

NextSeq™ 1000/1000-CN 和 NextSeq™ 2000/2000-CN 外显子组测序 解决方案

一种集成式、高效的外显子组
测序方案，提供准确的变异检出

- 一体化的文库制备与外显子组富集，可高度均一地覆盖编码区
- 灵活、可扩展的桌面式基因测序仪，可实现卓越的数据质量
- 机载数据分析流程在检出常见突变和罕见体细胞变异方面的性能屡获殊荣

简介

NextSeq 1000/1000-CN 和 NextSeq 2000/2000-CN 基因测序仪外显子组测序解决方案（以下统称“NextSeq 1000/2000 外显子测序方案”）提供了从 DNA 文库制备到测序结果分析的一体化工作流程，使研究人员能够探索基因组的蛋白编码（外显子）区域。该解决方案搭载行业前沿的因美纳新一代测序（NGS）技术和优化的边合成边测序（SBS）化学技术——XLEAP-SBS™ 化学技术，可提供卓越的测序数据。该方案可提供高度准确的外显子组覆盖度，可鉴别真正的编码变异，应用范围广泛，包括群体遗传学、遗传疾病研究和癌症研究。在 NextSeq 1000/2000 外显子测序方案中，从文库制备到外显子富集，再到一键式测序和快速准确的数据分析，工作流程可在一台桌面式测序上一体化完成（图 1）。仅需极少的手动操作时间，就可以完成灵活、高效的外显子组测序。

简单、高效的工作流程

NextSeq 1000/2000 外显子组测序解决方案提供了简化的集成式工作流程，使研究人员能够大幅提高工作效率。首先使用文库试剂盒（如 Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment*）

* 试剂盒包括 Illumina DNA Prep with Enrichment 和 Twist Bioscience for illumina Exome 2.5 Panel



图 2：NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪——NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪搭载 XLEAP-SBS 化学技术和机载二级数据分析模块，实现测序工作流程一体化。

进行文库制备和外显子组富集，将制备好的文库加载到流动槽中，然后装入 NextSeq 1000/1000-CN 和 NextSeq 2000/2000-CN 基因测序仪（以下统称“NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪”）进行测序（图 2）。NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪具有多种测序流动槽配置，研究人员可以根据自己的需求扩展外显子组研究。数据分析（包括比对和变异检出）可以通过 DRAGEN™ Enrichment 流程轻松完成，可直接载机完成。



图 1：NextSeq 1000/2000 外显子组测序工作流程——一种简单的集成式 NGS 测序方案，可提供高度准确的外显子组测序数据。工作时间因实验和检测类型而异。

一体化的文库制备与外显子组富集

使用快速、具有与磁珠结合的转座酶化学技术的 Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment 试剂盒用于 DNA 文库制备，搭配使用 Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel 试剂盒进行外显子富集，使研究人员能够快速识别出真正的编码变异。只需 10 ng 起始量即可全面覆盖外显子组，这使得实验室能够分析宝贵的 DNA 样本，同时它还具有高度均一的覆盖率和富集率。对低频变异的高灵敏度检测，可帮助实验室准确识别真正的编码变异和罕见体细胞突变。

On-Bead Tagmentation 省去了机械剪切步骤，将工作流程简化至所需总时间大约 6 小时，而亲自动手操作时间不到 2 小时。使用 Illumina DNA Prep with Enrichment，研究人员可以从包括 Illumina、Twist 和 IDT 在内的多家供应商中选择 panel 内容 (表 1)。这意味着研究人员可以在多个外显子组 panel 中保留 Illumina DNA Prep with Enrichment 的工作流程和数据质量优势。

NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪

NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪强大而灵活的性能，可简化外显子组测序工作流程。上样和启动系统总耗时不超过 10 分钟。使用 NextSeq 2000 P4 Reagents 试剂，在 2×100bp 时，即使对多达 45 个样本进行测序，也可在 34 小时内完成。[†]

NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪与 Illumina 以及第三方的一系列文库制备试剂盒兼容，具备跨应用的灵活性。研究人员能够在多个测序项目之间轻松转换，如外显子组、群体细胞和单细胞 RNA 测序 (RNA-Seq) 以及其他应用 (图 3, 表 2)。例如，研究人员可将外显子组测序和转录组测序进行比对，以此来评估识别出的变异是否改变转录本表达。

[†] 测序通量可能因多种因素而异，包括所使用的外显子组 panel 大小和文库制备试剂盒。

表 1: 外显子组 panel 规格

Panel 特点 ^a	Illumina			
	Exome 2.5 Panel ^b	Agilent	Twist	IDT
Panel 规格	37.5 Mb	36 Mb	33 Mb	39 Mb
探针大小	120 bp	N/A	120 bp	120 bp
探针类型	dsDNA	RNA	dsDNA	ssDNA
富集 (杂交) 时间	1.5 小时	16 小时	1.5 小时	1.5-16 小时
用于外显子组 panel 设计的数据库 ^c				
RefSeq ¹	99.1%	99.88%	99.08%	99.45%
GENCODE ²	98.02%	97.29%	96.01%	96.82%
CCDS ³	99.90%	99.91%	99.76%	99.67%
UCSC 已知基因 ⁴	99.89%	98.72%	97.63%	98.13%
ClinVar ⁵	98.60%	73.41%	72.56%	72.90%

a. Panel 规格 = 目标区域中序列的总长度；探针大小 = 富集杂交探针的长度；探针类型 = 寡核苷酸探针可以是 RNA、DNA、单链 (ss) 或双链 (ds)。
b. 指 Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel 试剂盒。
c. 百分比指的是每个外显子组 panel 在数据库中的覆盖度。

因美纳也提供各种可定制的靶向重测序方案，以验证其他测序应用发现的变异。

实现“真正的编码变异”检出

检出真正的编码变异是指准确检出一个不同于编码区域内一致性序列的碱基。它不是假阳性 (变异被检出，但它并非真正存在) 或假阴性 (变异真正存在，但未被检出)。假阳性率高的系统需要大量的下游验证，增加了成本和实验时间。假阴性高的系统未能检测到潜在的重要结果，因为它们往往位于高度重复或含有同聚物延伸的区域。实现真正的编码变异检出需要高质量的文库制备和富集、出色的测序准确性和二级分析准确性，这正是 Illumina 搭载 XLEAP-SBS 化学技术的 NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪能够提供的。

利用 XLEAP-SBS 化学技术实现深入探索

XLEAP-SBS 化学技术，是 Illumina 迄今为止最快、数据质量最高、最可靠的测序化学技术，搭载这种技术后，NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪一跃成为了 Illumina 所有桌面式测序仪中通量最高、单样本测序成本最低的基因测序仪。在 2×100 bp 时，该测序仪可实现出色的准确率，可做到 $\geq 90\%$ 的碱基分值高于 Q30[‡]（表 2），即使在高难度区域（如富含 GC 的区域或同聚物）也有很高的准确率，可检出更多真正的编码变异。极低的假阳性和假阴性率大大减少了下游验证的时间和成本。NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪可提供卓越的数据质量，是全面研究外显子组的理想选择。

NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪采用支持所有 Illumina 基因测序仪久经考验的下一代测序技术，使研究人员能够比较和整合跨系统生成的数据。例如，NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪的外显子组测序数据既可与基于追踪性研究的靶向 panel 检测数据进行整合，也可与 NovaSeq™ X 基因测序仪上运行的大规模外显子组测序数据相整合（表 3）。

‡ Q30 = 1000 个碱基检出中有一个错误或者说是 99.9% 的准确率。

表 2：用于外显子组测序的 NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪的性能参数

	单端 read ^a	读长	通量 ^a	运行时间 ^b	数据质量 ^c
NextSeq 1000/2000 P1 XLEAP-SBS Reagents	100M	2×150 bp	30 Gb	17 小时	
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagents	400M	2×100 bp	80 Gb	19 小时	
NextSeq 2000/2000-CN P3 XLEAP-SBS Reagents ^d	1.2B	2×100 bp	240 Gb	31 小时	$\geq 90\%$ 的碱基高于 Q30
NextSeq 2000/2000-CN P4 XLEAP-SBS Reagents ^d	1.8B	2×100 bp	360 Gb	34 小时	

a. 通量数据是在适合的簇密度下、使用 Illumina PhiX 对照文库，在单个流动槽上实验得出的。

b. 运行时间的计算包括了 NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪上的簇生成、测序和碱基检出。

c. 质量分值的计算基于 Illumina PhiX 质控文库。根据文库类型和质量、插入片段大小、上样浓度及其他实验因素的不同，性能表现可能有所差异。高于 Q30 的碱基比例是基于整个运行的平均值。

d. P3 和 P4 试剂仅适用于 NextSeq 2000/2000-CN 基因测序仪。

使用 DRAGEN 二级分析实现简化分析

NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪搭载了 DRAGEN 二级分析模块，可以助力实验室在外显子测序中完成准确、全面、高效的数据分析。[§] 这一数据分析解决方案[¶] 采用硬件加速过的优化算法，曾获得 FDA 真相挑战赛认可，可帮助用户减少对外部信息学专家的依赖，克服数据分析瓶颈。

NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪通过 DRAGEN Enrichment 流程进行数据分析，可在测序运行完成后两小时内输出准确的变异检出结果（图 3）。在生殖细胞和体细胞的基因组比对和小变异检出方面，这种方法都具有出色的准确性⁶⁻⁸。

§ NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪包含 DRAGEN 硬件。仪器随附 DRAGEN 许可证，无需单独购买。

¶ 在 2020 PrecisionFDA Truth Challenge v2 真相挑战赛中，对测序数据的难以绘制区域和所有基准区域的测序分析中，DRAGEN 二级分析获得了“最佳表现奖”^{7,8}。

利用机载的 DRAGEN Enrichment App，可以在运行规划期间设置分析，简化从样本到答案的工作流程，具有先进的结果可视化和表格排序功能，对新客户以及有使用经验的客户都很友好。

全方位的因美纳技术支持

因美纳技术支持团队由一群经验丰富的科学家组成，他们都是文库制备、测序和分析方面的专家。这些专家可提供高水平的技术支持，包括现场服务工程师（FSE）、技术应用科学家（TAS）、现场应用科学家（FAS）、系统支持工程师、生物信息学家和 IT 网络专家，他们非常了解 NGS 以及全球的因美纳客户开展的应用。您可通过电话（每周 5 天），或网络（每周 7 天，每天 24 小时）获得技术支持，我们在全球范围内提供多种语言的技术支持。

在这种优质贴心的服务加持下，因美纳帮助用户充分发挥 NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪的强大功能，还会帮助客户培训新员工，学习最新技术以及实现最佳操作。

表 3：因美纳不同基因测序仪的外显子组测序通量

测序仪	测序试剂	每次运行的外显子组数 ^a
NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪	P1 300 循环	约 2
	P2 200 循环	10
	P3 ^b 200 循环	30
	P4 ^b 200 循环	45
NovaSeq X 基因测序仪 ^c	1.5B 200 循环	约 41
	10B 200 循环	约 250
	25B 300 循环	约 750 ^d

- a. 外显子组数计算假定每个样本约 8 Gb，从而实现 100× 覆盖度。通量可能因多种因素而异，包括所使用的外显子组 panel 大小和文库制备试剂盒。
- b. P3 和 P4 试剂仅适用于 2000/2000-CN 基因测序仪。
- c. NovaSeq X Plus 基因测序仪支持单流动槽运行或双流动槽运行。NovaSeq X 基因测序仪仅支持单流动槽运行。
- d. 最多 384 个唯一双标签序列可用。对于 NovaSeq X 系列，独立通道上样可实现更多样本的多重分析。

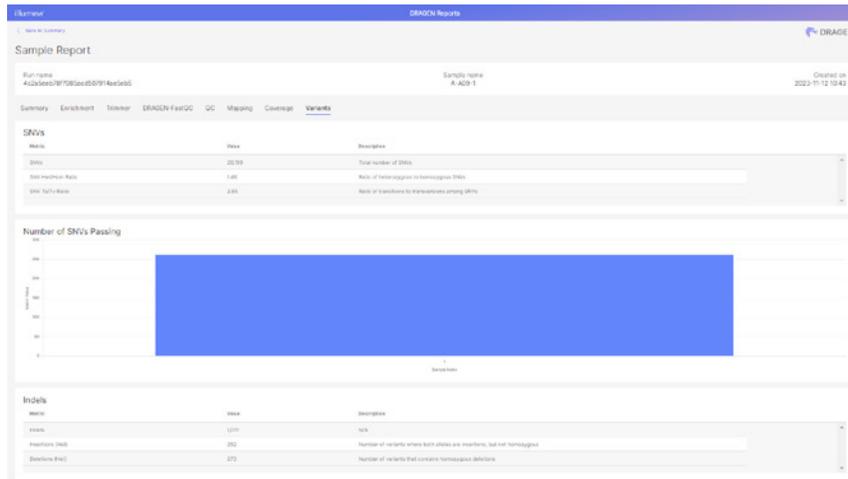


图 3：DRAGEN Enrichment 流程——DRAGEN Enrichment 流程在基因组比对和小变异检出方面具有出色准确性（如截图所示），该流程可在 NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪上联机使用。

总结

NextSeq 1000/2000 外显子组测序解决方案将 NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪的强大、快速和灵活，与高质量的文库制备和富集选项以及用户友好的分析软件相结合，为编码区变异检出提供了一种集成式、灵活的测序方案。

了解更多

[外显子组测序](#)

[Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment](#)

[NextSeq 1000/1000-CN 和 NextSeq 2000/2000-CN 基因测序仪](#)

[DRAGEN 二级分析](#)

参考文献

1. NIH National Library of Medicine. RefSeq: NcBi Reference Sequence database. ncbi.nlm.nih.gov/refseq. Updated July 18, 2023. accessed august 25, 2023.
2. The GeNcOde Project. GeNcOde: encyclopedia of genes and gene variants. gencodegenes.org/. accessed august 25, 2023.
3. NcBi website. consensus coding sequences (ccds) database. ncbi.nlm.nih.gov/projects/CCDS/CcidsBrowse.cgi. Updated November 9, 2022. accessed august 25, 2023.
4. University of california, Santa cruz Genome Browser. UcSc Known Genes. genome.ucsc.edu/. Updated august 18, 2023. accessed august 25, 2023.
5. NiH National Library of Medicine. clinVar database. ncbi.nlm.nih.gov/clinvar. Updated August 28, 2023. Accessed August 28, 2023.
6. illumina. Accuracy improvements in germline small variant calling with the DRAGEN Platform. accessed august 25, 2023.
7. PrecisionFda website. truth challenge V2: calling variants from short and long reads in difficult-to-map regions. precision.fda.gov/challenges/10. Accessed August 25, 2023.
8. Mehio R, Ruehle M, catreux S, et al. dRaGeN Wins at Precision-Fda truth challenge V2 Showcase accuracy Gains from altaware Mapping and Graph Reference Genomes. illumina.com/science/genomics-research/dragen-wins-precisionfda-challenge-showcase-accuracy-gains.html. Accessed August 25, 2023.

订购信息

产品	目录号
NextSeq 2000 基因测序仪	20038897
NextSeq 1000 基因测序仪	20038898
NextSeq 2000-CN 基因测序仪	20102459
NextSeq 1000-CN 基因测序仪	20112098
NextSeq 1000 升级至 NextSeq 2000	20047256
NextSeq 1000/2000 P1 XLEAP-SBS Reagent Kit (100 循环) ^{a,b}	20100983
NextSeq 1000/2000 P1 XLEAP-SBS Reagent Kit (300 循环) ^{a,b}	20100982
NextSeq 1000/2000 P1 XLEAP-SBS Reagent Kit (600 循环) ^{a,b}	20100981
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (100 循环) ^{a,b}	20100987
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (200 循环) ^{a,b}	20100986
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (300 循环) ^{a,b}	20100985
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (600 循环) ^{a,b}	20100984
NextSeq 2000 P3 XLEAP-SBS Reagent Kit (100 循环) ^{a,b}	20100990
NextSeq 2000 P3 XLEAP-SBS Reagent Kit (200 循环) ^{a,b}	20100989
NextSeq 2000 P3 XLEAP-SBS Reagent Kit (300 循环) ^{a,b}	20100988

a. NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪的 XLEAP-SBS 试剂盒的运输和储存温度与标准 SBS 试剂盒相同。

b. 试剂盒配置包括 Illumina DNA Prep with Enrichment 和 Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel。

订购信息

产品	目录号
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagent Kit (50 循环) ^a	20100995
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagent Kit (100 循环) ^a	20100994
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagent Kit (200 循环) ^a	20100993
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagent Kit (300 循环) ^a	20100992
NextSeq 1000/2000 XLEAP-SBS Read and Index Primers ^a	20112856
NextSeq 1000/2000 XLEAP-SBS Index Primer Kit ^a	20112858
NextSeq 1000/2000 XLEAP-SBS Read Primer Kit ^a	20112859
Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment, (S) Tagmentation Set B (96 样本, 12 重) ^b	20077595
Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment, (S) Tagmentation Set D (96 样本, 12 重) ^b	20077596
Illumina DNA Prep with Enrichment, (S) Tagmentation (16 样本)	20025523
Illumina DNA Prep with Enrichment, (S) Tagmentation (96 样本)	20025524
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set A, Tagmentation (96 标签, 96 样本)	20091654
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set B, Tagmentation (96 标签, 96 样本)	20091656
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set C, Tagmentation (96 标签, 96 样本)	20091658
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set D, Tagmentation (96 标签, 96 样本)	20091660

a. NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪 XLEAP-SBS 试剂盒的运输和储存温度与标准 SBS 试剂盒相同。

b. 试剂盒配置包括 Illumina DNA Prep with Enrichment 和 Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel。

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 • chinastupport@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-00479 v4.0

