

Ribo-Zero^{MC} Plus Microbiome Depletion Kit

Appauvrissement rapide
et efficace de l'ARNr de
l'hôte et de la bactérie
pour des applications
métatranscriptomiques
de haute qualité

- Solution rationalisée de l'ARN jusqu'à l'analyse qui comporte des sondes de capture pour un appauvrissement efficace de l'ARNr 5S, 16S et 23S spécifiques à l'humain et au microbiome.
- Le flux de travail rapide et flexible prend en charge un vaste éventail d'ARN d'entrée, de 25 ng à 1 000 ng, pour un appauvrissement robuste des ribosomes à partir d'échantillons microbiens complexes (p. ex. les selles).
- L'application BaseSpace^{MC} Sequence Hub Microbiome Metatranscriptomics App, facile à utiliser, permet une analyse simplifiée des données et une visualisation précise des résultats.

illumina^{MD}

Introduction

La métatranscriptomique est une technique puissante pour la caractérisation de la fonction microbienne, de la régulation génique et des interactions dynamiques entre l'hôte et le microbiome en temps réel. Cependant, l'abondance relative élevée des séquences ribosomiques (ARNr) dans les échantillons bactériens réduit la capacité de séquençage de l'ARN-Seq, ce qui rend difficile la détection des transcrits à faible expression, mais qui s'avèrent biologiquement pertinents. De plus, l'absence des queues poly(A) sur les échantillons d'ARN bactérien qui est exprimé prévient également l'enrichissement spécifique de l'ARN messager (ARNm) bactérien pour les analyses transcriptomiques. Pour ces raisons, l'élimination des ARNr avant l'ARN-Seq est cruciale pour obtenir des bibliothèques métatranscriptomiques de haute qualité.

Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit permet d'éliminer rapidement et efficacement les ARNr indésirables des échantillons microbiens complexes. L'appauvrissement robuste de l'ARNr, combiné à l'accès à BaseSpace^{MC} Microbiome Metatranscriptomics App, permet aux chercheurs de concentrer leurs analyses sur les parties du transcriptome à forte valeur informative, dans un flux de travail rationalisé de l'ARN jusqu'à l'analyse.

Technologie éprouvée en appauvrissement des ribosomes

Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit applique la technologie éprouvée d'appauvrissement de l'ARNr Ribo-Zero Plus pour éliminer l'ARNr panbactérien, y compris l'ARNr 5S, 16S et 23S à partir de l'ARNr total isolé de communautés microbiennes complexes. L'appauvrissement des ribosomes à l'aide du flux de travail Ribo-Zero Plus implique une hybridation ciblée avec des sondes d'ADN et un clivage ultérieur médié par la ribonucléase H (RNase H) (figure 1). L'ARN est d'abord hybridé avec des sondes d'ADN complémentaires à l'ARNr. Ces sondes dirigent la RNase H pour digérer l'ARNr. Ensuite, les sondes d'ADN sont digérées avec de la DNase I; l'ARN intact restant est par la suite purifié par billes. Les échantillons appauvris en ribosomes subissent ensuite une préparation de la librairie, un séquençage et une analyse des données.

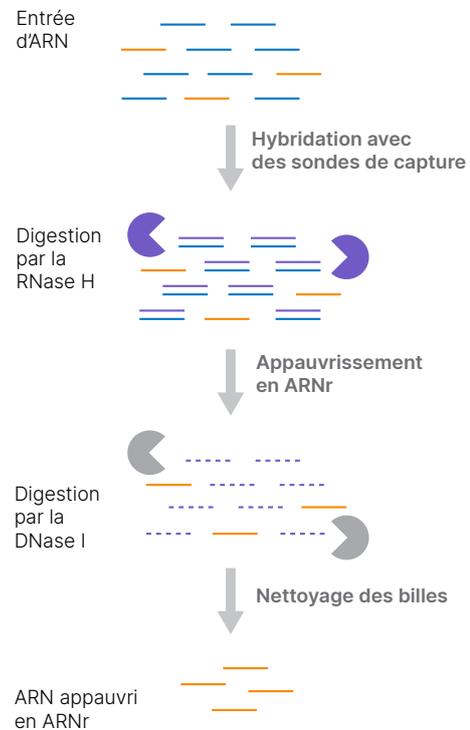


Figure 1 : Protocole d'appauvrissement des ribosomes Ribo-Zero Plus Microbiome : l'ARN d'entrée est hybridé à des sondes de capture oligonucléotidiques complémentaires de l'ARNr. L'ARNr hybridé est ensuite dégradé par voie enzymatique par la RNase H, puis la sonde d'ADN est digérée par la DNase I. Après le nettoyage des billes pour éliminer les enzymes et les oligonucléotides restants, les échantillons d'ARN enrichis sont prêts pour les étapes ultérieures de préparation de la librairie.

Large couverture des espèces microbiennes

Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit comporte un ensemble étendu de sondes de capture comprenant des sondes conçues contre l'ARNr 5S, 16S et 23S de diverses espèces microbiennes, y compris les bactéries intestinales courantes de l'adulte et de l'enfant, ainsi que l'ATCC MSA-2002, MSA-2005 et MSA-2006. La grande couverture de cette trousse élimine efficacement l'ARN non voulu de milliers de souches bactériennes communément présentes dans l'intestin à partir d'échantillons complexes, tels que les selles. En outre, les sondes de capture pour l'ARNr humain, qui sont incluses dans Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit, éliminent l'ARNr hôte et microbien en une seule réaction (figure 2).

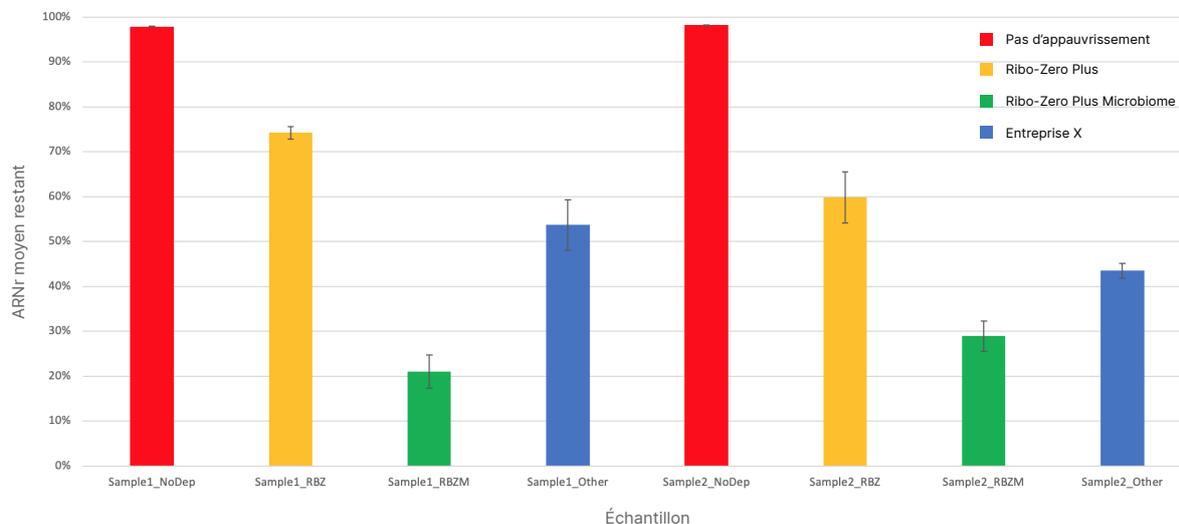


Figure 2 : Appauvrissement robuste des ribosomes avec Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit : Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit permet un appauvrissement efficace des niveaux d'ARNr (5S, 16S et 23S) pour les espèces humaines et bactériennes en une seule réaction en tube. Les résultats sont comparés à Ribo-Zero Plus rRNA Depletion Kit et à une trousse d'appauvrissement des ribosomes vendue sur le marché par l'entreprise X. Deux mélanges de selles ont été testés. L'échantillon 1 est un mélange contenant des selles humaines infantiles alors que l'échantillon 2 est un échantillon commercialisé par Zymo (no de catalogue 6331)

Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit permet un appauvrissement robuste des ARNr contaminants en aussi peu que 25 ng d'ARN total de haute qualité. Les faibles exigences en matière d'échantillons d'entrée élargissent la mise en commun des types d'échantillons pouvant être traités pour des applications métatranscriptomiques sensibles.

Flux de travail intégré de l'ARN jusqu'à l'analyse

Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit s'intègre parfaitement aux flux de travail existants en matière d'automatisation et de séquençage de nouvelle génération (SNG), sans qu'il soit nécessaire d'adapter les protocoles en place (figure 3). La trousse est disponible en tant que produit autonome d'appauvrissement seul ou en tant que partie d'un flux de travail complet comprenant l'Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus et Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit. Cette solution flexible peut accueillir 96 échantillons et est compatible avec les systèmes de séquençage NextSeq^{MC} 500, NextSeq 550, NextSeq 1000, NextSeq 2000 et NovaSeq^{MC} 6000, selon vos besoins en recherche particuliers.

Analyse et visualisation simplifiées des données

L'analyse bioinformatique des données métatranscriptomiques est compliquée et exige des calculs intensifs. Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit comprend l'accès à l'application BaseSpace Microbiome Metatranscriptomics App, qui offre un flux de travail rationalisé de l'ARN jusqu'à l'analyse. Cette application dans le nuage est optimisée pour les données générées à l'aide de l'Illumina Stranded Total RNA Prep with Ligation et Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit (figure 4). L'interface utilisateur intuitive permet aux chercheurs d'analyser des communautés microbiennes complexes et de découvrir des perspectives novatrices sur les profils métaboliques.

Les fichiers FASTQ d'entrée peuvent facilement être manipulés pour générer des données et des visuels de qualité pour la taxonomie, les lectures d'intérêt, l'abondance relative des espèces microbiennes et les gènes prédits impliqués dans les interactions bactéries-hôtes (figure 5).

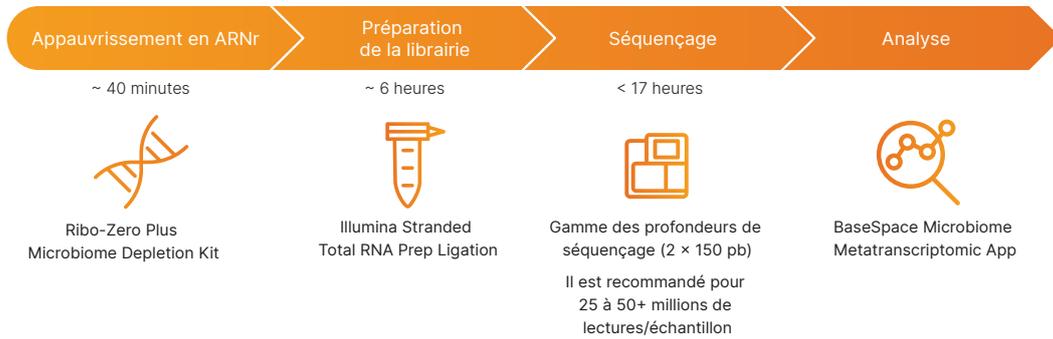


Figure 3 : Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit dans des flux de travail ARN-Seq basés sur le SNG : Ribo-Zero Plus rRNA Depletion Kit est intégrable dans les flux de travail existants pour ARN-Seq afin d'éliminer efficacement les ARNr indésirables des échantillons d'ARN total en ~ 40 minutes.

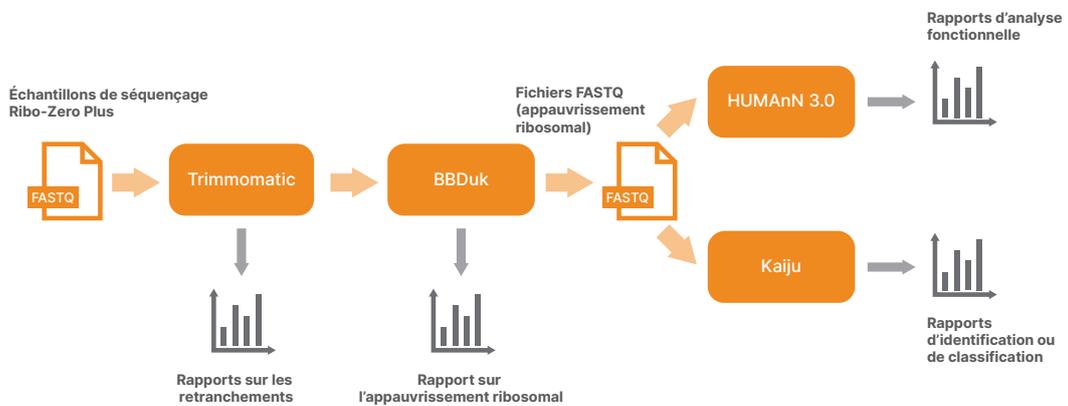
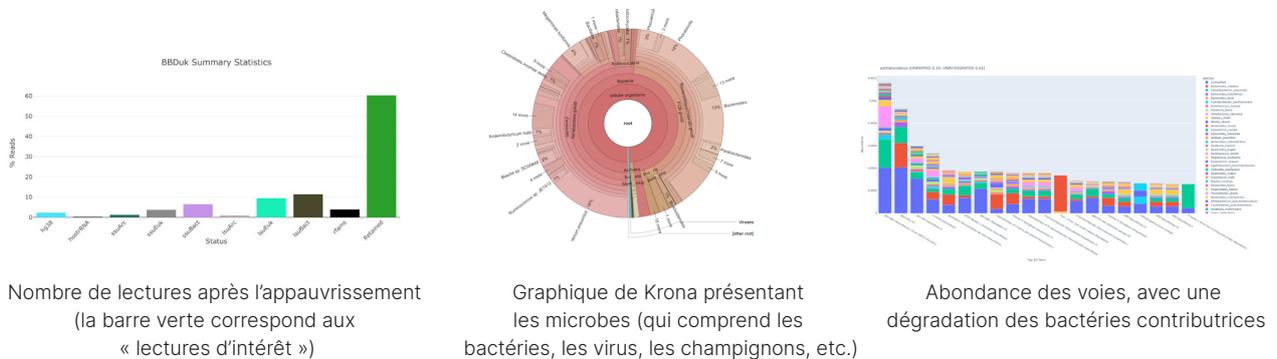


Figure 4 : Pipeline d'analyse des données fonctionnelles à l'aide de BaseSpace Microbiome Metatranscriptomics App : la première étape de l'analyse des données utilise Trimmomatic pour filtrer les lectures courtes et de mauvaise qualité des fichiers FASTQ d'entrée. Ensuite, BBDuk est utilisé pour retirer les lectures de l'hôte, si un génome hôte est sélectionné sur le formulaire d'entrée, et toute lecture résiduelle d'ARNr. Finalement, les lectures filtrées sont traitées avec Kaiju pour fournir une estimation de la composition taxonomique de l'échantillon et avec HUMAN 3 pour quantifier l'expression à travers des groupes fonctionnels de gènes, y compris les familles de gènes, les voies métaboliques et les termes de l'ontologie génétique (OG).



Nombre de lectures après l'appauvrissement (la barre verte correspond aux « lectures d'intérêt »)

Graphique de Krona présentant les microbes (qui comprend les bactéries, les virus, les champignons, etc.)

Abondance des voies, avec une dégradation des bactéries contributrices

Figure 5 : Visualisation des données à l'aide de BaseSpace Microbiome Metatranscriptomics App : graphique à barres de la distribution des lectures après l'appauvrissement des ribosomes, où la barre verte indique les lectures d'intérêt; (B) graphique de Krona montrant l'abondance relative des espèces microbiennes dans le métagénome; (C) représentation graphique des voies métaboliques activées ventilées selon la contribution des espèces bactériennes individuelles à chacune de ces voies.

Résumé

Ribo-Zero Plus rRNA Depletion Kit permet aux chercheurs travaillant sur le microbiome humain d'optimiser leurs travaux de métatranscriptomique en éliminant les ARNr de l'hôte et des bactéries avant l'ARN-Seq. Les ensembles étendus de sondes de capture inclus dans cette trousse ciblent des milliers de souches bactériennes ainsi que l'ARNr humain, éliminant efficacement l'ARNr indésirable présent dans des échantillons complexes en 40 minutes environ. L'accès à BaseSpace Microbiome Metatranscriptomics App simplifie l'analyse et la visualisation des données, offrant un flux de travail rationalisé de l'ARN jusqu'à l'analyse pour la recherche métatranscriptomique.

En savoir plus

Illumina Ribo-Zero Plus rRNA Depletion Kit, [illumina.com/products/by-type/accessory-products/ribo-zero-plus-rna-depletion](https://www.illumina.com/products/by-type/accessory-products/ribo-zero-plus-rna-depletion)

Illumina Stranded Total RNA Library Prep with Ligation, [illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/stranded-total-rna-prep](https://www.illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/stranded-total-rna-prep)

illumina^{MD}

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

© 2022 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 le lien www.illumina.com/company/legal.html.
M-GL-00916 FRA v1.0

Renseignements pour commande

Produit	N° de référence
Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit (autonome)	20072062
Total RNA Library Prep with Ligation, Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit	20072063