

NextSeq™ 1000/1000-CN 和 NextSeq™ 2000/2000-CN RNA-Seq 解决方案

用于基因表达和转录组分析的
经济高效的集成工作流程

- 文库制备产品组合支持转录组范围内的分析，可灵活应对不同物种、样本类型和起始量的挑战
- 可扩展的测序通量，支持广泛的 RNA-Seq 应用
- 集成 DRAGEN 二级分析，优化工作流程效率

illumina®

简介

NextSeq 1000/1000-CN 和 NextSeq 2000/2000-CN RNA 测序 (RNA-Seq) 解决方案 (以下统称 “NextSeq 1000/2000 RNA-Seq 测序方案”) 带来了清晰、完整的转录组视图, 使之比以往更加易行。该解决方案搭载业界前沿的因美纳新一代测序技术 (NGS), 优化的边合成边测序 (SBS) 化学技术——XLEAP-SBS™ 化学技术, 从文库制备到数据分析, 可一体化完成 (图 1)。NextSeq 1000/1000-CN 和 NextSeq 2000/2000-CN 基因测序仪 (以下统称 “NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪”) (图 2) 的灵活性和可扩展性使用户能够高效应对各种样本通量, 确保在测序预算和样本通量之间取得理想平衡。NextSeq 1000/2000 RNA-Seq 解决方案支持一系列 RNA 应用, 涵盖从基本的基因表达谱分析到复杂的全转录组分析。

RNA-Seq 的优势

RNA-Seq 正逐渐成为行业先锋尤为青睐的方法^{1,2}, 可以呈现转录组在特定时间点的详细快照。与定量 PCR 相比具有很多优势, 包括:

- 无假设的实验设计, 无需转录组的先验知识
- 更强的探索能力, 可检测已知和新型转录本
- 更高的通量能力, 每次检测可定量数百个至数千个区域
- 更广泛的动态范围, 基因表达的检测更加准确
- 每次检测更多数据, 提供全部序列和变异信息



图 2: NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪——NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪搭载 XLEAP-SBS 化学技术和机载二级数据分析模块, 实现测序工作流程一体化。

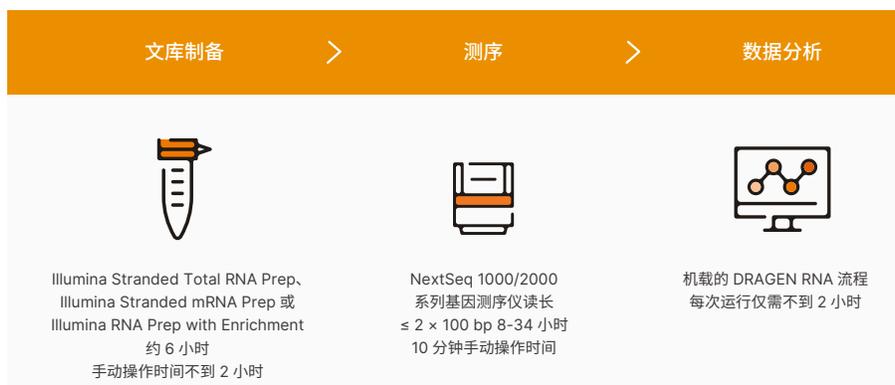


图 1: NextSeq 1000/2000 RNA-Seq 工作流程——NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪——一种简单的集成式 NGS 测序方案, 可提供高度准确的 RNA-Seq 测序数据。工作时间因实验和检测类型而异。

集成式 NGS 工作流程

NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪支持广泛的文库制备解决方案，可满足各种转录组研究的需求。研究人员可以在多种文库制备试剂盒中选择一种最适合其实验需求的试剂盒，帮助他们克服常见挑战，例如起始 RNA 质量不佳或样本量有限。

先进的因美纳 RNA 文库制备

凭借在 RNA-Seq 领域积累的丰富经验，因美纳可为 RNA 文库制备提供值得信赖的成熟解决方案。因美纳 RNA 文库制备试剂盒产品系列持续改进，可为研究人员提供所需的高质量数据，其一体化的工作流程可帮助研究人员在一个标准工作班次内完成全部实验。因美纳提供了三种 RNA 文库制备试剂盒（表 1）：

- Illumina Stranded Total RNA Prep 支持采用 Ribo-Zero™ Plus 实现全转录组分析，可捕获编码和多种形式的非编码 RNA，获得一幅全面的生物学视图。Illumina Stranded Total RNA Prep 在处理低质量的福尔马林固定石蜡包埋 (FFPE) 样本时也能展现可靠的性能。
- Illumina Stranded mRNA Prep 为以编码 RNA 为研究重点的分析提供了经济高效的选择。Stranded mRNA Prep 可处理来自高质量样本的任何真核生物 RNA。*
- Illumina RNA Prep with Enrichment 将与磁珠结合的转座酶 (BLT) 技术引入 RNA-Seq，一天即可快速完成 RNA 富集工作流程，并且只需极少的手动操作时间 (< 2 小时)。在 Illumina 测序平台 (如 NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪) 上测序时，得到的非链式 RNA 数据可提供大量关于基因组位置的宝贵信息。

* RNA 完整性指数 (RIN) >8。对于质量较低的样本或 FFPE 样本，可使用 Illumina RNA Prep with Enrichment 或 Illumina Stranded Total RNA Prep。

表 1: 因美纳 RNA 文库制备试剂盒

	Illumina Stranded Total RNA Prep	Illumina Stranded mRNA Prep	Illumina RNA Prep with Enrichment
方法	Ligation with Ribo-Zero Plus ^a	Ligation	(L) Tagmentation
检测	编码和非编码转录组	带 polyA 尾的编码转录组	目标编码区 ^b
FFPE 兼容性	是	否	是
起始量	1-1000 ng ^c	25-1000 ng	10 ng 非 FFPE 20 ng FFPE
总实验时间 ^d	7 小时	< 7 小时	< 9 小时
手动操作时间 ^d	< 3 小时	< 3 小时	< 2 小时
支持自动化	是	是	是

- 配备的 Ribo-Zero Plus 可从多个物种的样本 (包括人类、小鼠、大鼠、细菌和流行病学样本) 中去除大量 RNA。
- 仅适用于人类样本。使用 Illumina Exome Panel 和 Respiratory Oligos Panel v2 进行测试。Illumina RNA Prep with Enrichment 不提供链信息。
- 显示的为高质量 RNA 的最低起始量。为获得理想质量以及对于 FFPE 样本，Illumina Stranded Total RNA Prep 的最低建议量为 10 ng。
- 手动操作和总时间基于手动处理 24 个样本 (用于 Illumina Stranded Total RNA 和 mRNA 工作流程) 和 1 个样本 (用于富集工作流程) 所需的时间。

NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪

NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪强大而灵活的性能，可满足各种转录组分析的需求。其提供的四种流动槽类型让研究人员可在样本量和每个样本的 read 之间选择理想的平衡点（表 2）。例如，基因表达谱分析（测定已知特征的基因水平丰度）可在高通量模式下高效开展，单次运行最多检测 180 个样本[†]。全转录组分析具有发现新特征的能力，每次运行最多可检测 36 个样本的编码和非编码 RNA；在分析编码 RNA 时，研究人员每次运行最多可检测 72 个样本（表 2、表 3）。因美纳建议查阅您所研究领域和生物体的主要文献，以获得有关实验设计和测序深度的最新指导。

NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪提供了跨应用的灵活性，让研究人员能够在多个测序项目之间轻松转换（图 3）。该系统与 Illumina 以及第三方的一系列文库制备试剂盒兼容，可实现群体细胞 RNA-Seq、单细胞 RNA-Seq、外显子组测序及其他应用之间的轻松转换。例如，研究人员可在 NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪上将 RNA-Seq 与外显子组测序结合在一起，评估编码变异是否影响转录本表达，或开展 ATAC-Seq[‡] 分析染色质可及性，更好地描述功能调控。

利用 XLEAP-SBS 化学技术实现深入探索

利用 NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪，研究人员可以通过更高的读取深度实现深入研究，在检测基因、转录本和差异表达时，获得更准确的倍数变化估计值和更高的灵敏度。XLEAP-SBS 化学技术，是 Illumina 迄今为止最快、数据质量最高、最可靠的测序化学技术，搭载这种技术后，NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪一跃成为了 Illumina 所有桌面式测序仪中通量最高、单样本测序成本最低的基因测序仪。

[†] 表达谱分析假设每个样本 10M reads。

[‡] ATAC-Seq，转座酶可及性染色质测序分析。

表 2：因美纳 RNA-Seq 解决方案和每个流动槽的样本通量

方法	测量	每个样本的典型 read 对数 ^a	文库制备	每个流动槽每次运行的样本数量						
				NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪				NovaSeq X 系列 ^d		
				P1	P2	P3 ^c	P4 ^c	1.5B	10B	25B
基因表达定量	已知特征的基因水平丰度	10M	Illumina Stranded mRNA Prep ^b	10	40	120	180	150	约 1K ^e	约 2.5K ^e
mRNA-Seq	编码 RNA 丰度和发现	25M	Illumina RNA Prep with Enrichment	4	16	48	72	约 60	约 400 ^e	约 1K ^e
总 RNA-Seq	编码和非编码 RNA 丰度和发现	50M	Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus	2	8	24	36	约 30	约 200	约 520 ^e

a. 针对 Illumina Stranded Total RNA Prep 和 Illumina Stranded mRNA Prep，推荐读长为 2 × 75 bp；针对 Illumina RNA Prep with Enrichment，推荐读长为 2 × 100 bp。
 b. Illumina Stranded mRNA Prep 与 FFPE 样本不兼容。对于低质量样本或 FFPE 样本，建议使用 Illumina RNA Prep with Enrichment 或 Illumina Stranded Total RNA Prep。
 c. P3 和 P4 试剂仅适用于 NextSeq 2000/2000-CN 基因测序仪。
 d. NovaSeq X Plus 基因测序仪支持单流动槽运行或双流动槽运行。NovaSeq X 基因测序仪支持单流动槽运行。
 e. 最多 384 个唯一双标签序列可用。对于 NovaSeq X 系列，独立通道上样可实现更多样本的多重分析。

表 3: NextSeq 1000/1000-CN 和 NextSeq 2000/2000-CN 进行 RNA-Seq 的性能参数

流动槽	单端 read ^a	读长	通量 ^a	运行时间 ^b	数据质量 ^c	所需的起始量
NextSeq 1000/2000 P1 XLEAP-SBS Reagents	100M	2 × 150 bp	30 Gb	17 小时	≥ 90% 的碱基高于 Q30	使用 Illumina RNA Prep 所需量为 10 ng–1 µg
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagents	400M	2 × 100 bp	80 Gb	19 小时		
NextSeq 2000 P3 XLEAP-SBS Reagents ^d	1.2B	2 × 100 bp	240 Gb	31 小时		
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagents ^d	1.8B	2 × 100 bp	360 Gb	34 小时		

a. 输出规格基于单个流动槽，使用 Illumina PhiX 对照文库，在支持的簇密度下产出进行计算。

b. 运行时间包括 NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪上的簇生成、测序和碱基检出。

c. 质量分值的计算基于 Illumina PhiX 质控文库。根据文库类型和质量、插入片段大小、上样浓度及其他实验因素的不同，性能表现可能有所差异。高于 Q30 的碱基比例是基于整个运行的平均值。

d. P3 和 P4 试剂仅适用于 NextSeq 2000/2000-CN 基因测序仪。

NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪降低了每 Gb 测序结果输出的成本，再加上额外的测序能力，有助于：

- 每个样本获得更多的 read，以捕获有关低丰度转录本的信息
- 在给定的研究预算内，可对更多样本进行测序，使实验设计更加多元
- 以更全面的方法捕捉 RNA 研究中更复杂的方面，推动更多发现

NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪的双通量模式（表 3）让研究人员可以根据样本量和通量需求来优化研究设计。例如，NextSeq 2000/2000-CN P4 流动槽提供了额外的测序能力，可使 RNA-Seq 成为许多实验室分子工具箱中的常规工具，也给了实验设计更灵活的选择。如果需要更高的样本通量，可利用 NovaSeq™ 6000 系统开展研究，将每次运行样本量扩展到数百个（表 2）。

双端测序的价值

借助 NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪，研究人员可开展单端或双端测序。单端测序性价比高，适合基因表达谱分析。然而，双端 RNA-Seq 具有关键优势。通过插入片段两端生成的序列深度信息来有效区分转录异构体，从而对转录水平的丰度更准确地检测和定量。双端信息明显提高了检测基因融合以及插入 / 缺失 (indel) 变异的灵敏度。

因美纳简化的分析解决方案

DRAGEN™ 二级分析

RNA-Seq 数据分析可以使用 Illumina DRAGEN 二级分析中的工具进行，这是一套准确、全面、高效的数据分析流程。[§] Illumina DRAGEN RNA 流程从 NextSeq 2000/2000-CN 基因测序仪获得数据输出，可以开展与参考基因组的准确 RNA 比对、基因的变异检出和定量，以及剪接点和候选基因融合的表征（图 3）。DRAGEN RNA 流程可在运行设置中进行配置，在 NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪上通过 DRAGEN 硬件载机完成。

§ NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪包含 DRAGEN 硬件。仪器随附 DRAGEN 许可证，无需单独购买。

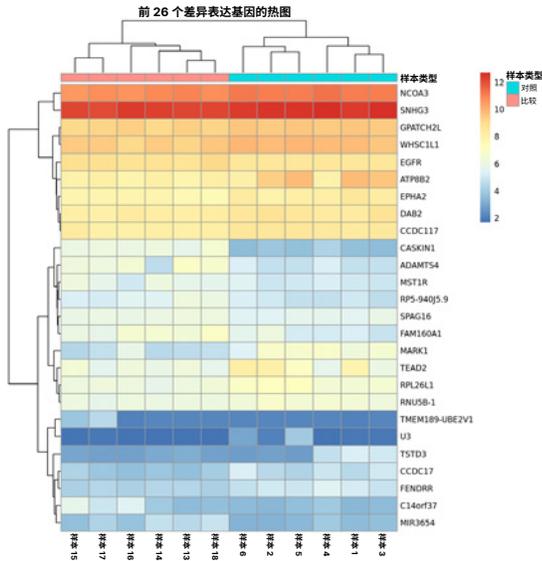


图 3：DRAGEN RNA 流程——使用 DRAGEN RNA 流程绘制的差异表达热图截图示例，该流程可在 NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪上使用。

DRAGEN RNA 流程可以提供在直观用户界面中打包好的高质量数据。简单易行的提示会在整个过程指导用户，从选择测序仪生成的文件，到查看分析数据和结果。DRAGEN RNA 流程输出的数据可直接导入各种下游分析工具中。

全方位的因美纳技术支持

Illumina 技术支持团队由一群经验丰富的科学家组成，他们都是文库制备、测序和分析方面的专家。这些专家可提供高水平的技术支持，包括现场服务工程师（FSE）、技术应用科学家（TAS）、现场应用科学家（FAS）、系统支持工程师、生物信息学家和 IT 网络专家，他们非常了解 NGS 以及全球的因美纳客户开展的应用。您可通过电话（每周 5 天），或网络（每周 7 天，每天 24 小时）获得技术支持，我们在全球范围内提供多种语言的技术支持。

通过优质贴心的服务与支持，因美纳帮助用户充分发挥 NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪的强大功能，培训新员工，学习最新技术以及了解最佳实践。

总结

NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪强大、快速、灵活，NextSeq 1000/2000 RNA-Seq 测序方案将 NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪与先进的 RNA 文库制备产品组合以及用户友好型 RNA-Seq 软件应用程序结合在一起，可提供从 RNA 文库制备到测序结果分析的一体化工作流程。该测序方案提供的四种流动槽配置，可确保在各种 RNA-Seq 项目类型中实现高性价比。

了解更多

[RNA-Seq](#)

[因美纳 RNA 文库制备](#)

[NextSeq 1000/1000-CN 和 NextSeq 2000/2000-CN 基因测序仪](#)

[DRAGEN 二级分析](#)

参考文献

- 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/s41598-02076881-x

订购信息

产品	目录号
NextSeq 2000 基因测序仪	20038897
NextSeq 1000 基因测序仪	20038898
NextSeq 2000-CN 基因测序仪	20102459
NextSeq 1000-CN 基因测序仪	20112098
NextSeq 1000 升级至 NextSeq 2000	20047256
NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪 P1 XLEAP-SBS Reagent Kit (100 循环) ^a	20100983
NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪 P1 XLEAP-SBS Reagent Kit (300 循环) ^a	20100982
NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪 P1 XLEAP-SBS Reagent Kit (600 循环) ^a	20100981
NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (100 循环) ^a	20100987
NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (200 循环) ^a	20100986
NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (300 循环) ^a	20100985
NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (600 循环) ^a	20100984
NextSeq 2000 P3 XLEAP-SBS Reagent Kit (100 循环) ^a	20100990
NextSeq 2000 P3 XLEAP-SBS Reagent Kit (200 循环) ^a	20100989
NextSeq 2000 P3 XLEAP-SBS Reagent Kit (300 循环) ^a	20100988
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagent Kit (50 循环) ^a	20100995
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagent Kit (100 循环) ^a	20100994
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagent Kit (200 循环) ^a	20100993
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagent Kit (300 循环) ^a	20100992
NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪 XLEAP-SBS Read and Index Primers ^a	20112856
NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪 XLEAP-SBS Index Primer Kit ^a	20112858

illumina 中国

上海办公室 • 电话 (021) 6032-1066 • 传真 (021) 6090-6279
 北京办公室 • 电话 (010) 8441-6900 • 传真 (010) 8455-4855
 技术支持热线 400-066-5835 • chinasupport@illumina.com
 市场销售热线 400-066-5875 • china_info@illumina.com • www.illumina.com.cn

© 2024 Illumina, Inc. 保留所有权利。所有商标均为因美纳公司或其各自所有者的财产。
 关于具体的商标信息, 请访问 www.illumina.com.cn/company/legal.html。
 M-GL-00480 v4.0

订购信息

产品	目录号
NextSeq 1000/2000 XLEAP-SBS Read Primer Kit ^a	20112859
Illumina Stranded Total RNA Prep, Ligation with Ribo-Zero Plus (16 样本)	20040525
Illumina Stranded Total RNA Prep, Ligation with Ribo-Zero Plus (96 样本)	20040529
Illumina Stranded mRNA Prep, Ligation (16 样本)	20040532
Illumina Stranded mRNA Prep, Ligation (96 样本)	20040534
Illumina RNA Prep with Enrichment, (L) Tagmentation (16 样本)	20040536
Illumina RNA Prep with Enrichment, (L) Tagmentation (96 样本)	20040537
Illumina Exome Panel	20020183
Illumina RNA UD Indexes Set A, Ligation (96 标签, 96 样本) ^b	20091655
Illumina RNA UD Indexes Set B, Ligation (96 标签, 96 样本) ^b	20091657
Illumina RNA UD Indexes Set C, Ligation (96 标签, 96 样本) ^b	20091659
Illumina RNA UD Indexes Set D, Ligation (96 标签, 96 样本) ^b	20091661
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set A, Tagmentation (96 标签, 96 样本) ^b	20091654
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set B, Tagmentation (96 标签, 96 样本) ^b	20091656
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set C, Tagmentation (96 标签, 96 样本) ^b	20091658
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set D, Tagmentation (96 标签, 96 样本) ^b	20091660

a. NextSeq 1000/2000 系列基因测序仪的 XLEAP-SBS 试剂盒的运输和储存温度与标准 SBS 试剂盒相同。

b. 连接标签与总 RNA 和 mRNA 制备试剂盒兼容。酶切法片段化标签与 DNA 和 RNA 富集制备试剂盒兼容。



因美纳 因美纳讲堂

