

# illumina miRNA Prep

Generación rápida y fiable  
de librerías de secuenciación  
de miARN y ARN pequeño



Ahorra tiempo y reduce la pérdida de muestra al eliminar la necesidad de purificación en gel.



Mejora la detección en muestras con aporte reducido de ARN al evitar la formación de dímeros adaptadores.



Optimiza la precisión de la cuantificación reduciendo los sesgos y la interferencia de fondo.

## Introducción

Los microARN (miARN) son moléculas de ARN pequeñas y no codificantes que regulan la expresión génica por medio de la inhibición de la traducción del ARNm o dirigiéndolo para su degradación.<sup>1</sup> Desempeñan funciones fundamentales en los procesos y el desarrollo celulares, lo que los convierte en un enfoque de investigación clave para comprender los mecanismos patológicos y desarrollar estrategias terapéuticas novedosas.

La secuenciación de nueva generación (NGS, next-generation sequencing) permite una creación de perfiles precisa y de alta productividad de la expresión de miARN, lo que permite a los investigadores identificar nuevos miARN, cuantificar sus niveles de expresión y descubrir sus funciones en la regulación génica.<sup>2,3</sup> La corta longitud de los miARN los hace susceptibles a los sesgos introducidos durante el aislamiento y la preparación de librerías que pueden afectar a la precisión de la cuantificación. La disponibilidad limitada de aporte de ARN también puede aumentar el riesgo de artefactos de secuenciación y reducir la sensibilidad para miARN de baja abundancia.<sup>4,5</sup>

Illumina miRNA Prep proporciona una solución sencilla y rentable para generar miARN y librerías de secuenciación de ARN pequeñas directamente a partir de ARN total o miARN aislado para prácticamente cualquier especie. Illumina miRNA Prep utiliza una química optimizada que evita los dímeros adaptadores, minimiza los sesgos y mejora la cuantificación incluso de muestras limitadas de miARN.

## Acerca de Illumina miRNA Prep

El flujo de trabajo optimizado de Illumina miRNA Prep comienza con ARN total purificado o miARN aislado a partir del cual se preparan librerías de miARN, seguido de secuenciación y análisis de datos (figura 1).

Los pasos optimizados de ligadura de adaptadores, amplificación y limpieza permiten a los investigadores pasar de ARN total purificado o miARN aislado a librerías de miARN listas para secuenciación en menos de un día (tabla 1). Las principales ventajas de Illumina miRNA Prep son:

- **Ligadura de adaptadores optimizada:** garantiza la captura selectiva de miARN maduro durante la preparación de librerías con adaptadores de 3' y 5' especialmente diseñados.
- **Purificación optimizada basada en bolas:** reduce el tiempo de participación activa y la complejidad del flujo de trabajo al eliminar la tediosa selección de tamaños basada en gel.
- **Prevención selectiva de dímeros adaptadores:** conserva las lecturas de secuenciación de moléculas de miARN verdadero utilizando oligonucleótidos modificados que reducen la formación de dímeros adaptadores.
- **Incorporación precisa de identificadores moleculares únicos (UMI, unique molecular identifiers) durante la transcripción inversa:** permite una cuantificación precisa etiquetando cada molécula de miARN original para distinguir moléculas únicas de duplicados de PCR.



**Figura 1: Flujo de trabajo de Illumina miRNA Prep**

El ARN total o el miARN aislado se utiliza para generar librerías específicas de miARN, que se pueden secuenciar en todos los sistemas NextSeq, NovaSeq o MiSeq de Illumina (tabla 1). Illumina BaseSpace Sequence Hub proporciona herramientas de software para el análisis principal y secundario.

- a. Incluye los sistemas NextSeq 500, NextSeq 550, NextSeq 1000, NextSeq 2000, NovaSeq 6000, NovaSeq X, NovaSeq X Plus, MiSeq y MiSeq i100.  
 b. Uso de 384 índices dobles únicos.

• **Reducción mejorada del sesgo en la amplificación**

**PCR:** mejora la sensibilidad de detección y garantiza una cuantificación fiable de miARN de baja abundancia con un aporte mínimo de ARN a través de una química optimizada que promueve una amplificación PCR uniforme.

## Aislamiento optimizado de miARN

A diferencia de la mayoría de los ARN celulares, los miARN maduros tienen un grupo hidroxil 3' y un grupo fosfato 5'. Estas características facilitan la ligadura de adaptadores únicos que permiten la amplificación de miARN maduros a la vez que minimizan la amplificación de otros tipos de ARN (figura 2).

Tabla 1: Especificaciones de Illumina miRNA Prep

Parámetro	Illumina miRNA Prep	TruSeq Small RNA
Tipo de aporte	ARN total de células, tejido FFPE, suero/plasma o tejido fresco congelado de prácticamente cualquier especie	Optimizado con ARN total de UHR de alta calidad <sup>a</sup>
Aporte requerido	1-500 ng <sup>b</sup>	1000 ng
N.º de índices disponibles	384 UDI	48 índices individuales
Sistemas de secuenciación compatibles	Illumina NextSeq, NovaSeq, and MiSeq Systems <sup>c,d</sup>	Illumina MiSeq, NextSeq 500/550 Systems <sup>e</sup>
Tiempo del flujo de trabajo <sup>f</sup>	3 h de participación activa, 7 h en total	~4-5 h de participación activa, ~11 h en total o ~1 día en total con elución nocturna

a. El uso de ARN de otras especies, tejidos o cualidades puede requerir una mayor optimización.  
 b. Para obtener los mejores resultados, se recomiendan cantidades más altas de ARN total, especialmente para muestras de miARN de baja abundancia.  
 c. Incluye NextSeq 500, NextSeq 550, NextSeq 1000, NextSeq 2000, NovaSeq 6000, NovaSeq X, NovaSeq X Plus, MiSeq y MiSeq i100 System.  
 d. Uso de 384 índices dobles únicos.  
 e. Limitado por el número de juegos de índices disponibles.  
 f. Empezando por el ARN total aislado hasta la limpieza de librerías.

FFPE, fijado en formol y embebido en parafina; UHR, referencia humana universal; UDI, índices dobles únicos.

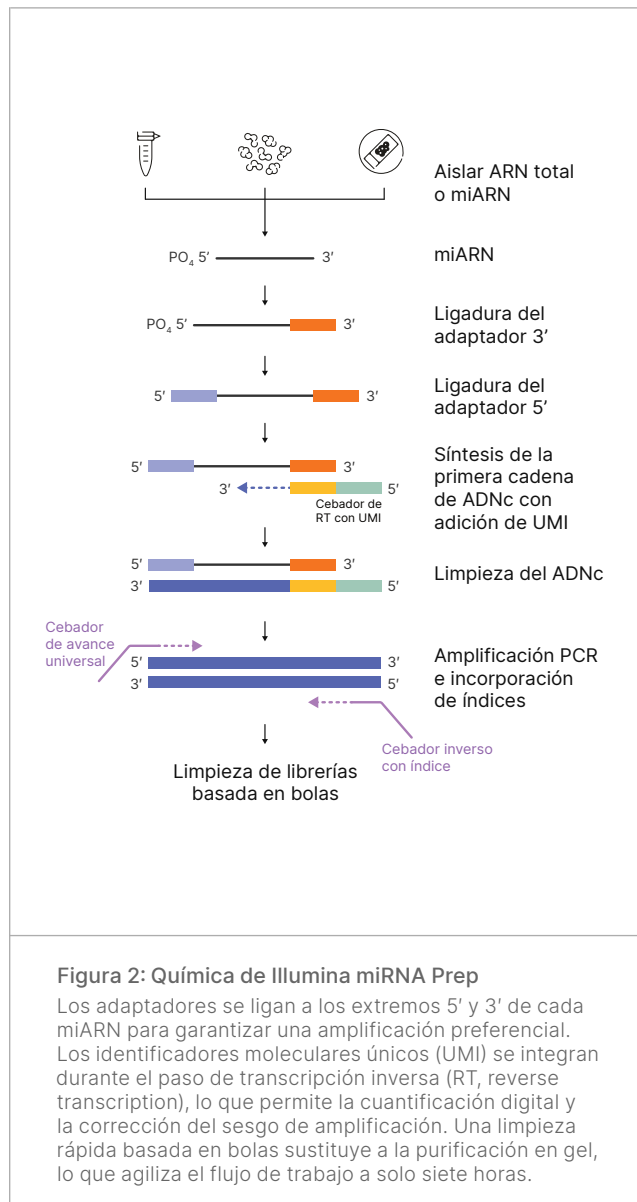


Figura 2: Química de Illumina miRNA Prep

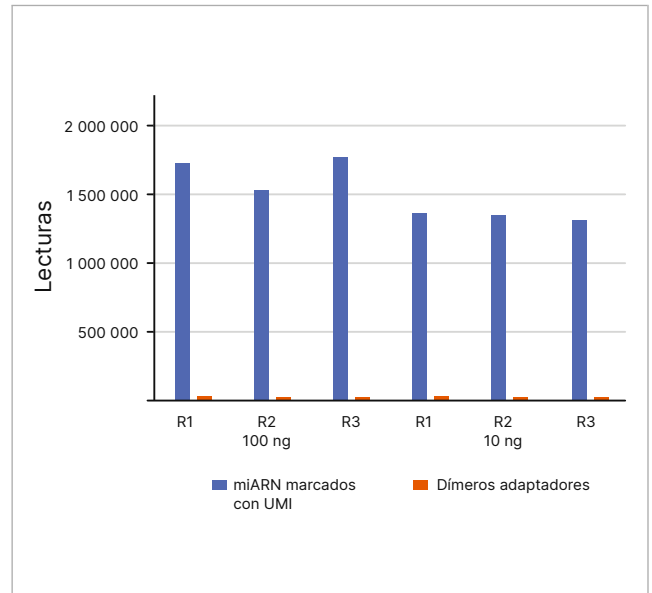
Los adaptadores se ligan a los extremos 5' y 3' de cada miARN para garantizar una amplificación preferencial. Los identificadores moleculares únicos (UMI) se integran durante el paso de transcripción inversa (RT, reverse transcription), lo que permite la cuantificación digital y la corrección del sesgo de amplificación. Una limpieza rápida basada en bolas sustituye a la purificación en gel, lo que agiliza el flujo de trabajo a solo siete horas.

## Limpieza sin gel a base de bolas

La purificación basada en gel de librerías amplificadas es laboriosa y requiere electroforesis, escisión de bandas y elución, aunque a menudo no elimina todos los dímeros adaptadores y el ARN contaminante. Illumina miRNA Prep elimina estos pasos con un flujo de trabajo basado en bolas sin gel (figura 3) que mejora el aislamiento específico del miARN a la vez que reduce al mínimo los dímeros adaptadores y los tipos de ARN no deseados.

## Cuantificación sin sesgo

Illumina miRNA Prep mejora la cuantificación de miARN mediante el uso de UMI para contar moléculas individuales (figura 2). Los métodos tradicionales de preparación de librerías a menudo introducen sesgos durante la amplificación, lo que conduce a la sobrerrepresentación de ciertos miARN y a la distorsión de los niveles de expresión. Dado que las UMI se incorporan en una fase temprana, cada molécula de miARN se cuenta solo una vez, lo que distingue las señales biológicas verdaderas de artefactos como dímeros adaptadores (figura 4).



**Figura 4: Cuantificación de miARN sin sesgo mediante UMI**

Al incorporar identificadores moleculares únicos (UMI) al principio del flujo de trabajo, la mayoría de las lecturas de secuenciación se asignan a miARN únicos, lo que minimiza el sesgo de los dímeros adaptadores.



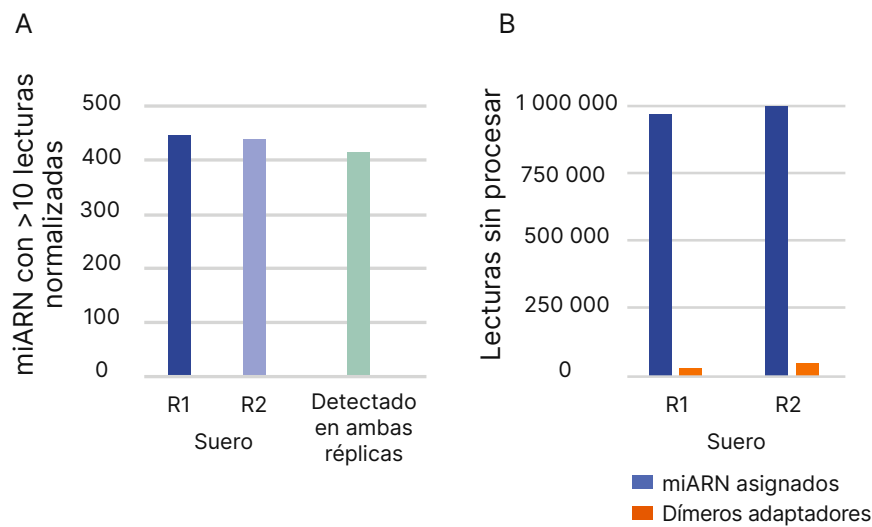
**Figura 3: Comparación del flujo de trabajo de Illumina miRNA Prep y TruSeq Small RNA**

Al eliminar la electroforesis y la purificación en gel, Illumina mRNA Prep ofrece un flujo de trabajo más rápido con un tiempo de participación práctico reducido en comparación con TruSeq Small RNA. El tiempo puede variar en función del equipo empleado, el número de muestras procesadas, los procedimientos de automatización o la experiencia del usuario.

## Sensibilidad ampliada

Los miARN han surgido como biomarcadores para enfermedades como el cáncer y los trastornos neurodegenerativos.<sup>6-8</sup> Los exosomas, pequeñas vesículas extracelulares secretadas por células, también transportan miARN y los protegen de la degradación, lo que aumenta su estabilidad.<sup>9</sup> Además, los miARN se conservan bien en tejidos fijados en formol y embebidos en parafina (FFPE, formalin-fixed, paraffin-embedded) debido a su pequeño tamaño, lo que permite estudios retrospectivos en muestras archivadas.<sup>10</sup>

Dado que los miARN suelen estar presentes en abundancia baja en los fluidos biológicos y las muestras FFPE, se requieren métodos de preparación de librerías muy sensibles para una detección precisa. Illumina miRNA Prep aborda este reto al permitir la creación de perfiles de miARN a partir de tan solo 1 ng de ARN total. Esta capacidad es beneficiosa para los estudios que utilizan líquidos corporales como el suero (figura 5).



**Figura 5: Detección sólida de miARN en muestras de suero**

Illumina miRNA Prep proporciona una detección de miARN sólida y reproducible en líquidos corporales como el suero. (A) Detección de miARN a partir de muestras de suero replicadas (R1 y R2). (B) Lecturas de miARN asignados en comparación con dímeros adaptadores de muestras de suero replicadas.

## Análisis de miARN simplificado

Illumina ofrece potentes soluciones de software para analizar los datos de secuenciación de miARN, lo que agiliza la identificación y cuantificación de miARN. BaseSpace Sequence Hub e Illumina Connected Analytics (ICA) proporcionan un análisis secundario de los datos de Illumina miRNA Prep, incluida la alineación de lecturas, la asignación y la cuantificación. Los archivos de resultados obtenidos se pueden utilizar para análisis terciarios, como la expresión diferencial. Estas herramientas ayudan a los investigadores a procesar de forma eficiente los datos de miARN, lo que respalda el descubrimiento de biomarcadores y los estudios de expresión con un análisis fiable y fácil de usar.

## Resumen

Illumina miRNA Prep ofrece un flujo de trabajo rápido y sin gel para la preparación de librerías de secuenciación de miARN, que integra la ligadura de adaptadores y el etiquetado de UMI para mejorar la precisión. El flujo de trabajo de fácil uso admite diversos tipos de muestras, desde líquidos corporales hasta tejido FFPE, así como la creación de perfiles de miARN de alta productividad con un tiempo de participación activa mínimo. La química optimizada garantiza la amplificación preferencial de miARN al tiempo que elimina los dímeros adaptadores y el ARN contaminante, lo que tiene como resultado librerías más limpias y una cuantificación más precisa. Al optimizar la eficiencia del flujo de trabajo y minimizar los artefactos para una mayor fiabilidad, Illumina miRNA Prep mejora la precisión y el impacto de la investigación de miARN.

**Más información →**

[Illumina miRNA Prep](#)

[BaseSpace Sequence Hub](#)

[Introducción a la secuenciación de ARN](#)

## Datos para realizar pedidos

Producto	N.º de catálogo
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

## Bibliografía

- 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, Sültmann 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



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

© 2025 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, consulte [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html).  
M-GL-03399 ESP v1.0