

illumina miRNA Prep

Geração rápida e confiável de bibliotecas de sequenciamento de miRNA e RNA pequeno



Economiza tempo e reduz a perda de amostras ao eliminar a necessidade de purificação de gel



Melhora a detecção em amostras de RNA de baixa entrada, evitando a formação de dímeros de adaptador



Otimiza a precisão da quantificação reduzindo vieses e interferência de fundo

Introdução

MicroRNAs (miRNAs) são moléculas de RNA pequenas e não codificantes que regulam a expressão gênica inibindo a tradução do mRNA ou direcionando-o para degradação.¹ Elas têm papéis essenciais nos processos e no desenvolvimento celulares, tornando-se um foco de pesquisa chave para compreender mecanismos de doenças e criar novas estratégias terapêuticas.

O sequenciamento de última geração (NGS) permite o perfilamento preciso e de alto rendimento da expressão de miRNA, permitindo que os pesquisadores identifiquem novos miRNAs, quantifiquem seus níveis de expressão e descubram suas funções na regulação gênica.^{2,3} O curto comprimento dos miRNAs os torna suscetíveis a vieses introduzidos durante o isolamento e a preparação da biblioteca que podem afetar a precisão da quantificação. A disponibilidade limitada de RNA de entrada também pode aumentar o risco de artefatos de sequenciamento e reduzir a sensibilidade para miRNAs de baixa abundância.^{4,5}

O Illumina miRNA Prep fornece uma solução simples e econômica para gerar miRNA e pequenas bibliotecas de sequenciamento de RNA diretamente do RNA total ou miRNA isolado para praticamente qualquer espécie. O Illumina miRNA Prep usa uma química otimizada que evita dímeros de adaptador, minimiza vieses e melhora a quantificação de amostras limitadas de miRNA.

Sobre o Illumina miRNA Prep

O fluxo de trabalho simplificado do Illumina miRNA Prep começa com RNA total purificado ou miRNA isolado a partir do qual as bibliotecas de miRNA são preparadas, seguido por sequenciamento e análise de dados (Figura 1).

As etapas otimizadas de ligação, amplificação e limpeza do adaptador permitem que os pesquisadores passem de RNA total purificado ou miRNA isolado para bibliotecas de miRNA prontas para sequenciamento em menos de um dia (Tabela 1). As principais vantagens do Illumina miRNA Prep incluem:

- **Ligação otimizada do adaptador:** garante a captura seletiva de miRNA maduro durante a preparação da biblioteca usando adaptadores 3' e 5' especialmente projetados
- **Purificação simplificada com base em beads:** reduz o tempo de trabalho prático e a complexidade do fluxo de trabalho, eliminando a seleção tediosa de tamanho baseada em gel
- **Prevenção direcionada de dímeros de adaptador:** preserva leituras de sequenciamento para moléculas de miRNA verdadeiras usando oligonucleotídeos modificados que reduzem a formação de dímeros de adaptador



Figura 1: Fluxo de trabalho Illumina miRNA Prep

O RNA total ou miRNA isolado é usado para gerar bibliotecas específicas de miRNA, que podem ser sequenciadas em todos os produtos Illumina NextSeq, NovaSeq, or MiSeq Systems (Tabela 1). O Illumina BaseSpace Sequence Hub fornece ferramentas de software para análise primária e secundária.

- a. Inclui NextSeq 500, NextSeq 550, NextSeq 1000, NextSeq 2000, NovaSeq 6000, NovaSeq X, NovaSeq X Plus, MiSeq e MiSeq i100 Systems.
 b. Usando 384 indexes duplos únicos.

- **Incorporação precisa de identificadores moleculares exclusivos (UMIs) durante a transcrição reversa:** permite a quantificação precisa marcando cada molécula de miRNA original para distinguir moléculas exclusivas de duplicatas de PCR
- **Redução de viés aprimorada na amplificação de PCR:** melhora a sensibilidade de detecção e garante quantificação confiável de miRNAs de baixa abundância com entrada mínima de RNA por meio de química otimizada que promove amplificação uniforme de PCR

Isolamento otimizado de miRNA

Ao contrário da maioria dos RNAs celulares, os miRNAs maduros têm um grupo hidroxila 3' e um grupo fosfato 5'. Essas características facilitam a ligação de adaptadores exclusivos que permitem a amplificação de miRNAs maduros, minimizando a amplificação de outros tipos de RNA (Figura 2).

Tabela 1: Especificações do Illumina miRNA Prep

Parâmetro	Illumina miRNA Prep	TruSeq Small RNA
Tipo de entrada	RNA total de células, tecido FFPE, soro/plasma ou tecido fresco congelado de praticamente qualquer espécie	Otimizado usando RNA total UHR de alta qualidade ^a
Entrada obrigatória	1 a 500 ng ^b	1.000 ng
N.º de indexes disponíveis	384 UDI	48 indexes únicos
Sistemas de sequenciamento compatíveis	Illumina NextSeq, NovaSeq, e MiSeq Systems ^{c,d}	Illumina MiSeq, NextSeq 500/550 Systems ^e
Tempo do fluxo de trabalho ^f	3 h de trabalho prático, 7 h no total	Aprox. 4 a 5 h de trabalho prático, aprox. 11 h no total, ou aprox. 1 dia com eluição durante a noite

- O uso de RNA de outras espécies, tecidos ou qualidades pode exigir otimização adicional.
- Para obter melhores resultados, são recomendadas quantidades mais altas de RNA total, especialmente para amostras de miRNA de baixa abundância.
- Inclui NextSeq 500, NextSeq 550, NextSeq 1000, NextSeq 2000, NovaSeq 6000, NovaSeq X, NovaSeq X Plus, MiSeq e MiSeq i100 Systems.
- Usando 384 indexes duplos únicos.
- Limitado pelo número de conjuntos de índices disponíveis.
- Começando do RNA total isolado até a limpeza da biblioteca.

FFPE, fixado em formalina, embocado em parafina; UHR, referência humana universal; UDI, indexes duplos únicos.

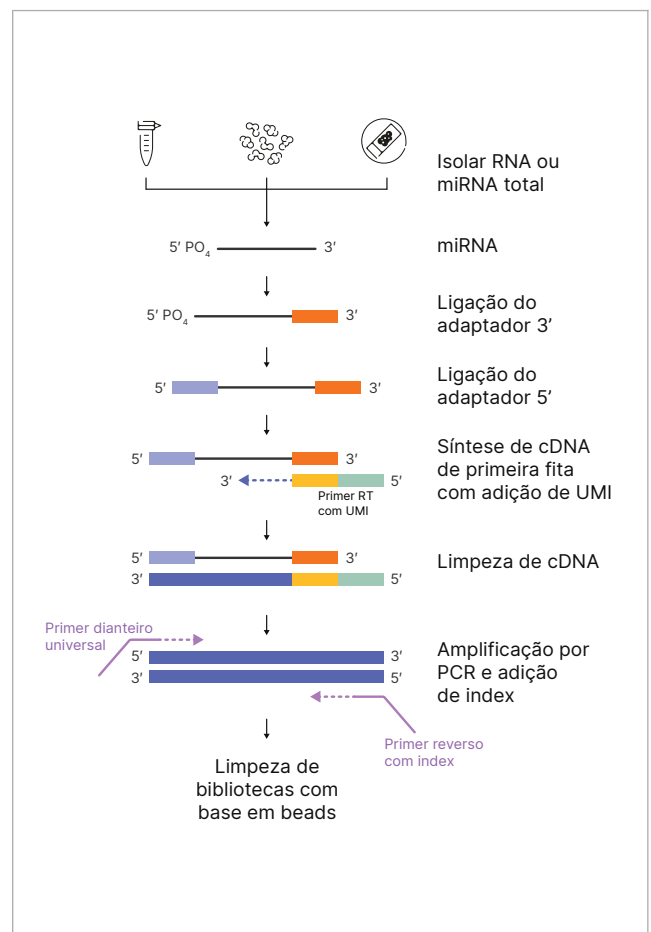


Figura 2: Illumina miRNA Prep chemistry

Os adaptadores são ligados às extremidades 5' e 3' de cada miRNA para garantir amplificação preferencial. Identificadores moleculares únicos (UMIs) são incorporados na etapa de transcrição reversa (RT), possibilitando quantificação digital e correção do viés de amplificação. Uma limpeza rápida com beads substitui a purificação em gel, reduzindo o fluxo de trabalho para apenas sete horas.

Limpeza sem gel e com base em beads

A purificação baseada em gel de bibliotecas amplificadas é trabalhosa, exigindo eletroforese, excisão da banda e eluição, e muitas vezes não remove todos os dímeros de adaptador e o RNA contaminante. O Illumina miRNA Prep elimina essas etapas com um fluxo de trabalho sem gel e com base em beads (Figura 3) que melhora o isolamento específico do miRNA, minimizando os dímeros do adaptador e tipos de RNA indesejados.

Quantificação imparcial

O Illumina miRNA Prep melhora a quantificação do miRNA usando UMIs para contar moléculas individuais (Figura 2). Os métodos tradicionais de preparação de bibliotecas frequentemente introduzem viés durante a amplificação, levando à super-representação de certos miRNAs e distorção dos níveis de expressão. Como os UMIs são incorporados em um estágio inicial, cada molécula de miRNA é contada apenas uma vez, distinguindo sinais biológicos verdadeiros de artefatos como dímeros de adaptador (Figura 4).

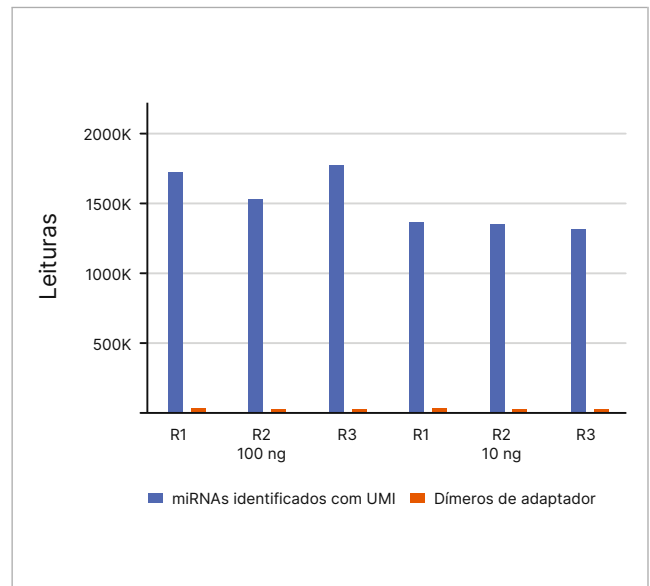


Figura 4: Quantificação imparcial de miRNA usando UMIs

Ao incorporar identificadores moleculares exclusivos (UMIs) no início do fluxo de trabalho, a maioria das leituras de sequenciamento é mapeada para miRNAs exclusivos, minimizando o viés dos dímeros de adaptador.

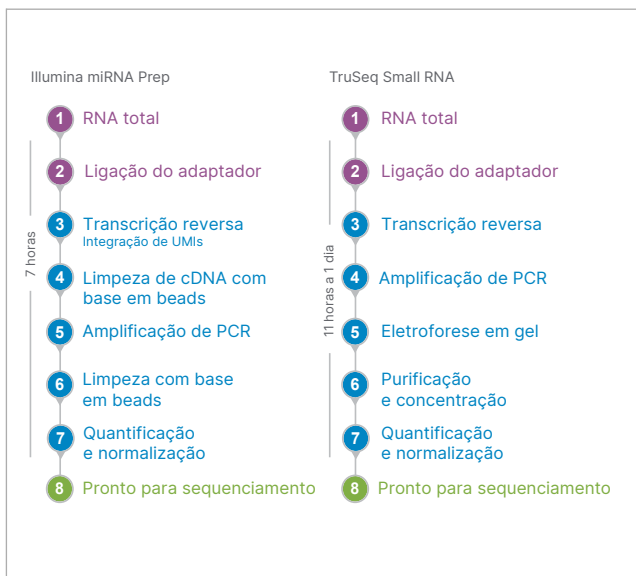


Figura 3: Comparação do fluxo de trabalho do Illumina miRNA Prep e TruSeq Small RNA

Ao eliminar a eletroforese e a purificação em gel, o Illumina miRNA Prep oferece um fluxo de trabalho mais rápido com tempo de trabalho prático reduzido em comparação com o TruSeq Small RNA. Os tempos podem variar dependendo dos equipamentos usados, dos números de amostras processadas, dos procedimentos de automação ou da experiência do usuário.

Sensibilidade maximizada

Os miRNAs surgiram como biomarcadores para doenças como câncer e distúrbios neurodegenerativos.⁶⁻⁸ Os exossomas, pequenas vesículas extracelulares secretadas pelas células, também carregam miRNAs e os protegem da degradação, aumentando sua estabilidade.⁹ Além disso, os miRNAs são bem preservados em tecidos fixados em formalina e emblocados em parafina (FFPE) devido ao seu pequeno tamanho, permitindo estudos retrospectivos em amostras arquivadas.¹⁰

Como os miRNAs em biofluidos e amostras FFPE estão frequentemente presentes em baixa abundância, métodos de preparação de biblioteca altamente sensíveis são necessários para a detecção precisa. O Illumina miRNA Prep aborda esse desafio permitindo a determinação do perfil de miRNA a partir de apenas 1 ng de RNA total. Essa capacidade é benéfica para estudos que usam biofluidos, como soro (Figura 5).

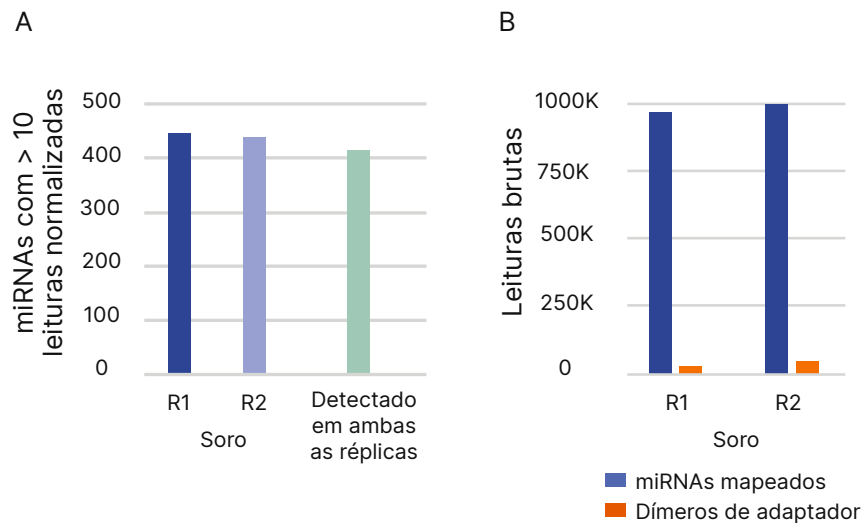


Figura 5: Detecção completa de miRNA em amostras de soro

O Illumina miRNA Prep fornece detecção de miRNA completa e reproduzível em biofluidos, como soro. (A) Detecção de miRNA de amostras replicadas de soro (R1 e R2). (B) Leituras de miRNAs mapeados em comparação com dímeros de adaptador de amostras replicadas de soro.

Análise simplificada de miRNA

A Illumina oferece soluções de software poderosas para analisar dados de sequenciamento de miRNA, simplificando a identificação e quantificação de miRNAs. O BaseSpace Sequence Hub e o Illumina Connected Analytics (ICA) fornecem análise secundária dos dados do Illumina miRNA Prep, incluindo alinhamento de leitura, mapeamento e quantificação. Os arquivos de dados gerados resultantes podem ser usados para análises terciárias, como expressão diferencial. Essas ferramentas ajudam os pesquisadores a processar dados de miRNA com eficiência, apoiando estudos de descoberta e expressão de biomarcadores com análise confiável e fácil de usar.

Resumo

O Illumina miRNA Prep oferece um fluxo de trabalho rápido e sem gel para a preparação da biblioteca de sequenciamento de miRNA, integrando ligação de adaptador e marcação de UMI para maximizar a precisão. O fluxo de trabalho fácil de usar oferece suporte a diversos tipos de amostras, desde biofluidos até tecido FFPE, e permite a criação de perfis de miRNA de alto rendimento com tempo mínimo de trabalho prático. A química otimizada garante amplificação preferencial de miRNA, eliminando dímeros de adaptador e contaminando o RNA, resultando em bibliotecas mais limpas e quantificação mais precisa. Ao otimizar a eficiência do fluxo de trabalho e minimizar artefatos para maior confiabilidade, o Illumina miRNA Prep melhora a precisão e o impacto da pesquisa de miRNA.

Saiba mais →

[Illumina miRNA Prep](#)

[BaseSpace Sequence Hub](#)

[Introdução ao sequenciamento de RNA](#)

Informações para pedidos

Produto	N.º do 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

Referências

- 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) 809-4566, ligação gratuita (EUA) | tel. +1 (858) 202-4566
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2025 Illumina, Inc. Todos os direitos reservados. Todas as marcas comerciais pertencem à Illumina, Inc. ou aos respectivos proprietários. Para obter informações específicas sobre marcas comerciais, consulte www.illumina.com/company/legal.html.
M-GL-03399 PTB v1.0