

TruSeq™ ChIP Library Preparation Kit

La calidad probada de los datos de TruSeq ofrece una creación de perfiles completa y precisa de las interacciones proteína-ADN objetivo

- Creación de perfiles completa y precisa de las interacciones proteína-ADN objetivo
- Resultados sólidos a partir de solo 5 ng de aporte de ADN procedente de diversas fuentes de muestras
- Escalabilidad mejorada con un flujo de trabajo sencillo y optimizado
- Distribución optimizada del rendimiento de secuenciación entre las muestras, lo que reduce el coste por muestra

illumina®

Introducción

La determinación de la forma en que las interacciones proteína-ADN regulan la expresión genética resulta esencial para comprender plenamente muchos procesos biológicos y enfermedades. Esta información epigenética es complementaria de la secuenciación del ADN, el genotipado, la expresión genética y otras formas de análisis genómico. La secuenciación por inmunoprecipitación de cromatina (ChIP-Seq, Chromatin Immunoprecipitation Sequencing) emplea la secuenciación de nueva generación (NGS, Next-Generation Sequencing) para determinar de forma rápida y eficaz la distribución y abundancia de las proteínas objetivo de interés unidas al ADN en todo el genoma. ChIP-Seq se ha convertido en una de las aplicaciones basadas en NGS más usadas, lo que permite a los investigadores identificar de forma fiable y con alta resolución los sitios de unión de una amplia gama de objetivos en todo el genoma.

A medida que ha aumentado el rendimiento de los sistemas NGS, los investigadores de ChIP-Seq han ido necesitando cada vez más una combinación de secuenciación altamente multiplexada y flujos de trabajo sencillos y optimizados. TruSeq ChIP Library Preparation Kit satisface esas demandas, ofreciendo una solución sencilla y rentable para obtener visibilidad de la mecánica de la regulación genética. La generación de librerías a partir de ADN derivado de ChIP incluye la adición de adaptadores indexados, lo que permite la distribución óptima del rendimiento de secuenciación en función de las necesidades de cobertura. Un flujo de trabajo de preparación de librerías optimizado y altamente escalable y los reactivos de mezcla maestra reducen el tiempo de participación activa y permiten un formato fácilmente automatizable para el procesamiento en paralelo de hasta 48 muestras. Las muestras con diferentes índices se pueden mezclar y combinar para aumentar al máximo la productividad experimental. Un requisito de entrada de muestras bajo (5 ng) garantiza resultados sólidos incluso cuando la disponibilidad de aporte de ADN es limitada, lo que proporciona flexibilidad en la elección de la fuente de muestra y las proteínas objetivo para el análisis.

Flujo de trabajo sencillo y optimizado

TruSeq ChIP Library Preparation Kit proporciona un flujo de trabajo de preparación de librerías significativamente mejorado en comparación con otros métodos. El flujo de trabajo de TruSeq reduce el número de etapas de purificación, transferencia de muestras, pipeteo y limpieza. Un diseño de adaptador universal incorpora una secuencia de índice en la etapa inicial de ligadura para lograr una eficiencia del flujo de trabajo mejorada y una secuenciación multiplexada más sólida (Figura 1). El flujo de trabajo comienza con el enriquecimiento de complejos específicos de ADN-proteína reticulados usando un anticuerpo contra una proteína de interés (Figura 1A-B). A continuación, se aíslan los tramos de ADN unidos a la proteína objetivo y se usan como aporte de ADN para la preparación de librerías de TruSeq ChIP.

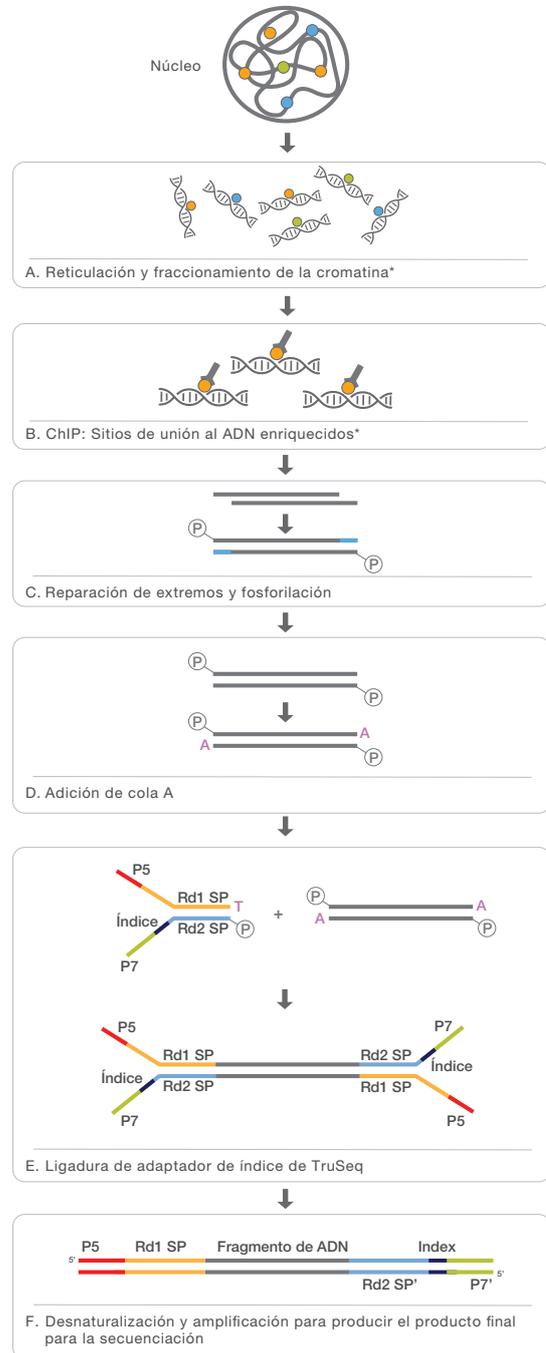


Figura 1: Flujo de trabajo de TruSeq ChIP-Seq. El flujo de trabajo sencillo y optimizado (etapas C-F) reduce el tiempo de participación activa y acelera el análisis; los adaptadores universales de TruSeq mejoran la eficiencia del flujo de trabajo y permiten una secuenciación multiplexada sólida.

Se reparan los extremos de los fragmentos de ADN y se añade una base 'A' a los extremos romos de cada cadena, preparándolos para la ligadura a los adaptadores de secuenciación (Figura 1C-D). Cada adaptador de TruSeq contiene un voladizo de base 'T' en el extremo 3' que proporciona un voladizo complementario para ligar el adaptador al ADN fragmentado de cola A (Figura 1E). Se crea el producto final (Figura 1F) y, tras la selección del tamaño, se secuencian simultáneamente todos los fragmentos de ADN de ChIP.

Para lograr la máxima flexibilidad, TruSeq ChIP Library Preparation Kit se puede usar para preparar muestras para la secuenciación de lectura única o «paired-end» y son compatibles con cualquier sistema de secuenciación de Illumina.

Calidad de los datos de TruSeq

La calidad probada de los datos de TruSeq ofrece una creación de perfiles completa y precisa de las interacciones proteína-ADN objetivo, lo que permite un porcentaje óptimo de lecturas que pasan el filtro, porcentaje de lecturas alineables y uniformidad de cobertura, así como una alta sensibilidad para detectar coincidencias de baja abundancia.

Rendimiento multiplexado sólido

TruSeq ChIP Library Preparation Kit proporciona hasta 24 índices totales para aumentar la productividad y la consistencia sin que los resultados se vean alterados. Los adaptadores universales de TruSeq se ligan a los fragmentos de la muestra durante la construcción de la librería, lo que permite agrupar las muestras e identificarlas individualmente durante análisis sucesivos. Esta capacidad de indexación mejora la eficiencia del flujo de trabajo y permite una secuenciación multiplexada sólida. Al mejorar la flexibilidad del diseño del estudio, la indexación ayuda a los investigadores a aumentar al máximo el valor de cada experimento mediante la distribución eficiente del rendimiento de lectura basado en los requisitos óptimos de profundidad de lectura por muestra.

Variedad flexible de objetivos

TruSeq ChIP Library Preparation Kit permite generar librerías usando tan solo 5 ng de aporte de ADN y proporciona una solución de alta calidad, rentable y de alta productividad para una amplia variedad de diseños de estudios de ChIP. ChIP-Seq es una aplicación versátil que se ha aplicado con éxito a una amplia variedad de proteínas objetivo, incluidos los factores de transcripción y las histonas, los componentes básicos de la cromatina. Los estudios de ChIP selectivos para los factores de transcripción son útiles para dilucidar los moduladores específicos y las vías de transducción de señales que contribuyen a enfermedades, etapas de desarrollo o a través

de otras afecciones, mientras que las «marcas» de histonas se pueden usar para comprender mejor la forma en que las modificaciones de la cromatina y los cambios estructurales locales repercuten en la actividad de la expresión genética local.¹⁻⁸

Detección de picos en el genoma

A fin de demostrar el rendimiento de TruSeq ChIP Library Preparation Kit, se generó una librería para el factor de transcripción MafK usando 5 ng de aporte de ADN (Figura 2) procedente de una ChIP realizada en células de HELA.

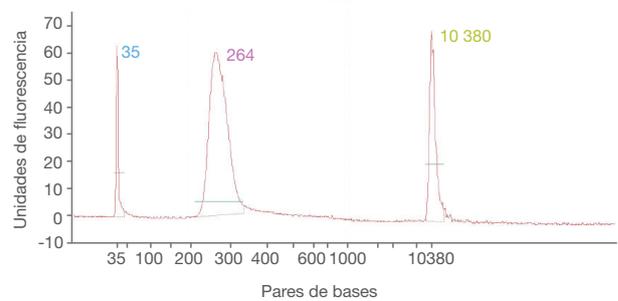


Figura 2: Traza del bioanalizador de la librería de MafK. Datos de trazado del bioanalizador para una librería generada para el objetivo del factor de transcripción MafK usando TruSeq ChIP Library Preparation Kit con 5 ng de aporte de ADN. El pico central indica un rendimiento sólido dentro del intervalo de tamaño de fragmento deseado.

Los datos de secuenciación se generaron usando un único experimento en MiSeq™ System. A continuación, se introdujeron los archivos de rendimiento BAM con filtro de calidad en el software de búsqueda de picos MACS y los picos identificados se analizaron en busca de enriquecimiento mediante el software de búsqueda de motivos MEME. Los resultados muestran una detección sensible y fiable de las interacciones ADN-proteína, con un pico representativo identificado correspondiente a un sitio de unión de MafK incluido en la base de datos del proyecto ENCODE (Figura 3).

El enriquecimiento para el motivo de unión de MafK conocido se detectó como se esperaba (Tabla 1), de nuevo en concordancia con los datos generados usando los datos de picos de MafK disponibles a través de ENCODE.⁹ La capacidad de detectar de forma sólida picos en todo el genoma con cantidades de entrada iniciales bajas es fundamental para garantizar el éxito de los estudios de CHIP. TruSeq ChIP Library Preparation Kit proporciona la flexibilidad necesaria para actuar de forma selectiva sobre cualquier proteína objetivo de interés, ofreciendo una solución optimizada y rentable para estudios que requieren una amplia variedad de lecturas por muestra, incluidos los factores de transcripción (Figura 3) y las marcas de histona, como H3K4Me3 (Figura 4).

Tabla 1: Análisis de búsqueda de motivos de picos mediante TruSeq ChIP

Nombre	% de picos superiores con motivo MafK
TruSeq ChIP	95 %
ENCODE HELA	92 %
ENCODE HES	86 %

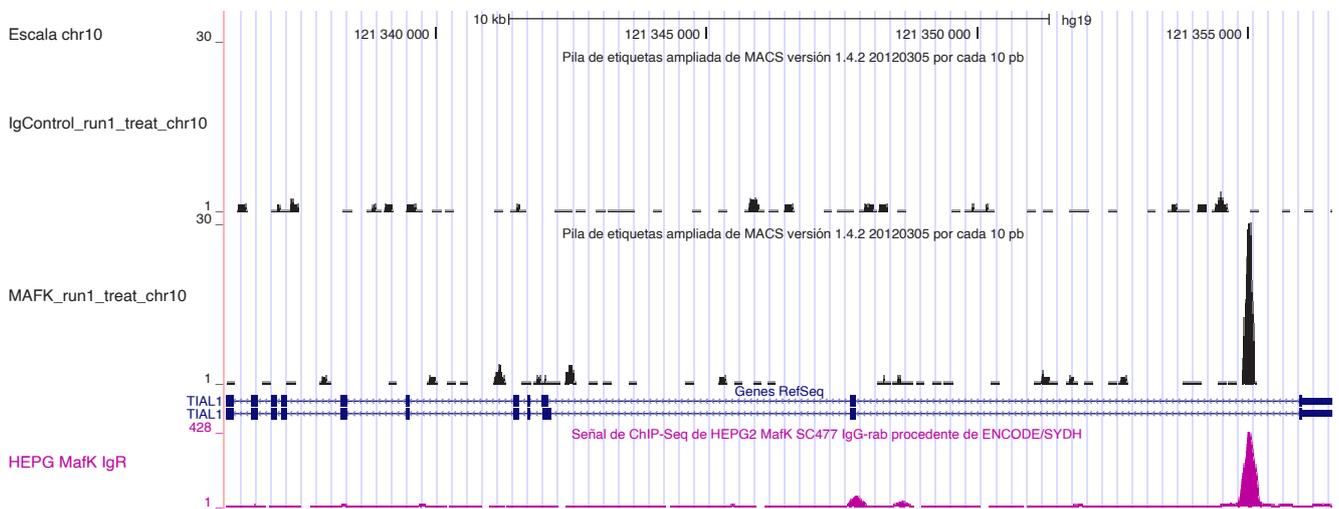


Figura 3: Rendimiento de la búsqueda de picos para MafK. TruSeq ChIP Library Preparation Kit permite la generación de librerías en una amplia variedad de diseños de estudios. Más arriba se muestran los datos de los picos de un control Ig negativo, el objetivo del factor de transcripción MafK y un pico de referencia para MafK de la base de datos ENCODE.

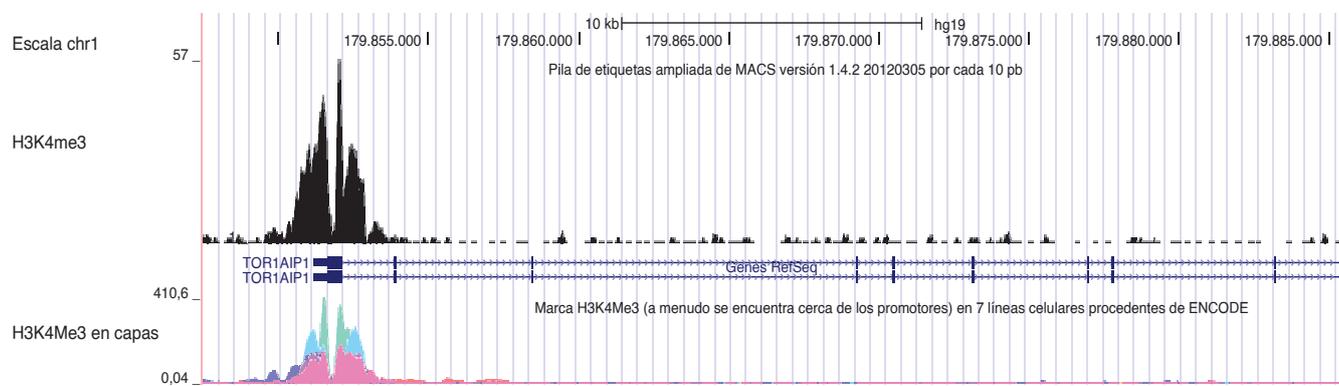


Figura 4: Rendimiento de la búsqueda de picos para MafK. Los resultados de pico para el objetivo H3K4me3 se comparan favorablemente con los datos de anotación de ENCODE para este objetivo bien caracterizado, con un pico representativo para el objetivo de marca de histona H3K4me3 y un pico de referencia de ENCODE correspondiente.

Soluciones de secuenciación de Illumina

TruSeq ChIP Library Preparation Kit es compatible con todos los sistemas NGS basados en secuenciación por síntesis (SBS, Sequencing By Synthesis) de Illumina. La compatibilidad de los datos está garantizada sea cual sea el sistema que se elija.

Resumen

TruSeq ChIP Library Preparation Kit ofrece la precisión probada de TruSeq y un flujo de trabajo sencillo y optimizado que permite una secuenciación ChIP altamente multiplexada y rentable. Los kits, que permiten el análisis de una amplia variedad de objetivos en todo el genoma, incluso a partir de una entrada de muestras baja, proporcionan un perfil completo y preciso de las interacciones de unión ADN-proteína y una mayor visibilidad de la mecánica de la regulación genética.

Datos para realizar pedidos

Producto	N.º de catálogo
TruSeq ChIP Library Preparation Kit, Set A (12 indexes, 48 samples)	IP-202-1012
TruSeq ChIP Library Preparation Kit, Set B (12 indexes, 48 samples)	IP-202-1024

Bibliografía

1. Johnson DS, Mortazavi A, Myers RM, Wold B. [Genome-wide mapping of in vivo protein-DNA interactions](#). *Science*. 2007; 316 (5830): 1497-1502. doi:10.1126/science.1141319.
2. Barski A, Cuddapah S, Cui K, et al. [High-resolution profiling of histone methylations in the human genome](#). *Cell*. 2007; 129 (4): 823-837. doi:10.1016/j.cell.2007.05.009.
3. Marban C, Su T, Ferrari R, et al. [Genome-wide binding map of the HIV-1 Tat protein to the human genome](#). *PLoS One*. 2011; 6 (11): e26894. doi:10.1371/journal.pone.0026894.
4. Fujiki R, Hashiba W, Sekine H, et al. [GlcNAcylation of histone H2B facilitates its monoubiquitination](#). *Nature*. 2011; 480 (7378): 557-560. Fecha de publicación: 27 de noviembre de 2011. doi:10.1038/nature10656.
5. Botti E, Spallone G, Moretti F, et al. [Developmental factor IRF6 exhibits tumor suppressor activity in squamous cell carcinomas](#). *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011; 108(33): 13710-13715. doi:10.1073/pnas.1110931108.
6. Bernt KM, Zhu N, Sinha AU, et al. [MLL-rearranged leukemia is dependent on aberrant H3K79 methylation by DOT1L](#). *Cancer Cell*. 2011; 20 (1): 66-78. doi:10.1016/j.ccr.2011.06.010.
7. de Almeida SF, Grosso AR, Koch F, et al. [Splicing enhances recruitment of methyltransferase HYPB/Setd2 and methylation of histone H3 Lys36](#). *Nat Struct Mol Biol*. 2011; 18 (9): 977-983. Fecha de publicación: 26 de julio de 2011. doi:10.1038/nsmb.2123.
8. Wu H, D'Alessio AC, Ito S, et al. [Dual functions of Tet1 in transcriptional regulation in mouse embryonic stem cells](#). *Nature*. 2011; 473 (7347): 389-393. doi:10.1038/nature09934.
9. ENCODE Project Consortium. [A user's guide to the encyclopedia of DNA elements \(ENCODE\)](#). *PLoS Biol*. 2011; 9 (4): e1001046. doi:10.1371/journal.pbio.1001046.

illumina®

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

© 2022 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.
M-GL-01512 ESP v1.0