

TruSeq^{MC} ChIP Library Preparation Kit

La qualité éprouvée des données TruSeq permet un profilage complet et précis des interactions ADN-protéine cible

- Profilage complet et précis des interactions ADN-protéine cible
- Résultats fiables à partir de seulement 5 ng d'ADN d'entrée de diverses sources d'échantillons
- Extensibilité améliorée grâce à un flux de travail simple et rationalisé
- Répartition optimisée du débit de séquençage sur l'ensemble des échantillons, réduisant ainsi le coût par échantillon

illumina^{MD}

Introduction

Déterminer la façon dont les interactions ADN-protéine régulent l'expression génique est essentiel pour comprendre pleinement de nombreux processus biologiques et de nombreuses pathologies. Ces renseignements épigénétiques complètent le séquençage de l'ADN, le génotypage, l'expression génique et d'autres formes d'analyse génomique. Le séquençage par immunoprécipitation de la chromatine (ChIP-Seq, chromatin immunoprecipitation sequencing) tire parti du séquençage de nouvelle génération (SNG) pour déterminer de manière rapide et efficace la répartition et l'abondance des protéines cibles d'intérêt liées à l'ADN sur l'ensemble du génome. ChIP-Seq est devenu l'une des applications basées sur le SNG les plus répandues, permettant aux chercheurs d'identifier avec certitude les sites de liaison d'un grand nombre de cibles sur l'ensemble du génome avec une haute résolution.

En raison de l'augmentation du débit des systèmes de SNG, les chercheurs utilisant ChIP-Seq ont de plus en plus besoin d'une combinaison de séquençage hautement multiplex et de flux de travail simples et rationalisés. Les TruSeq ChIP Library Preparation Kits répondent à ces demandes en offrant un aperçu de la mécanique de la régulation génique à l'aide d'une solution simple et rentable. La génération de bibliothèques de l'ADN dérivé de ChIP comprend l'ajout d'adaptateurs indexés pour permettre une répartition optimale du débit de séquençage en fonction de la couverture requise. Un flux de travail de préparation des bibliothèques optimisé et hautement évolutif et des réactifs d'un mélange étalon réduisent la durée de manipulation et fournissent un format propice à l'automatisation pour traiter en parallèle jusqu'à 48 échantillons. Les échantillons à index différents peuvent être mélangés et mis en correspondance pour optimiser le débit à l'essai. Une exigence d'entrée d'échantillon faible (5 ng) garantit la fiabilité des résultats même lorsque la quantité d'ADN d'entrée est limitée, offrant ainsi une flexibilité dans le choix de la source de l'échantillon et des protéines cibles à analyser.

Flux de travail simple et rationalisé

Les TruSeq ChIP Library Preparation Kits offrent un flux de travail de préparation des bibliothèques grandement amélioré par rapport à d'autres méthodes. Le flux de travail TruSeq réduit le nombre d'étapes de purification, de transfert d'échantillons, de pipetage et de nettoyage. L'adaptateur universel intègre une séquence d'indexage à l'étape de ligature initiale pour un flux de travail plus efficace et un séquençage multiplex plus fiable (figure 1). Le flux de travail commence par l'enrichissement de complexes ADN-protéine réticulés spécifiques à l'aide d'un anticorps contre une protéine d'intérêt (figure 1A-B). Les segments d'ADN liés à la protéine cible sont ensuite isolés et utilisés comme ADN d'entrée pour la préparation des bibliothèques TruSeq ChIP.

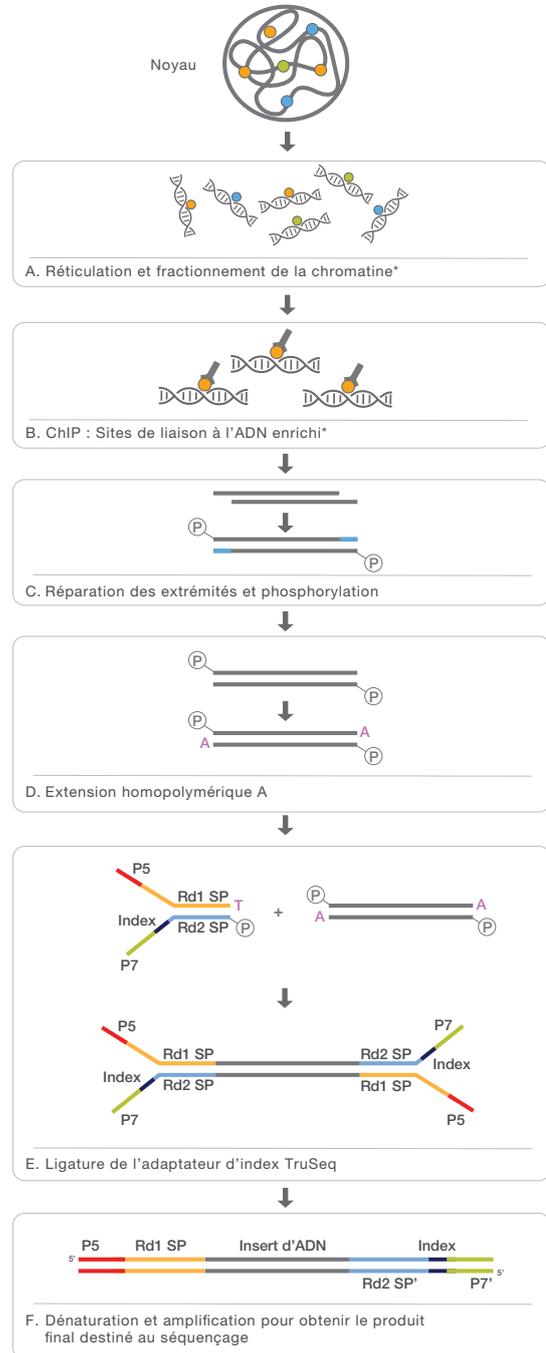


Figure 1 : Flux de travail TruSeq ChIP-Seq : Le flux de travail simple et rationalisé (étapes C à F) réduit la durée de manipulation et accélère l'analyse. Les adaptateurs TruSeq universels améliorent l'efficacité du flux de travail et permettent un séquençage multiplex fiable.

Les fragments d'ADN sont réparés aux extrémités et une base A est ajoutée aux extrémités franches de chaque brin pour les préparer à la ligature aux adaptateurs de séquençage (figure 1C-D). Chaque adaptateur TruSeq contient une base T débordante en 3', fournissant un débordement complémentaire pour ligaturer l'adaptateur avec l'ADN fragmenté à extension homopolymérique A (figure 1E). Le produit final est créé (figure 1F) et une fois la taille sélectionnée, l'ensemble des fragments d'ADN ChIP sont séquencés en même temps.

Pour une flexibilité maximale, il est possible d'utiliser les TruSeq ChIP Library Preparation Kits pour préparer les échantillons au séquençage à lecture unique ou appariée. Ces trousseaux sont compatibles avec l'ensemble des systèmes de séquençage d'Illumina.

Qualité des données TruSeq

La qualité éprouvée des données TruSeq fournit le profil complet et précis des interactions ADN-protéine cible, permettant un pourcentage optimal de lectures passant le filtre, un pourcentage de lectures pouvant être alignées et une uniformité de la couverture, ainsi qu'une sensibilité élevée pour détecter les touches à faible abondance.

Performance multiplex fiable

Les TruSeq ChIP Library Preparation Kits fournissent jusqu'à 24 index pour augmenter le débit et la cohérence sans compromettre les résultats. Les adaptateurs universels TruSeq se ligaturent aux fragments d'échantillons lors de l'élaboration de la librairie, ce qui permet le regroupement des échantillons et leur identification de façon individuelle pendant l'analyse en aval. Cette capacité d'indexage améliore l'efficacité du flux de travail et permet un séquençage multiplex fiable. En améliorant la flexibilité du schéma de l'étude, l'indexage aide les chercheurs à optimiser la valeur de chaque analyse en répartissant de manière efficace le débit de lectures en fonction des exigences de profondeur de lecture optimales par échantillon.

Gamme flexible de cibles

Les TruSeq ChIP Library Preparation Kits permettent de générer des librairies à partir de seulement 5 ng d'ADN d'entrée et fournissent une solution à haut débit, de haute qualité et efficace en termes de coûts pour un large éventail de schémas d'étude ChIP. ChIP-Seq est une application polyvalente qui a été utilisée avec succès pour de nombreuses protéines cibles, notamment les facteurs de transcription et les histones, qui sont les composantes de la chromatine. Les études ChIP ciblant les facteurs de transcription sont utiles pour déterminer les modulateurs

et les voies de transduction de signaux spécifiques contribuant aux pathologies, aux stades de développement ou à d'autres affections, tandis que les « marques » reliées aux histones peuvent être utilisées pour mieux comprendre la façon dont les modifications de la chromatine et les changements structurels au niveau local affectent l'expression génique locale¹⁻⁸.

Détection de pics sur le génome

Pour démontrer les performances de TruSeq ChIP Library Preparation Kit, une librairie a été générée pour le facteur de transcription MafK en utilisant 5 ng d'ADN d'entrée (figure 2) dérivé d'une ChIP effectuée dans les cellules HELA.

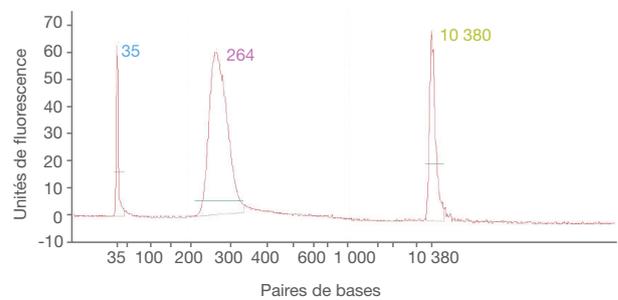


Figure 2 : Tracé du bioanalyseur de la librairie MafK – Données de tracé de bioanalyseur d'une librairie générée pour le facteur de transcription MafK à l'aide de TruSeq ChIP Library Preparation Kit avec 5 ng d'ADN d'entrée. Le pic au centre indique des résultats fiables dans la plage de taille d'insert souhaitée.

Les données de séquençage ont été générées grâce à une seule analyse sur un système MiSeq^{MC}. Les fichiers de sortie BAM filtrés selon la qualité ont ensuite été entrés dans le logiciel de recherche de pics MACS, les pics identifiés étant ensuite criblés pour l'enrichissement à l'aide du logiciel de recherche de motifs MEME. Les résultats montrent une détection sensible et fiable des interactions ADN-protéine, avec un pic représentatif et identifié correspondant à un site de liaison MafK inclus dans la base de données du projet ENCODE (figure 3).

L'enrichissement du motif de liaison MafK connu a été détecté comme prévu (tableau 1), une nouvelle fois en accord avec les données générées à l'aide des données du pic MafK du projet ENCODE⁹. La possibilité de détecter de manière fiable les pics sur le génome avec de faibles quantités d'entrées de départ est essentielle pour garantir la réussite des études ChIP. Les TruSeq CHIP Library Preparation Kits permettent de cibler toutes les protéines cibles d'intérêt, offrant ainsi une solution rationalisée et rentable pour les études nécessitant un grand nombre de lectures par échantillon, notamment les facteurs de transcription (figure 3) et les marques d'histone, telles que H3K4Me3 (figure 4).

Tableau 1 : Analyse des pics par le logiciel de recherche des motifs à l'aide de TruSeq CHIP

| Nom | % des principaux pics avec motif MafK |
|-------------|---------------------------------------|
| TruSeq ChIP | 95 % |
| ENCODE HELA | 92 % |
| ENCODE HES | 86 % |

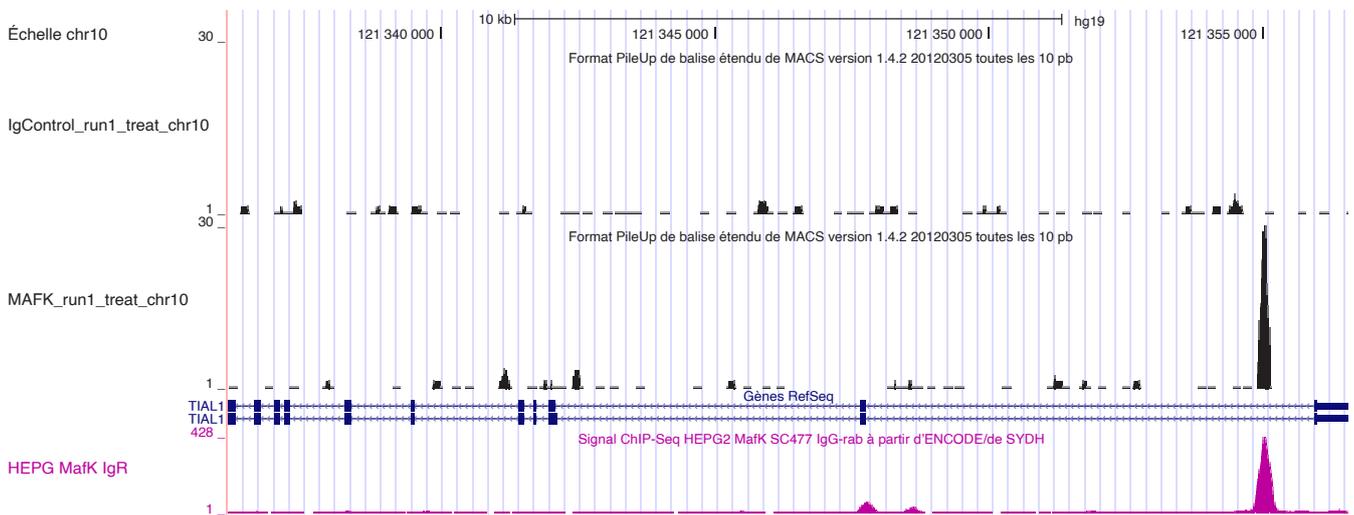


Figure 3 : Résultat de la détection des pics pour MafK – Les TruSeq ChIP Library Preparation Kits permettent la génération de librairies dans un large éventail de schémas d'étude. Ci-dessus, les données de pic pour un contrôle Ig négatif, le facteur de transcription cible MafK et un pic de référence pour MafK de la base de données ENCODE.

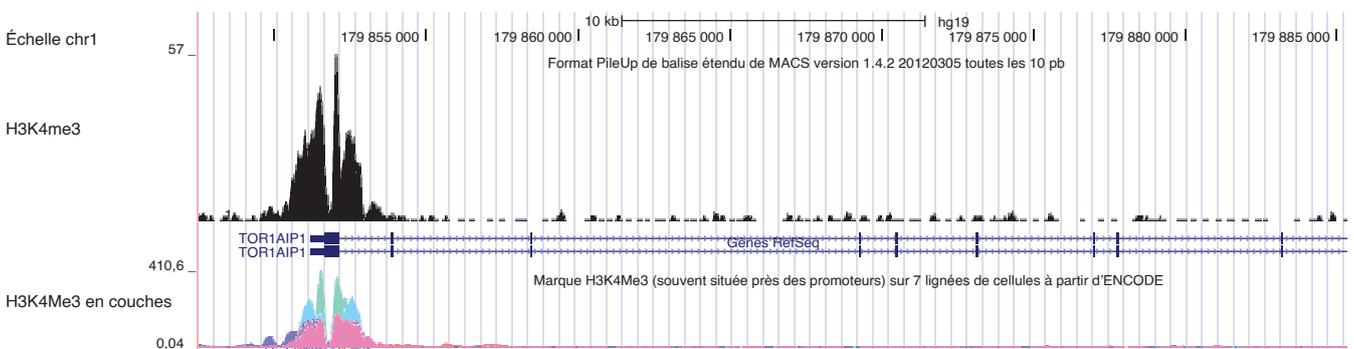


Figure 4 : Résultat de la détection des pics pour MafK – Les résultats des pics pour la cible H3K4me3 se comparent favorablement aux annotations ENCODE de cette cible bien caractérisée, avec une cible représentative pour la marque d'histone cible H3K4me3 et un pic de référence ENCODE correspondant.

Solutions de séquençage d'Illumina

Les TruSeq ChIP Library Preparation Kits sont compatibles avec tous les systèmes de SNG basés sur le séquençage par synthèse (SBS, Sequencing by Synthesis) d'Illumina. La compatibilité des données est garantie, quel que soit le système choisi.

Résumé

Les TruSeq ChIP Library Preparation Kits fournissent une précision TruSeq éprouvée et un flux de travail simple et rationalisé, permettant un séquençage ChIP rentable hautement multiplex. Analyse à l'appui d'un grand nombre de cibles sur le génome, même à partir d'une faible entrée d'échantillons, les troussees fournissent un profil complet et précis des interactions de liaison ADN-protéine et une meilleure visibilité de la mécanique de la régulation génique.

Renseignements relatifs à la commande

| Produit | N° de référence |
|--|-----------------|
| TruSeq ChIP Library Preparation Kit, Set A (12 index, 48 échantillons) | IP-202-1012 |
| TruSeq ChIP Library Preparation Kit, Set B (12 index, 48 échantillons) | IP-202-1024 |

Références

- Johnson DS, Mortazavi A, Myers RM, Wold B. [Genome-wide mapping of in vivo protein-DNA interactions](#). *Science*. 2007;316(5830):1497-1502. doi:10.1126/science.1141319.
- Barski A, Cuddapah S, Cui K, et al. [High-resolution profiling of histone methylations in the human genome](#). *Cell*. 2007;129(4):823-837. doi:10.1016/j.cell.2007.05.009.
- Marban C, Su T, Ferrari R, et al. [Genome-wide binding map of the HIV-1 Tat protein to the human genome](#). *PLoS One*. 2011;6(11):e26894. doi:10.1371/journal.pone.0026894.
- Fujiki R, Hashiba W, Sekine H, et al. [GlcNAcylation of histone H2B facilitates its monoubiquitination](#). *Nature*. 2011;480(7378):557-560. Published 2011 Nov 27. doi:10.1038/nature10656.
- Botti E, Spallone G, Moretti F, et al. [Developmental factor IRF6 exhibits tumor suppressor activity in squamous cell carcinomas](#). *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(33):13710-13715. doi:10.1073/pnas.1110931108.
- Bernt KM, Zhu N, Sinha AU, et al. [MLL-rearranged leukemia is dependent on aberrant H3K79 methylation by DOT1L](#). *Cancer Cell*. 2011;20(1):66-78. doi:10.1016/j.ccr.2011.06.010.
- de Almeida SF, Grosso AR, Koch F, et al. [Splicing enhances recruitment of methyltransferase HYPB/Setd2 and methylation of histone H3 Lys36](#). *Nat Struct Mol Biol*. 2011;18(9):977-983. Published 2011 Jul 26. doi:10.1038/nsmb.2123.
- Wu H, D'Alessio AC, Ito S, et al. [Dual functions of Tet1 in transcriptional regulation in mouse embryonic stem cells](#). *Nature*. 2011;473(7347):389-393. doi:10.1038/nature09934.
- ENCODE Project Consortium. [A user's guide to the encyclopedia of DNA elements \(ENCODE\)](#). *PLoS Biol*. 2011;9(4):e1001046. doi:10.1371/journal.pbio.1001046.

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 la page www.illumina.com/company/legal.html.

M-GL-01512 FRA v1.0