

# illumina Stranded mRNA Prep, Ligation

Analyse très précise du  
transcriptome codant grâce  
à une solution flexible et rapide

- Des données de haute qualité et meilleure identification des gènes avec seulement 25 ng d'ARN
- Préparation des bibliothèques en 7 heures dont moins de 3 heures sont consacrées à la manipulation
- Multiplexage de jusqu'à 384 échantillons en une seule analyse avec des index doubles uniques

## Introduction

Le séquençage d'ARN (RNA-Seq) avec séquençage nouvelle génération (SNG) est une méthode puissante pour découvrir, réaliser le profilage et quantifier des transcrits d'ARN. Les principales approches de RNA-Seq comprennent :

- L'ARN messager (mRNA)-Seq quantifie l'expression génique de façon sensible et précise, identifie les isoformes connues et nouvelles dans le transcriptome codant et mesure l'expression spécifique d'allèles.
- Le RNA-Seq total fournit une approche authentique et sans hypothèse pour une analyse complète du transcriptome. Il mesure de façon précise l'abondance des gènes et des transcrits, et détecte à la fois des caractéristiques connues et nouvelles dans l'ARN codant ainsi que dans différentes formes d'ARN non codant.
- Le RNA-Seq ciblé analyse l'expression génique dans un ensemble ciblé de gènes d'intérêt. Le RNA-Seq ciblé avec enrichissement permet d'effectuer une analyse rentable de l'exome de l'ARN grâce à la capture de séquences spécifiques des régions de codage du transcriptome. Il est idéal pour les échantillons fixés au formol et inclus en paraffine (FFIP) de basse qualité.

TruSeq<sup>MC</sup> Stranded mRNA fournit une solution robuste pour l'analyse de l'expression génique et les applications de découverte dans le transcriptome codant. Cependant, la nécessité d'utiliser des quantités relativement élevées et l'ampleur de la durée totale du test et de la durée de manipulation ont restreint son utilité en matière d'applications RNA-Seq. Pour surmonter ces obstacles, Illumina a mis au point Illumina Stranded mRNA Prep. Cette solution de pointe offre une préparation de bibliothèques rapide, efficace et basée sur la ligation (figure 1) qui prend en charge les petites quantités d'échantillons (tableau 1) et une grande variété d'applications ARNm-Seq.

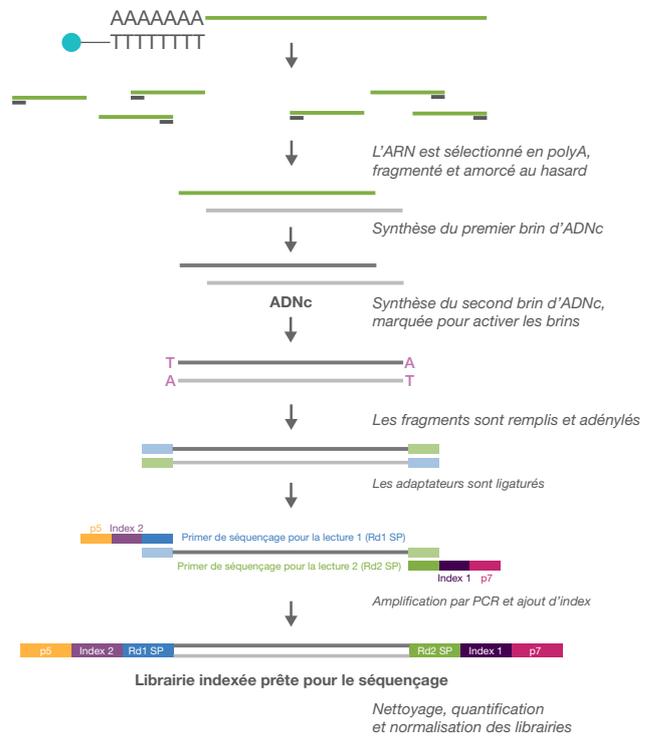


Figure 1 : Illumina Stranded mRNA Prep – Une fois la sélection polyA et la synthèse ADNc complétées, la ligation d'adaptateurs d'index doubles uniques et l'amplification PCR produisent des bibliothèques de haute qualité qui sont quantifiées et normalisées avant le séquençage.

Tableau 1 : Caractéristiques d'Illumina Stranded Total RNA Prep

Caractéristique	TruSeq Stranded mRNA Prep	Illumina Stranded mRNA Prep
IDU max.	96	384
Quantité d'entrée d'ARN	100 à 1 000 ng	25 à 1 000 ng
Durée totale du test	10,5 heures	6,5 heures
Durée de manipulation	< 7 heures	< 3 heures
Configuration de la trousse	48 ou 96 échantillons	16 ou 96 échantillons

IDU : index doubles uniques

## Données de haute qualité

### Expression génique

ILLUMINA Stranded mRNA Prep produit des bibliothèques de séquençage à partir d'une faible quantité d'entrées qui résultent en des mesures de haute qualité pour l'analyse de l'expression génique (tableau 2, figure 2). Ensemble, ces résultats démontrent la performance exceptionnelle d'ILLUMINA Stranded mRNA Prep pour les applications d'expression génique. mRNA-Seq offre plusieurs avantages comparativement aux méthodes non-SNG, dont :

- Un modèle expérimental sans hypothèse, ne nécessitant aucune connaissance préalable du transcriptome
- Une plus grande puissance de découverte pour détecter les transcrits connus et les nouveaux
- Une capacité de débit plus élevée pour quantifier des centaines voire des milliers de régions lors de chaque test
- Une plage dynamique plus large, fournissant une mesure plus précise de l'expression génique
- Plus de données par test, fournissant des informations complètes sur la séquence et les variants

Tableau 2 : Indicateurs de performance pour ILLUMINA Stranded mRNA Prep, Ligation

Indicateur	Entrée de 100 ng d'ARN		Entrée de 25 ng d'ARN	
	TruSeq Stranded mRNA	ILLUMINA Stranded mRNA Prep	TruSeq Stranded mRNA	ILLUMINA Stranded mRNA Prep
% d'ARNr (28S/18S)	5,1	1,8	5,3	1,5
% de brins	99,6	99,4	99,6	99,4
CV médian de couverture	0,49	0,46	0,50	0,47
% de doublons	5,4	3,7	8,5	3,3
% d'alignement	97,1	97,8	96,8	97,8

Les résultats proviennent de l'application RNA Seq Alignment App v2.0.1 à 30 millions de lectures. Les doublons sont rapportés à 4 millions de lectures appariées sous-échantillonnées passant le filtre.

### Efficacité en matière d'identification de gènes

Pour comparer la performance d'ILLUMINA Stranded mRNA Prep à TruSeq Stranded mRNA pour les applications de découverte génique, différentes quantités d'ARN de référence humain universel (RHU) ont été séquencées à 30 millions de lectures et le nombre de gènes avec une couverture de 1× et 10× a été déterminé. Les résultats ont démontré qu'ILLUMINA Stranded mRNA Prep permet une meilleure détection des gènes, particulièrement avec de faibles quantités d'entrées (figure 3).

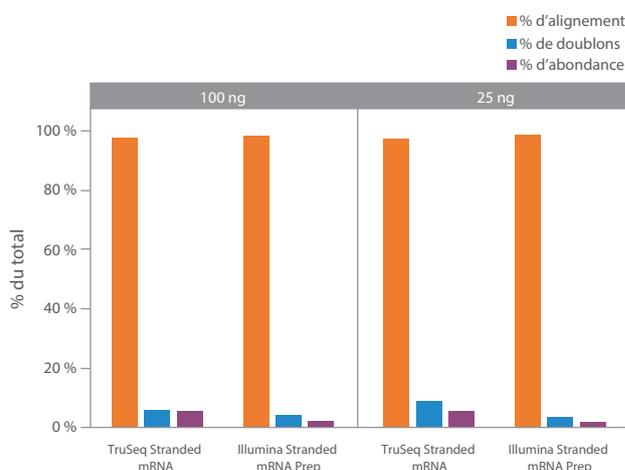


Figure 2 : Comparaison des indicateurs de performance – ILLUMINA Stranded mRNA Prep a été comparé au TruSeq Stranded mRNA. ILLUMINA Stranded mRNA Prep a démontré une performance supérieure, particulièrement avec une entrée de 25 ng d'ARN de RHU. Les bibliothèques ont été sous-échantillonnées à 30 millions de lectures et analysées avec l'application BaseSpace™ RNA-Seq Alignment App v2.0.1. Les doublons sont rapportés à 4 millions de lectures appariées sous-échantillonnées passant le filtre.

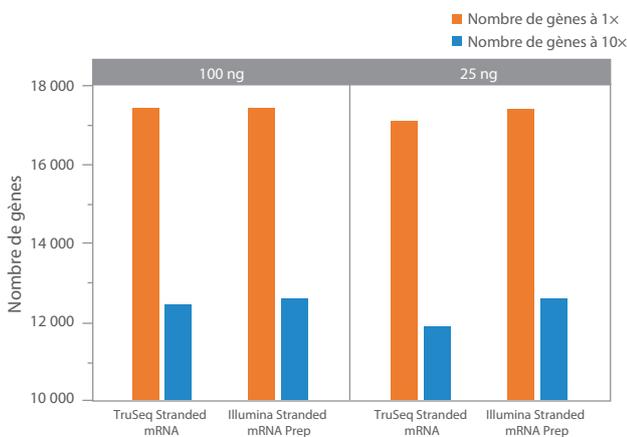


Figure 3 : Une meilleure découverte génique à faible entrée – Illumina Stranded mRNA Prep permet une meilleure détection des gènes avec de faibles entrées d'ARN, comparativement à TruSeq Stranded mRNA. Le nombre de gènes détectés est rapporté à 30 millions de lectures appariées sous-échantillonnées PF. Une détection de plus de gènes à une couverture de 1x, comme c'est le cas avec Illumina Stranded mRNA Prep, indique une plus grande sensibilité.

### Concordance exceptionnelle des données

Illumina Stranded mRNA Prep produit des données de qualité avec une concordance élevée entre réplicats techniques (figure 4A) et différentes quantités d'entrée d'ARN de RHU (figure 4B). Ces résultats démontrent qu'Illumina Stranded mRNA Prep constitue une solution idéale pour les échantillons dont la quantité de matériel initial est limitée. En outre, Illumina Stranded mRNA Prep démontre une concordance élevée des données avec TruSeq Stranded mRNA, à la fois avec des entrées comparables (figure 5A) et avec une entrée réduite (figure 5B).

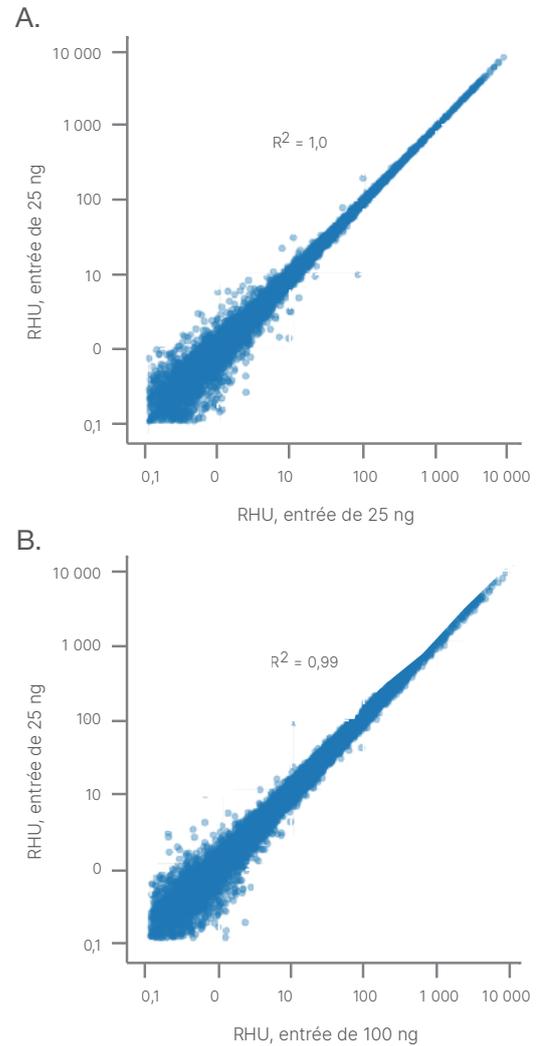


Figure 4 : Concordance élevée des données – Illumina Stranded mRNA Prep atteint une concordance élevée des données entre (A) des réplicats techniques de 25 ng d'ARN de RHU et (B) entre des quantités d'entrées de 25 ng et 100 ng d'ARN de RHU. Les bibliothèques ont été séquencées à  $2 \times 74$  pb, sous-échantillonnées à 30 millions de lectures. L'analyse des données a été réalisée à l'aide de l'application BaseSpace RNA-Seq Alignment App v2.0.1.

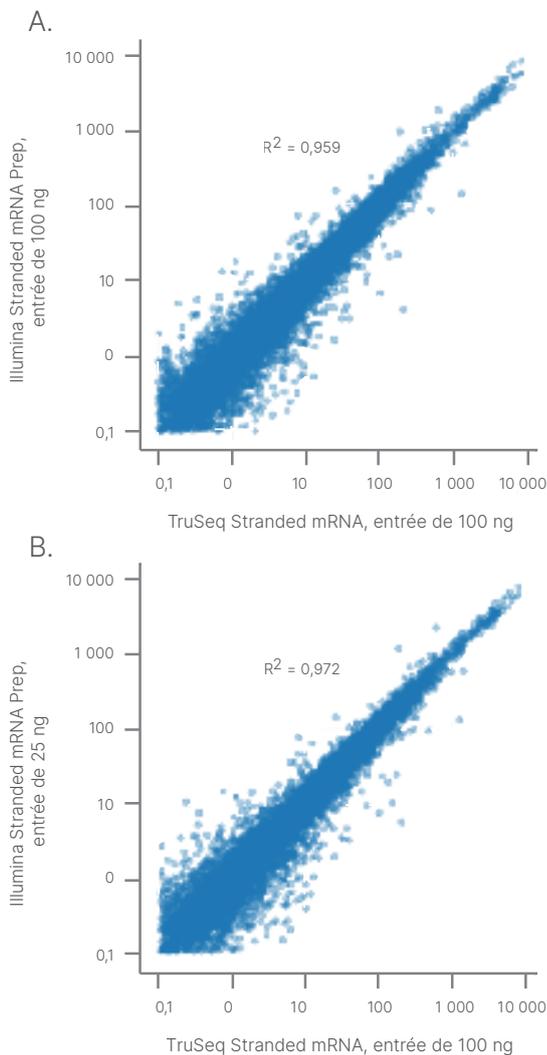


Figure 5 : Concordance élevée avec la trousse existante – Illumina Stranded mRNA Prep produit des données de concordance élevée avec TruSeq Stranded mRNA à (A) des entrées similaires de 100 ng d'ARN de RHU et (B) avec une entrée réduite de 25 ng contre 100 ng d'ARN de RHU.

## Flux de travail rationalisé pour la préparation des bibliothèques

Illumina Stranded mRNA Prep utilise un flux de travail rapide et flexible pour la préparation basée sur la ligation des bibliothèques d'ARN (figure 1). Les innovations apportées au flux de travail, notamment des temps d'incubation plus courts et des étapes de nettoyage des échantillons réduites, se traduisent par une durée totale de test plus de 40 % plus courte que TruSeq Stranded Total RNA (figure 6).

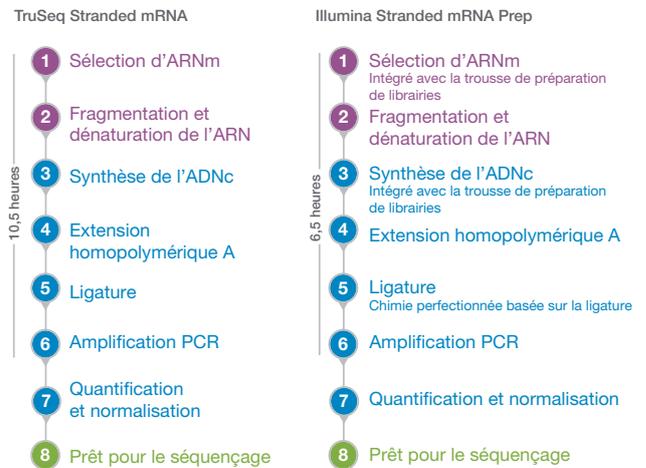


Figure 6 : Flux de travail d'Illumina Stranded mRNA Prep – Illumina Stranded mRNA Prep assure un flux de travail rapide avec une durée de manipulation réduite. Les durées peuvent varier selon le matériel utilisé, le nombre d'échantillons traité, l'automatisation des procédures et le niveau d'expérience de l'utilisateur.

## Débit plus élevé avec des index doubles uniques

En combinant Illumina Stranded mRNA Prep avec des plateformes à débit élevé, comme les systèmes NextSeq<sup>MC</sup> 550 et NovaSeq<sup>MC</sup> 6000, les laboratoires peuvent séquencer beaucoup plus d'échantillons par analyse sans compromettre la qualité des données. Pour augmenter encore davantage le débit d'échantillons, Illumina Stranded Total RNA Prep prend en charge le multiplexage avec 384 index doubles uniques. En plus d'éliminer l'impact d'une mauvaise attribution d'index, ou la commutation d'index, les index doubles uniques contribuent à réduire les coûts de séquençage en permettant le chargement de jusqu'à 384 échantillons sur une seule Flow Cell NovaSeq 6000 S4, ce qui augmente nettement le débit.

## Résumé

ILLUMINA Stranded mRNA Prep offre une solution rationalisée pour une analyse claire et complète à travers le transcriptome codant. Elle offre une flexibilité extraordinaire pour le type d'entrées et prend en charge de faibles quantités d'entrées, jusqu'à 25 ng d'ARN de haute qualité. ILLUMINA Stranded mRNA Prep permet une mesure précise de l'orientation du brin, une couverture uniforme et une découverte hautement fiable de caractéristiques telles que les nouvelles isoformes, les fusions de gènes et l'expression spécifique d'allèles.

## En savoir plus

[ILLUMINA Stranded mRNA Prep, Ligation](#)

## Renseignements relatifs à la commande

Produit	N° de référence
ILLUMINA Stranded mRNA Prep, Ligation (16 échantillons)	20040532
ILLUMINA Stranded mRNA Prep, Ligation (96 échantillons)	20040534
ILLUMINA RNA UD Indexes Set A, Ligation (96 index, 96 échantillons)	20091655
ILLUMINA RNA UD Indexes Set B, Ligation (96 index, 96 échantillons)	20091657
ILLUMINA RNA UD Indexes Set C, Ligation (96 index, 96 échantillons)	20091659
ILLUMINA RNA UD Indexes Set D, Ligation (96 index, 96 échantillons)	20091661



Numéro sans frais aux États-Unis : + (1) 800 809-4566 | Téléphone : + (1) 858 202-4566  
[techsupport@illumina.com](mailto:techsupport@illumina.com) | [www.illumina.com](http://www.illumina.com)

© 2023 ILLUMINA, Inc. Tous droits réservés. Toutes les marques de commerce sont la propriété d'ILLUMINA, Inc. ou de leurs détenteurs respectifs. Pour obtenir des renseignements sur les marques de commerce, consultez la page [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html).  
 M-GL-02143 FRA v1.0