

Stranded mRNA Prep d'Illumina

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

Points saillants

- Des données de bonne qualité issues d'échantillons à faible entrée**
 Obtenez des résultats très sensibles avec aussi peu que 25 ng d'ARN
- Flux de travail de préparation des bibliothèques rapide**
 Préparation des bibliothèques en < 7 heures avec < 3 heures de durée de manipulation, env. 40 % de fois plus rapide que TruSeq^{MC} Stranded mRNA
- Séquençage à débit élevé au coût total réduit**
 Multiplexage de jusqu'à 384 échantillons en une seule analyse avec des index doubles uniques

Introduction

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

- L'ARN messager (ARNm)-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'allèle.
- L'ARN-Seq total fournit une approche impartiale et sans hypothèse pour une analyse complète du transcriptome. Il mesure de façon précise l'abondance des gènes et transcrits et détecte à la fois les caractéristiques connues et nouvelles du codage ainsi que les différentes formes d'ARN non-codant.
- L'ARN-Seq ciblé analyse l'expression génique dans un ensemble ciblé de gènes d'intérêt. L'ARN-Seq ciblé via l'enrichissement permet une analyse rentable des exomes d'ARN grâce à la capture spécifique à la séquence des régions codantes du transcriptome. Il est idéal pour les échantillons fixés au formol et imprégnés à la paraffine (FFPE) de piètre qualité.

TruSeq^{MC} Stranded mRNA fournit une solution robuste pour l'analyse de l'expression génique et les applications de découverte dans le transcriptome codant. Cependant, l'exigence relativement élevée en matière d'entrée ainsi qu'une longue durée totale du test et du durée de manipulation ont limité son utilité dans les applications ARN-Seq. Pour surmonter ces obstacles, Illumina a développé Stranded mRNA Prep d'Illumina. Cette solution de pointe offre une préparation de bibliothèques rapide, efficace et basée sur la ligation (figure 1) qui supporte les échantillons à faible entrée (tableau 1) et une grande variété d'applications ARNm-Seq.

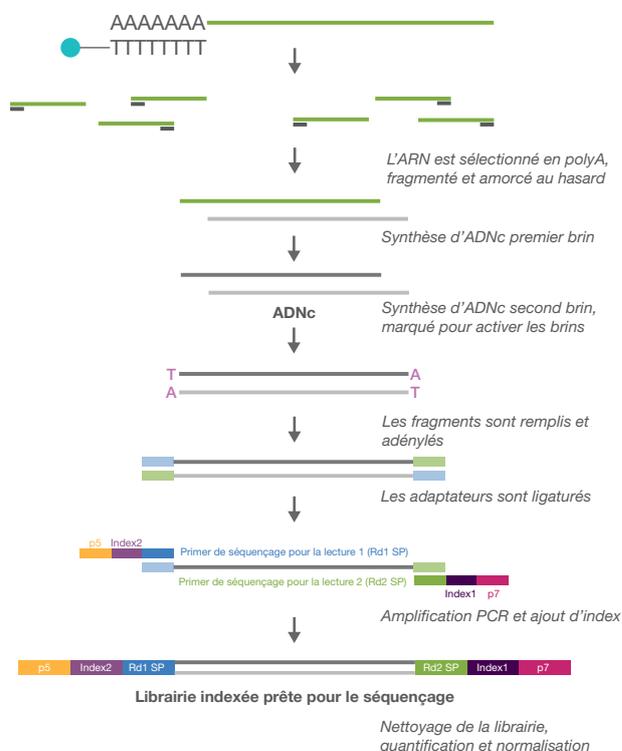


Figure 1 : Stranded mRNA Prep d'Illumina : une fois la sélection polyA et la synthèse ADNc complétées, la ligation d'adaptateurs d'index doubles uniques et l'amplification PCR produisent des bibliothèques de haute qualité qui sont quantifiées et normalisées avant le séquençage.

Tableau 1 : Caractéristiques du Stranded mRNA Prep d'Illumina

Fonctionnalité	TruSeq Stranded mRNA	Stranded mRNA Prep d'Illumina
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 h
Durée de manipulation	< 7 heures	< 3 heures
Configuration de la trousse	48 ou 96 échantillons	16 ou 96 échantillons

IDU = index double unique

Données de haute qualité

Expression génique

Stranded mRNA Prep d'Illumina 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 attestent de la performance exceptionnelle du Stranded mRNA Prep d'Illumina 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 de 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 : Mesures de performance pour Stranded mRNA Prep d'Illumina

	ARN total d'entrée de 100 ng		ARN total d'entrée de 25 ng	
	TruSeq Stranded mRNA	Stranded mRNA Prep d'Illumina	TruSeq Stranded mRNA	Stranded mRNA Prep d'Illumina
% 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
% aligné	97,1	97,8	96,8	97,8

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

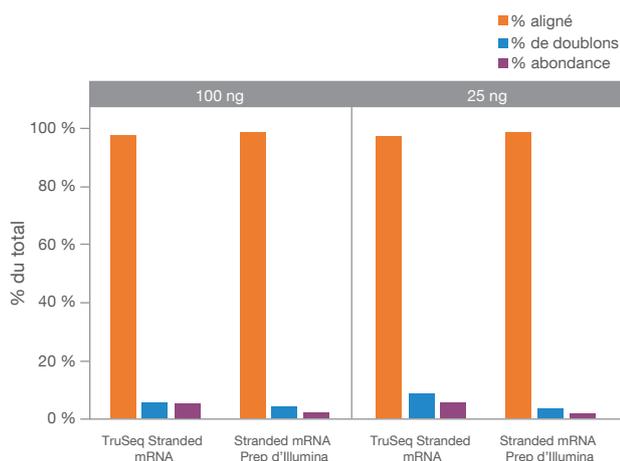


Figure 2 : Comparaison des mesures de performance : Stranded mRNA Prep d'Illumina a été comparé au TruSeq Stranded mRNA. Stranded mRNA Prep a démontré une performance supérieure, particulièrement avec une entrée de 25 ng d'ARN RHU. Les bibliothèques ont été sous-échantillonnées à 30 M de lectures et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

Efficacité de découverte génique

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

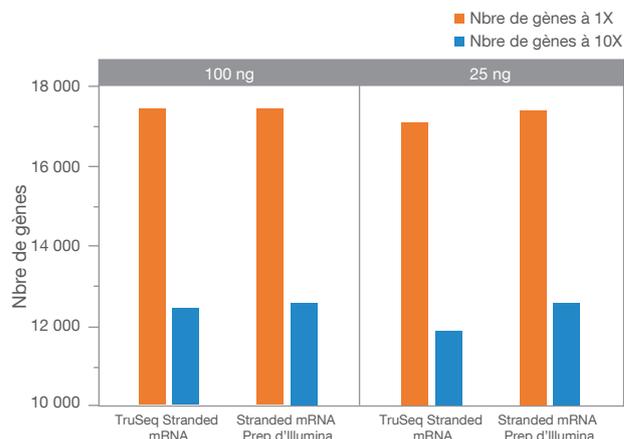


Figure 3 : Une meilleure découverte génique à faible entrée : Stranded mRNA Prep d'Illumina permet une meilleure détection des gènes avec de faibles entrées d'ARN, comparativement à TruSeq Stranded mRNA. Le nombre de gènes détectés est rapporté à 30 M lectures appariées sous-échantillonnées PF. Une détection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

Concordance exceptionnelle des données

Stranded mRNA Prep d'Illumina produit des données de qualité avec une concordance élevée entre réplicats techniques (figure 4A) et différentes quantités d'entrée d'ARN RHU (figure 4B). Ces résultats démontrent que Stranded mRNA Prep d'Illumina est une solution idéale pour les échantillons précieux à faible entrée au départ. De plus, Stranded mRNA Prep d'Illumina démontre une concordance de données élevée avec TruSeq Stranded mRNA, à la fois avec des entrées comparables (figure 5A) et avec une entrée réduite (figure 5B).

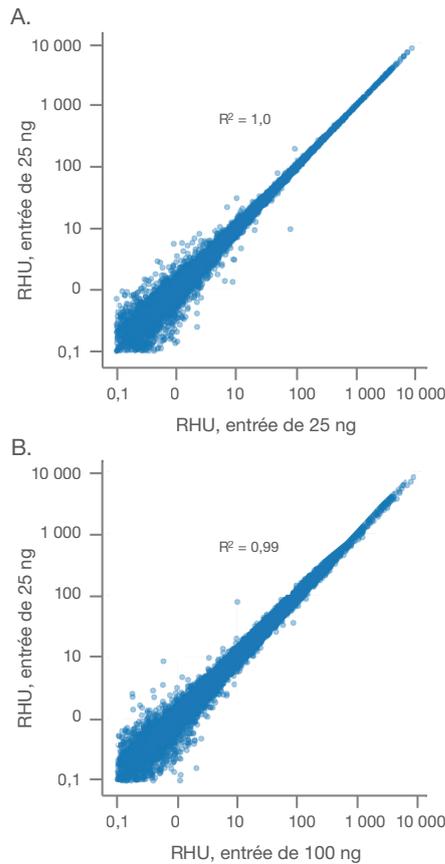


Figure 4 : Concordance de données élevée : Stranded mRNA Prep d'Illumina réalise une concordance de données élevée entre (A) des réplicats techniques de 25 ng d'ARN RHU et (B) entre une quantité d'entrées de 25 ng et 100 ng d'ARN RHU. Séquençage des bibliothèques à 2 × 74 pb, sous-échantillonnées à 30 M de lectures. Analyse des données complétée avec l'application BaseSpace RNA-Seq Alignment v2.0.1.

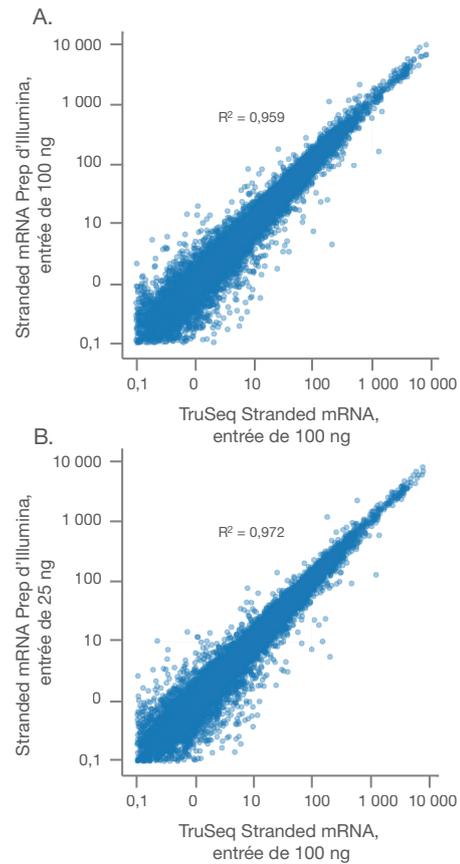


Figure 5 : Concordance élevée avec la trousse existante : Stranded mRNA Prep d'Illumina produit des données de concordance élevée avec TruSeq Stranded mRNA à (A) des entrées similaires de 100 ng d'ARN RHU et (B) avec une entrée réduite de 25 ng contre 100 ng d'ARN RHU.

Flux de travail de préparation rationalisée de bibliothèques

Stranded mRNA Prep d'Illumina utilise un flux de travail rapide et flexible pour la préparation à base de ligation des bibliothèques d'ARN (figure 1). Les innovations apportées au flux de travail, dont une réduction du temps d'incubation et des étapes de nettoyage des échantillons, se traduisent en une durée de test globale qui est env. 40 % plus rapide que TruSeq Stranded mRNA (figure 6).

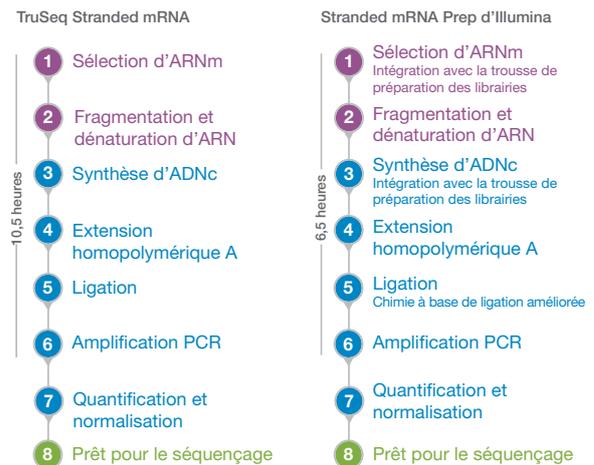


Figure 6 : Flux de travail du Stranded mRNA Prep d'Illumina : Stranded mRNA Prep d'Illumina offre un flux de travail rapide avec un de durée de manipulation réduit. Les durées peuvent varier selon le matériel utilisé, le nombre d'échantillons traités, l'automatisation des procédures et le niveau d'expérience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

Augmentation du débit avec des index doubles uniques

En combinant Stranded mRNA Prep d'Illumina et des instruments à débit élevé tels que les systèmes NextSeq^{MC} 550 et NovaSeq^{MC} 6000, les laboratoires peuvent séquençer nettement plus d'échantillons par analyse sans compromettre la qualité des données. Pour une amplification supplémentaire du débit d'échantillonnage, Stranded Total RNA Prep d'Illumina supporte le multiplexage avec 384 index doubles uniques (IDU)*. En plus d'éliminer l'impact de la mauvaise attribution d'index, c'est-à-dire le saut d'index, les IDU aident à réduire les coûts de séquençage en permettant de charger jusqu'à 384 échantillons sur une seule Flow Cell NovaSeq S4 pour un débit considérablement accru.

Récapitulatif

Stranded mRNA Prep d'Illumina offre une solution efficace pour une analyse claire et complète à travers le transcriptome codant. Il 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. Stranded mRNA Prep d'Illumina 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'allèle.

* Plus de 192 IDU seront supportés au lancement du produit. Des IDU supplémentaires seront disponibles fin 2020

En savoir plus

Pour en savoir plus sur Stranded mRNA Prep d'Illumina, consultez la page www.illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/stranded-mrna-prep.html

Renseignements relatifs à la commande

Préparation de la bibliothèque	N° de référence
Stranded mRNA Prep d'Illumina, ligation (16 échantillons)	20040532
Stranded mRNA Prep d'Illumina, ligation (96 échantillons)	20040534
Index	N° de référence
Index doubles uniques d'ARN IDT pour Illumina, ensemble A, (96 index, 96 échantillons)	20040553
Index doubles uniques d'ARN IDT pour Illumina, ensemble B, (96 index, 96 échantillons)	20040554
Index doubles uniques d'ARN IDT pour Illumina, ensemble C, (96 index, 96 échantillons)	Bientôt disponible 20040555
Index doubles uniques d'ARN IDT pour Illumina, ensemble D, (96 index, 96 échantillons)	Bientôt disponible 20040556