

# Ribo-Zero™ Plus Microbiome Depletion Kit

Deplezione rapida ed efficace di rRNA host e batterico per applicazioni di metatrascrittomica di alta qualità

- Una soluzione dall'RNA all'analisi che utilizza sonde di cattura per la deplezione di rRNA 5S, 16S e 23S umano e specifico per il microbioma
- Un flusso di lavoro rapido e flessibile che supporta un ampio intervallo di RNA input da 25 ng a 1.000 ng, per l'efficace deplezione ribosomiale di campioni microbici complessi (ad esempio, feci)
- L'app BaseSpace™ Sequence Hub Microbiome Metatranscriptomics di facile utilizzo semplifica l'analisi dei dati e la visualizzazione accurata dei risultati

**illumina**®

## Introduzione

La metatrascrittomica è una tecnica efficace che consente di caratterizzare in tempo reale la funzione microbica, la regolazione genica e le interazioni dinamiche tra host e microbioma. Tuttavia, la presenza di una elevata abbondanza relativa di sequenze ribosomiali (rRNA) in campioni batterici riduce la capacità del sequenziamento dell'RNA (RNA-Seq), rendendo difficile il rilevamento di trascritti a bassa espressione ma rilevanti dal punto di vista biologico. Inoltre, la mancanza di tailing di poly(A) su campioni di RNA batterico espressi impedisce anche l'arricchimento di RNA messaggero (mRNA, messenger RNA) batterico per le analisi del trascrittoma. Per questi motivi, è fondamentale eliminare l'rRNA prima del sequenziamento RNA-Seq per ottenere librerie metatrascrittomiche di alta qualità.

Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit rimuove in modo rapido ed efficiente l'rRNA indesiderato da campioni microbici complessi. L'efficace deplezione dell'rRNA assieme all'app BaseSpace™ Microbiome Metatranscriptomics consentono ai ricercatori di concentrare le analisi su porzioni di trascrittoma contenenti informazioni di elevato valore grazie a un flusso di lavoro ottimizzato che parte dall'RNA e arriva fino all'analisi.

## Tecnologia di deplezione ribosomica dimostrata

Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit applica la tecnologia di deplezione dell'rRNA di Ribo-Zero Plus per rimuovere l'rRNA in più batteri (inclusi rRNA 5S, 16S e 23S) a partire dall'RNA totale isolato da comunità microbiche complesse. La deplezione ribosomiale con il flusso di lavoro Ribo-Zero Plus include l'ibridazione mirata su sonde di DNA e la successiva ribonucleasi H (RNasi H) mediata da scissione (Figura 1). Per prima cosa l'RNA viene ibridato con sonde di DNA complementari rispetto all'rRNA. Queste sonde indirizzano la RNasi H alla digestione dell'rRNA. La DNasi I digerisce quindi le sonde di DNA e le microsfele dell'RNA rimasto intatto vengono purificate. I campioni con deplezione ribosomiale vengono quindi sottoposti alla preparazione delle librerie, al sequenziamento e all'analisi dei dati.

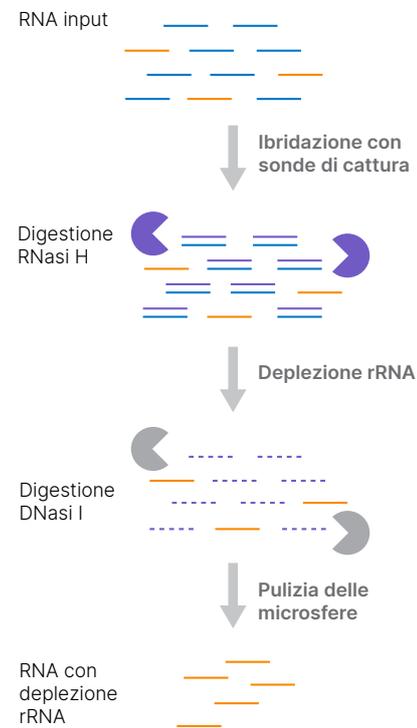


Figura 1: Protocollo di deplezione ribonucleica Ribo-Zero Plus Microbiome: l'RNA input viene ibridato su sonde oligonucleotidiche di cattura complementari dell'rRNA. L'rRNA viene quindi degradato enzimaticamente con RNasi H a cui segue la digestione della sonda di DNA con DNasi I. Dopo la pulizia delle microsfele per rimuovere gli enzimi e gli oligonucleotidi residui, i campioni di RNA arricchiti sono pronti per le successive fasi di preparazione delle librerie.

## Ampia copertura di specie microbiche

Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit dispone di un ampio set di sonde di cattura che comprendono le sonde progettate per l'rRNA 5S, 16S e 23S da diverse specie batteriche, inclusi i batteri comuni intestinali di adulto e neonato nonché ATCC MESA-2002, MSA-2005 e MSA-2006. L'ampia copertura di questo kit elimina in modo efficace l'rRNA indesiderato da migliaia di ceppi batterici che si trovano comunemente nell'intestino da campioni complessi, come le feci. Inoltre, le sonde di cattura per l'rRNA umano, incluse in Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit, eliminano in una singola reazione l'rRNA host e microbico (Figura 2).

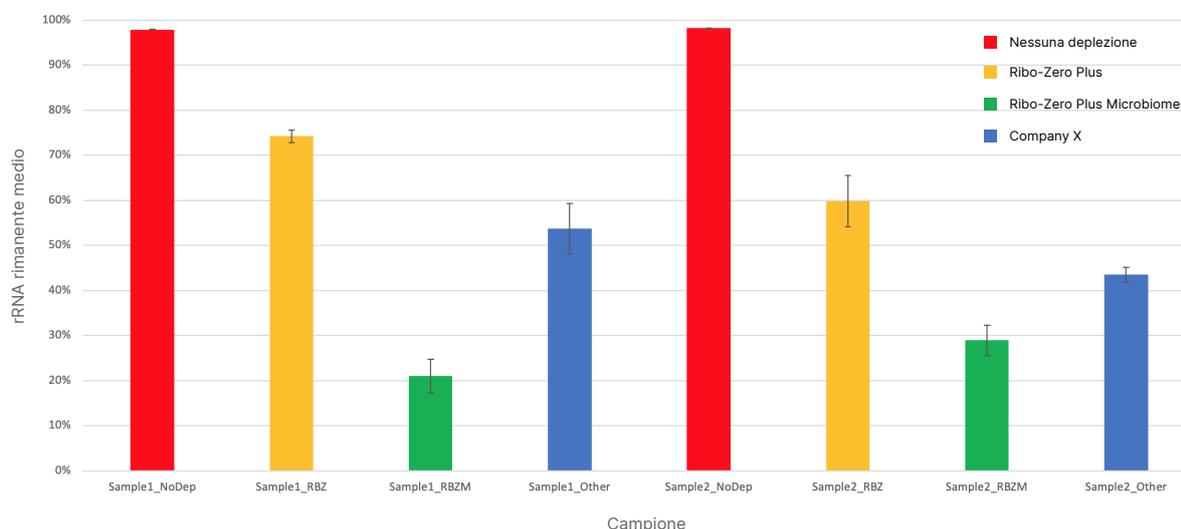


Figura 2: Deplezione ribonucleica efficace con Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit: Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit esegue la deplezione efficace dei livelli di rRNA (5S, 16S 23S) per specie umane e batteriche in una reazione con una singola provetta. I risultati sono confrontati con Ribo-Zero Plus rRNA Depletion Kit e kit di deplezione ribonucleica disponibili in commercio di Company X. Sono state testate due miscele di feci. Il Campione 1 è una miscela di campioni di feci di adulto e neonato umani, mentre il Campione 2 è un campione di feci disponibile in commercio fornito da Zymo (n. di catalogo 6331).

Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit fornisce la deplezione efficace di rRNA contaminante con appena 25 ng di RNA totale di alta qualità. I bassi requisiti di input di campione consentono di ampliare la gamma di tipi di campioni che possono essere elaborati nelle applicazioni di metatrascrittomica sensibile.

## Flusso di lavoro integrato dall'RNA all'analisi

Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit integra in modo ottimale i flussi di lavoro di sequenziamento di nuova generazione (NGS, Next-Generation Sequencing) senza modificare i protocolli esistenti (Figura 3). Il kit è disponibile come prodotto indipendente per la sola deplezione o come parte di un flusso di lavoro completo che include Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus e Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit. La soluzione è flessibile, è in grado di analizzare 96 campioni ed è compatibile con i sistemi di sequenziamento NextSeq™ 500, NextSeq 550, NextSeq 1000, NextSeq 2000 e NovaSeq™ 6000, in base alle specifiche esigenze della ricerca.

## Analisi dei dati e visualizzazione semplificate

L'analisi bioinformatica dei dati di metatrascrittomica è complicata e richiede calcoli complessi. Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit include l'accesso all'app BaseSpace Microbiome Metatranscriptomics che offre un flusso di lavoro ottimizzato che parte dall'RNA e arriva all'analisi. Questa applicazione basata sul cloud è ottimizzata per i dati generati con Illumina Stranded Total RNA with Ligation e Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit (Figura 4). L'interfaccia utente intuitiva consente ai ricercatori di analizzare complesse comunità microbiche e di svelare nuove informazioni sui profili metabolici.

I file di input FASTQ possono essere facilmente gestiti per generare dati e visualizzazioni di alta qualità per tassonomia, letture di interesse, abbondanza relativa di specie microbiche e geni predetti implicati nelle interazioni tra batterio e host (Figura 5).



Figura 3: Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit nei flussi di lavoro NGS per RNA-Seq: Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit può essere implementato negli esistenti flussi di lavoro RNA-Seq per eliminare in modo efficace l'rRNA indesiderato da campioni di RNA totale in circa 40 minuti.

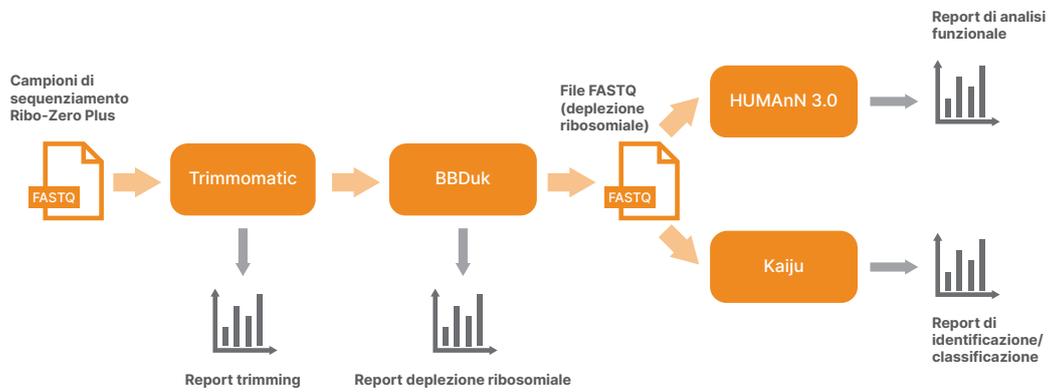


Figura 4: Pipeline di analisi di dati funzionali con l'app BaseSpace Microbiome Metatranscriptomics: il primo passaggio dell'analisi dei dati utilizza Trimmomatic per filtrare le letture brevi e di scarsa qualità dai file FASTQ di input. Se un genoma host viene selezionato sul file di input, le letture host ed eventuali letture rRNA residue vengono rimosse mediante BBduk. Infine, le letture filtrate vengono elaborate con Kaiju per fornire una stima della composizione tassonomica del campione e con HUMAN 3 per quantificare l'espressione sui gruppi funzionali del gene inclusi famiglie di geni, pathway metabolici e termini di Gene Ontology (GO).

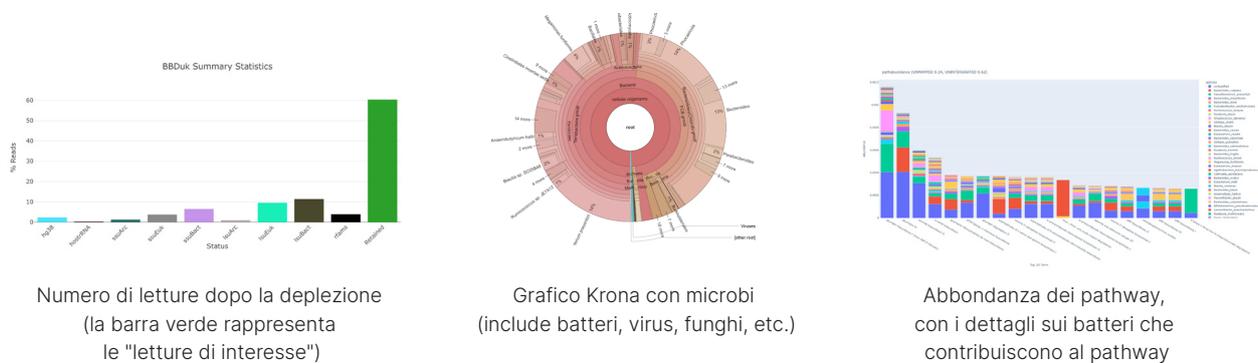


Figura 5: Visualizzazione dei dati con l'app BaseSpace Microbiome Metatranscriptomics: (A) grafico a barre della distribuzione delle letture dopo la deplezione ribonucleica dove la barra verde indica le letture di interesse; (B) grafico Krona che mostra l'abbondanza tassonomica relativa di specie microbiche nel metagenoma; (C) rappresentazione grafica dei pathway metabolici attivi suddivisi in base al contributo delle singole specie batteriche rispetto a questi pathway.

## Riepilogo

Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit consente ai ricercatori di lavorare con il microbioma umano per ottimizzare la ricerca metatrascrittomica eliminando l'rRNA host e batterico prima del sequenziamento RNA-Seq. Questo kit contiene un set di sonde di cattura ampliato che consente di mirare a migliaia di ceppi batterici e rRNA umano. In circa 40 minuti il kit rimuove in modo efficace l'rRNA indesiderato presente in campioni complessi. L'app BaseSpace Microbiome Metatranscriptomics semplifica l'analisi e la visualizzazione dei dati fornendo alla ricerca metatrascrittomica un flusso di lavoro ottimizzato che parte dall'RNA e arriva all'analisi.

## Maggiori informazioni

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).

## Informazioni per gli ordini

Prodotto	N. di catalogo
Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit (Standalone)	20072062
Total RNA Library Prep with Ligation, Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit	20072063

# illumina®

Numero verde 1.800.809.4566 (U.S.A.) | Tel. +1.858.202.4566  
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2022 Illumina, Inc. Tutti i diritti riservati. Tutti i marchi di fabbrica sono di proprietà di Illumina, Inc. o dei rispettivi proprietari. Per specifiche informazioni sui marchi, può consultare [www.illumina.com/company/legal.html](https://www.illumina.com/company/legal.html).  
M-GL-00916 ITA v1.0