

Illumina Single Cell 3' RNA Prep

易获取、可扩展的scRNA-Seq

简单、经济的桌面式工作流程，适合任何经验水平的用户

检测灵敏度高，可检测更多基因和转录本

可经济高效地处理多达数十万个细胞，揭示稀有细胞类型



简介

单细胞RNA测序（scRNA-Seq）将单细胞捕获和条码与新一代测序（NGS）结合起来，可提供复杂组织的高分辨率视图。研究人员可以利用scRNA-Seq研究异质细胞群、发现稀有细胞类型，并在细胞水平上表征疾病和发育过程。然而，由于专门的实验设备需要初始资本投入、试剂成本高昂以及可扩展性有限等原因，单细胞测序的普及速度放缓。Illumina Single Cell 3' RNA Prep改变了这种情况。

Illumina Single Cell 3' RNA Prep^{*}可实现单细胞mRNA捕获、条码编制和文库制备，无需复杂的工作流程或微流控技术。与因美纳测序和信息学解决方案相结合，Illumina Single Cell 3' RNA Prep提供了一个简便且可扩展的工作流程（图1），让更多实验室可以使用高性能scRNA-Seq。

便捷的工作流程

Illumina Single Cell 3' RNA Prep工作流程易于实施，不需要昂贵的微流控设备或劳动密集型方案¹。用户可以使用简单的手动工作流程，在桌面式仪器上进行单细胞研究，停止点灵活。对于在一段时间内采集的样本或需要运输的样本，该检测试剂盒在样本处理前与DSP-甲醇固定[†]兼容，这扩展了scRNA-Seq实验的实用性。

检测工作原理

Illumina Single Cell 3' RNA Prep使用新颖的PIPseq[™]化学技术进行简单、可扩展的单细胞mRNA捕获和条码编制（图2）¹。粒子模板即时分区（PIP）使用模板粒子进行乳化，模板粒子包括与水凝胶珠结合的带条码寡核苷酸。在样本制备过程中，目标细胞悬浮液与模板粒子和油混合，并通过涡旋分离成模板化乳液。然后裂解乳液中的细胞，并通过带条码的模板捕获mRNA。乳液被破坏，通过逆转录从捕获的mRNA生成cDNA，并进行扩增，从而为每个单独的细胞创建一个cDNA文库。然后使用标准文库制备方法将单细胞cDNA文库处理成测序文库，再进行NGS处理。使用DRAGEN[™] Single Cell流程和Partek[™] Flow软件分析测序数据。

^{*} Illumina Single Cell 3' RNA Prep的前身是Fluent PIPseq V 3' Single Cell RNA Kit。

[†] DSP，二硫代双（琥珀酰亚胺基丙酸酯）。

图1: Illumina Single Cell 3' RNA工作流程

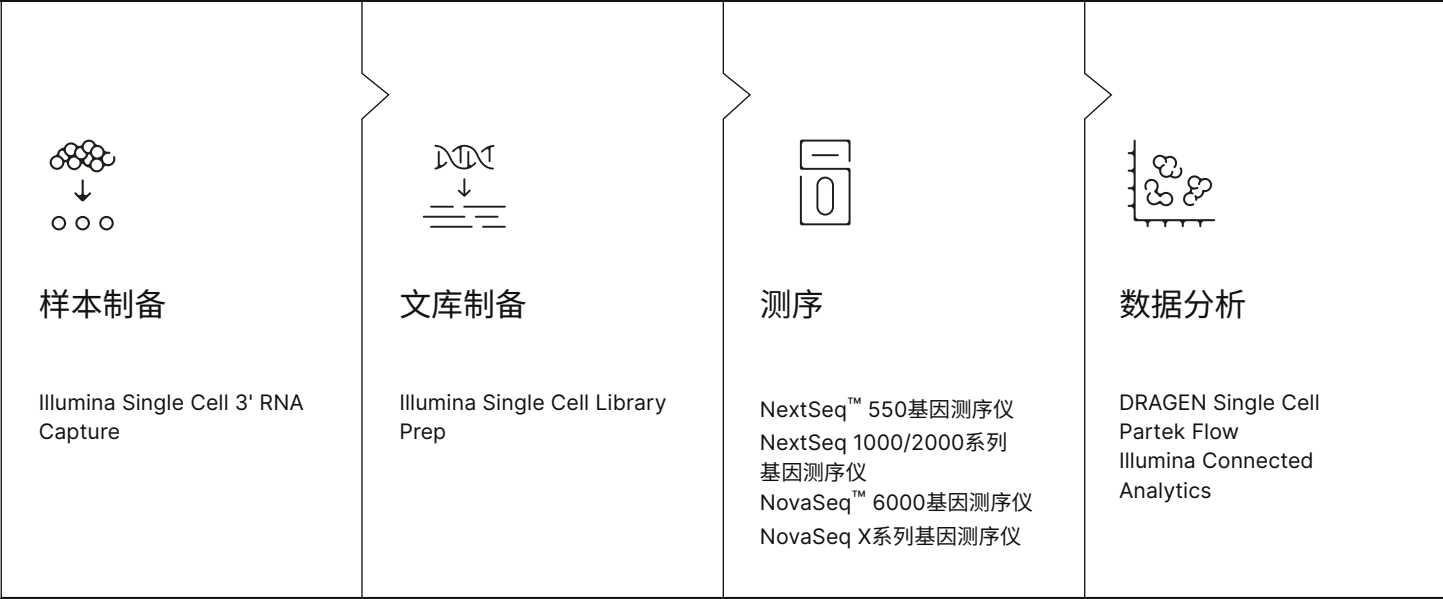
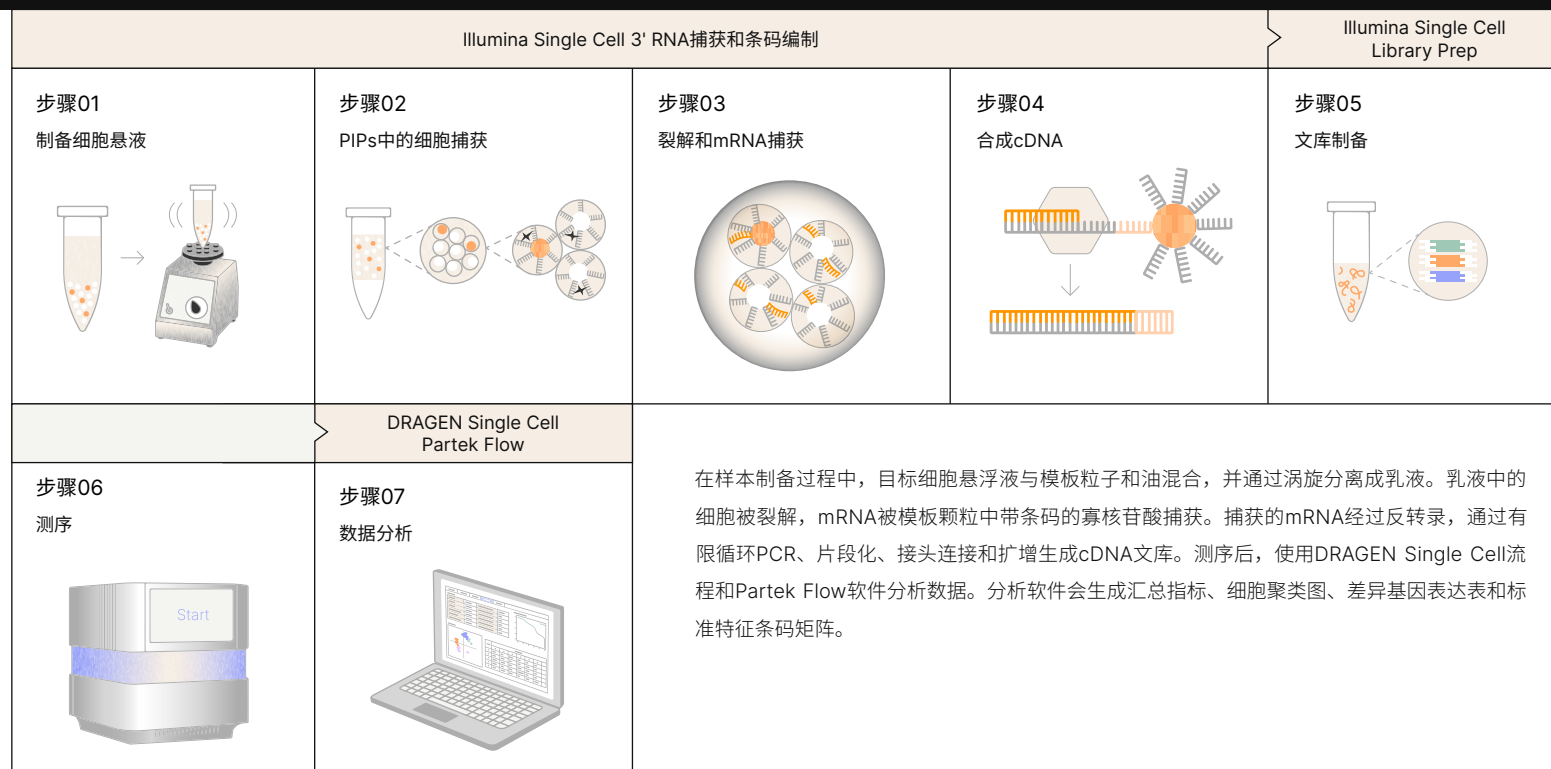


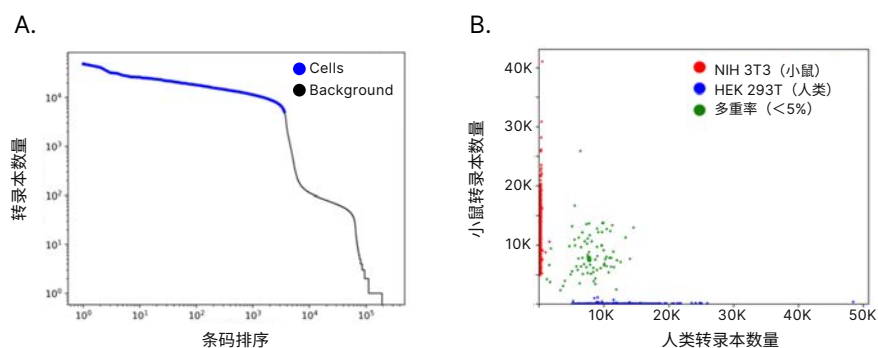
图2：利用PIPseq化学技术捕获单细胞mRNA并进行条码编制



高质量性能

Illumina Single Cell 3' RNA Prep可提供具有高转录本和基因灵敏度的高质量数据（图3、图4、表1）。这种温和的分离技术有助于检测其他方法经常漏检的脆弱细胞。最新版本的PIPseq化学技术降低了环境RNA背景，将某些细胞类型²中基因和转录本的灵敏度提高30%，并减少测序伪影，从而获得更多可用的NGS数据。

图3：高分辨率scRNA-Seq可捕获单细胞中的mRNA

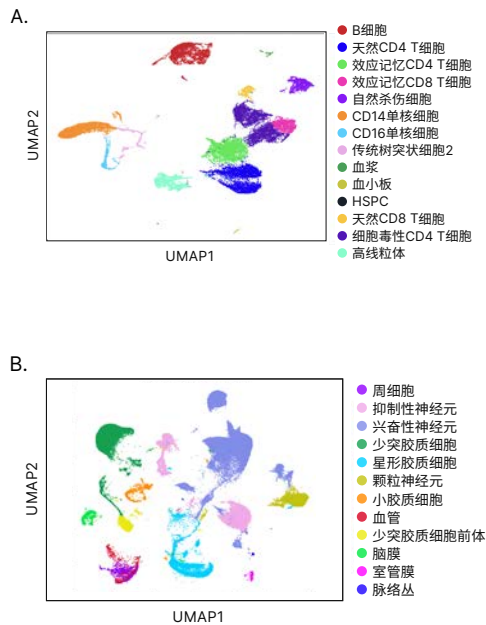


(A) 条码排序图和 (B) 使用NIH3T3 (小鼠) 和HEK 293 (人类) 细胞系混合培养物的散点图，检测到4106个细胞，捕获率为80%，使用Illumina Single Cell 3' RNA Prep T2试剂盒时，多重率（同一反应中有两个或更多细胞）小于5%。

灵活、可扩展的解决方案

Illumina Single Cell 3' RNA Prep采用基于涡旋器的简单方法，具有经济实惠的扩展性。如果细胞数量较多，可使用较大容量的PIP管¹。从数百个细胞到数十万个细胞的广泛处理范围支持从试验和低细胞多样性项目到复杂组织分析的研究应用需求¹。目前的试剂盒配置可对每个样本进行多达2000个细胞（T2试剂盒）、10,000个细胞（T10试剂盒）、20,000个细胞（T20试剂盒）或100,000个细胞（T100试剂盒）的分析。该检测方法能够提高细胞通量，从而更好地揭示稀有细胞类型（图5）。利用可用的96个唯一双标签序列，样本多重分析让用户可以同时运行多个样本（表2）。

图4：适合实验规模和应用的高分辨率scRNA-Seq



(A) 冷冻保存的人外周血单核细胞（PBMC）的UMAP降维分析（Uniform Manifold Approximation and Projection），使用Illumina Single Cell 3' RNA Prep T20试剂盒检测到31,613个细胞，捕获率为79%。(B) 用Illumina Single Cell 3' RNA Prep T100试剂盒对冷冻组织中的小鼠脑细胞核进行UMAP检测，检测到155,000个细胞核，捕获率为78%。

表1：在因美纳基因测序仪上验证Illumina Single Cell 3' RNA Prep的性能

细胞类型	试剂盒规格	基因测序仪	数据量	Reads	细胞	每个细胞的read数
HEK/3T3	T2	NextSeq 2000 System	9.8 Gb	140M	3611	38,633
HEK/3T3	T10	NextSeq 2000 System	23.6 Gb	333M	10,723	31,140
PBMC	T10	NovaSeq 6000 System	390 Gb	2.7B	14,307	190,526
PBMC	T20	NovaSeq X Plus System	81.3 Gb	674M	31,613	21,314
小鼠肺细胞核	T20	NextSeq 2000 System	8.9 Gb	131M	2768	47,276
小鼠大脑细胞核	T20	NextSeq 2000 System	10.4 Gb	155M	2019	76,784
小鼠大脑细胞核 (固定)	T20	NextSeq 2000 System	39.5 Gb	590M	34,596	17,041
小鼠大脑细胞核	T100	NextSeq 2000 System	176.6 Gb	2.6B	155,000	17,068

单细胞测序应用

Illumina Single Cell 3' RNA Prep的易用性、精确性和灵敏度使新的研究和发现成为可能。处理更多的细胞数量将加速正常和疾病状态下的细胞图谱项目，并为基因组规模的功能基因组学筛选提供助力。scRNA-Seq的广泛应用将使研究癌症、免疫学、神经科学和其他复杂疾病的实验室受益³⁻⁹

神经科学scRNA-Seq

神经组织是包含多种细胞类型的复杂组织，这些细胞在生物体的整个生命周期中不断重组和重塑。scRNA-Seq是一种宝贵的工具，可利用转录敏感性对神经元细胞群的真实多样性进行分类，从而深入了解神经元组织：

- 神经发育和神经退行性疾病⁹
- 特定神经元群以前未知的作用⁹
- 神经免疫细胞对疾病和发育的影响¹⁰

用于癌症研究的scRNA-Seq

癌症是一种涉及复杂细胞群动态和多样性的疾病。了解驱动癌症的细胞类型和突变需要复杂的方法。scRNA-Seq已成为一种重要工具，可用于：

- 详细了解肿瘤微环境的异质性^{4,5,11,12}
- 识别新型癌症生物标志物^{13,14}
- 了解免疫疗法和耐药性的机制³

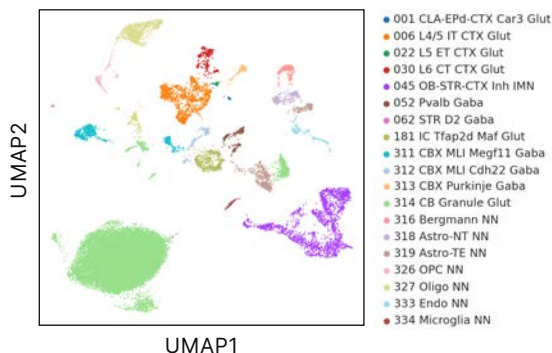
免疫学scRNA-Seq

免疫系统由不同细胞类型的复杂层次结构组成，这些细胞协同工作以识别、标记和消除病原体。scRNA-Seq可帮助研究人员：

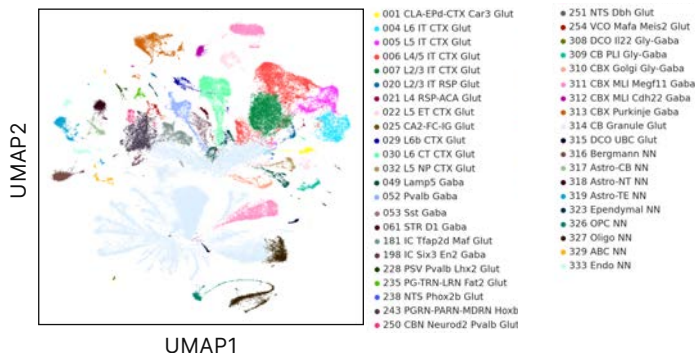
- 了解免疫细胞群的发育和分化途径¹⁵
- 评估免疫细胞群的作用和功能^{12,16}
- 研究对病原体的免疫反应⁶

图5：利用Illumina Single Cell 3' RNA Prep扩大实验规模，揭示更多细胞类型

A. 基于微流控技术的scRNA-Seq（2万个细胞）



B. Illumina Single Cell 3' RNA Prep（>12万个细胞）



(A) 基于微流控技术的scRNA-Seq对2万个细胞进行了检测，从小鼠脑核中识别出19种不同的细胞类型。(B) Illumina Single Cell 3' RNA Prep对来自同一小鼠脑核样本制备的超过12万个细胞进行了检测，发现了42种不同的细胞类型：基于微流体的scRNA-seq鉴定出19种细胞类型中的17种，外加25种其他细胞类型。

表2：Illumina Single Cell 3' RNA Prep^a中每个流动槽的样本通量示例

测序仪	NextSeq 550		NextSeq 1000/2000				NovaSeq 6000				NovaSeq X		
流动槽	Mid	High	P1	P2	P3 ^b	P4 ^b	SP	S1	S2	S4	1.5B	10B	25B
每个流动槽的通量 (read)	130M	400M	100M	400M	1.2B	1.8B	800M	1.6B	4.1B	10B	1.6B	10B	26B
试剂盒规格	每个流动槽的样本数量												
T2	1	4	1	4	12	18	8	16	41	100 ^c	16	100 ^c	260 ^c
T10	-	1	-	1	3	5	2	4	12	29	4	29	76
T20	-	-	-	-	1	2	1	2	5	12	2	12	32
T100	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2	-	2	6

a. 根据每个起始细胞2万条read计算。T2需要5000个起始细胞，每个样本100M条read。T10需要17,000个起始细胞，每个样本340M条read。T20需要40,000个起始细胞，每个样本800M条read。T100需要20万个起始细胞，每个样本40亿条read。
b. P3和P4流动槽仅适用于NextSeq 2000基因测序仪。
c. Illumina Single Cell Unique Dual Indexes（96标签，96样本）。每个流动槽可运行超过96样本，支持单个泳道上样。在NovaSeq 6000基因测序仪上使用NovaSeq 6000 Xp工作流程进行独立泳道上样。

多组学应用

Illumina Single Cell 3' RNA Prep可兼容其他多组学测量^{1,17}。该检测方法允许对捕获的mRNA进行重新解读，以用于定制的单细胞应用。逆转录过程中生成的cDNA仍然与水凝胶珠结合，可以重复用于补充富集或扩增反应。这种实验多功能性可帮助研究人员开展更大规模、更多样的多组学研究，而不受其他单细胞方法的预算或技术限制。

总结

单细胞NGS分析为癌症研究、免疫学、神经科学等新领域的发现打开了新的视野。Illumina Single Cell 3' RNA Prep是一种易于使用且高度可扩展的scRNA-Seq解决方案，它将提升新手和经验丰富的单细胞研究人员的发现能力。简单的手动工作流程包括mRNA捕获、条码编制和文库制备，可与因美纳基因测序仪和数据分析软件无缝集成。Illumina Single Cell 3' RNA Prep具有高性能和易用性，可赋能更多实验室使用scRNA-Seq技术。

了解更多 →
[Illumina Single Cell 3' RNA Prep](#)
[单细胞RNA测序](#)

Ordering information

产品	货号
Illumina Single Cell 3' RNA Prep, T2 (8样本, 2000个细胞/样本)	20135689
Illumina Single Cell 3' RNA Prep, T10 (8样本, 10,000个细胞/样本)	20135691
Illumina Single Cell 3' RNA Prep, T20 (4样本, 20,000个细胞/样本)	20135692
Illumina Single Cell 3' RNA Prep, T100 (2样本, 100,000个细胞/样本)	20135693
Illumina Single Cell Unique Dual Indexes (96标签, 96样本)	20132788
Illumina Single Cell Library Prep (8反应)	20132789
Illumina Single Cell 3' RNA Capture, T2 (8样本, 2000个细胞/样本)	20132790
Illumina Single Cell 3' RNA Capture, T10 (8样本, 10,000个细胞/样本)	20132791
Illumina Single Cell 3' RNA Capture, T20 (4样本, 20,000个细胞/样本)	20132792
Illumina Single Cell 3' RNA Capture, T100 (2样本, 100,000个细胞/样本)	20132793
Illumina Single Cell Nuclei Isolation Kit (4样本)	20132795
Illumina Single Cell Supplemental Enrichment and Amplification Kit	20132794
Illumina Single Cell Prep入门设备	20132796

参考文献

1. Clark IC, Fontanez KM, Meltzer RH, et al. [Microfluidics-free single-cell genomics with templated emulsification](#). *Nat Biotechnol.* 2023;41(11):1557-1566. doi:10.1038/s41587-023-01685-z

2. Fontanez KM, Agam Y, Bevans S, et al. [Intrinsic molecular identifiers enable robust molecular counting in single-cell sequencing](#). *bioRxiv.* 2024;2024.10.04.616561; doi:10.1101/2024.10.04.616561.

3. Ali A, Manzoor S, Ali T, et al. [Innovative aspects and applications of single cell technology for different diseases](#). *Am J Cancer Res.* 2024;14(8):4028-4048. doi:10.62347/VUFU1836

4. Tirosh I, Suva ML. [Cancer cell states: Lessons from ten years of single-cell RNA-sequencing of human tumors](#). *Cancer Cell.* 2024;42(9):1497-1506. doi:10.1016/j.ccell.2024.08.005

5. Xiang L, Rao J, Yuan J, Xie T, Yan H. [Single-Cell RNA-Sequencing: Opening New Horizons for Breast Cancer Research](#). *Int J Mol Sci.* 2024;25(17):9482. doi:10.3390/ijms25179482

6. Chang JT, Liu LB, Wang PG, An J. [Single-cell RNA sequencing to understand host-virus interactions](#). *Virolog Sin.* 2024;39(1):1-8. doi:10.1016/j.virs.2023.11.009

7. Hanna SJ, Tatovic D, Thayer TC, Dayan CM. [Insights From Single Cell RNA Sequencing Into the Immunology of Type 1 Diabetes-Cell Phenotypes and Antigen Specificity](#). *Front Immunol.* 2021;12:751701. doi:10.3389/fimmu.2021.751701

8. Liu L, Davidorf B, Dong P, Peng A, Song Q, He Z. [Decoding the mosaic of inflammatory bowel disease: Illuminating insights with single-cell RNA technology](#). *Comput Struct Biotechnol J.* 2024;23:2911-2923. doi:10.1016/j.csbj.2024.07.011

9. Yang B, Hu S, Jiang Y, Xu L, Shu S, Zhang H. [Advancements in Single-Cell RNA Sequencing Research for Neurological Diseases](#). *Mol Neurobiol.* doi:10.1007/s12035-024-04126-3

10. Maeda C, Tsuruta F. [Molecular Basis of Neuronal and Microglial States in the Aging Brain and Impact on Cerebral Blood Vessels](#). *Int J Mol Sci.* 2024;25(8):4443. doi:10.3390/ijms25084443

11. Liang L, Zhang C, Han J, et al. [Heterogeneity of tumor microenvironment cell groups in inflammatory and adenomatous polyposis coli mutant colorectal cancer based on single cell sequencing](#). *Transl Cancer Res.* 2024;13(9):4813-4826. doi:10.21037/tcr-24-689

12. Zhang S, Zhang X, Xiahou Z, Zuo S, Xue J, Zhang Y. [Unraveling the ecological landscape of mast cells in esophageal cancer through single-cell RNA sequencing](#). *Front Immunol*. 2024;15:1470449. doi:10.3389/fimmu.2024.1470449
13. Yang F, Gan L, Pan J, Chen Y, Zhang H, Huang L. [Integrated Single-Cell RNA-Sequencing Analysis of Gastric Cancer Identifies FABP1 as a Novel Prognostic Biomarker](#). *J Oncol*. 2022;2022:4761403. doi:10.1155/2022/4761403
14. Chen M, Zhu X, Zhang L, Zhao D. [COL5A2 is a prognostic-related biomarker and correlated with immune infiltrates in gastric cancer based on transcriptomics and single-cell RNA sequencing](#). *BMC Med Genomics*. 2023;16(1):220. doi:10.1186/s12920-023-01659-9
15. Bukhari S, Henick BS, Winchester RJ, et al. [Single-cell RNA sequencing reveals distinct T cell populations in immune-related adverse events of checkpoint inhibitors](#). *Cell Rep Med*. 2023;4(1):100868. doi:10.1016/j.xcrm.2022.100868
16. Chen S, Zhu J, Hua C, et al. [Single-cell RNA Sequencing Reveals the Diversity of the Immunological Landscape Response to Genital Herpes](#). *Virology*. doi:10.1016/j.virus.2024.10.003
17. Peretz CAC, Kennedy VE, Walia A, et al. [Multiomic single cell sequencing identifies stemlike nature of mixed phenotype acute leukemia](#). *Nat Commun*. 2024;15(1):8191. doi:10.1038/s41467-024-52317-2

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-03195 v1.0



illumina®