

# Secuenciación de células individuales y espacial en las celdas de flujo NextSeq™ 1000 y NextSeq 2000 XLEAP-SBS™

Lleve a cabo una genómica  
en alta resolución con un  
sistema de sobremesa líder  
del mercado

## Introducción

Los sistemas biológicos complejos están determinados por la actividad coordinada de células individuales en tejidos organizados. Los métodos convencionales que analizan muestras disociadas en grandes volúmenes pueden enmascarar la heterogeneidad celular y las relaciones espaciales que impulsan esta complejidad. La secuenciación de células individuales y espacial son métodos de secuenciación de nueva generación (NGS, next-generation sequencing) que permiten ver en alta resolución la variación y organización intercelular.

10x Genomics, un socio de Illumina, ha comercializado varias soluciones de biología espacial y de células individuales. Estos productos de preparación y análisis de librerías con una adopción generalizada dependen de la precisión y la sencillez de los sistemas de secuenciación de Illumina. Los sistemas NextSeq 1000 y NextSeq 2000 con química XLEAP-SBS son los sistemas de sobremesa ideales para estudios espaciales y de células individuales, ya que ofrecen flexibilidad, capacidad de ampliación y datos de alta calidad para adaptarse a la sensibilidad de estos ensayos.

### Secuenciación de ARN espacial y de células individuales

La creación de perfiles de expresión genética a escala de cada célula o con un contexto espacial preservado aumenta la capacidad de descubrimiento para comprender los mecanismos patológicos y de desarrollo con mayor profundidad y precisión.

La secuenciación de ARN de células individuales (scRNA-Seq) utiliza la división celular y códigos de barras de oligonucleótidos para examinar los transcriptomas de cientos a decenas de miles de células individuales. Al proporcionar una vista detallada de la variación intercelular, la scRNA-Seq facilita la identificación de biomarcadores novedosos y tipos de células raros que, de otro modo, se pasarían por alto con una RNA-Seq a gran escala.<sup>1,2</sup>

La transcriptómica espacial combina tecnologías de secuenciación y adquisición de imágenes de alto rendimiento para mostrar la expresión del ARNm a nivel celular en tejidos estructuralmente conservados. Visualizar la morfología del tejido superpuesta con la actividad génica puede ayudar a los investigadores a conocer la relación espacial entre las células dentro de los tejidos normales y enfermos.

Tanto la estrategia de secuenciación espacial como la de células individuales se pueden aplicar otras modalidades aparte del ARN, entre las que se incluyen el ADN, el epigenoma o las proteínas. Por ejemplo, 10x Genomics ofrece soluciones multiómicas que combinan la scRNA-Seq con ensayos para la accesibilidad a la cromatina o la expresión proteica. Las soluciones espaciales también pueden medir la expresión proteica y del ARN a la vez.

### NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System

NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System cuentan con química XLEAP-SBS, la química de secuenciación por síntesis (SBS, sequencing by synthesis) de Illumina más rápida, de mayor calidad y más potente hasta la fecha. La química XLEAP-SBS, que se basa en la probada química de SBS estándar de Illumina, mejora la estabilidad de los reactivos al duplicar la velocidad de incorporación.<sup>3</sup>

NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System ofrecen flexibilidad para adaptarse a una amplia gama de requisitos de los proyectos espaciales o con células individuales, lo que permite ajustar las células de cada muestra, las lecturas de cada célula y las muestras de cada experimento (tabla 1, tabla 2).\* Tanto si los investigadores desean secuenciar más a fondo para acceder a transcritos de menor abundancia o secuenciar más células o muestras, NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System ofrecen una solución accesible para la secuenciación y el análisis primario en un sistema de sobremesa. Al contar con cuatro tipos de celdas de flujo, los investigadores disponen de flexibilidad para utilizar varios métodos de análisis de NGS y adaptarse a diversos diseños de experimentos.

En esta nota técnica demostramos la sinergia de utilizar NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System para las soluciones espaciales y de células individuales de 10x Genomics, con varios tipos de librería y rendimientos de las celdas de flujo. Asimismo, comparamos el rendimiento con la química XLEAP-SBS con respecto a la química de SBS estándar, proporcionamos orientación sobre la configuración de los experimentos, indicamos el rendimiento previsto de la secuenciación y aportamos ejemplos de criterios de medición del análisis.

## Métodos

### Ensayos de scRNA-Seq

Los ensayos Chromium Single Cell Gene Expression de 10x Genomics ofrecen una solución optimizada para la scRNA-Seq. La tecnología GEM-X mejora el rendimiento y aumenta el rendimiento del flujo de trabajo de los ensayos Chromium, a la vez que proporciona capacidades multiómicas y de expresión génica 3' del transcriptoma de células individuales. El ensayo Chromium Gene Expression Flex permite la creación de perfiles de expresiones genéticas para miles o cientos de miles de células o núcleos fijos con un método sensible basado en sondas. Un experimento típico de scRNA-Seq con ensayos de células individuales Chromium sigue un flujo de trabajo de preparación de muestras, división de células y aplicación de códigos de barras en ellas, preparación de librerías, secuenciación y análisis (figura 1).

\* En el caso de los ensayos de biología espacial, los proyectos se miden en términos de puntos históricos y áreas de captura en vez de por células.

### Chromium GEM-X Single Cell 3' Gene Expression v4

Las muestras para scRNA-Seq se prepararon a partir de células mononucleares de sangre periférica (CMSP) humanas criopreservadas. Las librerías de células individuales se prepararon con Chromium GEM-X Single Cell 3' Reagent Kits v4 (10x Genomics, n.º de catálogo PN-1000691) siguiendo el protocolo de la guía del usuario (10x Genomics, n.º de documento CG000731, Rev A).<sup>4</sup> La secuenciación se realizó en NextSeq 2000 System con kits de reactivos NextSeq 2000 XLEAP-SBS P4 (100 ciclos) (Illumina, n.º de catálogo 20100994). Por comparación, las mismas librerías también se secuenciaron en NextSeq 2000 System con el kit de reactivos SBS estándar NextSeq 2000 P3 (100 ciclos) (Illumina, n.º de catálogo 20040559). Las configuraciones del experimento se ajustaron de acuerdo con los parámetros proporcionados por 10x Genomics: lectura 1 de 28 ciclos, lecturas de los índices i7 e i5 de 10 ciclos, y lectura 2 de 90 ciclos. La concentración de la carga tanto para XLEAP-SBS como para los reactivos SBS estándar fue de 650 pmol y se añadió PhiX al 1 %. El análisis de datos se realizó con Cell Ranger pipeline v8.0.0 (10x Genomics).

### Chromium Single Cell Gene Expression Flex

Las muestras se prepararon a partir de CMSP humanas criopreservadas. Las células se fijaron con Chromium Next GEM Single Cell Fixed RNA Sample Preparation Kit (10x Genomics, n.º de catálogo PN-1000414) siguiendo el protocolo demostrado (10x Genomics, n.º de documento CG000478, Rev D).<sup>5</sup> Las librerías se prepararon con Chromium Fixed RNA Kit, Human Transcriptome (10x Genomics, n.º de catálogo PN-1000476) siguiendo el protocolo de la guía del usuario (10x Genomics, documento CG000527, Rev F).<sup>6</sup> La secuenciación se realizó en NextSeq 2000 System con química XLEAP-SBS en celdas de flujo P4 de 100 ciclos y química de SBS estándar en celdas de flujo P3 de 100 ciclos con la longitud de lectura siguiente: lectura 1 de 28 ciclos, lecturas de los índices i7 e i5 de 10 ciclos, y lectura 2 de 90 ciclos. La concentración de la carga fue de 650 pmol y se añadió PhiX al 5 %. El análisis de datos se realizó con Cell Ranger pipeline v7.1.0 (10x Genomics).

Tabla 1: Ejemplo de productividad de muestras de los ensayos de células individuales de Chromium en NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System

Producto	Pares de lectura mínimos por celda <sup>a</sup>	Células por muestra	N.º de muestras por experimento <sup>b</sup> para las celdas de flujo NextSeq 1000 y NextSeq 2000			
			P1 <sup>c</sup>	P2	P3 <sup>d</sup>	P4 <sup>d</sup>
Chromium GEM-X Single Cell 3' Gene Expression v4	20 000	5000	1	4	12	18
Chromium Single Cell Gene Expression Flex – Multiplex	10 000	5000	2	8	24	36

- a. Recomendaciones mínimas de lectura proporcionadas por cortesía de 10x Genomics. Ajuste la profundidad de la secuenciación para el rendimiento o la aplicación necesarios. El criterio de medición y la curva de saturación de la secuenciación en el resumen del experimento de Cell Ranger se pueden utilizar para optimizar la profundidad de la secuenciación para tipos de muestras específicos.
- b. El número de muestras de células individuales por experimento de secuenciación se basa en una librería de control PhiX de Illumina con densidades de grupos y concentración de la carga compatibles. Los parámetros de rendimiento reales pueden variar en función del tipo de muestra, de la calidad de la muestra y de los grupos que superan el filtro.
- c. Las celdas de flujo P1 son una buena opción para los experimentos de control de calidad de células individuales.
- d. Las celdas de flujo P3 y P4 solo están disponibles en NextSeq 2000 System.



Figura 1: Flujo de trabajo de Chromium Single Cell Gene Expression. Un experimento típico de scRNA-Seq sigue un flujo de trabajo de preparación de muestras, división de células y aplicación de códigos de barras en ellas, preparación de librerías, secuenciación y análisis de datos.

## Ensayos espaciales de RNA-Seq

Los ensayos Visium Spatial Gene Expression de 10x Genomics asignan todo el transcriptoma con contexto morfológico en tejidos fijados en formol y embebidos en parafina (FFPE, formalin fixed, paraffin-embedded) y congelados en fresco. Las áreas de captura de portaobjetos de tejido Visium v1 y v2 tienen un array de aproximadamente 5000 puntos con códigos de barras, 55 µm de diámetro y una separación de 100 µm. Por el contrario, las áreas de captura Visium HD de alta definición contienen una cuadrícula continua con códigos de barras en cada cuadrado de 2 × 2 µm, aproximadamente 11,2 millones en total. Un experimento típico de RNA-Seq espacial con ensayos espaciales Visium sigue un flujo de trabajo de preparación de muestras de tejido, adquisición de imágenes, preparación de librerías, secuenciación y análisis (figura 2).

## Visium CytAssist Spatial Gene Expression v2

Se seccionó un bloque FFPE de cerebro de ratón conforme a lo explicado en el protocolo de demostración de la preparación de tejidos de Visium CytAssist Spatial Gene Expression for FFPE (10x Genomics, n.º de documento CG000518, RevD).<sup>7</sup> La desparafinación, la tinción con hematoxilina y eosina, la adquisición de imágenes y la desvinculación siguieron ese protocolo de demostración (10x Genomics, n.º de documento CG000520, Rev C)<sup>8</sup> y el tejido se transfirió a un portaobjetos de Visium CytAssist Spatial Gene Expression mediante el instrumento CytAssist. Las librerías se prepararon con Visium CytAssist Spatial Gene Expression for FFPE (10x Genomics, n.º de catálogo PN-1000521) siguiendo el protocolo de la guía del usuario (10x Genomics, n.º de documento CG000495, Rev F).<sup>9</sup> La secuenciación se realizó en

Tabla 2: Ejemplo de productividad de muestras de los ensayos de células individuales de Visium en NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System

Producto	Tipo de muestra	Pares de lectura por punto de tejido <sup>c</sup>	Lecturas por sección de tejido <sup>c</sup>	N.º de áreas de captura por experimento <sup>a,b</sup> para las celdas de flujo NextSeq 1000 y NextSeq 2000		
				P2	P3 <sup>d</sup>	P4 <sup>d</sup>
Visium CytAssist Spatial Gene Expression v2 <sup>a</sup>	Tejido FFPE	25 000	125 M	3	9	14
	Tejido congelado en fresco	50 000	250 M	1	4	7
Visium HD Spatial Gene Expression <sup>b</sup>	Tejido FFPE	–	275 M	1	4	6
	Tejido congelado en fresco	–	700 M	–	1	2

- a. Recomendaciones mínimas de lectura proporcionadas por cortesía de 10x Genomics. La productividad de muestras se calcula tomando como base los pares de lectura recomendados por punto de tejido, 5000 puntos de tejido por área de captura y un promedio del 50 % del área de captura cubierta por la sección de tejido. Los portaobjetos de tejido congelado en fresco de Visium Spatial Gene Expression tienen cuatro áreas de captura para procesar hasta cuatro secciones de tejido por portaobjetos. Los portaobjetos de tejido FFPE de Visium Spatial Gene Expression tienen dos áreas de captura para procesar hasta dos secciones de tejido por portaobjetos.
- b. La productividad de muestras se calcula tomando como base 275 M de lecturas (para el tejido FFPE) o 700 M (para el tejido congelado en fresco) por área de captura completamente cubierta por la sección de tejido (o en proporción al área de captura cubierta por la sección de tejido). Los portaobjetos de Visium HD Spatial Gene Expression contienen una cuadrícula continua con códigos de barras en cada cuadrado de 2 × 2 µm.
- c. Recomendaciones mínimas de lectura proporcionadas por cortesía de 10x Genomics. La guía de profundidad de lectura de Visium HD para tejido congelado en fresco es solo de referencia y aún no está validada en NextSeq 2000 System con química XLEAP-SBS.
- d. Las celdas de flujo P3 y P4 solo están disponibles en NextSeq 2000 System.



Figura 2: Flujo de trabajo de Visium Spatial Gene Expression. Un experimento típico de RNA-Seq espacial sigue un flujo de trabajo de preparación de muestras de tejido, adquisición de imágenes, preparación de librerías, secuenciación y análisis de datos.

NextSeq 2000 System con química XLEAP-SBS en celdas de flujo P4 de 100 ciclos y química de SBS estándar en celdas de flujo P3 de 100 ciclos con la siguiente longitud de lectura: lectura 1 de 28 ciclos, lecturas de los índices i7 e i5 de 10 ciclos y lectura 2 de 90 ciclos. La concentración de la carga fue de 650 pmol y se añadió PhiX al 1 %. El análisis de datos se realizó con Space Ranger pipeline v2.0 (10x Genomics).

### Visium HD Spatial Gene Expression

Se seccionó, desparafinizó y tiñó con hematoxilina y eosina un bloque FFPE de embriones de ratón, y se adquirieron imágenes de este conforme al manual de preparación de tejidos FFPE de Visium HD (10x Genomics, n.º de documento CG000684, Rev. A). La hibridación de sondas, ligadura de sondas, preparación de portaobjetos, liberación de sondas, extensión y construcción de librerías se llevaron a cabo mediante el kit de reactivos Visium HD (10x Genomics, n.º de catálogo PN-1000668) siguiendo el protocolo de la guía del usuario (10x Genomics, n.º de documento CG000685, Rev A).<sup>10</sup> La secuenciación se llevó a cabo en NextSeq 2000 System con química XLEAP-SBS en celdas de flujo P4 de 100 ciclos y química de SBS estándar en celdas de flujo P3 de 100 ciclos con la siguiente longitud de lectura: lectura 1 de 43 ciclos, lecturas de los índices i7 e i5 de 10 ciclos, y lectura 2 de 50 ciclos. La concentración de la carga fue de 650 pmol y se añadió PhiX al 1 %. El análisis de datos se realizó con Space Ranger pipeline v3.0 (10x Genomics).

## Resultados

La secuenciación de las librerías de células individuales de Chromium o las librerías espaciales de Visium mediante la química XLEAP-SBS de alto rendimiento en NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System generaron resultados similares a los de la química de SBS estándar y, además, permitieron aumentar el rendimiento de los datos y agilizaron el procesamiento (tabla 3).

### Ensayos de scRNA-Seq

#### Chromium GEM-X Single Cell 3' Gene Expression v4

Los resultados demuestran una alta concordancia entre los datos de la química XLEAP-SBS y la química de SBS estándar con las librerías de scRNA-Seq de Chromium. En lo referente a los criterios de medición principales, se produce una mejora de aproximadamente el 2 % en el porcentaje de grupos que superan el filtro (% de PF) y las puntuaciones de Q30 (tabla 4). En lo referente a los criterios de medición de la secuenciación, se produce una mejora del 2 % de las bases Q30 en las lecturas de códigos de barras y ARN, y una mejora del 4 % de las bases Q30 en los identificadores moleculares únicos (UMI, unique modular identifiers) (tabla 5). La visualización de la clasificación de los tipos de células mediante el gráfico de t-SNE muestra resultados semejantes para ambos conjuntos de datos (figura 3A).

Tabla 3: Guía de carga y resultado esperado de los criterios de medición del experimento para las celdas de flujo NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS con respecto a las celdas de flujo de SBS estándar de NextSeq 2000 P3

Producto	Configuración de la secuenciación (R1, i7, i5, R2)	Concentración de la carga de librerías	Porcentaje de entrada de PhiX	Porcentaje de alineación de PhiX <sup>a</sup>	% de PF de grupos de P4 XLEAP-SBS <sup>b</sup>	% de PF de grupos de P3 SBS estándar <sup>b</sup>
Chromium GEM-X Single Cell 3' Gene Expression v4	28, 10, 10, 90	650 pmol	1 %	0,4 %	77,4 %	75,8 %
Chromium Single Cell Gene Expression Flex – Multiplex	28, 10, 10, 90	650 pmol	5 %	2,7 %	88,9 %	84,4 %
Visium CytAssist Spatial Gene Expression v2	28, 10, 10, 90	650 pmol	1 %	0,9 %	87,8 %	78,3 %
Visium HD Spatial Gene Expression	43, 10, 10, 50	650 pmol	1 %	0,5 %	89,2 %	72,2 %

a. Porcentaje de valores de alineación de PhiX mostrados para las celdas de flujo NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS. Consulte las tablas 4, 6, 8 y 10 para ver los valores de la celda de flujo de SBS estándar P3 de NextSeq 2000 para el porcentaje de alineación de PhiX. La variación en el porcentaje de alineación de PhiX está dentro de la variación normal entre experimentos.

b. % de PF, porcentaje de grupos que superan el filtro.

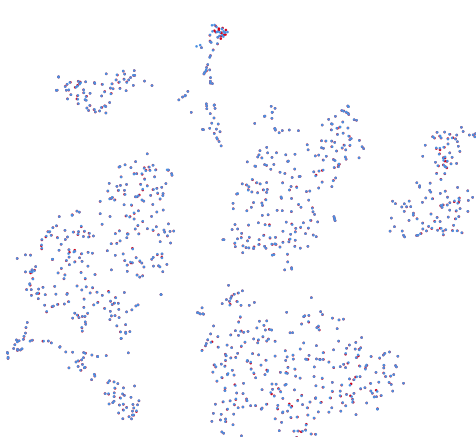
Tabla 4: Criterios de medición principales de Chromium GEM-X Single Cell 3' Gene Expression v4

	Química de P4 XLEAP-SBS	Química de P3 SBS estándar
Configuración del experimento	28, 10, 10, 90	28, 10, 10, 90
Rendimiento	244,89 Gb	172,07 Gb
Concentración de la carga	650 pmol	650 pmol
% de PF	77,4 %	75,8 %
% de alineación de PhiX	0,4 %	1,9 %
Bases de la lectura 1 $\geq$ Q30	96,3 %	93,7 %
Bases de la lectura 2 $\geq$ Q30	94,2 %	92,3 %
Tasa de error de la lectura 1	0,07 %	0,07 %
Tasa de error de la lectura 2	0,16 %	0,16 %
N.º estimado de células por muestra	1077	1072
N.º de genes detectados	26 825	26 312
Mediana de los recuentos de UMI por célula	22 683	21 174

Tabla 5: Criterios de medición del experimento de secuenciación de Chromium GEM-X Single Cell 3' Gene Expression v4

	Química de P4 XLEAP-SBS	Química de P3 SBS estándar
Códigos de barras válidos	95,7 %	95,7 %
Lecturas asignadas con confianza a regiones exónicas	57,2 %	57,0 %
Lecturas asignadas con confianza al transcriptoma	70,7 %	70,6 %
Lecturas de fracción en células	96,9 %	96,9 %
Bases Q30 en el código de barras	96,2 %	93,9 %
Bases Q30 en la lectura de ARN	95,8 %	93,6 %
Bases Q30 en el UMI	96,9 %	93,0 %

A. Chromium GEM-X Single Cell 3' Gene Expression v4



B. Chromium Single Cell Gene Expression Flex

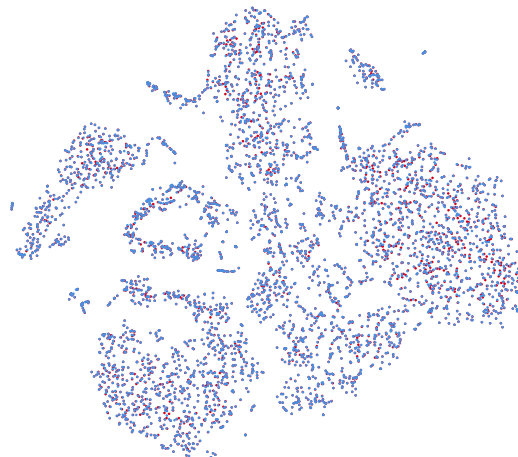


Figura 3: Chromium Single Cell Gene Expression en NextSeq 2000 System. Visualización de la clasificación de los tipos de célula con gráficos de inclusión de vecinos estocásticos distribuidos en t (t-SNE, t-distributed stochastic neighbor embedding) para (A) Chromium GEM-X Single Cell 3' Gene Expression v4 y (B) Chromium Single Cell Gene Expression Flex, secuenciados en NextSeq 2000 System con la celda de flujo NextSeq 2000 P4 con química XLEAP-SBS (en azul) y la celda de flujo NextSeq 2000 P3 con química de SBS estándar (en naranja). Tenga en cuenta que los puntos azules y naranjas pueden ser difíciles de distinguir debido a la superposición de datos.

### Chromium Single Cell Gene Expression Flex

Los resultados demuestran una alta concordancia entre los datos de la química XLEAP-SBS y la química de SBS estándar con las librerías de scRNA-Seq Flex de Chromium. En lo referente a los criterios de medición principales, se produce una mejora de aproximadamente el 5 % en el % de PF (tabla 6). El aumento del % de PF significa que un mayor número de bases han superado el filtro, lo que incrementa el rendimiento de la celda de flujo. Las métricas de secuenciación y los gráficos de t-SNE muestran resultados semejantes entre los conjuntos de datos (tabla 7, figura 3B).

### Ensayos espaciales de RNA-Seq

#### Visium CytAssist Spatial Gene Expression v2

Los resultados demuestran una alta concordancia entre los datos de la química XLEAP-SBS y la química de SBS estándar con las librerías de RNA-Seq espacial de Visium. En lo referente a los criterios de medición principales, se produce una mejora de aproximadamente el 12 % en el % de PF (tabla 8). Los criterios de medición de la secuenciación y la visualización de la expresión génica espacial muestran resultados similares entre los conjuntos de datos (tabla 9, figura 4).

#### Visium HD Spatial Gene Expression

Los resultados demuestran una alta concordancia entre los datos de la química XLEAP-SBS y la química de SBS estándar con las librerías de RNA-Seq espacial de Visium HD. En lo referente a los criterios de medición principales, se produce una mejora de aproximadamente el 23 % en el % de PF (tabla 10). En lo referente a los criterios de medición de la secuenciación, se produce una mejora del 2 % de las bases Q30 en las lecturas de códigos de barras y ARN, así como de las bases Q30 en los UMI (tabla 11). La visualización de la expresión génica espacial muestra mayores recuentos de UMI para los datos generados con la química XLEAP-SBS (figura 5).

Tabla 6: Criterios de medición principales de Chromium Single Cell Gene Expression Flex

	Química de P4 XLEAP-SBS	Química de P3 SBS estándar
Configuración del experimento	28, 10, 10, 90	28, 10, 10, 90
Rendimiento	281,25 Gb	191,85 Gb
Concentración de la carga	650 pmol	650 pmol
% de PF	88,9 %	84,4 %
% de alineación de PhiX	2,7 %	1,8 %
Bases de la lectura 1 $\geq$ Q30	97,3 %	95,9 %
Bases de la lectura 2 $\geq$ Q30	73,8 %	74,5 %
Tasa de error de la lectura 1	0,06 %	0,05 %
Tasa de error de la lectura 2	12,02 %	12,24 %
N.º estimado de células por muestra	4033	4015
N.º de genes detectados	13 717	13 686
Mediana de los recuentos de UMI por célula	5809	5472

Tabla 7: Criterios de medición del experimento de secuenciación de Chromium Single Cell Gene Expression Flex

	Química de P4 XLEAP-SBS	Química de P3 SBS estándar
Códigos de barras válidos	97,0 %	95,3 %
Lecturas asignadas con confianza en las células	96,3 %	96,2 %
Lecturas de fracción asignadas con confianza al juego de sondas filtradas	94,9 %	94,9 %
Bases Q30 en el código de barras	95,7 %	94,8 %
Bases Q30 en la lectura de la sonda	91,9 %	92,0 %
Bases Q30 en el UMI	98,0 %	96,4 %

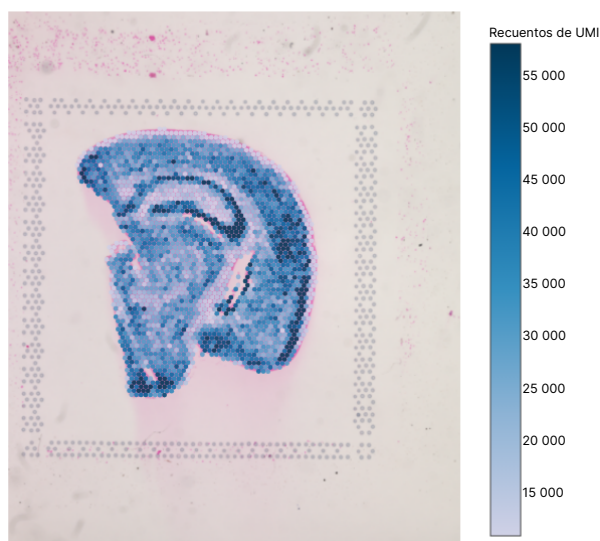
Tabla 8: Criterios de medición principales de Visium CytAssist Spatial Gene Expression v2

	Química de P4 XLEAP-SBS	Química de P3 SBS estándar
Configuración del experimento	28, 10, 10, 90	28, 10, 10, 90
Rendimiento	277,89 Gb	177,56 Gb
Concentración de la carga	650 pmol	650 pmol
% de PF	87,8 %	78,3 %
% de alineación de PhiX	0,9 %	1,4 %
Bases de la lectura 1 $\geq$ Q30	97,2 %	96,3 %
Bases de la lectura 2 $\geq$ Q30	75,0 %	70,1 %
Tasa de error de la lectura 1	0,06 %	0,04 %
Tasa de error de la lectura 2	3,99 %	11,72 %
N.º de genes detectados	19 358	19 354
Mediana de los recuentos de UMI por punto	180 374	119 010

Tabla 9: Criterios de medición del experimento de secuenciación para Visium CytAssist Spatial Gene Expression v2

	Química de P4 XLEAP-SBS	Química de P3 SBS estándar
Códigos de barras válidos	99,1 %	99,1 %
UMI válidos	99,5 %	100,0 %
Lecturas de fracción en puntos bajo el tejido	91,4 %	91,4 %
Lecturas de fracción asignadas con confianza al juego de sondas filtradas	92,8 %	92,6 %
Bases Q30 en el código de barras	97,3 %	96,5 %
Bases Q30 en la lectura de ARN	97,3 %	94,6 %
Bases Q30 en el UMI	97,7 %	96,6 %

A. Celda de flujo NextSeq 2000 P4 con química XLEAP-SBS



B. Celda de flujo NextSeq 2000 P3 con química de SBS estándar

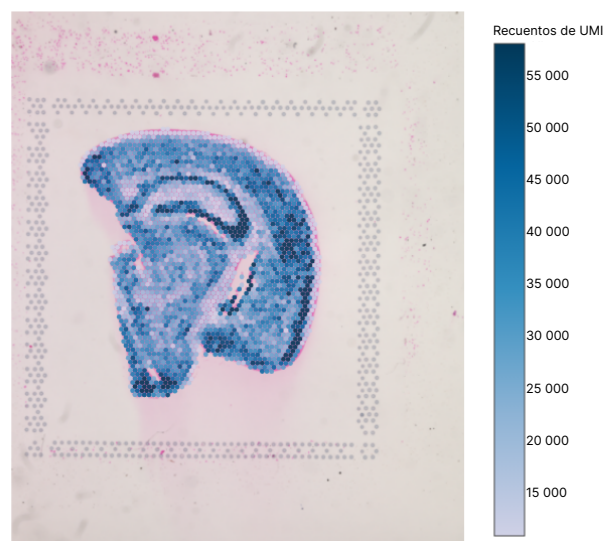


Figura 4: Visium Spatial Gene Expression para tejidos FFPE en NextSeq 2000 System. Visualización de la expresión génica en el contexto de la arquitectura hística para secciones de tejido FFPE de cerebro de ratón con Visium CytAssist Spatial Gene Expression v2, secuenciado en NextSeq 2000 System con (A) la celda de flujo NextSeq 2000 P4 con química XLEAP-SBS y (B) la celda de flujo NextSeq 2000 P3 con química de SBS estándar. Los gráficos de tejido se colorean por el recuento de UMI. La celda de flujo P4 y la química XLEAP-SBS logran datos semejantes con recuentos de UMI más elevados.



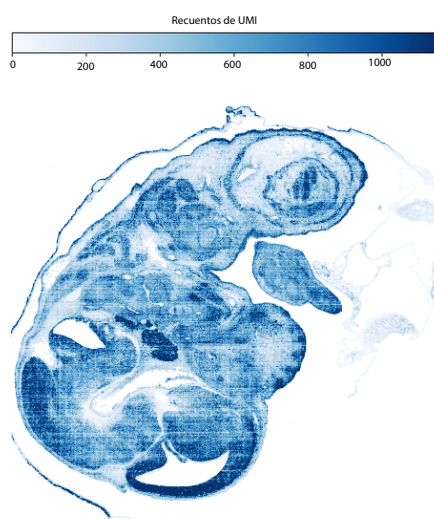
Tabla 10: Criterios de medición principales de Visium HD Spatial Gene Expression

	Química de P4 XLEAP-SBS	Química de P3 SBS estándar
Configuración del experimento	43, 10, 10, 50	43, 10, 10, 50
Rendimiento	228,07 Gbp	133,24 Gbp
Concentración de la carga	650 pmol	650 pmol
% de PF	89,2 %	72,2 %
% de alineación de PhiX	0,5 %	1,9 %
Bases de la lectura 1 $\geq$ Q30	97,3 %	95,6 %
Bases de la lectura 2 $\geq$ Q30	96,7 %	94,4 %
Tasa de error de la lectura 1	0,09 %	0,06 %
Tasa de error de la lectura 2	0,10 %	0,14 %
N.º de genes detectados	19 038	19 036
Mediana de los recuentos de UMI por grupo de 8 $\mu$ m	522,4	424,4

Tabla 11: Criterios de medición de los experimentos de secuenciación de Visium HD Spatial Gene Expression

	Química de P4 XLEAP-SBS	Química de P3 SBS estándar
Códigos de barras válidos	92,8 %	93,3 %
UMI válidos	100,0 %	99,7 %
Lecturas de fracción asignadas con confianza al juego de sondas filtradas	98,9 %	98,7 %
Bases Q30 en el código de barras	97,6 %	95,5 %
Bases Q30 en la lectura de ARN	97,1 %	94,9 %
Bases Q30 en el UMI	97,6 %	95,9 %

A. Celda de flujo NextSeq 2000 P4 con química XLEAP-SBS



B. Celda de flujo NextSeq 2000 P3 con química de SBS estándar

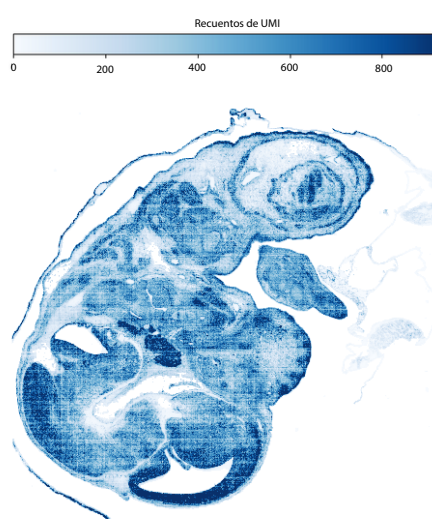


Figura 5: Visium HD Spatial Gene Expression en NextSeq 2000 System. Visualización de la expresión génica en el contexto de la arquitectura histórica para secciones de tejido FFPE de embrión de ratón con Visium HD Spatial Gene Expression, secuenciado en NextSeq 2000 System con (A) la celda de flujo NextSeq 2000 P4 con química XLEAP-SBS y (B) la celda de flujo NextSeq 2000 P3 con química de SBS estándar. Los gráficos de tejido se colorean por el recuento de UMI. La celda de flujo P4 y la química XLEAP-SBS logran datos semejantes con recuentos de UMI más elevados.

## Resumen

Los métodos de secuenciación espacial y de células individuales pueden ayudar a los investigadores a conocer en mayor profundidad las poblaciones y tejidos celulares complejos. NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System, en sinergia con las soluciones de preparación y análisis de librerías espaciales y de células individuales de Genomics 10x, hacen que estos métodos de NGS en alta resolución sean accesibles para más laboratorios. La química XLEAP-SBS de alto rendimiento en NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System ofrece resultados similares a la química de SBS estándar. Además, permite aumentar el rendimiento de los datos y agilizar los experimentos en ensayos de expresión génica espacial y de células individuales.

## Más información

[NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System](#)

[Chromium Single Cell Gene Expression](#)

[Visium Spatial Gene Expression](#)

## Bibliografía

1. Wang Y, Mashock M, Tong Z, et al. [Changing Technologies of RNA Sequencing and Their Applications in Clinical Oncology](#). *Front Oncol*. 2020; 10:447. doi:10.3389/fonc.2020.00447
2. Ke M, Elshenawy B, Sheldon H, Arora A, Buffa FM. [Single cell RNA-sequencing: A powerful yet still challenging technology to study cellular heterogeneity](#). *Bioessays*. 2022; 44(11): e2200084. doi:10.1002/bies.202200084
3. Illumina. NextSeq 1000 Sequencing System y NextSeq 2000 Sequencing System. [illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/nextseq-1000-2000-spec-sheet-m-na-00008/nextseq-1000-2000-spec-sheet-m-na-00008.pdf](https://www.illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/nextseq-1000-2000-spec-sheet-m-na-00008/nextseq-1000-2000-spec-sheet-m-na-00008.pdf). Año de publicación: 2020. Año de actualización: 2024. Fecha de consulta: 4 de noviembre de 2024.
4. 10x Genomics. Chromium GEM-X Single Cell 3' Reagent Kits v4 User Guide, CG000731, Rev A. [10xgenomics.com/support/single-cell-gene-expression/documentation/steps/library-prep/chromium-gem-x-single-cell-3-v4-gene-expression-user-guide](https://www.10xgenomics.com/support/single-cell-gene-expression/documentation/steps/library-prep/chromium-gem-x-single-cell-3-v4-gene-expression-user-guide). Fecha de consulta: 26 de agosto de 2024.
5. 10x Genomics. Fixation of Cells & Nuclei for Chromium Fixed RNA Profiling, CG000478, Rev D. [10xgenomics.com/support/single-cell-gene-expression-flex/documentation/steps/sample-prep/fixation-of-cells-and-nuclei-for-chromium-single-cell-gene-expression-flex](https://www.10xgenomics.com/support/single-cell-gene-expression-flex/documentation/steps/sample-prep/fixation-of-cells-and-nuclei-for-chromium-single-cell-gene-expression-flex). Fecha de consulta: 19 de septiembre de 2024.
6. 10x Genomics. Chromium Fixed RNA Profiling Reagent Kits for Multiplexed Samples User Guide, CG000527, Rev F. [10xgenomics.com/support/single-cell-gene-expression-flex/documentation/steps/library-prep/chromium-single-cell-gene-expression-flex-reagent-kits-for-multiplexed-samples](https://www.10xgenomics.com/support/single-cell-gene-expression-flex/documentation/steps/library-prep/chromium-single-cell-gene-expression-flex-reagent-kits-for-multiplexed-samples). Fecha de consulta: 26 de agosto de 2024.
7. 10x Genomics. Visium CytAssist Spatial Gene Expression for FFPE – Tissue Preparation Guide Demonstrated Protocol, CG000518, Rev D. [10xgenomics.com/support/cytassist-spatial-gene-expression/documentation/steps/tissue-prep/visium-cyt-assist-spatial-gene-expression-for-ffpe-tissue-preparation-guide](https://www.10xgenomics.com/support/cytassist-spatial-gene-expression/documentation/steps/tissue-prep/visium-cyt-assist-spatial-gene-expression-for-ffpe-tissue-preparation-guide). Fecha de consulta: 26 de agosto de 2024.
8. 10x Genomics. Visium CytAssist Spatial Gene Expression for FFPE – Deparaffinization, H&E Staining, Imaging & Decrosslinking Demonstrated Protocol, CG000520, Rev C. [10xgenomics.com/support/cytassist-spatial-gene-expression/documentation/steps/tissue-staining/visium-cyt-assist-spatial-gene-expression-for-ffpe-deparaffinization-hand-e-staining-imaging-and-decrosslinking](https://www.10xgenomics.com/support/cytassist-spatial-gene-expression/documentation/steps/tissue-staining/visium-cyt-assist-spatial-gene-expression-for-ffpe-deparaffinization-hand-e-staining-imaging-and-decrosslinking). Fecha de consulta: 26 de agosto de 2024.
9. 10x Genomics. Visium CytAssist Spatial Gene Expression Reagent Kits User Guide, CG000495, Rev F. [10xgenomics.com/support/cytassist-spatial-gene-expression/documentation/steps/library-construction/visium-cyt-assist-spatial-gene-expression-reagent-kits-for-ffpe](https://www.10xgenomics.com/support/cytassist-spatial-gene-expression/documentation/steps/library-construction/visium-cyt-assist-spatial-gene-expression-reagent-kits-for-ffpe). Fecha de consulta: 26 de agosto de 2024.
10. 10x Genomics. Visium HD Spatial Gene Expression Reagent Kits User Guide, CG000685, Rev A. [10xgenomics.com/support/spatial-gene-expression-hd/documentation/steps/library-construction/visium-hd-spatial-gene-expression-reagent-kits-user-guide](https://www.10xgenomics.com/support/spatial-gene-expression-hd/documentation/steps/library-construction/visium-hd-spatial-gene-expression-reagent-kits-user-guide). Fecha de consulta: 26 de agosto de 2024.



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

© 2024 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, consulte [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html).  
M-GL-03053 ESP v1.0