

Illumina DNA Prep

Un flujo de trabajo rápido e integrado para una amplia variedad de aplicaciones, desde la secuenciación del genoma humano completo hasta amplicones, plásmidos y especies microbianas.

Puntos destacados

- Rápido flujo de trabajo de preparación de bibliotecas**
 Ahorre tiempo y minimice los puntos de contacto que precisan de participación activa con el proceso de tagmentación en bolas, que reduce el tiempo total de preparación de bibliotecas a menos de tres horas.
- Entrada de muestras integrada**
 Aumente la eficacia de la preparación de bibliotecas con los protocolos de extracción de ADN integrados para sangre, saliva y gotas de sangre seca.
- Flujo de trabajo flexible con un amplio rango de entrada de ADN**
 Simplifique las operaciones diarias con un kit que funciona con un amplio rango de cantidades de entrada de ADN (entre 1 y 500 ng), varios tipos de entrada de ADN y genomas desde pequeños hasta grandes.
- Amplia gama de aplicaciones**
 Secuencie genomas humanos u otros genomas grandes o complejos, así como amplicones y series microbianas, parasitarias o fúngicas.
- Rendimiento optimizado de preparación de bibliotecas**
 Consiga fragmentos de tamaño homogéneo y alta uniformidad de cobertura independientemente del nivel de experiencia de usuario.

Introducción

Aunque los avances en la tecnología de secuenciación de próxima generación (NGS) han acelerado el ritmo de la investigación genómica, numerosos laboratorios siguen experimentando cuellos de botella durante la fase de preparación de bibliotecas del flujo de trabajo de NGS. Muchos laboratorios en los que hacen falta varios pasos previos y posteriores a la preparación de bibliotecas tienen que lidiar con retrasos significativos en el proceso de secuenciación. Entre los pasos previos a la preparación de bibliotecas se incluyen la extracción, la cuantificación y la fragmentación del ADN, mientras que las evaluaciones de calidad, la cuantificación y la normalización de las bibliotecas constituyen pasos posteriores a dicha preparación.

Con los Nextera™ DNA Library Preparation Kits (kits de preparación de bibliotecas de ADN de Nextera), se introdujeron los procesos químicos de tagmentación, que combinaban los pasos de fragmentación de ADN y de ligadura de adaptadores en una única reacción de 15 minutos, con lo que se redujo el tiempo de preparación de bibliotecas a 90 minutos. Con el lanzamiento de los Nextera XT DNA Library Prep Kits, dejó de ser necesario cuantificar las bibliotecas antes de agruparlas y secuenciarlas.¹ Ya está aquí la última revolución en los procesos químicos de preparación de bibliotecas: Illumina DNA Prep Kit.* El exclusivo proceso químico de Illumina DNA Prep Kit (Figura 1, Tabla 1) integra los pasos de extracción y fragmentación de ADN y los de preparación y normalización de bibliotecas, para ofrecer los flujos de trabajo más rápidos y flexibles de la gama de soluciones de preparación de bibliotecas de Illumina (Figura 2, Tabla 2).

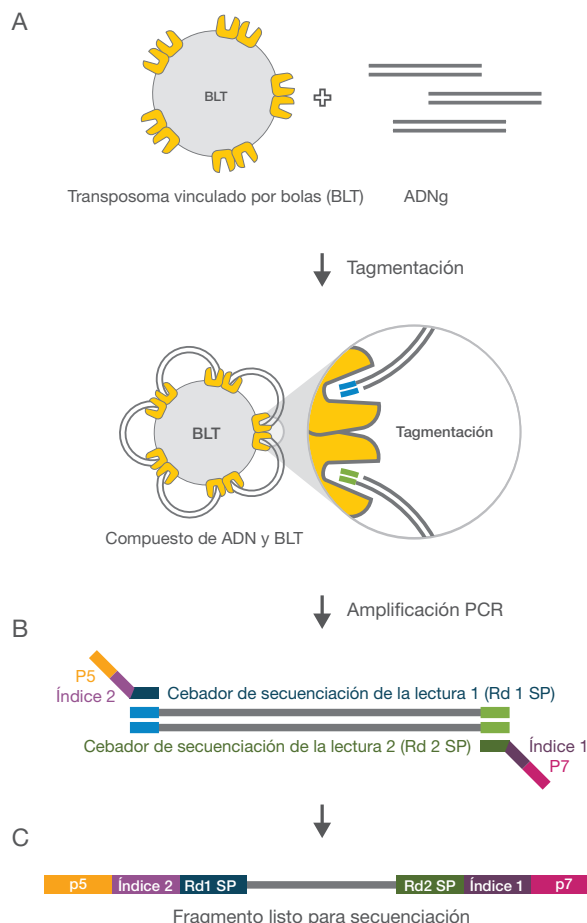


Figura 1: Procesos químicos de transposomas vinculados por bolas de Illumina. (A) Los transposomas vinculados por bolas actúan como mediadores entre la fragmentación simultánea de ADNg y la adición de cebadores de secuenciación. (B) La PCR de ciclo reducido amplifica los fragmentos de ADN listos para la secuenciación y añade índices y adaptadores. (C) Los fragmentos listos para la secuenciación se lavan y se agrupan.

Tabla 1: Especificaciones de Illumina DNA Prep Kit

Parámetro	Illumina DNA Prep Kit
Tipo de ADN de entrada	ADNg, sangre, saliva, amplicones de PCR, plásmidos y gotas de sangre seca
Cantidad de ADN de entrada necesaria	1-500 ng, genomas pequeños 100-500 ng, genomas grandes
Multiplexado de muestras	24 índices individuales, 384 índices dobles
Sistemas de secuenciación compatibles	Todos los sistemas de Illumina
Duración total del flujo de trabajo de preparación de bibliotecas (ADNg) ^a	3-4 horas

a. Se incluyen los pasos de extracción de ADN, preparación de bibliotecas, y normalización y agrupación de bibliotecas.

* Anteriormente Nextera DNA Flex Library Preparation Kit

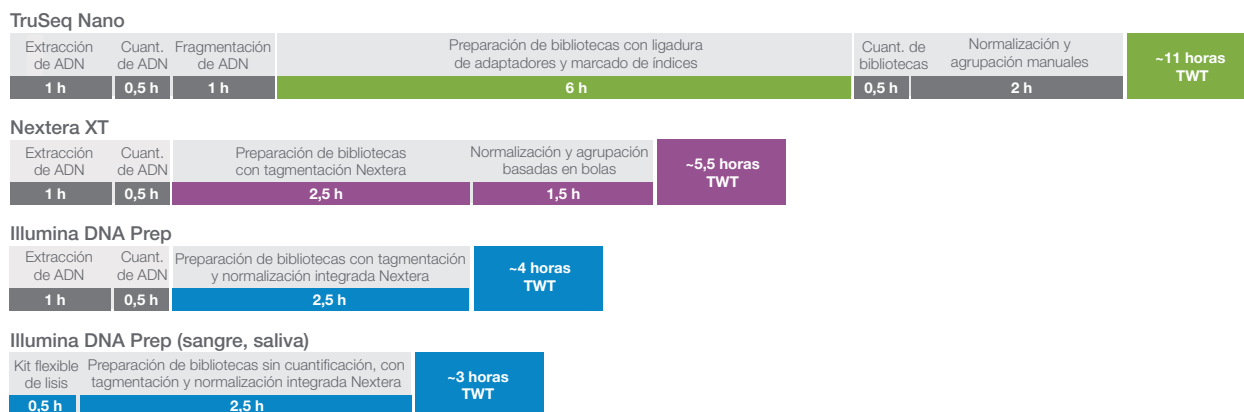


Figura 2: Illumina DNA Prep ofrece el flujo de trabajo más rápido de Illumina. Cálculos basados en el procesamiento de 16 muestras a la vez con una pipeta multicanal. TWT = duración total del flujo de trabajo, desde la extracción de ADN hasta la normalización y agrupación de bibliotecas. La duración de los pasos del flujo de trabajo se calculó dando por sentado que se emplearon los siguientes métodos específicos: extracción de ADN (QIAamp DNA Mini Kit o kit flexible de reactivos de lisis), cuantificación de ADN (Qubit), fragmentación de ADN (Covaris), y normalización y agrupación de bibliotecas manuales (bioanálizador). El tiempo puede variar dependiendo del equipo empleado, el número de muestras procesadas, los procesos de automatización o la experiencia del usuario. Los pasos del flujo de trabajo de color gris no se incluyen en los kits de preparación de bibliotecas

Tabla 2: Comparación de flujos de trabajo de preparación de bibliotecas de ADN de Illumina

	TruSeq Nano	Nextera XT	Illumina DNA Prep ^{a,b}
Protocolo de lisis de ADN integrado	—	—	✓
Intervalo amplio y flexible de cantidad de entrada de ADN	—	—	✓
Normalización de bibliotecas incluida	—	✓	✓
Entrada de ADN	100-200 ng	1 ng	1-500 ng
Tiempo total de preparación de bibliotecas ^c	11 horas	5 horas	3-4 horas
Tamaño de fragmento	350 pb o 550 pb	Menos de 300 pb	300-350 pb
Multiplexado de muestras	96 índices dobles	384 índices dobles	24 índices individuales 384 índices dobles

a. Protocolos integrados de extracción de ADN disponibles para muestras de sangre, saliva y gotas de sangre seca.
 b. La normalización de las bibliotecas se produce con cantidades de entrada de ADN iguales o superiores a 100 ng.
 c. El tiempo total de preparación de bibliotecas incluye la extracción del ADN y la preparación, la normalización y la agrupación de las bibliotecas.

Además de ofrecer un flujo de trabajo rápido, Illumina DNA Prep Kit proporciona una extraordinaria flexibilidad en cuanto a los tipos y cantidades de entrada, y permite aplicaciones muy variadas. Desde la secuenciación del genoma humano completo (WGS) hasta pequeños plásmidos microbianos, Illumina DNA Prep Kit ofrece una cobertura uniforme del genoma con la precisión demostrada de los procesos químicos de secuenciación por síntesis (SBS) de Illumina.²

Flujo de trabajo de preparación de bibliotecas rápido y flexible

Illumina DNA Prep Kit combina varias características para ofrecer el flujo de trabajo de preparación de bibliotecas más rápido de la gama de soluciones de Illumina. Una ventaja importante de los procesos químicos de Illumina es el proceso de tagmentación en bolas, en el que se utilizan transposomas vinculados por bolas

para conseguir una reacción más uniforme de dicho proceso en comparación con las reacciones de tagmentación en la propia solución. Una vez que los transposomas vinculados por bolas se saturan de ADN, no se pueden realizar más procesos de tagmentación, lo que permite que el proceso de normalización por saturación sea extremadamente uniforme. Esta estrategia ofrece varias ventajas significativas:

- En el caso de entradas de ADN con cantidades de 100 a 500 ng, no es preciso llevar a cabo una cuantificación exacta de la muestra de ADN inicial. El tamaño del fragmento de ADN no se ve afectado por la cantidad de entrada de ADN dentro de este rango, lo que ahorra tiempo y evita los costes asociados a los incómodos procesos de cuantificación.
- El proceso de tagmentación en bolas suprime la necesidad de llevar a cabo pasos independientes de fragmentación del ADN con medios mecánicos o enzimáticos, lo que ahorra tiempo y evita los costes asociados a los instrumentos de recorte o kits enzimáticos.
- En el caso de las entradas de ADN de 100 a 500 ng, el proceso de tagmentación en bolas deriva en una normalización de ADN por saturación, por lo que ya no son necesarios los lentos procesos de cuantificación y normalización de bibliotecas individuales antes de la agrupación.

Además, el sencillo flujo de trabajo reduce el número de pasos para los que hace falta participación activa y admite sistemas de manipulación de líquidos para automatizar la preparación de bibliotecas. Estos avances producen un flujo de trabajo con el mínimo número de pasos y la duración total más corta de la gama de soluciones de Illumina (Figura 2).

Entrada de ADN integrada

Gracias a los kits Illumina DNA Prep y los kits flexibles de reactivos de lisis, es posible extraer ADN directamente a partir de las muestras de saliva o sangre recién extraída. Los kits flexibles de reactivos de lisis se han optimizado y validado para Illumina DNA Prep, y los pasos del flujo de trabajo, los reactivos y las instrucciones de la guía del usuario se encuentran completamente integrados para lograr la máxima eficiencia. Los protocolos de lisis se llevan a cabo con cómodos reactivos basados en bolas, necesitan menos de 30 minutos de participación activa y se integran directamente en la reacción del proceso de tagmentación de Illumina DNA Prep.

Rendimiento optimizado de preparación de bibliotecas

Las propiedades del proceso de tagmentación en bolas han hecho posible importantes mejoras en el rendimiento de la preparación de bibliotecas. Illumina DNA Prep Kit produce fragmentos con un tamaño extremadamente uniforme y homogéneo (300-350 pb) en un amplio rango de entrada de ADN (1-500 ng), como se puede ver en la Figura 3. El proceso de tagmentación en bolas permite generar fragmentos de tamaño uniforme en un amplio rango de entrada, lo que suprime la necesidad de optimizar con cautela la relación entre transposomas y ADN como forma de controlar la longitud de los fragmentos. Asimismo, el amplio rango de entrada de ADN favorece la flexibilidad en los experimentos con diversos tipos de muestras, incluidas las muestras de gran valor. Además de la uniformidad en el tamaño de los fragmentos, el proceso de tagmentación en bolas ofrece bibliotecas con un rendimiento también uniforme y homogéneo en un amplio rango de cantidades de entrada de ADN (100-500 ng), como se puede ver en la Figura 4. Cuando la cantidad de entrada de ADN es de 100 ng o de un tamaño aproximado, las bolas se saturan, por lo que el rendimiento se normaliza y uniformiza. Además, se elimina la necesidad de llevar a cabo los lentos pasos de cuantificación y normalización de bibliotecas antes de la agrupación. Al comparar el rendimiento de Illumina DNA Prep Kit y del TruSeq™ Nano DNA Library Prep Kit, se observó que el primero produjo resultados comparables a la fragmentación mecánica o mejores, en el caso de algunos criterios de medición (Tabla 3).

Más allá de las mejoras en el flujo de trabajo que favorece la tecnología basada en bolas, la ventaja más significativa de tener tamaños de fragmento y rendimiento de bibliotecas homogéneos y uniformes es que la cobertura del genoma humano y del de especies no humanas es más regular y uniforme (Figura 5). Los genomas uniformes con alto o bajo contenido de GC muestran una cobertura extraordinariamente coherente sin tendencia específica de ninguna zona (Figura 5B).

Tabla 3: Rendimiento de Illumina DNA Prep Kit

Parámetro ^a	Illumina DNA Prep	TruSeq Nano
Lecturas "paired-end" que superan el filtro	3,7 × 10 ⁸	3,7 × 10 ⁸
Capacidad de realizar llamadas de autosomas	96,5 %	96,9 %
Capacidad de realizar llamadas de exones de autosomas	98,4 %	98,4 %
Cobertura de autosomas >10x	98,5 %	98,6 %
Recuperación de SNV	98,7 %	98,7 %
Precisión de SNV	99,8 %	99,7 %
Recuperación de inserciones y deleciones	93,7 %	92,9 %
Precisión de inserciones y deleciones	97,0 %	94,9 %

a. El análisis se realizó con 20 muestras (todas ellas NA12878 Coriell), en cinco experimentos, con estructuras de genoma humano de aproximadamente 30x. Los datos se analizaron aplicando Apps Whole Genome Sequencing v6.0.0 y Variant Calling Assessment Tool v3.0.0 de BaseSpace™. SNV = variante de nucleótido único, Indel = variante de inserciones y deleciones.

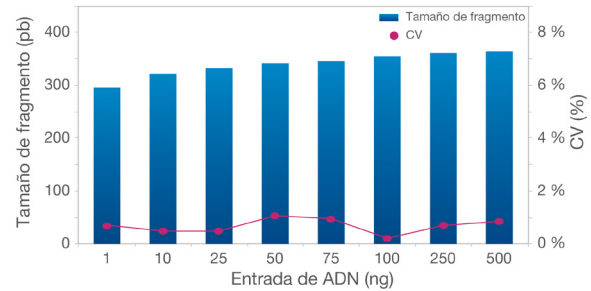


Figura 3: Tamaños de fragmento uniformes y homogéneos. El proceso de tagmentación en bolas ofrece fragmentos de tamaño homogéneo independientemente de la cantidad de entrada de ADN. Con cantidades de entrada de ADN de 1-500 ng, el coeficiente de variación (CV) total es del 6,09 %. Bibliotecas producidas con muestras duplicadas de *E. coli* mediante Illumina DNA Prep. Experimento realizado en MiSeq™ System (de 2 × 76 pb).

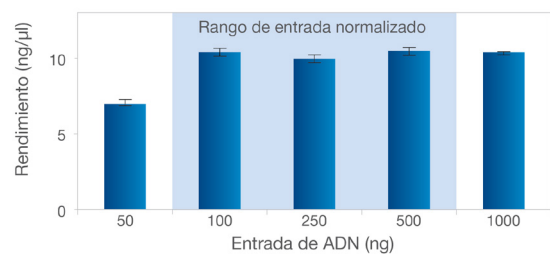


Figura 4: Bibliotecas fragmentadas por tagmentación y normalizadas. Las bolas se saturan con 100 ng o más, lo que normaliza el rendimiento del ADN fragmentado por tagmentación. La normalización del ADN fragmentado por tagmentación suprime la necesidad de llevar a cabo los pasos posteriores de normalización de bibliotecas. Bibliotecas producidas con muestras Human-NA12878 (Coriell Institute) con Illumina DNA Prep. Experimento realizado en MiSeq System (de 2 × 76 pb).

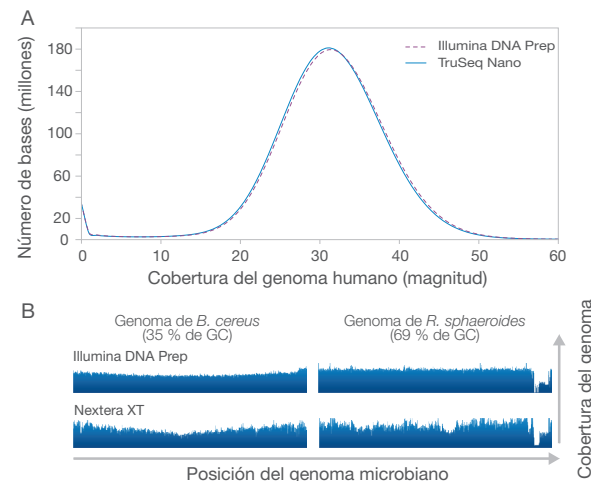


Figura 5: Illumina DNA Prep aumenta la uniformidad de la cobertura. (A) Illumina DNA Prep ofrece una cobertura uniforme del genoma que se asemeja a la del TruSeq Nano DNA Kit. Bibliotecas producidas con muestras Human-NA12878 (Coriell Institute) con Illumina DNA Prep Kit o TruSeq Nano Kit. Secuenciación realizada en un HiSeq X™ System (2 × 151 pb). (B) Se muestra la cobertura de los microorganismos con contenido de GC extremadamente alto o bajo. Debido a la mejora de los procesos químicos de preparación de bibliotecas en bolas, Illumina DNA Prep muestra una cobertura más uniforme que la del Nextera XT. Las bibliotecas se prepararon con Nextera XT Kit o Illumina DNA Prep Kit. Los datos se generaron con un HiSeq™ 2500 System (Rapid Run v2, de 2 × 151 pb).



	Secuenciación del genoma humano completo	Genomas grandes y complejos	Genomas pequeños
Aplicaciones de secuenciación	<ul style="list-style-type: none"> Investigación genómica del cáncer Detección de variantes Estudios de riesgos genéticos Genética de poblaciones 	<ul style="list-style-type: none"> Agrigenómica (maíz, trigo, res vacuna, etc.) Organismos modelo (mosca de la fruta, ratón, pez cebra, etc.) Investigación de plantas y animales 	<ul style="list-style-type: none"> Microbioma humano Microbiología/metagenómica Investigación de salud pública Secuenciación de amplicones
Ejemplos de secuenciación	<ul style="list-style-type: none"> Genoma humano (3,2 Gb), 30x, S2 kit, sistema NovaSeq™, 8 muestras/celda de flujo Genoma humano (3,2 Gb), >30x, v2.5 sistema HiSeq X, 8 muestras/celda de flujo 	<ul style="list-style-type: none"> Genoma de la mosca de la fruta (175 Mb), 30x, v2 kit, sistema NextSeq™ 550, 22 muestras/celda de flujo Genoma del ratón (2,7 Gb), 30x, v1 kit sistema HiSeq 4000 System, 8 muestras/celda de flujo 	<ul style="list-style-type: none"> Genoma <i>E. coli</i> (4,6 Mb), 30x, sistema MiniSeq™, 50 muestras/celda de flujo Plásmidos o amplicones (650 kb), 1000x MiSeq System, 11 muestras/celda de flujo

Figura 6: Amplia gama de aplicaciones con Illumina DNA Prep. Desde la secuenciación del genoma humano completo y genomas grandes y complejos, hasta la de pequeños genomas microbianos, Illumina DNA Prep ofrece flexibilidad en todos los experimentos.

El flujo de trabajo flexible favorece una amplia gama de aplicaciones

Es posible que la mayor ventaja de Illumina DNA Prep sea la flexibilidad que ofrece para una amplia gama de aplicaciones y campos de investigación de interés. Permite la secuenciación del genoma humano completo, la investigación genómica del cáncer, la metagenómica ambiental, la investigación de enfermedades infecciosas, la agrigenómica y mucho más (Figura 6). Ya se realicen secuenciaciones de genomas grandes y complejos, genomas pequeños, plásmidos, amplicones, bacterias grampositivas o gramnegativas, hongos o distintas especies de animales y plantas, Illumina DNA Prep ofrece una cobertura genómica completa. El flujo de trabajo flexible y de uso sencillo para los usuarios se adapta a diversos niveles de experiencia, numerosas aplicaciones y diversos tipos de entrada de muestras.

Resumen

Illumina DNA Prep Kit cuenta con un flujo de trabajo revolucionario que combina la extracción, la cuantificación y la fragmentación del ADN, así como la normalización de bibliotecas, para ofrecer el flujo de trabajo de preparación de bibliotecas más rápido y flexible de la gama de soluciones de Illumina. El flujo de trabajo, de uso sencillo y con posibilidad de automatización, es apto para usuarios de cualquier nivel de experiencia, además de ser común a varios diseños de experimento. Los procesos químicos de tagmentación en bolas admiten una amplia gama de cantidades de entrada de ADN, diversos tipos de muestras y muchas aplicaciones distintas, incluidas la secuenciación del genoma humano completo, la metagenómica ambiental, la investigación de plantas y animales, el establecimiento de perfiles tumorales y mucho más. No espere más para constatar de qué manera el innovador flujo de trabajo de Illumina DNA Prep (combinado con la potencia de los procesos químicos de SBS de Illumina) puede llevarle más rápido a sus objetivos de investigación.

Información adicional

Para obtener más información sobre Illumina DNA Prep, visite www.illumina.com/illumina-dna-prep.

Para obtener más información sobre la WGS con Illumina DNA Prep, lea las notas de la aplicación sobre [la secuenciación del genoma humano completo](#) y [la secuenciación del genoma microbiano completo](#).

Illumina • 1 800 809 45 66 (llamada gratuita, EE. UU.) • Tel.: +1 858 202 45 66 • techsupport@illumina.com • www.illumina.com

© 2020 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. Pub. No. 770-2020-009-A ESP QB10033

Para uso exclusivo en investigación. Prohibido su uso en procedimientos de diagnóstico.

Datos para realizar pedidos

Producto	N.º de referencia
Illumina DNA Prep, (M) tagmentación (24 muestras)	20018704
Illumina DNA Prep, (M) tagmentación (96 muestras)	20018705
Kit flexible de reactivos de lisis	20018706
IDT® for Illumina DNA/RNA UD Indexes Set A, tagmentación (96 índices, 96 muestras)	20027213
IDT for Illumina DNA/RNA UD Indexes Set B, tagmentación (96 índices, 96 muestras)	20027214
IDT for Illumina Nextera DNA UD Indexes Set C (96 índices, 96 muestras)	20027215
IDT for Illumina Nextera DNA UD Indexes Set D (96 índices, 96 muestras)	20027216
IDT for Illumina Nextera DNA UD Indexes Set A-D (384 índices, 384 muestras)	20027217
IDT for Illumina DNA/RNA UD Indexes Set C, tagmentación (96 índices, 96 muestras)	20042666 Disponible próximamente
IDT for Illumina DNA/RNA UD Indexes Set D, tagmentación (96 índices, 96 muestras)	20042667 Disponible próximamente
Nextera DNA CD Indexes (24 índices, 24 muestras)	20018707
Nextera DNA CD Indexes (96 índices, 96 muestras)	20018708
*IDT for Illumina DNA/RNA UD Indexes® es el nombre de lo que antes se conocía como "IDT for Illumina Nextera DNA UD Indexes"; el contenido de los kits sigue siendo el mismo.	

Referencias

- Illumina (2014). [Hoja de datos del Nextera XT DNA Library Preparation Kit](#). Fecha de consulta: martes, 14 de abril de 2020.
- Bentley DR, Balasubramanian S, Swerdlow HP, et al. [Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry](#). *Nature*. 2008;456:53-59.