

Controle de qualidade da biblioteca com o MiSeq™ i100 Series

Avalie a qualidade da biblioteca e otimize o pooling de bibliotecas antes do sequenciamento em sistemas de alto rendimento



Simplifique o controle de qualidade da biblioteca com resultados no mesmo dia, possibilitados por sequenciamento rápido e flexível



Simplifique o reequilíbrio da biblioteca orientado por cálculos automatizados integrados



Aumente a confiança nos resultados gerados em sistemas de alto rendimento com alta correlação de representação de index

Introdução

Para maximizar a eficiência do sequenciamento de alto rendimento, é importante saber a qualidade da biblioteca inicial. Uma biblioteca de baixa qualidade pode comprometer o sucesso de projetos de sequenciamento em larga escala, resultando em experimentos repetidos, caros e demorados. Métodos históricos de controle de qualidade (CQ) da biblioteca, como quantificação/qualificação por fluorometria ou qPCR, não são ensaios funcionais e não avaliam se a biblioteca correta, com os índices apropriados, foi realmente preparada. O MiSeq i100 Series permite um ensaio rápido e funcional da qualidade da biblioteca antes de se comprometer com uma corrida em grande escala no NovaSeq™ 6000 System ou NovaSeq X Series, economizando tempo e dinheiro e levando a melhores resultados.

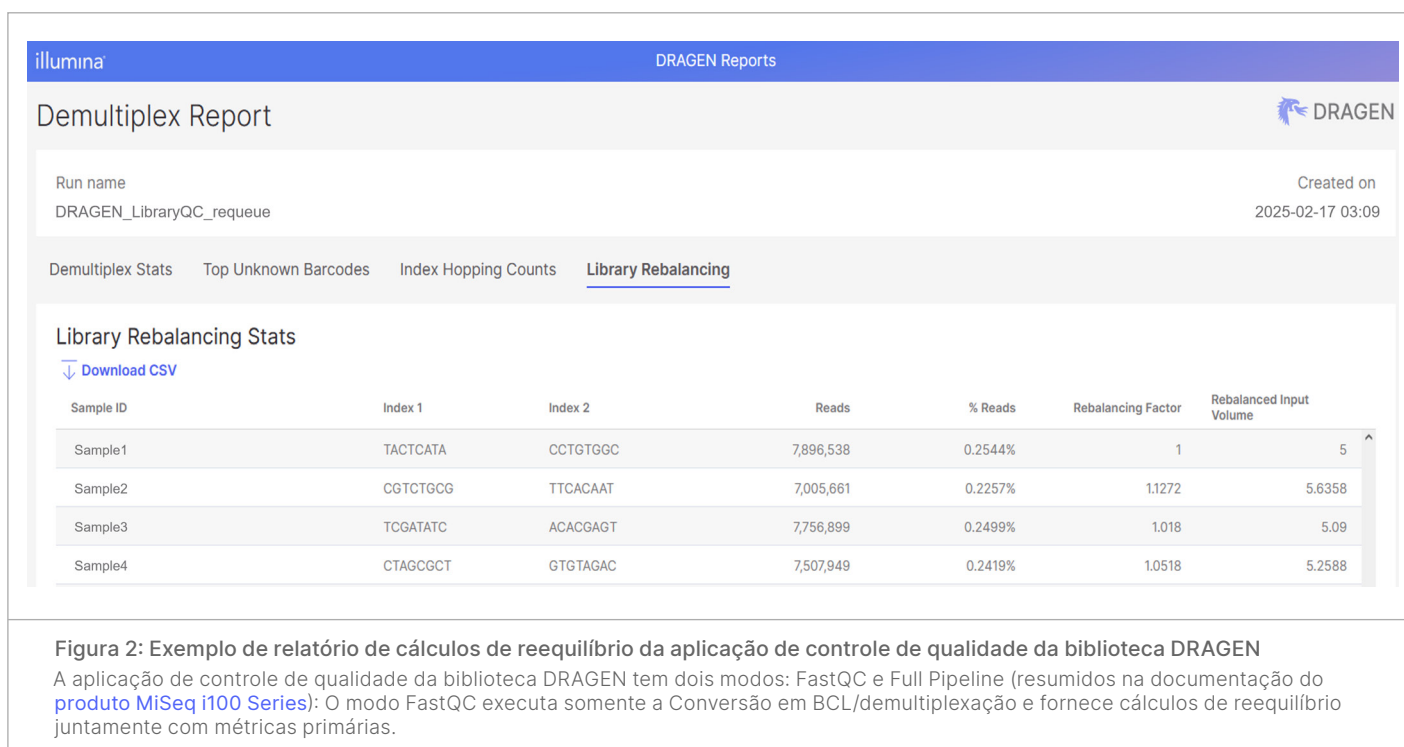
Usando um fluxo de trabalho simples e otimizado, o MiSeq i100 Series gera métricas de qualidade detalhadas rapidamente. Essas métricas ajudam a identificar perdas de amostras causadas por falhas na preparação da biblioteca ou na atribuição incorreta de índices durante o planejamento da corrida, além de permitir cálculos automatizados para reequilibrar os pools e garantir uma representação equilibrada dos índices entre as amostras.

Esta nota de aplicação demonstra um fluxo de trabalho de controle de qualidade da biblioteca rápido, simples e econômico no MiSeq i100 Series que oferece excelente representação de biblioteca antes do sequenciamento no NovaSeq X Series ou no NovaSeq 6000 System (Figura 1).

Reequilíbrio da biblioteca com o MiSeq i100 Series

O MiSeq i100 Series pode ser usado como uma ferramenta de controle de qualidade da biblioteca para triagem de perdas de bibliotecas e reequilibrar bibliotecas para uma representação de índices mais uniforme em um pool. O MiSeq i100 Series apresenta a aplicação integrada de controle de qualidade da biblioteca DRAGEN v1.0.13, um software que demultiplexa automaticamente as leituras de sequenciamento, realiza os cálculos necessários e gera um relatório para orientar o reequilíbrio da biblioteca antes do sequenciamento em um sistema de alto rendimento (Figura 2). Combinando cálculos de reequilíbrio automatizados com sequenciamento index-first, o MiSeq i100 Series pode fornecer informações demultiplexadas da biblioteca em apenas ~ 3,2 horas.





Métodos

Preparação da biblioteca

As bibliotecas foram preparadas no Biomek NGenius Next Generation Library Prep System (Beckman Coulter, N.º do catálogo C62703) de 300 ng de entrada de DNA genômico (gDNA) NA12878 (Coriell Institute for Medical Research, N.º do catálogo NA12878) usando Illumina DNA PCR-Free Prep (Illumina, N.º do catálogo 20041795) com Illumina DNA/RNA UD Indexes Set A, Tagmentation (96 indexes, 96 samples) (Illumina, N.º do catálogo 20091654) e Illumina DNA/RNA UD Indexes Set B, Tagmentation (96 indexes, 96 samples) (Illumina, N.º do catálogo 20091656). As bibliotecas também foram preparadas manualmente a partir de gDNA de entrada de 100 ng usando TruSeq™ DNA Nano (Illumina, N.º do catálogo 20015965) com IDT para Illumina DNA UD Indexes v2 (96 indexes, 96 samples) (Illumina, N.º do catálogo 20040870).

Sequenciamento e reequilíbrio

As bibliotecas preparadas foram agrupadas em volumes iguais e sequenciadas no MiSeq i100 Plus System com o MiSeq i100 Series 5M Reagent Kit (300 cycles) (Illumina, N.º do catálogo 20126566) usando a configuração de corrida de 2 × 151 bp em 24-plex ([Tabela 1](#)). Para fins de comparação, as mesmas bibliotecas foram sequenciadas no iSeq™ 100 System com o iSeq 100 i1 Reagent v2 (300-cycle) kit (Illumina, N.º do catálogo 20031371).

Os dados de sequenciamento foram analisados no MiSeq i100 Plus System usando a aplicação de controle de qualidade da biblioteca DRAGEN™ v1.0.13, que realiza cálculos automaticamente para o reequilíbrio da biblioteca. Depois que os pools de bibliotecas foram reequilibrados, eles foram sequenciados no NovaSeq X Plus System e no NovaSeq 6000 System usando a configuração de corrida de 2 × 151 bp para examinar o CV do index.

Resultados

O reequilíbrio da biblioteca melhora o CV do index

As bibliotecas preparadas com Illumina DNA PCR-Free Prep e TruSeq DNA Nano foram sequenciadas no MiSeq i100 Series. Os fatores de reequilíbrio da biblioteca foram obtidos com a aplicação integrada de controle de qualidade da biblioteca DRAGEN v1.0.13. As bibliotecas reequilibradas e não equilibradas foram sequenciadas no NovaSeq X Plus System e no NovaSeq 6000 System. Os resultados mostram que a melhoria do CV do index é observada após o reequilíbrio para todos os três pools de bibliotecas para o NovaSeq X Plus System ([Figura 3A](#)) e o NovaSeq 6000 System ([Figura 3A](#)).

Tabela 1: Controle de qualidade da biblioteca no MiSeq i100 Series

Parâmetro	Ilumina DNA PCR-Free Prep	Ilumina DNA PCR-Free Prep	TruSeq DNA Nano
Automação	Beckman Coulter Biomek NGenius	Beckman Coulter Biomek NGenius	Manual
DNA genômico	Coriell Human NA12878	Coriell Human NA12878	Coriell Human NA12878
Entrada de DNA	300 ng	300 ng	100 ng
Adaptadores	Ilumina Set A UDI 1–24	Ilumina Set B UDI 97–120	IDT for Illumina TruSeq UDI 1–24
Concentração de carga	120 pM	120 pM	120 pM
% de ocupação	91,59 %	89,27 %	91,43 %
% de filtro de passagem	80,42 %	77,20 %	85,02 %

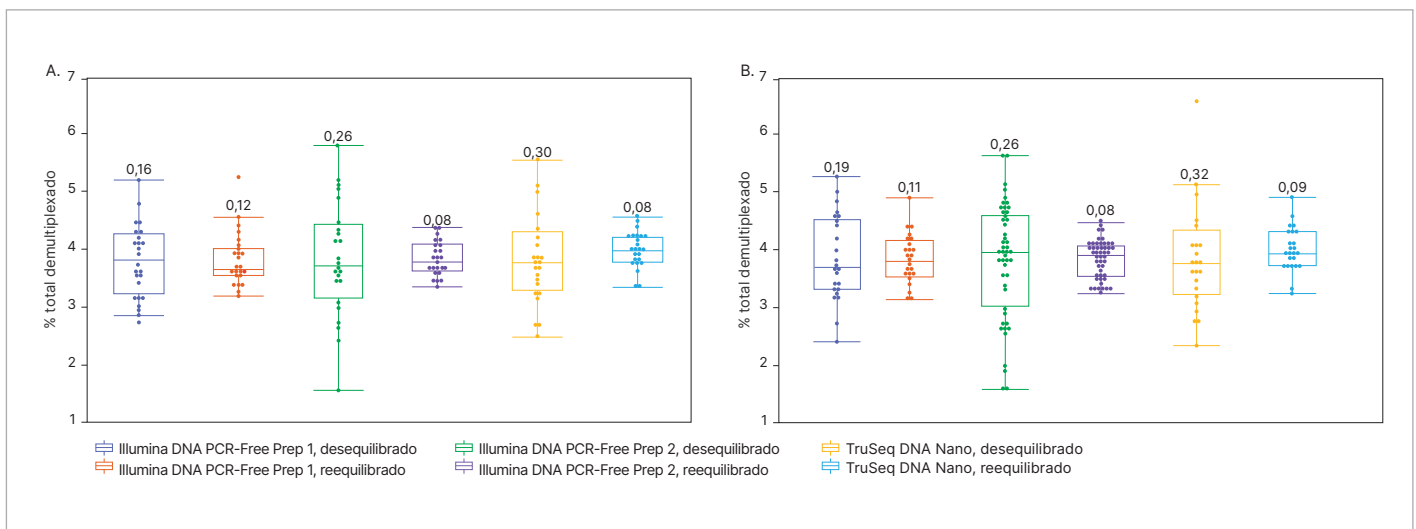


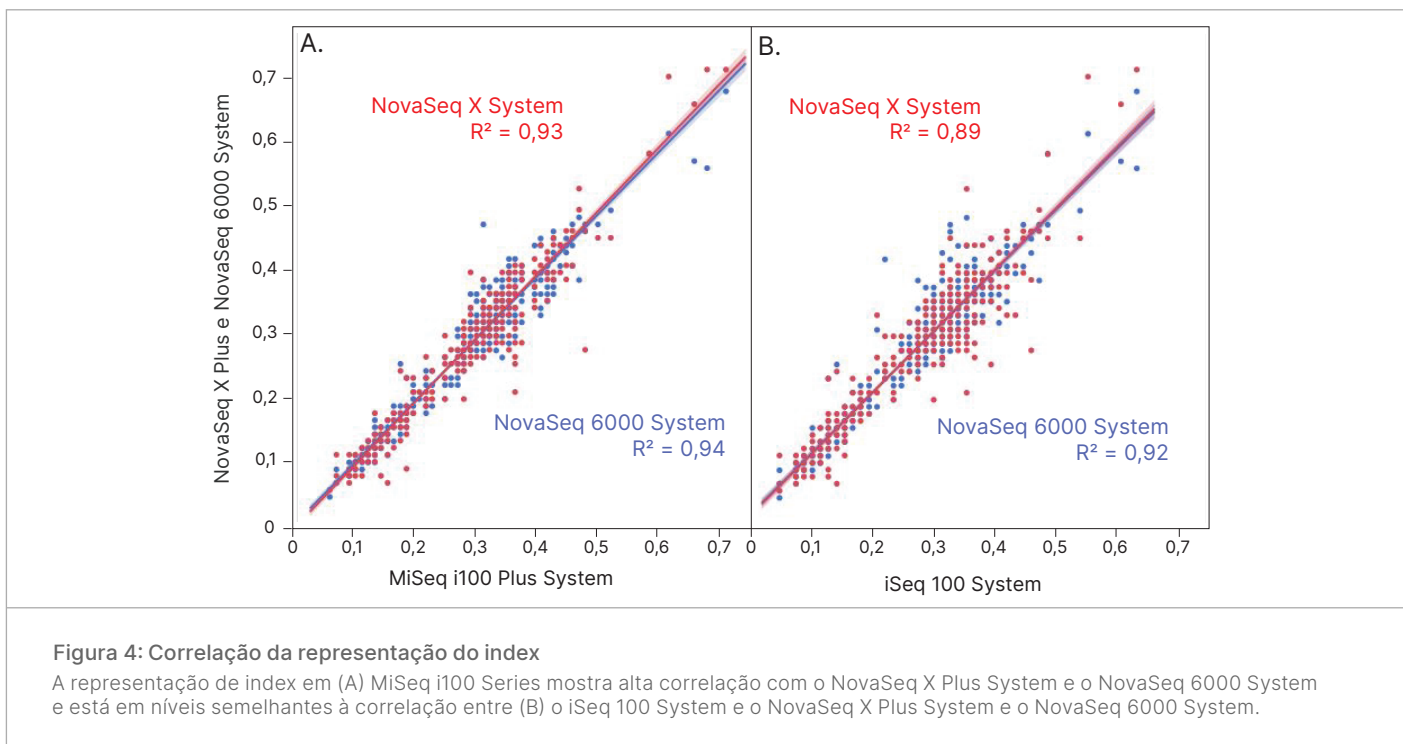
Figura 3: Reequilíbrio da biblioteca com o MiSeq i100 Plus System

Três pools de biblioteca humana de 24 plex, Illumina DNA PCR-Free Prep 1, Illumina DNA PCR-Free Prep 2 e TruSeq DNA Nano, foram sequenciados no MiSeq i100 Plus System. Os fatores de reequilíbrio da biblioteca foram obtidos com a aplicação integrada de controle de qualidade da biblioteca DRAGEN v1.0.13. As bibliotecas reequilibradas e as bibliotecas não equilibradas foram então sequenciadas no NovaSeq X Plus System e no NovaSeq 6000 System. A melhoria do CV do index (o valor médio está acima de cada diagrama de caixa) é observada após o reequilíbrio para todos os três pools de bibliotecas no (A) NovaSeq X Plus e (B) NovaSeq 6000 System.

Correlação da representação do index entre sistemas

A correlação da linha de base da representação do index foi avaliada entre o MiSeq i100 Plus System, o iSeq 100 System, o NovaSeq X Plus System e o NovaSeq 6000 System. Um pool da biblioteca Illumina DNA PCR-Free Prep de 384 plex foi preparado a partir do gDNA NA11992 humano da Coriell usando o manipulador de líquidos automatizado Hamilton STAR. As bibliotecas agrupadas foram sequenciadas no MiSeq i100 Plus System, no iSeq 100 System, no NovaSeq X System e no NovaSeq 6000 System.

As informações demultiplexadas obtidas com o MiSeq i100 Plus System mostram alta correlação com as informações demultiplexadas obtidas com os sistemas NovaSeq X Plus e NovaSeq 6000 com $R^2 > 0,9$ (Figura 4A) e são equivalentes às demultiplexadas obtidas com o iSeq 100 System (Figura 4B).



Resumo

O MiSeq i100 Series fornece um fluxo de trabalho rápido, simples e econômico para controle de qualidade da biblioteca, fornecendo informações demultiplexadas das bibliotecas em apenas 3,2 horas. A forte correlação na representação dos indexes possibilita prever sua distribuição em um sistema de sequenciamento de alto rendimento para um determinado conjunto de pares de indexes. Essa função de controle de qualidade da biblioteca permite que os usuários maximizem o desempenho no NovaSeq X Series e no NovaSeq 6000 System.

Saiba mais →

[MiSeq i100 Series](#)

[NovaSeq X Series](#)

[NovaSeq 6000 System](#)

illumina[®]

+1 (800) 809-4566, ligação gratuita (EUA) | tel. +1 (858) 202-4566
 techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2025 Illumina, Inc. Todos os direitos reservados. Todas as marcas comerciais pertencem à Illumina, Inc. ou aos respectivos proprietários. Para obter informações específicas sobre marcas comerciais, consulte www.illumina.com/company/legal.html.
 M-GL-02871 PTB v2.0