

Genómica [GN]

Sede: GENYO. Campus de la Salud

Servicio: Biología Fundamental

Equipo

- **Secuenciadores de Nueva Generación**
 - **NextSeq 500 (Illumina®)**, es una plataforma de nueva generación para secuenciación masiva de ADN, basado en la reconocida **química** “Sequencing By Synthesis” (SBS). Con este equipo se puede llegar a obtener hasta 400 millones de lecturas “single-read” (100-120Gb), con una longitud de lectura de hasta 300 pares de bases. Por carrera de secuenciación se podría secuenciar 1 genoma humano completo, 12 exomas o 16 transcriptomas.



Flow cell configuration	Read length	Output	Data quality
High-output flow cell Up to 400M single reads Up to 800M paired-end reads	2 × 150 bp	100-120 Gb	> 75% > Q30
	2 × 75 bp	50-60 Gb	> 80% > Q30
	1 × 75 bp	25-30 Gb	> 80% > Q30
Mid-output flow cell Up to 130M single reads Up to 260M paired-end reads	2 × 150 bp	32-39 Gb	> 75% > Q30
	2 × 75 bp	16-19 Gb	> 80% > Q30

- **MiSeq (Illumina®)**, es una plataforma de nueva generación para secuenciación masiva de ADN, basado en la reconocida química “Sequencing By Synthesis” (SBS). Con este equipo se puede llegar a obtener hasta 25 millones de lecturas “single-read” (13,2-15Gb), con una longitud de lectura de hasta 600 pares de bases, siendo muy útil por ejemplo para estudios de genomas pequeños y amplicones o metagenómica 16S.



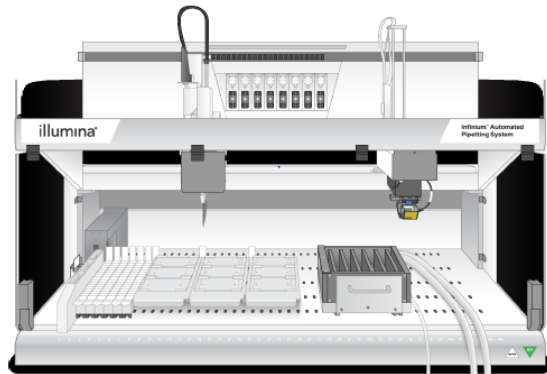
Read length	Total time ^a	Output	Quality scores ^b	Single reads ^c	Paired-end reads ^c
MiSeq Reagent Kit v2					
2 × 25 bp	~5.5 hours	750-850 Mb	> 90% bases higher than Q30		
2 × 150 bp	~24 hours	4.5-5.1 Gb	> 80% bases higher than Q30	12-15M	24-30M
2 × 250 bp	~39 hours	7.5-8.5 Gb	> 75% bases higher than Q30		
MiSeq Reagent Kit v3					
2 × 75 bp	~21 hours	3.3-3.8 Gb	> 85% bases higher than Q30		
2 × 300 bp	~56 hours	13.2-15 Gb	> 70% bases higher than Q30	22-25M	44-50M
MiSeq Reagent Kit v2 Micro					
2 × 150 bp	~19 hours	1.2 Gb		4M	8M
MiSeq Reagent Kit v2 Nano					
2 × 150 bp	~17 hours	300 Mb			
2 × 250 bp	~28 hours	500 Mb		1M	2M

- **Escáner de microarrays de alto rendimiento**

- **iScan (Illumina®)** es un escáner de alta resolución de microarrays basado en la tecnología “Bead-Based microarray”. Cuenta con micromatrices cubiertas por cientos de miles de microesferas que portan copias de oligos específicos. Estos actúan como secuencias de captura para una amplia gama de aplicaciones para el análisis de ADN. El sistema iScan va acompañado de una amplia variedad de ensayos y kits disponibles desde la web de Illumina: <https://emea.illumina.com/systems/array-scanners/iscan/products-services.html>

Recientemente se ha incorporado el sistema de pipeteo automatizado Infinium con ILASS, el cual permite añadir a la cartera de servicios los nuevos kits de genotipado y metilación de Illumina®, que requieren exclusivamente un sistema automatizado. Además, este equipo facilita el procesamiento de un mayor número de muestras en menos tiempo.

• S
i
s



temas de cuantificación de expresión génica y genotipado por PCR a tiempo real

- **QuantStudio™ 6 Flex Real-Time PCR System (Applied Biosystems™)** (96 y 384 pocillos). Con la tecnología OptiFlex, la cual permite el multiplexing avanzado para la cuantificación de múltiples genes dentro del mismo experimento. Este sistema permite realizar en la misma secuencia ensayos basados tanto en TaqMan como en SYBR, facilitando una mayor flexibilidad en el diseño experimental.



- **QuantStudio™ 12K Flex System with OpenArray™ (Applied Biosystems™).** Permite analizar de 1 a 12.000 reacciones en una sola carrera, y hasta 110.000 reacciones en un solo día, cuando se combina con el sistema AccuFill QuantStudio 12K Flex OpenArray. Es una tecnología que abarata el coste y reduce el tiempo de manipulación.
 - **7900HT (Applied Biosystems™)** (96 y 384 pocillos) con capacidad para el análisis de 1-30 posiciones en 384 muestras.
 - **7500 (Applied Biosystems™),** calibrada para una amplia gama de fluoróforos disponibles: FAM™/SYBR™ Green I, VIC™/JOE™, TAMRA™/CY3, ROX™/Texas Red y CY5.
- **PCR digital**
 - **QuantStudio™ Absolute Q Digital PCR System (Applied Biosystems™).**
Esta nueva plataforma se basa en la tecnología de placa de matriz microfluídica (MAP) que permite concentrar la mayor parte del flujo de trabajo en un único instrumento (compartimentación, ciclo térmico y adquisición de datos), minimizando los pasos prácticos y maximizando la uniformidad de los ensayos.



Resto de equipamiento disponible

- **Termocicladores:**
 - Seis sistemas Veriti™ Dx Thermal Cycler
 - Sistema SimpliAmp™ Thermal Cycler
 - Dos sistemas GeneAmp® PCR 9700
- **Sistemas de cuantificación de ADN, ARN y proteínas:**
 - Bioanalyzer 2100 (Agilent Technologies)
 - TapeStation 4200 (Agilent Technologies)
 - NanoDrop™ 2000c (ThermoFisher Scientific)
 - Qubit™ 4 (ThermoFisher Scientific)
- **Robot:**
 - Equipo de ultrasonificación de onda dirigida E220 Focused-ultrasonicator (Covaris)

Técnicas

- Secuenciación de Nueva Generación (NGS) de ADN y ARN
- Genotipado y análisis de asociación de genoma completo (GWAS y EWAS)
- PCR digital
- PCR cuantitativa/PCR en tiempo real/qPCR
- Análisis de calidad de ADN/ARN y librerías de NGS
- Sonicación de onda dirigida
- Análisis bioinformático

Aplicaciones

- **Secuenciación de Nueva Generación (NGS)**
 - Genómica (DNA-Seq):
 - Secuenciación de genomas pequeños completos (microorganismos, virus).
 - Secuenciación de exomas y grandes paneles (enrichment-based).
 - Secuenciación dirigida de genes (paneles de genes, amplicones).
 - Secuenciación de novo.
 - Transcriptómica (RNA-Seq):
 - Perfil de expresión génica (Total RNA-Seq, mRNA-Seq).
 - Secuenciación dirigida de perfil de expresión.
 - Análisis de pequeños ARNs (miRNA y Small RNA).
 - Epigenómica:
 - Análisis de metilación (MeDIP-Seq, RRBS-Seq).
 - Análisis de la interacción ADN-proteínas (ChIP-Seq, Hi-C/3C-Seq, 4C-Seq).
 - Análisis de la interacción ARN-proteínas (RIP-Seq, CLIP-Seq).
 - Análisis de captura de retrotransposones (RC-Seq).
 - Metagenómica:
 - Perfiles metagenómicos (estudios de microbioma).
 - Secuenciación de las subunidades 16S, 18S, ITS (ID de microorganismos).

El servicio básico de desarrollo de proyectos de NGS incluirá: Control de calidad inicial de las muestras extraídas, Normalización, Preparación de librerías, Validación de la librería por electroforesis de alta resolución, Pooling o multiplexado, Secuenciación en equipo de NGS, Demultiplexing y entrega de Raw Data (BCL) y/o FASTQ.

- **Genotipado y análisis de asociación de genoma completo (GWAS y EWAS)**

- Genotipos completos o específicos de muestras humanas para investigaciones de medicina de precisión, farmacogenómica, investigaciones traslacionales y estudios de asociación de enfermedades.
- Estudios de genotipado en plantas y animales (agrigenómica).
- Microarrays citogenómicos de alta resolución para detectar mosaicismos de bajo nivel, CNV, LOH y AOH en todo el genoma.
- Análisis de patrones epigenéticos de genoma completo.
- Estudios de asociación de genoma completo (GWAS).

El servicio de análisis de genotipado y metilación con microarrays de Illumina® incluye: control de calidad de las muestras extraídas (verificación de la calidad y la concentración), normalización, amplificación de ADN genómico, tratamientos enzimáticos, marcaje de array, escaneado en el equipo y obtención de datos, y generación y envío de resultados de análisis preliminar.

- **Cuantificación de expresión génica y genotipado por PCR a tiempo real**

- Selección de genes candidatos en las distintas BBDD, atendiendo a alguna categoría en particular como función biológica, localización celular, posición cromosómica, etc., de interés para el usuario.
- Identificación de genotipos de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) en estudios de discriminación alélica.
- Análisis de variación en el número de copias (CNV) de un determinado gen.
- Determinación de los niveles de expresión de transcritos de interés (ARNm) mediante RT-qPCR.
- Variaciones de splicing: selección de exones anotados, diseño de primers, RT-PCR y electroforesis.
- Microarrays customizados de rendimiento medio (OpenArray™).
- Análisis de microRNAs, mediante el uso de primers específicos.
- Análisis de High Resolution Melting (HRM), ya sea para la detección de diferencias en la metilación entre genes (MS-HRM) o para la búsqueda de mutaciones en secuencias diana.

- **Cuantificación absoluta de ácidos nucleicos mediante dPCR**

- Detección de secuencias raras.
- Análisis de la variación del número de copias (CNV).
- Cuantificación de mutaciones raras.
- Monitorización de biomarcadores en biopsia líquida.

- Medición de la carga viral.
- Análisis de expresión génica y miARN.
- Detección de patógenos.
- Cuantificación de librerías de secuenciación de nueva generación (NGS).
- Detección de dianas raras a partir de muestras medioambientales (incluidas aguas residuales o del alcantarillado).
- **Sonicación de onda dirigida**
 - Fragmentación de moléculas de ADN/ARN, con adaptación de los ciclos y los tiempos en función del tamaño de molécula deseado.
 - Fragmentación de cromatina.
 - Extracción de ácidos nucleicos y proteínas.
 - Homogeneización de muestras.
- **Análisis bioinformático**
 - Soporte en el análisis e interpretación de datos ómicos a través de técnicas bioinformáticas de vanguardia mediante protocolos referentes en su ámbito:
 - Arrays de metilación
 - Secuenciación de ARN
 - Secuenciación de small ARN
 - Secuenciación de ADN – búsqueda de variantes
 - Secuenciación de ADN – metagenómica
 - GWAS
 - Experimentos de célula única
 - Consultoría en el diseño experimental
 - Almacenamiento de datos
 - Elaboración y consulta acerca de la generación de figuras para publicaciones científicas
- **Extracción de ácidos nucleicos:** Este servicio es ofrecido por la Unidad de Servicios Generales de GENyO. Si necesitan información sobre este servicio y/o presupuesto puede contactar con la Unidad en unidad.serviciosgenerales@genyo.es o consultar nuestra web en <https://www.genyo.es/unidades/unidad-de-servicios-generales/>

Asesor/a Científico/a

- **Guillermo Barturen Briñas (Responsable Científico)**

Personal Técnico

Técnicos de apoyo a la investigación: Servicio de Genómica

- **Esperanza de Santiago Rodríguez (Responsable Técnico)**
- **Clara Alcántara Domínguez**
- **Natalia Espinar Domínguez**

Técnicos de apoyo a la investigación: Servicio de Bioinformática

- **Raúl López Domínguez**
- **José Manuel Gómez Silva**