

illumina miRNA Prep

Schnelle, zuverlässige
Generierung von Bibliotheken
für die Sequenzierung von
miRNA und kleiner RNA



Spart Zeit und verringert
den Probenverlust, da keine
Gelreinigung erforderlich ist



Verbessert den Nachweis
in RNA-Proben mit
niedriger Zugabemenge
durch Verhinderung der
Adapterdimerbildung



Optimiert die Quantifizierungs-
genauigkeit durch
Verringerung von Verzerrungen
und Hintergrundinterferenzen

Einleitung

MicroRNAs (miRNAs) sind kleine, nichtcodierende RNA-Moleküle, die die Genexpression regulieren, indem sie die Translation von mRNA hemmen oder ihren Abbau fördern.¹ Ihnen kommt eine entscheidende Rolle bei zellulären Prozessen und der Entwicklung zu, was sie zu einem wichtigen Forschungsschwerpunkt für das Verständnis von Erkrankungsmechanismen und die Entwicklung neuer Therapieansätze macht.

NGS (Next-Generation Sequencing, Sequenzierung der nächsten Generation) ermöglicht das präzise Profiling der miRNA-Expression mit hohem Durchsatz, sodass Forscher neue miRNAs bestimmen, ihre Expressionsebenen quantifizieren und ihre Rollen bei der Genregulation ermitteln können.^{2,3} Ihre geringe Länge macht miRNAs anfällig für Verzerrungen, die während der Isolierung und Bibliotheksvorbereitung entstehen und die Genauigkeit der Quantifizierung beeinträchtigen können. Die begrenzte Verfügbarkeit von Zugabe-RNA erhöht zudem das Risiko von Sequenzierungsartefakten und verringert die Sensitivität in Bezug auf miRNAs mit niedriger Abundanz.^{4,5}

Bei Illumina miRNA Prep handelt es sich um eine einfache, kostengünstige Lösung für die Generierung von Bibliotheken für die Sequenzierung von miRNA und kleiner RNA direkt aus Gesamt-RNA oder isolierter miRNA für praktisch jede Spezies. Illumina miRNA Prep verwendet eine optimierte Chemie, die Adapterdimere verhindert, Verzerrungen minimiert und die Quantifizierung selbst bei miRNA-Proben, die nur in geringer Menge vorliegen, verbessert.

Über Illumina miRNA Prep

Ausgangspunkt des optimierten Workflows von Illumina miRNA Prep ist gereinigte Gesamt-RNA oder isolierte miRNA, aus der miRNA-Bibliotheken vorbereitet werden. Anschließend folgen die Sequenzierung und die Datenanalyse ([Abbildung 1](#)).

Dank der optimierten Adapterligatur-, Amplifikations- und Aufreinigungsschritte lassen sich in weniger als einem Tag aus gereinigter Gesamt-RNA oder isolierter miRNA sequenzierungsfertige miRNA-Bibliotheken für die Forschung generieren ([Tabelle 1](#)). Wichtigste Vorteile von Illumina miRNA Prep:

- **Optimierte Adapterligatur:** gewährleistet die selektive Erfassung reifer miRNA während der Bibliotheksvorbereitung durch spezielle 3'- und 5'-Adapter
- **Optimierte beadbasierte Reinigung:** reduziert den manuellen Aufwand und die Komplexität des Workflows, da die langwierige gelbasierte Größenauswahl entfällt
- **Gezielte Verhinderung von Adapterdimeren:** behält mithilfe modifizierter Oligonukleotide, die die Adapterdimerbildung verringern, Sequenzierungs-Reads echten miRNA-Molekülen vor
- **Präzise Einbindung von Unique Molecular Identifiers (UMIs) während der Reverse-Transkription:** ermöglicht die genaue Quantifizierung durch Tagging aller ursprünglichen miRNA-Moleküle, sodass sich eindeutige Moleküle von PCR-Duplikaten unterscheiden lassen

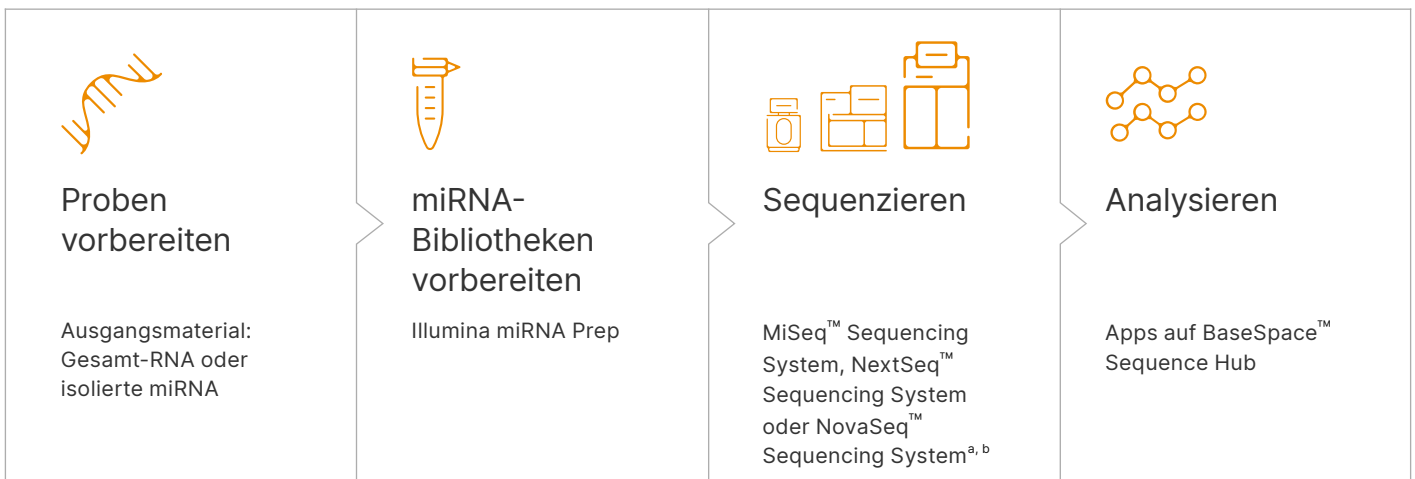


Abbildung 1: Illumina miRNA Prep – Workflow

miRNA-spezifische Bibliotheken, die auf allen Illumina-Systemen der Baureihen NextSeq, NovaSeq oder MiSeq sequenziert werden können, werden anhand von Gesamt-RNA oder isolierter miRNA generiert ([Tabelle 1](#)). Illumina BaseSpace Sequence Hub bietet Softwaretools für die Primär- und die Sekundäranalyse.

a. Umfasst folgende Systeme: NextSeq 500, NextSeq 550, NextSeq 1000, NextSeq 2000, NovaSeq 6000, NovaSeq X, NovaSeq X Plus, MiSeq und MiSeq i100.
b. Verwendung von 384 eindeutigen doppelten Indizes.

- **Verbesserte Verringerung der Verzerrung bei der PCR-Amplifikation:** verbessert die Nachweissensitivität und gewährleistet die zuverlässige Quantifizierung von miRNAs mit geringer Abundanz bei minimaler RNA-Zugabe durch optimierte Chemie, die die einheitliche PCR-Amplifikation begünstigt

Optimierte miRNA-Isolierung

Im Gegensatz zu den meisten zellulären RNAs weisen reife miRNAs sowohl eine 3'-Hydroxylgruppe als auch eine 5'-Phosphatgruppe auf. Diese Merkmale vereinfachen die Ligatur eindeutiger Adapter, die die Amplifikation reifer miRNAs ermöglichen. Zugleich wird die Amplifikation anderer RNA-Typen minimiert (**Abbildung 2**).

Tabelle 1: Illumina miRNA Prep – Spezifikationen

Parameter	Illumina miRNA Prep	TruSeq Small RNA
Zugabetyp	Gesamt-RNA aus Zellen, FFPE-Gewebe, Serum/Plasma oder frisch gefrorenem Gewebe von praktisch jeder Spezies	Optimiert mit hochwertiger UHR-Gesamt-RNA ^a
Erforderliche Zugabe	1–500 ng ^b	1.000 ng
Anzahl verfügbarer Indizes	384 UDI	48 einzelne Indizes
Unterstützte Sequenziersysteme	Illumina NextSeq System, NovaSeq System und MiSeq System ^{c, d}	Illumina MiSeq System, NextSeq 500/550 System ^e
Workflow-dauer ^f	3 h manueller Aufwand, 7 h insgesamt	ca. 4–5 h manueller Aufwand, ca. 11 h insgesamt oder ca. 1 Tag insgesamt mit Elution über Nacht
<p>a. Die Verwendung von RNA anderer Spezies, Gewebe oder Qualitäten kann eine weitere Optimierung erfordern.</p> <p>b. Zur Erzielung optimaler Ergebnisse werden höhere Gesamt-RNA-Mengen empfohlen, insbesondere für miRNA-Proben mit niedriger Abundanz.</p> <p>c. Umfasst folgende Systeme: NextSeq 500, NextSeq 550, NextSeq 1000, NextSeq 2000, NovaSeq 6000, NovaSeq X, NovaSeq X Plus, MiSeq und MiSeq i100.</p> <p>d. Verwendung von 384 eindeutigen doppelten Indizes.</p> <p>e. Begrenzt auf die Anzahl verfügbarer Indexsätze.</p> <p>f. Von isolierter Gesamt-RNA bis zur Bibliotheksaufreinigung.</p>		
<p>FFPE, formalinfixiert, in Paraffin eingebettet; UHR, universelle Humanreferenz; UDI, Unique Dual Indexes (eindeutige doppelte Indizes).</p>		

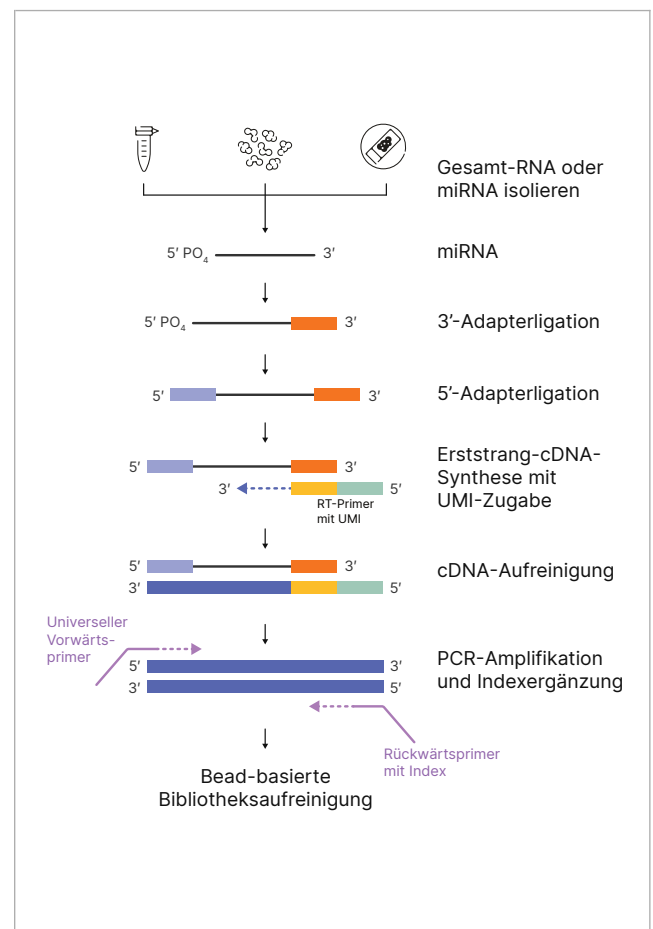


Abbildung 2: Illumina miRNA Prep – Chemie

Adapter werden an 5'- und 3'-Enden aller miRNAs ligiert, was die bevorzugte Amplifikation gewährleistet. Während des Reverse-Transkription(RT)-Schritts werden Unique Molecular Identifiers (UMIs) integriert, was die digitale Quantifizierung und Korrektur der Amplifikationsverzerrung ermöglicht. Die schnelle, beadbasierte Aufreinigung ersetzt die Gelreinigung und verkürzt den Workflow auf nur sieben Stunden.

Gelfreie beadbasierte Aufreinigung

Die gelbasierte Reinigung amplifizierter Bibliotheken ist aufwendig. Sie erfordert Elektrophorese, Bandexzision und Elution, wobei die vollständige Entfernung von Adapterdimeren und kontaminierender RNA häufig nicht möglich ist. Illumina miRNA Prep macht diese Schritte mit einem gelfreien, beadbasierten Workflow (Abbildung 3) überflüssig, der die miRNA-spezifische Isolierung verbessert und Adapterdimere sowie unerwünschte RNA-Typen minimiert.

Unverzerrte Quantifizierung

Illumina miRNA Prep verbessert die miRNA-Quantifizierung durch Einsatz von UMIs zur Zählung einzelner Moleküle (Abbildung 2). Herkömmliche Bibliotheksvorbereitungsverfahren führen während der Amplifikation häufig zu Verzerrungen, was die Überrepräsentation bestimmter miRNAs und eine Verzerrung der Expressionsebenen zur Folge hat. Dank der frühzeitigen Integration der UMIs wird jedes miRNA-Molekül nur einmal gezählt, wodurch sich echte biologische Signale von Artefakten wie Adapterdimeren unterscheiden lassen (Abbildung 4).

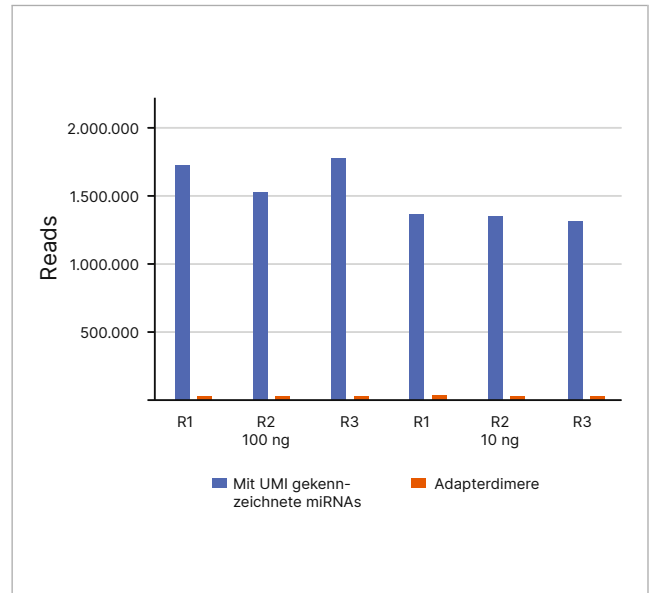


Abbildung 4: Unverzerrte miRNA-Quantifizierung mit UMI

Durch die frühzeitige Einbindung von Unique Molecular Identifiers (UMIs) in den Workflow werden die meisten Sequenzierungs-Reads auf eindeutige miRNAs gemappt, was die Verzerrung durch Adapterdimere minimiert.



Abbildung 3: Workflow von Illumina miRNA Prep und TruSeq Small RNA im Vergleich

Da die Gelelektrophorese und die Reinigung entfallen, ist der Illumina miPrep mRNA Prep-Workflow schneller als der von TruSeq Small RNA und umfasst weniger manuellen Aufwand. Die Dauer kann abhängig von der verwendeten Ausstattung, der Anzahl der verarbeiteten Proben sowie den Automatisierungsverfahren oder der Erfahrung des Anwenders variieren.

Maximale Sensitivität

miRNAs haben sich als Biomarker für Erkrankungen wie Krebs und neurodegenerative Erkrankungen erwiesen.⁶⁻⁸ Exosomen, kleine extrazelluläre Vesikel, die von Zellen sezerniert werden, enthalten ebenfalls miRNAs und schützen sie vor Abbau, was ihre Stabilität erhöht.⁹ Darüber hinaus bleiben miRNAs aufgrund ihrer geringen Größe in FFPE-Gewebeproben (formalinfixiert, in Paraffin eingebettet) gut erhalten, was retrospektive Studien an archivierten Proben ermöglicht.¹⁰

Da die Abundanz von miRNAs in Biofluiden und FFPE-Proben häufig gering ist, sind für den genauen Nachweis hochempfindliche Bibliotheksvorbereitungsverfahren erforderlich. Illumina miRNA Prep bietet hier eine Lösung, da es das miRNA-Profiling ab nur 1 ng Gesamt-RNA ermöglicht. Diese Fähigkeit ist vorteilhaft bei Studien mit Biofluiden wie Serum (Abbildung 5).

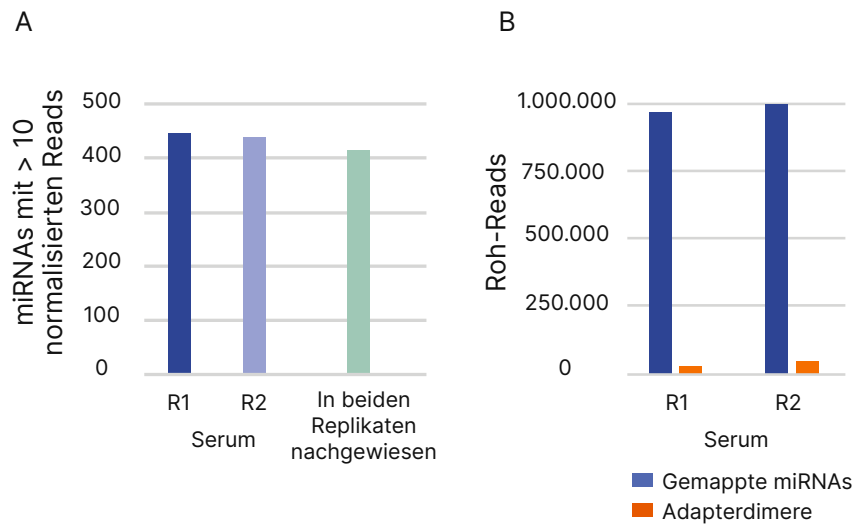


Abbildung 5: Zuverlässiger miRNA-Nachweis in Serumproben

Illumina miRNA Prep ermöglicht den zuverlässigen, reproduzierbaren miRNA-Nachweis in Biofluiden wie Serum. (A) Nachweis von miRNA aus Serum-Replikatproben (R1 und R2). (B) Reads gemappter miRNAs im Vergleich zu Adapterdimeren aus Serum-Replikatproben.

Vereinfachte miRNA-Analyse

Illumina bietet leistungsstarke Softwarelösungen für die Analyse von miRNA-Sequenzierungsdaten, die die Bestimmung und Quantifizierung von miRNAs optimieren. BaseSpace Sequence Hub und Illumina Connected Analytics (ICA) ermöglichen die Sekundäranalyse der Illumina miRNA Prep-Daten, einschließlich Alignment, Mapping und Quantifizierung der Reads. Die generierten Ausgabedateien können dann für Tertiäranalysen wie die Differenzialexpression verwendet werden. Diese Tools ermöglichen die effiziente Verarbeitung von miRNA-Daten in der Forschung sowie Biomarkererkennungs- und Expressionsstudien mit zuverlässiger, benutzerfreundlicher Analyse.

Zusammenfassung

Illumina miRNA Prep zeichnet sich durch einen schnellen, gelfreien Workflow zur Vorbereitung der miRNA-Sequenzierungsbibliothek aus, der Adapterligatur und UMI-Tagging umfasst, was die Genauigkeit maximiert. Der benutzerfreundliche Workflow eignet sich für unterschiedliche Probenarten, die von Biofluiden bis hin zu FFPE-Gewebe reichen, und ermöglicht miRNA-Profilung mit hohem Durchsatz sowie minimalem manuellem Aufwand. Die optimierte Chemie gewährleistet die bevorzugte Amplifikation von miRNA, die die Adapterdimerbildung sowie die Kontaminierung von RNA verhindert, wodurch reinere Bibliotheken für die genauere Quantifizierung zur Verfügung stehen. Mit der optimierten Workflow-Effizienz und der höheren Zuverlässigkeit durch Minimierung von Artefakten sorgt Illumina miRNA Prep für eine höhere Genauigkeit und Relevanz der miRNA-Forschung.

Weitere Informationen →

[Illumina miRNA Prep](#)

[BaseSpace Sequence Hub](#)

[Einführung in die RNA-Sequenzierung](#)

Bestellinformationen

Produkt	Katalog-Nr.
Illumina miRNA Prep (96 samples)	20145030
Illumina miRNA UD Indexes Set A (96 indexes, 96 samples)	20145031
Illumina miRNA UD Indexes Set B (96 indexes, 96 samples)	20145032
Illumina miRNA UD Indexes Set C (96 indexes, 96 samples)	20145033

Quellen

- Shang R, Lee S, Senavirathne G, Lai EC. [microRNAs in action: biogenesis, function and regulation](#). *Nat Rev Genet*. 2023;24(12):816-833. doi:10.1038/s41576-023-00611-y
- Tam S, Borja R de, Tsao MS, McPherson JD. [Robust global microRNA expression profiling using next-generation sequencing technologies](#). *Lab Invest*. 2014;94(3):350-358. doi:10.1038/labinvest.2013.157
- Dantas AG, Nunes BC, Nunes N, et al. [Next-generation sequencing profiling of miRNAs in individuals with 22q11.2 deletion syndrome revealed altered expression of miR-185-5p](#). *Hum Genomics*. 2024;18(1):64. doi:10.1186/s40246-024-00625-5
- Benesova S, Kubista M, Valihrach L. [Small RNA-sequencing: approaches and considerations for miRNA analysis](#). *Diagnostics*. 2021;11(6):964. doi:10.3390/diagnostics11060964
- Coenen-Stass AML, Magen I, Brooks T, et al. [Evaluation of methodologies for microRNA biomarker detection by next generation sequencing](#). *RNA Biol*. 2018;15(8):1133-1145. doi:10.1080/15476286.2018.1514236
- Sundarbose K, Kartha RV, Subramanian S. [MicroRNAs as biomarkers in cancer](#). *Diagnostics*. 2013;3(1):84-104. doi:10.3390/diagnostics3010084
- Azam HMH, Rößling RI, Geithe C, et al. [MicroRNA biomarkers as next-generation diagnostic tools for neurodegenerative diseases: a comprehensive review](#). *Front Mol Neurosci*. 2024;17. doi:10.3389/fnmol.2024.1386735
- Brase JC, Wuttig D, Kuner R, Sülthmann H. [Serum microRNAs as non-invasive biomarkers for cancer](#). *Mol Cancer*. 2010;9(1):306. doi:10.1186/1476-4598-9-306
- Li C, Zhou T, Chen J, et al. [The role of exosomal miRNAs in cancer](#). *J Transl Med*. 2022;20(1):6. doi:10.1186/s12967-021-03215-4
- Kakimoto Y, Kamiguchi H, Ochiai E, Satoh F, Osawa M. [MicroRNA stability in postmortem FFPE tissues: quantitative analysis using autoptic samples from acute myocardial infarction patients](#). *PLoS One*. 2015;10(6):e0129338. doi:10.1371/journal.pone.0129338



1 800 8094566 (USA, gebührenfrei) | +1 858 2024566 (Tel. außerhalb der USA)
 techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2025 Illumina, Inc. Alle Rechte vorbehalten. Alle Marken sind Eigentum von Illumina, Inc. bzw. der jeweiligen Inhaber. Spezifische Informationen zu Marken finden Sie unter www.illumina.com/company/legal.html.
 M-GL-03399 DEU v1.0