

Ribo-Zero™ Plus Microbiome Depletion Kit

Eliminación rápida y eficiente del ARNr bacteriano y del huésped para aplicaciones metatranscriptómicas de alta calidad

- Solución optimizada, del ARN al análisis, que cuenta con sondas de captura para una eliminación eficiente y específica del ARNr 5S, 16S y 23S humano y del microbioma.
- El flujo de trabajo rápido y flexible permite utilizar una amplia gama de cantidades de entrada de ARN, desde 25 ng hasta 1000 ng, para una eliminación de ribosomas robusta en muestras microbianas complejas (p. ej., heces).
- La aplicación BaseSpace™ Sequence Hub Microbiome Metatranscriptomics App es fácil de usar y permite un análisis de datos simplificado y una visualización de datos precisa.

illumina®

Introducción

La metatranscriptómica es una técnica potente de caracterización de la función microbiana, la regulación génica y las interacciones dinámicas entre huésped y microbioma en tiempo real. Sin embargo, la alta abundancia relativa de secuencias ribosomales (ARNr) en las muestras bacterianas reduce la capacidad de secuenciación del ARN y dificulta la detección de transcritos con una baja expresión, aunque de relevancia biológica. Además, la ausencia de extremos poli-A en las muestras de ARN bacteriano expresado también impide el enriquecimiento específico de ARN mensajero (ARNm) bacteriano para análisis de transcriptómica. Por estos motivos, la eliminación del ARNr antes de la secuenciación de ARN es un paso fundamental para obtener librerías de metatranscriptómica de alta calidad.

Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit ofrece una eliminación rápida y eficiente del ARNr no deseado de muestras microbianas complejas. La eliminación robusta del ARNr combinada con el acceso a la aplicación BaseSpace™ Microbiome Metatranscriptomics App permite a los investigadores centrar sus análisis en partes informativas y de gran valor del transcriptoma, a través de un flujo de trabajo optimizado, del ARN al análisis.

Tecnología de eliminación de ribosomas demostrada

Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit aplica la tecnología de eliminación del ARNr demostrada de Ribo-Zero Plus para eliminar el ARNr panbacteriano, es decir el ARNr 5S, 16S y 23S, del ARN total aislado de comunidades microbianas complejas. La eliminación de ribosomas con el uso del flujo de trabajo de Ribo-Zero Plus mejora la hibridación selectiva a sondas de ADN y la posterior escisión provocada por la ribonucleasa H (ARNasa H) (figura 1). En primer lugar, el ARN se hibrida con sondas de ADN complementarias al ARNr. Estas sondas dirigen a la ARNasa H a la digestión del ARNr. A continuación, la ADNasa I digiere las sondas de ADN, y luego se realiza una purificación del ARN intacto restante con bolas. Después, las muestras en las que se han eliminado los ribosomas se someten a preparación de librerías, secuenciación y análisis de datos.

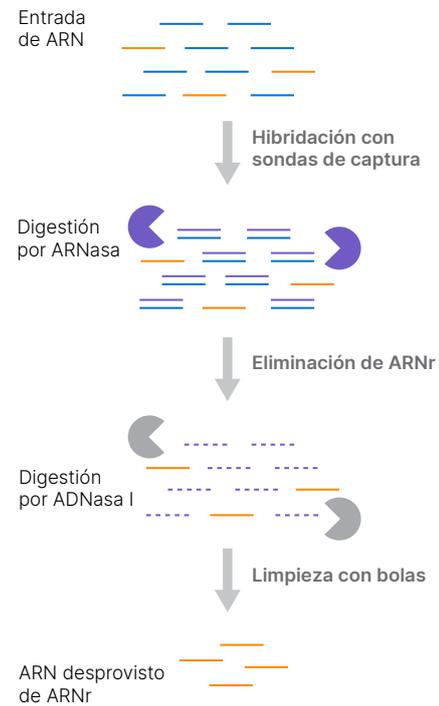


Figura 1: Protocolo de eliminación de ribosomas con Ribo-Zero Plus Microbiome. El ARN introducido se hibrida con sondas de captura de oligonucleótidos complementarias al ARNr. A continuación, la ARNasa H degrada el ARNr hibridado y la ADNasa I digiere la sonda de ADN. Tras la limpieza con bolas para eliminar las enzimas y los oligonucleótidos restantes, las muestras de ARN enriquecidas están listas para los siguientes pasos de preparación de librerías.

Amplia cobertura de especies microbianas

Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit cuenta con un juego ampliado de sondas de captura que incluye sondas diseñadas para el ARNr 5S, 16S y 23S de diversas especies microbianas, incluidas bacterias intestinales comunes en adultos y niños, además de ATCC MSA-2002, MSA-2005 y MSA-2006. La amplia cobertura de este kit elimina con eficacia el ARN no deseado de miles de cepas bacterianas que se encuentran habitualmente en los intestinos, en muestras complejas como las heces. Además, las sondas de captura para ARNr humano incluidas en el Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit eliminan el ARNr microbiano y del huésped en una reacción única (figura 2).

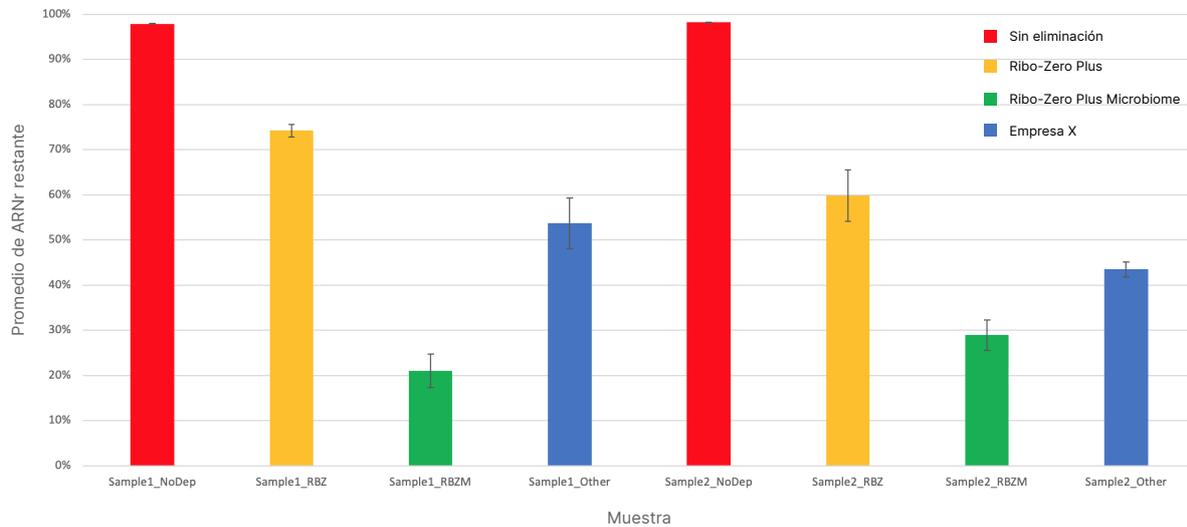


Figura 2: Eliminación robusta de ribosomas con Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit. Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit reduce de manera eficaz los niveles de ARNr (5S, 16S y 23S) en humanos y bacterias en una reacción en tubo único. Los resultados se han comparado con Ribo-Zero Plus rRNA Depletion Kit y un kit de eliminación de ribosomas comercializado de la Empresa X. Se han analizado dos mezclas de heces: la muestra 1 es una mezcla que contiene heces humanas de adulto y niño, mientras que la muestra 2 es una muestra de heces comercializada de Zymo (n.º de referencia: 6331).

Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit ofrece una eliminación robusta del ARNr contaminante en pequeñas cantidades de tan solo 25 ng de ARN total de alta calidad. Estos requisitos de entrada de muestra reducida acrecientan el conjunto de tipos de muestra que se pueden procesar para aplicaciones sensibles de metatranscriptómica.

Flujo de trabajo integrado, del ARN al análisis

Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit se integra a la perfección con la automatización y los flujos de trabajo de secuenciación de nueva generación (NGS, next-generation sequencing) disponibles sin necesidad de ajustar los protocolos existentes (figura 3). El kit está disponible como producto independiente solo para eliminación, o como parte de un flujo de trabajo completo que incluye Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus y Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit. Esta solución flexible puede alojar 96 muestras y es compatible con los sistemas de secuenciación NextSeq™ 500, NextSeq 550, NextSeq 1000, NextSeq 2000 y NovaSeq™ 6000, en función de sus necesidades de investigación específicas.

Análisis de datos y visualización simplificados

El análisis bioinformático de los datos de metatranscriptómica es complicado e intensivo desde el punto de vista computacional. Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit incluye el acceso a la aplicación BaseSpace Microbiome Metatranscriptomics App para un flujo de trabajo optimizado, del ARN al análisis. Esta aplicación basada en la nube se ha optimizado para generar datos con Illumina Stranded Total RNA with Ligation y Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit (figura 4). La intuitiva interfaz de usuario permite a los investigadores analizar comunidades microbianas complejas y descubrir nueva información en los perfiles metabólicos.

Los archivos FASTQ de entrada se pueden manipular fácilmente para generar datos de alta calidad y material visual para taxonomía, lecturas de interés, abundancia relativa de especies microbianas y genes previstos implicados en interacciones entre bacterias y huésped (figura 5).



Figura 3: Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit en flujos de trabajo de secuenciación de ARN mediante NGS. Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit se puede incorporar en los flujos de trabajo existentes de secuenciación de ARN para una eliminación eficaz del ARNr no deseado de muestras de ARN total, en aproximadamente 40 minutos.

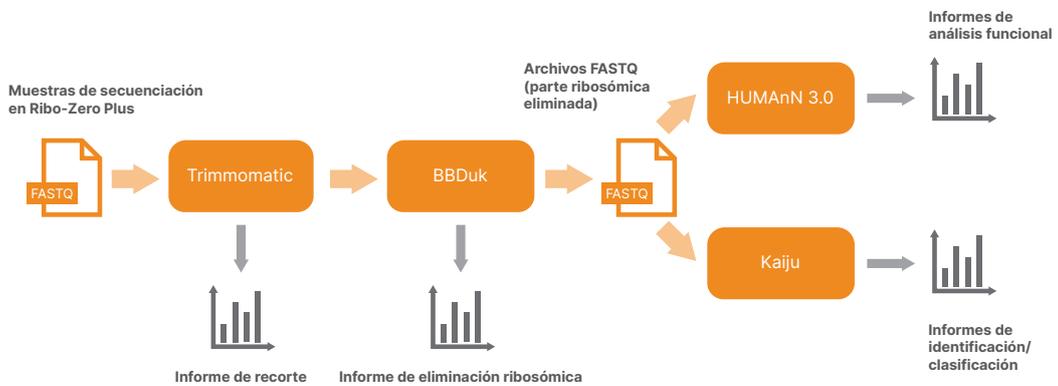


Figura 4: Proceso de análisis de datos funcional con el uso de la aplicación BaseSpace Microbiome Metatranscriptomics App. El primer paso del análisis de datos utiliza Trimmomatic para filtrar las lecturas cortas y de mala calidad de los archivos FASTQ de entrada. A continuación, se utiliza BBDuk para eliminar la mayoría de las lecturas, si se selecciona un genoma de huésped en el formulario de entrada, y cualquier lectura de ARNr residual. Por último, las lecturas filtradas se procesan con Kaiju para obtener una estimación de la composición taxonómica de la muestra y con HUMAN 3 para cuantificar la expresión de grupos funcionales de genes, como familias de genes, vías metabólicas y términos de ontología génica (GO, gene ontology).

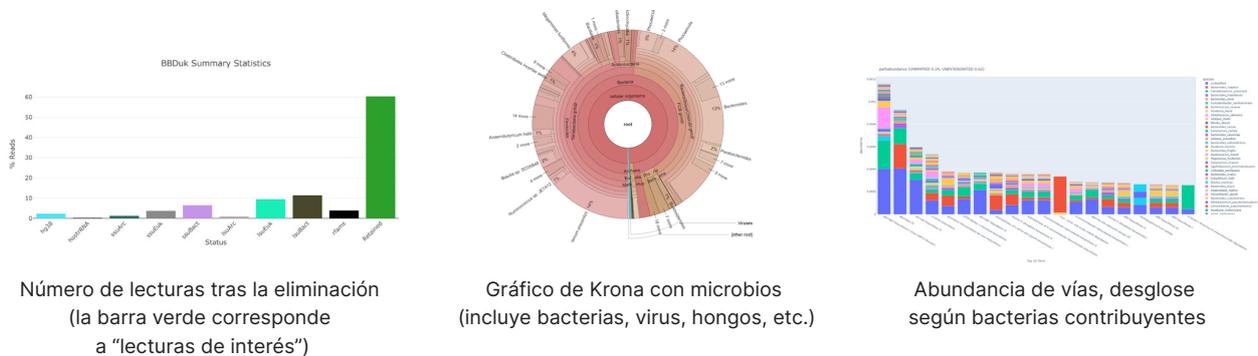


Figura 5: Visualización de datos con la aplicación BaseSpace Microbiome Metatranscriptomics App. (A) Gráfico de barras de la distribución de las lecturas tras la eliminación de ribosomas, donde la barra verde indica las lecturas de interés; (B) gráfico de Krona que muestra la abundancia taxonómica relativa de especies microbianas en el metagenoma; (C) representación gráfica de vías metabólicas activas desglosadas en función de la contribución de especies bacterianas individuales para cada una de las vías.

Resumen

Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit permite a los investigadores trabajar con el microbioma humano para optimizar su investigación metatranscriptómica mediante la eliminación del ARNr bacteriano y del huésped antes de la secuenciación del ARN. Los juegos ampliados de sondas de captura incluidos en este kit son selectivos del ARNr humano y de miles de cepas bacterianas, de modo que eliminan de forma eficaz el ARNr no deseado de muestras complejas en aproximadamente 40 minutos. El acceso a la aplicación BaseSpace Microbiome Metatranscriptomics App simplifica el análisis de datos y la visualización, con lo que se consigue un flujo de trabajo optimizado, del ARN al análisis, para la investigación metatranscriptómica.

Información adicional

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)

Datos para realizar pedidos

Producto	N.º de referencia
Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit (Standalone)	20072062
Total RNA Library Prep with Ligation, Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit	20072063

illumina®

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

© 2022 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, visite www.illumina.com/company/legal.html.
M-GL-00916 ESP v1.0