

# Panel de séquençage TruSeq<sup>MD</sup> Neurodegeneration

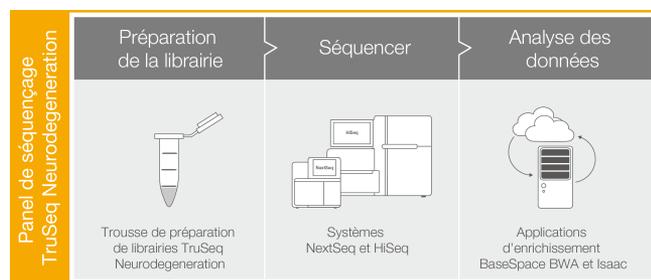
Une solution de séquençage ciblé pour l'étude de gènes candidats associés à de graves maladies neurodégénératives.

## Points forts

- Panel basé sur des données avérées ciblant des régions d'intérêt génomiques**  
 Cible 118 gènes et plus de 8,7 Mb de contenu d'exons, d'introns, de régions non traduites (UTR) et de régions du promoteur
- Vaste couverture des maladies neurodégénératives**  
 Comprend les maladies d'Alzheimer et de Parkinson, la sclérose latérale amyotrophique (SLA) et d'autres maladies
- Flux de travail intégré et rationalisé**  
 Comprend une préparation de librairies à courte durée de manipulation, un séquençage fiable et une analyse conviviale des données

## Introduction

Le panel de séquençage TruSeq Neurodegeneration permet d'effectuer des recherches systématiques sur les gènes associés aux maladies neurodégénératives. Le panel ciblé associe la préparation de librairies Nextera<sup>MD</sup> et des techniques d'enrichissement ciblé à la technologie éprouvée de séquençage nouvelle génération d'Illumina et à une analyse conviviale des données pour créer un flux de travail de séquençage intégré et rationalisé (figure 1). Le panel de séquençage TruSeq Neurodegeneration simplifie la validation de la cartographie fine et l'identification d'allèles fonctionnels putatifs rares et d'autres allèles de risque. Il permet l'étude des régions régulatrices tant codantes que non codantes pour des protéines de gènes candidats aux fins de recherches efficaces et rentables sur les maladies neurodégénératives graves.



**Figure 1 : Survol du flux de travail du panel de séquençage TruSeq Neurodegeneration** : Le panel de séquençage TruSeq Neurodegeneration fait partie d'un flux de travail intégré et rationalisé, qui comprend la préparation de librairies, le séquençage et l'analyse de données.

## Panel basé sur des données avérées

Le panel de séquençage TruSeq Neurodegeneration couvre 118 gènes associés à des maladies neurodégénératives graves, comme la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, la sclérose latérale amyotrophique, la démence frontotemporale, la démence à corps de Lewy, la dystonie et la démence précoce. Les gènes ciblés compris dans le panel ont été sélectionnés en tant que gènes « de risque » avérés ou en tant que gènes dans des locus particuliers, en fonction de l'avis de la communauté scientifique exprimé dans les récents résultats d'études d'association pangénomiques<sup>a</sup>.

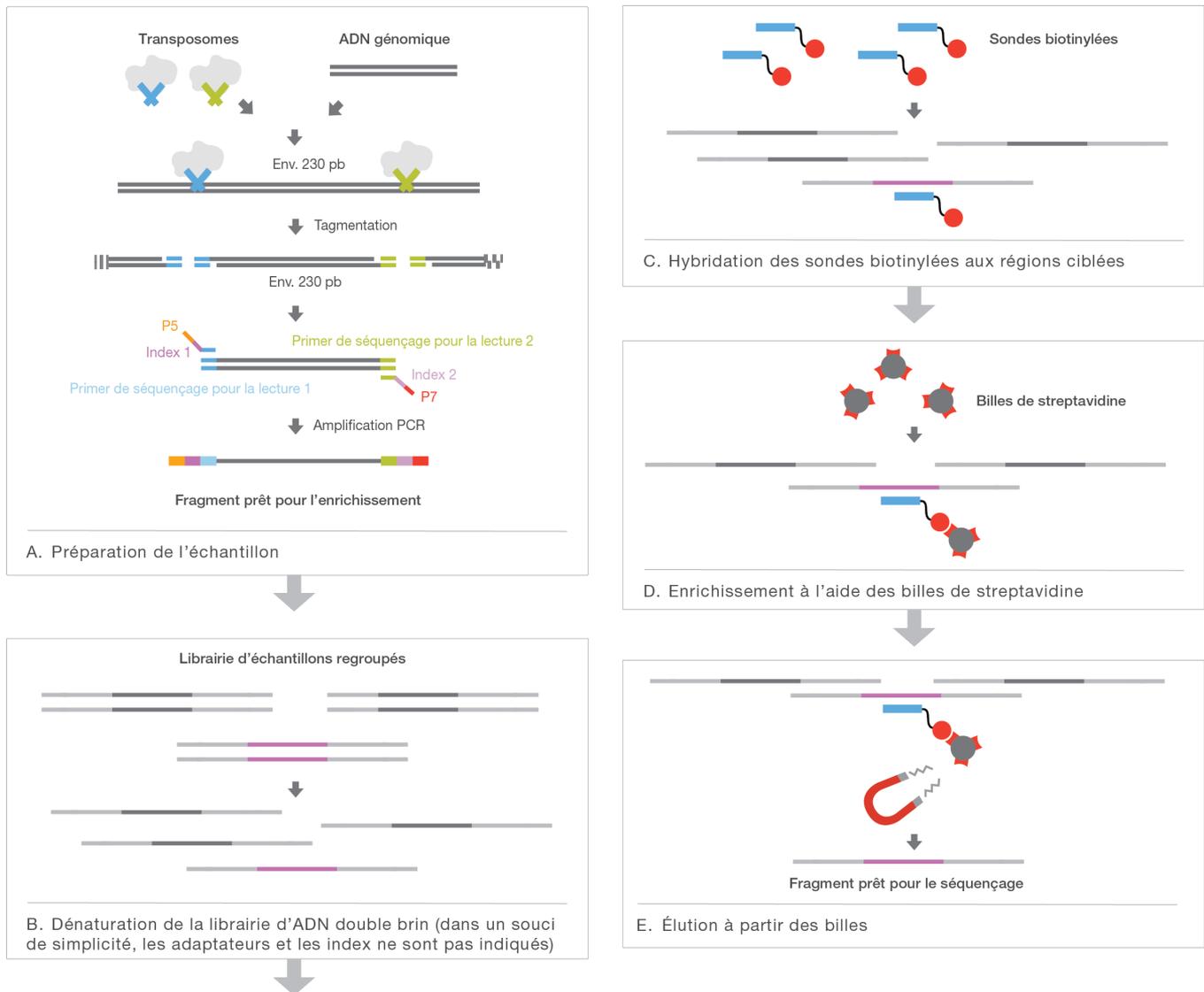
Le panel de séquençage TruSeq Neurodegeneration comporte un ensemble d'environ 43 600 sondes 80-mer hautement optimisées, dont chacune a été construite d'après le génome de référence NCBI37/hg19. L'ensemble de sondes couvre 8,7 Mb de contenu génomique comprenant des exons, des introns, des UTR et des régions du promoteur parmi les 1 300 pb en amont du site d'initiation de la transcription (SIT) des gènes candidats (tableau 1). On a fabriqué les sondes du panel de séquençage TruSeq Neurodegeneration au moyen d'un procédé itératif de conception et de test fonctionnel, pour veiller à l'excellence de leur performance et de leur uniformité.

**Tableau 1 : Renseignements sur la couverture**

Paramètre	Valeur
Taille des régions cibles cumulées	8,7 Mb
Nbre de gènes dans le panel	118
Taille de la sonde	80 pb
Nbre de sondes	~ 43 600
Contenu de la cible	Exons, introns, UTR, régions du promoteur (1 300 pb)
Uniformité de la couverture (0,2x moyenne)	> 85 %
Échantillons du regroupement préenrichissement	12 maximum
Saisie d'échantillon	50 ng
Taille d'insert de la librairie	230 pb
Analyse de séquençage recommandée	2 x 150 pb
Marqueurs du contrôle de la qualité (CQ)	57 sur le chromosome Y et sept sur le chromosome X

## Préparation rationalisée de librairies

Le panel de séquençage TruSeq Neurodegeneration tire avantage du test Nextera Rapid Capture pour préparer de façon simple et rationalisée des librairies prêtes pour le séquençage.



**Figure 2 : Chimie Nextera Rapid Capture :** Le panel de séquençage TruSeq Neurodegeneration tire avantage de la technologie de tagmentation Nextera, qui combine les étapes de la préparation de librairies et d'enrichissement pour fournir un flux de travail rationalisé, dont la durée est de 1,5 jour, et la manipulation, de 5 heures.

La préparation de librairies commence par la tagmentation Nextera, qui fragmente et marque de façon simultanée l'ADN afin de produire des librairies marquées d'adaptateurs sans recourir à la séparation mécanique (figure 2A). Les librairies sont ensuite dénaturées (figure 2B), et des sondes marquées à la biotine propres à la région ciblée sont utilisées pour procéder à l'hybridation (figure 2C). Le groupe est enrichi selon les régions à l'étude par l'ajout de billes de streptavidine qui se lient aux sondes biotinylées (figure 2D). Les fragments d'ADN biotinylés liés aux billes enduites de streptavidine sont magnétiquement extraits de la solution (figure 2E). Des codes à barres intégrés aux échantillons permettent de capturer de façon simultanée de trois à douze échantillons dans un seul tube.

Les fragments d'ADN enrichi sont alors élués des billes et hybridés pour une seconde capture. Pour une plaque de trois à douze échantillons, cette méthode exige 50 ng d'ADN et moins de trois heures.

### Séquençage éprouvé d'Illumina

Les librairies préparées sont directement chargées sur la plateforme SNG d'Illumina pour le séquençage. Ces systèmes de séquençage exploitent la technologie avant-gardiste de la chimie de séquençage par synthèse (SBS) d'Illumina. Plus de 90 % des données de séquençage dans le monde proviennent de la chimie de SBS

d'Illumina.\* La flexibilité des systèmes de séquençage d'Illumina permet l'utilisation d'une vaste gamme d'applications et son débit ajustable permet la prise en charge d'études de différentes tailles.

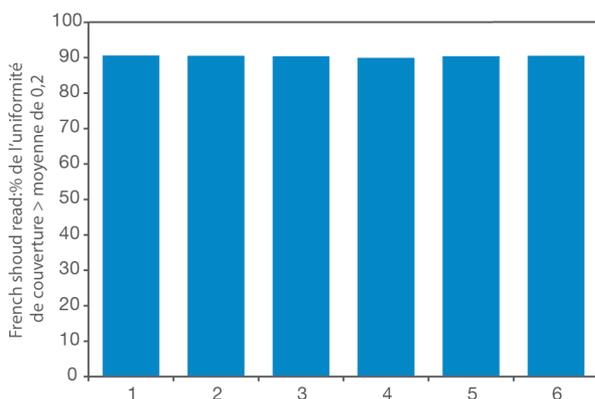
## Analyse intuitive de données

Les données de séquençage peuvent être instantanément transférées, entreposées et analysées de manière sécuritaire dans le nuage BaseSpace<sup>MD</sup> Sequence Hub, l'environnement informatisé de génomique d'Illumina. Le nuage BaseSpace Sequence Hub comprend un vaste ensemble d'applications BaseSpace, parmi lesquelles des outils commerciaux et à source ouverte destinés à un éventail de besoins fréquents en analyse de données, dont entre autres l'alignement et la définition des variants. Ces applications affichent des interfaces utilisateurs intuitives à boutons qui ne nécessitent pas de connaissances bio-informatiques particulières.

Les données du panel de séquençage TruSeq Neurodegeneration sont analysées au moyen de deux applications d'enrichissement essentielles. L'application BWA Enrichment v2.0 permet d'appliquer la norme industrielle de l'alignement Burrows-Wheeler et la définition des variants de la trousse Genome Analysis. L'application IsaacMC Enrichment v2.0 est la formule optimisée d'Illumina pour effectuer une analyse rapide et définir les variants.

## Données de haute qualité

Six librairies d'échantillons préparées avec la trousse de préparation de librairies TruSeq Neurodegeneration dans un format 6-plex ont été séquencées avec le système NextSeq<sup>MD</sup> 500 et analysées dans BaseSpace Sequence Hub selon le flux de travail présenté ci-dessous (figure 1). La couverture moyenne de l'analyse de séquençage était de 155x. Le pourcentage des bases ciblées dont la couverture était supérieure à 31x montre que plus de 90 % des bases sont couvertes pour tous les échantillons (figure 3).



**Figure 3 : Uniformité de la couverture dans les regroupements 6-plex :** Six librairies d'échantillons ont été préparées au moyen de la trousse de préparation de librairies TruSeq Neurodegeneration. Les librairies ont été séquencées avec le système NextSeq 500 et la couverture moyenne de l'analyse de séquençage était de 155x. Le pourcentage de bases ciblées dont la couverture était supérieure à 31x est précisé pour chaque échantillon.

## Résumé

Le panel de séquençage TruSeq Neurodegeneration offre une solution de flux de travail intégrée pour rechercher les allèles fonctionnels putatifs rares et à risque élevé associés aux maladies neurodégénératives graves. Conçu en fonction de l'avis de la communauté scientifique et de ses récentes découvertes, le panel permet l'étude systématique de 118 gènes associés aux maladies neurodégénératives, notamment de régions régulatrices et codantes pour des protéines. Les librairies de régions ciblées sont préparées de manière efficace à l'aide de la technologie Nextera et ne nécessitent qu'une courte durée de manipulation. Le séquençage sur les systèmes Illumina conjugué à l'analyse de données à l'aide des applications intuitives BaseSpace fournit une solution rationalisée pour la recherche sur les maladies neurodégénératives.

## Renseignements relatifs à la commande

Si vous souhaitez vous renseigner sur le panel de séquençage TruSeq Neurodegeneration ou passer une commande, veuillez communiquer avec le représentant commercial de votre région :

Amérique du Nord : 1 800 809-4566

Europe, Moyen-Orient, Afrique : +44 1799 534000

Autres régions : [www.illumina.com/company/contact-us.html](http://www.illumina.com/company/contact-us.html)

## En savoir plus

Si vous souhaitez vous renseigner sur les solutions de reséquençage ciblé, visitez le site [www.illumina.com/techniques/sequencing/dna-sequencing/targeted-resequencing.html](http://www.illumina.com/techniques/sequencing/dna-sequencing/targeted-resequencing.html).

\*Calculs des données internes. Illumina, Inc. 2015.

## Références

1. Karch, C. M., Cruchaga, C., Goate, A. « Alzheimer's Disease Genetics: From the bench to the clinic ». *Neuron*. 2014, vol. 83, no 1, p. 11 à 26.
2. Karch, C. M., Goate, A. M. « Alzheimer's disease risk genes and mechanisms of disease pathogenesis ». *Biol Psychiatry*. 2015, vol. 77, no 1, p. 43 à 51.
3. Turner, M. R., Hardiman, O., Benatar, M. et coll. « Controversies and priorities in amyotrophic lateral sclerosis ». *Lancet Neurol*. 2013, vol. 12, no 3, p. 310 à 322.
4. Bras, J., Guerreiro, R., Hardy, J. « Use of next-generation sequencing and other whole-genome strategies to dissect neurological disease ». *Nat Rev Neurosci*. 2012, vol. 13, no 7, p. 453 à 464.
5. Renton, A. E., Chio, A., Traynor, B. J. « State of play in amyotrophic lateral sclerosis genetics ». *Nat Neurosci*. 2014, vol. 17, no 1, p. 17 à 23.
6. Ferrari, R., Grassi, M., Salvi, E. et coll. « A genome-wide screening and SNPs-to-genes approach to identify novel genetic risk factors associated with frontotemporal dementia ». *Neurobiol Aging*. 2015, vol. 36, no 10 (2904) p. e13 à 26.
7. Kouri, N., Ross, O. A., Dombroski, B. et coll. « Genome-wide association study of corticobasal degeneration identifies risk variants shared with progressive supranuclear palsy ». *Nat Commun*. 2015, vol. 6 (7247).
8. Scholz, S. W., Bras, J. « Genetics Underlying Atypical Parkinsonism and Related Neurodegenerative Disorders ». *Int J Mol Sci*. 2015, vol. 16, no 10, p. 24 629 à 24 655.
9. Nalls, M. A., Pankratz, N., Lill, C. M. et coll. « Large-scale meta-analysis of genome-wide association data identifies six new risk loci for Parkinson's disease ». *Nat Genet*. 2014, vol. 46, no 9, p. 989 à 993.