

# Instrument NextSeq<sup>MC</sup> 550Dx

Une plateforme de séquençage  
à débit élevé, homologuée CE  
et réglementée par la FDA

- Prise en charge d'applications de recherche et d'applications cliniques, avec possibilité d'ajustement de la longueur de lecture et de multiples configurations de débit
- Accélérez les études de recherche grâce à des temps de traitement rapides et des analyses de données conviviales
- Accédez à une source croissante de tests développés en laboratoire étayés par la science et l'expertise d'Illumina

**illumina**<sup>®</sup>

## Introduction

L'instrument NextSeq 550Dx est la première plateforme à débit élevé réglementée par la FDA et homologuée CE à offrir la puissance du séquençage nouvelle génération (SNG) aux laboratoires cliniques (figure 1). Dotée d'une fonctionnalité d'amorçage double, la plateforme NextSeq 550Dx inclut un mode de diagnostic (mode Dx)\* et un mode de recherche. Ces deux modes permettent, au moyen d'un seul instrument, d'effectuer des tests DIV, de procéder à des développements TDL et d'effectuer des recherches cliniques†. L'instrument NextSeq 550Dx offre aux grands laboratoires cliniques une plateforme à débit élevé validée et leur donne accès à une panoplie sans cesse grandissante d'applications dans plusieurs domaines, notamment l'oncologie et la santé de la reproduction.

Bien que l'instrument NextSeq 550Dx puisse générer plus de 90 Gb de données en moins de deux jours, il procure aussi l'uniformité d'une plateforme réglementée et une conception robuste et améliorée des composantes matérielles et logicielles. En outre, le fonctionnement en mode recherche prend en charge toutes les applications de recherche offertes actuellement, y compris le séquençage exomique, le profilage transcriptomique, les panels ciblés conçus par les clients et le balayage de micropuces à ADN. L'instrument NextSeq 550Dx permet aux laboratoires cliniques d'effectuer des analyses en mode diagnostic réglementé aux fins des tests de DIV, ou en mode recherche pour accélérer les études cliniques sans sacrifier la vitesse et la puissance d'un séquenceur à débit élevé.

## La chimie de séquençage par synthèse d'Illumina procure une précision exceptionnelle

Au cœur de l'instrument NextSeq 550Dx se trouve la chimie éprouvée de séquençage par synthèse d'Illumina, qui est la technologie de SNG la plus utilisée à l'échelle mondiale<sup>1</sup>. Cette méthode fondée sur un terminateur réversible détecte des bases uniques à mesure que celles-ci sont incorporées dans des brins d'ADN croissants et permet le séquençage parallèle de millions de fragments d'ADN.

\* Les analyses réalisées en mode diagnostic sont des processus réglementés par les autorités américaines et européennes.

† Veuillez communiquer avec un représentant d'Illumina pour obtenir plus de renseignements sur les partenariats de développement de DIV.



Figure 1 : L'instrument NextSeq 550Dx – en tirant parti des dernières avancées de la chimie de séquençage par synthèse et de flux de travail conviviaux et réglementés, l'instrument NextSeq 550Dx fournit des résultats de grande qualité tant pour les applications cliniques que pour les applications de recherche.

La chimie SBS d'Illumina exploite la compétition naturelle entre les quatre nucléotides marqués, ce qui réduit le biais lié à l'incorporation et permet un séquençage plus robuste des régions répétitives et des homopolymères<sup>2</sup>.

Comparativement au séquençage Sanger basé sur l'électrophorèse capillaire, le séquençage nouvelle génération peut détecter un plus large éventail de variants d'ADN, notamment les variants à faible fréquence et les variants mis en phase adjacents, tout en réduisant le temps nécessaire pour obtenir des résultats et le nombre d'étapes de manipulation<sup>3,4</sup>. De plus, les réactifs de séquençage NextSeq produisent de plus fortes intensités de signaux et moins de faux positifs et de faux négatifs<sup>5</sup>. Grâce à la chimie de séquençage par synthèse NextSeq, l'instrument NextSeq 550Dx procure une précision exceptionnelle pour les tests cliniques et les applications de recherche.

## Flux de travail simple en trois étapes

Les analyses de test réalisées sur l'instrument NextSeq 550Dx suivent un processus simple en trois étapes, soit la préparation de bibliothèques, le séquençage et l'analyse de données (figure 2). Le processus en trois étapes est un flux de travail pleinement intégré soutenu par Illumina.

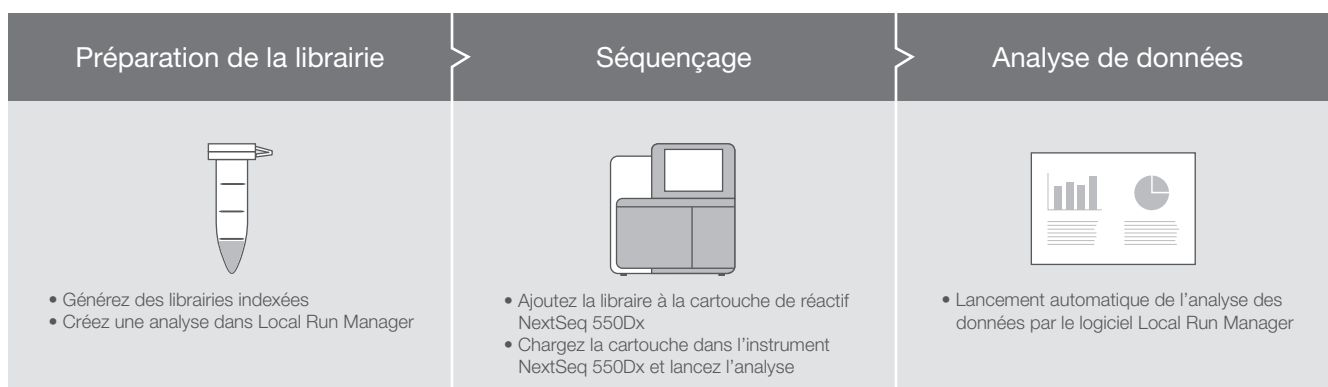


Figure 2 : Processus de réalisation de tests en trois étapes NextSeq 550Dx – L'instrument NextSeq 550Dx fait partie d'un flux de travail intégré en trois étapes. Des rapports de résultats détaillés sont disponibles avec le test d'amplicons personnalisés TruSeq<sup>MC</sup> Dx.

Tableau 1 : Paramètres de rendement de l'instrument NextSeq 550Dx –Mode diagnostic<sup>a,b</sup>

Configuration de la Flow Cell	Longueur de séquences	Output (Sortie)	Durée de l'analyse	Qualité des données <sup>c</sup>
Flow Cell à débit élevé	2 × 150 bp	≥ 90 Gb	< 35 heures	> 75 % ≥ Q30

a. Librairies générées à l'aide de la trousse d'amplicons personnalisés TruSeq Dx.

b. Pour connaître les paramètres de rendement en mode recherche, consultez les spécifications du système NextSeq 550.

c. Un score de qualité de Q30 correspond à un taux d'erreur de 0,1 % dans la définition des bases.

## Préparation de librairies

La préparation de librairies commence par l'ajout de primers à des échantillons d'ADN génomique (ADNg) afin de générer des librairies indexées pour une capture et une amplification simultanées de centaines de régions ciblées. La trousse de préparation de librairies d'amplicons personnalisés TruSeq<sup>MC</sup> DX prend en charge les panels d'oligos définis par l'utilisateur pour un éventail d'applications cliniques. La trousse de préparation de librairies rapide et efficace ne requiert que 50 ng d'ADNg ou 10 µl d'ADN qualifié extrait de tissus fixés au formol et imprégnés à la paraffine (FFPE) pour produire des librairies de séquençage de grande qualité en moins de deux jours.

L'ADN FFPE peut être qualifié au moyen de la trousse de contrôle de la qualité des amplicons personnalisés TruSeq Dx – FFPE QC, qui exploite une simple réaction de qPCR pour déterminer la qualité de l'ADN FFPE. Les résultats produits par la trousse FFPE QC servent à établir la qualité et la quantité de l'ADN FFPE d'entrée.

## Séquençage sur l'instrument NextSeq 550Dx

Grâce aux cartouches de réactifs préremplies, il ne faut que 30 minutes de manipulation au total pour décongeler et charger la cartouche et lancer l'analyse sur l'instrument NextSeq 550Dx. L'interface utilisateur intuitive permet aux chercheurs de réaliser diverses applications de séquençage en réduisant au minimum le temps de formation des utilisateurs et de configuration de l'instrument. En outre, l'instrument NextSeq 550Dx intègre la génération d'amplifiants et le séquençage par synthèse en un seul instrument et offre une transition simple vers l'analyse de données sur site ou en nuage. Comme pour le système NextSeq 550, l'instrument NextSeq 550Dx produit des données de grande qualité avec plus de 75 % des bases affichant un score de qualité égal ou supérieur à Q30 (tableau 1).

L'instrument NextSeq 550Dx peut être facilement configuré et fournit aux chercheurs l'évolutivité nécessaire à la gestion des projets, que le débit soit faible ou élevé. En mode recherche, les chercheurs ont le choix entre deux configurations de Flow Cell (débit élevé et débit moyen) et peuvent ainsi passer aisément d'un traitement de débit faible à élevé, selon les besoins. Grâce au portefeuille grandissant de solutions de diagnostic, les chercheurs peuvent aisément passer de l'instrument MiSeqDx à l'instrument NextSeq 550Dx (figure 3).

## Logiciel de système intégré

L'instrument NextSeq 550Dx est doté d'un logiciel d'analyse entièrement intégré, dont l'architecture modulaire est adaptable aux tests actuels et futurs. Le logiciel de contrôle de l'instrument est accessible par l'entremise d'une interface conviviale à écran tactile. Le logiciel Local Run Manager prend en charge la planification des analyses de séquençage, le suivi des bibliothèques et des analyses à l'aide des pistes de vérification et l'intégration avec les modules d'analyse de données intégrés. Pendant que Local Run Manager s'exécute sur l'ordinateur de l'instrument, les utilisateurs peuvent suivre les progrès de l'analyse et visualiser les résultats sur un autre ordinateur connecté au même réseau. Une fois l'analyse de séquençage terminée, Local Run Manager lance automatiquement l'analyse des données à l'aide de l'un des modules d'analyse propres à l'application.



Figure 3 : Gamme d'instruments de diagnostic de SNG d'Illumina – Les systèmes de séquençage nouvelle génération d'Illumina proposent des solutions pour un vaste éventail d'applications, de types d'échantillons et d'échelles de séquençage. Ils fournissent tous des données de grande qualité, un degré d'exactitude élevé, de la souplesse sur le plan du débit et des flux de travail simples et rationalisés.

## Applications de diagnostic disponibles

À l'heure actuelle, en mode diagnostic, l'instrument NextSeq 550Dx prend en charge les applications suivantes, qui sont réalisées au moyen du test de la trousse d'amplicons personnalisés TruSeq Dx :

- **Appel des variants somatiques** : en utilisant des bibliothèques préparées à base d'ADNg extrait de tissus FFPE, le flux de travail d'appel de variants somatiques produit des résultats qualitatifs de définition de variants somatiques selon une limite de détection de 0,05<sup>1</sup>. Le flux de travail d'appel des variants somatiques prend en charge de 4 à 48 échantillons multiplexés sur l'instrument NextSeq 550Dx.
- **Appel des variants germinaux** : en utilisant des bibliothèques préparées à base d'ADNg extrait de sang entier périphérique, le flux de travail de définition de variants germinaux produit des résultats qualitatifs pour les définitions de variants germinaux homozygotes ou hétérozygotes. Le flux de travail d'appel des variants germinaux prend en charge de 8 à 96 échantillons multiplexés sur l'instrument NextSeq 550Dx.

## Définition de variants et corrélation avec l'instrument MiSeqDx

L'exactitude de la définition de variants sur l'instrument NextSeq 550Dx a été testée à l'aide du panel de variants d'amplicons personnalisés TruSeq (PVAPT), un test représentatif conçu pour étudier divers gènes couvrant 12 588 bases sur 23 chromosomes différents. Le test PVAPT comporte aussi une large fourchette de teneur en GC (de 18 à 87 %), des indels (jusqu'à 25 paires de bases) et des homopolymères (de 7 à 13 nucléotides).

Tableau 2 : Appels de variants en mode diagnostic

	Nbre d'échantillons	Durée d'analyse <sup>a</sup>	CPP <sup>b</sup>			CNP <sup>b</sup>	PGC <sup>b</sup>
			SNV	Insertions	Délétions		
Paramètre d'appel des variants somatiques	48	7,5 heures	99,9 %	99,9 %	99,9 %	99,99 %	99,98 %
Paramètre d'appel des variants germinaux	96	7,0 heures	> 99,9 %	98,9 %	100,0 %	100,00 %	99,99 %

a. Durée moyenne des analyses sur l'instrument pour deux études de neuf analyses.

b. Concordanance positive en pourcentage (CPP) la plus faible observée pour les variants à simple nucléotide (SNV), les insertions et les délétions, concordanance négative en pourcentage (CNP) et pourcentage global de concordanance (PGC) sur chaque étude de neuf analyses réalisées par trois opérateurs, avec trois lots de réactifs et trois instruments. Les échantillons du Platinum Genome ont été testés au moyen d'un test représentatif, soit le panel de variants d'amplicons personnalisés TruSeq (PVAPT). Somatique : N = 378. Germinal : N = 819.

La précision a été mesurée par rapport aux échantillons du Platinum Genome, soit des échantillons extraits auprès d'un groupe sélect d'individus et séquencés en profondeur, dont les appels de variants ont été confirmés avec une fiabilité élevée.<sup>6</sup> Les pourcentages de concordances positives, négatives et globales étaient très près de 100 %, indiquant un degré élevé de précision des appels de variants (tableau 2).

Dans le cadre d'une autre étude, la concordance entre les échantillons testés à l'aide des instruments MiSeqDx et NextSeq 550Dx a été évaluée. Les résultats somatiques provenaient des tests PVAPT et TruSight<sup>MC</sup> tumeur 26 (N = 8599) et les résultats germinaux provenaient des tests PVAPT et TruSight Myeloid (N = 13 828). Les corrélations R2 de la fréquence allélique des variants somatiques et germinaux avec l'instrument MiSeqDx étaient respectivement de 0,997 et de 0,989. La concordance qualitative des appels de variant avec l'instrument MiSeqDx était  $\geq 99,8$  % pour les variants somatiques et  $\geq 99,6$  % pour les variants germinaux, avec une limite inférieure de 95 % d'intervalle de confiance pour les deux types de variants. Prises ensemble, ces données indiquent une corrélation élevée des appels de variants avec les données de l'instrument MiSeqDx.

## Numérisation des tests en mode recherche

En mode recherche, l'instrument NextSeq 550Dx offre une flexibilité expérimentale en soutenant tant la numérisation de micropuces à ADN que le séquençage des puces BeadChips d'Illumina<sup>†</sup>. La numérisation de micropuces à ADN procure aux chercheurs un accès immédiat à une technologie parfaitement complémentaire aux fins des études de suivi, de la confirmation des variants du nombre de copies détectés par le séquençage ou d'autres pistes de recherche (tableau 3). Les flux de travail intégrés « de l'ADN aux données » permettent le séquençage rapide des exomes, des panels de séquençage ciblé et des transcriptomes selon une configuration à débit moyen ou à débit élevé. Pour obtenir plus de renseignements sur le large éventail d'applications de séquençage et de balayage de micropuces à ADN pris en charge par l'instrument NextSeq 550Dx en mode recherche, consultez les spécifications du système NextSeq 550.

<sup>†</sup> En mode recherche, l'instrument NextSeq 550Dx prend en charge la numérisation de micropuces à ADN BeadChips Infinium CytoSnp-850K, HumanCytoSNP-12 et HumanKaryomap-12.

Tableau 3 : Paramètres de numérisation de puces à ADN de l'instrument NextSeq 550Dx en mode recherche

BeadChip	Temps de numérisation par puce BeadChip	Temps de numérisation par échantillon
Puce BeadChip Infinium MethylationEPIC	40 minutes	5 minutes
Puce BeadChip Infinium HumanCytoSNP-850K	40 minutes	5 minutes
Puce BeadChip CytoSNP-12	40 minutes	3,3 minutes
Puce BeadChip Infinium HumanKaryomap-12	40 minutes	3,3 minutes

## Résumé

L'instrument NextSeq 550Dx est un instrument évolutif qui procure aux laboratoires cliniques des capacités de traitement à débit élevé réglementées par la FDA et portant le marquage CE, aux fins des applications de recherche et de diagnostic. L'instrument NextSeq 550Dx offre un flux de travail simple en trois étapes et la souplesse nécessaire pour obtenir des données cliniques de DIV à durée de vie critique ou explorer les questions de l'heure en recherche clinique. L'instrument NextSeq 550Dx propose des flux de travail rapides et contrôlés pour les applications de définition de variants somatiques et germinaux et donne accès au portefeuille grandissant de produits de tests cliniques fondés sur la chimie de SNG d'Illumina.

## En savoir plus

Instrument NextSeq 550Dx, [illumina.com/systems/sequencing-platforms/nextseq-dx.html](https://illumina.com/systems/sequencing-platforms/nextseq-dx.html)

## Renseignements relatifs à la commande

Produit	N° de référence
Instrument NextSeq 550Dx	20005715
NextSeq 550Dx High-Output Reagent Kit v2.5 (75 cycles) <sup>a</sup>	20028870
NextSeq 550Dx High-Output Reagent Kit v2.5 (300 cycles) <sup>a</sup>	20028871
TruSeq Custom Amplicon Kit Dx <sup>a</sup>	20005718
TruSeq Custom Amplicon Kit Dx FFPE QC Kit <sup>a</sup>	20006259
NextSeq Air Filter	20022240

a. Les consommables de séquençage de classe I comprennent l'expédition en lot unique, le contrôle des lots de trousse, les préavis de modification et un certificat d'analyse pour chaque lot. Les réactifs sont développés selon des principes de contrôle de la conception, fabriqués en conformité avec les normes Current Good Manufacturing Practices (cGMP) américaines et vérifiés pour assurer la conformité avec les caractéristiques techniques.

## Références

1. Calcul des données internes. Illumina, Inc. 2017.
2. Bentley D. R., Balasubramanian S., Swerdlow H. P., et al. [Accurate Whole Human Genome Sequencing using Reversible Terminator Chemistry](#). *Nature*. 2008; 456 (7218) : 53-59.
3. Shokralla S., Porter T.M., Gibson J.F., et al. [Massively parallel multiplex DNA sequencing for specimen identification using an Illumina MiSeq platform](#). *Sci Rep*. 2015; 5 : 9687.
4. Precone V, Monaco VD, Esposito MV. [Cracking the Code of Human Diseases Using Next-Generation Sequencing: Applications, Challenges, and Perspectives](#). *Biomed Res Int*. 2015; 161648.
5. Illumina (2017). [Fiche technique du système de séquençage NextSeq 550](#). Source consultée le 10 février 2021.
6. Eberle MA, Fritzilas E, Krusche P, et al. [A reference data set of 5.4 million phased human variants validated by genetic inheritance from sequencing a three-generation 17-member pedigree](#). *Genome Res*. 2017;27:157-164.

## Caractéristiques de l'instrument NextSeq 550Dx

Paramètre	Caractéristique technique
Configuration de l'instrument	Suivi RFID pour consommables
Ordinateur de commande de l'instrument	Processeur : bicœur Intel Xeon E5-2648L v3 1,8 Ghz, 128 Go de mémoire Disque dur, mode diagnostic : 2 × 2 To (RAID 1) Disque dur, mode recherche : 2 × 2 To (RAID 1) Système d'exploitation : Windows 10
Environnement de fonctionnement	Température : 19 °C à 25 °C (22 °C ± 3 °C) Humidité : humidité relative de 20 à 80 % sans condensation Altitude : 0 à 2 000 m (6 500 pi) Aération : maximum de 2 048 BTU/h à 600 W Réservé pour un usage intérieur
Diode électroluminescente (DEL)	Verte 510-525 nm, rouge 645-655 nm; diode laser : 780 nm, classe IIIb
Dimensions	Dimensions : 54 × 69 × 58 cm (L x p x h) Poids : 84,4 kg (186 lb), poids emballé : 163,3 kg (360 lb)
Exigences d'alimentation	100 à 120 Vca 15 A, 220 à 240 Vca 10 A
Identification par radiofréquence (RFID)	Fréquence : 13,56 MHz Alimentation : courant d'alimentation de 120 mA, puissance de sortie RF de 200 mW
Sécurité et conformité du produit	Certifié NRTL CEI Homologué CE 61010-1 Conforme FCC/IC

## Déclarations relatives à l'utilisation prévue

### Utilisation prévue de l'instrument NextSeq 550Dx (Union européenne/autre)

L'instrument NextSeq 550Dx est destiné au séquençage de bibliothèques d'ADN lorsqu'il est utilisé dans le cadre de tests de diagnostic *in vitro* (DIV) réalisés sur l'instrument. L'instrument NextSeq 550Dx doit être utilisé avec les réactifs de DIV enregistrés, homologués ou approuvés ainsi qu'avec le logiciel d'analyse.

### Utilisation prévue de l'instrument NextSeq 550Dx (États-Unis)

L'instrument NextSeq 550Dx est destiné au séquençage ciblé de bibliothèques d'ADN provenant d'ADN génomique humain extrait de sang entier périphérique ou de tissus fixés au formol et imprégnés à la paraffine (FPPE), à utiliser avec les tests de diagnostic *in vitro* (DIV) réalisés sur l'instrument. L'instrument NextSeq 550Dx n'est pas destiné au séquençage de génome entier ou de novo. L'instrument NextSeq 550Dx doit être utilisé avec les réactifs de DIV enregistrés, répertoriés, homologués et approuvés ainsi qu'avec le logiciel d'analyse.

### Utilisation prévue de la trousse d'amplicons personnalisés TruSeq Dx

La trousse d'amplicons personnalisés TruSeq Dx d'Illumina est un ensemble de réactifs et de consommables utilisés dans la préparation de bibliothèques d'échantillons à base d'ADN extrait de sang total périphérique et de tissus fixés au formol et imprégnés à la paraffine (FFPE). Les réactifs spécifiques aux analyses fournis par l'utilisateur sont nécessaires pour la préparation des bibliothèques ciblant des régions génomiques d'intérêt spécifiques. Les bibliothèques d'échantillons ainsi générées sont destinées aux analyseurs de séquence d'ADN à débit élevé d'Illumina.

### Utilisation prévue de la trousse de contrôle de la qualité des amplicons personnalisés TruSeq Dx – FFPE QC

La trousse de contrôle de la qualité des amplicons personnalisés TruSeq Dx – FFPE QC d'Illumina est un ensemble de réactifs utilisés pour déterminer le potentiel d'amplification de l'ADN génomique (ADNg) extrait d'échantillons fixés au formol et imprégnés à la paraffine (FFPE).



Numéro sans frais aux États-Unis : + (1) 800 809-4566 | Téléphone : + (1) 858 202-4566  
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2021 Illumina, Inc. Tous droits réservés. Toutes les marques de commerce sont la propriété d'Illumina, Inc. ou de leurs détenteurs respectifs. Pour obtenir des renseignements sur les marques de commerce, consultez le lien [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html).  
M-GL-00035 FRA v3.0