

Illumina Stranded mRNA Prep, Ligation

Análisis muy preciso del transcriptoma codificante con una solución rápida y flexible

- Consiga datos de alta calidad y un descubrimiento de genes mejorado a partir de tan solo 25 ng de ARN
- Prepare librerías en 7 horas con menos de 3 horas de tiempo de participación activa
- Multiplexado de hasta 384 muestras en un experimento único con índices dobles únicos



Introducción

La secuenciación de ARN (RNA-Seq) con secuenciación de nueva generación (NGS, Next-Generation Sequencing) es un potente método para localizar, definir y cuantificar los transcritos de ARN. Las principales estrategias de RNA-Seq son, por ejemplo:

- La secuenciación de ARN mensajero (ARNm) cuantifica de manera exacta y sensible la expresión genética, identifica isoformas conocidas y nuevas en el transcriptoma codificante y mide la expresión específica del alelo
- La RNA-Seq total proporciona un método sin sesgo y sin hipótesis para un análisis exhaustivo del transcriptoma. Asimismo, mide de forma precisa la abundancia genética y de transcritos, y detecta las características nuevas y conocidas del ARN codificante y las diversas formas del no codificante.
- La RNA-Seq selectiva analiza la expresión genética en un conjunto específico de genes de interés. La RNA-Seq selectiva mediante enriquecimiento permite el análisis rentable del exoma de ARN mediante captura específica de secuencia de las regiones de codificación del transcriptoma. Es ideal para muestras fijadas en formol y embebidas en parafina (FFPE, Formalin-Fixed Paraffin-Embedded) de baja calidad

TruSeq™ Stranded mRNA ofrece una sólida solución de análisis de expresión genética y aplicaciones de detección en el transcriptoma codificante. Sin embargo, la relativamente alta entrada necesaria y la prolongación de la duración total del ensayo y del tiempo de participación activa han limitado su utilidad en las aplicaciones de RNA-Seq. Para superar estos desafíos, Illumina ha desarrollado Illumina Stranded mRNA Prep. Esta avanzada solución ofrece una preparación de librerías rápida, optimizada y mediante ligaduras (figura 1) que admite entradas de muestras reducidas (tabla 1) y una amplia gama de aplicaciones de mRNA-Seq.

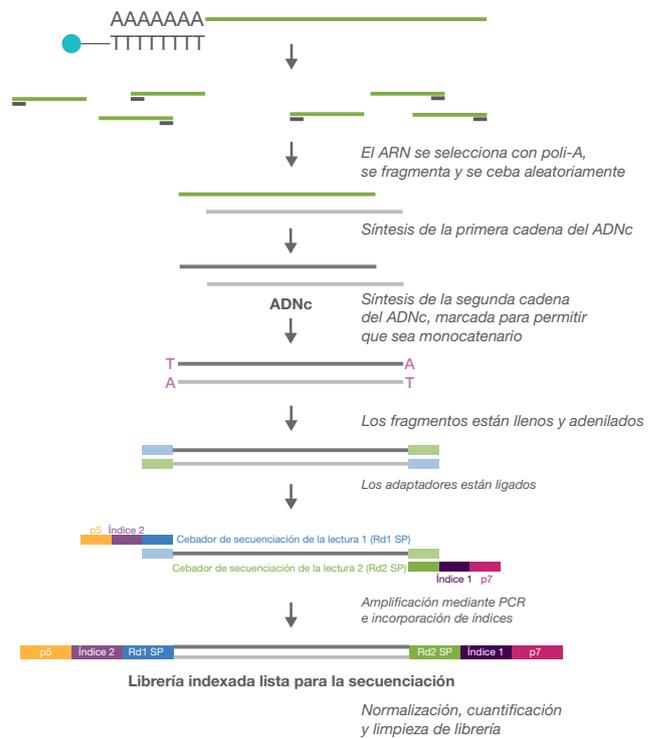


Figura 1: Illumina Stranded mRNA Prep. Una vez finalizadas la selección de poli-A y la síntesis de ADNc, la ligadura de los exclusivos adaptadores de índices dobles y la amplificación PCR produce librerías de gran calidad que se cuantifican y normalizan antes de la secuenciación.

Tabla 1: Especificaciones de Illumina Stranded mRNA Prep

Característica	TruSeq Stranded mRNA Prep	Illumina Stranded mRNA Prep
UDI máx.	96	384
Cantidad de entrada de ARN	100-1000 ng	25-1000 ng
Duración total del ensayo	10,5 horas	6,5 horas
Tiempo de participación activa	<7 horas	<3 horas
Configuración del kit	48 o 96 muestras	16 o 96 muestras
UDI, índice doble único		

Datos de alta calidad

Expresión genética

Illumina Stranded mRNA Prep produce librerías de secuenciación a partir de entradas reducidas, que ofrecen criterios de medición de alta calidad para el análisis de la expresión genética (tabla 2, figura 2). En combinación, estos resultados demuestran el excepcional rendimiento de Illumina Stranded mRNA Prep para las aplicaciones de expresión genética. La mRNA-Seq ofrece numerosas ventajas sobre los métodos distintos de la NGS, como:

- Diseño de experimentos sin hipótesis, sin que sean necesarios conocimientos previos del transcriptoma
- Mayor capacidad de detección para detectar transcritos, tanto conocidos como nuevos
- Capacidad de mayor productividad para cuantificar cientos de miles de regiones en cada ensayo
- Rango dinámico más amplio, lo que ofrece una medición más precisa de la expresión genética
- Más datos por ensayo, lo que ofrece información completa sobre las secuencias y las variantes

Tabla 2: Criterios de medición de rendimiento de Illumina Stranded mRNA Prep, Ligation

Criterio de medición	100 ng de entrada de ARN		25 ng de entrada de ARN	
	TruSeq Stranded mRNA	Illumina Stranded mRNA Prep	TruSeq Stranded mRNA	Illumina Stranded mRNA Prep
% de ARNr (28S/18S)	5,1	1,8	5,3	1,5
Mono-catenario	99,6	99,4	99,6	99,4
CV de la mediana de cobertura	0,49	0,46	0,50	0,47
% de duplicados	5,4	3,7	8,5	3,3
% alineado	97,1	97,8	96,8	97,8

Resultados procedentes de la aplicación RNA Seq Alignment v2.0.1 a 30 millones de lecturas. Los duplicados se notifican a 4 millones de lecturas "paired-end" de las que se hayan obtenido submuestras y que hayan pasado el filtro.

Eficacia en el descubrimiento de genes

Para comparar el rendimiento de Illumina Stranded mRNA Prep con TruSeq Stranded mRNA para las aplicaciones de descubrimiento de genes, se secuenciaron diversas cantidades de ARN de referencia humana universal (UHR, Universal Human Reference) en 30 millones de lecturas y se evaluó el número de genes con cobertura de 1 y 10x. Según los resultados, Illumina Stranded mRNA Prep ofrece una mejor descubrimiento de genes, sobre todo con cantidades de entrada reducidas (figura 3).

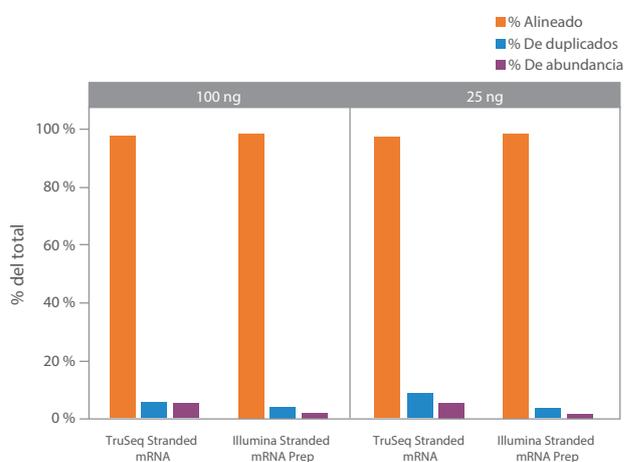


Figura 2: Comparación de criterios de medición de rendimiento. Se comparó Illumina Stranded mRNA Prep con TruSeq Stranded mRNA. Illumina Stranded mRNA Prep mostró un rendimiento superior, en particular, con una entrada de ARN de UHR de 25 ng. Se obtuvieron submuestras de las librerías a 30 millones de lecturas y se analizaron con la aplicación BaseSpace™ RNA-Seq Alignment v2.0.1. Los duplicados se notifican a 4 millones de lecturas "paired-end" de las que se hayan obtenido submuestras y que hayan pasado el filtro.

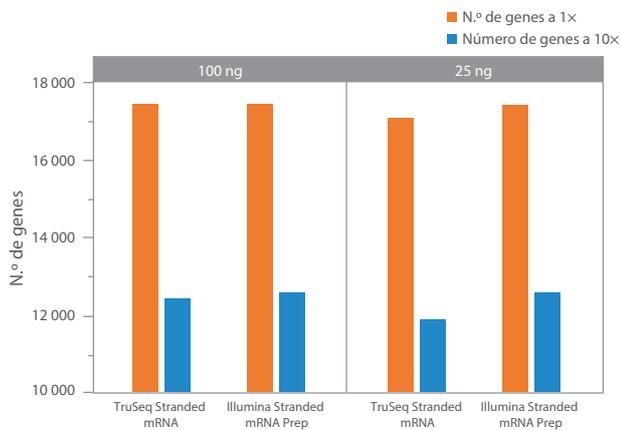


Figura 3: Mayor descubrimiento de genes con entrada reducida. Illumina Stranded mRNA Prep ofrece un mejor descubrimiento de genes con entradas reducidas de ARN en comparación con TruSeq Stranded mRNA. El número de genes detectados se registra a 30 millones de lecturas "paired-end" de las que se hayan obtenido submuestras y que hayan pasado el filtro. La detección de más genes con cobertura de 1x, como es el caso de Illumina Stranded mRNA Prep, indica una mayor sensibilidad.

Concordancia de datos excepcional

Illumina Stranded mRNA Prep produce datos de calidad con una alta concordancia entre réplicas técnicas (figura 4A) y diversas cantidades de entrada de ARN de UHR (figura 4B). Según estos resultados, Illumina Stranded mRNA Prep es una solución ideal para las muestras con un material de partida limitado. Asimismo, Illumina Stranded mRNA Prep muestra una gran concordancia de datos con TruSeq Stranded mRNA, tanto con entradas equivalentes (figura 5A) como con entradas reducidas (figura 5B).

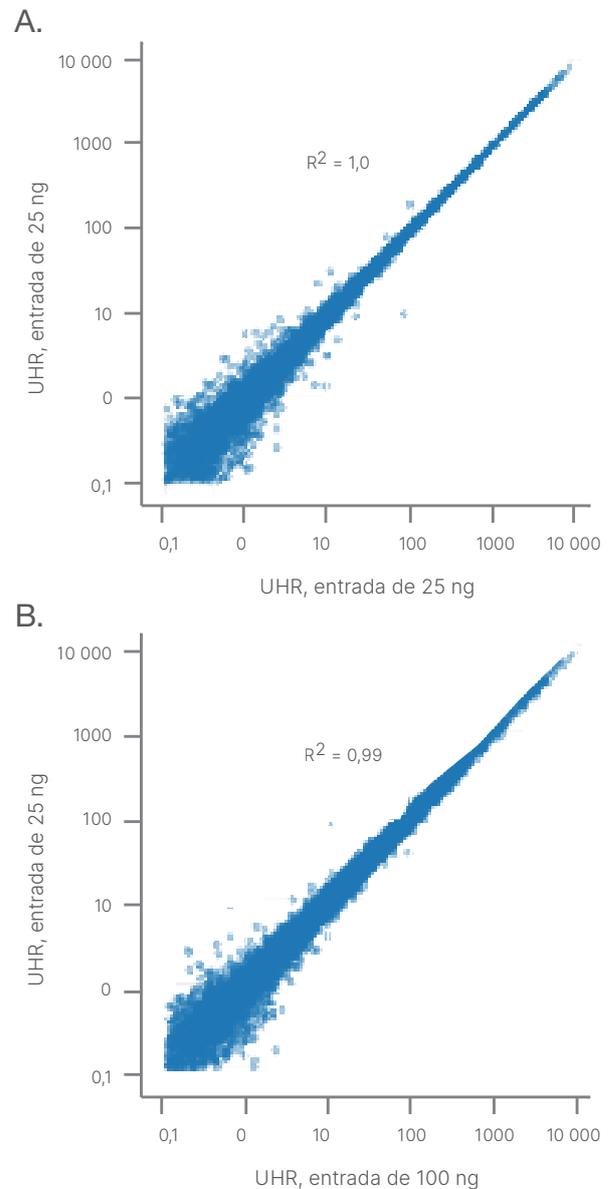


Figura 4: Alta concordancia de datos. Illumina Stranded mRNA Prep logra una elevada concordancia de datos entre réplicas técnicas (A) de 25 ng de ARN de UHR y (B) entre entradas de 25 ng y 100 ng de ARN de UHR. Se secuenciaron librerías a 2×74 pb y se obtuvieron submuestras de 30 millones de lecturas. El análisis de datos se realizó utilizando la aplicación BaseSpace RNA-Seq Alignment v2.0.1.

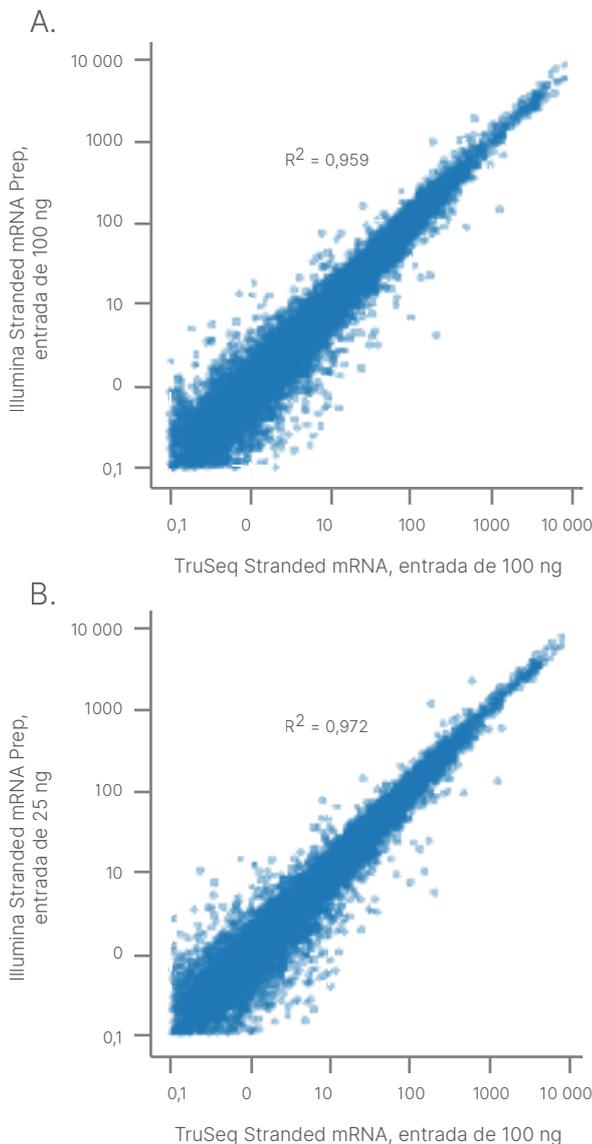


Figura 5: Alta concordancia con el kit heredado. Illumina Stranded mRNA Prep produce datos de gran concordancia con TruSeq Stranded mRNA a (A) entradas equivalentes de ARN de UHR de 100 ng y (B) con una entrada reducida de ARN de UHR de 25 ng frente a 100 ng.

Flujo de trabajo de preparación de librerías optimizado

Illumina Stranded mRNA Prep usa un flujo de trabajo rápido y flexible para la preparación de librerías de ARN con ligaduras (figura 1). Las innovaciones en el flujo de trabajo, incluidos los tiempos de incubación más breves y el menor número de pasos de limpieza de muestras, suponen una duración total del ensayo aproximadamente un 40 % más rápido que TruSeq Stranded mRNA (figura 6).

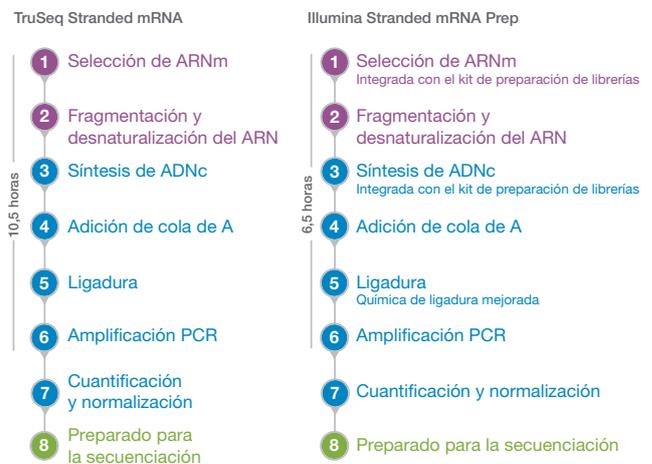


Figura 6: Flujo de trabajo de Illumina Stranded mRNA Prep. Illumina Stranded mRNA Prep ofrece un flujo de trabajo rápido con un menor tiempo de participación activa. El tiempo puede variar dependiendo del equipo empleado, el número de muestras procesadas, los procedimientos de automatización o la experiencia del usuario.

Mayor productividad con índices dobles únicos

Al combinar Illumina Stranded mRNA Prep y las plataformas de alta productividad, incluido NextSeq™ 550 System y NovaSeq™ 6000 System, los laboratorios pueden secuenciar muchas más muestras por experimento, sin comprometer la calidad de los datos. Para obtener un aumento adicional en la productividad de muestras, Illumina Stranded Total RNA Prep posibilita el multiplexado con 384 índices dobles únicos (UDI, Unique Dual Indexes). Además de eliminar el impacto de la asignación incorrecta de índices, es decir, el intercambio de índices, los UDI ayudan a disminuir los costes de la secuenciación al permitir que se carguen hasta 384 muestras en una sola celda de flujo S4 de NovaSeq 6000 para obtener una productividad significativamente mayor.

Resumen

Illumina Stranded mRNA Prep ofrece una solución optimizada para un análisis claro y completo del transcriptoma codificante. Además, proporciona una extraordinaria flexibilidad en cuanto al tipo de entrada y permite entradas reducidas de hasta 25 ng de ARN de alta calidad. Illumina Stranded mRNA Prep ofrece mediciones precisas de la orientación de la cadena, una cobertura uniforme y una alta fiabilidad en la localización de características, como las isoformas nuevas, las fusiones génicas y la expresión específica de alelos.

Información adicional

[Illumina Stranded mRNA Prep, Ligation](#)

Datos para realizar pedidos

Producto	N.º de catálogo
Illumina Stranded mRNA Prep, Ligation (16 samples)	20040532
Illumina Stranded mRNA Prep, Ligation (96 samples)	20040534
Illumina RNA UD Indexes Set A, Ligation (96 indexes, 96 samples)	20091655
Illumina RNA UD Indexes Set B, Ligation (96 indexes, 96 samples)	20091657
Illumina RNA UD Indexes Set C, Ligation (96 indexes, 96 samples)	20091659
Illumina RNA UD Indexes Set D, Ligation (96 indexes, 96 samples)	20091661



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

© 2023 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-02143 ESP v1.0