

# Kit flexible de enriquecimiento Nextera™

Un flujo de trabajo rápido e integrado para una amplia variedad de aplicaciones de enriquecimiento de objetivos, incluidos paneles personalizados, paneles fijos y secuenciación del exoma completo.

## Puntos destacados

- **Flujo de trabajo rápido de preparación y enriquecimiento de bibliotecas**

Proporciona una solución que ahorra tiempo y es un 85 % más rápida que la preparación y enriquecimiento estándar de bibliotecas de Illumina

- **Entrada de muestras integrada**

Mejora la eficacia de la preparación de bibliotecas gracias a los protocolos integrados para sangre y saliva

- **Amplia gama de aplicaciones**

Permite diseñar estudios avanzados de investigación oncológica, de investigación de enfermedades genéticas y de secuenciación del exoma completo

afectado, lo que ahorra tiempo y costes de kits y reactivos.

- El proceso de tagmentación en bolas suprime la necesidad de llevar a cabo pasos de fragmentación del ADN separados, lo que ahorra tiempo y evita los costes en consumibles.
- Para aportes de ADN entre 50 y 1000 ng, la normalización del ADN por saturación evita la necesidad de pasos individuales de cuantificación y normalización de la biblioteca antes del enriquecimiento.
- El novedoso protocolo de hibridación única de 90 minutos permite llevar a cabo el enriquecimiento en menos de cuatro horas.

## Introducción

La solución del kit flexible de enriquecimiento Nextera combina versatilidad, simplicidad y rapidez en los procesos de preparación y enriquecimiento de bibliotecas, para aplicaciones de enriquecimiento selectivo y secuenciación del exoma. Ofrece una extraordinaria flexibilidad en cuanto al tipo de entrada y la cantidad de entrada, así como una amplia gama de aplicaciones compatibles para secuenciación con enriquecimiento, que abarcan desde paneles personalizados y paneles fijos hasta secuenciación del exoma completo, tanto de Illumina como de terceros (Tabla 1).

El kit flexible de enriquecimiento Nextera emplea química innovadora basada en bolas con un único paso de hibridación simplificado (Figura 1). Con el flujo de trabajo del kit flexible de enriquecimiento Nextera, la extracción de ADN puede procesarse directamente a partir de muestras recientes de sangre o saliva, mediante el kit de reactivos para lisis Flex y el protocolo de lisis de saliva, respectivamente, para ahorrar aún más tiempo.

## Flujo de trabajo rápido y flexible para preparación y enriquecimiento de bibliotecas

Un componente clave de la solución del kit flexible de enriquecimiento Nextera es la tagmentación en bolas, que utiliza transposomas vinculados por bolas para mediar en una reacción de tagmentación uniforme. Esta estrategia ofrece varias ventajas importantes.

- Para aportes de ADN iguales o superiores a 50 ng, no es necesaria una cuantificación precisa de la muestra de ADN inicial, ya que el tamaño del fragmento insertado no se ve

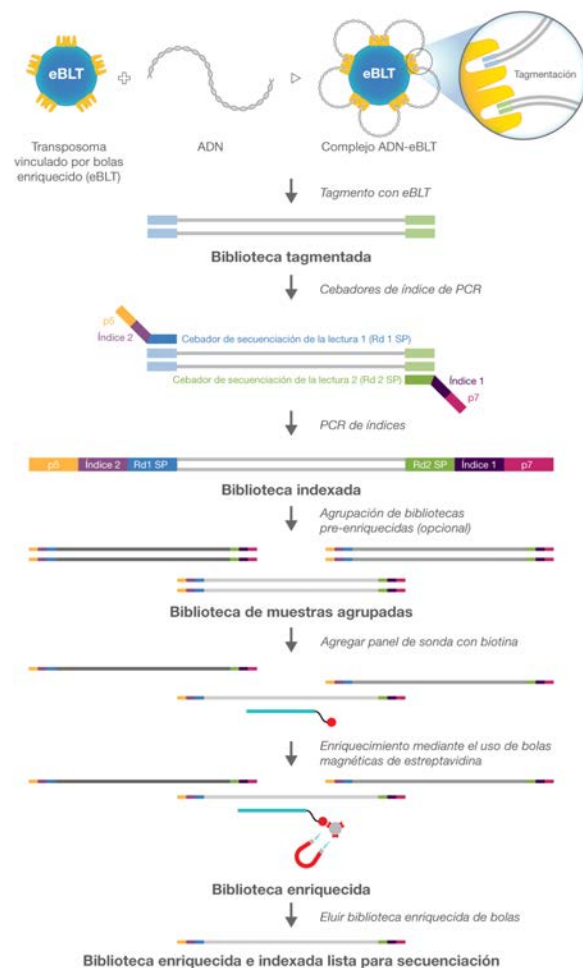


Figura 1: Kit flexible de enriquecimiento Nextera, procesos químicos del ensayo. Una reacción de tagmentación uniforme con los eBLT como mediadores, seguida de una reacción de hibridación única, permiten un flujo de trabajo rápido y flexible.

**Kit flexible de enriquecimiento Nextera (exoma de Illumina o personalizado)**

■ Tiempo de participación activa ■ Tiempo total de flujo de trabajo

**Figura 2:** El kit flexible de enriquecimiento Nextera ofrece el flujo de trabajo de enriquecimiento más rápido de Illumina. Los tiempos de flujo de trabajo se basan en el procesamiento de 12 muestras con enriquecimiento de 12 unidades de plexado. El tiempo puede variar dependiendo del equipo empleado, el número de muestras procesadas, los procesos de automatización o la experiencia del usuario.

**Tabla 1: Especificaciones del kit flexible de enriquecimiento Nextera**

Parámetro	Especificación
Tipo de ADN de entrada	ADNg, sangre completa, saliva, tejido extraído con ADN fijado en formol y embebido en parafina (FFPE)
ADN de entrada verificado <sup>a</sup>	10–1000 ng
Multiplexado de muestras	96 índices dobles únicos (UDI)
Agrupamiento de bibliotecas preenriquecidas <sup>b</sup>	Una unidad de plexado o 12 unidades de plexado verificadas y compatibles
Sistemas de secuenciación compatibles	Todos los sistemas de Illumina
Duración total del flujo de trabajo <sup>c</sup>	~ 6,5 horas

- Se pueden realizar aportes de ADN de tan solo 10 ng, pero no proporcionarán una normalización de ADN por saturación
- Son posibles otros plexados de enriquecimiento, pero no se han verificado. Puede que sea necesaria otra optimización y no se garantizan resultados óptimos
- Incluye los pasos de preparación de bibliotecas, enriquecimiento y normalización y agrupación de bibliotecas.

### El flujo de trabajo de enriquecimiento más rápido de Illumina

La solución del kit flexible de enriquecimiento Nextera admite el uso de sistemas de manipulación de líquidos para automatizar la preparación de bibliotecas y produce un flujo de trabajo con el menor número de pasos y la menor duración total de toda la gama de soluciones para enriquecimiento de Illumina (Figura 2) (Tabla 2).

### Entrada de ADN integrada

La extracción de ADN puede procesarse directamente desde muestras de sangre completa o de saliva. El kit de reactivos para lisis Flex opcional se ha optimizado y validado para la preparación de bibliotecas del kit flexible de enriquecimiento Nextera a partir de sangre completa y se integra en el flujo de trabajo para obtener la máxima eficiencia. Los protocolos de lisis cuentan con reactivos

basados en bolas y requieren menos de 30 minutos de tiempo de participación activa.



Illumina ofrece una amplia variedad de servicios para abarcar una gran diversidad de aplicaciones, entre las que se incluyen programas y colaboraciones de servicios, formación y asesoramiento mediante el flujo de trabajo de la NGS. [Información adicional >](#)

### Rendimiento optimizado en los sistemas de secuenciación de Illumina

La solución del kit flexible de enriquecimiento Nextera, sólida y sencilla, proporciona resultados fiables en todos los sistemas de secuenciación de Illumina puesto que ofrece > 90 % de lecturas en objetivo, > 95 % de uniformidad y una baja tasa de duplicación de PCR (Tabla 3). El kit flexible de enriquecimiento Nextera está optimizado para sistemas de alta productividad (Figura 3) (Tabla 4).



**Figura 3:** El kit flexible de enriquecimiento Nextera ofrece un rendimiento optimizado en los sistemas de secuenciación de Illumina. La solución del kit flexible de enriquecimiento Nextera es compatible con todos los sistemas de secuenciación de Illumina, incluidos los sistemas de alta productividad y de escala de producción.

Tabla 2: Comparación de flujos de trabajo de enriquecimiento de Illumina

	Kit flexible de enriquecimiento Nextera	TruSeq DNA Exome	Nextera DNA Exome	Enriquecimiento personalizado de captura rápida de Nextera
Opción de ADN integrada <sup>a</sup>	✓	—	—	—
Rango de entrada de ADN amplio y flexible	✓	—	—	—
Normalización de bibliotecas incluida <sup>b</sup>	✓	—	—	—
Compatible con FFPE	✓	✓	—	—
Cantidad de ADN de entrada necesaria	10-1000 ng	100 ng	50 ng	50 ng
Tiempo total de preparación de bibliotecas <sup>c</sup>	~6,5 horas	2,5 días	2 días	1,5 días
Tamaño de fragmento <sup>d</sup>	150–220 pb	150 pb	150–220 pb	230 pb
Conjuntos de índices de muestras	96 índices dobles únicos	24 índices individuales y 96 índices dobles	24 índices individuales y 96 índices dobles	24 índices individuales y 96 índices dobles

a. Protocolos de lisis integrados para sangre y saliva

b. La normalización de las bibliotecas se produce con cantidades de entrada de ADN iguales o superiores a 50 ng.

c. El tiempo total de preparación y enriquecimiento de las bibliotecas incluye la preparación, la normalización y la agrupación de bibliotecas.

d. El ADN de del FFPE degradado puede dar como resultado fragmentos más pequeños

Tabla 3: Comparación de rendimiento<sup>a</sup>

Parámetro <sup>b</sup>	Kit flexible de enriquecimiento Nextera	Kit flexible de enriquecimiento Nextera	Kit flexible de enriquecimiento Nextera	TruSeq DNA Exome	Nextera DNA Exome
Panel	Panel de exomas de Illumina	Panel de exomas X	Panel de exomas Y	Panel de exomas de Illumina	Panel de exomas de Illumina
Tamaño del panel	45 Mb	39 Mb	33 Mb	45 Mb	45 Mb
Tamaño de la sonda	80 pb	120 pb	120 pb	80 pb	80 pb
Lectura de enriquecimiento completada (en objetivo) <sup>c</sup>	85 %	91 %	91 %	85 %	75 %
Mediana de longitud del fragmento	~ 200 pb	~ 200 pb	~ 200 pb	~ 150 pb	~ 200 pb
% de cobertura en 20x	93 %	96 %	97 %	90 %	85 %
Uniformidad de cobertura <sup>c</sup>	95 %	97 %	98 %	85 %	85 %
Profundidad de lectura por muestra	30 millones de grupos PF	25 millones de grupos PF	20 millones de grupos PF	40 millones de grupos PF	40 millones de grupos PF
Precisión de SNV	99 %	99 %	99 %	99 %	99 %
Recuperación de SNV	94 %	94 %	95 %	89 %	91 %

a. Los datos son datos de comparación de ejemplo. Las especificaciones del rendimiento real pueden ser diferentes.

b. El análisis se realizó en 48 muestras (todas las muestras Coriell NA12878) según su estado. El análisis de los datos se realizó con la aplicación Enrichment BaseSpace.

c. Consulte más detalles en la Guía del usuario de la aplicación BaseSpace<sup>3</sup>.

**Tabla 4: Productividad de muestras por celda de flujo con el kit flexible de enriquecimiento Nextera**

Panel	Sistema iSeq 100		Sistema MiniSeq		MiSeq System			Serie NextSeq	
	Medio	Elev	v2	v2 Nano/Micro	v3	Medio	Elev		
<b>Paneles fijos</b>									
TruSight One	NR	NR	2	1	0/0	3	12	36	
TruSight One Expanded	NR	NR	1	0	0/0	1	7	24	
TruSight Cancer	4	8	24	12	1/4	24	96	384	
TruSight Cardio	4	8	24	12	1/4	24	96	384	
<b>Paneles personalizados</b>									
2000 sondas	8	16	50	30	2/8	50	260	384	
5000 sondas	2	4	12	8	1/2	12	65	200	
10 000 sondas	1	2	6	4	0/1	6	33	100	

Abreviaturas: Elev, rendimiento elevado; NR, no recomendado

Panel	Serie NextSeq		Serie HiSeq		Sistema NovaSeq 6000			
	Medio	Elev	2500 ER/AR	3000/4000	SP	S1	S2	S4
Exoma Illumina	5	16	12/80	100	64	128	164	384
Panel de exomas X	5	16	12/80	100	64	128	164	384
Panel de exomas Y	6	20	15/100	125	80	160	205	384

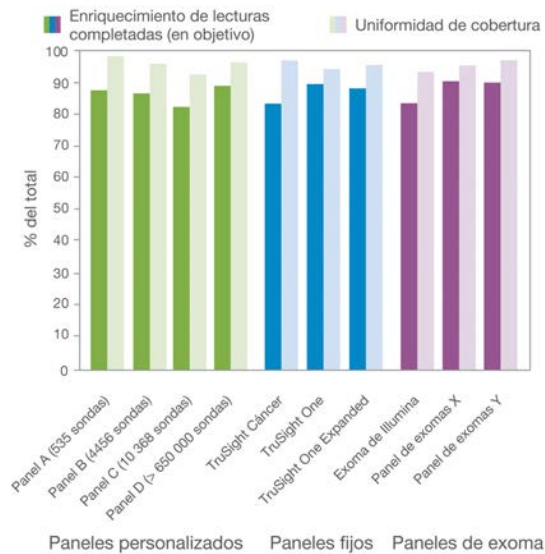
Abreviaturas: Elev, rendimiento elevado; ER, modo de experimento rápido; AR, modo de alto rendimiento (v4)

### Enriquecimiento de ADN para una amplia gama de aplicaciones

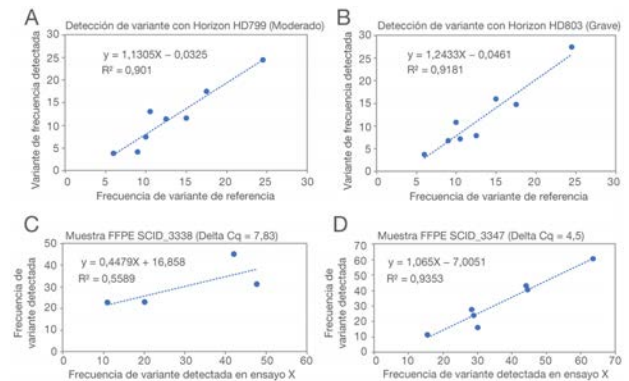
Al combinar el rendimiento excepcional del enriquecimiento y la precisión demostrada de la química de secuenciación por síntesis (SBS) de Illumina, la solución del kit flexible de enriquecimiento Nextera admite tanto paneles fijos como personalizados de distintos tamaños, incluida la secuenciación del exoma completo, para diseños de estudios avanzados en distintas áreas (Figura 6). Además, el kit flexible de enriquecimiento Nextera es compatible con sondas y paneles de enriquecimiento de Illumina y de terceros, lo que permite la portabilidad de contenido con el consiguiente aumento de flexibilidad.

### Datos precisos

El kit flexible de enriquecimiento Nextera ofrece fragmentos de tamaño muy uniforme y homogéneo en una gran variedad de entrada de ADN y presenta rendimientos de biblioteca uniformes y homogéneos.<sup>1</sup> Además, proporciona una gran uniformidad de cobertura y enriquecimiento de lectura completada para paneles personalizados, fijos y de exoma (Figura 4). El kit flexible de enriquecimiento Nextera ofrece exactitud en la recuperación y precisión de variantes de nucleótido único (SNV) (Figura 5 y Tabla 3) e inserciones/deleciones (indel) en comparación con otras soluciones de enriquecimiento de Illumina.



**Figura 4: Alta uniformidad de cobertura y enriquecimiento de lectura completada.** El kit flexible de enriquecimiento Nextera ofrece alta uniformidad de cobertura y enriquecimiento de lectura completada en objetivo para paneles personalizados, fijos y de exoma.



**Figura 5: Llamadas de variante precisas.** El kit flexible de enriquecimiento Nextera ofrece pocos resultados en llamadas de variante somática en (A, B) muestras de control de ADN humano FFPE de estirpe celular y en (C, D) muestras FFPE del mundo real, con una frecuencia de variante observada que muestra una correlación significativa con las frecuencias observadas en un ensayo de secuenciación de ortólogos.



**Figura 6: Amplia variedad de aplicaciones con el kit flexible de enriquecimiento Nextera.** El kit flexible de enriquecimiento Nextera puede utilizarse para abarcar una amplia gama de aplicaciones, entre las que se incluyen paneles fijos, paneles personalizados y secuenciación del exoma completo.

## Resumen

El kit flexible de enriquecimiento Nextera incluye el flujo de trabajo más rápido de la gama de soluciones de enriquecimiento de Illumina. Esta solución de uso sencillo y con posibilidad de automatización es apta para usuarios de cualquier nivel de experiencia y proporciona un flujo de trabajo común para toda una variedad de diseños de experimentos. Los procesos químicos de tagmentación en bolas admiten una amplia variedad de cantidades de entrada de ADN, diversos tipos de muestras y muchas aplicaciones distintas, incluidos paneles fijos, paneles personalizados la secuenciación del exoma completo. Además, el kit flexible de enriquecimiento Nextera es compatible con sondas y paneles de enriquecimiento de Illumina y de terceros, lo que permite la portabilidad de contenido. La innovadora solución del kit flexible de enriquecimiento Nextera, combinada con la potencia de los procesos químicos de SBS de Illumina, ofrece uno de los mejores resultados en enriquecimiento selectivo y secuenciación del exoma.

## Referencias

1. Illumina (2017). [Hoja de datos del kit flexible de preparación de bibliotecas de ADN de Nextera](#) (en inglés). Consultada el 10 de septiembre de 2018.
2. Illumina (2017). Guía de la aplicación BaseSpace [BWA Enrichment v2.1](#). Consultada el 28 de septiembre de 2018.

## Datos para realizar pedidos

Puede solicitar en línea los productos del kit flexible Nextera en [www.illumina.com](http://www.illumina.com)

Producto	N.º de catálogo
Kit flexible de reactivos de preparación y enriquecimiento de bibliotecas previa al enriquecimiento de ADN de Nextera (96 muestras (8 reacciones de enriquecimiento de 12 unidades de plexado))	20025524
Kit flexible de reactivos de preparación y enriquecimiento de bibliotecas previa al enriquecimiento de ADN de Nextera (16 muestras (16 reacciones de enriquecimiento de una unidad de plexado))	20025523
Kit flexible de reactivos de preparación de bibliotecas previa al enriquecimiento de ADN de Nextera (96 muestras)	20025520
Kit flexible de reactivos de preparación de bibliotecas previa al enriquecimiento de ADN de Nextera (16 muestras)	20025519
Kit de reactivos para lisis Flex (para lisis de sangre)	20018706
IDT para Illumina - Índices dobles únicos de ADN de Nextera, Juego A (96 índices, 96 muestras)	20027213
IDT para Illumina - Índices dobles únicos de ADN de Nextera, Juego B (96 índices, 96 muestras)	20027214
IDT para Illumina - Índices dobles únicos de ADN de Nextera, Juego C (96 índices, 96 muestras)	20027215
IDT para Illumina - Índices dobles únicos de ADN de Nextera, Juego D (96 índices, 96 muestras)	20027216
IDT para Illumina - Índices dobles únicos de ADN de Nextera, Juegos A-D (384 índices, 384 muestras)	20027217
Panel de exomas de Illumina (8 reacciones de enriquecimiento)	20020183
TruSight Cancer (8 reacciones de enriquecimiento)	FC-121-0202
TruSight One (6 reacciones de enriquecimiento)	20029227
TruSight One Expanded (6 reacciones de enriquecimiento)	20029226
TruSight Cardio (8 reacciones de enriquecimiento)	20029229
TruSeq Neurodegeneration (8 reacciones de enriquecimiento)	20029550
Panel de enriquecimiento personalizado de Illumina	20025371