

# Rendimiento de TruPath™ Genome con muestras de diferentes tipos y calidades

Compatible con diversos tipos de muestras, como sangre, células aisladas, saliva, manchas de sangre seca e hisopos bucales

Resultados de alta calidad con diferentes calidades de muestra, incluido el ADN de kits de extracción estándar y de alto peso molecular

Rendimiento sólido con un aporte de ADN de 175 ng a 550 ng

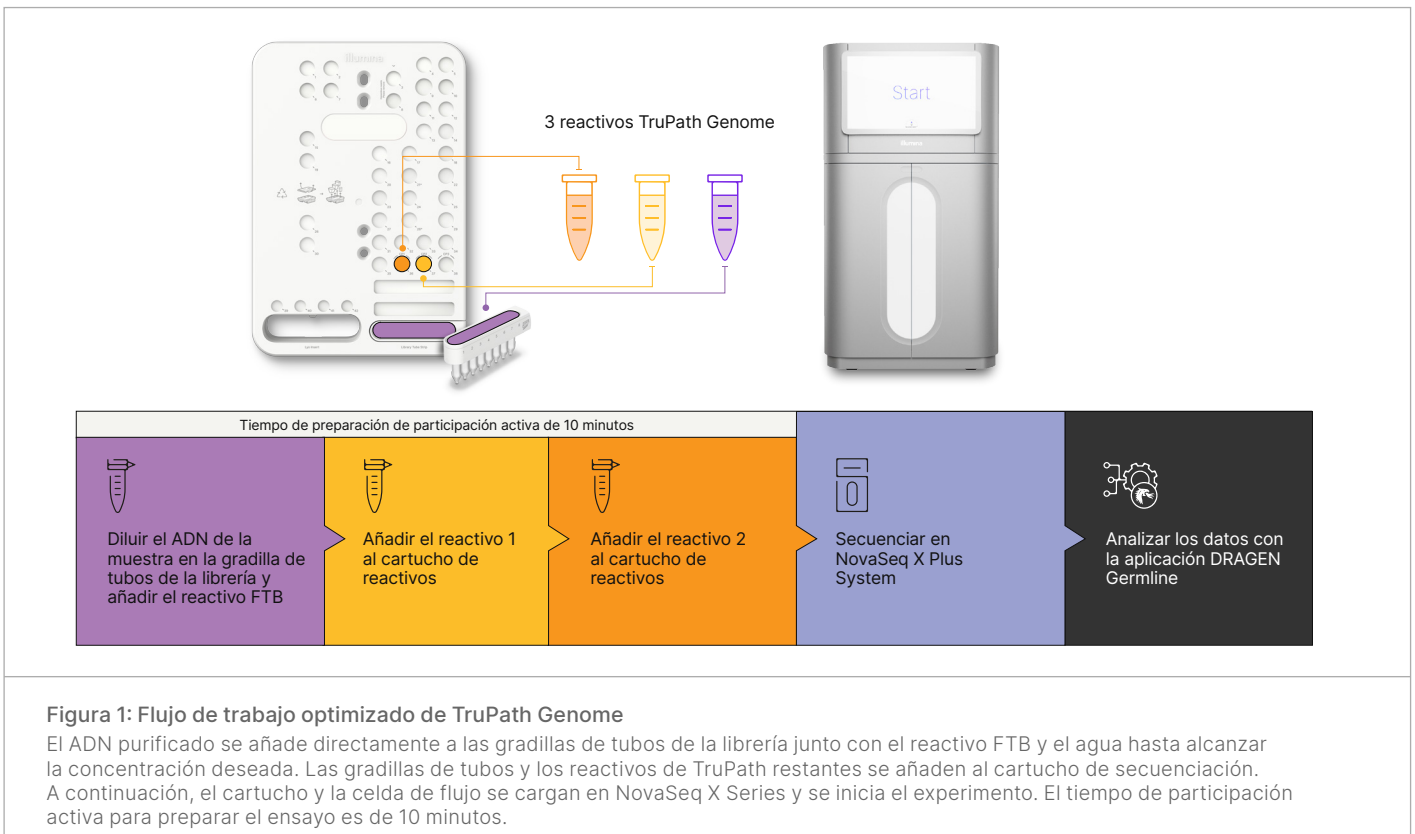
## Introducción

La secuenciación de lectura corta ofrece un método flexible y fiable para realizar una secuenciación del genoma completo (WGS, whole-genome sequencing) de alta precisión. Sin embargo, una pequeña proporción del genoma humano sigue siendo difícil de asignar, por ejemplo, regiones con alta homología de secuencias o secuencias repetitivas y algunos tipos de variantes como variantes estructurales (p. ej., inversiones, translocaciones, inserciones y deleciones, y reordenaciones complejas). Los métodos de secuenciación de lectura larga pueden ayudar a resolver estas regiones y tipos de variantes, pero se ven obstaculizados por la necesidad de altas cantidades de aporte de ADN, estrictos requisitos de calidad del ADN aportado, flujos de trabajo complejos y resultados variables.<sup>1-4</sup>

Illumina TruPath Genome revoluciona el flujo de trabajo de secuenciación de nueva generación (NGS, next-generation sequencing) al proporcionar una exhaustiva secuenciación del genoma completo con una simplicidad sin precedentes.<sup>5</sup> Gracias a la tecnología de lectura asignada por proximidad, TruPath Genome utiliza un flujo de trabajo ultrasimplificado que, en esencia, elimina el paso de preparación de librerías tradicional y ofrece un flujo de trabajo optimizado que va desde el ADN purificado hasta la carga del sistema de secuenciación en aproximadamente 10 minutos (figura 1).

Además de cambiar el paradigma del flujo de trabajo de WGS, TruPath Genome utiliza informática avanzada para combinar datos de lectura corta de alta precisión con información de proximidad de nanopocillos de plantillas de ADN en la celda de flujo. Esta información sobre proximidad permite a los laboratorios generar información genómica de larga distancia para secuencias separadas por hasta millones de bases. La combinación de estos conocimientos genómicos de larga distancia con las fortalezas de la secuenciación de lectura corta permite a TruPath Genome hacer accesibles genomas completos.

Esta nota técnica demuestra las sólidas capacidades de TruPath Genome para resolver regiones del genoma que antes eran difíciles de asignar y realizar una detección completa de variantes con diversos tipos de muestras, calidad del ADN y aportes de ADN.



## Pruebas de tipo de muestra

## Métodos

### Muestras

Para evaluar el rendimiento del genoma TruPath se utilizaron diversos tipos de muestras, como sangre, células aisladas, saliva, hisopos bucales y gotas de sangre seca (GSS) (tabla 1). La extracción de ADN se realizó mediante varios métodos de purificación (p. ej., columna de centrifugación de sílice, bolas magnéticas, precipitación por alcohol) e incluyó métodos de extracción estándar y de elevado peso molecular (EPM) (tabla 2).

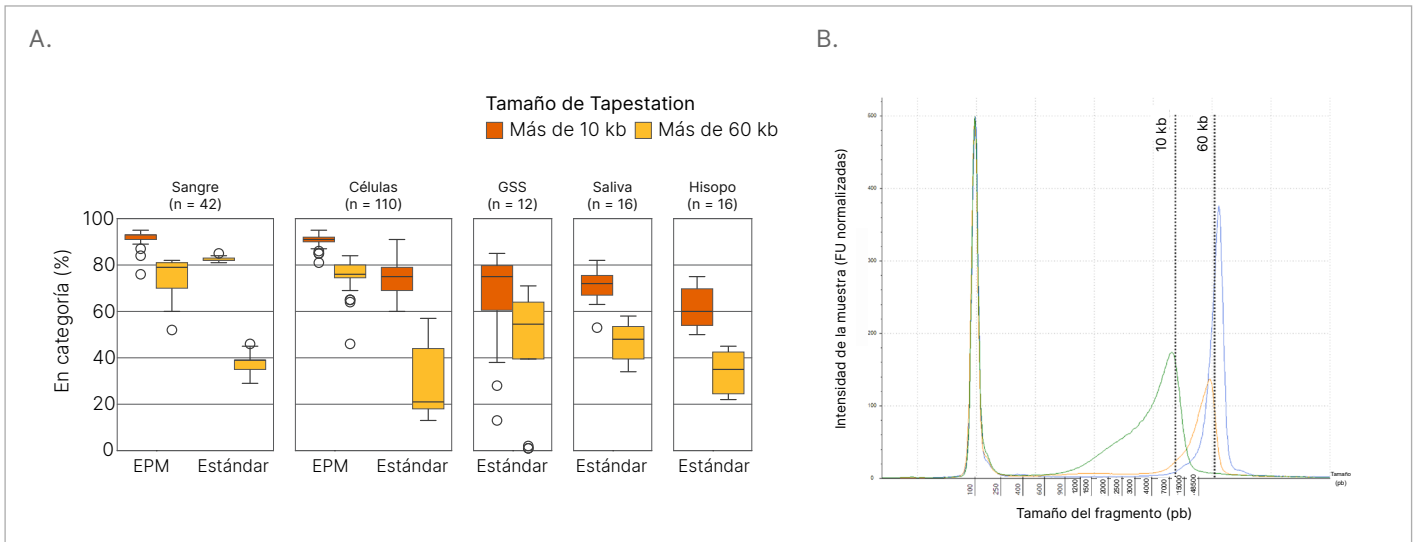
La cantidad de ADN se midió con el ensayo de alta sensibilidad Qubit dsDNA en el fluorómetro Qubit 4 (Thermo Fisher Scientific, n.º de catálogo Q32851). La calidad del ADN se evaluó con un sistema 4200 TapeStation (Agilent, n.º de catálogo G2991BA) (figura 2).

Tabla 1: Muestras utilizadas en el ensayo TruPath Genome

Tipo de muestra	Fuente
Sangre completa	Las muestras de sangre almacenadas en K <sub>2</sub> EDTA de donantes sanos se adquirieron de donantes de investigación (Londres, Reino Unido)
Pellets celulares	Varias estirpes celulares de linfoblastos o fibroblastos solicitadas al Coriell Institute for Medical Research  Muestras de ADN estándar y de EPM, incluidas las muestras de referencia del consorcio Genome in a Bottle (GIAB) HG001, HG002, HG003, HG004, HG005, HG006 y HG007 (Corriell Institute for Medical Research; NJ, EE. UU.)
Saliva	Las muestras de saliva de donantes sanos se adquirieron de donantes de investigación (Londres, Reino Unido)
Hisopos bucales	Las muestras de hisopos bucales de donantes sanos se adquirieron de donantes de investigación (Londres, Reino Unido)
GSS	Las GSS se prepararon en las tarjetas Whatman 903 Proteinsaver con 50 µl de sangre completa con K <sub>2</sub> EDTA de menos de 3 días de antigüedad procedente de donantes de investigación (Londres, Reino Unido)

Tabla 2: Kits de extracción de ADN utilizados en el ensayo TruPath Genome

Tipo de muestra: método de recopilación	Kits de extracción
Sangre: K <sub>2</sub> EDTA	Monarch HMW DNA Extraction Kit for Cells & Blood (NEB, n.º de catálogo T3050S)
	Wizard HMW DNA Extraction Kit (Promega, n.º de catálogo A2920)
	MagAttract HMW DNA Kit (48) (Qiagen, n.º de catálogo 67563)
	chemagic DNA Universal Kit H96 (Revvity, n.º de catálogo CMG-718)
	Mag-Bind Blood & Tissue DNA HDQ 96 Kit (OmegaBiotek, n.º de catálogo M6399)
	QIAamp DNA Blood Mini Kit (50) (Qiagen, n.º de catálogo 51104)
Celdas: pellet seco	Monarch HMW DNA Extraction Kit for Cells & Blood (NEB, n.º de catálogo T3050S)
	QIAamp DNA Blood Mini Kit (50) (Qiagen, n.º de catálogo 51104)
GSS: Whatman 903	chemagic DNA Universal Kit H96 (Revvity, n.º de catálogo CMG-718)
	sparQ Lysis Kit (Quantabio, n.º de catálogo 95220)
	MagMAX DNA Multi-Sample Ultra 2.0 Kit (Thermo Fisher Scientific n.º de catálogo A36570)
Saliva: GFX-02	GeneFix Saliva-Prep 2 DNA Isolation Kit (Isohelix, n.º de catálogo GSPN)
	chemagic DNA Universal Kit H96 (Revvity, n.º de catálogo CMG-718)
Saliva: OGD-600	prepiT•L2P DNA extraction reagent (DNAGenotek, n.º de catálogo PT-L2P)
	chemagic DNA Universal Kit H96 (Revvity, n.º de catálogo CMG-718)
	MagMAX Saliva gDNA Isolation Kit (Thermo Fisher Scientific, n.º de catálogo A39059)
Hisopos: OCR-100	prepiT•L2P DNA extraction reagent (DNAGenotek, n.º de catálogo PT-L2P)
	chemagic DNA Universal Kit H96 (Revvity, n.º de catálogo CMG-718)
Whatman 903, tarjetas Proteinsaver (Millipore Sigma, n.º catálogo WHA10534612); GFX-02, GeneFix Saliva DNA/RNA Collector GFX-02 (Isohelix, n.º catálogo GFX-02); dispositivo de recogida de saliva Oragene•Dx (DNA Genotek, n.º catálogo OGD-600); OCR100, ORACollect•DNA (DNA Genotek, n.º catálogo OCR-100)	



**Figura 2: Calidad del ADN por tipo de muestra.**

(A) Se observa un intervalo de calidad de ADN en diferentes tipos de muestras y kits de extracción. Se extrajo ADN de muestras de sangre y células con kits estándar y de EPM disponibles en el mercado. Se extrajo ADN de GSS, saliva e hisopos bucales utilizando kits estándar disponibles en el mercado. El análisis de la calidad del ADN se realizó con el ensayo de ADN genómico ScreenTape (Agilent, n.º de catálogo 5067-5366 y 5067-5365) en Agilent 4200 TapeStation evaluando el porcentaje de fragmentos superior a 10 kb y 60 kb. (B) El análisis de la calidad del ADN mediante el ensayo de ADN genómico ScreenTape (Agilent, n.º de catálogo 5067-5366 y 5067-5365) en Agilent 4200 TapeStation para células revela una calidad variable por tipo de muestra. Muestras de EPM en sangre (azul), hisopos (naranja) y GSS (verde).

## Configuración y secuenciación del experimento

Se añadió el ADN a una gradilla de tubos de la librería de muestras junto con reactivos TruPath Genome (Illumina, n.º de catálogo 20157406) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La cantidad de entrada estándar fue de 350 ng de ADN; sin embargo, las muestras de GSS emplearon toda la cantidad extraída. El aporte mínimo de ADN fue de 175 ng. La gradilla de tubos de librerías, los reactivos de TruPath Genome y una celda de flujo C8 NovaSeq™ X se cargaron en NovaSeq X Plus System (Illumina, n.º de catálogo 20084804) para la secuenciación conforme a lo descrito en el manual del usuario.

## Análisis

Después de la secuenciación, se utilizó el proceso DRAGEN™ Germline para combinar datos de secuenciación de lectura corta con información sobre la proximidad entre nanopocillos. Se utilizó el genoma de referencia GRCh38 para la llamada de variantes a partir de lecturas ordenadas.

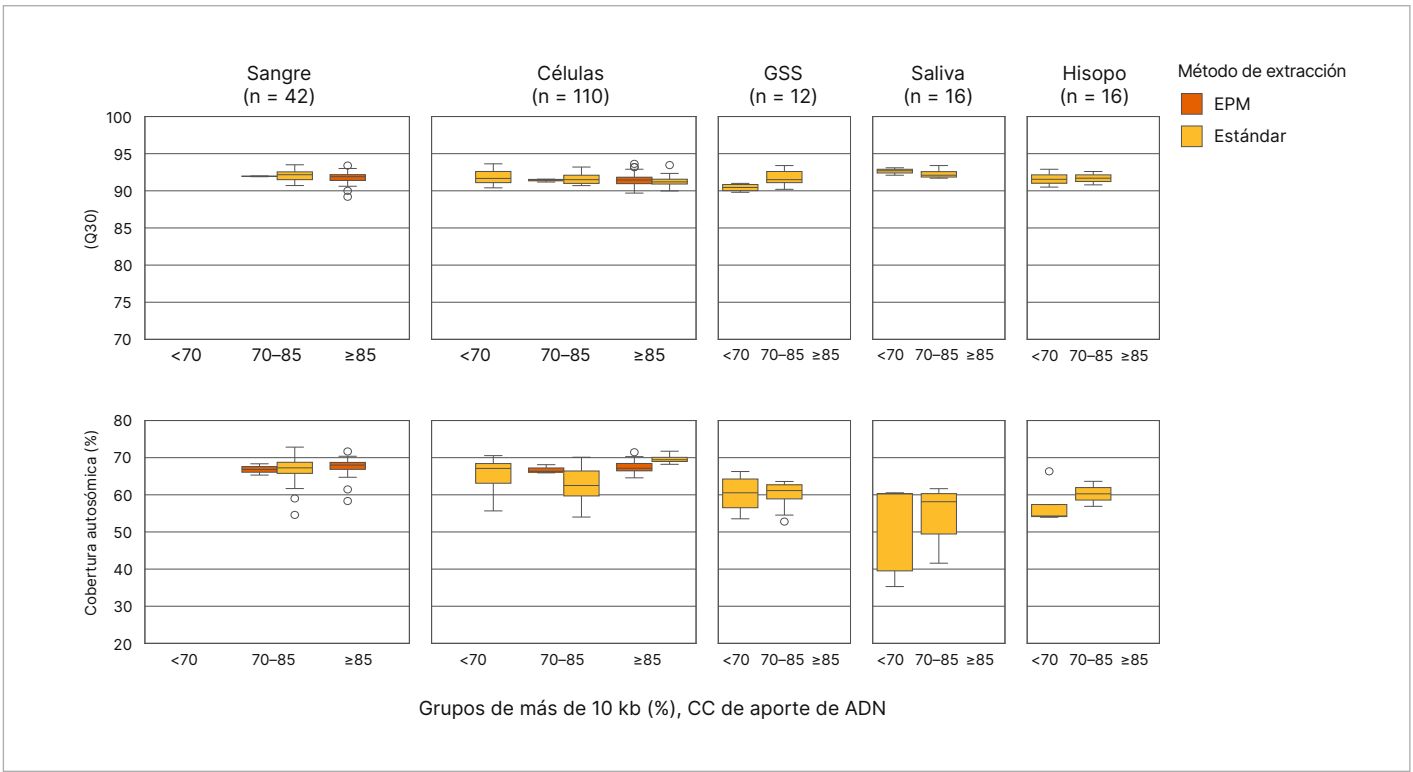
## Resultados

### TruPath Genome ofrece resultados de alta calidad a partir de muestras de calidad variable

Los criterios de medición estándar del genoma completo, incluida la cobertura autosómica y la precisión de la llamada de bases, logrados con TruPath Genome, no se vieron afectados por la calidad del ADN y se observó un rendimiento sólido para todos los tipos de muestras (figura 3). La cobertura autosómica media fue de aproximadamente 64x y la media de Q30 fue del 92 %. En algunas muestras de saliva e hisopos, la reducción de la cobertura se debió a la presencia natural de lecturas bacterianas en las muestras, lo que redujo el porcentaje de lectura asignado del genoma humano.

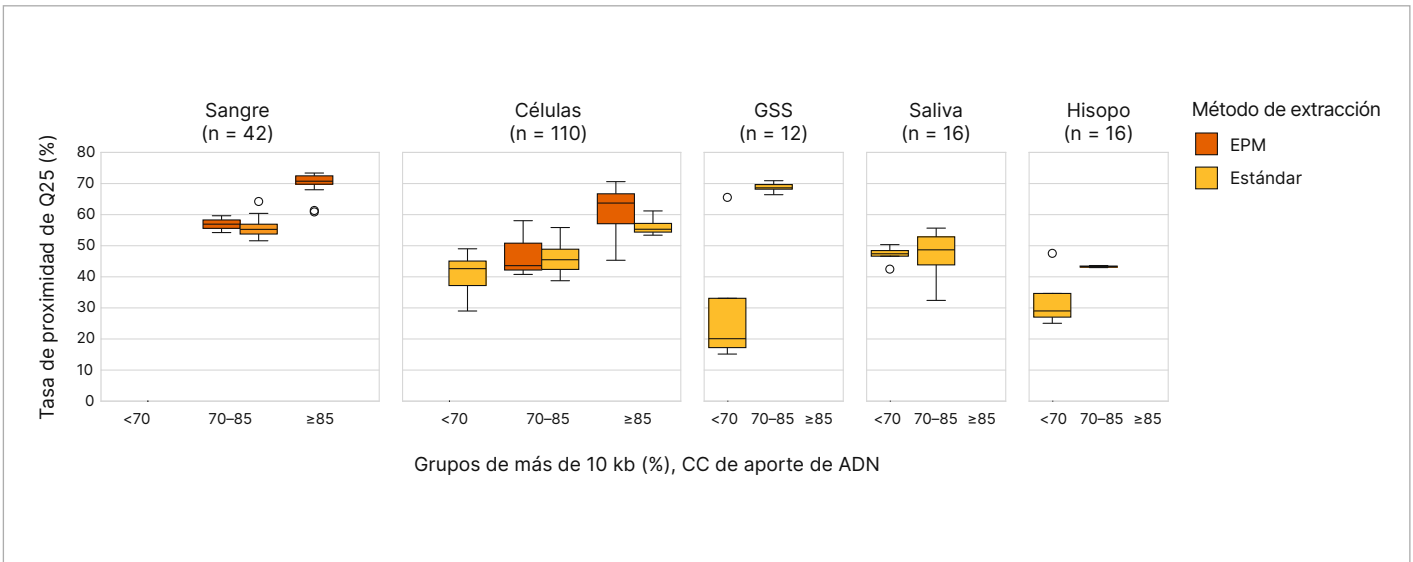
La calidad de la muestra de ADN se asoció estrechamente a los criterios de medición de proximidad de TruPath Genome (figura 4). Para la mayoría de los tipos de muestras, el porcentaje de fragmentos de ADN de más de 10 kb fue un factor de predicción sólido del rendimiento de la tasa de proximidad, con un porcentaje de fragmentos de más de 10 kb que produjo una tasa de proximidad de más de 10 kb que produjo una tasa de proximidad de Q25 más alta (es decir, el porcentaje de lecturas que tienen al menos otra lectura muy cerca con una puntuación de calidad por encima de Q25\*).

\* La puntuación de calidad de proximidad es la probabilidad en la escala Phred de que dos lecturas de la misma región del genoma coincidan al azar dentro del mismo grupo local de celdas de flujo, calculada por el modelo de proximidad DRAGEN. Una puntuación de calidad de proximidad más alta indica una mayor confianza en que dos lecturas que están cerca en el genoma y en la celda de flujo se originaron a partir de la misma molécula de ADN de aporte.



**Figura 3: La cobertura autosómica y el porcentaje medio de Q30 no se ven afectados por la calidad del ADN en diferentes tipos de muestras**

Se extrajo ADN de sangre y células siguiendo métodos estándar y de EPM. Se extrajo ADN de GSS, saliva e hisopos bucales siguiendo métodos estándar. Se observó un rendimiento sólido para las puntuaciones de calidad y cobertura con todas las muestras, independientemente del método de purificación de ADN. La integridad del ADN se midió en el Agilent 4200 TapeStation mediante un análisis regional, con el porcentaje de los fragmentos de más de 10 kb agrupados a lo largo del eje X.



**Figura 4: Impacto de la calidad del ADN en la tasa de proximidad de Q25**

Se extrajo ADN de sangre y células siguiendo métodos estándar y de EPM. Se extrajo ADN de GSS, saliva e hisopos bucales siguiendo métodos estándar. Las tasas de proximidad de Q25 están estrechamente relacionadas con la calidad del ADN, en particular con el porcentaje de fragmentos de ADN de más de 10 kb medido en Agilent 4200 TapeStation y agrupado a lo largo del eje X.

## TruPath Genome admite la secuenciación en fase de hebra retrasada

La presencia de fragmentos de ADN más grandes es un potente factor de predicción del rendimiento de la fase de hebra retrasada: cuanto mayor sea el porcentaje de fragmentos de ADN por encima de 60 kb, mayor será el tamaño del bloque de fase de hebra retrasada NG50<sup>†</sup> y mayor será el rendimiento de la llamada de variantes pequeñas. TruPath Genome permite el estudio de plantillas de ADN de longitud completa, lo que lo hace adecuado para estudios de fase de hebra retrasada del genoma humano (figura 5).

## TruPath Genome funciona mejor con muestras frescas de alta calidad

Para evaluar el efecto de la antigüedad de las muestras en el rendimiento de TruPath Genome, se extrajo ADN de muestras de sangre y GSS en dos momentos concretos. En el caso de las muestras de sangre, se extrajo ADN en los tres días siguientes a la recogida de sangre y después de siete días de almacenamiento a 4 °C. Las muestras de GSS se almacenaron durante un mes o un año a temperatura ambiente.

† El bloque ordenado NG50 es la longitud del bloque de fase una vez ordenado el 50 % de la región objetivo (el genoma u otra).

Tanto en el caso de las muestras de sangre como en el de las de GSS, el tamaño del bloque de fase de hebra retrasada NG50 cambió con respecto al porcentaje de fragmentos de ADN de más de 60 kb (figura 6). Ambos parámetros fueron más bajos en las muestras envejecidas que en las frescas. En el caso de las muestras de sangre, se obtuvieron más del 40 % de los fragmentos de más de 60 kb, incluso en aquellas muestras en las que el ADN se aisló una semana después de haberse extraído siguiendo un método de EPM.

## TruPath Genome tiene un rendimiento sólido con diferentes cantidades de aporte de ADN

El rendimiento del ensayo TruPath Genome se evaluó con diferentes aportes de entrada de ADN: 175, 200, 350 y 550 ng. Los resultados de la secuenciación con el aporte de 175 ng demostraron métricas estándar del genoma completo de alta calidad (p. ej., cobertura autosómica y porcentaje superior a Q30) y métricas de proximidad (p. ej., tasa de proximidad Q25 y bloque de fase de hebra retrasada NG50). Si bien el aporte recomendado es de 350 ng, se pueden emplear aportes inferiores (figura 7).

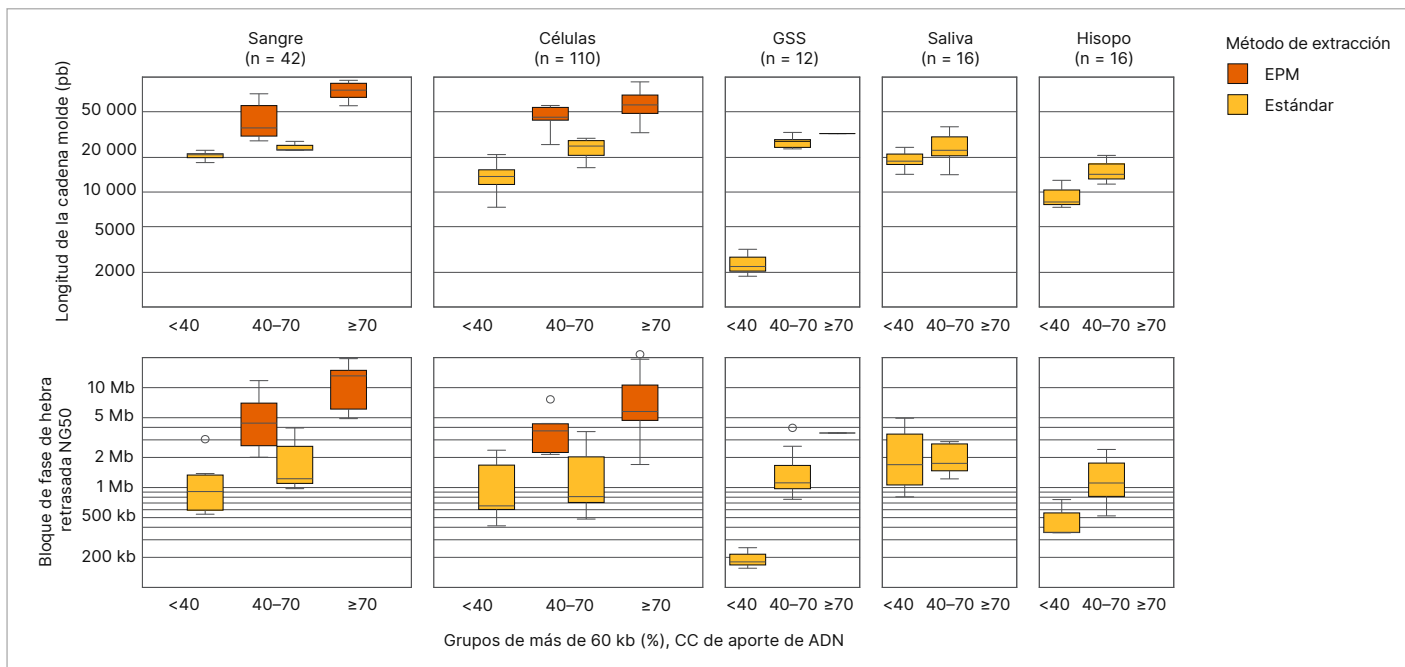
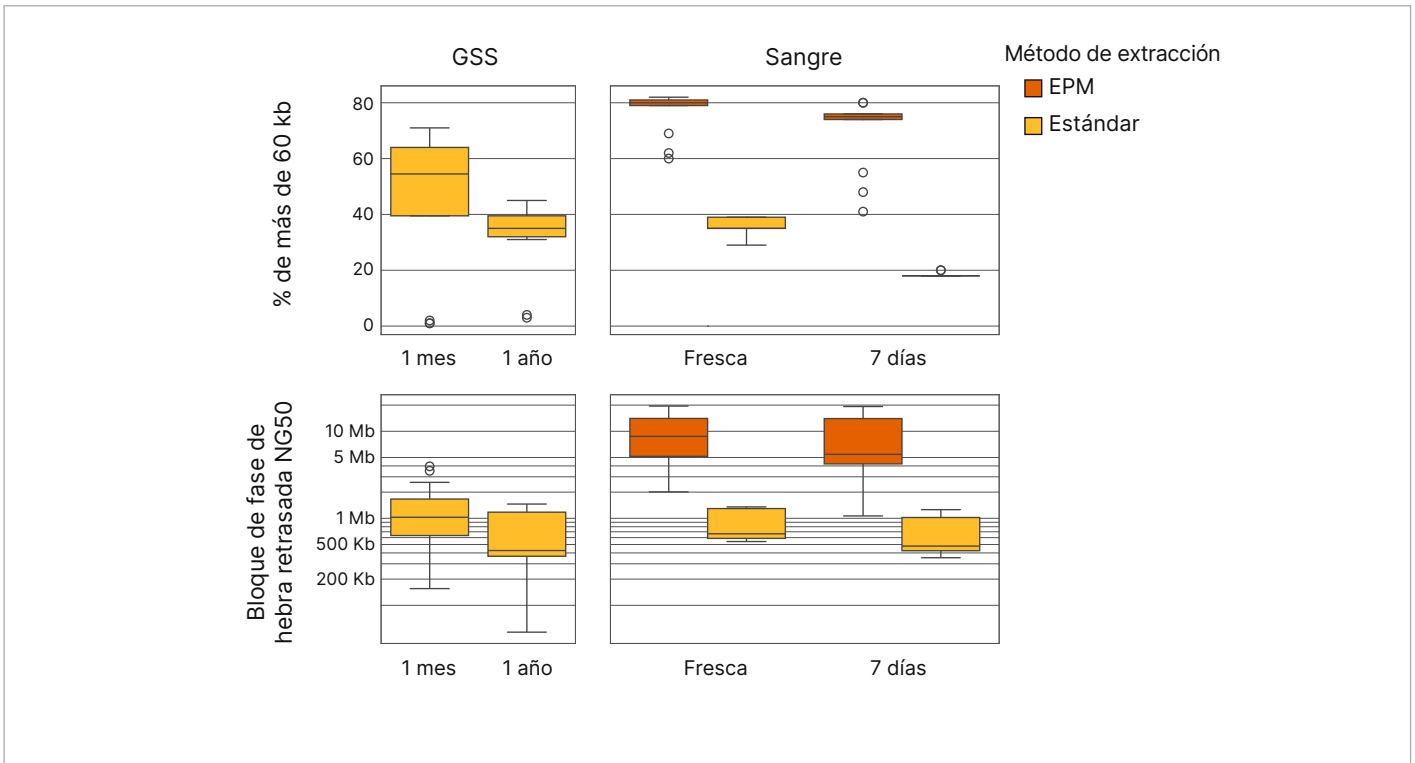


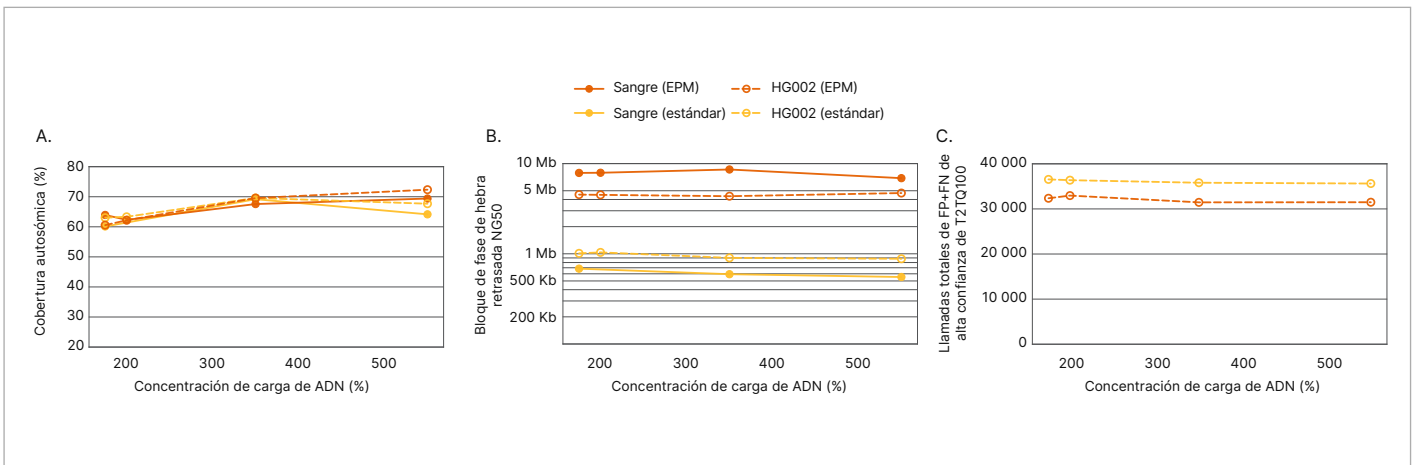
Figura 5: El rendimiento de fase de hebra retrasada de TruPath Genome es muy sólido con tipos de muestras variables

Se extrajo ADN de sangre y células siguiendo métodos estándar y de EPM. Se extrajo ADN de GSS, saliva e hisopos bucales siguiendo métodos estándar. La integridad del ADN se midió en el Agilent 4200 TapeStation mediante un análisis regional y el porcentaje de fragmentos de más de 60 kb agrupados a lo largo del eje X. La longitud de la cadena molde en el eje Y representa el tamaño de la molécula de la cadena molde del percentil 75. Una mayor calidad del ADN, con un porcentaje más elevado de más de 60 kb, se correlaciona con una mayor longitud de la cadena molde y el NG50 del bloque de fase de hebra retrasada.



**Figura 6: Impacto del almacenamiento de muestras de sangre en la calidad del ADN y el bloque de fase de hebra retrasada NG50**

Las muestras de sangre se conservaron a 4 °C durante menos de tres días (frescas) o durante siete días. Las muestras de GSS se almacenaron a temperatura ambiente durante menos de 30 días o aproximadamente un año. Se extrajo ADN de sangre siguiendo métodos estándar y de EPM. Se extrajo ADN de muestras de GSS siguiendo métodos estándar. Impacto de la edad de la muestra primaria en la calidad del ADN (porcentaje superior a 60 kb) y el bloque de fase de hebra retrasada NG50. El porcentaje superior a 60 kb se mide con ADN genómico en el ensayo ScreenTape en Agilent 4200 TapeStation. Para ambos tipos de muestras, el porcentaje de fragmentos superiores a 60 kb y el tamaño del bloque de fase de hebra retrasada NG50 son menores para las muestras que se han almacenado más tiempo antes de la extracción.



**Figura 7: TruPath Genome funciona bien con diferentes cantidades de aporte**

Los resultados de secuenciación para TruPath Genome preparados con aportes de 175, 200, 350 y 550 ng generan una calidad de datos similar para los criterios de medición de proximidad estándar del genoma completo y TruPath Genome; incluidos (A) cobertura autosómica, (B) bloque de fase de hebra retrasada NG50 y (C) rendimiento de llamada de variantes pequeñas (llamadas totales de FP + FN). Se extrajo ADN de sangre y células siguiendo métodos estándar y de EPM. El rendimiento de las llamadas de variantes pequeñas (SNP + indel) se comparó con el conjunto de verdad T2T-Q100 V1.1.V0.019.

## Resumen

TruPath Genome utiliza la tecnología de lectura asignada por proximidad para proporcionar una solución integral de secuenciación del genoma completo con una simplicidad sin precedentes. El flujo de trabajo único combina las ventajas de los métodos de secuenciación de lectura corta con la información sobre proximidad en la celda de flujo para obtener información de larga distancia. Esta nota técnica demuestra el rendimiento sólido y de alta calidad logrado con TruPath Genome a partir de muestras de diversos tipos, cantidades, calidades y condiciones de almacenamiento.

## Bibliografía

1. Pacific Biosciences. Preparing DNA for PacBio HiFi sequencing—Extraction and quality control. [pacb.com/wp-content/uploads/Technical-Note-Preparing-DNA-forPacBio-HiFi-Sequencing-Extraction-and-Quality-Control.pdf](https://pacb.com/wp-content/uploads/Technical-Note-Preparing-DNA-forPacBio-HiFi-Sequencing-Extraction-and-Quality-Control.pdf). Año de publicación: 2022. Fecha de consulta: 8 de diciembre de 2025.
2. Pacific Biosciences. Preparing whole genome and metagenome libraries using SMRTbell prep kit 3.0. [pacb.com/wp-content/uploads/Procedure-checklist-Preparing-whole-genomeand-metagenome-libraries-using-SMRTbell-prep-kit-3.0.pdf](https://pacb.com/wp-content/uploads/Procedure-checklist-Preparing-whole-genomeand-metagenome-libraries-using-SMRTbell-prep-kit-3.0.pdf). Año de publicación: 2022. Fecha de consulta: 8 de diciembre de 2025.
3. Oxford Nanopore Technologies. Ligation Sequencing Kit. [store.nanoporetech.com/us/ligation-sequencing-kit-v14.html](https://store.nanoporetech.com/us/ligation-sequencing-kit-v14.html). Fecha de consulta: 8 de diciembre de 2025.
4. Pacific Biosciences. Low Yield Troubleshooting Guide. [pacb.com/wp-content/uploads/Guide-Low-Yield-Troubleshooting.pdf](https://pacb.com/wp-content/uploads/Guide-Low-Yield-Troubleshooting.pdf). Año de publicación: 2018. Fecha de consulta: 8 de diciembre de 2025.
5. Illumina. Hoja de datos de TruPath Genome. [illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/trupath-genome-data-sheet-m-gl-03931/trupath-genome-data-sheet-m-gl-03931.pdf](https://illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/trupath-genome-data-sheet-m-gl-03931/trupath-genome-data-sheet-m-gl-03931.pdf). Fecha de publicación: febrero de 2026. Fecha de consulta: 24 de febrero de 2026.



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

© 2026 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](https://www.illumina.com/company/legal.html).  
M-GL-03932 ESP v1.0