaptateurs	Illumina Set A UDI 1–24	Illumina Set B UDI 97–120	IDT for Illumina TruSeq UDI 1–24
Concentration de chargement	120 pM	120 pM	120 pM
Pourcentage d'occupation	91,59 %	89,27 %	91,43 %
Pourcentage passant le filtre	80,42 %	77,20 %	85,02 %

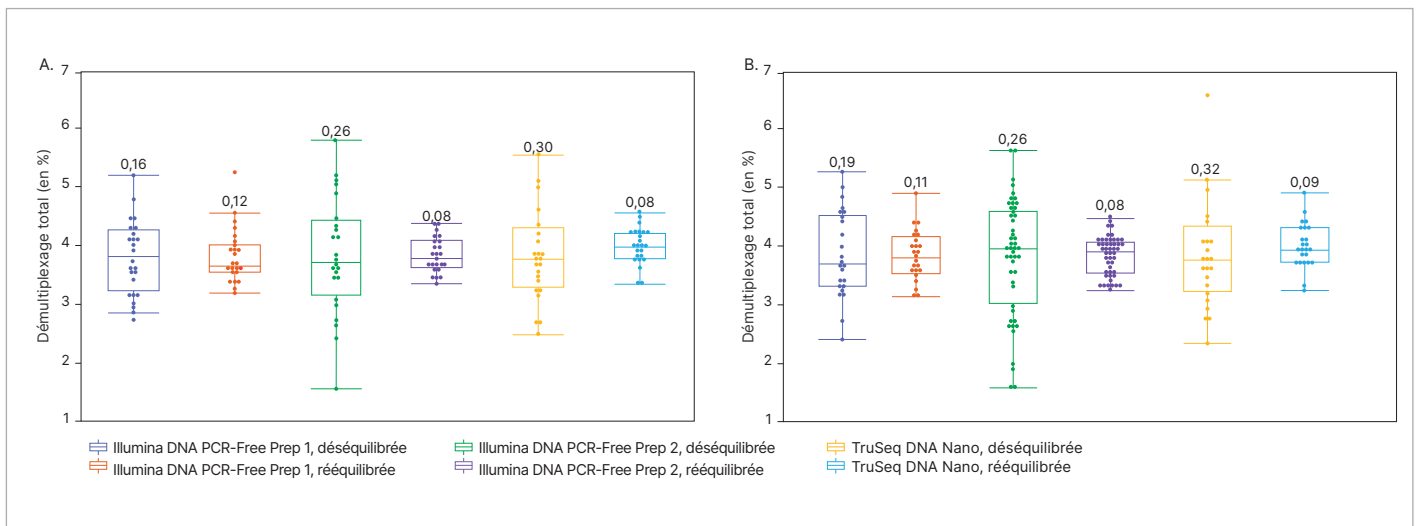


Figure 3 : Rééquilibrage des bibliothèques avec MiSeq i100 Plus System

Trois groupes de bibliothèques d'échantillons humains à 24 niveaux, Illumina DNA PCR-Free Prep 1, Illumina DNA PCR-Free Prep 2 et TruSeq DNA Nano, ont été séquencés sur MiSeq i100 Plus System. Les facteurs de rééquilibrage des bibliothèques ont été obtenus avec l'application DRAGEN Library QC v1.0.13 intégrée. Les bibliothèques rééquilibrées et déséquilibrées ont ensuite été séquencées sur les systèmes NovaSeq X Plus et NovaSeq 6000. L'amélioration du CV des index (la valeur moyenne est supérieure à chaque diagramme en boîte) est observée après le rééquilibrage des trois groupes de bibliothèques sur les systèmes (A) NovaSeq X Plus et (B) NovaSeq 6000.

Corrélation de la représentation des index entre les systèmes

La corrélation de référence de la représentation des index a été évaluée entre les systèmes MiSeq i100 Plus, iSeq 100, NovaSeq X Plus et NovaSeq 6000.

Un groupe de bibliothèques Illumina DNA PCR-Free Prep à 384 niveaux a été préparé à partir de l'ADNg NA11992 humain de Coriell à l'aide du manipulateur de liquide automatisé Hamilton STAR. Les bibliothèques regroupées ont été séquencées sur les systèmes MiSeq i100 Plus, iSeq 100, NovaSeq X et NovaSeq 6000.

Les renseignements démultiplexés obtenus avec MiSeq i100 Plus System montrent une corrélation élevée avec les renseignements démultiplexés obtenus avec les systèmes NovaSeq X Plus et NovaSeq 6000 avec $R^2 > 0,9$ (figure 4A) et sont équivalents aux renseignements obtenus avec iSeq 100 System (figure 4B).

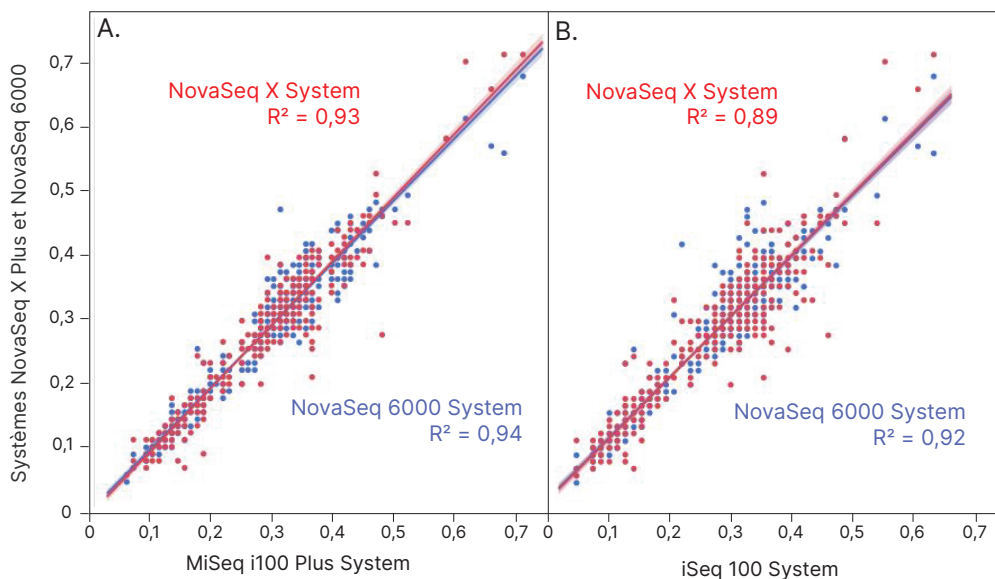


Figure 4 : Corrélation de la représentation des index

La représentation des index sur (A) la série MiSeq i100 montre une corrélation élevée avec les systèmes NovaSeq X Plus et NovaSeq 6000 et se situe à des niveaux similaires à la corrélation entre (B) iSeq 100 System et les systèmes NovaSeq X Plus et NovaSeq 6000.

Résumé

La série MiSeq i100 offre un flux de travail rapide, simple et rentable pour le CQ des bibliothèques qui fournit des renseignements démultiplexés en seulement 3,2 heures. La corrélation élevée de la représentation des index permet de prédire la représentation des index sur un système de séquençage à débit élevé pour un ensemble donné de paires d'index. Cette fonction de CQ des bibliothèques permet aux utilisateurs d'optimiser les performances sur la série NovaSeq X et NovaSeq 6000 System.

En savoir plus →

[Série MiSeq i100](#)

[Série NovaSeq X](#)

[NovaSeq 6000 System](#)

illumina^{MD}

Numéro sans frais aux États-Unis : + (1) 800 809-4566 |
Téléphone : + (1) 858 202-4566
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2025 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-02871 FRA v2.0