

Illumina Complete Long Read Prep, Human

高性能、可扩展的解决方案，
用于人类全基因组长读长测序

- 在一台仪器上即可进行长读长和短读长人全基因组测序，获取全面信息
- 优化的文库制备和分析性能，可获得高准确度和可靠的结果
- 仅需一天即可完成建库，DNA 起始量要求低，可兼容自动化

illumina®

简介

新一代测序（NGS）助力科学家破译基因组，更深入地了解生物学。借助成熟的因美纳边合成边测序（SBS）化学技术与屡获殊荣的 DRAGEN™ 二级分析，研究人员可以得到准确度极高的全基因组测序（WGS）数据¹。DRAGEN 分析的最新进展正在填补难绘制基因的空白^{2,3}，然而，一小部分基因区域更适合长读长测序，以实现出色的分辨率和准确定位。然而，许多长读长测序解决方案一直饱受 DNA 起始量要求高、工作流程复杂且通量低和结果高度差异化的困扰，这也限制了它们的实用性和采用率⁴⁻⁷。

Illumina Complete Long Reads 技术可帮助基因组实验室实现并简化长读长测序。Illumina Complete Long Prep, Human 是因美纳第一款基于这种新型长读长技术的产品。高性能 WGS 检测采用标准的 NGS 工作流程，在 NovaSeq™ 6000 基因测序仪和 NovaSeq X 系列上生成连续的长读长序列（图 1）。高效的文库制备方案只需一天即可完成，并且易于扩展，适用于高通量研究，DNA 起始量仅需 50 ng，无需专门的提取、剪切或片段长度筛选。

利用 NovaSeq 平台生成高质量长读长

Illumina Complete Long Read Prep, Human 可兼容 NovaSeq X Plus、NovaSeq X 和 NovaSeq 6000 基因测序仪，用户能够在同一台仪器上获取长读长和短读长数据（表 1）。该检测方法灵活，针对不同质量的样本可提供一致的结果，同时与其他长读长解决方案相比，所需的 DNA 起始量减少了 90%（图 2）。该检测方法不受常见抑制剂和污染物的影响，因此从血液、唾液或组织中提取的 DNA 表现良好。

Illumina Complete Long Reads 结合了因美纳专有的文库制备分析、成熟的因美纳 SBS 化学技术和强大的 DRAGEN 二级分析，可生成高度准确的长读长数据（图 3）。单分子 DNA 长片段以独特的模式被酶标记（或称为“界标”），然后扩增并进行测序。软件能够根据界标区分重复或难绘制的区域，并生成 N50 为 5-7 kb 的长读长（图 2）。长读长数据与未标记的短读长 WGS 文库相结合，生成连续的长读长，可完整、准确地展示原始单分子片段。

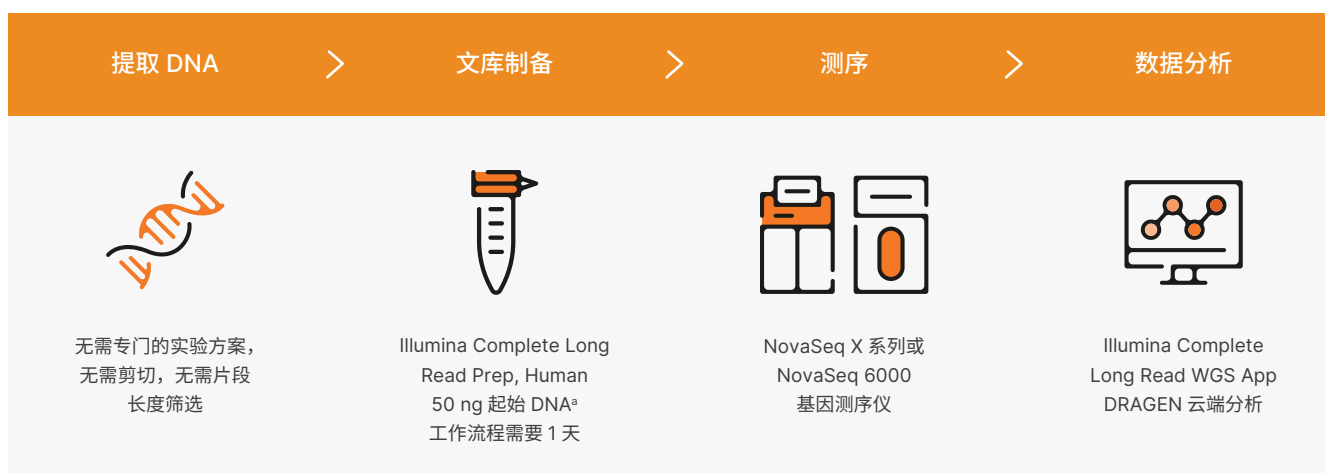


图 1: Illumina Complete Long Read 工作流程——采用可扩展、优化的文库制备方案，使用 NovaSeq 6000 基因测序仪或 NovaSeq X 系列进行测序，结合 DRAGEN 二级分析，可获得全面的 WGS 长读长数据。标准的 30×WGS 文库应制备、测序，并与 Illumina Complete Long Read 文库一起分析。

a. 虽然起始量可低至 10 ng，但因美纳建议使用 50 ng DNA。

表 1: Illumina Complete Long Read 的推荐样本通量^{a,b,c}

300 循环试剂盒	每个流动槽的样本数	每个流动槽的产出	运行时间
NovaSeq 6000 S4 试剂	4	约 3 Tb	约 44 小时
NovaSeq X 系列 10B 试剂	4	约 3 Tb	约 24 小时
NovaSeq X 系列 25B 试剂	11	约 8 Tb	约 48 小时

a. 需要 2 × 150 bp 测序运行, 生成大约 30× 覆盖度的 Illumina Complete Long Reads。
 b. 需要来自同一样本的 30× 标准短读长人类全基因组数据用于分析。推荐使用 Illumina DNA PCR-Free Prep, 也兼容第三方 WGS 试剂盒。未标记的文库无需同时制备或测序, 可以使用之前运行的样本中的 FASTQ 文件。
 c. 在 NovaSeq 平台上对 Illumina Complete Long Read 文库执行测序有可能导致运行报告的 Q30 分值低于 NovaSeq 性能指标。这既不表示测序运行有性能问题, 也不表示文库有问题。

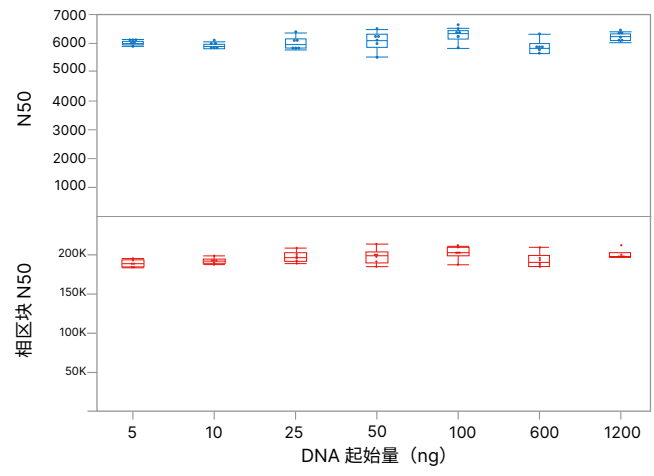


图 2: Illumina Complete Long Read 可在不同 DNA 起始量下提供一致的结果——从 5 ng 到 1200 ng DNA 起始量的 N50 和相区块 N50 具有相似的数据质量。N50 表示占总组装长度 50% 的最短 contig 的序列长度。它也可以用于度量相区块的大小。

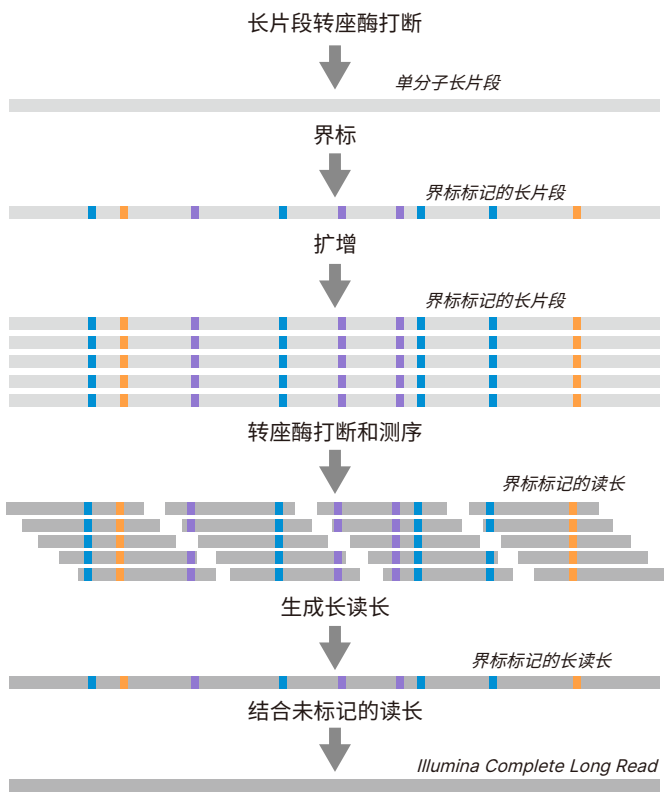


图 3: Illumina Complete Long Reads 的工作原理——该检测使用转座酶片段化⁸生成 DNA 长片段 (> 10 kb), 无需剪切或片段长度筛选。在单分子水平上对长片段进行“界标标记”, 以捕获和保存片段内的长读长信息, 无需复杂的条形码或接头。首先扩增界标标记的长片段, 然后在第二次转座酶片段化步骤中制备文库进行测序。在分析过程中, 功能强大的 DRAGEN 软件将生成读长, 并将数据与未标记的标准 WGS 库 (来自同一样本, 分别测序) 相结合, 生成高准确度的完整长读长。

实现高度准确的 WGS

Illumina Complete Long Read 数据可完善标准短读长 WGS 数据，并通过以下方式提供更全面的全基因组图谱：

- 在复杂、难绘制的区域检出具有高度同源性或重复区域的变异
- 解析复杂的结构变异、假基因和大片段插入缺失 (indel)
- 定相变异，检出单倍型

与使用 Illumina DNA PCR-Free Prep 进行文库制备结合 DRAGEN 二级分析生成的高准确度人类 WGS 数据相比，Illumina Complete Long Read 数据显示出更高的各变异类型检出准确度³ (图 4)。通过 PrecisionFDA Truth Challenge v2 数据集，使用 Illumina Complete Long Read 检测的 F1 评分为 99.90%，F1 评分反映 WGS 的精确率和召回率 (图 5)^{9,10}。

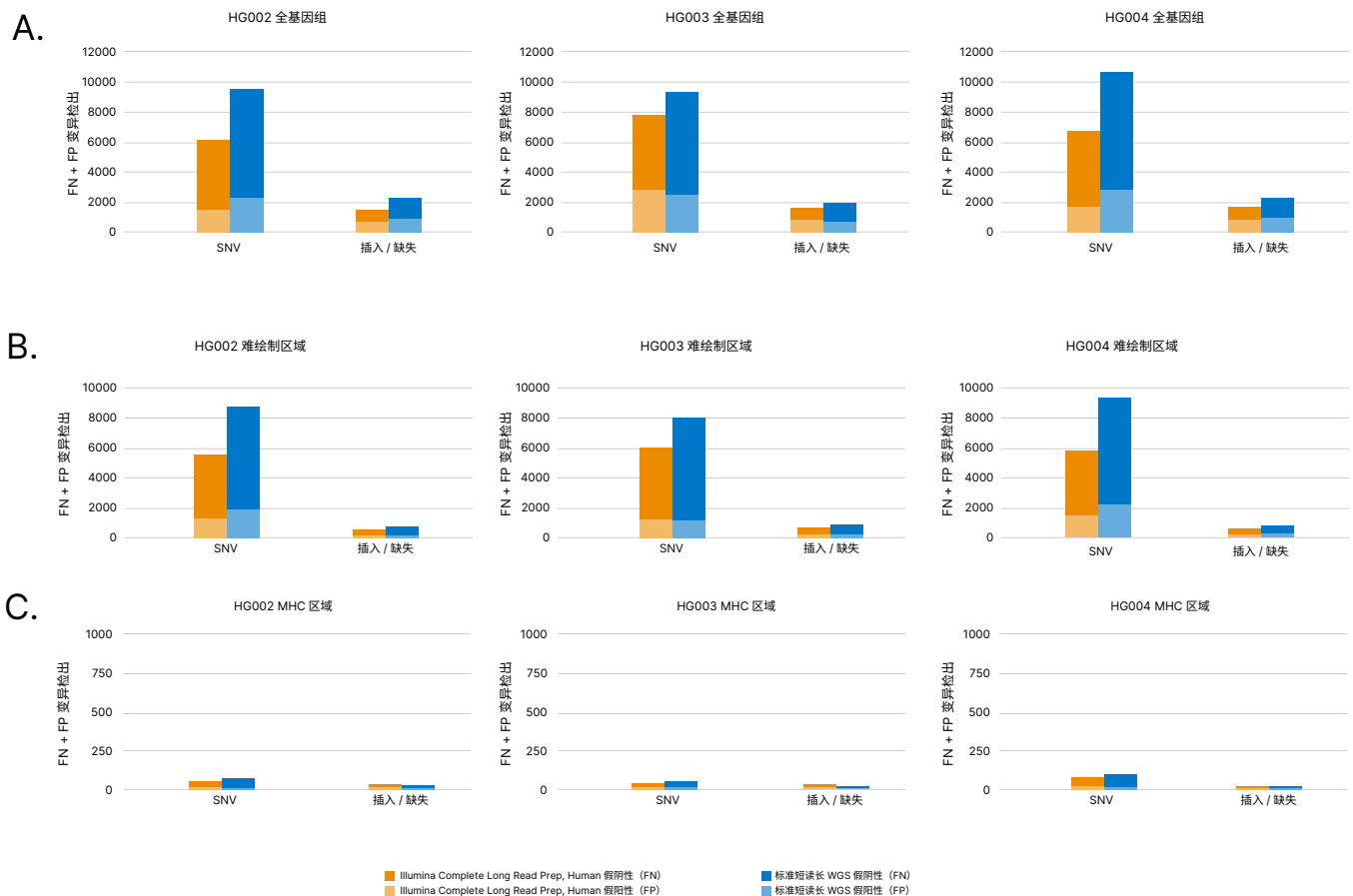


图 4: Illumina Complete Long Read 可对复杂基因区域进行高度准确的变异检出——以 Genome in a Bottle 联盟人类参考样本 HG002、HG003 和 HG004，测定单核苷酸多态性 (SNP) 和插入缺失变异检出的假阳性 (FP) 和假阴性 (FN)¹¹。比较来自 Illumina Complete Long Read 检测 (橙色) 和 Illumina DNA PCRFree Prep (蓝色) 的 WGS 数据，这些数据涉及 (A) 全基因组、(B) 难绘制区域和 (C) 主要组织相容性复合体 (MHC) 区域。

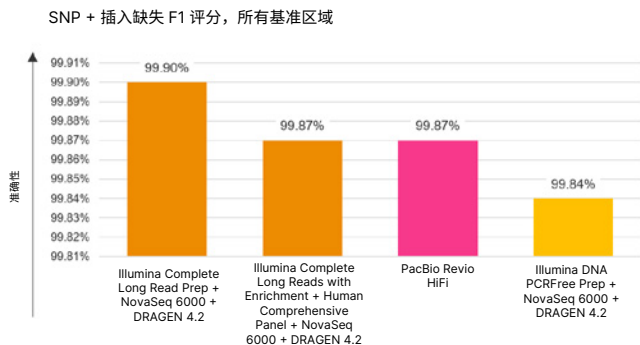


图 5: 准确性的新标准——Illumina Complete Long Read Prep, Human 为变异检出提供了更出色的准确性 (以 F1 评分 (%) 衡量, 该评分反映 WGS 的精确率和召回率)。数据使用 PrecisionFDA Challenge v2 基准样本 HG002 生成。

可扩展的一体化工作流程, 适用于高通量研究

Illumina Complete Long Read Prep 工作流程具有高度可扩展性, 支持更多样本的全面 WGS。简单的文库制备方案大约需要 8 小时 (手动操作时间为 5 小时), 只需标准化实验室设备, 可轻松实现自动化。使用 NovaSeq X Plus 基因测序仪, 用户每年可以生成多达 3000 个高准确度基因组。* Illumina Complete Long Reads 技术可用于扩展现有的 WGS 数据集, 或作为反复检测工具更深入地探索变异。

总结

长读长信息有助于分析复杂基因组区域。Illumina Complete Long Read Prep, Human 支持在同一台仪器上进行长读长和短读长测序, 助力基因组学实验室轻松实现全面的 WGS。一体化、相似的工作流程, 搭配成熟的因美纳 SBS 化学技术和 DRAGEN 分析, 可为用户提供市场上具有出色可扩展性和准确性的全基因组。

* 当 Illumina Complete Long Read Prep, Human 与 NovaSeq X Plus 基因测序仪 (使用 25B 流动槽运行双流动槽) 联用时的潜在吞吐量。

了解更多

[Illumina Complete Long Read Prep, Human](#)

[长读长测序技术](#)

[订购信息](#)

产品	货号
Illumina Complete Long Read Prep, Human (24 样本)	20089108
Illumina Complete Long Read Prep, Human (8 样本)	20086823
Illumina Unique Dual Indexes, LT (48 标签, 48 样本)	20098166
Illumina Analytics - 1 iCredit	20042038

参考文献

1. Mehio R, Ruehle M, Catreux S, et al. DRAGEN wins at PrecisionFDA Truth Challenge V2 showcase accuracy gains from alt-aware mapping and graph reference genomes. <https://www.illumina.com/science/genomics-research/articles/dragen-wins-precisionfda-challenge-accuracy-gains.html>. Published November 9, 2020. Accessed January 12, 2023.
2. Illumina. DRAGEN Bio-IT Platform data sheet. [illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/dragen-bio-it-data-sheet-m-gl-00680.pdf](https://www.illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/dragen-bio-it-data-sheet-m-gl-00680.pdf). Published 2022. Accessed February 1, 2023.
3. Illumina. Accuracy improvements in germline small variant calling with the DRAGEN Bio-IT Platform. [illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/dragen-v4-accuracy-app-note-m-gl-01016.pdf](https://www.illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/dragen-v4-accuracy-app-note-m-gl-01016.pdf). Published 2022. Accessed February 1, 2023.
4. Pacific Biosciences. Preparing DNA for PacBio HiFi sequencing—Extraction and quality control. [pacb.com/wp-content/uploads/Technical-Note-Preparing-DNA-for-PacBio-HiFi-Sequencing-Extraction-and-Quality-Control.pdf](https://www.pacb.com/wp-content/uploads/Technical-Note-Preparing-DNA-for-PacBio-HiFi-Sequencing-Extraction-and-Quality-Control.pdf). Published 2022. Accessed January 12, 2023.
5. Pacific Biosciences. Preparing whole genome and metagenome libraries using SMRTbell prep kit 3.0. <https://www.pacb.com/wp-content/uploads/Procedure-checklist-Preparing-whole-genome-and-metagenome-libraries-using-SMRTbell-prep-kit-3.0.pdf>. Published 2022. Accessed January 12, 2023.
6. Oxford Nanopore Technologies. Ligation Sequencing Kit. [store.nanoporetech.com/us/ligation-sequencing-kit110.html](https://www.nanoporetech.com/us/ligation-sequencing-kit110.html). Accessed January 12, 2023.
7. Pacific Biosciences. Low Yield Troubleshooting Guide. [pacb.com/wp-content/uploads/Guide-Low-Yield-Troubleshooting.pdf](https://www.pacb.com/wp-content/uploads/Guide-Low-Yield-Troubleshooting.pdf). Published 2018. Accessed January 12, 2023.
8. Illumina. Tagmentation. [illumina.com/techniques/sequencing/ngs-library-prep/tagmentation.html](https://www.illumina.com/techniques/sequencing/ngs-library-prep/tagmentation.html). Accessed January 12, 2023.
9. Illumina. Data on file. 2022.
10. PrecisionFDA. Truth Challenge V2: Calling Variants from Short and Long Reads in Difficult-to-Map Regions. precision.fda.gov/challenges/10. Accessed January 12, 2023.
11. Genome in a Bottle. National Institute of Standards and Technology. [nist.gov/programs-projects/genome-bottle](https://www.nist.gov/programs-projects/genome-bottle). Accessed January 12, 2023.

illumina 中国

上海办公室 • 电话 (021) 6032-1066 • 传真 (021) 6090-6279
 北京办公室 • 电话 (010) 8441-6900 • 传真 (010) 8455-4855
 技术支持热线 400-066-5835 • chinasupport@illumina.com
 市场销售热线 400-066-5875 • china_info@illumina.com • www.illumina.com.cn

© 2024 Illumina, Inc. 保留所有权利。所有商标均为因美纳公司或其各自所有者的财产。
 关于具体的商标信息，请访问 www.illumina.com.cn/company/legal.html。
 M-GL-01420 v2.0



因美纳 因美纳讲堂

illumina®