

illumina miRNA Prep

Génération rapide et fiable
de bibliothèques de séquençage
des miARN et de petits ARN



Gain de temps et réduction de la perte d'échantillons en éliminant la nécessité d'effectuer une purification sur gel



Amélioration de la détection dans les échantillons d'ARN à faible entrée en empêchant la formation de dimères d'adaptateur



Optimisation de la précision de la quantification en réduisant les biais et les interférences de fond

Introduction

Les micro-ARN (miARN) sont de petites molécules d'ARN non codantes qui régulent l'expression génique en inhibant la traduction de l'ARNm ou en le ciblant à des fins de dégradation¹. Ils jouent un rôle essentiel dans les processus cellulaires et le développement, ce qui en fait un domaine de recherche clé pour comprendre les mécanismes des maladies et développer de nouvelles stratégies thérapeutiques.

Le séquençage de nouvelle génération (SNG) permet un profilage précis et à débit élevé de l'expression des miARN, ce qui permet aux chercheurs d'identifier de nouveaux miARN, de quantifier leurs niveaux d'expression et de découvrir leurs rôles dans la régulation génique^{2,3}. La courte longueur des miARN les rend sensibles aux biais introduits pendant l'isolement et la préparation des bibliothèques qui peuvent affecter la précision de la quantification. Une quantité limitée d'ARN d'entrée peut également augmenter le risque d'artefacts de séquençage et réduire la sensibilité des miARN de faible abondance^{4,5}.

Illumina miRNA Prep fournit une solution simple et rentable pour générer des bibliothèques de séquençage de miARN et de petits ARN directement à partir d'ARN total ou de miARN isolés pour la plupart des espèces. Illumina miRNA Prep utilise une chimie optimisée qui empêche les dimères d'adaptateur, limite les biais et améliore la quantification, et ce, même pour les échantillons limités de miARN.

À propos d'Illumina miRNA Prep

Le flux de travail rationalisé d'Illumina miRNA Prep commence avec de l'ARN total purifié ou des miARN isolés à partir desquels les bibliothèques de miARN sont préparées, suivi par le séquençage et l'analyse des données (figure 1).

Les étapes optimisées de ligature, d'amplification et de nettoyage des adaptateurs permettent aux chercheurs de passer de l'ARN total purifié ou des miARN isolés à des bibliothèques de miARN prêtes pour le séquençage en moins d'une journée (tableau 1). Les principaux avantages d'Illumina miRNA Prep comprennent :

- **Ligature optimisée des adaptateurs** : garantit la capture sélective de miARN matures pendant la préparation des bibliothèques à l'aide d'adaptateurs 3' et 5' spécialement conçus.
- **Purification rationalisée par billes** : réduit la durée de manipulation et la complexité du flux de travail en éliminant la sélection fastidieuse de la taille à l'aide de gel.
- **Prévention ciblée des dimères d'adaptateur** : préserve les lectures de séquençage pour les véritables molécules de miARN à l'aide d'oligonucléotides modifiés qui réduisent la formation de dimères d'adaptateur.

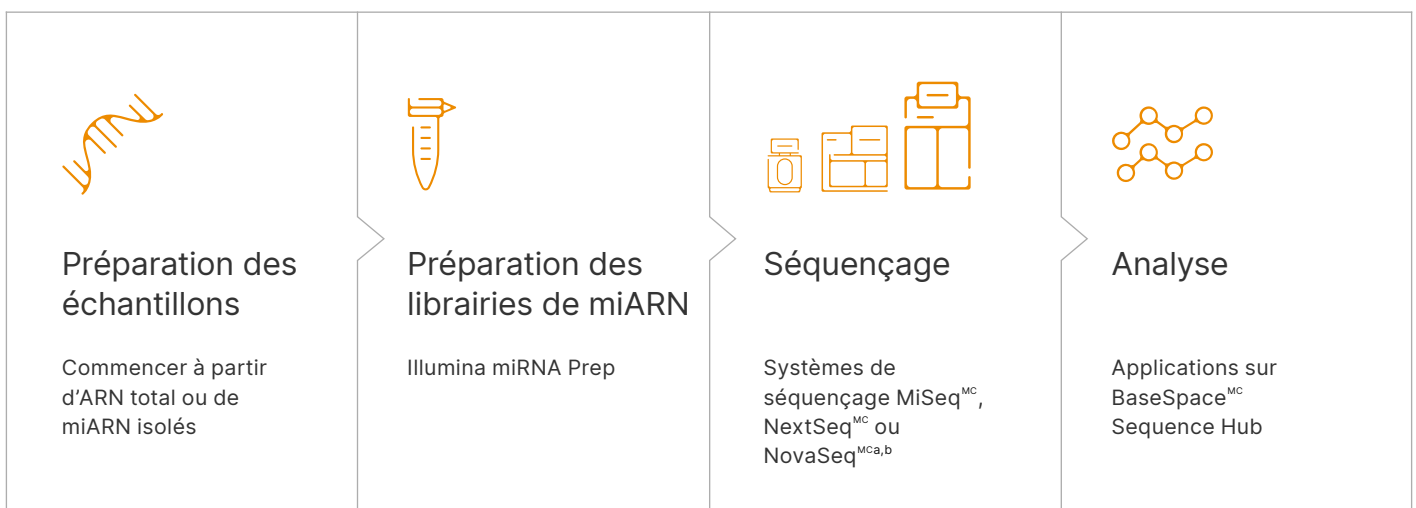


Figure 1 : Flux de travail d'Illumina miRNA Prep

De l'ARN total ou des miARN isolés sont utilisés pour générer des bibliothèques spécifiques aux miARN, qui peuvent être séquençées sur tous les systèmes NextSeq, NovaSeq ou MiSeq d'Illumina (tableau 1). BaseSpace Sequence Hub d'Illumina fournit des outils logiciels pour l'analyse primaire et secondaire.

- a. Comprend les systèmes NextSeq 500, NextSeq 550, NextSeq 1000, NextSeq 2000, NovaSeq 6000, NovaSeq X, NovaSeq X Plus, MiSeq et MiSeq i100.
b. Utilisation de 384 index doubles uniques.

- **Incorporation précise d'identifiants moléculaires uniques (IMU) pendant la transcription inverse :** permet une quantification précise en marquant chaque molécule de miARN d'origine pour distinguer les molécules uniques des répétitions de PCR.
- **Réduction accrue des biais dans l'amplification par PCR :** améliore la sensibilité de détection et garantit une quantification fiable des miARN de faible abondance avec une entrée minimale d'ARN grâce à une chimie optimisée qui favorise une amplification par PCR uniforme.

Isolement optimisé des miARN

Contrairement à la plupart des ARN cellulaires, les miARN matures ont à la fois un groupe hydroxyle 3' et un groupe phosphate 5'. Ces caractéristiques facilitent la ligature d'adaptateurs uniques qui permettent l'amplification des miARN matures tout en minimisant l'amplification d'autres types d'ARN (figure 2).

Tableau 1 : Caractéristiques d'Illumina miRNA Prep

Paramètre	Illumina miRNA Prep	TruSeq Small RNA
Type d'entrée	ARN total provenant de cellules, de tissus FFIP, de sérum/plasma ou de tissus frais/congelés provenant de la plupart des espèces	Optimisé à l'aide d'ARN total de RHU de haute qualité ^a
Entrée requise	1 à 500 ng ^b	1 000 ng
Nombre d'index disponibles	384 IDU	48 index uniques
Systèmes de séquençage pris en charge	Systèmes NextSeq, NovaSeq et MiSeq d'Illumina ^{c,d}	Systèmes MiSeq, NextSeq 500/550 d'Illumina ^e
Durée du flux de travail ^f	3 h de manipulation, 7 h au total	Env. 4 à 5 h de manipulation, env. 11 h au total ou env. 1 jour au total avec élution pendant la nuit

- L'utilisation de l'ARN d'autres espèces, tissus ou qualités peut nécessiter une optimisation supplémentaire.
- Pour de meilleurs résultats, des quantités plus élevées d'ARN total sont recommandées, en particulier pour les échantillons de miARN de faible abondance.
- Comprend les systèmes NextSeq 500, NextSeq 550, NextSeq 1000, NextSeq 2000, NovaSeq 6000, NovaSeq X, NovaSeq X Plus, MiSeq et MiSeq i100.
- Utilisation de 384 index doubles uniques.
- Limités par le nombre d'ensembles d'index disponibles.
- À partir de l'ARN total isolé jusqu'au nettoyage de la librairie.

FFIP, fixé au formol et inclus en paraffine; RHU, référence humaine universelle; IDU, index doubles uniques.

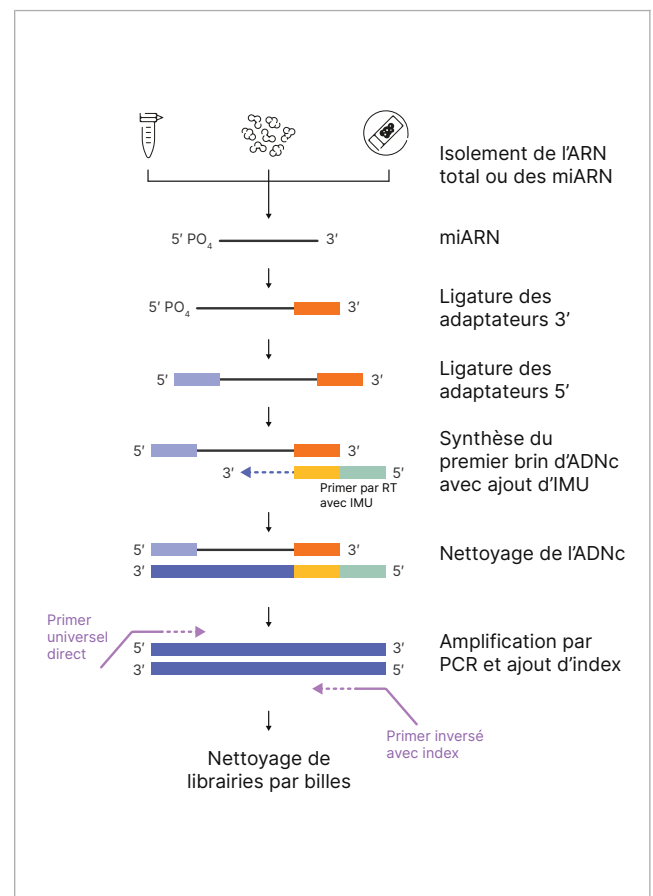


Figure 2 : Chimie d'Illumina miRNA Prep

Les adaptateurs sont ligaturés aux extrémités 5' et 3' de chaque miARN pour assurer une amplification préférentielle. Les identifiants moléculaires uniques (IMU) sont intégrés pendant l'étape de transcription inverse (RT, Reverse Transcription), ce qui permet la quantification numérique et la correction du biais d'amplification. Un nettoyage rapide par billes remplace la purification sur gel, réduisant la durée du flux de travail à seulement sept heures.

Nettoyage par billes sans gel

La purification à l'aide de gel des bibliothèques amplifiées est laborieuse, car elle nécessite une électrophorèse, une excision de bandes et une élution. De plus, elle ne parvient souvent pas à éliminer tous les dimères d'adaptateur et l'ARN contaminant. Illumina miRNA Prep supprime ces étapes grâce à un flux de travail sans gel et à base de billes (figure 3) qui améliore l'isolement spécifique aux miARN tout en minimisant les dimères d'adaptateur et les types d'ARN indésirables.

Quantification objective

Illumina miRNA Prep améliore la quantification des miARN en utilisant des IMU pour compter les molécules individuelles (figure 2). Les méthodes traditionnelles de préparation de bibliothèques introduisent souvent un biais pendant l'amplification, ce qui entraîne une surreprésentation de certains miARN et une distorsion des niveaux d'expression. Étant donné que les IMU sont incorporés suffisamment tôt, chaque molécule de miARN n'est comptée qu'une seule fois, permettant ainsi de distinguer les véritables signaux biologiques des artefacts tels que les dimères d'adaptateur (figure 4).

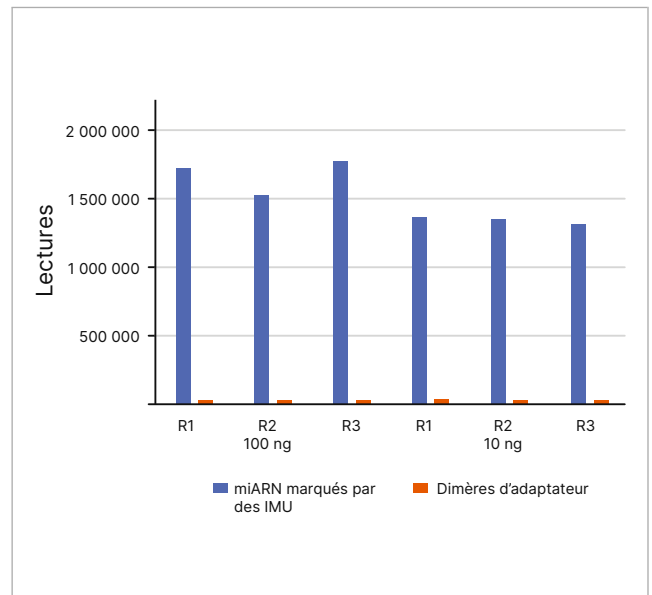


Figure 4 : Quantification objective des miARN à l'aide d'IMU

En incorporant des identifiants moléculaires uniques (IMU) au début du flux de travail, la plupart des lectures de séquençage sont cartographiées à des miARN uniques, minimisant ainsi le biais des dimères d'adaptateur.



Figure 3 : Comparaison du flux de travail d'Illumina miRNA Prep et de TruSeq Small RNA

En éliminant l'électrophorèse et la purification sur gel, Illumina miRNA Prep offre un flux de travail plus rapide avec une durée de manipulation réduite par rapport à TruSeq Small RNA. 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.

Sensibilité optimisée

Les miARN sont devenus des biomarqueurs de maladies telles que le cancer et les troubles neurodégénératifs⁶⁻⁸. Les exosomes, de petites vésicules extracellulaires sécrétées par les cellules, transportent également les miARN et les empêchent de se dégrader, augmentant ainsi leur stabilité⁹. De plus, les miARN sont bien préservés dans les tissus fixés au formol et inclus en paraffine (FFIP) en raison de leur petite taille, ce qui permet la réalisation d'études rétrospectives sur des échantillons archivés¹⁰.

Étant donné que les miARN dans les biofluides et les échantillons FFIP sont souvent présents en faible abondance, des méthodes de préparation de bibliothèques hautement sensibles sont nécessaires pour une détection précise. Illumina miRNA Prep répond à ce défi en permettant le profilage des miARN à partir de seulement 1 ng d'ARN total. Cette capacité est bénéfique pour les études utilisant des biofluides tels que le sérum (figure 5).

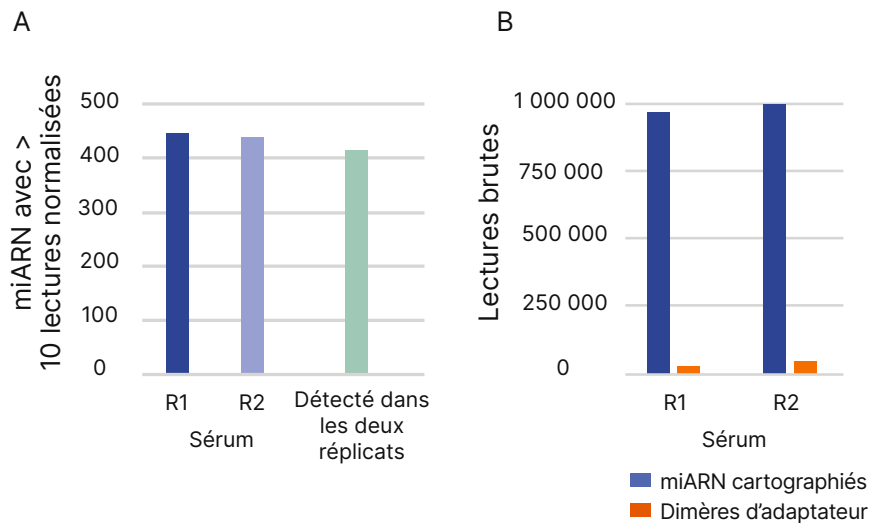


Figure 5 : Détection fiable des miARN dans les échantillons de sérum

Illumina miRNA Prep fournit une détection fiable et reproductible des miARN dans les biofluides tels que le sérum. (A) Détection de miARN à partir d'échantillons de sérum répliqués (R1 et R2). (B) Lectures des miARN cartographiés par rapport aux dimères d'adaptateur provenant des échantillons de sérum répliqués.

Analyse simplifiée des miARN

Illumina propose de puissantes solutions logicielles pour analyser les données de séquençage des miARN, en rationalisant l'identification et la quantification des miARN. BaseSpace Sequence Hub et Illumina Connected Analytics (ICA) fournissent une analyse secondaire des données d'Illumina miRNA Prep, y compris l'alignement des lectures, la cartographie et la quantification. Les fichiers de sortie produits peuvent ensuite être utilisés pour des analyses tertiaires telles que l'expression différentielle. Ces outils aident les chercheurs à traiter efficacement les données des miARN, en prenant en charge la découverte de biomarqueurs et les études d'expression grâce à une analyse fiable et conviviale.

Résumé

Illumina miRNA Prep offre un flux de travail rapide et sans gel pour la préparation de bibliothèques de séquençage de miARN, intégrant la ligature des adaptateurs et le marquage par IMU pour maximiser la précision. Ce flux de travail convivial prend en charge divers types d'échantillons, des biofluides aux tissus FFIP, et permet un profilage du miARN à débit élevé avec une durée de manipulation minimale. La chimie optimisée garantit une amplification préférentielle des miARN tout en éliminant les dimères d'adaptateur et l'ARN contaminant, ce qui permet d'obtenir des bibliothèques plus propres et une quantification plus précise. En optimisant l'efficacité du flux de travail et en minimisant les artéfacts pour une plus grande fiabilité, Illumina miRNA Prep améliore la précision et l'impact de la recherche sur les miARN.

En savoir plus →

[Illumina miRNA Prep](#)

[BaseSpace Sequence Hub](#)

[Introduction au séquençage de l'ARN](#)

Renseignements relatifs à la commande

Produit	N° de référence
Illumina miRNA Prep (96 échantillons)	20145030
Illumina miRNA UD Indexes Set A (96 index, 96 échantillons)	20145031
Illumina miRNA UD Indexes Set B (96 index, 96 échantillons)	20145032
Illumina miRNA UD Indexes Set C (96 index, 96 échantillons)	20145033

Références

- 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



Numéro sans frais aux États-Unis : + (1) 800 809-4566 | Téléphone : + (1) 858 202-4566
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2025 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-03399 FRA v1.0