

Control de calidad de librerías con MiSeq™ i100 Series

Evalúe la calidad de las librerías y optimice la agrupación de librerías antes de la secuenciación en sistemas de alta productividad



Optimice el control de calidad de las librerías con resultados en el mismo día gracias a una secuenciación rápida y flexible.



Simplifique el reequilibrado de librerías guiado por cálculos integrados automatizados.



Aumente la confianza en los resultados generados en sistemas de alta productividad con una alta correlación de la representación de índices.

Introducción

Para aumentar al máximo la eficiencia de la secuenciación de alta productividad, es importante conocer la calidad de la librería inicial. Una librería de mala calidad puede socavar el éxito de los proyectos de secuenciación a gran escala y a costosas y lentas repeticiones de experimentos. Los métodos históricos para llevar a cabo el control de calidad (CC) de las librerías, como la cuantificación/calificación de librerías mediante fluorometría o qPCR, no son ensayos funcionales y no evalúan si se ha preparado la librería de interés con los índices correctos. MiSeq i100 Series hace posible un ensayo rápido y funcional de la calidad de la librería antes de dar comienzo a un experimento a escala completa en NovaSeq™ 6000 System o NovaSeq X Series, lo que ahorra tiempo y dinero a la vez que permite obtener mejores resultados.

Gracias a un flujo de trabajo sencillo y optimizado, MiSeq i100 Series genera rápidamente criterios de medición de calidad detallados. Estos criterios de medición se pueden utilizar para detectar pérdidas de muestras, derivadas de la preparación fallida de librerías o de la asignación incorrecta de índices durante la planificación del experimento, y proporcionar cálculos automatizados para el reequilibro de agrupaciones para garantizar una representación equilibrada de los índices en todas las muestras.

Esta nota de aplicación demuestra un flujo de trabajo de CC de librerías rápido, sencillo y rentable en MiSeq i100 Series y que ofrece una excelente representación de librerías antes de la secuenciación en NovaSeq X Series o NovaSeq 6000 System (figura 1).

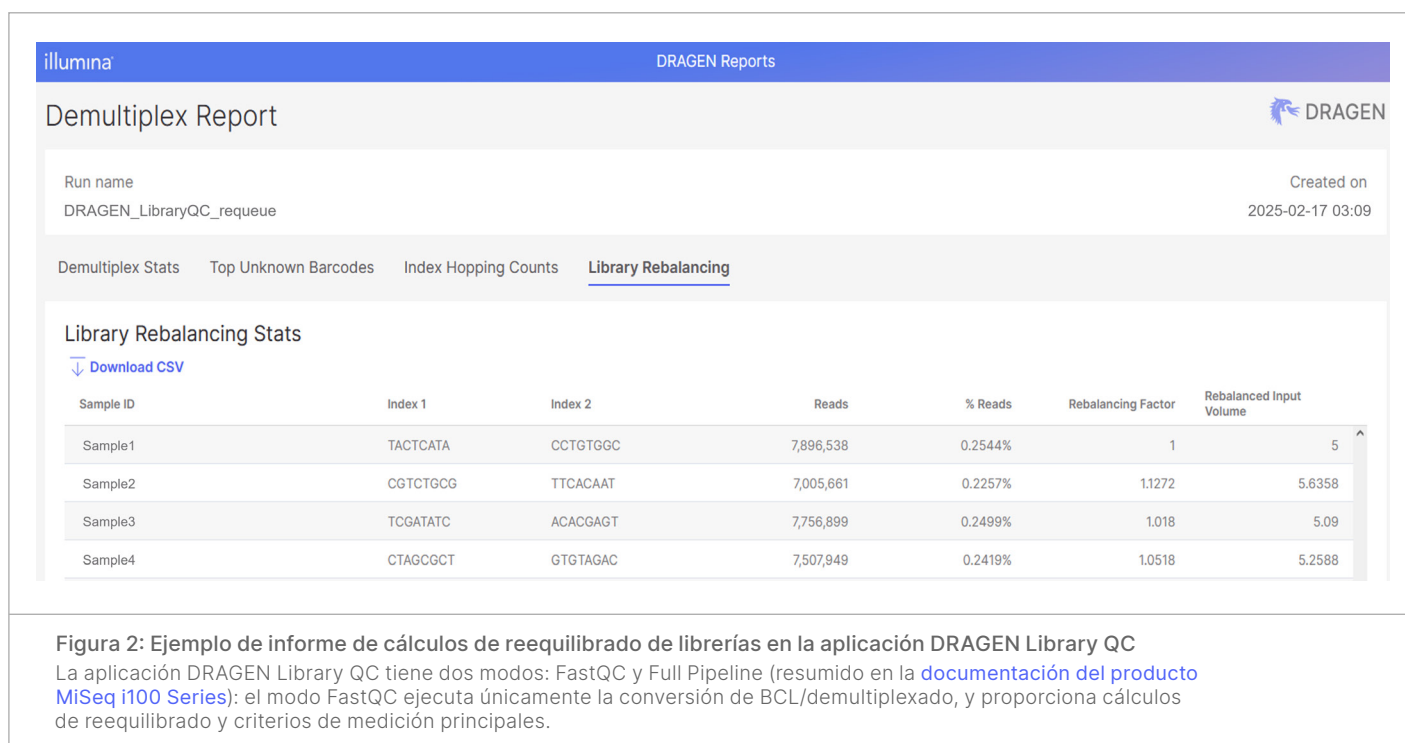
Reequilibrio de librerías con MiSeq i100 Series

MiSeq i100 Series se puede utilizar como herramienta de CC de librerías para detectar la pérdida de librerías y reequilibrarlas para una representación de índices más uniforme en una agrupación. MiSeq i100 Series cuenta con la aplicación DRAGEN Library QC v1.0.13, un software integrado de demultiplexado automático de las lecturas de secuenciación, que realiza cálculos y proporciona un informe para guiar el reequilibro de librerías antes de la secuenciación en un sistema de secuenciación de alta productividad (figura 2). Al combinar los cálculos de reequilibro automatizados con la secuenciación de priorización de índices, MiSeq i100 Series puede proporcionar información demultiplexada de librerías en tan solo unas 3,2 horas.



Figura 1: Flujo de trabajo de CC de librerías

Gracias a los cálculos de reequilibro automatizados realizados por la aplicación DRAGEN Library QC integrada o en la nube una vez finalizada la secuenciación, MiSeq i100 Series ofrece un flujo de trabajo sencillo que puede proporcionar información demultiplexada de librerías en tan solo 3,2 h para el CC y el reequilibro de librerías.



Métodos

Preparación de librerías

Las librerías se prepararon en el sistema de preparación de librerías de nueva generación Biomek NGenius (Beckman Coulter, n.º de catálogo C62703) a partir de una entrada de 300 ng de ADN genómico (ADNg) NA12878 (Coriell Institute for Medical Research, n.º de catálogo NA12878) con Illumina DNA PCR-Free Prep (Illumina, n.º de catálogo 20041795) con Illumina DNA/RNA UD Indexes Set A, Tagmentation (96 índices, 96 muestras) (Illumina, n.º de catálogo 20091654) e Illumina DNA/RNA UD Indexes Set B, Tagmentation (96 índices, 96 muestras) (Illumina, n.º de catálogo 20091656). Las librerías también se prepararon manualmente a partir de un aporte de 100 ng de ADNg con TruSeq™ DNA Nano (Illumina, n.º de catálogo 20015965) con IDT for Illumina DNA UD Indexes v2 (96 índices, 96 muestras) (Illumina, n.º de catálogo 20040870).

Secuenciación y reequilibrado

Las librerías preparadas se agruparon en volúmenes iguales y se secuenciaron en MiSeq i100 Plus System con MiSeq i100 Series 5M Reagent Kit (300 cycles) (Illumina, n.º de catálogo 20126566) utilizando la configuración de experimento de 2 × 151 pb a 24 unidades de plexado ([tabla 1](#)). Por comparación, se secuenciaron las mismas librerías en iSeq™ 100 System con iSeq 100 i1 Reagent v2 (300-cycle) kit (Illumina, n.º de catálogo 20031371).

Los datos de secuenciación se analizaron en MiSeq i100 Plus System con la aplicación DRAGEN™ Library QC v1.0.13, que realiza automáticamente cálculos para el reequilibrado de librerías. Después de reequilibrar las agrupaciones de librerías, se secuenciaron en NovaSeq X Plus System y NovaSeq 6000 System utilizando la configuración de experimento de 2 × 151 pb para examinar el CV del índice.

Resultados

El reequilibrado de librerías mejora el CV del índice

Las librerías preparadas con Illumina DNA PCR-Free Prep y TruSeq DNA Nano se secuenciaron en MiSeq i100 Series. Los factores de reequilibrado de librerías se obtuvieron con la aplicación DRAGEN Library QC v1.0.13 integrada. Las librerías reequilibradas y desequilibradas se secuenciaron en NovaSeq X Plus System y NovaSeq 6000 System. Los resultados muestran que se observa una mejora del CV del índice tras el reequilibrado de las tres agrupaciones de librerías tanto para NovaSeq X Plus System ([figura 3A](#)) como para NovaSeq 6000 System ([figura 3B](#)).

Tabla 1: Control de calidad de librerías en MiSeq i100 Series

Parámetro	Illumina DNA PCR-Free Prep	Illumina DNA PCR-Free Prep	TruSeq DNA Nano
Automatización	Biomek NGenius de Beckman Coulter	Biomek NGenius de Beckman Coulter	Manual
ADN genómico	NA12878 humano de Coriell	NA12878 humano de Coriell	NA12878 humano de Coriell
Aporte de ADN	300 ng	300 ng	100 ng
Adaptadores	Illumina Set A UDI 1–24	Illumina Set B UDI 97–120	IDT for Illumina TruSeq UDI 1–24
Concentración de la carga	120 pM	120 pM	120 pM
Porcentaje de ocupación	91,59 %	89,27 %	91,43 %
Porcentaje que pasa el filtro	80,42 %	77,20 %	85,02 %

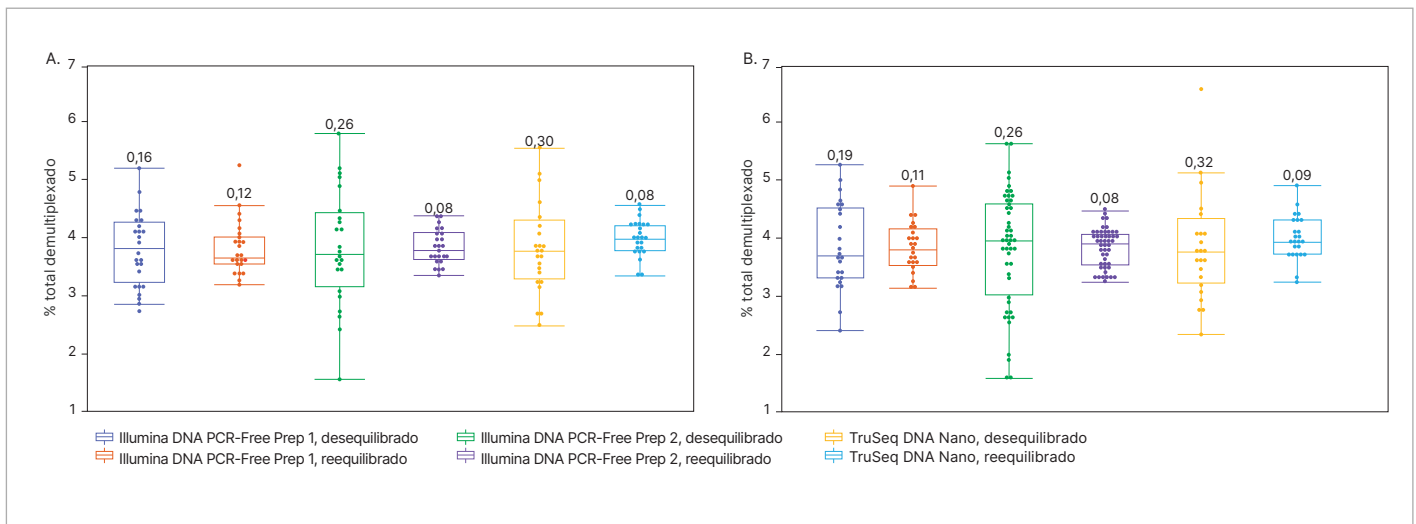


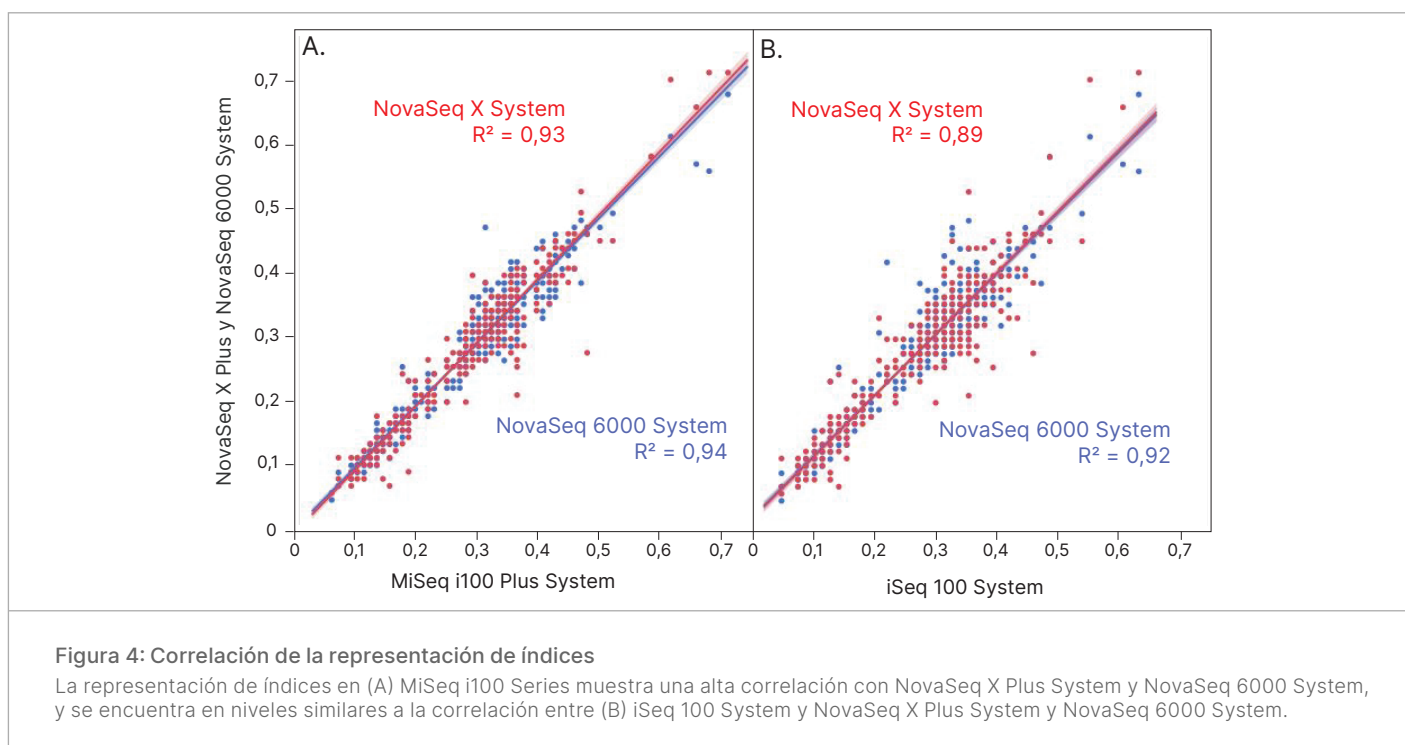
Figura 3: Reequilibrado de librerías con MiSeq i100 Plus System

Se secuenciaron tres agrupaciones de librerías humanas de 24 unidades de plexado, Illumina DNA PCR-Free Prep 1, Illumina DNA PCR-Free Prep 2 y TruSeq DNA Nano, en MiSeq i100 Plus System. Los factores de reequilibrado de librerías se obtuvieron con la aplicación DRAGEN Library QC v1.0.13 integrada. Las librerías reequilibradas y desequilibradas se secuenciaron en NovaSeq X Plus System y NovaSeq 6000 System. La mejora del CV del índice (el valor medio está por encima de cada diagrama de caja) se observa después del reequilibrado para las tres agrupaciones de librerías tanto en (A) NovaSeq X Plus System como en (B) NovaSeq 6000 System.

Correlación de la representación de índices entre sistemas

Se evaluó la correlación inicial de la representación de índices entre MiSeq i100 Plus, iSeq 100 System, NovaSeq X Plus System y NovaSeq 6000 System. Se preparó una agrupación de librerías Illumina DNA PCR-Free Prep de 384 unidades de plexado a partir de ADNg NA11992 humano de Coriell con el manipulador de líquidos automatizado Hamilton STAR.

Las librerías agrupadas se secuenciaron en MiSeq i100 Plus System, iSeq 100 System, NovaSeq X System y NovaSeq 6000 System. La información demultiplexada obtenida con MiSeq i100 Plus System muestra una alta correlación con la información demultiplexada obtenida con NovaSeq X Plus System y NovaSeq 6000 System con $R^2 > 0,9$ (figura 4A) y es equivalente a la demultiplexada obtenida con iSeq 100 System (figura 4B).



Resumen

MiSeq i100 Series proporciona un flujo de trabajo rápido, sencillo y rentable para el CC de librerías que proporciona información demultiplexada de librerías en tan solo 3,2 horas. La alta correlación de la representación de índices permite predecir la representación de índices en un sistema de secuenciación de alta productividad para un conjunto determinado de pares de índices. Esta función de CC de librerías permite a los usuarios aumentar el rendimiento en NovaSeq X Series y NovaSeq 6000 System.

Más información →

[MiSeq i100 Series](#)

[NovaSeq X Series](#)

[NovaSeq 6000 System](#)

illumina[®]

1 800 809 4566 (llamada gratuita, EE. UU.) | tel.: +1 858 202 4566
 techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2025 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, consulte www.illumina.com/company/legal.html.
 M-GL-02871 ESP v2.0