

Ribo-Zero™ Plus Microbiome Depletion Kit

Schnelle, effiziente
Abreicherung von
Wirts- und Bakterien-
rRNA für hochwertige
Metatranskriptomik-
Anwendungen

- Optimierte Lösung für die RNA-Analyse mit Erfassungssonden für die effiziente 5S-, 16S- und 23S-rRNA-Abreicherung bei Human- und Mikroorganismenproben
- Schneller und flexibler Workflow für eine breite Palette von RNA-Zugaben (25 ng bis 1.000 ng) zur zuverlässigen rRNA-Abreicherung bei komplexen mikrobiellen Proben (z. B. Stuhl)
- Die anwenderfreundliche BaseSpace™ Sequence Hub Microbiome Metatranscriptomics App vereinfacht die Datenanalyse und bietet eine genaue Visualisierung der Ergebnisse

illumina®

Einleitung

Bei der Metatranskriptomik handelt es sich um ein leistungsstarkes Verfahren zur Charakterisierung der Funktion von Mikroorganismen, der Genregulation und der dynamischen Beziehung zwischen Wirt und Mikrobiom in Echtzeit. Jedoch beeinträchtigt die hohe relative Häufigkeit ribosomaler (rRNA-)Sequenzen in bakteriellen Proben die RNA-Sequenzierung (RNA-Seq), wodurch sich biologisch relevante Transkripte mit geringerer Expression nur schwer nachweisen lassen. Außerdem verhindert das Fehlen von Poly(A)-Schwänzen bei Proben exprimierter bakterieller RNA die spezifische Anreicherung bakterieller Messenger-RNA (mRNA) für Transkriptomanalysen. Daher muss die rRNA vor der RNA-Seq unbedingt entfernt werden, damit hochwertige Metatranskriptomik-Bibliotheken generiert werden können.

Mit dem Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit lässt sich unerwünschte rRNA schnell und effizient aus komplexen mikrobiellen Proben entfernen. Die zuverlässige rRNA-Abreicherung in Verbindung mit der BaseSpace™ Microbiome Metatranscriptomics App ermöglicht es Forschern, sich dank eines optimierten RNA-Analyse-Workflows auf hochwertige, informative Teile des Transkriptoms zu konzentrieren.

Bewährte Technologie zur rRNA-Abreicherung

Das Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit verwendet die bewährte Ribo-Zero Plus rRNA-Abreicherungstechnologie zur Entfernung panbakterieller rRNA, einschließlich 5S-, 16S- und 23S-rRNA, aus der Gesamt-RNA, die aus komplexen Mikroorganismen-Gemeinschaften isoliert wurde. Die rRNA-Abreicherung mit dem Ribo-Zero Plus-Workflow umfasst die gezielte Hybridisierung mit DNA-Sonden und die anschließende Ribonuklease H (RNase H)-vermittelte Aufspaltung ([Abbildung 1](#)). Die RNA wird zunächst mit DNA-Sonden hybridisiert, die komplementär zur rRNA sind. Diese Sonden führen RNase H zum Aufschließen der rRNA. Anschließend werden die DNA-Sonden mit DNase I aufgeschlossen und die verbleibende intakte RNA wird durch Bead-Aufreinigung entfernt. Nach der rRNA-Abreicherung der Proben erfolgen die Bibliotheksvorbereitung, die Sequenzierung und die Datenanalyse.

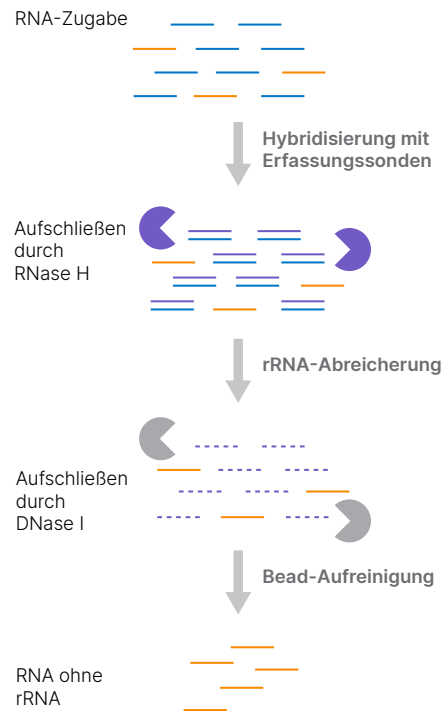


Abbildung 1: Ribo-Zero Plus Microbiome Ribodepletionsprotokoll: Die RNA-Zugabe wird mit rRNA-komplementären Oligonukleotid-Erfassungssonden hybridisiert. Die hybridisierte rRNA wird dann enzymatisch durch RNase H abgebaut, gefolgt vom Aufschließen der DNA-Sonden mit DNase I. Nach einer Bead-Aufreinigung zur Entfernung der verbleibenden Enzyme und Oligonukleotide sind die angereicherten RNA-Proben bereit für die nachfolgenden Schritte der Bibliotheksvorbereitung.

Breite Mikroorganismen-Coverage

Das Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit enthält einen erweiterten Satz an Erfassungssonden, die 5S-, 16S- und 23S-rRNA verschiedener Mikroorganismenspezies entfernen, darunter übliche Darmbakterien von Erwachsenen und Kindern sowie ATCC MSA-2002, MSA-2005 und MSA-2006. Die breite Coverage dieses Kits entfernt wirksam unerwünschte RNA Tausender häufiger Darmbakterienstämme aus komplexen Proben wie beispielsweise Stuhl. Darüber hinaus entfernen die im Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit enthaltenen Human-rRNA-Erfassungssonden Wirts- und Mikroorganismen-rRNA in einer einzelnen Reaktion ([Abbildung 2](#)).

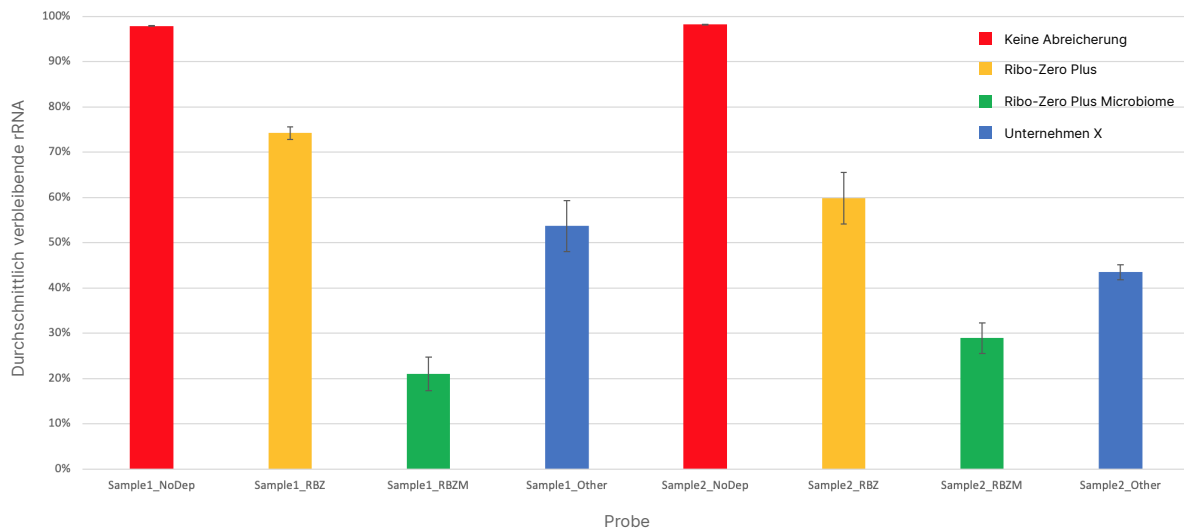


Abbildung 2: Robuste rRNA-Abreicherung mit dem Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit: Das Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit reichert rRNA (5S, 16S und 23S) in Human- und Bakterienproben in einer Ein-Röhrchen-Reaktion effektiv ab. Die Ergebnisse werden mit dem Ribo-Zero Plus rRNA Depletion Kit und einem handelsüblichen rRNA-Abreicherungskit des Unternehmens X verglichen. Es wurden zwei Stuhlansammlungen getestet. Bei Probe 1 handelt es sich um eine Mischung aus Stuhlproben von Erwachsenen und Säuglingen. Bei Probe 2 handelt es sich um eine handelsübliche Stuhlprobe von Zymo (Kat.-Nr. 6331).

Das Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit sorgt für eine zuverlässige Abreicherung kontaminierender rRNA bereits ab 25 ng hochwertiger Gesamt-RNA. Eine geringe erforderliche Probenzugabemenge bedeutet, dass mehr Probentypen für empfindliche Metatranskriptomik-Anwendungen in Frage kommen.

Integrierter Workflow von der RNA bis zur Analyse

Das Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit lässt sich nahtlos in vorhandene Automatisierungs- und NGS-Workflows (Next-Generation-Sequencing, Sequenzierung der nächsten Generation) integrieren, ohne dass Anpassungen an vorhandenen Protokollen erforderlich sind (Abbildung 3). Das Kit ist entweder als eigenständiges Produkt zur Abreicherung oder als Teil eines kompletten Workflows erhältlich, der Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus und das Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit umfasst. Die flexible Lösung eignet sich für die Verarbeitung von 96 Proben. Sie ist mit den Sequenziersystemen NextSeq™ 500, NextSeq 550, NextSeq 1000, NextSeq 2000 und NovaSeq™ 6000 kompatibel und damit für spezifische Forschungsanforderungen geeignet.

Vereinfachte Analyse und Visualisierung von Daten

Die Bioinformatikanalyse von Metatranskriptomikdaten ist kompliziert und rechenintensiv. Mit dem Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit erhalten Anwender Zugriff auf die BaseSpace Microbiome Metatranscriptomics App, die einen optimierten RNA-Analyse-Workflow bietet. Diese cloudbasierte App ist für Daten optimiert, die mit Illumina Stranded Total RNA with Ligation und dem Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit generiert wurden (Abbildung 4). Die intuitive Benutzeroberfläche ermöglicht es Forschern, komplexe Mikroorganismen-Gemeinschaften zu analysieren und neue Erkenntnisse über Stoffwechselprofile zu gewinnen.

FASTQ-Zugabedateien lassen sich einfach so verändern, dass hochwertige Daten und visuelle Darstellungen zu Taxonomie, Reads von Interesse, relativer Häufigkeit der Mikroorganismenarten und Genen, die erwartungsgemäß an der Wechselwirkung zwischen Bakterien und Wirten beteiligt sind, generieren lassen (Abbildung 5).

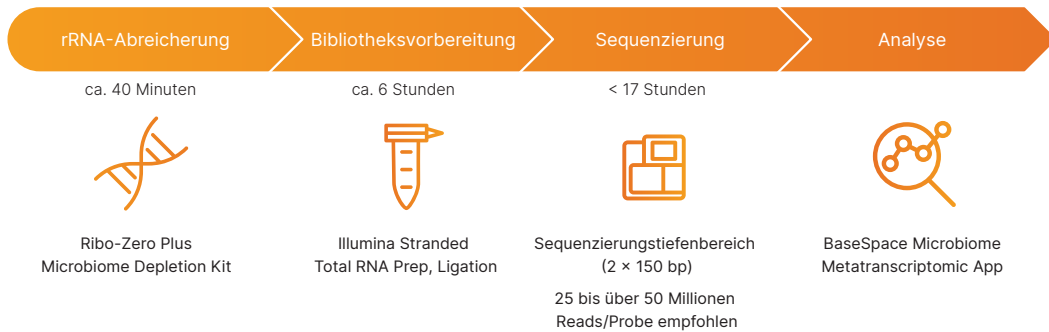


Abbildung 3: Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit in NGS-basierten RNA-Seq-Workflows: Das Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit kann in vorhandene RNA-Seq-Workflows integriert werden, um unerwünschte rRNA innerhalb von ca. 40 Minuten effektiv aus Gesamt-RNA-Proben zu entfernen.

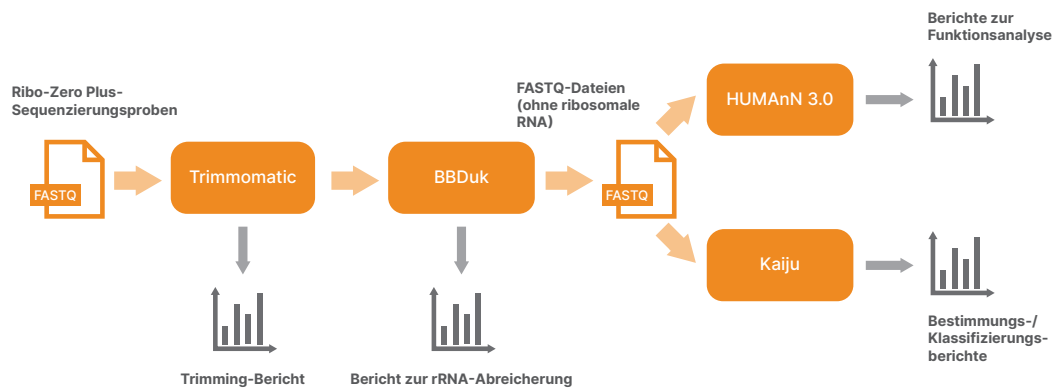


Abbildung 4: Funktionelle Datenanalyse-Pipeline mit der BaseSpace Microbiome Metatranscriptomics App: Im ersten Schritt der Datenanalyse werden mit Trimmomatic minderwertige und kurze Reads aus den FASTQ-Zugabedateien entfernt. Dann werden mit BBduk die Wirts-Reads, wenn im Zugabeformular ein Wirtsgenom ausgewählt wurde, sowie alle verbleibenden rRNA-Reads entfernt. Abschließend werden die gefilterten Reads mit Kaiju verarbeitet und es wird eine Schätzung der taxonomischen Zusammensetzung der Probe ermittelt. Die Verarbeitung mit HUMAN 3 quantifiziert die Expression über funktionelle Gengruppen hinweg, darunter Genfamilien, Stoffwechselwege und Gene Ontology(GO)-Termini.

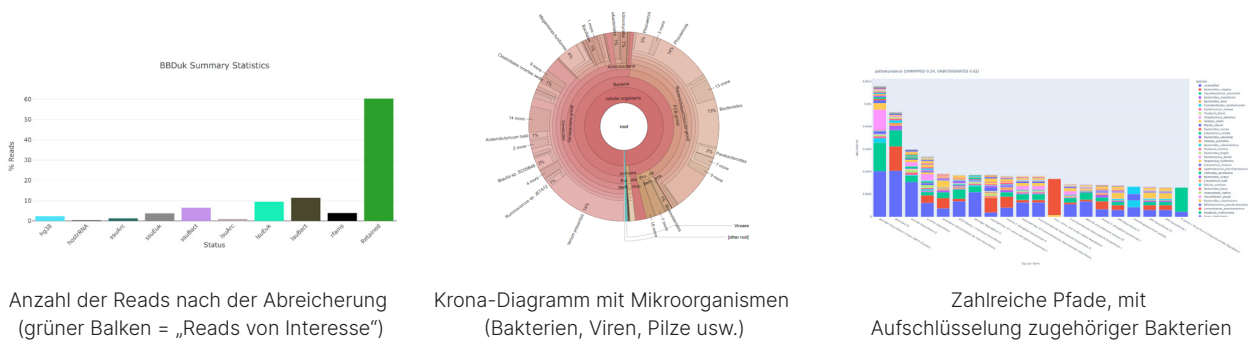


Abbildung 5: Datenvisualisierung mit der BaseSpace Microbiome Metatranscriptomics App: (A) Balkendiagramm der Read-Verteilung nach der rRNA-Abreicherung. Der grüne Balken gibt die Reads von Interesse an; (B) Krona-Diagramm mit der relativen taxonomischen Häufigkeit mikrobieller Spezies im Metagenom; (C) grafische Darstellung aktiver Stoffwechselwege, aufgeschlüsselt nach dem Beitrag der einzelnen Bakterienarten zu jedem dieser Wege.

Zusammenfassung

Das Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit ermöglicht es Forschern, die sich mit dem humanen Mikrobiom beschäftigen, ihre Metatranskriptomikstudien zu optimieren, indem sie Wirts- und Bakterien-rRNA vor der RNA-Seq entfernen. Die im Kit enthaltenen erweiterten Sonden-Sets erfassen gezielt Tausende von Bakterienstämmen sowie humane rRNA und entfernen unerwünschte rRNA in komplexen Proben innerhalb von ca. 40 Minuten effizient. Der Zugriff auf die BaseSpace Microbiome Metatranscriptomics App vereinfacht die Analyse sowie die Visualisierung von Daten und bietet einen optimierten RNA-Analyse-Workflow für die Metatranskriptomik-Forschung.

Weitere Informationen

Illumina Ribo-Zero Plus rRNA Depletion Kit: [illumina.com/products/by-type/accessory-products/ribo-zero-plus-rna-depletion](https://www.illumina.com/products/by-type/accessory-products/ribo-zero-plus-rna-depletion)

Illumina Stranded Total RNA Library Prep with Ligation: [illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/stranded-total-rna-prep](https://www.illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/stranded-total-rna-prep)

Bestellinformationen

Produkt	Katalog-Nr.
Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit (Standalone)	20072062
Total RNA Library Prep with Ligation, Ribo-Zero Plus Microbiome Depletion Kit	20072063

illumina®

+1.800.809.4566 (USA, gebührenfrei) | +1.858.202.4566 (Tel. außerhalb der USA)
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2022 Illumina, Inc. Alle Rechte vorbehalten. Alle Marken sind Eigentum von Illumina, Inc. bzw. der jeweiligen Eigentümer. Spezifische Informationen zu Marken finden Sie unter www.illumina.com/company/legal.html.
M-GL-00916 DEU v1.0