

Trousse de préparation de librairies d'ADN Nextera^{MC} Flex

Un flux de travail intégré et rapide pour une vaste gamme d'applications, allant du séquençage du génome humain entier aux amplicons, aux plasmides et aux espèces microbiennes.

Points forts

- **Flux de travail de préparation de librairies rapide**
Économies de temps et réduction du nombre de points de contact manuels grâce à la tagmentation sur bille, qui diminue le temps total de préparation des librairies à moins de trois heures
- **Entrée d'échantillons intégrée**
Préparation des librairies plus efficace grâce aux protocoles intégrés d'extraction d'ADN pour le sang, la salive et les gouttes de sang séché
- **Flux de travail souple, rehaussé par une large plage d'entrée d'ADN**
Simplification des activités courantes à l'aide d'une trousse qui soutient une large plage d'entrée d'ADN (de 1 à 500 ng), de multiples modes d'entrée d'ADN et des génomes de petite ou grande taille
- **Large gamme d'applications**
Séquençage du génome humain ou d'autres génomes complexes ou de grande taille, de même que d'amplicons ou d'espèces microbiennes, parasitaires ou fongiques
- **Optimisation du rendement de la préparation des librairies**
Constance des tailles d'insert et grande uniformité de la couverture, peu importe le niveau d'expérience de l'utilisateur

Le lancement des trousse de préparation de librairies d'ADN Nextera a introduit la chimie de tagmentation, qui réunit les étapes de fragmentation de l'ADN et de ligation des adaptateurs en une seule réaction de 15 minutes et réduit le temps de préparation des librairies à 90 minutes¹. Le lancement des trousse de préparation de librairies d'ADN Nextera XT a mis fin à la nécessité de quantifier les librairies avant leur regroupement et leur séquençage². Et voici maintenant la toute dernière révolution en chimie de préparation de librairies d'Illumina : la trousse de préparation de librairies d'ADN Nextera Flex. La chimie unique de la trousse de préparation de librairies d'ADN Nextera Flex (figure 1, tableau 1) regroupe les étapes d'extraction et de fragmentation de l'ADN, ainsi que de préparation et de normalisation des librairies pour procurer le flux de travail le plus rapide et le plus souple du portefeuille de produits de préparation de librairies d'Illumina (figure 2, tableau 2).

Introduction

Bien que les avancées de la technologie de séquençage nouvelle génération (SNG) ont accéléré les progrès de la recherche en génomique, de nombreux laboratoires ont encore des problèmes d'engorgement à l'étape de la préparation des librairies du flux de travail de SNG. Comme de multiples étapes précèdent et suivent la préparation des librairies, de nombreux laboratoires doivent composer avec d'importants délais avant de pouvoir lancer le processus de séquençage. Les étapes précédant la préparation des librairies comprennent l'extraction, la quantification et la fragmentation de l'ADN, tandis que celles qui la suivent comprennent les évaluations de la qualité, la quantification et la normalisation des librairies.

Destiné à la recherche uniquement. Ne pas utiliser dans le cadre d'exams diagnostiques.

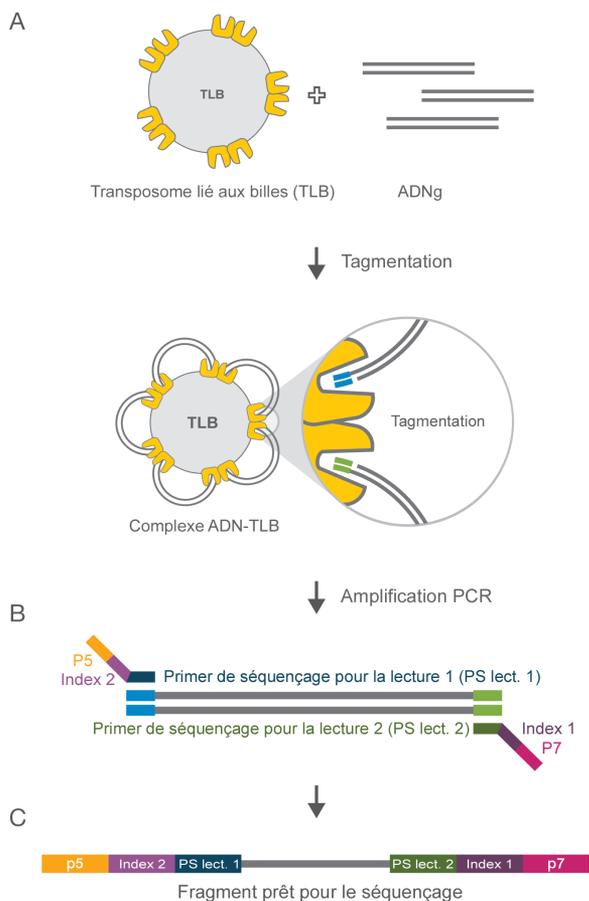


Figure 1 : Chimie de transposome lié aux billes Nextera. A) Les transposomes liés aux billes servent d'agent médiateur pour que la fragmentation d'ADNg et l'ajout des primers de séquençage d'Illumina puissent s'effectuer simultanément. B) La réaction PCR à nombre réduit de cycles amplifie les fragments d'ADN prêts au séquençage et ajoute les index et les adaptateurs. C) Les fragments prêts au séquençage sont lavés et regroupés.

Tableau 1 : Spécifications de préparation de librairies d'ADN Nextera Flex

	ADN Nextera Flex
Type d'entrée d'ADN	ADNg, sang, salive, amplicons PCR, plasmides, gouttes de sang séché
Entrée d'ADN requise	De 1 à 500 ng, génomes de petite taille De 100 à 500 ng, génomes de grande taille
Multiplexage des échantillons	24 index uniques, 96 index doubles
Systèmes de séquençage pris en charge	Tous les systèmes d'Illumina
Durée totale du flux de travail de préparation de librairies (gDNA) ^a	De 3 à 4 heures

a. Comprends les étapes d'extraction de l'ADN, de préparation des librairies et de normalisation/regroupement des librairies

Outre un flux de travail rapide, la trousse de préparation de librairies d'ADN Nextera Flex offre une souplesse exceptionnelle au chapitre du type d'entrée et de la quantité des entrées, et permet une vaste gamme d'applications. Du séquençage du génome humain entier aux

petits plasmides microbiens, la trousse de préparation de librairies d'ADN Nextera Flex procure une couverture homogène du génome et la précision éprouvée de la chimie de séquençage par synthèse (SBS) d'Illumina³.

Flux de travail de préparation de librairies rapide et souple

La trousse de préparation de librairies d'ADN Nextera Flex comprend de nombreuses caractéristiques qui, ensemble, procurent le flux de travail de préparation de librairies le plus rapide du portefeuille de produits d'Illumina. Une des plus importantes avancées de la chimie de la trousse de préparation de librairie d'ADN Nextera Flex est la tagmentation sur bille, qui utilise des transposomes liés aux billes comme agents médiateurs pour produire une réaction de tagmentation plus uniforme par rapport aux réactions de tagmentation en solution. Lorsque les transposomes liés aux billes sont saturés d'ADN, aucune autre réaction de tagmentation ne peut se produire, ce qui permet d'obtenir un processus de normalisation fondé sur la saturation d'une grande uniformité. Cette stratégie présente de nombreux avantages intéressants :

- Dans le cas des entrées d'ADN de 100 à 500 ng, la quantification précise de l'échantillon d'ADN initial n'est pas requise. Comme l'entrée d'ADN n'a pas d'incidence sur la taille du fragment d'insert d'ADN à l'intérieur de cette plage, il est possible d'économiser temps et argent en évitant les longs processus de quantification.
- La tagmentation sur bille élimine la nécessité des étapes distinctes de fragmentation d'ADN mécanique ou enzymatique, ce qui permet d'économiser temps et argent sur les instruments de découpage et les trousse de réaction enzymatique.
- Pour ce qui est des entrées d'ADN de 100 à 500 ng, la tagmentation sur bille permet la normalisation d'ADN fondée sur la saturation, éliminant ainsi les étapes chronophages de quantification et de normalisation préalables au regroupement.

De plus, le flux de travail convivial permet de réduire le nombre d'étapes manuelles et de soutenir les systèmes de manipulation des liquides aux fins de l'automatisation de la préparation des librairies. Ensemble, ces avancées produisent le flux de travail affichant le plus petit nombre d'étapes et la durée totale du flux de travail la plus courte de tout le portefeuille de produits d'Illumina (figure 2).

TruSeq^{MC} Nano

Extraction d'ADN	Quant. d'ADN	Frag. d'ADN	Préparation de librairies avec ligation des adaptateurs et marquage d'index	Quant. de la librairie	Normalisation et regroupement manuels	DTF ~11 heures
1 heure	0,5 heure	1 heure	6 heures	0,5 heure	2 heures	

Nextera XT

Extraction d'ADN	Quant. d'ADN	Préparation de librairies avec tagmentation de Nextera	Normalisation et regroupement à base de billes	DTF ~5,5 heures
1 heure	0,5 heure	2,5 heures	1,5 heures	

ADN Nextera Flex

Extraction d'ADN	Quant. d'ADN	Préparation de librairies avec tagmentation et normalisation intégrée de Nextera	DTF ~4 heures
1 heure	0,5 heure	2,5 heures	

ADN Nextera Flex (sang, salive)

Trousse de lyse Flex	Préparation de librairies sans quantification, avec tagmentation et normalisation intégrée de Nextera	DTF ~3 heures
0,5 heure	2,5 heures	

Figure 2 : La trousse d'ADN Nextera Flex procure le flux de travail le plus rapide d'Illumina. Les calculs sont effectués en présumant que 16 échantillons sont traités à la fois à l'aide d'une pipette multicanal. DTF = durée totale du flux de travail de l'extraction d'ADN à la normalisation et au regroupement des librairies. La durée de chaque étape du flux de travail est calculée en présumant que les méthodes sont précises : extraction d'ADN (mini-trousse d'ADN QIAamp ou trousse de lyse Flex), quantification d'ADN (Qubit), fragmentation d'ADN (Covaris), et normalisation et regroupement manuels des librairies (Bioanalyzer). Les temps peuvent varier selon le matériel utilisé, le nombre d'échantillons traité, l'automatisation des procédures et le niveau d'expérience de l'utilisateur. Les étapes du flux de travail en gris ne sont pas prises en charge par les trousse de préparation de librairies.

Tableau 2 : Comparaison des flux de travail de préparation de librairies d'Illumina

	TruSeq Nano	Nextera XT	Nextera ADN Flex ^{a,b}
Lyse d'ADN intégrée prise en charge	—	—	✓
Plage d'entrée d'ADN large et souple	—	—	✓
Normalisation de librairies prise en charge	—	✓	✓
Entrée d'ADN requise	100 à 200 ng	1 ng	1 à 500 ng
Durée totale de préparation des librairies ^c	11 heures	5 heures	3 à 4 heures
Taille des inserts	350 pb ou 550 pb	< 300	300 à 350 pb
Multiplexage des échantillons	96 index doubles	384 index doubles	24 index uniques, 96 index doubles

a. Les protocoles d'extraction d'ADN intégrés prennent en charge les échantillons de sang, de salive et de gouttes de sang séché.

b. La normalisation des librairies s'opère avec une entrée d'ADN ≥ 100 ng.

c. La durée totale de préparation des librairies comprend l'extraction d'ADN, la préparation des librairies et la normalisation/le regroupement des librairies.

Entrée d'ADN intégrée

À l'aide des trousse de préparation de librairies d'ADN Nextera Flex et de réactifs de lyse Flex, l'extraction d'ADN peut être traitée directement à même les échantillons de sang frais ou de salive. Les trousse de lyse d'ADN Nextera Flex facultatives ont été optimisées et validées pour la trousse de préparation de librairies d'ADN Nextera Flex, et les étapes du flux de travail, les réactifs et les directives du guide de l'utilisateur sont entièrement intégrés pour une efficacité maximale. Les protocoles de lyse sont traités au moyen de réactifs conviviaux à base de billes, requièrent moins de 30 minutes de temps de manipulation et mènent directement à la réaction de tagmentation d'ADN Nextera Flex.

Optimisation du rendement de la préparation des librairies

Les propriétés de la tagmentation sur bille ont grandement amélioré le rendement de la préparation des librairies. La trousse de préparation de librairies produit des tailles d'insert hautement uniformes et constantes (de 300 à 350 pb) à l'échelle d'une large plage d'entrées d'ADN (de 1 à 500 ng) (figure 3). Comme la tagmentation sur bille permet la génération de tailles d'insert uniformes à l'échelle d'une large plage d'entrées, il n'est plus nécessaire d'optimiser le rapport transposome:ADN pour contrôler la longueur des fragments. En outre, la large plage d'entrée d'ADN procure la souplesse nécessaire à la réalisation d'expériences sur divers types d'échantillons, y compris les échantillons précieux. En plus de l'uniformité des tailles d'insert, la tagmentation sur bille offre des rendements de librairies uniformes et constants à l'échelle d'une large plage d'entrées d'ADN (de 100 à 500 ng) (figure 4). À une entrée d'ADN avoisinant les 100 ng, ou exactement à ce niveau,

Destiné à la recherche uniquement. Ne pas utiliser dans le cadre d'examen diagnostiques.

les billes deviennent saturées, ce qui produit des rendements constants et normalisés, et évite d'avoir à consacrer du temps à la quantification et à la normalisation des librairies préalablement à leur regroupement. Dans une comparaison de la performance des trousse de préparation de librairies d'ADN Nextera Flex et TruSeq Nano, la trousse d'ADN Nextera Flex a produit des résultats comparables à ceux de la fragmentation mécanique, voire supérieurs pour certains paramètres (tableau 3).

Outre les améliorations que la technologie à base de billes contribue au flux de travail, le plus important avantage de la constance et de l'uniformité des tailles d'insert et des rendements de librairies est l'obtention d'une couverture plus homogène et uniforme à l'échelle du génome, tant pour l'espèce humaine que les espèces non humaines (figure 5). Même les génomes dont la teneur en GC est faible ou élevée affichent une couverture remarquablement homogène, sans biais spécifique à la région (figure 5B).

Tableau 3 : Rendement de la préparation de librairies d'ADN Nextera Flex

Paramètre ^a	ADN Nextera Flex	TruSeq Nano
Lectures appariées franchissant le filtre	$3,7 \times 10^8$	$3,7 \times 10^8$
Capacité d'appel autosome	96,5 %	96,9 %
Capacité d'appel autosome exon	98,4 %	98,4 %
Couverture autosome > 10x	98,5 %	98,6 %
Rappel de SNV	98,7 %	98,7 %
Précision de SNV	99,8 %	99,7 %
Rappel d'indel	93,7 %	92,9 %
Précision d'indel	97,0 %	94,9 %

a. L'analyse a été réalisée sur 20 échantillons (tous des échantillons Coriell NA12878), échelonnés sur cinq analyses, pour approximer des constructions de génome humain compressé 30 fois. Les données ont été analysées à l'aide des applications BaseSpace [Whole Genome Sequencing v6.0.0](#) et [Variant Calling Assessment Tool v3.0.0](#). SNV = variants mononucléotidiques, indel = variant d'insertion/de délétion.

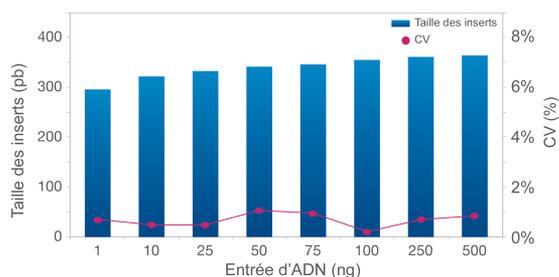


Figure 3 : Tailles d'insert uniformes et constantes. La tagmentation sur bille produit des tailles d'insert constantes, peu importe la quantité d'entrées d'ADN. Que l'entrée d'ADN soit de 1 ou 500 ng, le coefficient de variation (CV) total est de 6,09 %. Les librairies produites à partir de souches d'*E. coli* reproduisent les échantillons traités à l'aide de la trousse d'ADN Nextera Flex. Analyse réalisée sur un système MiSeq^{MC} (analyse de 2 x 76 pb).

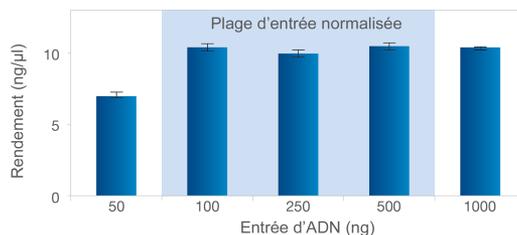


Figure 4 : Librairies fragmentées par tagmentation et normalisées. Les billes deviennent saturées à un niveau égal ou supérieur à 100 ng, produisant un rendement normalisé d'ADN fragmenté par tagmentation. La normalisation de l'ADN fragmenté par tagmentation permet d'éviter l'étape de normalisation des librairies qui survient normalement plus loin au cours du processus. Librairies produites à partir d'échantillons humains NA12878 (Coriell Institute) à l'aide de la trousse d'ADN Nextera Flex. Analyse réalisée sur un système MiSeq (2 x 76 pb).

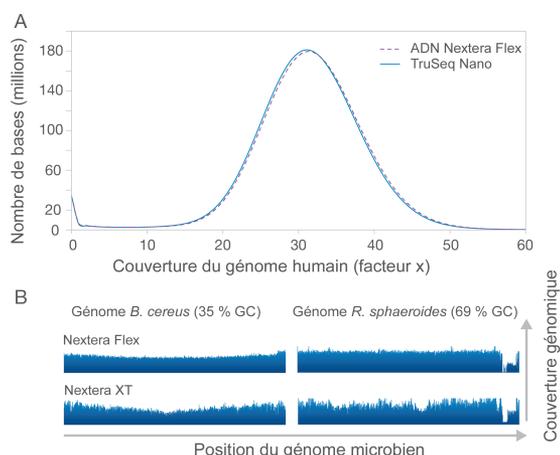


Figure 5 : La trousse d'ADN Nextera Flex améliore l'uniformité de la couverture. A) La trousse d'ADN Nextera Flex procure une couverture uniforme à l'échelle du génome comparable à celle de la trousse d'ADN TruSeq Nano DNA. Librairies produites à partir d'échantillons humains NA12878 (Coriell Institute) à l'aide de la trousse d'ADN Nextera Flex ou TruSeq Nano. Séquençage réalisé sur un système HiSeq XMC (2 x 151 pb). B) Couverture pour des microorganismes dont la teneur en GC est extrêmement faible ou élevée. Grâce à la chimie améliorée de préparation de librairies sur bille, la trousse d'ADN Nextera Flex affiche une couverture plus homogène que celle de la trousse Nextera XT. Les librairies ont été préparées à l'aide de la trousse Nextera XT ou de la trousse d'ADN Nextera Flex. Les données ont été générées sur un système HiSeq^{MC} 2500 (mode d'analyse rapide v2, 2 x 151 pb).

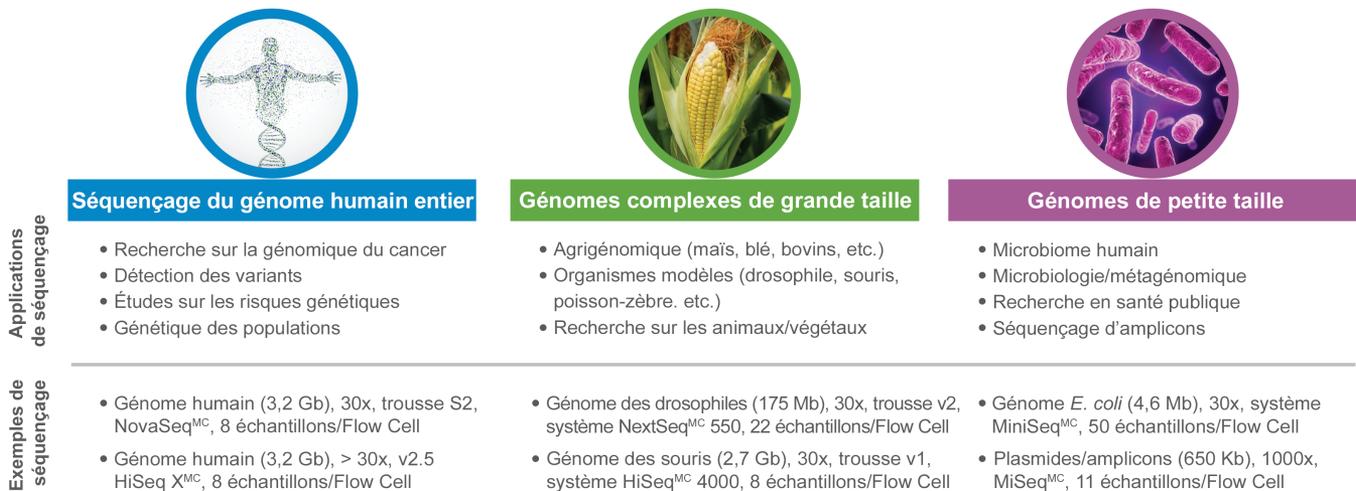


Figure 6 : Vaste gamme d'applications de la trousse d'ADN Nextera Flex. La trousse de préparation de librairies d'ADN Nextera Flex prend en charge une vaste gamme d'applications. Du séquençage du génome humain entier et des génomes complexes de grande taille aux petits génomes microbiens, la trousse de préparation de librairies d'ADN Nextera Flex procure la souplesse nécessaire aux expériences.

Flux de travail souple permettant une vaste gamme d'applications

Le plus grand avantage de la trousse de préparation de librairies d'ADN Nextera Flex est peut-être la souplesse qu'elle procure pour une vaste gamme de centres d'intérêts de recherche et d'applications. Elle peut notamment servir au séquençage du génome humain entier, à la recherche sur la génomique du cancer, à la métagénomique environnementale, à la recherche sur les maladies infectieuses et à l'agrigenomique (figure 6). Que ce soit pour le séquençage de génomes complexes de grande taille, de petits génomes, de plasmides, d'amplicons, de bactéries à Gram positif ou négatif, de champignons ou d'un éventail d'espèces végétales et animales, la trousse de préparation de librairies d'ADN Nextera Flex procure une couverture complète du génome. Le flux de travail souple et convivial peut être adapté en fonction des besoins d'utilisateurs de divers niveaux d'expérience, de multiples applications et de multiples types d'entrée d'échantillons.

Résumé

La trousse de préparation de librairies d'ADN Nextera Flex propose un flux de travail révolutionnaire qui regroupe l'extraction, la quantification et la fragmentation d'ADN, de même que la normalisation des librairies, ce qui le rend le plus rapide et le plus souple du genre dans tout le portefeuille de produits d'Illumina. Le flux de travail convivial et compatible avec l'automatisation s'adresse aux utilisateurs de tous les niveaux d'expérience et procure un cadre commun pour un éventail de conceptions expérimentales. La chimie de tagmentation sur bille permet de prendre en charge une large plage de quantités d'entrées d'ADN, divers types d'échantillons et

une vaste gamme d'applications, notamment le séquençage du génome humain entier, la métagénomique environnementale, les recherches sur les animaux et les végétaux, et le profilage des tumeurs. Voyez comment le flux de travail novateur de la trousse de préparation de librairies d'ADN Nextera Flex, utilisée de concert avec la puissante chimie SBS d'Illumina, peut accélérer l'avancement de vos objectifs de recherche dès aujourd'hui.

Renseignements relatifs à la commande

Produit	N° de référence
Trousse de préparation de librairies d'ADN Nextera Flex (24 échantillons)	20018704
Trousse de préparation de librairies d'ADN Nextera Flex (96 échantillons)	20018705
Trousse de réactifs de lyse Flex	20018706
Index CD d'ADN Nextera (24 index, 24 échantillons)	20018707
Index CD d'ADN Nextera (96 index, 96 échantillons)	20018708

Index CD : Index combinatoires doubles. 24 index combinatoires doubles fournis pour prendre en charge jusqu'à 24 échantillons ou 96 index combinatoires doubles fournis pour prendre en charge jusqu'à 96 échantillons. **Index uniques :** 24 index uniques fournis pour prendre en charge jusqu'à 96 échantillons.

En savoir plus

Pour en savoir plus sur la trousse de préparation de librairies d'ADN Nextera Flex, visitez le site www.illumina.com/nextera-dna-flex.

Pour obtenir plus d'information sur le séquençage du génome humain entier à l'aide de la trousse de préparation de librairies d'ADN Nextera Flex, lisez la [remarque sur l'application de la trousse d'ADN Nextera Flex au séquençage du génome humain entier](#).

Pour obtenir plus d'information sur le séquençage de génomes microbiens à l'aide de la trousse de préparation de librairies d'ADN Nextera Flex, lisez la [remarque sur l'application de la trousse d'ADN Nextera Flex au séquençage de génomes microbiens entiers](#).

Références

1. Illumina (2016). [Fiche technique de la trousse de préparation de librairies d'ADN Nextera DNA](#). Consultée le 10 juillet 2017.
2. Illumina (2014). [Fiche technique de la trousse de préparation de librairies d'ADN Nextera XT DNA](#). Consultée le 10 juillet 2017.
3. Bentley DR, Balasubramanian S, Swerdlow HP, et al. [Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry](#). *Nature*. 2008;456:53-59.