

Ribo-Zero™ Plus Microbiome Depletion Kit

高品質なメタトランスクリプトミクス
アプリケーションに対応するために、
宿主および細菌の rRNA を
迅速かつ効率的に除去

- ヒトおよびマイクロバイオーーム特異的な 5S、16S、23S rRNA を効率的に除去するキャプチャープローブを特徴とする RNA から解析までの効率化されたソリューション
- 迅速かつ柔軟なワークフローが 25 ng から 1,000 ng までの幅広い RNA インプット量に対応し、複雑な微生物サンプル（糞便など）からリボソームを確実に除去
- 使い勝手の良い BaseSpace™ Sequence Hub Microbiome Metatranscriptomics アプリによって、データ解析の簡略化と結果の精確な視覚化を実現

illumina®

はじめに

メタトランスクリプトミクスは微生物の機能、遺伝子制御、および宿主とマイクロバイオームのダイナミックな相互作用をリアルタイムで特性評価するための優れた手法です。しかしながら、細菌サンプル中のリボソーム (rRNA) 配列の相対的存在量の多さが原因で、RNAシーケンス (RNA-Seq) の能力が低下し、このため、低発現ではあるものの生物学的に重要な転写産物を検出することが困難になっています。さらに、発現した細菌RNAサンプルにはPoly(A)テールがないことも、トランスクリプトーム解析において細菌由来のメッセンジャーRNA (mRNA) を特異的に濃縮することが困難である要因となっています。このため、RNA-Seq実施前にrRNAを除去することが、高品質なメタトランスクリプトミクスのライブラリーを得るために重要です。

Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kitは、複雑な微生物サンプルから不要なrRNAを迅速かつ効率的に取り除きます。優れたrRNA除去と、BaseSpace™ Microbiome Metatranscriptomicsアプリへのアクセスが、RNAから解析までの効率的なワークフローを実現し、価値の高い、有益なトランスクリプトームの情報を提供することが可能になります。

実績あるリボソーム除去技術

Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kitには、実績のあるRibo-Zero Plus rRNA除去技術が採用されており、複雑な微生物から単離したトータルRNAから、5S、16S、および23S rRNAなど細菌のrRNAを除去します。Ribo-Zero Plusワークフローを用いたリボソーム除去は、DNAプローブの標的配列へのハイブリダイゼーションとその後のリボヌクレアーゼ (RNase H) を介する切断を伴います (図1)。最初に、rRNAと相補的なDNAプローブがRNAにハイブリダイゼーションします。これらのプローブにより、RNase HによるrRNAの消化が導かれます。次に、DNAプローブはDNase IIにより消化され、その後、残存しているインタクトなRNAに対してビーズによる精製を行います。リボソーム除去済みのサンプルに対して、ライブラリー調製、シーケンス、データ解析を実施します。

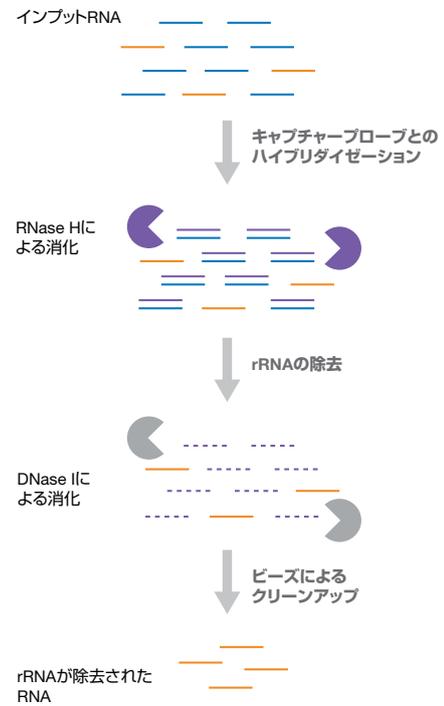


図1: Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kitによるリボソーム除去プロトコール: rRNAと相補的なオリゴヌクレオチドキャプチャープローブがインプットRNAにハイブリダイゼーションします。その後、ハイブリダイゼーションされたrRNAはRNase Hによって酵素的に分解され、DNAプローブはDNase IIによって消化されます。残存した酵素とオリゴヌクレオチドを除去するためのビーズによるクリーンアップが行われた後、濃縮されたRNAを用いて次のライブラリー調製のステップへと移ります。

幅広い微生物種に対するカバレッジ

Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kitは、多様な微生物種の5S、16S、および23S rRNAに対して設計した幅広いキャプチャープローブで構成されたプローブセットを特徴としています。これには、一般成人および乳幼児の腸内細菌や、ATCC MSA-2002、MSA-2005、およびMSA-2006などが含まれます。このキットの幅広いカバレッジにより、糞便などの複雑なサンプル中の腸で通常みられる数千の細菌株から、不要なRNAが効果的に除去されます。さらに、Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kitに含まれるヒトrRNAのキャプチャープローブにより、1回の反応で宿主および微生物rRNAが除去されます (図2)。

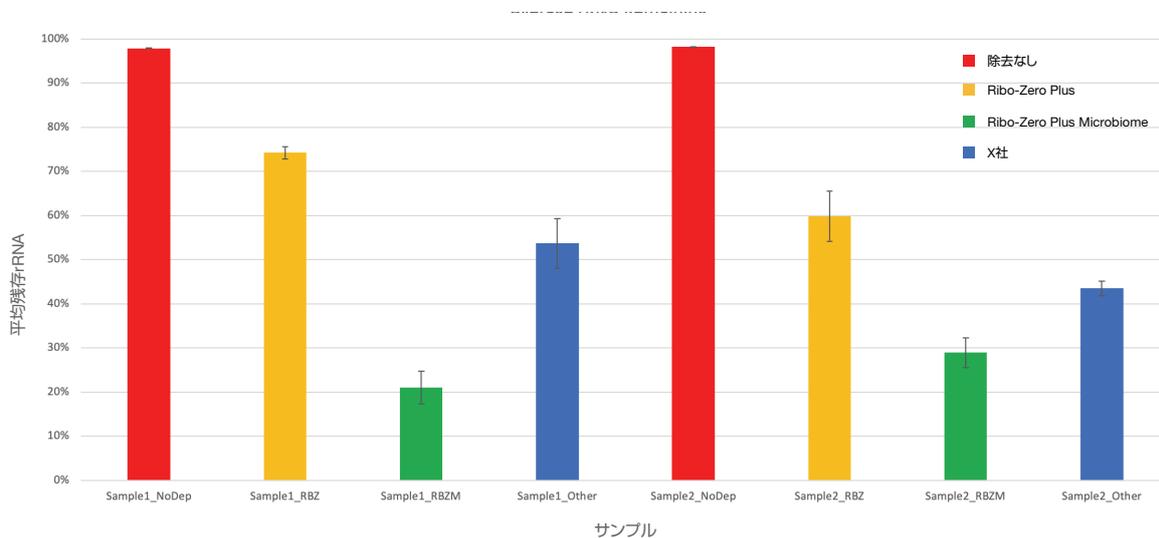


図2: Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kitによる優れたリボソーム除去: Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kitは、1本のチューブ反応でヒトおよび細菌種におけるrRNA (5S、16S、および23S) を効果的に除去します。グラフはRibo-Zero Plus rRNA Depletion KitとX社から市販されているリボソーム除去キットを比較したものです。2つの糞便混合物を使って検証しました。サンプル1は成人および乳幼児のヒト糞便サンプルを含む混合物で、サンプル2はZymo社 (カタログ番号: 6331) から市販されている糞便サンプルです。

Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kitはわずか25 ngの高品質のトータルRNAの中から、混入しているrRNAを確実に除去します。低インプット量のサンプルを使用可能なため、高精度のメタトランスクリプトミクスのアプリケーションにおいて処理できるサンプルタイプの幅が広がります。

RNAから解析までの統合型ワークフロー

Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kitは既設の自動分注機および次世代シーケンサー (NGS) のワークフローにシームレスに組み込むことができるため、既存のプロトコルを調整する必要はありません (図3)。このキットは、rRNA除去のみに対応するスタンドアロン製品として、またはIllumina Stranded Total RNA Prep with Ligation, Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kitのワークフローの一部構成として提供しています。この柔軟なソリューションは、96サンプルに対応しており、特定の研究ニーズに合わせて、NextSeq™ 500、NextSeq 550、NextSeq 1000、NextSeq 2000、およびNovaSeq™ 6000システムで利用できます。

シンプルなデータ解析と視覚化

メタトランスクリプトミクスのデータのバイオインフォマティクス解析は複雑で、計算負荷の高い解析になります。Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion KitはBaseSpace Microbiome Metatranscriptomicsアプリへのアクセスも含み、RNAから解析までの効率化されたワークフローを提供します。このクラウドベースのアプリは、Illumina Stranded Total RNA Prep with LigationおよびRibo-Zero Plus Microbiome Depletion Kitを使用して生成したデータのために最適化されています (図4)。直感的なインターフェースが、複雑な微生物の解析を可能にし、代謝プロファイルに関する新たな洞察をもたらします。

インプットのFASTQファイルより、関心のあるリード、微生物種の相対的存在量、細菌と宿主との相互作用に関与する予測遺伝子に関する高品質データと菌分類の視覚化データを簡単に生成できます (図5)。



図3: NGSベースのRNA-SeqワークフローにおけるRibo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit: Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kitは既存のRNA-Seqのワークフローに組み入れることができ、トータルRNAサンプルから、不要なrRNAを約40分で効果的に除去します。

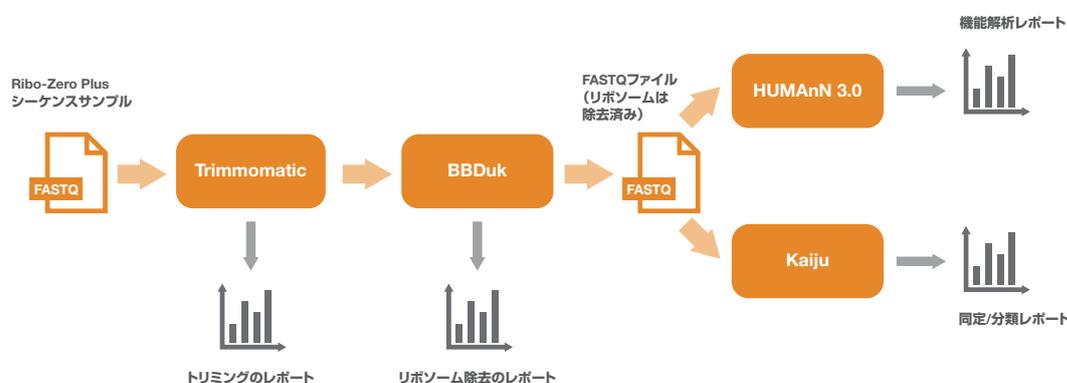


図4: BaseSpace Microbiome Metatranscriptomicsアプリを使った機能的なデータ解析パイプライン: データ解析の最初のステップではTrimmomaticを使って、インプットのFASTQファイルから、低品質で短いリードをフィルタリングして取り除きます。次に、宿主のゲノムがインプットフォームで選択されていて、rRNAリードが残存している場合、BBDukを使って、宿主のリードを取り除きます。最後に、フィルタリングしたリードはKaijuの処理によりサンプルの分類学的構成の予測値を取得し、HUMAN 3で遺伝子の機能グループ (遺伝子ファミリー、代謝パスウェイ、および遺伝子オントロジー (GO) タームなど) での発現量を行います。

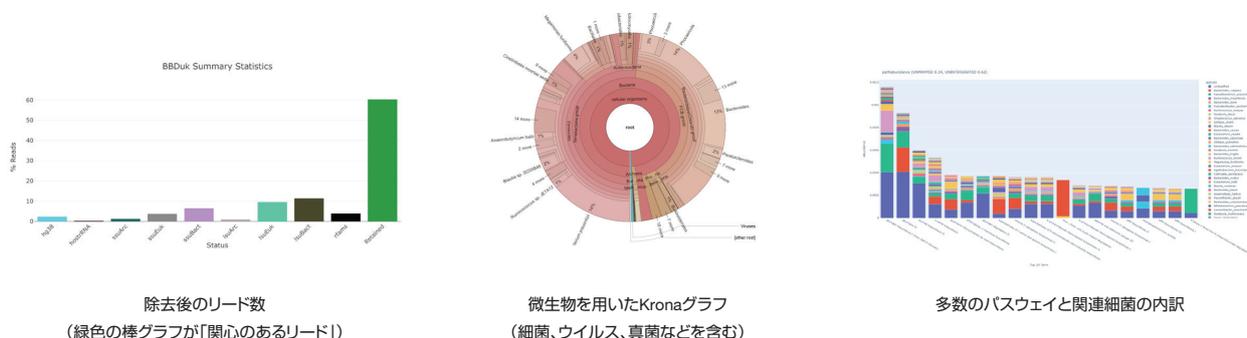


図5: BaseSpace Microbiome Metatranscriptomicsアプリを使ったデータの視覚化: (A)リボソーム除去後のリード分布を示す棒グラフ。緑色の棒グラフは「関心のあるリード」を示す。(B)メタゲノム中の微生物種の分類学上の相対存在量を示すKronaグラフ。(C)活性代謝パスウェイごとに個別の細菌種の分布に従って分類した、活性代謝パスウェイを示すグラフ。

まとめ

Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion KitでRNA-Seq実施前に宿主と細菌のrRNAを除去することで、ヒトのマイクロバイオームにおける、メタトランスクリプトミクス研究を最適化することができます。このキットに含まれている幅広いキャプチャープローブのセットは、数千の細菌株だけではなく、ヒトrRNAもターゲットにし、複雑なサンプル中の不要なrRNAを約40分で効率的に除去します。BaseSpace Microbiome Metatranscriptomicsアプリへのアクセスにより、データ解析と視覚化が簡略化され、メタトランスクリプトミクス研究においてRNAから解析までの効率的なワークフローを実現します。

詳細はこちら

Illumina Ribo-Zero Plus rRNA Depletion Kit:jp.illumina.com/products/by-type/accessory-products/ribo-zero-plus-rna-depletion

Illumina Stranded Total RNA Library Prep with Ligation:
jp.illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/stranded-total-rna-prep

製品情報

製品名	カタログ番号
Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit (スタンドアロン)	20072062
Total RNA Library Prep with Ligation, Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit	20072063

イルミナ株式会社

〒108-0014 東京都港区芝 5-36-7 三田ベルジュビル 22 階
Tel (03) 4578-2800 Fax (03) 4578-2810
jp.illumina.com

 www.facebook.com/illuminakk

販売店

本製品の使用目的は研究に限定されます。診断での使用はできません。 販売条件 : jp.illumina.com/tc

© 2022 Illumina, Inc. All rights reserved.

すべての商標および登録商標は、Illumina, Inc.または各所有者に帰属します。
商標および登録商標の詳細はjp.illumina.com/company/legal.html をご覧ください。
予告なしに仕様および希望販売価格を変更する場合があります。

illumina[®]

Pub. No. M-GL-00916 v1.0-JPN 06SEP2022