

# TruSeq<sup>MC</sup> DNA PCR-Free

Préparation de bibliothèques simple et rationalisée pour le séquençage du génome entier qui fournit une couverture précise et complète des génomes complexes.

## Points forts

- **Préparation rationalisée de bibliothèques**  
Le protocole sans PCR accélère le flux de travail de la préparation de bibliothèques TruSeq DNA.
- **Excellente qualité de couverture**  
Les faibles biais de bibliothèque et les écarts de couverture réduits permettent d'atteindre une compréhension approfondie du génome.
- **Souplesse élevée**  
Les flux de travail sans PCR optimisés prennent en charge différentes applications et longueurs de lecture.
- **Solution complète**  
Une solution fiable qui comprend des réactifs d'un mélange étalon, des billes de sélection de taille et jusqu'à 96 index doubles uniques (IDU).



**Figure 1 : TruSeq DNA PCR-Free** : constitue une solution efficace pour préparer et indexer des bibliothèques échantillons. TruSeq DNA PCR-Free prend en charge jusqu'à 24 index pour des études à faible débit, ou bien 96 index doubles ou 96 index uniques (vendus séparément) pour des études à débit élevé.

## Introduction

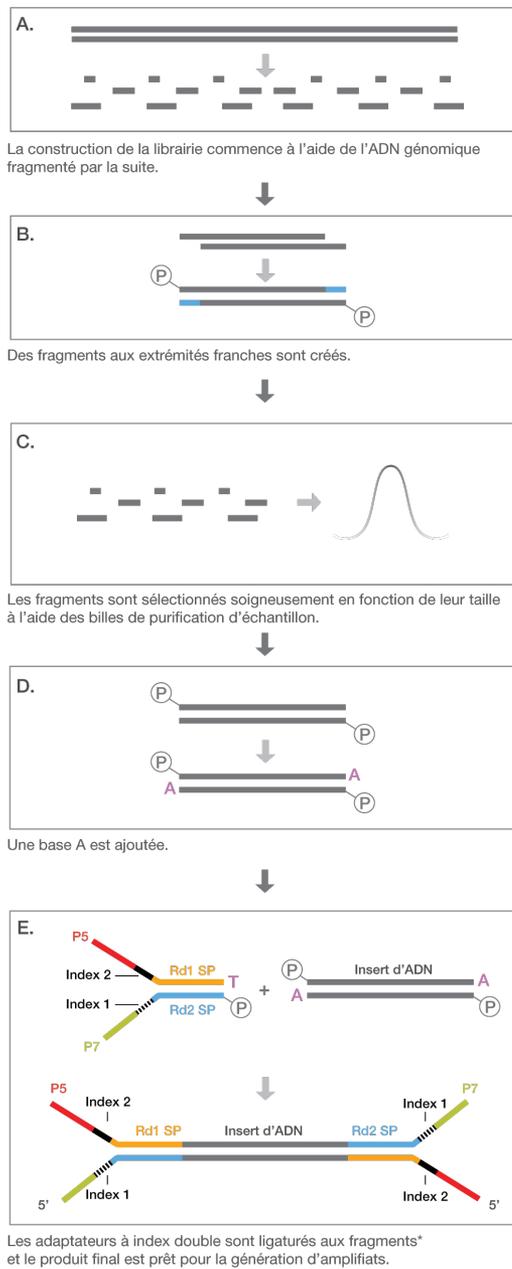
TruSeq DNA PCR-Free propose de nombreuses améliorations au flux de travail TruSeq DNA largement adopté et une préparation de bibliothèques optimisée pour les applications de séquençage du génome entier. Grâce à l'élimination des étapes d'amplification par PCR, le protocole sans PCR réduit de manière considérable les biais habituels induits par la PCR et produit des renseignements détaillés sur les séquences pour les régions généralement problématiques du génome. Les protocoles relatifs au débit (faible et élevé) sont disponibles pour prendre en charge tout un éventail de modèles d'étude (figure 1).

## Préparation accélérée de bibliothèques

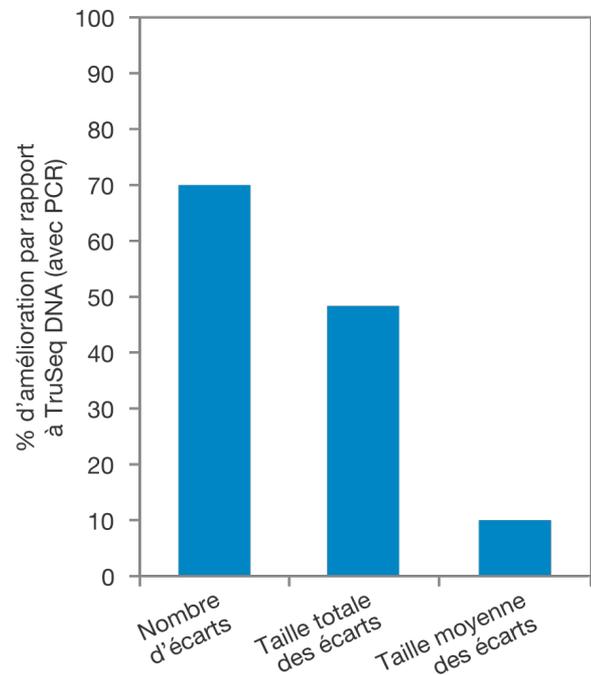
Le flux de travail de préparation de bibliothèques TruSeq DNA a été simplifié par l'élimination de l'étape d'amplification par PCR et le remplacement de la sélection de la taille à l'aide de billes plutôt que de gel (figure 2). Ce flux de travail offre une flexibilité exceptionnelle grâce à deux options de protocole pour la génération de tailles d'insert différentes (petite, 350 pb ou grande, 550 pb) afin de prendre en charge diverses applications. Des réactifs d'un mélange étalon, des billes de purification d'échantillons fournies pour le nettoyage et la sélection de taille, de robustes index TruSeq ainsi que des protocoles optimisés complètent le flux de travail simplifié de préparation de bibliothèques qui requiert peu d'étapes de nettoyage pour le traitement d'un grand nombre d'échantillons. TruSeq DNA PCR-Free diminue la durée de la préparation de bibliothèques, permettant ainsi aux chercheurs d'effectuer aussi bien le séquençage microbien que celui du génome humain entier.

## Une préparation de bibliothèque à la composition chimique innovante

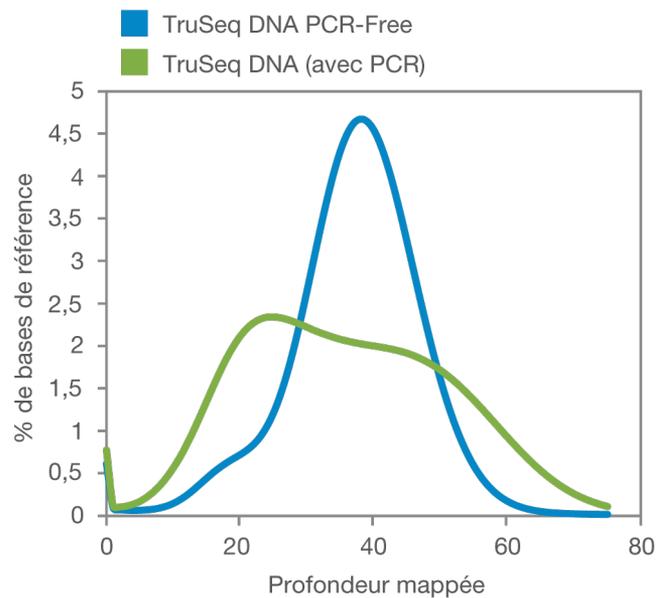
TruSeq DNA PCR-Free peut être utilisé pour préparer des bibliothèques d'ADN pour le séquençage unique, apparié et à index. TruSeq DNA PCR-Free prend en charge la coupe par ultrasonication Covaris, exigeant 1 µg d'ADN de prise pour une taille d'insert moyenne de 350 pb ou 2 µg d'ADN pour une taille d'insert moyenne de 550 pb. La construction de la bibliothèque commence à l'aide de l'ADN génomique (ADNg) fragmenté (figure 2A). Les fragments d'ADN aux extrémités franches sont générés à l'aide d'une association de réactions de remplissage et d'activité d'exonucléase (figure 2B), et la sélection de taille est réalisée avec les billes de purification d'échantillons fournies (figure 2C). Une base A est ensuite ajoutée aux extrémités franches de chaque brin, ce qui les prépare pour la ligation aux adaptateurs indexés (figure 2D). Chaque adaptateur présente une base T sortante pour la ligation de l'adaptateur à l'extrémité A du fragment d'ADN. Ces adaptateurs contiennent le complément entier du séquençage des sites d'hybridation du primer pour les lectures uniques, appariées et à index. Sans nécessiter d'amplification par PCR supplémentaire, les adaptateurs à index unique ou double sont ligaturés aux fragments et les produits sont prêts pour la génération d'amplifiats (figure 2E).



**Figure 2 : Flux de travail sans PCR de la trousse TruSeq DNA PCR-Free :** le flux de travail sans PCR de la trousse TruSeq DNA PCR-Free propose la ligation d'adaptateurs qui crée des produits prêts pour le séquençage sans amplification par PCR. \*La solution d'indexage sans PCR TruSeq DNA PCR-Free LT comporte un adaptateur à index unique à l'étape E.



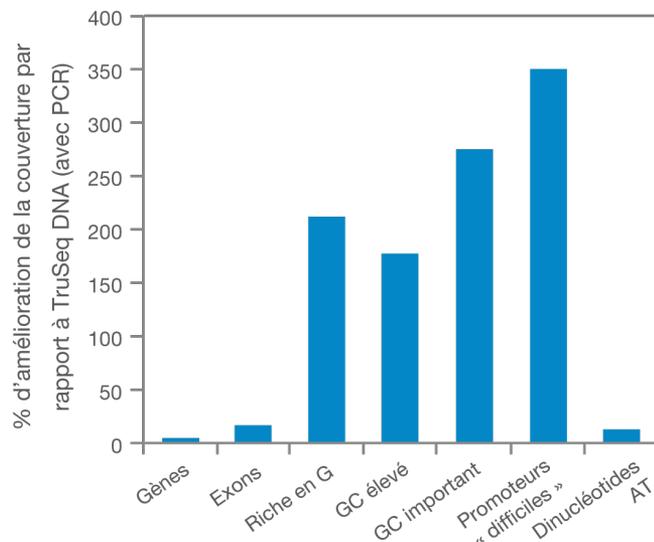
**Figure 3 : Diminution des écarts dans la couverture :** les librairies TruSeq DNA PCR-Free montrent une importante réduction du nombre et de la taille totale des écarts par rapport aux librairies préparées à l'aide du protocole TruSeq DNA (avec PCR). Un écart se définit comme une région d'une longueur  $\geq 10$  pb dans laquelle un génotype exact ne peut pas être déterminé en raison d'une faible profondeur, de faibles scores d'alignement ou d'une base de mauvaise qualité.



**Figure 4 : Uniformité supérieure de la couverture :** les librairies TruSeq DNA PCR-Free fournissent une meilleure uniformité de couverture du génome par rapport à celles générées à l'aide du protocole TruSeq DNA (avec PCR).

## Excellente qualité de couverture

TruSeq DNA PCR-Free réduit le nombre et la taille moyenne des écarts de couverture habituels induits par PCR (figure 3) pour des données d'une qualité exceptionnelle. L'élimination de l'amplification par PCR du flux de travail sans PCR TruSeq DNA PCR-Free diminue le biais de librairies et améliore l'uniformité de la couverture dans l'ensemble du génome (figure 4). Ce flux de travail fournit également une excellente couverture du contenu habituellement problématique du génome, y compris des régions riches en GC, des promoteurs et des régions répétitives (figure 5). La haute qualité des données fournit une résolution de paires de bases, ce qui procure une vue détaillée des mutations somatiques et *de novo* et facilite l'identification précise des variants causaux. TruSeq DNA PCR-Free fournit une vue complète du génome, y compris des régions codantes, régulatrices et introniques, permettant ainsi aux chercheurs d'accéder à plus de renseignements dans chaque analyse de séquençage (figure 6).



**Figure 5 : Meilleure couverture des régions difficiles :** les librairies sans PCR TruSeq DNA PCR-Free montrent une couverture améliorée du contenu problématique du génome. Ces régions comprennent les exons humains connus codants et non codants pour une protéine ainsi que les gènes définis dans la piste RefSeq Genes dans le navigateur génomique de l'UCSC. Les régions riches en G comptent 30 bases dont le contenu en G est  $\geq 80\%$ . Quant à elles, les régions dont le contenu de GC est élevé comptent 100 bases dont le contenu de GC est  $\geq 75\%$ . Les régions à contenu très élevé en GC se définissent comme des régions dont 100 bases affichent un contenu en GC  $\geq 85\%$ . Les promoteurs « difficiles » indiquent une série de 100 régions promotrices dont la couverture n'est pas suffisante; le Broad Institute du MIT et de Harvard les a définies de manière empirique. Les dinucléotides AT comptent 30 bases de dinucléotides AT répétées.

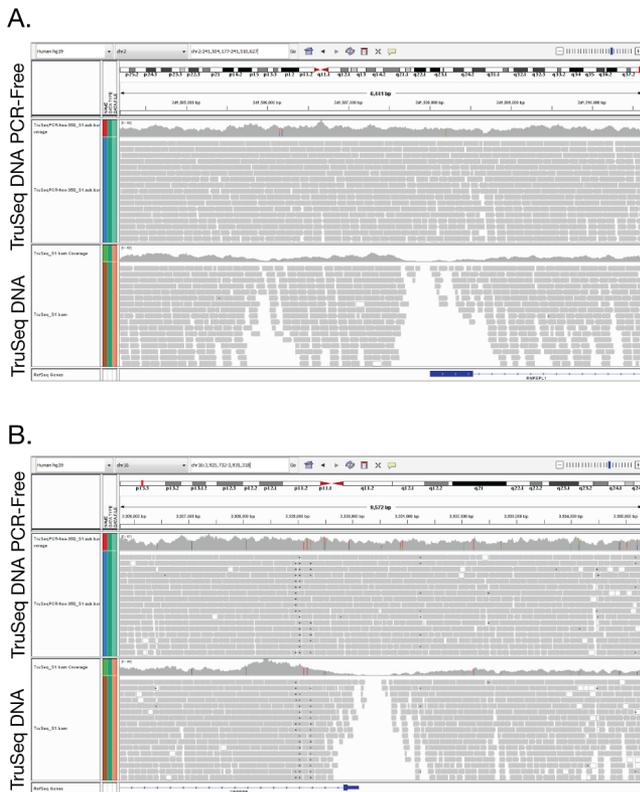
## Multiplexage efficace des échantillons

Les index sont ajoutés aux fragments d'ADNg des échantillons au moyen d'une procédure simple sans PCR afin de fournir une solution innovante de multiplexage des échantillons. Pour la meilleure efficacité opérationnelle, jusqu'à 96 échantillons pré-répartis dans des plaques et à index unique peuvent être regroupés et séquencés simultanément dans une ligne de Flow Cell unique sur toute plateforme de séquençage d'Illumina. Après le séquençage, les index sont utilisés pour démultiplexer les données et affecter précisément des lectures aux échantillons appropriés dans le groupe. TruSeq DNA PCR-Free peut utiliser une stratégie à index unique ou à index double employant une combinaison unique de deux index pour le démultiplexage. Les adaptateurs d'index doubles uniques (IDU, qui sont disponibles séparément) ont été conçus par Illumina en collaboration avec Integrated DNA Technologies, Inc. (IDT) pour utiliser des paires uniques dans le cadre du démultiplexage.

La trousse à index uniques TruSeq DNA Single Indexes comprend jusqu'à 24 index de deux ensembles de 12 chacun, tandis que la trousse à index doubles combinatoires TruSeq DNA CD Indexes contient 96 index. Les études multi-échantillons peuvent être gérées de façon pratique à l'aide du gestionnaire d'expérience Illumina Experiment Manager, un outil logiciel disponible gratuitement qui fournit une configuration de réaction facile pour un traitement basé sur une plaque. Il permet aux chercheurs de configurer rapidement la feuille d'index d'échantillons (p. ex., la matrice de multiplexage des échantillons) pour l'analyse de l'instrument, permettant le démultiplexage automatique.



Pour plus de renseignements sur le gestionnaire d'expérience Illumina, veuillez consulter le site [www.illumina.com/informatics/research/experimental-design/illumina-experiment-manager.html](http://www.illumina.com/informatics/research/experimental-design/illumina-experiment-manager.html).



**Figure 6 : TruSeq DNA PCR-Free diminue le nombre d'écarts de couverture** : une couverture élevée des librairies TruSeq DNA PCR-Free entraîne la réduction des écarts de couverture, illustrée ici dans les régions codantes riches en GC des promoteurs (A) *RNPEPL1* et (B) *CREBBP*. Les renseignements de séquençage issus de TruSeq DNA PCR-Free sont indiqués dans la partie supérieure des images A et B, tandis que les données sur la séquence tirées à l'aide du protocole TruSeq DNA sont présentées dans la partie inférieure.

## Préparation flexible et complète de librairies

La gamme TruSeq de solutions de préparation de librairies propose plusieurs options pour les applications de séquençage, compatibles avec un éventail de besoins de recherche et de modèles d'étude (tableau 1). Tous les produits TruSeq prennent en charge les études à débit faible et élevé. Ces flux de travail améliorent de nombreuses façons la méthode de préparation de librairies TruSeq DNA et permettent différentes applications de séquençage. Les réactifs de préparation de librairies et les index de séquençage sont désormais proposés séparément afin que les chercheurs puissent adapter ces flux de travail en fonction de leurs besoins expérimentaux.

## Solution simplifiée

TruSeq DNA PCR-Free comprend des réactifs de préparation de librairies, des billes de purification d'échantillons et de robustes index TruSeq pour le multiplexage qui fournissent ensemble une méthode exhaustive de préparation optimisée pour la performance élevée sur toutes les plates-formes de séquençage d'Illumina. TruSeq DNA PCR-Free exploite la flexibilité de deux options, 24 échantillons ou 96 échantillons, pour une approche expérimentale évolutive. Avec un protocole simplifié et des options de multiplexage flexibles, TruSeq DNA PCR-Free offre une méthode rationalisée de préparation de librairies qui produit des données de séquençage de haute qualité.

Tableau 1 : Préparation de bibliothèques d'ADN TruSeq

Caractéristique	TruSeq DNA Nano	TruSeq DNA PCR-Free	TruSeq DNA
Description	Basé sur la préparation de bibliothèques TruSeq largement utilisée, avec une prise plus faible et une qualité des données améliorée	Une couverture génomique supérieure avec un biais de librairie et des écarts radicalement réduits	Méthode originale de préparation de bibliothèques de séquençage nouvelle génération TruSeq
Quantité d'entrée	100 à 200 ng	1 à 2 µg	1 µg
Comprend la PCR	Oui	Non	Oui
Durée du test	Env. 6 heures	Env. 5 heures	1 à 2 jours
Durée de manipulation	Env. 5 heures	Env. 4 heures	Env. 8 heures
Taille d'insert cible	350 pb ou 550 pb	350 pb ou 550 pb	300 pb
Sans gel	Oui	Oui	Non
Nombre d'échantillons pris en charge	24 (LT) ou 96 (HT) <sup>a</sup>	24 (LT) ou 96 (HT) <sup>a</sup>	48 (LT) ou 96 (HT) <sup>a</sup>
Prend en charge l'enrichissement	Non <sup>b</sup>	Non <sup>b</sup>	Oui
Billes de sélection de taille	Incluses	Incluses	Non incluses
Applications	Séquençage du génome entier, y compris le reséquençage du génome entier, l'assemblage <i>de novo</i> et les études en métagénomique		
Multiplexage des échantillons	24 index uniques, 96 index doubles combinatoires, 24 et 96 index doubles uniques		
Systèmes de séquençage d'Illumina compatibles	Systèmes HiSeq <sup>MC</sup> , HiScanSQ <sup>MC</sup> , Genome Analyzer, MiSeq <sup>MC</sup> et MiniSeq <sup>MC</sup>		

a. LT, faible débit; HT, débit élevé.

b. Les produits Nextera<sup>MC</sup> Rapid Capture prennent en charge différentes applications d'enrichissement. Pour obtenir de plus amples renseignements, consultez le site Web [www.illumina.com/NRC](http://www.illumina.com/NRC).

## Résumé

TruSeq DNA PCR-Free optimise le flux de travail TruSeq afin de fournir une méthode de préparation de bibliothèques rationalisée pour toutes les applications de séquençage. Les options relatives au débit (bas et élevé) ainsi que les différentes tailles d'inserts offrent une plus grande flexibilité pour prendre en charge diverses applications et études génomiques. Les innovations liées au flux de travail réduisent le biais induit par PCR dans le but de produire une vue détaillée et précise du génome. En exploitant un flux de travail plus rapide et une qualité supérieure des données, TruSeq DNA PCR-Free offre une méthode de préparation des échantillons complète pour les applications de séquençage génomique.

## En savoir plus

Pour obtenir de plus amples renseignements sur TruSeq DNA PCR-Free, veuillez consulter le site [www.illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/truseq-dna-pcr-free.html](http://www.illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/truseq-dna-pcr-free.html).

## Références

1. Saunders CJ, Miller NA, Soden SE, et al. Rapid whole-genome sequencing for genetic disease diagnosis in neonatal intensive care units. *Sci Translational Med.* 2012;4(154):154ra135.
2. Aird D, Ross MG, Chen WS, et al. Analyzing and minimizing PCR amplification bias in Illumina sequencing libraries. *Genome Biol.* 2011;12:R18.
3. University of California, Santa Cruz (UCSC) Genome Browser. [genome.ucsc.edu](http://genome.ucsc.edu). Accessed July 2013.
4. The Broad Institute of MIT and Harvard. [www.broadinstitute.org](http://www.broadinstitute.org). Accessed July 2013.

**Renseignements relatifs à la commande**

Produit	N° de référence
Préparation de librairies sans PCR TruSeq DNA PCR-Free, 24 échantillons	20015962
Préparation de librairies sans PCR TruSeq DNA PCR-Free, 96 échantillons	20015963
Trousse à index uniques TruSeq DNA Single Indexes, Ensemble A	20015960
Trousse à index uniques TruSeq DNA Single Indexes, Ensemble B	20015961
Trousse à index doubles combinatoires TruSeq DNA CD	20015949
Technologies intégrées d'ADN pour Illumina : index doubles uniques TruSeq DNA UD Indexes (24 index, 96 échantillons)	20020590
Technologies intégrées d'ADN pour Illumina : index doubles uniques TruSeq DNA UD Indexes (96 index, 96 échantillons)	20022370

**Illumina, Inc.** • 1 800 809 4566 (numéro sans frais aux États-Unis) • tél. +1 858 202 4566 • techsupport@illumina.com • [www.illumina.com](http://www.illumina.com)

© 2017 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 la page [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html). Pub. No. 770-2013-001-D FRA QB #

