

# Instrumento NextSeq™ 550Dx

Plataforma de  
secuenciación de alto  
rendimiento regulada  
por la FDA y con la  
certificación CE

- Responda a las demandas clínicas y de investigación con longitudes de lectura flexibles y varias configuraciones de salida
- Acelere los estudios de investigación con tiempos de procesamiento rápidos y un análisis de datos sencillo
- Acceda a una creciente cartera de pruebas desarrolladas en el laboratorio respaldadas por la ciencia y la experiencia de Illumina

**illumina**®

## Introducción

El instrumento NextSeq 550Dx es la primera plataforma de alto rendimiento regulada por la FDA y con la certificación CE que dota al laboratorio clínico de la capacidad de realizar secuenciaciones de nueva generación (NGS, next-generation sequencing) (figura 1). Con la funcionalidad de doble arranque, la plataforma NextSeq 550Dx incluye un modo de diagnóstico (modo Dx)\* y un modo de investigación. Ambos modos aportan flexibilidad para el desarrollo de pruebas de diagnóstico in vitro (DIV) y pruebas desarrolladas en el laboratorio (LDT, laboratory developed tests), así como para la investigación clínica en un único instrumento.† Para los grandes laboratorios clínicos, el instrumento NextSeq 550Dx constituye una plataforma de alto rendimiento validada que proporciona acceso a una gama cada vez más amplia de aplicaciones clínicas en los campos de la oncología y la salud reproductiva, entre otros.

Además de generar más de 90 Gb de datos en menos de dos días, el instrumento NextSeq 550Dx también ofrece la coherencia de una plataforma regulada e incluye más solidez en el diseño del software y los instrumentos. Además, el uso del modo de investigación es compatible con todas las aplicaciones de investigación disponibles actualmente, incluida la secuenciación del exoma, la creación de perfiles de transcriptomas, los paneles objetivo diseñados por el cliente y la lectura de micromatrices. Con el instrumento NextSeq 550Dx, los laboratorios clínicos pueden realizar experimentos en el modo Dx regulado para pruebas de DIV o en el modo de investigación para acelerar los estudios clínicos sin sacrificar la velocidad y la potencia de un secuenciador de alto rendimiento.

## La química de SBS de Illumina proporciona una precisión excepcional

En el núcleo del instrumento NextSeq 550Dx reside la reconocida química de secuenciación por síntesis (SBS, sequencing by synthesis) de Illumina, es decir, el método de NGS más adoptado en el mundo.<sup>1</sup>

\* Los experimentos realizados en el modo Dx son procesos regulados por autoridades sanitarias de EE. UU. y la UE.

† Póngase en contacto con un representante de Illumina para obtener más información sobre las alianzas de desarrollo de DIV.



Figura 1: Instrumento NextSeq 550Dx. Con los últimos avances en los procesos químicos de SBS y sus flujos de trabajo regulados y fáciles de usar, el instrumento NextSeq 550Dx ofrece resultados de alta calidad en aplicaciones clínicas y de investigación.

Este método basado en terminadores reversibles detecta bases individuales a medida que se incorporan a cadenas de ADN en crecimiento y permite la secuenciación paralela de millones de fragmentos de ADN. Los procesos químicos de SBS de Illumina aprovechan la competencia natural entre los cuatro nucleótidos etiquetados para reducir la tendencia a la incorporación y favorecer una secuenciación más exacta de regiones repetitivas y homopolímeros.<sup>2</sup>

A diferencia de la secuenciación Sanger basada en electroforesis capilar, la NGS puede detectar una gama más amplia de variantes de ADN, como variantes de baja frecuencia y de fases adyacentes, con resultados más rápidos y menos tiempo de participación activa.<sup>3,4</sup> Además, los reactivos de secuenciación NextSeq ofrecen intensidades de señal mejoradas y un menor número de falsos positivos y falsos negativos.<sup>5</sup> Con la química de SBS de NextSeq, el instrumento NextSeq 550Dx ofrece resultados de precisión excepcional en aplicaciones clínicas y de investigación.

## Flujo de trabajo sencillo de tres pasos

Los ensayos realizados en el instrumento NextSeq 550Dx se desarrollan en un proceso simple de tres pasos que incluye la preparación de bibliotecas, la secuenciación y el análisis de los datos (figura 2). Este flujo de trabajo trimembre está completamente integrado y es compatible con Illumina.



Figura 2: Proceso de ensayo de NextSeq 550Dx en tres pasos. El instrumento NextSeq 550Dx forma parte de un proceso integrado de tres pasos. Con el ensayo TruSeq™ Custom Amplicon Dx Assay se dispone de informes de resultados detallados.

Tabla 1. Parámetros de rendimiento del instrumento NextSeq 550Dx (modo Dx)<sup>a,b</sup>

Configuración de la celda de flujo	Longitud de lectura	Rendimiento	Duración del experimento	Calidad de los datos <sup>c</sup>
Celda de flujo de alto rendimiento	2 × 150 pb	≥90 Gb	<35 horas	>75 % ≥Q30

a. Bibliotecas generadas con el kit de amplicones personalizados TruSeq Dx.

b. Para conocer los parámetros de rendimiento del modo de investigación, consulte las Especificaciones del sistema NextSeq 550.

c. Una puntuación de calidad de Q30 corresponde a una tasa de error del 0,1 % en llamadas de bases.

## Preparación de bibliotecas

La preparación de bibliotecas comienza con la adición de cebadores a las muestras de ADN genómico (ADNg), tras lo cual se generan bibliotecas indexadas para la captura y amplificación simultáneas de cientos de regiones objetivo. En una serie de aplicaciones clínicas, el kit de preparación de bibliotecas de amplicones personalizados TruSeq™ Custom Amplicon Dx Library Preparation kit admite paneles de oligonucleótidos definidos por el usuario. El rápido y eficaz kit de preparación de bibliotecas solo precisa 50 ng de ADNg o 10 µl de ADN procedente de tejidos fijados en formol y embebidos en parafina (FFPE, formalin-fixed, paraffin-embedded) para producir bibliotecas de secuenciación de alta calidad en menos de dos días.

El ADN FFPE se puede evaluar con el kit de amplicones personalizados TruSeq Dx/control de calidad de tejidos FFPE, que utiliza una sencilla reacción de qPCR para determinar la calidad del ADN FFPE. Los resultados del kit de control de calidad de tejidos FFPE se utilizan para asesorar sobre la calidad y la cantidad de entrada de ADN FFPE.

## Secuenciación en el instrumento NextSeq 550Dx

Con los cartuchos de reactivos precargados, iniciar un experimento en el instrumento NextSeq 550Dx es tan fácil como descongelar, cargar y poner en marcha, con unos 30 minutos de participación activa total. La interfaz de usuario intuitiva permite a los investigadores trabajar con varias aplicaciones de secuenciación con una capacitación del usuario o un tiempo de configuración del instrumento mínimos. Además, el instrumento NextSeq 550Dx genera grupos y realiza SBS en un único aparato, además de ofrecer una transición sencilla al análisis de datos integrado o basado en la nube. Al igual que el NextSeq 550 System, el instrumento NextSeq 550Dx proporciona datos de alta calidad, con más del 75 % de las bases secuenciadas con una puntuación de calidad de Q30 o superior (tabla 1).

El instrumento NextSeq 550Dx se configura fácilmente y brinda a los investigadores la flexibilidad de trabajar con proyectos de bajo y alto rendimiento. En el modo de investigación, los investigadores pueden elegir entre dos configuraciones de celda de flujo (salida media y salida alta) y pueden pasar fácilmente de alto rendimiento a bajo rendimiento según sea necesario. Gracias a una gama de soluciones de diagnóstico que no deja de crecer, los investigadores pueden pasar fácilmente del instrumento MiSeqDx al NextSeq 550Dx (figura 3).

## Software del sistema integrado

El instrumento NextSeq 550Dx ofrece un software de análisis totalmente integrado con una arquitectura de software modular que permite realizar tanto los ensayos actuales como los futuros. Se accede al software de control del instrumento a través de una pantalla táctil intuitiva. Con el software Local Run Manager es posible planificar experimentos de secuenciación, hacer el seguimiento de bibliotecas y experimentos con registros de auditoría, y realizar la integración con módulos de análisis de datos incorporados. Al ejecutar Local Run Manager en el ordenador del instrumento, los usuarios pueden supervisar el progreso del experimento y ver los resultados del análisis desde otros equipos conectados a la misma red. Tras finalizar un experimento de secuenciación, Local Run Manager inicia automáticamente el análisis de los datos usando uno de los módulos de análisis específicos de la aplicación.



NextSeq™ 550Dx

MiSeq™ Dx

Figura 3: Gama de instrumentos de NGS de diagnóstico de Illumina. Los sistemas de NGS de Illumina ofrecen soluciones para una gran variedad de aplicaciones, tipos de muestra y escalas de secuenciación. Todos los sistemas ofrecen datos de gran calidad y una elevada precisión, así como una productividad flexible y unos flujos de trabajo optimizados y sencillos.

## Aplicaciones de diagnóstico disponibles

En el modo Dx, el instrumento NextSeq 550Dx admite actualmente las aplicaciones siguientes, que se efectúan con el ensayo de amplicones personalizados TruSeq Dx:

- **Llamada de variantes somáticas.** Al preparar las bibliotecas a partir de ADNg derivado de FFPE, el flujo de trabajo de llamada de variantes somáticas ofrece resultados cualitativos con un límite de detección de 0,05.<sup>1</sup> El flujo de trabajo de llamada de variantes somáticas admite entre 4 y 48 muestras multiplexadas en el instrumento NextSeq 550Dx.
- **Llamada de variantes de línea germinal.** Al preparar las bibliotecas a partir de ADNg de sangre completa periférica, este flujo de trabajo proporciona resultados cualitativos para la llamada de variantes de línea germinal homocigótica o heterocigótica. El flujo de trabajo de llamada de variantes de línea germinal admite de 8 a 96 muestras multiplexadas en el instrumento NextSeq 550Dx.

## Llamada de variantes y correlación con MiSeqDx

La precisión de la llamada de variantes con el instrumento NextSeq 550Dx se comprobó usando el panel de variantes de amplicones personalizados TruSeq (TSAVP), un ensayo representativo diseñado para consultar una variedad de genes, con cobertura de 12 588 bases en 23 cromosomas diferentes. El ensayo TSAVP también contiene una amplia variedad de GC (18- 87 %), indels (hasta 25 pares de bases) y homopolímeros (7-13 nucleótidos). La precisión se midió utilizando las muestras de Platinum Genomes, un estudio

Tabla 2. Llamada de variantes en modo Dx

	N.º de muestras	Duración del análisis <sup>a</sup>	PPA <sup>b</sup>			NPA <sup>b</sup>	OPA <sup>b</sup>
			SNV	Ins	Dels		
Llamador de variantes somáticas	48	7,5 horas	99,9 %	99,9 %	99,9 %	99,99 %	99,98 %
Llamador de variantes de línea germinal	96	7,0 horas	>99,9 %	98,9 %	100,0 %	100,00 %	99,99 %

a. Tiempo medio de análisis integrado en dos estudios de 9 experimentos.

b. Menor concordancia porcentual positiva (PPA, positive percent agreement) observada para las variantes de nucleótido único (SNV, positive percent agreement), inserciones (Ins), deleciones (Dels), concordancia porcentual negativa (NPA, negative percent agreement) y concordancia porcentual general (OPA, overall percent agreement) en cada estudio de 9 experimentos con tres lotes de reactivos, tres instrumentos y tres operadores. Se probaron muestras de Platinum Genomes en un ensayo representativo, el panel de variantes de amplicones personalizados TruSeq (TSAVP). Somáticas: N = 378. Línea germinal: N = 819.

genealógico de individuos previamente secuenciado a alta profundidad con llamadas de variantes confirmadas de gran confianza.<sup>6</sup> Las concordancias positivas, negativas y generales fueron muy cercanas al 100 %, lo cual indica un alto grado de precisión de la llamada de variantes (tabla 2).

En un estudio independiente, se valoró la concordancia entre las muestras analizadas con los instrumentos MiSeqDx y NextSeq 550Dx. Los resultados somáticos procedían de ensayos TSAVP y TruSight™ Tumor 26 (N = 8599) y los resultados de línea germinal, de ensayos TSAVP y TruSight Myeloid (N = 13 828). La correlación R2 de la frecuencia de variantes de alelos somáticas y de línea germinal con MiSeqDx fue de 0,997 y 0,989, respectivamente. La concordancia de llamada de variantes cualitativa con MiSeqDx fue de ≥99,8 % para las variantes somáticas y ≥99,6 % para las variantes de línea germinal con un intervalo de confianza del 95 % de límite inferior para ambos tipos de variantes. En conjunto, estos datos indican una alta correlación de llamada de variantes con los datos de MiSeqDx.

## Lectura de matrices en modo de investigación

En el modo de investigación, el instrumento NextSeq 550Dx ofrece flexibilidad a la hora de realizar experimentos, pues admite tanto la secuenciación como la lectura de micromatrices de BeadChips de Illumina.<sup>‡</sup> Con la lectura de micromatrices, los investigadores tienen acceso instantáneo a una tecnología altamente complementaria para estudios de seguimiento, confirmación de variantes del número de copias detectadas mediante secuenciación u otras vías de investigación (tabla 3). Los flujos de trabajo integrados de ADN a datos permiten secuenciar rápidamente exomas, paneles de secuenciación objetivo y transcriptomas con configuraciones de salida media o alta. Para obtener más información acerca de la amplia gama de aplicaciones de secuenciación y micromatrices compatibles con el instrumento NextSeq 550Dx en el modo de investigación, consulte las Especificaciones del sistema NextSeq 550.

‡ El instrumento NextSeq 550Dx, en el modo de investigación, permite leer las micromatrices de BeadChips de ADN Infinium CytoSnp-850K, HUMANCytoSNP-12 y HUMANKaryomap-12.

Tabla 3. Parámetros de lectura de matrices en modo de investigación en el instrumento NextSeq 550Dx

BeadChip	Tiempos de lectura por BeadChip	Tiempo de lectura por muestra
BeadChip Infinium MethylationEPIC	40 minutos	5 minutos
BeadChip Infinium HumanCytoSNP-850K	40 minutos	5 minutos
BeadChip Infinium CytoSNP-12	40 minutos	3,3 minutos
BeadChip Infinium HumanKaryomap-12	40 minutos	3,3 minutos

## Resumen

El NextSeq 550Dx es un instrumento transformador que aporta al laboratorio clínico capacidades de NGS de alto rendimiento reguladas por la FDA y con la certificación CE para trabajar con aplicaciones de investigación y diagnóstico. El instrumento NextSeq 550Dx incorpora un sencillo flujo de trabajo en tres pasos y ofrece la flexibilidad de aportar datos clínicos de DIV con carácter urgente o responder a las preguntas más recientes de la investigación clínica. El instrumento NextSeq 550Dx ofrece flujos de trabajo rápidos y regulados para las aplicaciones de llamada de variantes somáticas y de línea germinal, y proporciona acceso a la variedad cada vez mayor de ensayos clínicos de NGS de Illumina.

## Información adicional

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

## Datos para realizar pedidos

Producto	N.º de referencia
Instrumento NextSeq 550Dx	20005715
NextSeq 550Dx High-Output Reagent Kit v2.5 (75 ciclos) <sup>a</sup>	20028870
NextSeq 550Dx High-Output Reagent Kit v2.5 (300 ciclos) <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
Filtro de aire NextSeq	20022240

a. Los consumibles de secuenciación de clase I se envían en un solo lote e incluyen pruebas de lote de kit, notificaciones previas a las modificaciones y un certificado de análisis en cada lote. Los reactivos se desarrollan conforme a principios de control del diseño, se fabrican conforme a las prácticas recomendadas de fabricación actuales y se verifican para garantizar el cumplimiento de las especificaciones.

## Bibliografía

1. Cálculos de datos en archivo. Illumina, Inc. 2017.
2. Bentley DR, Balasubramanian S, Swerdlow HP, et al. [Accurate Whole Human Genome Sequencing using Reversible Terminator Chemistry](#). *Nature*. 2008;456(7218):53-59.
3. Shokralla S, Porter TM, Gibson JF, 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). [NextSeq 550 Sequencing System Specification Sheet](#). Acceso: 10 de febrero de 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.

## Especificaciones del instrumento NextSeq 550Dx

Parámetro	Especificación
Configuración del instrumento	Seguimiento de RFID para consumibles
Ordenador de control del instrumento	Procesador: Dual Intel Xeon E5-2648L v3 1,8 GHz de CPU; memoria: 128 GB Unidad de disco duro, modo Dx: 2 × 2 TB (RAID 1) Unidad de disco duro, modo de investigación: 2 × 2 TB (RAID 1) Sistema operativo: Windows 10
Entorno operativo	Temperatura: entre 19 °C y 25 °C (22 °C ± 3 °C) Humedad: humedad relativa sin condensación entre el 20 % y el 80 % Altitud: de 0 a 2000 m (6500 ft) Ventilación: hasta 2048 BTU/h a 600 W Para uso exclusivo en interiores
Diodo luminiscente (LED)	Verde: 510-525 nm; rojo: 645-655 nm; diodo láser: 780 nm; clase IIIb
Dimensiones	Anchura × fondo × altura: 54 cm × 69 cm × 58 cm Peso: 84,5 kg (186 lb), Peso con el embalaje: 163,5 kg (360 lb)
Requisitos de alimentación	100-120 V CA 15 A, 220-240 V CA 10 A
Identificador de radiofrecuencia (RFID)	Frecuencia: 13,56 MHz Alimentación: corriente de alimentación de 120 mA, potencia de salida de RF de 200 mW
Seguridad y cumplimiento del producto	NRTL con certificación IEC 61010-1 Marca CE Aprobado por FCC/IC

## Declaraciones de uso previsto

### Uso previsto del instrumento NextSeq 550Dx (Unión Europea/otros)

El instrumento NextSeq 550Dx está concebido para la secuenciación de bibliotecas de ADN cuando se utiliza con pruebas de diagnóstico in vitro (DIV) realizados en el instrumento. El instrumento NextSeq550 Dx debe utilizarse con reactivos de DIV y software de análisis específicos que estén registrados, certificados o aprobados.

### Uso previsto del instrumento NextSeq 550Dx (Estados Unidos)

El instrumento NextSeq 550Dx está diseñado para la secuenciación selectiva de bibliotecas de ADN formadas a partir de ADN genómico humano que se ha extraído de sangre completa periférica o de tejido fijado en formol y embebido en parafina (FFPE), en las pruebas de diagnóstico in vitro (DIV) llevados a cabo en el instrumento. El instrumento NextSeq 550Dx no está indicado para la secuenciación de genoma completo ni de novo. El instrumento NextSeq 550Dx se debe utilizar con un software de análisis y reactivos de DIV registrados y catalogados (autorizados o aprobados).

### Uso previsto de TruSeq Custom Amplicon Kit Dx

El kit de amplicones personalizados TruSeq Dx de Illumina es un conjunto de reactivos y consumibles que se utilizan para preparar las bibliotecas de muestras de ADN extraídas de sangre completa periférica y de tejido fijado en formol y embebido en parafina (FFPE). Para la preparación de bibliotecas centradas en regiones de interés genómicas específicas hacen falta reactivos de analitos específicos proporcionados por el usuario. Las bibliotecas de muestras resultantes están concebidas para utilizarse con los analizadores de secuencias de ADN de alto rendimiento de Illumina.

### Uso previsto del TruSeq Custom Amplicon Dx – FFPE QC kit

El TruSeq Custom Amplicon Dx – FFPE QC Kit de Illumina es un conjunto de reactivos que se utiliza para establecer el potencial de amplificación de ADN genómico (ADNg) que se ha extraído de muestras fijadas en formol y embebidas en parafina (FFPE).



1 800 809 4566 (llamada gratuita, EE. UU.) | tel.: +1 858 202 4566  
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2021 Illumina, Inc. Todos los derechos reservados. Todas las marcas comerciales pertenecen a Illumina, Inc. o a sus respectivos propietarios. Si desea consultar información específica sobre las marcas comerciales, visite [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html).  
M-GL-00035 ESP v3.0