

# Panel de secuenciación de neurodegeneración TruSeq®

Una solución de secuenciación selectiva para la investigación de genes candidatos asociados a las principales enfermedades neurodegenerativas.

## Puntos destacados

- Panel seleccionado por expertos enfocado en las regiones genómicas de interés**  
 Tiene como objetivo 118 genes con más de 8,7 Mb de contenido, incluidos exones, intrones, regiones no traducidas (UTR) y regiones promotoras.
- Amplia cobertura de enfermedades neurodegenerativas**  
 Incluye la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson y la esclerosis lateral amiotrófica, entre otras.
- Flujo de trabajo simplificado e integrado**  
 Incluye la preparación de bibliotecas con un tiempo de participación activa mínimo, una secuenciación fiable y un análisis de datos fácil de utilizar.

## Contenido del panel seleccionado por expertos

El panel de secuenciación de neurodegeneración TruSeq cubre 118 genes asociados a las principales enfermedades neurodegenerativas. Entre estas se incluyen la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la esclerosis lateral amiotrófica, la demencia frontotemporal, la demencia con cuerpos de Lewy, la distonía y la demencia de inicio temprano. Los genes objetivo incluidos en el panel se seleccionaron con datos obtenidos de la comunidad científica basados en los recientes hallazgos científicos como genes con validación de riesgo o como genes en locus encontrados en estudios de asociación del genoma completo (GWAS).<sup>1</sup>

El panel de secuenciación de neurodegeneración TruSeq incluye un conjunto de sondas muy optimizadas de aproximadamente 43 600 sondas de 80-mer, cada una de ellas diseñada según el genoma de referencia NCBI37/hg19 humano. El conjunto de sondas cubre 8,7 Mb de contenido genómico (incluidos exones, intrones, UTR y regiones promotoras) en menos de 1300 pb secuencia arriba del sitio de inicio de la transcripción (TSS) de los genes candidatos (tabla 1). Las sondas incluidas en el panel de secuenciación de neurodegeneración TruSeq se realizaron con ayuda de un proceso repetitivo de pruebas funcionales y de diseño para garantizar una uniformidad y un rendimiento excelentes.

## Introducción

El panel de secuenciación de neurodegeneración TruSeq permite la investigación sistemática de genes asociados a enfermedades neurodegenerativas. Este panel selectivo combina las técnicas de enriquecimiento de objetivos y de preparación de bibliotecas de Nextera® con la probada tecnología de secuenciación de próxima generación (NGS) de Illumina y un análisis de datos fácil de usar para lograr un flujo de trabajo de secuenciación integrado y optimizado (figura 1). El panel de secuenciación de neurodegeneración TruSeq permite la validación de mapeo preciso, así como la identificación de alelos funcionales putativos poco frecuentes y de alelos de riesgo adicionales. Ofrece la posibilidad de consultar las regiones reguladoras codificantes y no codificantes de proteínas de los genes candidatos para lograr una investigación eficiente y rentable de las principales enfermedades neurodegenerativas.

Tabla 1: Datos de la cobertura

Parámetro	Valor
Tamaño de la región objetivo acumulativo	8,7 Mb
N.º de genes en el panel	118
Tamaño de la sonda	80 pb
N.º de sondas	43 600 aprox.
Contenido objetivo	Exones, intrones, UTR y regiones promotoras (1300 pb)
Uniformidad de cobertura (media de 0,2-)	> 85 %
Muestras en agrupación previa al enriquecimiento	Hasta 12
Entrada de muestras	50 ng
Tamaño de fragmento de la biblioteca	230 pb
Experimento de secuenciación recomendado	2 x 150 pb
Marcadores de control de calidad (CC)	57 en el cromosoma Y y 7 en el cromosoma X

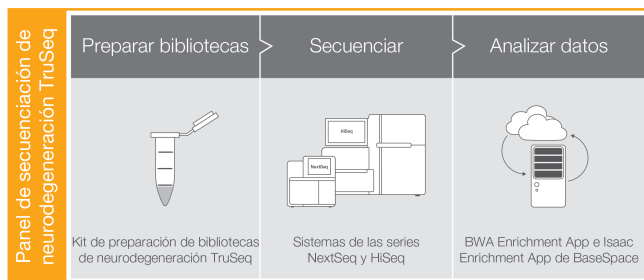
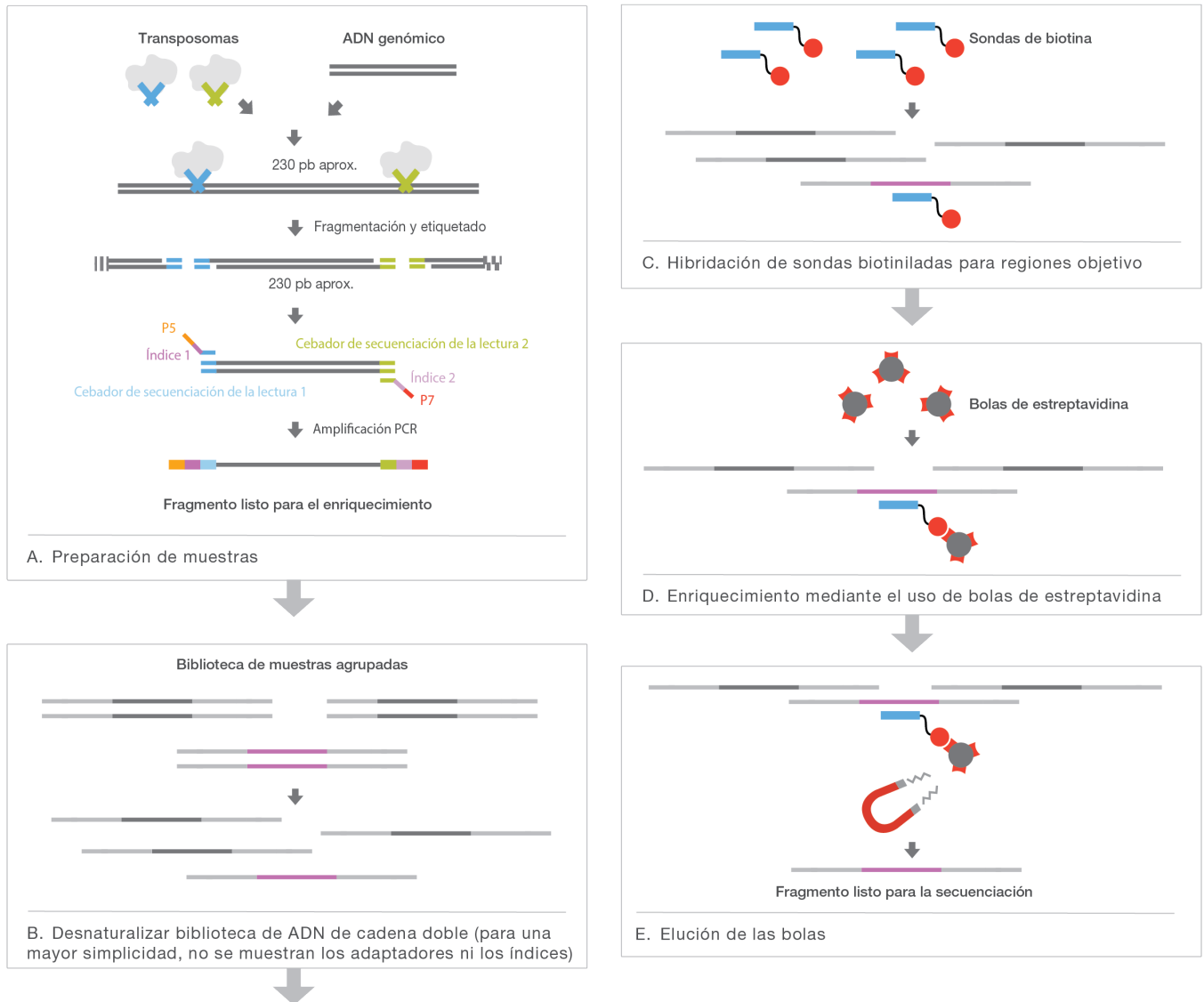


Figura 1: Descripción general del flujo de trabajo del panel de secuenciación de neurodegeneración TruSeq: El panel de secuenciación de neurodegeneración TruSeq forma parte de un flujo de trabajo integrado y simplificado que incluye la preparación, la secuenciación y el análisis de datos de las bibliotecas.



**Figura 2: Proceso químico de captura rápida de Nextera:** El panel de secuenciación de neurodegeneración TruSeq aprovecha la tecnología de fragmentación y etiquetado de Nextera que combina los pasos de preparación y enriquecimiento de bibliotecas para ofrecer un flujo de trabajo simplificado que puede llevarse a cabo en un día y medio con 5 horas de tiempo de participación activa.

## Preparación de bibliotecas optimizada

El panel de secuenciación de neurodegeneración TruSeq emplea el ensayo de captura rápida de Nextera para realizar una preparación sencilla y optimizada de las bibliotecas listas para la secuenciación. El proceso de preparación de bibliotecas comienza por la fragmentación y el etiquetado de Nextera, que fragmenta y etiqueta el ADN de manera simultánea para generar bibliotecas fragmentadas y etiquetadas con adaptadores sin la necesidad de efectuar el recorte mecánico (figura 2A). A continuación, las bibliotecas se desnaturalizan (figura 2B) y las sondas de biotina etiquetadas específicas de la región objetivo se utilizan para la hibridación (figura 2C).

El grupo se enriquece en las regiones deseadas mediante la adición de bolas de estreptavidina que se unen a las sondas con biotina (figura 2D). Los fragmentos de ADN con biotina unidos a las bolas de estreptavidina se extraen magnéticamente de la solución (figura 2E). Los códigos de barras de las muestras integrados permiten la captura simultánea de 3 a 12 muestras con un solo tubo. Los fragmentos de ADN enriquecidos se eluyen seguidamente de las bolas y se hibridan para una segunda captura. Para este método hacen falta 50 ng de ADN de entrada y se realiza en menos de tres horas con una placa de 3 a 12 muestras.

## Secuenciación de Illumina demostrada

Las bibliotecas preparadas se cargan directamente en una plataforma de NGS de Illumina para su secuenciación. Estos sistemas de secuenciación emplean la química de secuenciación por síntesis (SBS) líder en el sector de Illumina. Más del 90 % de los datos de secuenciación de todo el mundo se genera mediante la química de SBS de Illumina.\* Los sistemas de secuenciación de Illumina ofrecen flexibilidad en todo un abanico de aplicaciones, así como un rendimiento flexible que admite diferentes tamaños de estudio.

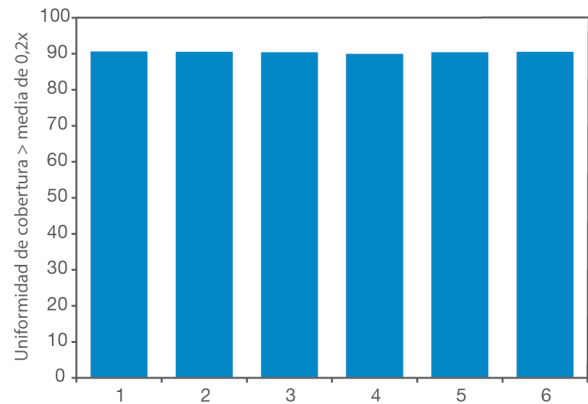
## Análisis de datos intuitivo

Los datos de secuenciación se pueden transferir inmediatamente, almacenar y analizar de forma segura en BaseSpace® Sequence Hub, el entorno informático de genómica basado en la nube de Illumina. BaseSpace Sequence Hub proporciona una gran colección de aplicaciones de BaseSpace que incluye herramientas comerciales y de código abierto para cubrir una amplia gama de necesidades de análisis de datos comunes, tales como la alineación y la llamada de variantes, entre muchos otros. Estas aplicaciones presentan interfaces de usuario intuitivas en las que solo hay que pulsar un botón y para cuyo uso no se precisa de experiencia en bioinformática.

Los datos del panel de secuenciación de neurodegeneración TruSeq se analizan con dos aplicaciones básicas de enriquecimiento. La aplicación BWA Enrichment App v2.0 le ofrece la llamada de variantes del kit de herramientas Genome Analysis Toolkit (GATK) y la aplicación Burrows-Wheeler Alignment (BWA) estándar del sector. La aplicación Isaac™ Enrichment App v2.0 es el método de Illumina optimizado para una llamada de variantes y un análisis rápido.

## Datos de alta calidad

Se secuenciaron seis bibliotecas de muestras, preparadas con el kit de preparación de bibliotecas de neurodegeneración TruSeq en grupos de 6 unidades, en el sistema NextSeq® 500, y se analizaron en BaseSpace Sequence Hub siguiendo el flujo de trabajo descrito (figura 1). La cobertura media del experimento de secuenciación fue de 155. El porcentaje de bases objetivo con cobertura >31 muestra que más del 90 % de las bases quedan cubiertas para todas las muestras (figura 3).



**Figura 3: Uniformidad de cobertura en grupos de 6 unidades:** Se prepararon seis bibliotecas de muestras con el kit de preparación de bibliotecas de neurodegeneración TruSeq. Se secuenciaron las bibliotecas en el sistema NextSeq 500 con una cobertura media de 155 para el experimento de secuenciación. Por cada muestra, se presenta el porcentaje de bases objetivo con cobertura >31.

## Resumen

El panel de secuenciación de neurodegeneración TruSeq ofrece una solución de flujo de trabajo integrada para la investigación de alelos de alto riesgo y funcionales putativos poco frecuentes asociados a las principales enfermedades neurodegenerativas. Desarrollado con los datos de la comunidad científica, incluidos recientes hallazgos científicos, el panel permite realizar la investigación sistemática de 118 genes asociados a enfermedades neurodegenerativas, incluidas las regiones reguladoras y codificantes de proteínas. Gracias a la tecnología Nextera, las bibliotecas con regiones objetivo se preparan de manera eficiente con un tiempo de participación activa mínimo. Gracias a las intuitivas aplicaciones de BaseSpace, la secuenciación en los sistemas de Illumina, combinada con el análisis de datos, ofrece una solución optimizada al campo de la investigación de enfermedades neurodegenerativas.

## Datos para realizar pedidos

Para obtener más información sobre el panel de secuenciación de neurodegeneración TruSeq o realizar un pedido, póngase en contacto con el representante de ventas local:

Norteamérica: 800.809.4566

Europa, Oriente Medio, África: +44.1799.534000

Otras regiones: [www.illumina.com/company/contact-us.html](http://www.illumina.com/company/contact-us.html)

## Información adicional

Para obtener más información sobre soluciones para la resecuenciación selectiva, visite [www.illumina.com/techniques/sequencing/dna-sequencing/targeted-resequencing.html](http://www.illumina.com/techniques/sequencing/dna-sequencing/targeted-resequencing.html).

\*Cálculos de datos de archivo. Illumina, Inc. 2015.

## Referencias

1. Karch CM, Cruchaga C, Goate A. Alzheimer's Disease Genetics: From the bench to the clinic. *Neuron*. 2014;83(1):11-26.
2. Karch CM, Goate AM. Alzheimer's disease risk genes and mechanisms of disease pathogenesis. *Biol Psychiatry*. 2015;77(1):43-51.
3. Turner MR, Hardiman O, Benatar M, et al. Controversies and priorities in amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet Neurol*. 2013;12(3):310-322.
4. Bras J, Guerreiro R, Hardy J. Use of next-generation sequencing and other whole-genome strategies to dissect neurological disease. *Nat Rev Neurosci*. 2012;13(7):453-464.
5. Renton AE, Chio A, Traynor BJ. State of play in amyotrophic lateral sclerosis genetics. *Nat Neurosci*. 2014;17(1):17-23.
6. Ferrari R, Grassi M, Salvi E, et al. A genome-wide screening and SNPs-to-genes approach to identify novel genetic risk factors associated with frontotemporal dementia. *Neurobiol Aging*. 2015;36(10):2904.e13-26.
7. Kouri N, Ross OA, Dombroski B, et al. Genome-wide association study of corticobasal degeneration identifies risk variants shared with progressive supranuclear palsy. *Nat Commun*. 2015;6:7247.
8. Scholz SW, Bras J. Genetics Underlying Atypical Parkinsonism and Related Neurodegenerative Disorders. *Int J Mol Sci*. 2015;16(10):24629-24655.
9. Nalls MA, Pankratz N, Lill CM, et al. Large-scale meta-analysis of genome-wide association data identifies six new risk loci for Parkinson's disease. *Nat Genet*. 2014;46(9):989-993.