

# Next Generation Sequencing (NGS)

<http://lppt.ugm.ac.id>

Monthly Newsletter

Mei 2022

## NextSeq 550 Next Generation Sequencing (NGS) di LPPT

*Next Generation Sequencing* adalah sebuah metode sekuensing yang dilakukan secara paralel sehingga memungkinkan pengurutan sekuens DNA dalam jumlah yang sangat besar. Penggunaan metode *NGS* ini memungkinkan peneliti untuk melakukan sekuensing jutaan hingga milyaran nukleotida DNA dalam satu kali pengerjaan. Jika metode Sanger hanya dapat digunakan untuk mengetahui urutan DNA suatu gen dengan panjang maksimal 1000 bp, maka *NGS* dengan *platform Whole Genome Sequencing* mampu mengetahui urutan DNA genom suatu organisme.

NEXTSEQ 550 merupakan instrument yang digunakan untuk melakukan prosedur *NGS* di LPPT. Instrumen ini mampu melakukan analisis eksom, transkriptom, dan *whole genome sequencing* dalam satu kali *running* dengan *output* dari pembacaan mencapai 40-120 gigabasa. Selain digunakan untuk sekuensing, alat ini juga dapat digunakan untuk teknologi *array*.



Gambar. Instrumen NextSeq 550

## Tahapan Sekuensing DNA metode NGS

Terdapat empat tahap untuk melakukan sekuensing DNA menggunakan metode *NGS*.

### 1. Library Preparation

Tahapan ini merupakan tahap penting yang sangat menentukan keberhasilan sekuensing. Tujuan dari *library preparation* adalah untuk memperoleh fragmen DNA yang sudah diberi adapter pada kedua ujungnya. Adapter ini berfungsi untuk melakukan pengikatan pada *flow cell* saat mekanisme *clustering*, sebagai area pengikatan untuk primer dan sebagai indeks untuk penanda sampel.

### 2. Cluster Generation

*Library* akan dimuat di dalam *flow cell* di mana fragmen akan ditangkap oleh sekelompok oligo yang terikat pada permukaan *flow cell* dan komplementer dengan adapter *library*. Masing-masing fragmen akan teramplifikasi menjadi kluster klonal yang berbeda melalui *bridge amplification*. Ketika pembentukan kluster selesai, *template* sudah siap untuk disekuensing.

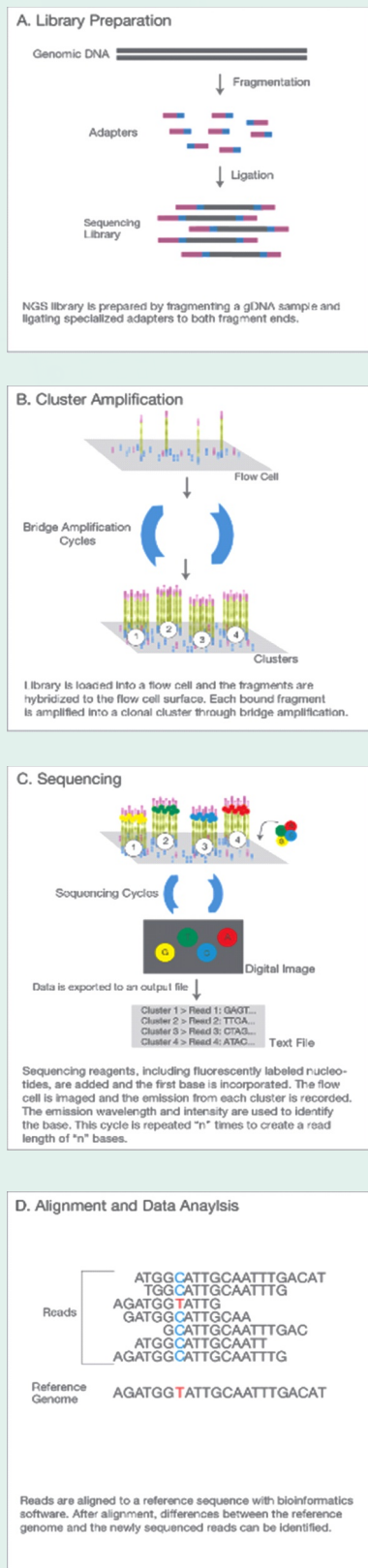
### 3. Sequencing

Setelah proses amplifikasi, kluster akan didenaturasi untuk melepaskan ujung 5' dan primer akan memulai reaksi sekuensing di mana nukleotida yang telah diberi label akan berikatan dengan *template*. Laser akan menangkap sinyal dari label *fluorescent* pada nukleotida, kemudian kamera akan mengambil gambar dari masing-masing *fluorescent*. Selanjutnya sekuens DNA dirakit menjadi satu rangkaian utuh.

### 4. Analisis Data

Selama proses analisis dan penyejajaran, hasil pembacaan sekuens baru yang teridentifikasi disejajarkan dengan genom referensi. Dengan penyejajaran, berbagai analisis variasi dapat dilakukan seperti *single nucleotide polymorphism (SNP)* atau identifikasi insersi-delesi, analisis filogenetik dan metagenomik.

## Ilustrasi Tahapan Sekuensing DNA metode NGS Instrumen Illumina



Gambar. Tahap-tahap Next Generation Sequencing menggunakan instrumen Illumina

## Keunggulan NGS

*Platform NGS* memungkinkan analisis dengan berbagai variasi metode yang membantu peneliti untuk menjawab pertanyaan riset mereka. Dengan adanya revolusi teknologi tersebut, *NGS* dapat diaplikasikan antara lain untuk: melakukan pengurutan sekuens genom organisme secara cepat, melakukan pengurutan sekuens target secara mendalam, menggunakan *RNA sequencing* untuk menemukan varian RNA dan melakukan kuantifikasi mRNA untuk analisis ekspresi gen, analisis faktor epigenetik, mempelajari mikrobioma pada manusia dan mengidentifikasi patogen baru. Dalam aplikasinya saat ini *NGS* banyak dibutuhkan dalam melakukan surveilans untuk mendeteksi dan melakukan karakterisasi SARS-CoV-2 dan patogen lain, melakukan pelacakan transmisi, studi ko-infeksi dan menginvestigasi evolusi virus. Dengan analisis ini, peneliti dapat melakukan surveilans dan menganalisis varian virus yang sedang menginfeksi suatu daerah.



Gambar. Reagen NextSeq dan Kit Illumina COVIDSeq Assay

## Pelatihan/webinar NGS

Pelatihan/webinar *NGS* direncanakan akan diadakan pada bulan Desember 2022. Informasi terkait pelatihan akan disampaikan melalui web LPPT UGM.