



illumina®

Haciendo el descubrimiento genómico más accesible para más laboratorios

Aplicaciones de mesa para secuenciación de próxima generación

Solo para uso en investigación. No debe utilizarse en procedimientos de diagnóstico.

Índice

3 Simplificación de NGS para mayor accesibilidad

5 Análisis microbiano rápido y sin cultivo

- » Secuenciación de microbiomas con sistemas de mesa
- » Métodos populares de secuenciación microbiana
 - Secuenciación del genoma pequeño completo para investigación de seguridad alimentaria
 - Secuenciación de ARNr 16S para investigación de microbioma humano
 - Secuenciación metagenómica para la investigación de enfermedades infecciosas

8 Secuenciación accesible y dirigida de genes clave

- » Secuenciación de ADN dirigida con sistemas de mesa
- » Métodos populares de secuenciación de ADN dirigidos
 - Secuenciación del exoma para la investigación de enfermedades genéticas

10 Análisis integral e imparcial de la expresión génica

- » RNA-Seq con sistemas benchtop
- » Métodos populares de RNA-Seq
 - RNA-Seq basada en enriquecimiento para la investigación del cáncer

12 Perspectivas epigenéticas accesibles y ricas en datos

- » Secuenciación epigenética con sistemas de mesa
- » Métodos populares de secuenciación epigenética

13 Exploración multiómica de alta resolución

- » Secuenciación multiómica con sistemas de mesas de laboratorio
- » Métodos populares de secuenciación multiómica
 - RNA-Seq de célula única para investigación inmunooncológica
 - RNA-Seq espacial para investigación de desarrollo humano

16 Sistemas destacados de secuenciación de mesa de Illumina

- » MiSeq™ i100 Series
- » Sistemas NextSeq™ 1000 y NextSeq 2000
- » Simplicidad operativa diaria
- » Generación de datos rápida y altamente precisa
- » Illumina como socio de confianza

20 Resumen

21 Referencias

Simplificación de NGS para mayor accesibilidad

Científicos de todo el mundo están adoptando métodos de secuenciación de próxima generación (NGS, next-generation sequencing) para obtener una comprensión más profunda de los sistemas biológicos. La NGS es una herramienta flexible que ayuda a responder múltiples preguntas experimentales con lecturas de secuenciación. En comparación con las tecnologías convencionales, la NGS ofrece mayor escala y sensibilidad, lo que proporciona resultados más integrales para ayudar a abordar muchas preguntas genómicas complejas. Con la capacidad de interrogar genomas grandes y pequeños, expresión génica, accesibilidad a la cromatina, la metilación y más, la NGS es un motor de descubrimiento versátil.

A medida que los sistemas de NGS se vuelven más poderosos para ayudar al descubrimiento genómico, también son más fáciles de usar y más rentables. En los últimos 20 años, el costo de la NGS ha disminuido rápidamente y los flujos de trabajo se han simplificado, lo que ha llevado a un aumento en su uso.^{1,2} El análisis de datos de grandes conjuntos de datos de NGS también se ha vuelto cada vez más fácil de usar, lo que permite la interpretación automatizada de datos sin conocimiento previo de bioinformática.³

Los sistemas de secuenciación de mesa ofrecen capacidades de secuenciación ajustables con tiempos de respuesta rápidos, lo que hace que la NGS sea más accesible para una gama más amplia de usuarios. Los sistemas de mesa Illumina combinan simplicidad operativa con alto rendimiento, lo que integra los últimos desarrollos en química y análisis de datos para mejorar la capacidad y velocidad de secuenciación.

Los sistemas de mesa de bajo y medio rendimiento ofrecen una amplitud de secuenciación flexible para admitir una amplia gama de aplicaciones mediante una salida escalable de millones de bases (megabases o Mb) a miles de millones de bases (gigabases o Gb). Los sistemas de mesa de bajo rendimiento son más adecuados para aplicaciones de secuenciación de genoma completo pequeño, metagenómica microbiana y secuenciación de genes dirigidos o para el control de calidad (QC) de la biblioteca antes de estudios a gran escala. Los laboratorios enfocados en métodos ricos en datos como la secuenciación de exoma completo y de célula única deben considerar un sistema de mesas de laboratorio de rendimiento medio. Este libro electrónico destaca algunos de los métodos y aplicaciones más populares para los sistemas de secuenciación de mesa, desde la genómica microbiana hasta la multiómica.



Más información

[Elegir un sistema de secuenciación de mesa](#)

[¿Es nuevo en la NGS? Aprender los conceptos básicos](#)

Sistemas de mesa Illumina y aplicaciones de ejemplo



Sistema	Serie MiSeq i100	Sistemas NextSeq 1000 y NextSeq 2000
Tipo de sistema	Sistemas de mesa de bajo rendimiento	Sistemas de mesa de rendimiento medio
Salida	1,5 Gb a 30 Gb	10 Gb a 540 Gb
Lecturas por ejecución	5 millones a 100 millones	100 millones a 1800 millones
Ventajas	• Flujo de trabajo rápido para muestras dirigidas o secuenciación Shotgun o funcional • Adecuado para estudios piloto y control de calidad de bibliotecas antes de proyectos más grandes	• Flexibilidad para una amplia gama de aplicaciones emergentes como la biología espacial y la secuenciación de célula única • Mayor rango de salida mientras se mantiene una huella de mesa de laboratorio
Secuenciación de genoma completo		● ●
Secuenciación de genoma pequeño completo	● ● ●	● ● ●
Secuenciación del exoma y del panel grande		● ● ●
Secuenciación génica dirigida	● ● ●	● ● ●
Perfil de célula única		● ● ●
Secuenciación del transcriptoma	● ●	● ● ●
Perfil de expresión génica dirigida	● ● ●	● ●
miARN y análisis de ARN pequeño	● ● ●	● ● ●
Análisis de cromatina		● ● ●
Secuenciación de metilación		● ●
Secuenciación metagenómica 16S	● ● ●	● ● ●
Metagenómica Shotgun	● ● ●	● ●
Perfil metagenómico		● ● ●
Secuenciación sin células		● ●
Control de calidad de la biblioteca	● ● ●	● ●

● ● ● Aplicación clave ● ● Aplicación compatible

Análisis microbiano rápido y sin cultivo

La genómica microbiana proporciona información sobre el impacto de los microbios en la salud humana y los procesos ambientales. La NGS se establece como una herramienta importante para analizar genomas pequeños, incluidas bacterias, virus y otros microbios. Para los microbiólogos, la NGS facilita el descubrimiento de microbios nuevos y la caracterización de organismos difíciles de cultivar. La secuenciación del microbioma también permite la creación de genomas de referencia precisos esenciales para la identificación microbiana y los estudios genómicos comparativos en diversas aplicaciones. Esta tecnología es además fundamental en la investigación de brotes de enfermedades infecciosas, el registro de la resistencia a los antibióticos y la identificación de patógenos transmitidos por los alimentos.

Secuenciación de microbiomas con sistemas de mesa

Los sistemas de secuenciación de mesas de laboratorio son adecuados para estudiar la genómica microbiana, para mejorar la accesibilidad y la profundidad de la investigación del microbioma. Al utilizar sistemas de NGS compactos y rentables, los investigadores pueden obtener información integral de las comunidades microbianas que superan los métodos tradicionales basados en el cultivo. Los kits de reactivos de secuenciación que pueden generar lecturas de extremos emparejados de 300 pares de bases (bp) son especialmente útiles para los métodos de secuenciación microbiana, lo que permite el ensamblaje del genoma *de novo* y la detección metagenómica de especies bacterianas.

Métodos populares de secuenciación microbiana

Secuenciación de genoma completo pequeño

La secuenciación basada en NGS de genomas pequeños (tamaño ≤ 5 Mb) permite a los investigadores secuenciar cientos de organismos simultáneamente con un flujo de trabajo simple. La NGS puede identificar variantes de baja frecuencia y reordenamientos del genoma que otros métodos pueden omitir.⁴



Más información

[Secuenciación microbiana de genoma completo](#)

[Guía de métodos: Secuenciación microbiana de un solo genoma](#)

[Nota de aplicación: Secuenciación de genoma completo pequeño en los sistemas NextSeq 1000 y NextSeq 2000](#)

[Nota de aplicación: Secuenciación microbiana del genoma completo con Illumina DNA PCR-Free Prep, Etiquetación](#)



Secuenciación del genoma completo pequeño para investigación de seguridad alimentaria

La NGS es una herramienta clave para las pruebas de alimentos en la salud pública. Dos brotes de intoxicación alimentaria por *Salmonella* ocurrieron simultáneamente en un distrito de Sudáfrica, uno en una guardería y otro en un restaurante. Los investigadores utilizaron una secuenciación del genoma completo pequeño de muestras de heces y muestras de alimentos de ambos brotes para encontrar vínculos epidemiológicos entre los dos casos. Las cepas encontradas en las muestras de la guardería y las muestras del restaurante estuvieron muy relacionadas con menos de cinco diferencias de alelos entre ellas. La estrecha relación de las cepas de *Salmonella* de esta investigación indicó una fuente común de alimentos contaminados, probablemente los huevos.⁵

Secuenciación del ARN ribosomal (ARNr) 16S

El gen de ARNr 16S procariota, de aproximadamente 1500 pb de longitud, contiene nueve regiones variables en medio de secuencias conservadas. Las secuencias de regiones variables clave pueden servir como marcadores efectivos para la clasificación filogenética, lo que permite la evaluación de la diversidad microbiana y la abundancia dentro de comunidades complejas.^{6,7}



Más información

[Protocolo demostrado: preparación de la biblioteca de secuenciación metagenómica de 16s](#)

[Secuenciación de ARN de 16s](#)

[Guía de métodos: Secuenciación ribosomal 16S](#)

[Nota de aplicación: Secuenciación de ARNr 16S en sistemas NextSeq 1000 y NextSeq 2000](#)

[Nota de aplicación: Estudios de metagenómica 16S con el sistema MiSeq](#)



Secuenciación de ARNr 16S para investigación de microbioma humano

El microbioma humano tiene un gran impacto en la salud bucal y puede informar nuestra comprensión de los mecanismos de la enfermedad. Los investigadores de Corea del Sur utilizaron la secuenciación del ARNr 16S para caracterizar el microbioma en sujetos con infecciones por implantes dentales, lo que aumenta el riesgo de pérdida ósea adicional. En comparación con el microbioma de sujetos con encías sanas o sujetos con enfermedad grave de las encías, las comunidades bacterianas asociadas con infecciones de implantes dentales mostraron una mayor diversidad. El análisis de datos identificó patógenos bien conocidos asociados con la enfermedad de las encías y varias bacterias previamente no reconocidas en el tejido de las encías. Los resultados indicaron que las infecciones del implante dental causan una respuesta inflamatoria más compleja que involucra más bacterias en comparación con la enfermedad grave de las encías.⁸



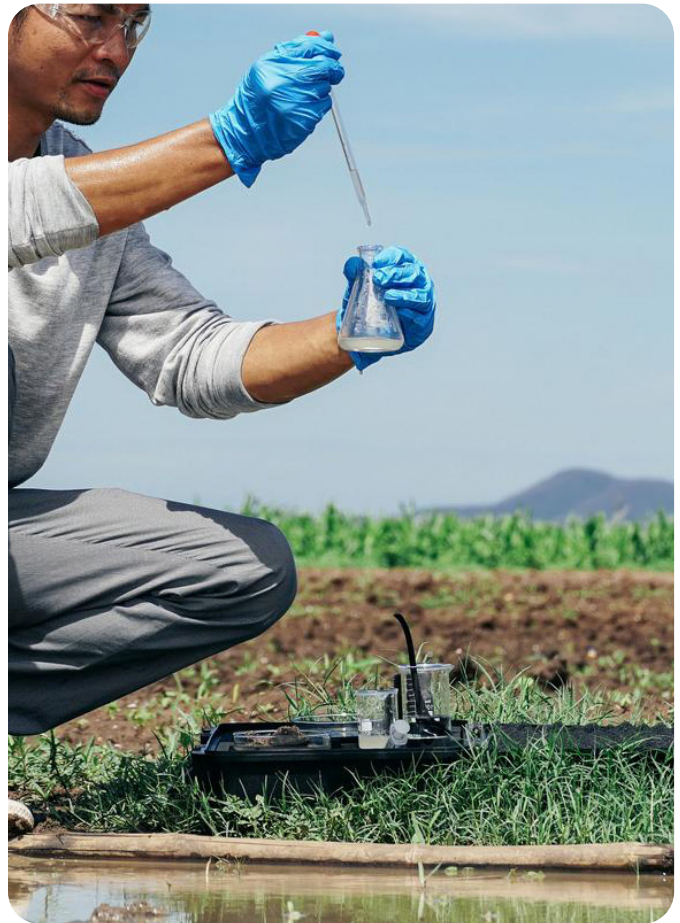
Secuenciación metagenómica Shotgun

La metagenómica Shotgun implica la secuenciación e identificación integral de todos los microorganismos en una muestra compleja. La secuenciación de las comunidades microbianas ayuda a los investigadores a evaluar la diversidad bacteriana y detectar la abundancia de microorganismos en diversos entornos.



Secuenciación metagenómica para la investigación de enfermedades infecciosas

Como virus de ADN bicatenario con capacidades de corrección, el virus de la varicela (MPXV) generalmente evoluciona más lentamente en comparación con el SARS-CoV-2 y otros virus de ARN. El MPXV es endémico en partes de África y generalmente se propaga de animales a seres humanos. Sin embargo, en 2022, una cepa de MPXV, adaptada para la transmisión entre seres humanos, causó varios cientos de infecciones en todo el mundo. Los investigadores de Portugal utilizaron la secuenciación metagenómica shotgun para dar un seguimiento de los orígenes filogenéticos de esta cepa MPXV circulante. La cepa de 2022 estuvo relacionada con casos de 2018, pero había acumulado docenas de mutaciones a una tasa acelerada. Los datos de secuenciación mostraron cambios en la base asociados con una familia de enzimas humanas que combaten el virus denominada APOBEC3. Estas enzimas inducen mutaciones en el ADN viral para eliminar esos virus, pero en este caso, simplemente aceleraron la evolución de esta cepa MPXV para que sea más virulenta.⁹



Más información

[Secuenciación metagenómica Shotgun](#)

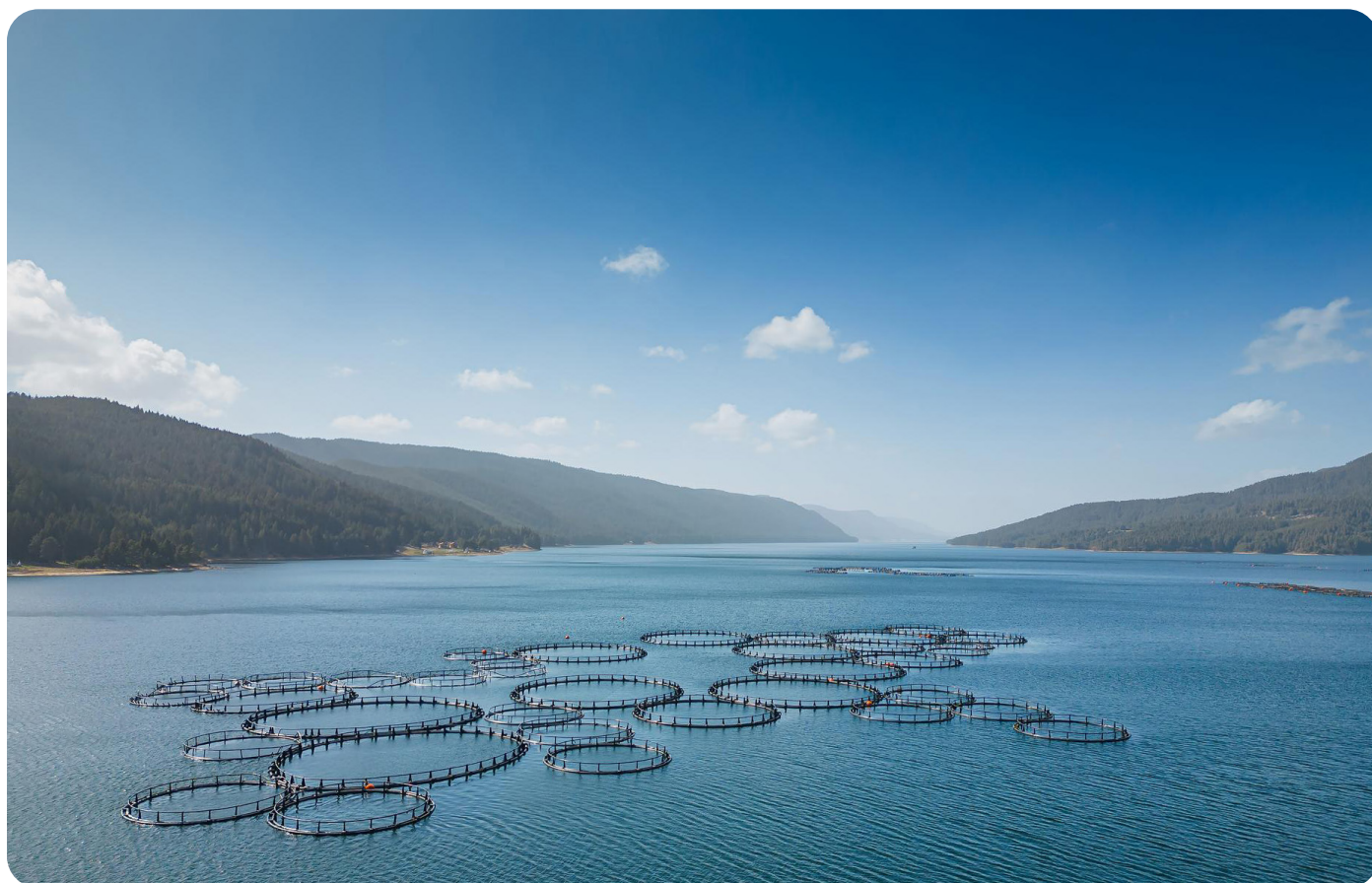
[Nota de aplicación: Un flujo de trabajo de la NGS de metagenómica Shotgun para evaluar poblaciones microbianas en muestras complejas](#)

Secuenciación asequible y dirigida de genes clave

La secuenciación dirigida del ADN examina genes o regiones genómicas específicos, lo que permite a los investigadores enfocar estudios en el exoma o genes seleccionados para acelerar los tiempos de respuesta y permitir una secuenciación profunda para la detección de variantes raras. Este enfoque es más rentable que la secuenciación del genoma completo para investigar áreas específicas de interés, lo que permite la detección de una amplia gama de alteraciones genómicas, incluidas variantes de nucleótido único, inserciones, deleciones, cambios en el número de copias y aberraciones cromosómicas. La secuenciación de ADN dirigida permite estudios escalables con la capacidad de secuenciar múltiples muestras simultáneamente.

Secuenciación de ADN dirigida con sistemas de mesas de laboratorio

El diseño fácil de usar y la pequeña huella de los sistemas de secuenciación de mesas de laboratorio ayudan a llevar capacidades de secuenciación de ADN dirigidas a más laboratorios, incluso a aquellos en ubicaciones únicas. Por ejemplo, la Fundación Minderoo en Australia utiliza un sistema NextSeq 2000 a bordo de su embarcación de investigación marina. Los científicos están recolectando ADN ambiental del agua de mar y produciendo datos genómicos de alta calidad en tan solo horas, revelando qué especies están presentes y cómo el cambio climático está afectando esa región.¹⁰ Los sistemas de mesas de laboratorio de rendimiento medio también permiten a los laboratorios de investigación clínica llevar ensayos dirigidos como el perfil genómico integral internamente.¹¹⁻¹³



Métodos populares de secuenciación de ADN dirigidos

Secuenciación de ADN dirigida de amplicones

La secuenciación profunda de los productos de PCR (amplicones) permite la identificación y caracterización eficientes de las variantes genéticas. Este enfoque utiliza sondas de oligonucleótidos para amplificar regiones específicas de interés, seguidas de NGS. La multiplexación de cientos a miles de amplicones por reacción permite una cobertura integral, particularmente para secuencias desafiantes como regiones ricas en GC.

Secuenciación de ADN dirigida de enriquecimiento

La secuenciación dirigida del ADN a través del enriquecimiento implica la captura de regiones genómicas específicas mediante el uso de sondas biotiniladas diseñadas para la hibridación, seguidas de aislamiento magnético de tracción y NGS. Este método es eficaz para la secuenciación de exomas o grandes conjuntos de genes (>50 genes) con flujos de trabajo sólidos y directos.

Secuenciación del exoma

La secuenciación del exoma completo utiliza enriquecimiento para enfocarse en ~2 % del genoma que codifica las proteínas para la identificación eficiente de variantes codificantes en una amplia gama de aplicaciones, incluidas la genética de la población, la enfermedad genética y los estudios de cáncer. La secuenciación del exoma es una alternativa rentable a la secuenciación del genoma completo, gracias a la combinación accesible de tiempo de respuesta y precio.



Secuenciación del exoma para la investigación de enfermedades genéticas

La endometriosis es una enfermedad inflamatoria crónica que muestra una alta heredabilidad, pero solo el 25 % de los casos se explican por variantes comunes. Los investigadores de Türkiye realizaron secuenciación del exoma completo en tres mujeres de la misma familia con endometriosis. Identificaron tres nuevas variantes raras probablemente relevantes para la patogénesis de la enfermedad: *TNFRSF1B*, *GEN1* y *CRABP1*. El gen *TNFRSF1B* codifica un receptor de TNF que promueve la angiogénesis en el endometrio y regula la apoptosis. Los genes *GEN1* y *CRABP1* son supresores de tumores y se han asociado con cáncer de endometrio.¹⁴



Más información

[Secuenciación de amplicones](#)

[Enriquecimiento de objetivos](#)

[Secuenciación del exoma](#)

[Guía de métodos: Paneles oncológicos pequeños](#)

[Nota de aplicación: Solución de secuenciación del exoma NextSeq 1000 y NextSeq 2000](#)

Análisis integral e imparcial de la expresión génica

La secuenciación de ARN (RNA-Seq) es una herramienta poderosa en la biología moderna, que ofrece un análisis muy sensible y preciso de la expresión génica en todo el transcriptoma. A diferencia de los métodos tradicionales que se centran en transcripciones seleccionadas, RNA-Seq proporciona una visión integral del ARN celular, revelando cambios previamente indetectables en la expresión génica y permitiendo la caracterización de diversas formas de ARN no codificantes. Este enfoque imparcial permite a los investigadores explorar la arquitectura del transcriptoma en profundidad, identificando isoformas de transcripción, fusiones génicas, variantes de un solo nucleótido y otras características cruciales para comprender los mecanismos del cáncer y las enfermedades genéticas.

RNA-Seq con sistemas de mesas de laboratorio

La transcriptómica es un punto de entrada accesible para el uso de NGS, dada su versatilidad en todos los casos de uso y flujos de trabajo bien establecidos.^{15,16} La salida flexible de los sistemas de mesas de laboratorio funciona para múltiples métodos de análisis de ARN, desde transcripciones dirigidas hasta transcriptomas completos. Las longitudes de lectura más cortas (p. ej., 1 × 50 pb) respaldan el recuento de aplicaciones como el análisis de expresión génica, mientras que las longitudes de lectura más largas (p. ej., 2 × 300 pb) permiten la secuenciación del repertorio inmunitario.

Métodos populares de RNA-Seq

RNA-Seq total

El ARN ribosomal (ARNr) puede representar el 80 % de las transcripciones. Las preparaciones de biblioteca de ARN total basadas en agotamiento eliminan las transcripciones de ARNr que no son informativas y permiten un análisis integral del transcriptoma, cubriendo el panorama de ARN codificante y no codificante. La RNA-Seq total permite la medición precisa de la abundancia de genes y transcripciones, y la detección de características de codificación conocidas y novedosas y múltiples formas de ARN no codificante.

mRNA-Seq

Las preparaciones de la biblioteca de ARNm basadas en la captura de poliA extraen transcripciones de ARNm con una cola de poli A 3'. La mRNA-Seq ofrece una medición sensible y precisa de la expresión génica y puede identificar isoformas conocidas y novedosas en el transcriptoma codificante, detectar fusiones génicas y medir la expresión específica del alelo. Debido a que se necesita una cola de poliA intacta, no es ideal para muestras degradadas.

RNA-Seq basada en enriquecimiento

Las preparaciones de la biblioteca de ARN de captura de hibridación utilizan un enfoque basado en sonda para dirigir transcripciones de interés y permitir la detección sensible de eventos de empalme y fusiones, incluso en muestras degradadas. Este método permite el análisis rentable del exoma de ARN mediante el uso de captura específica de la secuencia de las regiones codificantes del transcriptoma.



Más información

[Secuenciación de ARN total](#)

[Secuenciación del ARNm](#)

[Secuenciación de captura del exoma de ARN](#)

[Guía de métodos: Secuenciación de ARN](#)

[Nota de aplicación: Solución de secuenciación de ARN NextSeq 1000 y NextSeq 2000](#)



RNA-Seq basada en enriquecimiento para la investigación del cáncer

Los investigadores de la República Checa emplearon la RNA-Seq dirigida junto con secuenciación de ADN de línea germinal para evaluar el impacto funcional de las variantes de ADN en el riesgo de cáncer hereditario, centrándose en un panel de 226 genes relacionados con el cáncer. Este enfoque facilitó la evaluación de transcripciones clínicamente relevantes en tejidos de fácil acceso, como sangre o hisopados nasales. La NGS basada en la captura de ARN permitió la detección de genes de baja expresión y variantes de empalme. La integración del análisis de ARN con la secuenciación de ADN demostró ser fundamental para caracterizar variantes de importancia incierta (VUS), como la variante G > A en el gen *CHEK2*, el cual demostró que causa un empalme anormal y se reclasificó como patógena.¹⁷



Secuenciación del repertorio inmunitario

Durante una respuesta inmunitaria, el repertorio de receptores de antígenos circulantes cambia de un grupo diverso a uno que está dominado por uno o algunos clones expandidos. El perfil del repertorio inmunitario secuencia las transcripciones de ARN para los receptores de antígenos a fin de identificar variantes de receptores únicas y caracterizar la respuesta inmunitaria adaptativa.



Más información

[Inmunogenómica](#)

[Nota de aplicación: V\(D\)J IR-Seq de longitud completa en los sistemas NextSeq 1000 y NextSeq 2000](#)

Perspectivas epigenéticas accesibles y ricas en datos

La genética sola no es suficiente para explicar la enfermedad compleja y el desarrollo. Las influencias externas, como las condiciones ambientales, la dieta y la actividad física, pueden inducir cambios epigenéticos que alteran cómo, dónde y cuándo se expresan genes específicos.¹⁸ Los investigadores pueden usar métodos de NGS epigenética para cuantificar y analizar las modificaciones del ADN que ayudan a dirigir la diferenciación celular o la progresión de la enfermedad. Los ensayos de secuenciación de metilación y accesibilidad a la cromatina aprovechan la alta calidad y sensibilidad de la NGS para revelar el panorama epigenómico dinámico de manera rápida y exhaustiva.

Secuenciación epigenética con sistemas de mesas de laboratorio

Los sistemas de mesas de laboratorio de rendimiento medio proporcionan acceso a aplicaciones de secuenciación epigenética, lo que brinda a los investigadores más herramientas para estudiar las funciones de la estructura de la cromatina y la metilación del ADN en el desarrollo y la enfermedad. Debido a la salida flexible y escalable de un sistema de mesas de laboratorio de rendimiento medio, los laboratorios ya no necesitan un instrumento NGS a escala de producción para realizar estos métodos de uso intensivo de datos.

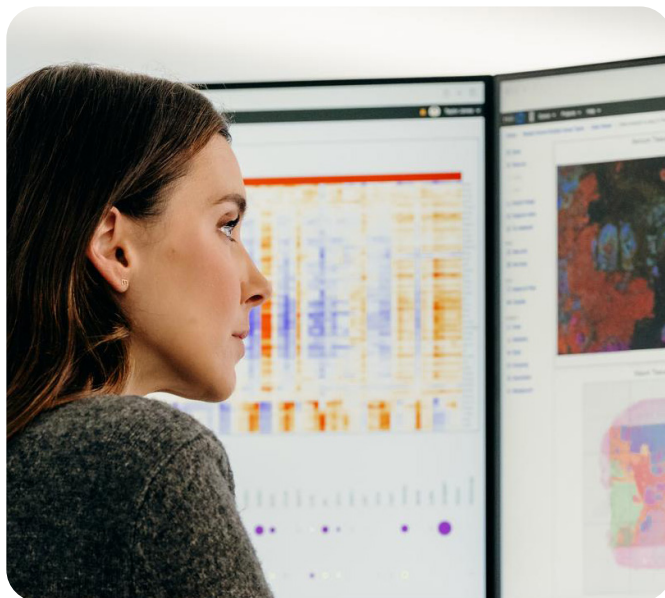
Métodos populares de secuenciación epigenética

ATAC-Seq para accesibilidad a la cromatina

El ensayo para la cromatina accesible por transposasa con secuenciación (ATAC-Seq) es un método rápido y sensible para mapear la accesibilidad de la cromatina en todo el genoma. Esta técnica utiliza una enzima transposasa hiperactiva para insertar adaptadores de secuenciación en regiones de ADN expuestas y generar bibliotecas de secuenciación que representan la cromatina abierta. El ATAC-Seq proporciona información sobre cómo el embalaje de la cromatina afecta la expresión génica, sin conocimiento previo de los elementos reguladores. El ATAC-Seq puede usarse para poblaciones de células en bulk a granel o a nivel de un solo núcleo para estudiar poblaciones de células heterogéneas.

Secuenciación de metilación

La secuenciación de metilación revela el estado de metilación de dinucleótidos de citosina-guanina (CpG) en todo el genoma a un nivel de nucleótido único. El tratamiento con bisulfito convierte las bases de citosina en uracilo, mientras que las citosinas metiladas se dejan sin modificar. Este método puede realizarse a nivel de genoma completo o con métodos dirigidos para enriquecer los sitios de CpG o enfocarse en regiones de interés.



Más información

[Accesibilidad a la cromatina de secuenciación ATAC](#)
[Secuenciación de metilación](#)

[Nota de aplicación: Unificar la expresión génica de célula única y la accesibilidad a la cromatina](#)

Exploración multiómica de alta resolución

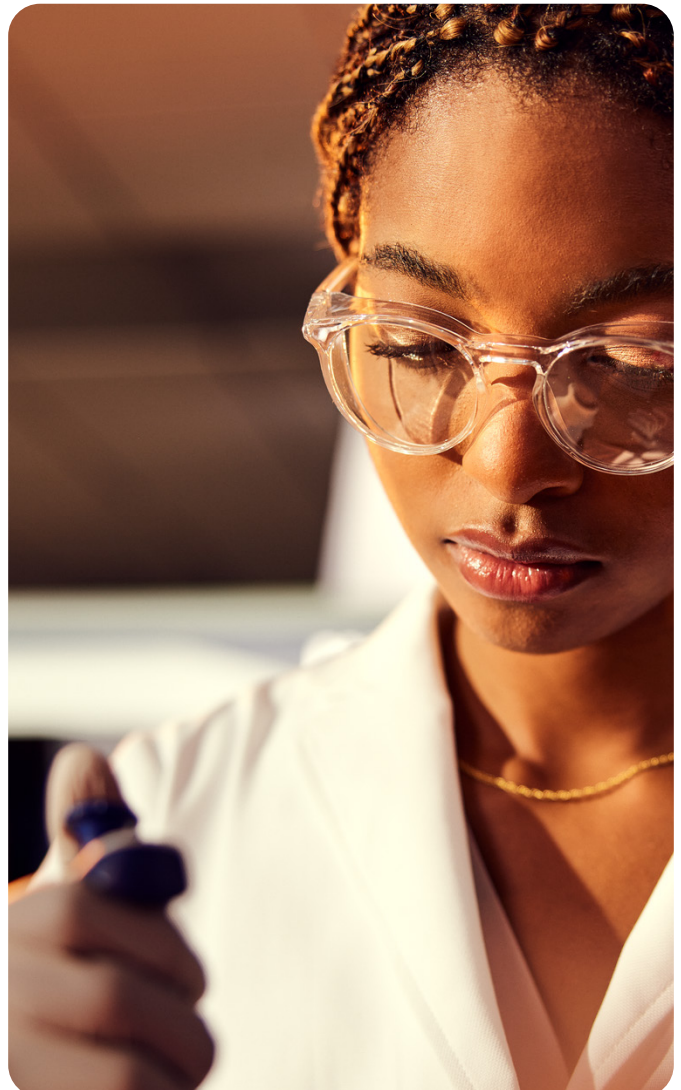
La multiómica proporciona un enfoque integrado para el descubrimiento de energía en múltiples niveles de biología. Al combinar datos de estudios genómicos, transcriptómicos, epigenéticos y proteómicos, los investigadores pueden lograr una comprensión más integral de los cambios moleculares que contribuyen al desarrollo normal, la respuesta celular y la enfermedad. La integración de estas métricas complementarias en conjuntos de datos multiómicos ofrece una imagen más completa de los fenotipos celulares y ayuda a obtener más información de alta calidad de cada muestra.

Los métodos de alta resolución, como la secuenciación de célula única y la secuenciación espacial, permiten obtener conocimientos más profundos sobre los tejidos complejos. Los métodos típicos de NGS analizan muestras disociadas a granel, enmascarando la heterogeneidad celular y perdiendo información espacial clave. La expresión génica de creación de perfiles a nivel de célula única o con contexto espacial preservado aumenta el poder de descubrimiento. La secuenciación de célula única y espacial también es compatible con ATAC-Seq, proteómica y otros métodos de NGS. Se desarrollan enfoques multimodales que miden tanto la expresión génica como los niveles de proteínas, o tanto la expresión génica como la accesibilidad a la cromatina, en las mismas células.^{19,20}

Secuenciación multiómica con sistemas de mesas de laboratorio

Las perspectivas multiómicas son más accesibles con el poder de realizar aplicaciones de uso intensivo de datos en su mesa de trabajo. Un secuenciador sistema de mesas de laboratorio de rendimiento medio puede ser una plataforma ideal para la multiómica gracias a la amplia flexibilidad de aplicaciones y una salida de hasta de 540 Gb. Por ejemplo, los investigadores pueden emparejar la RNA-Seq con la secuenciación del exoma para evaluar si las variantes codificantes afectan la expresión de la transcripción. Las capacidades de los sistemas de rendimiento medio también permiten métodos de alta resolución con acceso a:

- Más lecturas por celda para capturar información sobre transcripciones de menor abundancia
- Más células y muestras para potenciar diseños experimentales dentro de un presupuesto de investigación determinado
- Condiciones, puntos temporales o métodos adicionales para investigar facetas más complejas de la biología



Métodos populares de secuenciación multiómica

RNA-Seq de célula única

La RNA-Seq de célula única (scRNA-Seq) puede caracterizar la expresión génica en cientos a millones de células individuales de un tejido. Este método revela la heterogeneidad celular y proporciona una comprensión más integral de las poblaciones de células heterogéneas. El uso de scRNA-Seq facilita la identificación de nuevos biomarcadores y tipos de células raras que, de otro modo, se omitirían con RNA-Seq en bulk.^{21,22} Los avances significativos en la caracterización de célula única incluyen tecnologías para el aislamiento celular y nuevos métodos y aplicaciones para la secuenciación. Estos avances han estimulado el lanzamiento de soluciones comerciales accesibles para cada paso del flujo de trabajo de secuenciación de célula única, desde la preparación de tejidos hasta el análisis de datos.



Más información

[Secuenciación de ARN de célula única](#)

[Nota de aplicación: Solución de secuenciación de ARN de célula única NextSeq 1000 y NextSeq 2000](#)

[Nota de aplicación: Explorar el transcriptoma con resolución de célula única](#)

[Nota de aplicación: Unificar la expresión génica de célula única y la accesibilidad a la cromatina](#)

[Nota de aplicación: Investigación multiómica del sistema inmunitario a la resolución de célula única](#)



RNA-Seq de célula única para investigación inmunooncológica

Los inhibidores de Checkpoint muestran una menor eficacia en la terapia contra el cáncer en hombres. Los investigadores de Oregon realizaron la scRNA-Seq en muestras de tumor metastásico de hombres con cáncer de próstata metastásico resistente a la castración, centrándose específicamente en las células T CD8, que son cruciales para la respuesta del inhibidor de checkpoint punto de control. El estudio mostró que la privación de andrógenos retrasa la progresión del cáncer y mejora la actividad de los linfocitos T contra los tumores. Encontraron distintos estados de células T CD8 asociados con la respuesta y la resistencia al bloqueo de PD-1, lo que reveló que la regulación negativa del receptor de andrógenos (AR) en las células T CD8 se correlacionó con una función mejorada. Los hallazgos sugieren que la inhibición del AR, al sensibilizar a los huéspedes bloquean el checkpoint, mejora la inmunidad antitumoral y destaca un mecanismo novedoso subyacente a la resistencia a la inmunoterapia en el cáncer de próstata.²³

RNA-Seq RNA-Seq espacial

La transcriptómica espacial combina tecnologías de secuenciación e imágenes de alto rendimiento para mostrar la expresión del ARNm a nivel celular en tejidos estructuralmente preservados. La RNA-Seq conserva la ubicación precisa de las moléculas biológicas en contexto morfológico y puede ayudar a revelar cómo las células están influenciadas por las células vecinas, los eventos de señalización local, las interacciones entre células y más. Revelar la compleja mezcla de tipos de células de un tejido con técnicas espaciales ya ha permitido nuevos y significativos descubrimientos dentro de los campos de la neurociencia, la biología del desarrollo, el cáncer, y más.²⁴



Más información

Transcriptómica espacial

Nota de aplicación: Resolver todo el transcriptoma dentro de la arquitectura del tejido

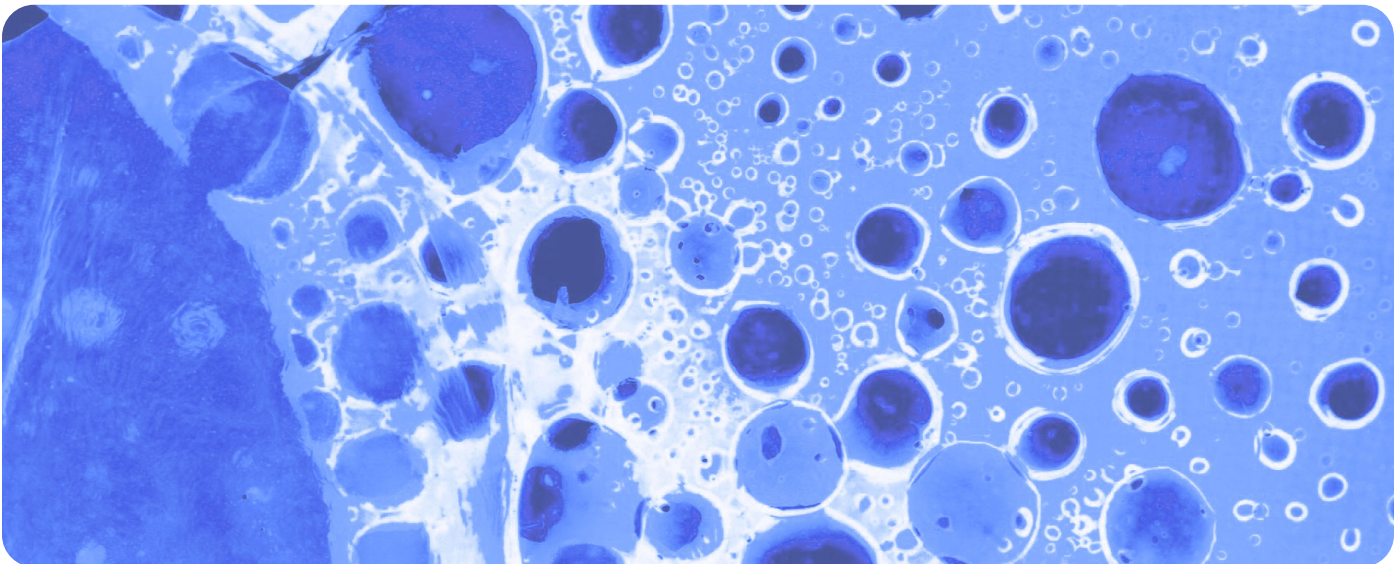
Nota de aplicación: transcriptómica espacial de alta resolución y alto rendimiento de tejidos complejos

Nota de aplicación: Proteogenómica espacial de plexo alto de secciones de tejido FFPE



RNA-Seq espacial para investigación de desarrollo humano

Con el uso de la transcriptómica espacial, los investigadores de Suecia profundizaron en el complejo desarrollo del cerebro humano, en particular en el período de 5 a 14 semanas después de la concepción. Identificaron una variedad diversa de tipos de células neuronales y gliales, lo que equivale a más de mil tipos distintos que surgen en las primeras etapas del desarrollo cerebral. El mapeo de la distribución espacial de estos tipos de células reveló patrones complejos organizados en cientos de dominios dentro del cerebro adulto. Este estudio detalló las trayectorias de diferenciación del cerebro anterior y del cerebro medio durante el primer trimestre del desarrollo cerebral humano.²⁵



Sistemas de secuenciación de mesa destacados de Illumina

Serie MiSeq i100

La serie MiSeq i100 establece el nuevo estándar en simplicidad de secuenciación para llevar el poder de la NGS a más laboratorios en todo el mundo. Estos sistemas de bajo rendimiento ofrecen nuestros tiempos de ejecución más rápidos hasta el momento, análisis de datos integrados y avances significativos en sustentabilidad. Como parte de una solución integral de NGS, la serie MiSeq i100 proporciona resultados el mismo día para diversas aplicaciones, incluidas transcriptómica, genómica microbiana y estudios de secuenciación de genes dirigidos.

La serie MiSeq i100 ofrece 10 configuraciones de reactivos diferentes con longitudes de lectura de hasta 2 × 300 bp que admiten un rango de salida de 5 millones a 100 millones de lecturas y de 1,5 Gb a 30 Gb. Esta capacidad ampliada permite a los investigadores aumentar el rendimiento de las muestras y realizar una secuenciación más profunda que antes.



Rendimiento de muestras para aplicaciones clave en MiSeq i100 Series

	Configuración	Lecturas/ salidas por muestra	N.º de muestras			
Celda de flujo			5 millones	25 millones	50 millones ^b	100 millones ^b
Salida por celda de flujo			1,5–3 Gb	2,5–15 Gb	5–30 Gb	10–30 Gb
Lecturas por celda de flujo			5 millones	25 millones	50 millones	100 millones
Secuenciación de genoma completo pequeño	2 × 150 pb 2 × 300 pb	1 millón	5	25	50	100
Secuenciación de ARNr 16S	2 × 300 pb	0,1 millones	50	250	384 ^c	—
Secuenciación de ADN dirigida (paneles pequeños)	2 × 100 pb	2 millones	2	12	25	50
Perfil de expresión génica dirigida	2 × 50 pb	5 millones	1	5	10	20
Sec-ARNm	2 × 100 pb	25 millones	—	1	2	4
Secuenciación del repertorio inmunitario	2 × 300 pb	5 millones con adición de PhiX al 30 % en	—	3	7	—

a. Las lecturas por muestra y los rendimientos de muestra son estimaciones y muy variables, dependiendo del panel y la cobertura deseada.
b. Las celdas de flujo de 50 millones y 100 millones estarán disponibles a partir de 2025 solo para el sistema MiSeq i100 Plus.
c. En función de los índices Illumina disponibles, se pueden agregar índices adicionales.

Sistemas NextSeq 1000 y NextSeq 2000

Los sistemas NextSeq 1000 y NextSeq 2000 de rendimiento medio están cuidadosamente diseñados para permitir más información y una amplia variedad de aplicaciones en su mesa de trabajo. Con 14 configuraciones y longitudes de lectura de 1 × 50 bp a 2 × 300 bp, estos sistemas manejan de manera eficiente flujos de trabajo de mesas de laboratorio con salida escalable, tiempos de ejecución rápidos y alta calidad de datos. La celda de flujo P4 del sistema NextSeq 2000 permite aplicaciones de uso intensivo de datos como secuenciación de célula única y multiómica con hasta 1800 millones de lecturas y salida de 540 Gb. Estos sistemas robustos y fáciles de usar están ampliando el acceso para regiones o instituciones que tal vez no puedan pagar un sistema de alto rendimiento.

Rendimiento de muestras para aplicaciones clave en los sistemas NextSeq 1000 y NextSeq 2000 con química XLEAP-SBS^a

		Configuración	Lecturas/ salidas por muestra	N.º de muestras			
Celda de flujo				P1	P2	P3 ^b	P4 ^b
Salida por celda de flujo				10–60 Gb	40–240 Gb	120–360 Gb	90–540 Gb
Lecturas por celda de flujo				100 millones	400 millones	1200 millones	1800 millones
Secuenciación de genoma completo pequeño	2 × 150 pb 2 × 300 pb	1 millón	100	384 ^c	384 ^c	384 ^c	384 ^c
Secuenciación de ARNr 16S	2 × 300 pb	0,1 millones	384 ^c	384 ^c	—	—	—
Secuenciación metagenómica Shotgun	2 × 300 pb	25 millones	4	16	—	—	—
Secuenciación del repertorio inmunitario	2 × 300 pb	5 millones con adición de PhiX al 30 % en	14	56	—	—	—
Secuenciación de ADN dirigida (paneles medianos a grandes)	2 × 100 pb	50 millones	2	8	24	36	36
Secuenciación del exoma	2 × 100 pb	8 Gb 100× cobertura	—	10	30	45	45
RNA-Seq total	2 × 100 pb	50 millones	2	8	24	36	36
mRNA-Seq	2 × 100 pb	25 millones	4	16	48	72	72
RNA-Seq basada en enriquecimiento	2 × 100 pb	25 millones	4	16	48	72	72
Secuenciación de genoma completo grande	2 × 150 pb	120 Gb 30 veces la cobertura	—	1	3	4	4
Secuenciación de metilación dirigida	2 × 150 pb	50 millones	2	8	24	36	36
ATAC-Seq	2 × 50 pb	50 millones	2	8	24	36	36
RNA-Seq de célula única	2 × 50 pb	200 millones	—	2	6	9	9

a. Las lecturas por muestra y los rendimientos de la muestra son estimaciones y muy variables, dependiendo del tipo de muestra y del objetivo experimental.
b. Las celdas de flujo P3 y P4 solo están disponibles en el sistema NextSeq 2000.
c. En función de los índices Illumina disponibles, se pueden agregar índices adicionales.

Simplicidad operativa diaria

ILLUMINA cree que la genómica debe estar disponible para muchos, no para unos pocos. Estamos comprometidos a hacer que nuestra tecnología sea lo más asequible y accesible posible, estableciendo al mismo tiempo el estándar más alto de calidad y seguridad de datos. Nuestros sistemas de mesas de laboratorio están diseñados para ser especialmente fáciles de operar, desde la configuración de la ejecución hasta el análisis. Los flujos de trabajo simples requieren menos puntos de contacto y menos pasos que otros sistemas de NGS, lo que reduce la curva de aprendizaje y la posibilidad de error del usuario.

Generación de datos rápida y altamente precisa

Los sistemas de secuenciación de mesas de laboratorio ILLUMINA integran los últimos avances tecnológicos, incluida la química XLEAP-SBS™ y el análisis secundario DRAGEN™. La química XLEAP-SBS, construida sobre la base de la química de secuenciación por síntesis (SBS) ILLUMINA estándar comprobada, permite una secuenciación más rápida, más económica y de mayor calidad que nunca. Los reactivos XLEAP-SBS están optimizados para la estabilidad, el rendimiento y la velocidad, lo que proporciona una mayor confianza en los datos generados y acelera la finalización del proyecto.

El análisis secundario de DRAGEN se incluye a bordo de los sistemas de mesas de laboratorio serie MiSeq i100 y NextSeq 1000 y NextSeq 2000, que ofrecen pipelines de bioinformática automatizadas con una precisión excepcional para la designación de variantes.²⁶ Analice genomas, exomas, metilomas y transcriptomas completos con una única solución que reemplaza hasta 30 herramientas de código abierto. Los flujos de trabajo preconfigurados reducen el tiempo y los gastos para desarrollar procesos de análisis, con lo cual los investigadores tienen acceso sencillo a sus datos y ganan experiencia en sus análisis. El análisis secundario de DRAGEN está disponible a través de un servidor local, en la nube o directamente a bordo de los sistemas serie MiSeq i100 y NextSeq 1000 y NextSeq 2000.



Más información

[Química XLEAP-SBS en los sistemas NextSeq 1000 y NextSeq 2000](#)

[Análisis secundario de DRAGEN](#)

“ Lo interesante y emocionante es la versatilidad de los enfoques de la NGS. Es increíble la cantidad de descubrimientos que puede provenir de un solo equipo, como un secuenciador, y la variedad de preguntas que se pueden abordar con esa única herramienta en la industria y el mundo académico. Es increíblemente genial. ”

Dr. Cole Ferguson, PhD

Profesor adjunto, División de Neuropatología,
Universidad de California San Diego



Illumina como socio de confianza

A medida que los científicos exploran los mecanismos moleculares subyacentes a la salud y la enfermedad humanas, Illumina se destaca como un socio de confianza, que ofrece un conjunto integral de soluciones para impulsar la investigación genómica. Con una diversa cartera de preparación de bibliotecas, salidas de datos de alta calidad y aplicaciones de análisis intuitivas, las soluciones de flujo de trabajo Illumina mejoran las capacidades de NGS con simplicidad operativa.

Como líder mundial en tecnología de NGS, Illumina ha instalado más de 25 000 instrumentos en todo el mundo y su tecnología se menciona en más de 400 000 publicaciones revisadas por pares, cinco veces más que todos los demás proveedores de NGS combinados.²⁷ Al aprovechar décadas de experiencia, Illumina continúa innovando y expandiendo las aplicaciones de NGS, lo que garantiza que los investigadores se beneficien de tecnología confiable y datos precisos para acelerar los descubrimientos científicos.



Resumen

La NGS ofrece una visión integral y de alta resolución de los sistemas biológicos para ampliar el poder de descubrimiento de los científicos genómicos. Con la NGS, los investigadores pueden:

- Identificar variantes en miles de regiones objetivo (hasta una resolución de base única) en un solo experimento
- Revelar un panorama más amplio de entidades moleculares, lo que permite el descubrimiento de nuevos objetivos farmacológicos, redes de señalización y marcadores de enfermedades
- Usar un enfoque imparcial para proporcionar información no explotada sobre fenómenos, vías y sistemas biológicos

Los sistemas de secuenciación de mesas de laboratorio están llevando la velocidad, la potencia y la versatilidad de NGS a más laboratorios en todo el mundo. Los sistemas de secuenciación de mesas de laboratorio de bajo rendimiento permiten un análisis microbiano rápido y libre de cultivos y una secuenciación de ADN y ARN asequible y dirigida, y el control de calidad de la biblioteca. Los sistemas de mesas de laboratorio de rendimiento medio proporcionan acceso a métodos ricos en datos, como secuenciación de exomas o paneles grandes, análisis de célula única y biología espacial. Los sistemas de mesa Illumina proporcionan a los científicos la precisión, la asequibilidad y la accesibilidad para hacer realidad sus ambiciones de investigación.

“ La belleza de NGS es que proporciona un panorama muy amplio, y luego podemos encontrar cosas específicas que son sorprendentes en las que queremos profundizar. Realmente abre la puerta a posibilidades mucho más amplias, y luego nos ayuda a guiar los próximos pasos de la investigación. ”

Kristen Jepsen, PhD

Director, Centro de Genómica de IGM
Universidad de California San Diego



Más información

[Sistema de secuenciación de mesa](#)

[Serie MiSeq i100](#)

[Sistemas NextSeq 1000 y NextSeq 2000](#)

Referencias

1.

National Human Genome Research Institute. DNA Sequencing Costs: Data. [genome.gov/about-genomics/fact-sheets/DNA-Sequencing-Costs-Data](https://www.genome.gov/about-genomics/fact-sheets/DNA-Sequencing-Costs-Data). Consultado el 18 de septiembre de 2024.

2.

Dahlö M, Scofield DG, Schaal W, Spjuth O. Tracking the NGS revolution: managing life science research on shared high-performance computing clusters. *Gigascience*. 2018;7(5):giy028. doi:10.1093/gigascience/giy028

3.

The Scientist. Modern Multiomics: Why, How, and Where to Next? 15 de mayo de 2023. [the-scientist.com/sponsored-article/modern-multiomics-why-how-and-where-to-next-71113](https://www.the-scientist.com/sponsored-article/modern-multiomics-why-how-and-where-to-next-71113). Publicado en mayo de 2023. Consultado el 18 de septiembre de 2024.

4.

Wensel CR, Pluznick JL, Salzberg SL, Sears CL. Next-generation sequencing: insights to advance clinical investigations of the microbiome. *J Clin Invest*. 2022;132(7):e154944. doi:10.1172/JCI154944

5.

Smith AM, Tau NP, Ngomane HM, et al. Whole-genome sequencing to investigate two concurrent outbreaks of Salmonella Enteritidis in South Africa, 2018. *J Med Microbiol*. 2020;69(11):1303-1307. doi:10.1099/jmm.0.001255

6.

Clarridge JE 3rd. Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology and infectious diseases. *Clin Microbiol Rev*. 2004;17(4):840-862. doi:10.1128/CMR.17.4.840-862.2004

7.

McDonald D, Hyde E, Debelius JW, et al. American Gut: a Open Platform for Citizen Science Microbiome Research. *mSystems*. 2018;3(3):e00031-18. doi:10.1128/mSystems.00031-18.

8.

Kim HJ, Ahn DH, Yu Y, et al. Microbial profiling of peri-implantitis compared to the periodontal microbiota in health and disease using 16S rRNA sequencing. *J Periodontal Implant Sci*. 2023;53(1):69-84. doi:10.5051/jpis.2202080104

9.

Isidro J, Borges V, Pinto M, et al. Phylogenomic characterization and signs of microevolution in the 2022 multi-country outbreak of monkeypox virus. *Nat Med*. 2022;28(8):1569-1572. doi:10.1038/s41591-022-01907-y

10.

Illumina. Press release. Minderoo Foundation and Illumina Commit \$40M AUD to Apply Advanced Genomics to Marine Conservation. [illumina.com/company/news-center/press-releases/press-release-details.html?newsid=bc68d667-9740-4990-890f-0ae6ff584665](https://www.illumina.com/company/news-center/press-releases/press-release-details.html?newsid=bc68d667-9740-4990-890f-0ae6ff584665). Publicado el 16 de agosto de 2022. Consultado el 25 de julio de 2024.

11.

Mosteiro M, Azuara D, Villatoro S, et al. Molecular profiling and feasibility using a comprehensive hybrid capture panel on a consecutive series of non-small-cell lung cancer patients from a single centre. *ESMO Open*. 2023;8(6):102197. doi:10.1016/j.esmoop.2023.102197

12.

Steindl A, Alpar D, Heller G, et al. Tumor mutational burden and immune infiltrates in renal cell carcinoma and matched brain metastases. *ESMO Open*. 2021;6(2):100057. doi:10.1016/j.esmoop.2021.100057

13.

Pestinger V, Smith M, Sillo T, et al. Use of an Integrated Pan-Cancer Oncology Enrichment Next-Generation Sequencing Assay to Measure Tumour Mutational Burden and Detect Clinically Actionable Variants. *Mol Diagn Ther*. 2020;24(3):339-349. doi:10.1007/s40291-020-00462-x

14.

Kina BG, Topbas Selcuki NF, Bahat PY, et al. Whole exome sequencing reveals novel candidate variants for endometriosis utilizing multiple affected members in a single family. *Mol Genet Genomic Med*. 2024;12(1):e2312. doi:10.1002/mgg3.2312

15.

Illumina. High-impact discovery through gene expression and regulation research. [illumina.com/on-domain/GM-CPBU-GEX-eBook-Q42016_Landing-Page.html](https://www.illumina.com/on-domain/GM-CPBU-GEX-eBook-Q42016_Landing-Page.html). Consultado el 18 de septiembre de 2024.

16.

Han Y, Gao S, Muegge K, Zhang W, Zhou B. Aplicaciones avanzadas de secuenciación de ARN y desafíos. *Bioinform Biol Insights*. 2015;9(Suplemento 1):29-46. doi:10.4137/BBI.S28991

17.

Kleiblová P, sarná M, Zemánková P, et al. Parallel DNA/RNA NGS Using an Identical Target Enrichment Panel in the Analysis of Hereditary Cancer Predisposition. *Folia Biol (Praha)*. 2024;70(1):62-73. doi:10.14712/fb2024070010062

18.

Tiffon C. The Impact of Nutrition and Environmental Epigenetics on Human Health and Disease. *Int J Mol Sci*. 2018;19(11):3425. doi:10.3390/ijms19113425

19.

10x Genomics. Chromium Single Cell Multiome ATAC + Gene Expression. [10xgenomics.com/products/single-cell-multiome-atac-plus-gene-expression](https://www.10xgenomics.com/products/single-cell-multiome-atac-plus-gene-expression). Consultado el 18 de septiembre de 2024.

20.

10x Genomics. Chromium Multiomic Cytometry. [10xgenomics.com/products/multiomic-cytometry](https://www.10xgenomics.com/products/multiomic-cytometry). Consultado el 18 de septiembre de 2024.

21.

Wang Y, Mashock M, Tong Z, y otros. Changing Technologies of RNA Sequencing and Their Applications in Clinical Oncology. *Front Oncol*. 2020;10:447. doi:10.3389/fonc.2020.00447

22.

Ke M, Elshenawy B, Sheldon H, Arora A, Buffa FM. Single cell RNA-sequencing: A powerful yet still challenging technology to study cellular heterogeneity. *Bioessays*. 2022;44(11):e2200084. doi:10.1002/bies.202200084

23.

Guan X, Polesso F, Wang C, et al. Androgen receptor activity in T cells limits checkpoint blockade efficacy. *Nature*. 2022;606(7915):791-796. doi:10.1038/s41586-022-04522-6

24.

Marx V. Method of the Year: spatially resolved transcriptomics. *Nature Methods*. 2021;18(1):9-14. doi:10.1038/s41592-020-01033-y

25.

Braun E, Danan-Gotthold M, Borm LE, et al. Comprehensive cell atlas of the first-trimester developing human brain. *Science*. 2023;382(6667):eadf1226. doi:10.1126/science.adf1226

26.

Mehio R, Ruehle M, Catreux S, et al. DRAGEN Wins at PrecisionFDA Truth Challenge V2 Showcase Accuracy Gains from Alt-aware Mapping and Graph Reference Genomes. [illumina.com/science/genomics-research/articles/dragen-winsprecisionfda-challenge-accuracy-gains.html](https://www.illumina.com/science/genomics-research/articles/dragen-winsprecisionfda-challenge-accuracy-gains.html). Consultado el 18 de septiembre de 2024.

27.

Datos en archivo. Illumina, Inc. 2022.



1.800.809.4566 número gratuito (EE. UU.) | +1.858.202.4566 teléfono
techsupport@illumina.com|www.illumina.com

© 2025 Illumina, Inc. Todos los derechos reservados. Todas las marcas comerciales son propiedad de Illumina, Inc. o sus respectivos propietarios.

Para obtener información específica sobre marcas comerciales, consulte
www.illumina.com/company/legal.html.