

TruSeq™ DNA Nano

Método con poca cantidad de entrada que proporciona una vista completa y muy fiable del genoma para prácticamente cualquier aplicación de secuenciación.

Puntos destacados

- **Entrada de muestras reducida**

La excelente calidad de datos con una entrada desde tan solo 100 ng facilita la interrogación de muestras con un ADN disponible limitado

- **Excelente calidad de cobertura**

El bajísimo sesgo de las bibliotecas y la pequeña cantidad de huecos en la cobertura permiten obtener una mayor información sobre el genoma

- **Gran flexibilidad**

El flujo de trabajo optimizado permite preparar bibliotecas en menos de un día, a la vez que admite distintas longitudes de lectura

- **Solución inclusiva**

Esta solución fiable incluye reactivos de mezcla maestra, bolas de selección de tamaño y hasta 96 índices dobles exclusivos (UDI, unique dual indexes)

Preparación de bibliotecas acelerada

El protocolo de preparación de bibliotecas de TruSeq DNA se ha optimizado gracias a la sustitución de la selección de tamaño basada en gel por la selección basada en bolas (Figura 2), lo que permite a los investigadores preparar bibliotecas de alta calidad en menos de un día. El TruSeq DNA Nano está optimizado para diversas longitudes de lectura, desde 2×101 pb hasta 2×151 pb. Los reactivos de mezcla maestra, las bolas de purificación de muestras para la limpieza y la selección de tamaño, los sólidos índices de TruSeq y los protocolos optimizados contribuyen a simplificar el flujo de trabajo, que precisa muy pocos pasos de limpieza para procesar grandes números de muestras.



Figura 1. TruSeq DNA Nano: el kit TruSeq DNA Nano ofrece una solución con poca cantidad de entrada para la preparación e indexación de bibliotecas de muestras. TruSeq DNA Nano puede albergar hasta 24 índices para estudios de baja productividad, o hasta 96 índices dobles o 96 índices dobles exclusivos (se venden por separado) para estudios de alta productividad.

Introducción

Al ofrecer un método de poca cantidad de entrada de muestras ampliamente utilizado basado en el flujo de trabajo de preparación de bibliotecas TruSeq, el kit TruSeq DNA Nano permite analizar de manera eficaz muestras con una cantidad limitada de ADN. Este flujo de trabajo reduce considerablemente el sesgo habitual inducido por la PCR y proporciona información de secuencias detallada para regiones del genoma tradicionalmente complicadas. Hay disponibles protocolos de bajo y alto rendimiento para adaptarse a una gran variedad de diseños de estudio (Figura 1).

Entrada de muestras reducida

TruSeq DNA Nano reduce el requisito habitual de microgramos de ADN, lo que permite a los investigadores estudiar muestras con una cantidad limitada de ADN (p. ej., muestras tumorales) y contribuye a preservar las muestras para usarlas más adelante o en otros estudios. Este flujo de trabajo ofrece la flexibilidad de dos protocolos para generar tamaños de fragmento grandes (550 pb) o pequeños (350 pb), por lo que es compatible con diversas aplicaciones. Además de acelerar el flujo de trabajo, la sencilla selección de tamaño basada en bolas evita la habitual pérdida de muestra que implica la selección basada en gel.

TruSeq DNA Nano está validado para una cobertura genómica de alta calidad en multitud de aplicaciones de secuenciación del genoma completo (WGS, whole-genome sequencing) de Illumina.

Innovador proceso químico de preparación de bibliotecas

TruSeq DNA Nano se puede usar para preparar bibliotecas de ADN para secuenciación "paired-end" de una sola lectura e indexada. TruSeq DNA Nano admite la fragmentación con el método de ultrasonidos de Covaris, para el que hace falta una cantidad de 100 ng de ADN de entrada para un tamaño de fragmento medio de 350 pb o bien una cantidad de 200 ng de ADN de entrada para un tamaño de fragmento medio de 550 pb. La confección de bibliotecas comienza por el ADN genómico (ADNg) (Figura 2A). Los fragmentos de ADN con extremos romos se generan mediante una combinación de reacciones de relleno y actividad de la exonucleasa (Figura 2B), mientras que el tamaño se selecciona con las bolas de purificación de muestras suministradas (Figura 2C). A continuación, se añade una base A a los extremos romos de cada cadena, lo que los prepara para la ligadura a los adaptadores indexados (Figura 2D). Cada adaptador contiene un terminal de base T para ligar el adaptador al ADN fragmentado con A-tailing. Estos adaptadores contienen el complemento completo de lugares de hibridación de cebadores

de secuenciación para lecturas individuales, "paired-end" e indexadas. Los adaptadores de índice individual o doble se ligan a los fragmentos (Figura 2E), y los productos ligados se amplifican con PCR de sesgo reducido (Figura 2F).

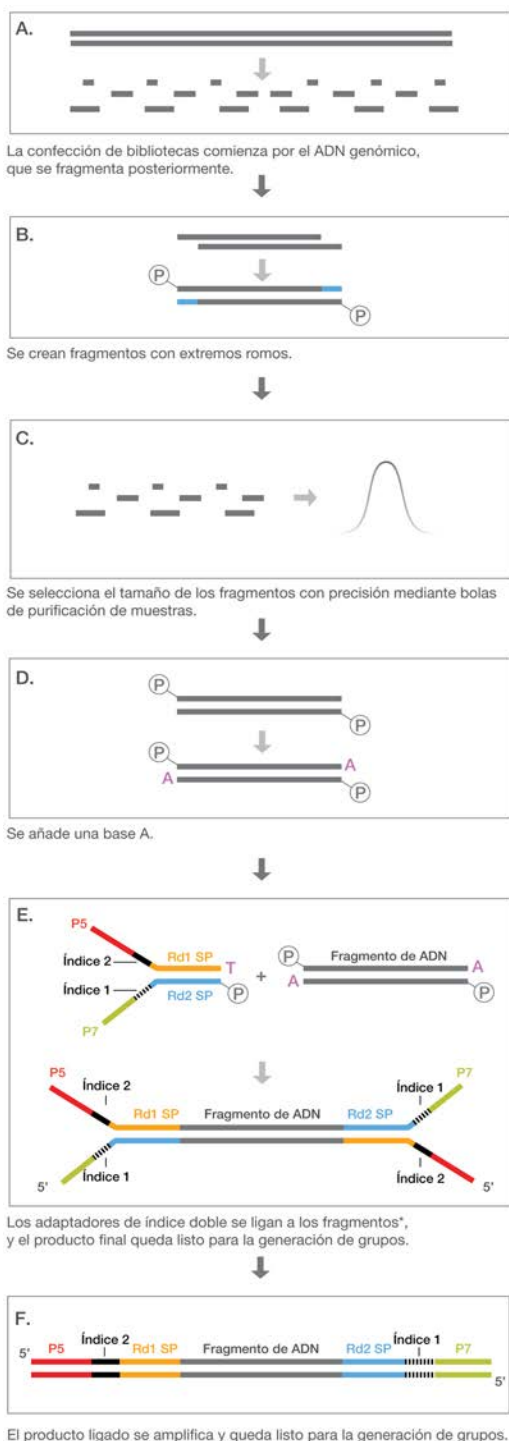


Figura 2. Flujo de trabajo con TruSeq DNA Nano: el flujo de trabajo con TruSeq DNA Nano ofrece ligadura de adaptadores, con lo que se obtienen productos listos para secuenciar con un sesgo producido por la PCR mínimo. *La solución de indexación LT de TruSeq DNA Nano incluye un adaptador de índice individual en el paso E.

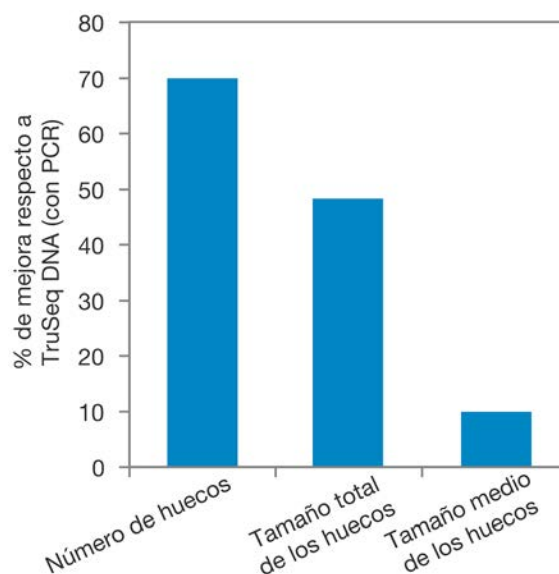


Figura 3. Menos huecos en la cobertura: las bibliotecas de TruSeq DNA Nano o muestran una reducción considerable del número y el tamaño total de los huecos en comparación con las bibliotecas preparadas mediante el protocolo de ADN de TruSeq (con PCR). Por hueco se entiende una región con una longitud ≥ 10 pb en la que no puede determinarse un genotipo preciso debido a la baja profundidad, las bajas puntuaciones de alineación o la baja calidad de base.

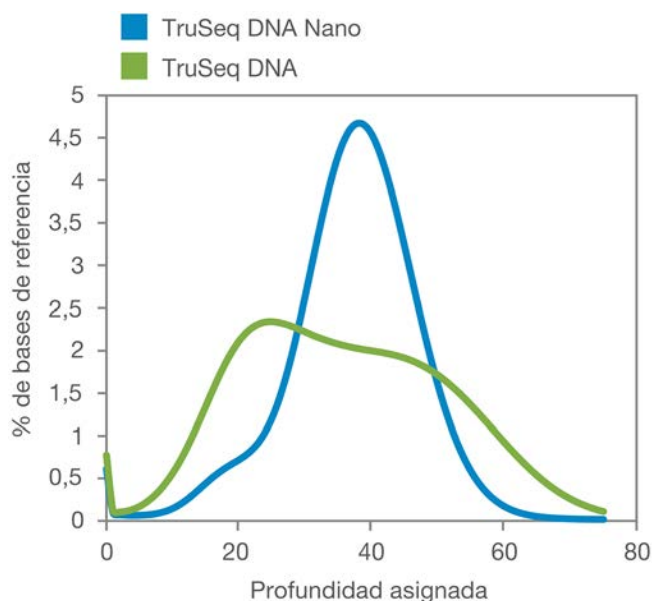


Figura 4. Mayor uniformidad de cobertura: las bibliotecas de TruSeq DNA Nano aportan una mayor uniformidad de cobertura en todo el genoma en comparación con las generadas mediante el protocolo de ADN de TruSeq (con PCR).

Tabla 1: Preparación de bibliotecas de ADN con TruSeq

Especificación	TruSeq DNA Nano	ADN sin PCR TruSeq	Antiguo TruSeq DNA
Descripción	Basado en la preparación de bibliotecas de TruSeq ampliamente utilizada, con entrada reducida y calidad de datos mejorada	Cobertura genómica excelente con una reducción drástica del sesgo de las bibliotecas y de los huecos	Método de preparación de bibliotecas de secuenciación de nueva generación de TruSeq original
Cantidad de entrada	100-200 ng	1-2 µg	1 µg
Incluye PCR	Sí	No	Sí
Duración del ensayo	Aprox. 6 horas	Aprox. 5 horas	1-2 días
Tiempo de participación activa	Aprox. 5 horas	Aprox. 4 horas	Aprox. 8 horas
Tamaño de fragmento objetivo	350 pb o 550 pb	350 pb o 550 pb	300 bp
Sin gel	Sí	Sí	No
Número de muestras admitidas	24 (LT) o 96 (HT) ^a	24 (LT) o 96 (HT) ^a	48 (LT) o 96 (HT) ^a
Bolas de selección de tamaño	Incluidas	Incluidas	No incluidas
Aplicaciones	Aplicaciones de WGS, incluidos la resecuenciación del genoma completo, el montaje <i>de novo</i> y los estudios metagenómicos		
Multiplexado de muestras	24 índices individuales, 96 índices dobles combinatorios, 24 y 96 índices dobles exclusivos (UDI) (disponible próximamente)		
Sistemas de secuenciación de Illumina compatibles	HiSeq™ 1000, HiSeq 1500, HiSeq 2000, HiSeq 2500, HiSeq 3000, HiSeq 4000, HiSeq X Five. Sistemas HiSeq X Ten, MiniSeq™, MiSeq™, MiSeqDx en modo de investigación, NextSeq™ 500, NextSeq 550, NextSeq 1000, NextSeq 2000 y NovaSeq™ 6000		HiSeq, HiScanSQ, Genome Analyzer y sistemas MiSeq y MiniSeq

a. LT, baja productividad (low-throughput); HT, alta productividad (high-throughput)

Excelente calidad de cobertura

TruSeq DNA Nano reduce el número y el tamaño medio de los huecos habituales en la cobertura producidos por PCR (Figura 3), con lo que ofrece una calidad de datos excepcional. El flujo de trabajo perfeccionado reduce el sesgo de las bibliotecas y mejora la uniformidad de cobertura a lo largo del genoma (Figura 4). También proporciona una excelente cobertura de contenido genómico tradicionalmente complicado, incluidas las regiones ricas en GC, los promotores y las regiones repetitivas (Figura 5). La alta calidad de los datos proporciona una buena resolución de los pares de bases, de forma que se obtiene una vista detallada de las mutaciones somáticas y *de novo*, así como la información necesaria para caracterizar las variantes causantes. TruSeq DNA Nano proporciona una vista completa del genoma, incluidas las regiones codificantes, reguladoras e intrónicas, lo que permite a los investigadores acceder a más información de cada experimento de secuenciación (Figura 6).

Preparación de bibliotecas flexible e inclusiva

La familia TruSeq de soluciones de preparación de bibliotecas ofrece varios flujos de trabajo para aplicaciones de secuenciación, compatibles con diversas necesidades de investigación y diseños de estudio (Tabla 1). Todos los flujos de trabajo de TruSeq admiten estudios de alta y baja productividad. TruSeq DNA Nano es compatible con la WGS y resulta ideal para aplicaciones de secuenciación que precisan ADN de escasa disponibilidad. Estos flujos de trabajo integran numerosas mejoras en el método de preparación de bibliotecas de ADN de TruSeq, lo que facilita las distintas aplicaciones de secuenciación. Los reactivos para la preparación de bibliotecas y los índices de secuenciación se venden ahora por separado, lo que permite a los investigadores personalizar los flujos de trabajo según sus necesidades de investigación.

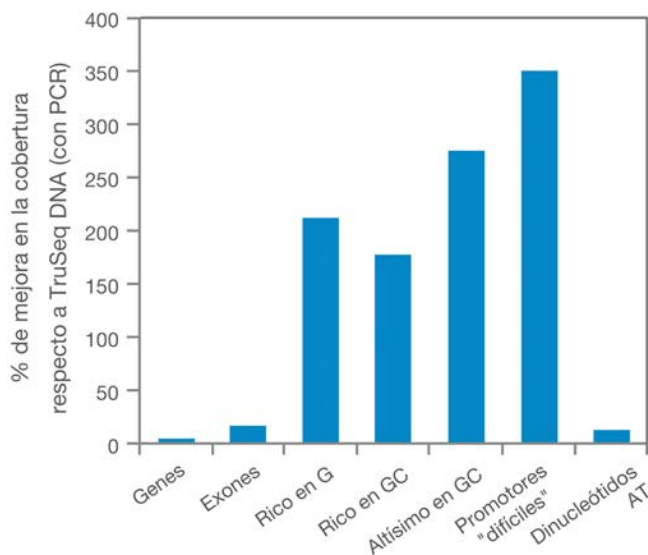


Figura 5. Mayor cobertura de regiones complicadas: las bibliotecas de TruSeq DNA Nano muestran una cobertura mejorada del contenido genómico complicado. Estas regiones son, entre otras, exones y genes de codificación de proteínas humanas y de codificación no proteica definidos en la pista de RefSeq Genes del UCSC Genome Browser.¹ Las regiones ricas en G se refieren a 30 bases con $\geq 80\%$ de G. Las regiones ricas en GC se refieren a 100 bases con $\geq 75\%$ de contenido de GC. Las regiones con altísimo GC se definen como 100 bases con $\geq 85\%$ de contenido de GC. Los promotores "difíciles" son el conjunto de 100 regiones promotoras con cobertura insuficiente, que han definido empíricamente el Broad Institute of MIT y Harvard.² Los dinucleótidos AT indican 30 bases de dinucleótidos AT repetidos.

Multiplexado de muestras eficaz

Gracias a un procedimiento sencillo, se añaden índices a los fragmentos de ADN de las muestras para proporcionar una solución innovadora de multiplexado de muestras. A fin de lograr la máxima eficiencia operativa, se pueden agrupar y secuenciar juntas en un solo carril de una celda de flujo de cualquier plataforma de secuenciación de Illumina hasta 96 muestras colocadas previamente en placas e indexadas de forma única. Después de la secuenciación, se emplean los índices para demultiplexar los datos y asignar lecturas de forma precisa a las muestras adecuadas del conjunto.

Con TruSeq DNA Nano se puede utilizar una estrategia de indexado individual o doble, que emplea una combinación única de dos índices para demultiplexar. Los adaptadores de índice doble exclusivo (UDI) se desarrollaron en colaboración entre Integrated DNA Technologies, Inc. (IDT) e Illumina para emplear pares exclusivos de índices para demultiplexar. Los UDI recientemente presentados (24 y 96, disponibles por separado) ofrecen una mayor plexicidad que permite una asignación precisa de lecturas y un uso eficiente de las celdas de flujo. El uso de combinaciones de UDI es una práctica recomendable para garantizar que las lecturas con índices incorrectos no afecten a la llamada de variantes.

Solución optimizada

TruSeq DNA Nano contiene reactivos de preparación de bibliotecas, bolas de purificación de muestras e índices TruSeq sólidos para el multiplexado, con lo que se ofrece un método completo de preparación optimizado para el máximo rendimiento en todas las plataformas de secuenciación de Illumina. TruSeq DNA Nano se sirve de la versatilidad de dos opciones, de 24 muestras y de 96 muestras, para aportar flexibilidad al diseño del experimento. Con un protocolo simplificado y unas opciones de multiplexado flexibles, TruSeq DNA Nano ofrece un método de preparación de bibliotecas optimizado que proporciona datos de secuenciación de alta calidad.

Resumen

TruSeq DNA Nano optimiza el protocolo de TruSeq para ofrecer un método de preparación de bibliotecas con poca cantidad de entrada para cualquier aplicación de secuenciación. Las opciones de alta y baja productividad y los diversos tamaños de fragmento lo dotan de una mayor flexibilidad para admitir varias aplicaciones y estudios genómicos. Las innovaciones en el flujo de trabajo permiten reducir el sesgo inducido por PCR y facilitar información detallada y precisa sobre el genoma. TruSeq DNA Nano se beneficia de un flujo de trabajo más rápido y de una calidad de datos mejorada, lo que le permite ofrecer un método exhaustivo de preparación de muestras para aplicaciones de secuenciación del genoma.

Información adicional

Para obtener más información acerca de TruSeq DNA Nano, visite www.illumina.com/products/truseq-nano-dna-sample-prep-kits.html

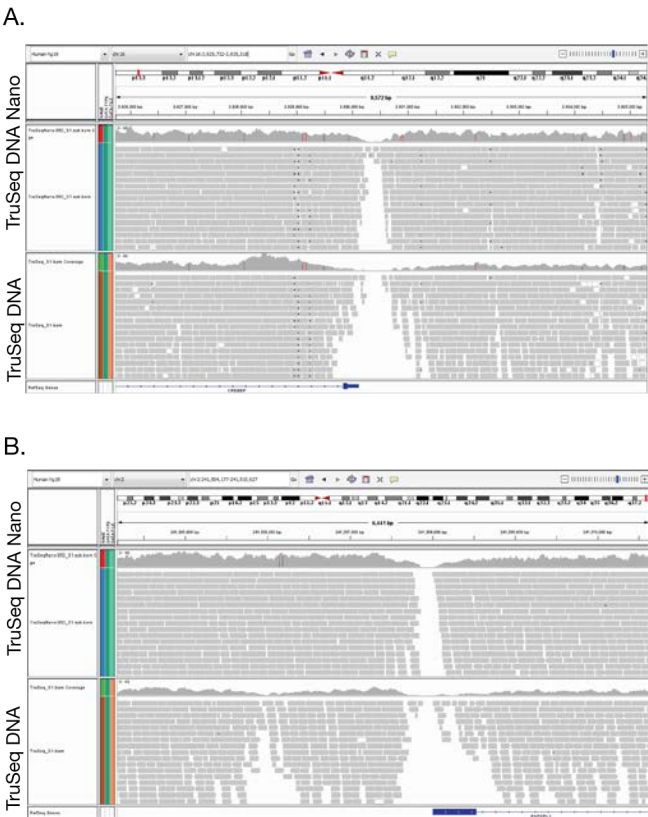


Figura 6. TruSeq DNA Nano reduce el número de huecos en la cobertura: la mayor cobertura de las bibliotecas de TruSeq DNA Nano permite obtener menos huecos en la cobertura, lo que se demuestra aquí en las regiones codificantes ricas en GC de los promotores *RNPEPL1* (A) y *ZBTB34* (B). La información de secuencias generada por la preparación de TruSeq DNA Nano se muestra en los paneles superiores de (A) y (B), mientras que los datos de secuencias generados mediante el protocolo de TruSeq DNA se indican en los paneles inferiores.

Datos del pedido

Producto	N.º de catálogo
TruSeq DNA Nano Low Throughput Library Prep Kit (24 samples)	20015964
TruSeq DNA Nano High Throughput Library Prep Kit (96 samples)	20015965
TruSeq DNA Single Indexes Set A (12 indexes, 24 samples)	20015960
TruSeq DNA Single Indexes Set B (12 indexes, 24 samples)	20015961
TruSeq DNA CD Indexes 96 samples	20015949
IDT for Illumina–TruSeq DNA UD Indexes (24 indexes, 96 samples)	20020590
IDT for Illumina–TruSeq DNA UD Indexes (96 indexes, 96 samples)	20022370

Referencias

1. University of California, Santa Cruz (UCSC) Genome Browser. genome.ucsc.edu. Acceso: julio de 2013.
2. The Broad Institute of MIT and Harvard. www.broadinstitute.org. Acceso: julio de 2013.

Illumina, Inc. • 1.800.809.4566 (llamada gratuita, EE. UU.) • Tel.: +1 858 202 4566 • techsupport@illumina.com • www.illumina.com

© 2020 Illumina, Inc. Todos los derechos reservados. Todas las marcas comerciales son propiedad de Illumina, Inc. o de sus respectivos propietarios. Si desea consultar información específica sobre las marcas comerciales, visite www.illumina.com/company/legal.html. N.º pub. 770-2013-012-F ESP QB11476

illumina