

Solução de sequenciamento de RNA NextSeq™ 1000 e NextSeq 2000

Fluxo de trabalho econômico
e integrado para expressão gênica
e análise de transcriptoma

- Portfólio inovador de preparação de bibliotecas para análises extensas de transcriptoma com flexibilidade de amostra e entrada.
- Rendimento de sequenciamento escalável para oferecer suporte a uma ampla gama de aplicações de RNA-Seq.
- DRAGEN secondary analysis integrado para eficiência ideal do fluxo de trabalho.

illumina®

Introdução

A solução de sequenciamento de RNA (RNA-Seq) NextSeq 1000 e NextSeq 2000 oferece uma visão clara e completa do transcriptoma, tornando-o mais acessível do que nunca. A solução aproveita a tecnologia líder do setor de sequenciamento de última geração (NGS, next-generation sequencing) da Illumina e a química XLEAP-SBS™ de sequenciamento por síntese (SBS, sequencing by synthesis) otimizado, um amplo portfólio de soluções de preparação de bibliotecas e ferramentas de análise de dados para fornecer fluxos de trabalho simplificados e eficientes (Figura 1). A flexibilidade e escalabilidade dos sistemas de sequenciamento NextSeq 1000 e NextSeq 2000 (Figura 2) permitem que os usuários processem uma variedade de volumes de amostras com eficiência, garantindo o equilíbrio ideal entre orçamento de leitura e produtividade de amostras. A solução NextSeq 1000 e NextSeq 2000 RNA-Seq oferece suporte a uma variedade de aplicações de RNA, desde a determinação do perfil de expressão gênica básica até análises complexas de transcriptoma completo.



Figura 2: NextSeq 1000 Sequencing System e NextSeq 2000 Sequencing System — Os sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000 Systems utilizam a química XLEAP-SBS e a análise secundária integrada para simplificar os fluxos de trabalho de sequenciamento.

Vantagens do RNA-Seq

O RNA-Seq surgiu rapidamente como a abordagem primordial à determinação do perfil de transcriptoma de alto rendimento.^{1,2} O RNA-Seq fornece um instantâneo detalhado do transcriptoma em um determinado momento e oferece inúmeras vantagens em relação à PCR quantitativa, incluindo:

- Desenho experimental livre de hipóteses, não exigindo conhecimento prévio do transcriptoma.
- Poder de descoberta para detectar transcrições conhecidas e novas.
- Capacidade de alto rendimento para quantificar centenas a milhares de regiões em cada ensaio.
- Ampla faixa dinâmica, fornecendo medição mais precisa da expressão gênica.
- Mais dados por ensaio, fornecendo informações completas sobre a sequência e a variante.



Figura 1: Fluxo de trabalho de RNA-Seq NextSeq 1000 e NextSeq 2000 — Os sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000 fazem parte de um fluxo de trabalho NGS simples e integrado que fornece dados de sequenciamento de RNA altamente precisos. Os tempos variam por tipo de experimento e ensaio.

Fluxo de trabalho de NGS integrado

Os sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000 são compatíveis com um extenso portfólio de soluções de preparação de bibliotecas, atendendo a uma ampla variedade de necessidades de estudos de transcriptoma. Os pesquisadores podem escolher entre vários kits de preparação de bibliotecas, permitindo que encontrem o que melhor atenda às suas necessidades experimentais e ajude a superar desafios comuns, como RNA inicial de baixa qualidade ou disponibilidade limitada de amostras.

Preparação avançada de biblioteca de RNA Illumina

Com experiência estabelecida em RNA-Seq, a Illumina oferece soluções confiáveis e comprovadas para a preparação de bibliotecas de RNA. Os avanços no portfólio de kits de preparação de biblioteca de RNA da Illumina fornecem os dados de alta qualidade que os pesquisadores precisam com um fluxo de trabalho simplificado que pode ser concluído em um turno de trabalho padrão. A Illumina oferece três kits de preparação de biblioteca de RNA ([Tabela 1](#)):

- O **Illumina Stranded Total RNA Prep** permite a análise completa do transcriptoma usando Ribo-Zero™ Plus, capturando a codificação e várias formas de RNA não codificante para obter uma imagem abrangente da biologia. O Illumina Stranded Total RNA Prep também oferece desempenho completo ao trabalhar com amostras de baixa qualidade fixadas em formalina e embebidas em parafina (FFPE, formalin-fixed paraffin-embedded).
- O **Illumina Stranded mRNA Prep** oferece uma opção econômica para a codificação de análises focadas em RNA. O Illumina Stranded mRNA Prep funciona com qualquer RNA eucariótico de amostras de alta qualidade.*
- O **Illumina RNA Prep with Enrichment** traz a tecnologia de transposoma ligado a beads (BLT, bead-linked transposome) ao RNA-Seq e fornece um fluxo de trabalho rápido de enriquecimento de RNA em um único dia com tempo mínimo de trabalho efetivo (< 2 horas). Quando sequenciados nos sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000, os dados de RNA não filamentosos resultantes fornecem percepções valiosas em um grande número de posições do genoma.

* Número de integridade do RNA (RIN, RNA integrity number) > 8. Para amostras de qualidade inferior ou FFPE, use o Illumina RNA Prep with Enrichment ou o Illumina Stranded Total RNA Prep.

Tabela 1: Kits de preparação de biblioteca de RNA Illumina

	Illumina Stranded Total RNA Prep	Illumina Stranded mRNA Prep	Illumina RNA Prep with Enrichment
Método	Ligação com Ribo-Zero Plus ^a	Ligação	(L) Tagmentação
Deteção	Transcritoma codificante e não codificante	Transcritoma codificante com cauda Poli-A	Regiões de codificação direcionadas ^b
Compatibilidade com FFPE	Sim	Não	Sim
Entrada	1–1.000 ng ^c	25–1.000 ng	10 ng não FFPE 20 ng FFPE
Tempo total do ensaio ^d	7h	< 7h	< 9h
Tempo de trabalho efetivo ^d	< 3h	< 3h	< 2h
Compatível com automação	Sim	Sim	Sim

a. O Ribo-Zero Plus incluído remove o RNA abundante de várias espécies, incluindo amostras de humanos, camundongos, ratos, bactérias e epidemiologia.

b. Apenas para amostras humanas. Testado com o Illumina Exome Panel e o Respiratory Oligos Panel v2. O Illumina RNA Prep with Enrichment não fornece informações de fita.

c. Entrada mínima para RNA de alta qualidade mostrada. Mínimo de 10 ng recomendado para qualidade e FFPE ideais para Illumina Stranded Total RNA Prep.

d. Tempo total e de trabalho efetivo baseados no processamento manual de até 24 amostras para fluxos de trabalho do Illumina Stranded Total RNA e mRNA e 1 amostra no fluxo de trabalho de enriquecimento.

Para usuários do BaseSpace™ Clarity LIMS, protocolos predefinidos para Illumina Stranded mRNA Prep, Illumina Stranded Total RNA Prep e Illumina RNA Prep with Enrichment estão disponíveis para uso com os sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000.

Sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000

Os sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000 oferecem flexibilidade e escalabilidade para atender a uma gama completa de necessidades de análise de transcriptoma. Quatro tipos de lâminas de fluxo disponíveis permitem que os pesquisadores selecionem o equilíbrio ideal entre número de amostras e leituras por amostra (Tabela 2). Por exemplo, a determinação do perfil de expressão gênica (a medição da abundância no nível do gene entre características conhecidas) pode ser realizada de forma eficiente em capacidade de alto rendimento com até 170 amostras† em uma corrida única. A análise de transcriptoma completo permite a descoberta de novas características interrogando o RNA codificante e não codificante em até 34 amostras por corrida; os pesquisadores também podem analisar o RNA codificante em até 68 amostras por corrida (Tabela 2, Tabela 3). A Illumina recomenda consultar a literatura primária para seu campo e organismo para obter as orientações mais atualizadas sobre o desenho do experimento e a profundidade do sequenciamento.

† A determinação do perfil de expressão pressupõe 10 milhões de leituras por amostra.

Os sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000 oferecem flexibilidade entre aplicações, permitindo que os pesquisadores passem facilmente de um projeto de sequenciamento para outro. Os sistemas são compatíveis com uma variedade de kits de preparação de bibliotecas da Illumina e de terceiros, permitindo uma transição fácil entre RNA-Seq em massa, RNA-Seq de célula única, sequenciamento de transcriptoma completo, sequenciamento de exoma e outras aplicações. Por exemplo, os pesquisadores podem emparelhar o RNA-Seq com o sequenciamento do exoma no sistema NextSeq 1000 ou NextSeq 2000 para avaliar se as variantes de codificação afetam a expressão da transcrição ou realizar um ATAC-Seq‡ para analisar a acessibilidade da cromatina e caracterizar melhor a regulação funcional.

Descubra mais com a química XLEAP-SBS

Com os sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000, os pesquisadores podem enriquecer seus estudos com maior profundidade de leitura, resultando em estimativas de fold-change mais precisas e alta sensibilidade na detecção de genes, transcrições e expressão diferencial. Os sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000 são alimentados pela química XLEAP-SBS, a química de SBS mais rápida, de mais alta qualidade e mais robusta da Illumina até hoje.

‡ ATAC-Seq, ensaio para cromatina acessível por transposase com sequenciamento.

Tabela 2: Soluções Illumina RNA-Seq e rendimento da amostra por lâmina de fluxo

Método	Medida	Pares de leitura típicos por amostra ^a	Preparação da biblioteca	Número de amostras por lâmina de fluxo por corrida						
				NextSeq 1000 e NextSeq 2000				NovaSeq X Series ^d		
				P1	P2	P3 ^c	P4 ^c	1,5B	10B	25B
Quantificação da expressão gênica	Abundância no nível do gene em todos os recursos conhecidos	10 milhões	Illumina Stranded mRNA Prep ^b	10	40	120	170	150	~1 mil ^e	~2,5 mil ^e
mRNA-Seq	Abundância e descoberta de RNA codificador	25 milhões	Illumina RNA Prep with Enrichment	4	16	48	68	~60	~400 ^e	~1 mil ^e
RNA-Seq total	Abundância e descoberta de RNA codificador e não codificador	50 milhões	Illumina Stranded Total RNA Prep com Ribo-Zero Plus	2	8	24	34	~30	~200	~520 ^e

a. As durações de leitura recomendadas são 2 × 75 bp para Illumina Stranded Total RNA Prep e Illumina Stranded mRNA Prep e 2 × 100 bp para Illumina RNA Prep with Enrichment.
 b. O Illumina Stranded mRNA Prep não é compatível com amostras FFPE. Para amostras de baixa qualidade ou FFPE, recomenda-se o Illumina RNA Prep with Enrichment ou o Illumina Stranded Total RNA Prep.
 c. Os reagentes P3 e P4 estão disponíveis apenas para o NextSeq 2000 System.
 d. O NovaSeq X Plus System é capaz de executar corridas de lâmina de fluxo simples ou de lâmina de fluxo duplo. O NovaSeq X System é capaz de executar corridas de lâmina de fluxo simples.
 e. Estão disponíveis no máximo 384 índices duplos exclusivos. Para o NovaSeq X Series, o carregamento independente de cavidades permite a multiplexação de mais amostras.

Tabela 3: Parâmetros de desempenho do NextSeq 1000 e do NextSeq 2000 para RNA-Seq

Lâmina de fluxo	Leitura tipo single-end ^a	Duração da leitura	Produtividade ^a	Tempo de corrida ^b	Qualidade dos dados ^c	Entrada obrigatória
Reagentes NextSeq 1000/2000 P1 XLEAP-SBS ^d	100 milhões	2 × 150 bp	30 Gb	17 h		
Reagentes NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS ^d	400 milhões	2 × 100 bp	80 Gb	19 h	bases ≥ 85% acima de Q30	10 ng–1 µg com Illumina RNA Prep
Reagentes NextSeq 2000 P3 XLEAP-SBS ^{d,e}	1,2 bilhão	2 × 100 bp	240 Gb	31 h		
Reagentes NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS ^e	1,7 bilhão	2 × 100 bp	330 Gb	34 h		

a. Especificações de produtividade com base em uma lâmina de fluxo única utilizando a biblioteca de controle Illumina PhiX com densidades de clusters compatíveis.

b. O tempo de corrida inclui a clusterização, o sequenciamento e a identificação de bases nos sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000.

c. As pontuações de qualidade são baseadas em uma biblioteca de controle Illumina PhiX. O desempenho pode variar conforme o tipo e a qualidade da biblioteca, o tamanho do inserto, a concentração do carregamento e outros fatores experimentais. É estabelecida uma média da porcentagem das bases > Q30 em toda a corrida.

d. Reagentes XLEAP-SBS para lâminas de fluxo P1, P2 e P3 disponíveis no segundo trimestre de 2024.

e. Os reagentes P3 e P4 estão disponíveis apenas para o NextSeq 2000 System.

Os reagentes XLEAP-SBS permitem a maior produtividade de leitura e o menor preço por milhão de leituras de qualquer sistema de sequenciamento de bancada Illumina. A redução no custo por milhão de leituras, somada à capacidade de sequenciamento adicional, fornece:

- Mais leituras por amostra para capturar informações sobre transcrições de baixa abundância.
- Mais amostras para possibilitar um desenho experimental mais completo dentro de um determinado orçamento de pesquisa.
- Métodos mais abrangentes para capturar facetas mais complexas do cenário de RNA e gerar mais descobertas.

As múltiplas configurações de lâminas de fluxo dos sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000 (Tabela 3) permitem que os pesquisadores otimizem os desenhos de estudo com base no número de amostras e nos requisitos de produtividade. Por exemplo, a capacidade de sequenciamento adicional permitida pela lâmina de fluxo P4 do NextSeq 2000 torna mais fácil e econômico fazer desenhos de estudo com energia adequada e tornar o RNA-Seq uma parte rotineira do repertório de ferramentas moleculares de qualquer laboratório. Se for necessário um maior rendimento de amostras, os estudos podem ser dimensionados para centenas de amostras por corrida usando a NovaSeq™ X Series (Tabela 2).

Valor do sequenciamento tipo paired-end

Com os sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000, os pesquisadores podem realizar sequenciamentos de leitura simples (single-read) ou tipo paired-end. O sequenciamento

de leitura simples é uma opção econômica para a determinação do perfil de expressão gênica. No entanto, o RNA-Seq tipo paired-end é necessário para informações em fita e oferece vantagens importantes. As informações de profundidade de leitura geradas de ambas as extremidades de um inserto permitem que os isômeros de transcrição sejam diferenciados de forma eficaz, fornecendo detecção e quantificação mais precisas da abundância no nível de transcrição. As informações tipo paired-end aumentam substancialmente a sensibilidade para detecção de fusões de genes e variantes de inserção/exclusão (indel).

Soluções de análise simplificadas da Illumina

Análise secundária DRAGEN™

A análise de dados RNA-Seq pode ser realizada usando ferramentas do Illumina DRAGEN secondary analysis, um conjunto de pipelines de análise de dados precisos, abrangentes e eficientes.[§] O pipeline Illumina DRAGEN RNA realiza o alinhamento preciso do RNA a um genoma de referência, identificação e quantificação de variantes de genes e caracterização de junções de splice e fusões de genes candidatos (Figura 3). O pipeline DRAGEN RNA pode ser configurado como parte da configuração de corrida para iniciar na nuvem com o Illumina Connected Analytics ou o BaseSpace Sequence Hub, ou como um fluxo de trabalho do instrumento usando o hardware DRAGEN integrado do NextSeq 1000 e NextSeq 2000.

§ O hardware DRAGEN está incluído nos sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000. Uma licença DRAGEN está incluída no instrumento e não precisa ser comprada separadamente.

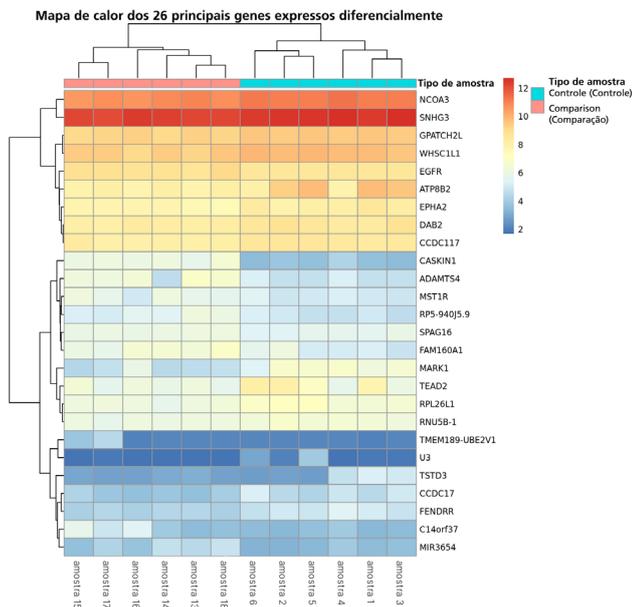


Figura 3: Pipeline DRAGEN RNA — Exemplo de captura de tela de mapa de calor de expressão diferencial com pipeline DRAGEN RNA, disponível nos sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000 ou na nuvem com BaseSpace Sequence Hub ou Illumina Connected Analytics.

O pipeline DRAGEN RNA fornece dados de alta qualidade em uma interface de usuário intuitiva. Os prompts simples de seguir orientam os usuários durante todo o processo, desde a seleção dos arquivos gerados pelo sequenciador até a visualização dos dados analisados e dos resultados. A produtividade do pipeline DRAGEN RNA pode ser inserida diretamente em uma ampla gama de ferramentas de análise posterior disponíveis. Além da plataforma DRAGEN, o Illumina Connected Analytics e o BaseSpace Sequence Hub fornecem ferramentas para visualização, análise e compartilhamento.

Suporte técnico abrangente da Illumina

A Illumina fornece uma equipe de suporte de qualidade internacional composta por cientistas experientes especializados em preparação de bibliotecas, sequenciamento e análise. Essa equipe dedicada inclui engenheiros de serviço de campo (FSE, field service engineers) altamente qualificados, cientistas de aplicação técnica (TAS, technical applications scientists), cientistas de aplicação de campo (FAS, field applications scientists), engenheiros de suporte de sistemas, bioinformáticos e especialistas em rede de TI, todos profundamente familiarizados com o NGS e as aplicações que os clientes da Illumina realizam em todo o mundo. [Suporte técnico](#) está disponível por telefone cinco dias por semana ou on-line 24 horas por dia, 7 dias por semana, em todo o mundo e em vários idiomas.

Com esse serviço e suporte incomparáveis, a Illumina ajuda os usuários a maximizar a eficácia de seus sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000, treinar novos funcionários e aprender as técnicas e práticas recomendadas mais recentes.

Resumo

As soluções de RNA-Seq NextSeq 1000 e NextSeq 2000 oferecem um fluxo de trabalho simplificado de RNA-para-resultados que combina a potência, velocidade e flexibilidade dos sistemas de sequenciamento NextSeq 1000 e NextSeq 2000 com um portfólio avançado de preparação de biblioteca de RNA e aplicativos de software de RNA-Seq fáceis de usar. Quatro tipos de lâminas de fluxo garantem economia em todos os tipos de projeto de RNA-Seq, desde a determinação do perfil de expressão gênica até a descoberta de transcriptoma completo.

Saiba mais

[Sequenciamento de RNA](#)

[Preparação de biblioteca de RNA Illumina](#)

[Sistemas de Sequenciamento NextSeq 1000 e NextSeq 2000](#)

[DRAGEN secondary analysis](#)

[Dados de demonstração no BaseSpace Sequence Hub](#)

Referências

- Geraci F, Saha I, Bianchini M. [Editorial: RNA-Seq Analysis: Methods, Applications and Challenges](#). *Front Genet.* 2020;11:220. doi:10.3389/fgene.2020.00220
- Corchete LA, Rojas EA, Alonso-López D, De Las Rivas J, Gutiérrez NC, Burguillo FJ. [Systematic comparison and assessment of RNA-seq procedures for gene expression quantitative analysis](#). *Sci Rep.* 2020;10(1):19737. doi:10.1038/s41598-020-76881-x

Informações para pedido

Produto	N.º do catálogo
NextSeq 2000 Sequencing System	20038897
NextSeq 1000 Sequencing System	20038898
NextSeq 1000 to NextSeq 2000 upgrade	20047256
NextSeq 1000/2000 P1 XLEAP-SBS Reagent Kit (100 cycles) ^{a,b}	20100983
NextSeq 1000/2000 P1 XLEAP-SBS Reagent Kit (300 cycles) ^{a,b}	20100982
NextSeq 1000/2000 P1 XLEAP-SBS Reagent Kit (600 cycles) ^{a,b}	20100981
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (100 cycles) ^{a,b}	20100987
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (200 cycles) ^{a,b}	20100986
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (300 cycles) ^{a,b}	20100985
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (600 cycles) ^{a,b}	20100984
NextSeq 2000 P3 XLEAP-SBS Reagent Kit (100 cycles) ^{a,b}	20100990
NextSeq 2000 P3 XLEAP-SBS Reagent Kit (200 cycles) ^{a,b}	20100989
NextSeq 2000 P3 XLEAP-SBS Reagent Kit (300 cycles) ^{a,b}	20100988
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagent Kit (50 cycles) ^a	20100995
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagent Kit (100 cycles) ^a	20100994
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagent Kit (200 cycles) ^a	20100993
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagent Kit (300 cycles) ^a	20100992
NextSeq 1000/2000 XLEAP-SBS Read and Index Primers ^a	20112856
NextSeq 1000/2000 XLEAP-SBS Index Primer Kit ^a	20112858

Informações para pedido

Produto	N.º do catálogo
NextSeq 1000/2000 XLEAP-SBS Read Primer Kit ^a	20112859
Illumina Stranded Total RNA Prep, Ligation with Ribo-Zero Plus (16 samples)	20040525
Illumina Stranded Total RNA Prep, Ligation with Ribo-Zero Plus (96 samples)	20040529
Illumina Stranded mRNA Prep, Ligation (16 samples)	20040532
Illumina Stranded mRNA Prep, Ligation (96 samples)	20040534
Illumina RNA Prep with Enrichment, (L) Tagmentation (16 samples)	20040536
Illumina RNA Prep with Enrichment, (L) Tagmentation (96 samples)	20040537
Painel Illumina Exome	20020183
Illumina RNA UD Indexes Set A, Ligation (96 indexes, 96 samples) ^c	20091655
Illumina RNA UD Indexes Set B, Ligation (96 indexes, 96 samples) ^c	20091657
Illumina RNA UD Indexes Set C, Ligation (96 indexes, 96 samples) ^c	20091659
Illumina RNA UD Indexes Set D, Ligation (96 indexes, 96 samples) ^c	20091661
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set A, Tagmentation (96 indexes, 96 samples) ^c	20091654
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set B, Tagmentation (96 indexes, 96 samples) ^c	20091656
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set C, Tagmentation (96 indexes, 96 samples) ^c	20091658
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set D, Tagmentation (96 indexes, 96 samples) ^c	20091660

- a. Os kits de reagentes XLEAP-SBS para os instrumentos NextSeq 1000 e NextSeq 2000 são enviados e armazenados na mesma temperatura que os kits de reagentes SBS padrão.
- b. Reagentes XLEAP-SBS para lâminas de fluxo P1, P2 e P3 disponíveis no segundo trimestre de 2024.
- c. Os índices de ligação são compatíveis com kits de preparação de mRNA e total. Os índices de tagmentação são compatíveis com kits de preparação de enriquecimento de DNA e RNA.



1.800.809.4566, ligação gratuita (EUA) | +1.858.202.4566 tel.
 techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2024 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-00480 PTB v3.0