

# Paneles de secuenciación TruSight™ One

Paneles completos preparados para dirigirse a regiones específicas del exoma asociadas a enfermedades, con sensibilidad y especificidad analíticas elevadas.

## Puntos destacados

- Contenido amplio y cobertura elevada**  
 Seleccione hasta 6700 genes asociados con enfermedades humanas con una cobertura mínima de 20x con dos opciones de panel.
- Un panel sencillo sustituye las pruebas iterativas**  
 Unifique la gama de secuenciación en un solo ensayo y un solo flujo de trabajo
- Intuitivo y potente sistema de anotación y creación de informes**  
 Simplifique la interpretación biológica gracias al filtrado de genes y a la creación de informes definidos por el usuario

## Introducción

Los paneles de secuenciación TruSight One se centran en las regiones exónicas que albergan mutaciones conocidas causantes de enfermedades. Al centrarse en el subconjunto de genes con asociaciones conocidas con enfermedades heredadas dentro del genoma se pueden detectar variantes de forma más eficaz que con la secuenciación de todo el genoma o todo el exoma.<sup>1</sup> Al combinar datos de varias bases de datos genómicas y pautas de revisión de expertos del sector de todo el mundo, los paneles TruSight One ofrecen un conjunto completo de regiones objetivo asociadas a enfermedades, diseñado para cubrir los paneles de genes asociados a enfermedades que más se suelen solicitar.

Los paneles TruSight One y TruSight One Expanded proporcionan a los laboratorios de investigación clínica una solución asequible para gestionar una gama de ensayos diversa. Los investigadores pueden elegir entre analizar todos los genes en un panel o centrarse en un subconjunto específico. Con un único ensayo, los laboratorios pueden ampliar los menús existentes, optimizar los flujos de trabajo o crear una gama completa de opciones de secuenciación.

## Panel de secuenciación TruSight One

Los objetivos genómicos con asociaciones con enfermedades se han obtenido de la Human Gene Mutation Database (HGMD),<sup>2</sup> el catálogo Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM),<sup>3</sup> GeneTests.org,<sup>4</sup> los paneles de secuenciación TruSight de Illumina desarrollados anteriormente<sup>5</sup> y la información que han facilitado directamente expertos del sector (figura 1). El panel de secuenciación TruSight One cubre 12 Mb de contenido genómico, que incluye >4800 genes asociados a fenotipos clínicos específicos. Esto permite a los investigadores dedicar su tiempo y sus recursos a los genes de los que se conocen asociaciones con enfermedades.

## Panel de secuenciación TruSight One Expanded

El panel de secuenciación TruSight One Expanded se ha desarrollado con los mismos principios rectores que el panel original. Se ha optimizado más a fondo con el fin de mejorar la cobertura en regiones de las que se tiene constancia que muestran un rendimiento insuficiente. El diseño del panel Expanded se dirige a 16,5 Mb de contenido, incluidos los más de 4800 genes originales y aproximadamente 1900 genes más con nuevas asociaciones a enfermedades en las bases de datos de referencia.

## Contenido amplio y cobertura elevada

### El diseño de la sonda ofrece una cobertura completa

Los paneles de secuenciación TruSight One cuentan con un diseño de sonda muy optimizado que permite analizar simultáneamente distintas variantes. Ambos paneles incluyen más de 125 000 sondas fabricadas de forma que vayan dirigidas al genoma de referencia NCBI37/hg19 humano.<sup>6</sup> Las sondas de TruSight One se han diseñado mediante un proceso de diseño iterativo con pruebas funcionales con el fin de garantizar un rendimiento y una profundidad de cobertura óptimos. El resultado es una cobertura  $\geq 20\times$  del 95 % de las regiones objetivo en el panel (tabla 1).\*

\* El porcentaje se calcula promediando la cobertura media de cada exón, no de cada base.



**Figura 1. Colaboradores de contenido en todo el mundo al panel de secuenciación de TruSight One.** Los paneles de TruSight One se centran en las regiones exónicas del genoma que albergan variantes conocidas asociadas a enfermedades. La combinación de datos de varias fuentes públicas garantiza que los paneles cubran todos los genes ya revisados en el ámbito de la investigación clínica. Acrónimos: Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans using Ensembl Resources (DECIPHER, base de datos de desequilibrios cromosómicos y fenotipos humanos utilizando los recursos de Ensembl), HUGO Gene Nomenclature Committee (HGNC, Comité de Nomenclatura de Genes de la HUGO), International Collaboration for Clinical Genomics (ICCG, Colaboración Internacional en Genómica Clínica) y National Health Service (NHS, Servicio de Salud Nacional del Reino Unido).

**Tabla 1: especificaciones del panel de secuenciación TruSight One**

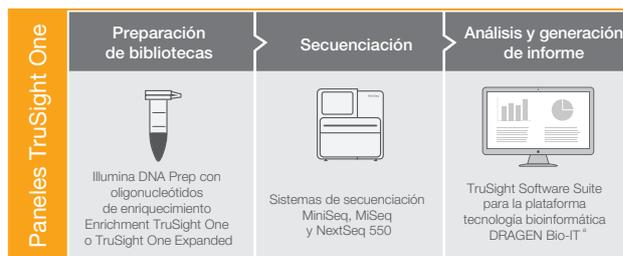
Parámetro	TruSight One	TruSight One Expanded
Tamaño de la región objetivo acumulativo	12 Mb	16,5 Mb
N.º de genes objetivo	4811	6704
N.º de exones objetivo	~62 000	~86 000
Tamaño de la sonda	80-mer	80-mer
N.º de sondas	125 395	183 809
Tamaño del fragmento	150-220 pb	150-220 pb
Cobertura mínima <sup>a</sup>	≥20x	≥20x
Cobertura promedio	>100x	>100x

a. El 95 % de las regiones objetivo cubiertas normalmente a >20x (la mayor cobertura porcentual posible con menos muestra por experimento)

Las sondas de 80-mer van dirigidas a bibliotecas de preparación de ADN con enriquecimiento de Illumina con tamaños medios de partes de aprox. 300 pb y tamaños de fragmentos de 150-220 pb, lo que enriquece la amplia cobertura de bases más allá del punto medio de la sonda (figura 2).<sup>7</sup> Por tanto, además de cubrir las principales regiones del exón, los paneles cubren las regiones que flanquean los exones, que pueden ofrecer información biológica importante (p. ej., los sitios de empalme, las regiones reguladoras).



**Figura 2. Cobertura de la sonda de TruSight One:** con una biblioteca de ADN de 300 pb (tamaño de fragmento de 150-220 pb), la sonda enriquecerá una amplia cobertura de bases más allá de su punto medio.



**Figura 3. Flujo de trabajo de TruSight One:** el flujo de trabajo de TruSight One de Illumina ofrece una solución para cada paso, desde la preparación de bibliotecas hasta el análisis de datos y la elaboración de informes de datos.

a. TruSight Software Suite disponible como plataforma SaaS (software como servicio) de pago

### Cobertura elevada en una gama de instrumentos de secuenciación

Los paneles TruSight One son ideales para su uso en los secuenciadores de sobremesa de Illumina. En la tabla 2 se muestra la productividad recomendada de las muestras para los sistemas MiniSeq™, MiSeq™ y NextSeq™ 550. De manera homogénea, los paneles TruSight One generan una gran profundidad de cobertura en cualquiera de los sistemas de secuenciación de Illumina. Dado que los paneles TruSight One se centran en la secuenciación de un subconjunto del genoma (p. ej., genes con asociaciones fenotípicas), estos genes o regiones objetivo se pueden secuenciar con una gran profundidad de cobertura y ofrecer resultados con un alto grado de confianza (tabla 3).

### Flujo de trabajo normalizado y totalmente compatible

Cada paso del flujo de trabajo del panel TruSight One, desde la preparación de bibliotecas hasta el análisis de datos final, está optimizado de forma tal que se puede realizar un experimento de ADN a datos de manera mejorada en tan solo dos días (figura 3).<sup>†</sup> Los paneles TruSight One se venden como kits modulares de oligonucleótidos de enriquecimiento solamente. Los paneles se integran a la perfección con los kits de preparación de ADN con enriquecimiento Illumina DNA Prep with Enrichment, (S) tagmentación y con las tecnologías de ADN integradas IDT for Illumina DNA UD Indexes (se venden por separado). Este enfoque modular aporta una mayor flexibilidad al procesamiento de muestras.

<sup>†</sup> Tiempo promedio para un panel de genes dirigido. Los tiempos pueden variar en función de las configuraciones de los experimentos.

**Tabla 2: productividad recomendada de las muestras para los paneles de secuenciación TruSight One**

	N.º de muestras por experimento <sup>a</sup> por instrumento y configuración del kit			
	MiniSeq System de rendimiento elevado	Reactivos del sistema MiSeq v3	Sistema NextSeq 550 de rendimiento intermedio	Sistema NextSeq 550 de rendimiento elevado
Panel TruSight One	2	3	12	36
Panel de TruSight One Extended <sup>b</sup>	1	1	7	24

a. Longitud de lectura de hasta 2 x 150 pb; basado en una cobertura media de 100x del contenido objetivo

b. Productividad más elevada disponible en el sistema NovaSeq™ 6000 (96 muestras por experimento, celda de flujo S1) para el panel de TruSight One Expanded

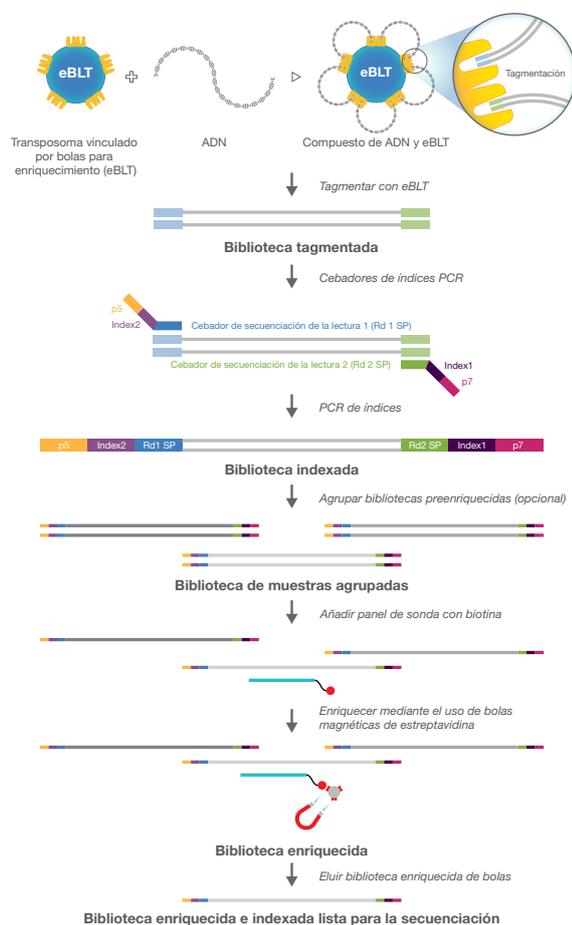
**Tabla 3: profundidad de cobertura elevada con los paneles de secuenciación TruSight One**

	Uniformidad de cobertura	Cobertura objetivo a				Profundidad de lectura por muestra (lecturas que superan el filtro)
		1x	10x	20x	50x	
Panel TruSight One	95,3 %	99,1 %	98,3 %	97,6 %	94,7 %	22 M
Panel de TruSight One Extended	96,8 %	99,4 %	98,9 %	98,6 %	97,5 %	33 M

## Preparación de bibliotecas simple y eficiente

Un componente clave de la solución de preparación de ADN con enriquecimiento Illumina DNA Prep with Enrichment es la tagmentación en bolas (figura 4), que utiliza transposomas vinculados por bolas para mediar en una reacción de tagmentación uniforme. Esta estrategia ofrece varias ventajas significativas:

- En el caso de que la cantidad de ADN genómico de entrada sea  $\geq 50$  ng, no hace falta efectuar una cuantificación exacta de la muestra de ADN inicial, puesto que el tamaño del fragmento de ADN no se ve afectado, con el consiguiente ahorro de tiempo y los costes asociados al uso de kits y reactivos.
- La tagmentación en bolas elimina la necesidad de llevar a cabo pasos independientes de fragmentación de ADN, lo cual ahorra el tiempo y los costes asociados al uso de consumibles durante dichos pasos.
- En el caso de aportes de ADN genómico de entre 50 y 1000 ng, el proceso de normalización de ADN por saturación elimina la necesidad de cuantificar y normalizar bibliotecas una por una antes del enriquecimiento.
- El innovador protocolo de hibridación única, de 90 minutos de duración, permite que el proceso de enriquecimiento se lleve a cabo en menos de cuatro horas.



**Figura 4. TruSight One y el proceso químico de tagmentación de Illumina:** los oligonucleótidos de enriquecimiento de TruSight One se sirven del proceso químico de tagmentación en bolas de Illumina para ofrecer un método sencillo y rápido de enriquecimiento de genes objetivo. El flujo de trabajo combina los pasos de preparación de bibliotecas y enriquecimiento de objetivos y se puede hacer en 1,5 horas.

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

La solución de preparación de ADN con enriquecimiento Illumina DNA Prep with Enrichment es compatible con el uso de sistemas de manipulación de líquidos para automatizar la preparación de bibliotecas y produce el flujo de trabajo con el menor número de pasos y más rápido en conjunto de toda la gama de soluciones de enriquecimiento de Illumina.

Además, el flujo de trabajo de TruSight One emplea una estrategia exclusiva de agrupación de muestras antes del enriquecimiento que reduce el número de reacciones de enriquecimiento necesarias. Esta estrategia emplea códigos de barras integrados de muestras, lo cual permite agrupar hasta doce muestras en un solo paso de enriquecimiento. Estos índices de eficiencia reducen el tiempo de preparación total de las bibliotecas a 6,5 horas con aproximadamente 2 horas de participación activa. Es más, los reactivos de mezcla maestra asociados a protocolos de placas permiten procesar simultáneamente varias reacciones. Las bibliotecas preparadas se cargan en una celda de flujo para secuenciarlas en el instrumento adecuado.

## Análisis y generación de informes exhaustivos

Para el análisis, la interpretación y la generación de informes de datos de TruSight One de manera exhaustiva, Illumina ofrece TruSight Software Suite, una plataforma de software como servicio (SaaS). TruSight Software Suite se integra con BaseSpace™ Sequence Hub para acceder a la supervisión del experimento, los parámetros del experimento y la carga automatizada de datos de secuenciación. También permite acceder en la nube a la plataforma de tecnología bioinformática DRAGEN™ Bio-IT, lo cual posibilita flujos de trabajo de análisis secundarios y terciarios exhaustivos y optimizados para la NGS.

### Análisis de variantes en TruSight Software Suite

El análisis secundario incluye:

- Alineación y llamada de variantes mediante la plataforma DRAGEN

El análisis terciario incluye:

- Anotación de variantes
- Filtrado y clasificación de variantes
- Visualización de variantes
- Selección de variantes
- Interpretación de variantes y generación de informes personalizados

### Con la tecnología de la plataforma DRAGEN

TruSight Software Suite funciona con la plataforma bioinformática DRAGEN (Dynamic Read Analysis for GENomics), lo cual aporta un análisis secundario de los datos genómicos. Las características esenciales de la plataforma DRAGEN abordan los principales desafíos del análisis genómico, tales como los prolongados tiempos de computación y los enormes volúmenes de datos. La plataforma DRAGEN ofrece una rapidez, flexibilidad y rentabilidad que permite que los laboratorios de cualquier tamaño y disciplina aprovechen mejor sus datos genómicos sin sacrificar la precisión.

### Interpretación intuitiva y potente

TruSight Software Suite presenta la agrupación de datos críticos, la visualización de las variantes y la selección de las variantes, así como herramientas de aprendizaje automático para favorecer una interpretación eficiente y bien fundamentada.

## Resultados y generación de informes personalizada

La interpretación termina cuando se han identificado y seleccionado las variantes con asociaciones conocidas con enfermedades. Los clientes pueden utilizar las plantillas de TruSight Software Suite para personalizar informes de las asociaciones de genes y variantes pertinentes para los casos (figura 5). El informe se puede enviar para una revisión y una aprobación adicionales desde el propio software. Los informes se pueden descargar en formato PDF o JSON para facilitar el intercambio de datos.

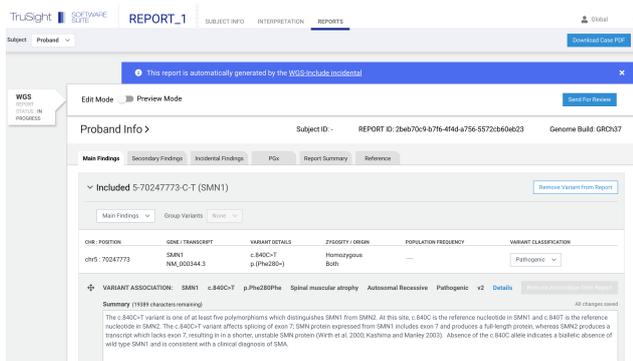


Figura 5. Generación de informes personalizables: TruSight Software Suite ofrece una plantilla para personalizar los informes de las asociaciones de genes y variantes pertinentes.

## Entorno seguro y que cumple las normas

TruSight Software Suite está certificado conforme a la ISO 27001 y la ISO 13485, y cumple la Ley de portabilidad y responsabilidad del seguro médico (Health Insurance Portability and Accountability Act, HIPAA) (conforme a una auditoría externa) de EE. UU., así como los principios del Reglamento general de protección de datos (RGPD) de la UE. Además, TruSight Software Suite ofrece opciones de integración con la política de inicio de sesión único de cada laboratorio y otros parámetros de seguridad.

## Resumen

El flujo de trabajo de TruSight One de Illumina ofrece una solución de ADN a datos completa para el entorno de investigación clínica. Con los paneles de secuenciación TruSight One y TruSight One Expanded, los investigadores pueden secuenciar rápidamente más de 4800 genes con una asociación fenotípica clínica conocida. Con la solución de análisis, interpretación y generación de informes de enfermedades raras intuitiva e integral de TruSight Software Suite, el conjunto de datos completo de TruSight One puede ofrecer subpaneles personalizados que responden a áreas de investigación concretas y puede ofrecer una solución eficiente y eficaz para la investigación de enfermedades genéticas.

## Información adicional

Para obtener más información sobre los paneles de TruSight One, acceda a [www.illumina.com/trusightone](http://www.illumina.com/trusightone).

Obtenga más información sobre TruSight Software Suite en [www.illumina.com/products/by-type/informatics-products/trusight-software-suite.html](http://www.illumina.com/products/by-type/informatics-products/trusight-software-suite.html).

Illumina • 1 800 809 4566 (llamada gratuita, EE. UU.) • Tel.: +1 858 202 4566 • [techsupport@illumina.com](mailto:techsupport@illumina.com) • [www.illumina.com](http://www.illumina.com)

© 2021 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](http://www.illumina.com/company/legal.html). Pub. No. 670-2013-015-D ESP QB11374

## Datos para realizar pedidos

Oligonucleótidos de enriquecimiento	N.º de referencia
Combinado de secuenciación de TruSight One (15 muestras)	20042621
TruSight One: oligonucleótidos de enriquecimiento solamente (6 reacciones de enriquecimiento)	20029227
TruSight One Expanded: oligonucleótidos de enriquecimiento solamente (6 reacciones de enriquecimiento)	20029226
Kits de preparación de bibliotecas	N.º de referencia
Illumina DNA Prep with Enrichment, (S) tagmentación (96 muestras)	20025524
Illumina DNA Prep with Enrichment, (S) tagmentación (16 muestras)	20025523
Illumina DNA Prep, (S) tagmentación (96 muestras)	20025520
Illumina DNA Prep, (S) tagmentación (16 muestras)	20025519
Índices	N.º de catálogo
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

## Referencias

- Bainbridge MN, Wang M, Wu YQ, et al. Targeted enrichment beyond the consensus coding DNA sequence reveals higher variant densities. *Genome Biol.* 2011;12:R68.
- Human Gene Mutation Database (HGMD). [www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php](http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php). Acceso: 12 de noviembre de 2020.
- Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM). [www.omim.org](http://www.omim.org). Acceso: 12 de noviembre de 2020.
- GeneTests. [www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1116/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1116/). Acceso: 12 de noviembre de 2020.
- TruSight Sequencing Panels. [www.illumina.com/products/by-type/clinical-research-products/trusight-one.html](http://www.illumina.com/products/by-type/clinical-research-products/trusight-one.html). Acceso: 19 de noviembre de 2020.
- UCSC Genome Browser. [genome.ucsc.edu/](http://genome.ucsc.edu/). Acceso: 12 de noviembre de 2020.
- Illumina. [Optimizing coverage for targeted resequencing technical note](#). Acceso: 19 de octubre de 2020.

**illumina**<sup>®</sup>