

# Solución de secuenciación de exomas de NextSeq™ 1000 y NextSeq 2000

Flujo de trabajo integrado para  
un análisis eficiente del exoma  
y una llamada de variantes precisa

- Preparación de librerías y enriquecimiento del exoma optimizados para una cobertura muy uniforme de las regiones de codificación.
- Sistemas de secuenciación de sobremesa flexibles y adaptables para una calidad de datos excepcional.
- Proceso de análisis de datos integrado con un rendimiento ampliamente reconocido para llamadas de mutaciones comunes y variantes somáticas raras.



## Introducción

La solución de secuenciación de exomas de NextSeq 1000 y NextSeq 2000 ofrece un flujo de trabajo optimizado desde el ADN hasta los resultados para investigar las regiones de codificación de proteínas del genoma. La solución aprovecha la tecnología de secuenciación de nueva generación (NGS, next-generation sequencing) de Illumina líder del sector y la química optimizada de secuenciación por síntesis (SBS, sequencing by synthesis) XLEAP-SBS™ para ofrecer una calidad de datos excepcional. Esta cobertura del exoma de alta precisión permite la identificación de variantes de codificación verdaderas para una amplia gama de aplicaciones, incluida la genética de poblaciones, la investigación sobre enfermedades genéticas y los estudios sobre el cáncer. El flujo de trabajo integrado proporciona una preparación de librerías y un enriquecimiento del exoma optimizados, secuenciación con solo pulsar un botón y un análisis de datos rápido y preciso (figura 1). Con un tiempo de participación activa mínimo, la solución de secuenciación de exomas de NextSeq 1000 y NextSeq 2000 es un método muy flexible y eficiente para analizar el exoma.

## Flujo de trabajo sencillo y eficiente

La solución de secuenciación de exomas de NextSeq 1000 y NextSeq 2000 ofrece un flujo de trabajo simplificado e integrado, lo que permite a los investigadores aumentar al máximo su productividad. Comienza con la preparación de librerías y el enriquecimiento del exoma con un kit



Figura 2: NextSeq 1000 Sequencing System y NextSeq 2000 Sequencing System. NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System aprovechan la química XLEAP-SBS y el análisis secundario integrado para optimizar los flujos de trabajo de secuenciación.

de librerías, como Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment. Las librerías preparadas se cargan en una celda de flujo y, a continuación, en NextSeq 1000 System o NextSeq 2000 System para la secuenciación (figura 2). NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System cuentan con varias configuraciones de celdas de flujo de secuenciación que permiten a los investigadores ampliar sus estudios de exoma en función de sus necesidades. El análisis de datos, incluida la alineación y la llamada de variantes, se realiza fácilmente con el proceso DRAGEN™ Enrichment integrado en el instrumento o en la nube con BaseSpace™ Sequence Hub o Illumina Connected Analytics.



Figura 1: Flujo de trabajo de secuenciación de exomas de NextSeq 1000 y NextSeq 2000. NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System forman parte de un flujo de trabajo de NGS sencillo e integrado que ofrece datos de secuenciación de exomas de alta precisión. Los tiempos variarán en función del tipo de ensayo y de experimento.

a. La configuración del kit incluye Illumina DNA Prep with Enrichment y Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel.

## Preparación de librerías y enriquecimiento del exoma optimizados

Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment combina una rápida preparación de librerías con la química de transposomas vinculados por bolas de Illumina y el enriquecimiento del exoma con Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel. Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment proporciona una cobertura completa del exoma a partir de solo 10 ng de entrada, lo que permite a los laboratorios analizar valiosas muestras de ADN y producir una uniformidad de cobertura y tasas de enriquecimiento elevadas. La detección muy sensible de variantes de baja frecuencia permite a los laboratorios identificar variantes de codificación verdaderas y mutaciones somáticas raras.

La tagmentación en bolas elimina la necesidad de cizallamiento mecánico para fragmentar el ADN. Esto optimiza el flujo de trabajo hasta un tiempo total de unas seis horas con menos de dos horas de tiempo de participación activa. Los investigadores también pueden aprovechar estos beneficios de flujo de trabajo y calidad de datos con Illumina DNA Prep with Enrichment con otros paneles de exoma. Elija el contenido del panel de varios proveedores, como Agilent, Twist Bioscience e Integrated DNA Technologies (IDT) (tabla 1).

## NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System

NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System proporcionan capacidad y versatilidad para optimizar y simplificar el flujo de trabajo de secuenciación del exoma. Sin necesidad de lavados, se tarda menos de 10 minutos en cargar e iniciar el sistema. En el caso de NextSeq 2000 System, los reactivos P4 permiten la secuenciación de aproximadamente 41 muestras en aproximadamente 34 horas con longitudes de lectura de 100 pb «paired-end».\*

NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System son compatibles con una amplia gama de kits de preparación de librerías de Illumina y de terceros y ofrecen adaptabilidad entre todas las aplicaciones. Los investigadores pueden realizar fácilmente la transición entre proyectos de secuenciación, como la secuenciación de ARN (RNA-Seq, RNA sequencing) de exomas, masiva y de células individuales, y otros métodos. Por ejemplo, los investigadores pueden emparejar la secuenciación del exoma con la secuenciación de transcriptoma para evaluar si las variantes identificadas alteran la expresión de transcritos.

\* La productividad puede variar en función de muchos factores, incluido el tamaño del panel del exoma y el kit de preparación de librerías utilizado.

Tabla 1: Especificaciones del panel de exoma

Características del panel <sup>a</sup>	Illumina Exome 2.5 Panel <sup>b</sup>	Agilent	Twist	IDT
Tamaño del panel	37,5 Mb	36 Mb	33 Mb	39 Mb
Tamaño de la sonda	120 pb	N/D	120 pb	120 pb
Tipo de sonda	ADNbc	ARN	ADNbc	ADNmc
Tiempo de enriquecimiento (Hib.)	1,5 h	16 h	1,5 h	1,5-16 h
Bases de datos utilizadas para el diseño del panel de exoma <sup>c</sup>				
RefSeq <sup>1</sup>	99,1 %	99,88 %	99,08 %	99,45 %
GENCODE <sup>2</sup>	98,02 %	97,29 %	96,01 %	96,82 %
CCDS <sup>3</sup>	99,90 %	99,91 %	99,76 %	99,67 %
Genes conocidos de UCSC <sup>4</sup>	99,89 %	98,72 %	97,63 %	98,13 %
ClinVar <sup>5</sup>	98,60 %	73,41 %	72,56 %	72,90 %

a. Tamaño del panel = longitud total de la secuencia en las regiones objetivo; tamaño de la sonda = longitud de la sonda de hibridación (Hib.) de enriquecimiento; tipo de sonda = los oligonucleótidos de la sonda pueden ser ARN, ADN, de una sola cadena (ss, single stranded) o de cadena doble (ds, double stranded).

b. Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel.

c. Los porcentajes se refieren a la cantidad de bases de datos que abarca cada panel de exoma.

También hay disponible una amplia gama de soluciones de resecuenciación selectiva personalizables de Illumina para validar variantes descubiertas en cualquier aplicación de secuenciación.

### Realiza llamadas de «variantes de codificación verdaderas»

Una variante de codificación verdadera es una llamada de bases precisa que difiere de la secuencia de consenso dentro de una región de codificación. No se trata de un falso positivo (donde se llama a una variante, pero no existe en realidad) ni de un falso negativo (donde no se llama a una variante que existe en realidad). Un sistema con una alta tasa de llamadas de falsos positivos requiere una amplia validación posterior, lo que aumenta los costes y el tiempo del experimento. Un sistema con una alta tasa de llamadas de falsos negativos no detecta hallazgos potencialmente importantes, a menudo en regiones muy repetitivas o que contienen elongaciones homopoliméricas. La obtención de llamadas de variantes de codificación verdaderas es una función de preparación y enriquecimiento de librerías de alta calidad, precisión de secuenciación y precisión de análisis secundario.

### Descubra más con la química XLEAP-SBS

NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System cuentan con la química XLEAP-SBS, que es la química de secuenciación de Illumina más rápida, de mayor calidad y más potente hasta la fecha. La química XLEAP-SBS en NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System permite el mayor rendimiento de lecturas y el menor precio por lectura de cualquier secuenciador de sobremesa de Illumina. Los sistemas ofrecen una precisión de al menos el 85 % de las bases superiores a Q30<sup>†</sup> a 2 × 100 pb (tabla 2) y tienen una alta precisión incluso en regiones muy difíciles (p. ej., regiones ricas en GC u homopoliméricas), lo que produce un alto porcentaje de variantes de codificación verdaderas. Las bajas tasas de falsos positivos y falsos negativos reducen drásticamente el tiempo y el coste de la validación posterior. Al ofrecer una calidad de datos excepcional, NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System ofrecen la opción ideal para un estudio exhaustivo del exoma.

Gracias a la probada tecnología de NGS de Illumina, NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System permiten a los investigadores comparar e integrar los datos generados en todos los sistemas. Por ejemplo, los datos de secuenciación del exoma obtenidos en NextSeq 1000 y NextSeq 2000 se pueden integrar con los datos de los estudios de seguimiento realizados con paneles selectivos o estudios de secuenciación del exoma a gran escala realizados en NovaSeq™ X Series (tabla 3).

<sup>†</sup> Q30 = 1 error en 1000 llamadas de bases o una precisión del 99,9 %.

### Análisis simplificado con el análisis secundario de DRAGEN

Los laboratorios pueden realizar análisis de datos de secuenciación del exoma con el análisis secundario de DRAGEN de Illumina, un paquete de procesos de análisis de datos precisos, completos y eficientes integrado en NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System.<sup>‡</sup> Esta solución informática reconocida por PrecisionFDA<sup>§</sup> utiliza algoritmos optimizados y acelerados por hardware para ayudar a los usuarios a superar los cuellos de botella en el análisis de datos y reducir la dependencia de expertos informáticos externos.

El proceso DRAGEN Enrichment analiza los resultados de NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System y realiza llamadas de variantes precisas en menos de dos horas tras finalizar un experimento de secuenciación (figura 3). El proceso proporciona una precisión líder en el sector en la asignación y la llamada de variantes pequeñas y está disponible en los modos Germline y Somatic.<sup>6-8</sup>

<sup>‡</sup> El hardware DRAGEN se encuentra integrado en NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System. El instrumento incluye una licencia de DRAGEN y no es necesario adquirirla por separado.

<sup>§</sup> El análisis secundario de DRAGEN ha sido reconocido como el de mejor rendimiento con respecto a las regiones difíciles de asignar y como el de mejor rendimiento con respecto a todas las regiones de referencia con datos de secuenciación de Illumina en el PrecisionFDA Truth Challenge V2 de 2020.<sup>7,8</sup>

Tabla 2: Parámetros de rendimiento de NextSeq 1000 y NextSeq 2000 para la secuenciación de exomas

	Lecturas «single-end» <sup>a</sup>	Longitud de lectura	Resultado <sup>a</sup>	Duración del experimento <sup>b</sup>	Calidad de los datos <sup>c</sup>
NextSeq 1000/2000 P1 XLEAP-SBS Reagents <sup>d</sup>	100 M	2 × 150 pb	30 Gb	17 h	
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagents <sup>d</sup>	400 M	2 × 100 pb	80 Gb	19 h	≥85 % de bases por encima de Q30
NextSeq 2000 P3 XLEAP-SBS Reagents <sup>d,e</sup>	1200 M	2 × 100 pb	240 Gb	31 h	
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagents <sup>e</sup>	1700 M	2 × 100 pb	330 Gb	34 h	

- a. Las especificaciones de rendimiento se basan en un modo de funcionamiento con una sola celda de flujo gracias a la librería de control PhiX de Illumina con densidades de grupos compatibles.
- b. La duración del experimento incluye la generación de grupos, la secuenciación y la llamada de bases en NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System.
- c. Las puntuaciones de calidad se basan en una librería de control PhiX de Illumina. El rendimiento puede variar en función del tipo de librería y su calidad, el tamaño del fragmento, la concentración de la carga y otros factores del experimento. En todo el experimento, se promedia un porcentaje de bases por encima de Q30.
- d. Reactivos XLEAP-SBS para celdas de flujo P1, P2 y P3 disponibles en el segundo trimestre de 2024.
- e. Los reactivos P3 y P4 solo están disponibles para NextSeq 2000 System.

Con la aplicación DRAGEN Enrichment integrada, el análisis se puede configurar durante la planificación del experimento, lo que optimiza el flujo de trabajo desde la muestra hasta la respuesta. La aplicación DRAGEN Enrichment en BaseSpace Sequence Hub e Illumina Connected Analytics cuenta con funciones avanzadas de visualización de resultados y clasificación de tablas incluidas en una interfaz intuitiva adecuada tanto para usuarios nuevos como experimentados.

Los resultados del proceso DRAGEN Enrichment se pueden introducir directamente en una amplia gama de herramientas para análisis sucesivos disponibles en BaseSpace Sequence Hub e Illumina Connected Analytics. Más allá del análisis de DRAGEN, ambas soluciones en la nube incluyen una comunidad creciente de herramientas de software para la visualización, el análisis y el intercambio.

### Servicio de asistencia técnica integral de Illumina

Illumina proporciona un equipo de asistencia técnica de alto nivel compuesto por científicos expertos en la preparación, secuenciación y análisis de librerías. Este equipo específico incluye ingenieros de servicio de campo (FSE, field service engineers) muy cualificados, científicos de aplicaciones técnicas (TAS, technical applications scientists), científicos de aplicaciones de campo (FAS, field applications scientists), ingenieros de asistencia técnica de sistemas, bioinformáticos y expertos en redes informáticas, todos ellos ampliamente familiarizados con la NGS y las aplicaciones que los clientes de Illumina llevan a cabo en todo el mundo. El [servicio de asistencia técnica](#) está disponible por teléfono cinco días a la semana; también puede acceder a esta en línea las 24 horas del día y los 7 días de la semana, en todo el mundo y en varios idiomas.

Con este servicio y asistencia inigualables, Illumina ayuda a los usuarios a aumentar al máximo la eficacia de sus NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System, formar a nuevos empleados y aprender las últimas técnicas y prácticas recomendadas.

Tabla 3: Productividad de secuenciación del exoma de Illumina según el sistema

Sistema de secuenciación	Reactivos de secuenciación	N.º de exomas por experimento <sup>a</sup>
NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System	P1 300 ciclos	~3
	P2 200 ciclos	10
	P3 <sup>b</sup> 200 ciclos	30
	P4 <sup>b</sup> 200 ciclos	~41
NovaSeq X Series <sup>c</sup>	1.5B 200 ciclos	~41
	10B 200 ciclos	~250
	25B 300 ciclos	~750 <sup>d</sup>

- a. En los cálculos del número de exomas, se asumen aproximadamente 8 Gb por muestra para lograr una cobertura de 100x. La productividad puede variar en función de muchos factores, incluido el tamaño del panel del exoma y el kit de preparación de librerías utilizado.
- b. Los reactivos P3 y P4 solo están disponibles para NextSeq 2000 System.
- c. NovaSeq X Plus System puede realizar experimentos en celdas de flujo únicas o celdas de flujo dobles. NovaSeq X System puede realizar experimentos en celdas de flujo únicas.
- d. Se dispone de un máximo de 384 índices dobles únicos. En el caso de NovaSeq X Series, la carga de carril independiente permite la multiplexación de más muestras.

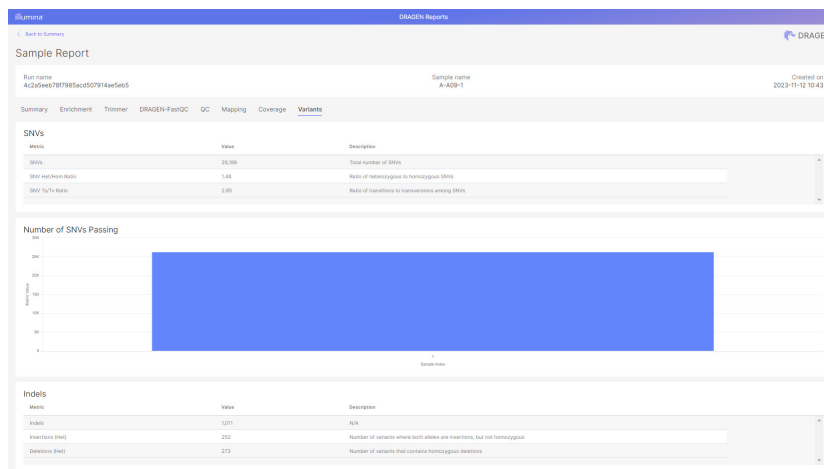


Figura 3: Proceso DRAGEN Enrichment. Ejemplo de captura de pantalla del proceso DRAGEN Enrichment, líder en el sector en precisión de asignación y llamada de variantes pequeñas, disponible de forma integrada en NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System o en la nube con BaseSpace Sequence Hub o Illumina Connected Analytics.

## Resumen

La solución de secuenciación de exomas de NextSeq 1000 y NextSeq 2000 ofrece un flujo de trabajo integrado y flexible para identificar variantes en regiones de codificación. La solución combina la capacidad, la velocidad y la adaptabilidad de NextSeq 1000 Sequencing System y NextSeq 2000 Sequencing System con una química XLEAP-SBS muy sólida, opciones de preparación y enriquecimiento de librerías de alta calidad y un software de análisis rápido y fácil de usar.

## Información adicional

[Secuenciación del exoma](#)

[Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment](#)

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

[Análisis secundario de DRAGEN](#)

[Datos de demostración en BaseSpace Sequence Hub](#)

## Bibliografía

1. NIH National Library of Medicine. RefSeq: NCBI Reference Sequence Database. [ncbi.nlm.nih.gov/refseq](https://ncbi.nlm.nih.gov/refseq). Fecha de actualización: 18 de julio de 2023. Fecha de consulta: 25 de agosto de 2023.
2. The GENCODE Project. GENCODE Encyclopedia of genes and gene variants. [encodegenes.org/](https://encodegenes.org/). Fecha de consulta: 25 de agosto de 2023.
3. Sitio web del NCBI. Consensus coding sequences (CCDS) Database. [ncbi.nlm.nih.gov/projects/CCDS/CcidsBrowse.cgi](https://ncbi.nlm.nih.gov/projects/CCDS/CcidsBrowse.cgi). Fecha de actualización: 9 de noviembre de 2022. Fecha de consulta: 25 de agosto de 2023.
4. University of California, Santa Cruz Genome Browser. UCSC Known Genes. [genome.ucsc.edu/](https://genome.ucsc.edu/). Fecha de actualización: 18 de agosto 2023. Fecha de consulta: 25 de agosto de 2023.
5. NIH National Library of Medicine. ClinVar Database. [ncbi.nlm.nih.gov/clinvar](https://ncbi.nlm.nih.gov/clinvar). Fecha de actualización: 28 de agosto 2023. Fecha de consulta: 28 de agosto de 2023.
6. Illumina. [Accuracy improvements in germline small variant calling with the DRAGEN Platform](#). Fecha de consulta: 25 de agosto de 2023.
7. Sitio web de PrecisionFDA. Truth Challenge V2: Calling variants from short and long reads in difficult-to-map regions. [precision.fda.gov/challenges/10](https://precision.fda.gov/challenges/10). Fecha de consulta: 25 de agosto de 2023.
8. Mehio R, Ruehle M, Catreux S, et al. DRAGEN Wins at Precision-FDA Truth Challenge V2 Showcase Accuracy Gains from Alt-aware Mapping and Graph Reference Genomes. [illumina.com/science/genomics-research/dragen-wins-precisionfda-challenge-showcase-accuracy-gains.html](https://illumina.com/science/genomics-research/dragen-wins-precisionfda-challenge-showcase-accuracy-gains.html). Fecha de consulta: 25 de agosto de 2023.

Datos para realizar pedidos

Producto	N.º de catálogo
NextSeq 2000 Sequencing System	20038897
NextSeq 1000 Sequencing System	20038898
NextSeq 1000 to NextSeq 2000 upgrade	20047256
NextSeq 1000/2000 P1 XLEAP-SBS Reagent Kit (100 cycles) <sup>a,b</sup>	20100983
NextSeq 1000/2000 P1 XLEAP-SBS Reagent Kit (300 cycles) <sup>a,b</sup>	20100982
NextSeq 1000/2000 P1 XLEAP-SBS Reagent Kit (600 cycles) <sup>a,b</sup>	20100981
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (100 cycles) <sup>a,b</sup>	20100987
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (200 cycles) <sup>a,b</sup>	20100986
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (300 cycles) <sup>a,b</sup>	20100985
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (600 cycles) <sup>a,b</sup>	20100984
NextSeq 2000 P3 XLEAP-SBS Reagent Kit (100 cycles) <sup>a,b</sup>	20100990
NextSeq 2000 P3 XLEAP-SBS Reagent Kit (200 cycles) <sup>a,b</sup>	20100989
NextSeq 2000 P3 XLEAP-SBS Reagent Kit (300 cycles) <sup>a,b</sup>	20100988

a. Los kits de reactivos XLEAP-SBS para los instrumentos NextSeq 1000 y NextSeq 2000 se envían y almacenan a la misma temperatura que los kits de reactivos de SBS estándar.

b. Reactivos XLEAP-SBS para celdas de flujo P1, P2 y P3 disponibles en segundo trimestre de 2024. La configuración del kit incluye Illumina DNA Prep with Enrichment y Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel.

c. La configuración del kit incluye Illumina DNA Prep with Enrichment y Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel.

Datos para realizar pedidos

Producto	N.º de catálogo
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagent Kit (50 cycles) <sup>a</sup>	20100995
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagent Kit (100 cycles) <sup>a</sup>	20100994
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagent Kit (200 cycles) <sup>a</sup>	20100993
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagent Kit (300 cycles) <sup>a</sup>	20100992
NextSeq 1000/2000 XLEAP-SBS Read and Index Primers <sup>a</sup>	20112856
NextSeq 1000/2000 XLEAP-SBS Index Primer Kit <sup>a</sup>	20112858
NextSeq 1000/2000 XLEAP-SBS Read Primer Kit <sup>a</sup>	20112859
Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment, (S) Tagmentation Set B (96 samples, 12-plex) <sup>c</sup>	20077595
Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment, (S) Tagmentation Set D (96 samples, 12-plex) <sup>c</sup>	20077596
Illumina DNA Prep with Enrichment, (S) Tagmentation (16 samples)	20025523
Illumina DNA Prep with Enrichment, (S) Tagmentation (96 samples)	20025524
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set A, Tagmentation (96 indexes, 96 samples)	20091654
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set B, Tagmentation (96 indexes, 96 samples)	20091656
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set C, Tagmentation (96 indexes, 96 samples)	20091658
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set D, Tagmentation (96 indexes, 96 samples)	20091660

a. Los kits de reactivos XLEAP-SBS para los instrumentos NextSeq 1000 y NextSeq 2000 se envían y almacenan a la misma temperatura que los kits de reactivos de SBS estándar.

b. Reactivos XLEAP-SBS para celdas de flujo P1, P2 y P3 disponibles en segundo trimestre de 2024. La configuración del kit incluye Illumina DNA Prep with Enrichment y Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel.

c. La configuración del kit incluye Illumina DNA Prep with Enrichment y Twist Bioscience for Illumina Exome 2.5 Panel.



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-00479 ESP v3.0