

NextSeq™ 1000 およびNextSeq 2000システム シングルセルRNA シーケンス ソリューション

シングルセルの遺伝子発現測定のコスト効率の良い柔軟なワークフロー

- イルミナとサードパーティのシーケンスソリューションの大規模なエコシステムを使用してシングルセルデータを生成する信頼のプロトコール
- 幅広いシングルセル実験に対応するスケーラブルなシーケンススループット
- 通常のパルクサンプリング法では隠れている細胞の差異を発見するための高解像度解析



はじめに

シングルセルシーケンスは、個々の細胞のトランスクリプトームを調べる次世代シーケンス (NGS) 法であり、細胞間のバリエーションを高解像度で提供します。細胞集団を一気にサンプリングする従来のRNAシーケンス (RNA-Seq) とは対照的に、高感度のシングルセルRNAシーケンス (scRNA-Seq) 法を使用することで、複雑な組織内の個々の細胞の異なる生物学的事象を探索し、環境刺激に反応する細胞の亜集団を理解することができます。これらのアッセイは、分化、増殖、腫瘍形成などの時間依存性プロセスにおける細胞機能と不均一性の研究を向上させます。

scRNA-Seqは、バルクサンプリング法に比べていくつかの利点があります。これらの利点により、次のことを実現できます：

- 細胞タイプを同定し、転写活性を特定の細胞タイプに帰属させる
- 複雑なシステムで新たな機能を果たす可能性のある新しい細胞タイプを発見
- バルクサンプリング法では隠されている、低頻度の細胞タイプの転写パターンを検出
- 転写の変化を個々の細胞タイプまで解像し、機構モデルとパスウェイモデルの情報を得る



図1: NextSeq 1000およびNextSeq 2000システム: NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムは、XLEAP-SBSケミストリーを利用して、シーケンスワークフローを効率化します。

柔軟なscRNA-Seqソリューション

NextSeq 1000およびNextSeq 2000システム (図1) は包括的なscRNA-Seqワークフローの一部として、イルミナのSequence by Synthesis (SBS) XLEAP-SBS™ ケミストリーを活用します。scRNA-Seqには、最初の組織調製、シングルセルの分離とライブラリー調製のための幅広いオプション、シーケンスと一次解析、およびデータの視覚化と解釈が含まれます (図2)。



図2: NextSeq 1000およびNextSeq 2000システム scRNA-Seqワークフロー: NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムは、最初の組織調製からシングルセル分離とライブラリー調製、シーケンスと一次解析、データの視覚化と解釈までの、統合型のNGSワークフローの一部です。

組織調製と細胞分離

初期のシングルセル分離方法はロースルーブットであり、実験ごとに数十から数千の細胞しか処理できませんでした。ハイスルーブットのマイクロフレイディクスベースの細胞分離方法が利用できるようになったことで、実験ごとに数百から数万の細胞をコスト効率の良い方法で調べられるようになりました。さまざまな組織、生物種、細胞タイプ、および方法に合わせて、組織調製、シングルセル分離、ライブラリー調製プロバイダー等の大規模なエコシステムから選択し、scRNA-Seq研究を実施できます。(表1)。

NextSeq 1000およびNextSeq 2000システム

NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムは、プロジェクトの幅広いニーズに対応する能力と柔軟性があり、サンプルごとの細胞、細胞ごとのリード、実験ごとのサンプルの調整を可能にします。より少ない量の転写産物にアクセスするためにより深くシーケンスした場合でも、より多くの細胞やサンプルをシーケンスしたい場合でも、NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムは、ベンチトップシーケンスシステムでのシーケンスおよび一次解析のためのコスト効率の良いソリューションを提供します。4種類のフローセルタイプを利用できるため、複数のNGS解析方法を柔軟に使用でき、さまざまな実験デザインに対応できます。より高いサンプルスルーブットが必要な場合は、NovaSeq™ Xシリーズを使用して、研究をスケールアップできます(表2)。

表1: scRNA-Seqの研究デザイン例^a

方法	細胞分離方法の例	ライブラリー調製方法の例	サンプルあたりの細胞数	細胞あたりのリードペア数	データ解析
全長RNA-Seq	FACS	Takara SMARTer cDNA Synthesis Kit	100	100万	DRAGEN Single-Cell RNA
mRNA末端タグ付け増幅 (3' WTAまたは5' WTA)	10x Genomics Chromium	10x Genomics Chromium Single Cell Gene Expression	5,000	20,000	10x Genomics Cell Ranger DRAGEN Single-Cell RNA
RNAプローブベースの キャプチャー	10x Genomics Chromium	10x Genomics Single Cell Gene Expression Flex	5,000	10,000	10x Genomics Cell Ranger DRAGEN Single-Cell RNA
ターゲットパネル	BD Rhapsody Single-Cell Analysis System	BD Rhapsody Single-Cell Analysis	5,000	2,000	Seven Bridges Genomics
mRNA末端タグ付け増幅 (3' キャプチャー)	Dolomite Bio Nadia装置	Dolomite Bio RNAdia Kit	6,000	25,000	dropSeqPipe Partek Flow

a. 細胞数とリード数は、例示のみを目的とした記載です。細胞、リード、およびサンプルの数は、研究デザインの要件に基づいて慎重に選択する必要があります。詳細については [Single-Cell Sequencing eBook](#) をダウンロードしてください。WTA = 全トランスクリプトーム増幅、BD = Becton Dickinson、FACS = 蛍光活性化セルソーティング。

表2: イルミナシーケンスシステム上のシングルセルRNA-Seqのサンプルスループット

シーケンスシステム	シーケンス試薬	フローセルあたりのサンプル数 ^a
NextSeq 1000およびNextSeq 2000システム	P1 100サイクル	1 ^b
	P2 100サイクル	4
	P3 ^c 100サイクル	11~12
	P4 ^c 100サイクル	18
NovaSeq Xシリーズ ^d	1.5B 100サイクル	15
	10B 100サイクル	96
	25B 300サイクル	250

a. サンプルあたり5,000細胞、細胞あたり20,000リードペアとして計算。分子バークード (UMI) に対応するために38回の追加サイクルが含まれています。サンプルあたりの細胞数と細胞あたりのリードペア数は、目的のアプリケーションとサンプルの種類に応じて異なります。

b. P1試薬はQC実験に最適なオプションです。

c. P3およびP4試薬はNextSeq 2000システムでのみ使用できます。

d. NovaSeq X Plusシステムは、シングルフローセルランまたはデュアルフローセルランが可能です。NovaSeq Xシステムは、単一のフローセルをランできます。

XLEAP-SBSケミストリーを用いたより多くの発見

NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムは、これまでで最速、最高品質、最もロバスタなイルミナSBSケミストリーであるXLEAP-SBSケミストリーを採用しています。イルミナの標準SBSケミストリーの実績基盤に基づいて構築されたXLEAP-SBSケミストリーは、2倍速い取り込み時間で試薬の安定性を向上させます。scRNA-Seqの場合、これにより、遺伝子、転写産物、およびシングルセルバークードを検出する際に、より正確な倍率変化推定値と優れた感度を生み出します。あらゆるイルミナペンチトップシーケンスシステムの中で最高のリードアウトと100万リードあたり最安値を実現するNextSeq 1000およびNextSeq 2000システムにより、次のことが実現します：

- 細胞あたりのリード数が増加し、存在量の少ない転写産物に関する情報を取得
- より多くの細胞とサンプルを使用して、与えられた研究予算内で実験計画を推進
- 生物学のより複雑な側面を調査するための条件、時点、または方法を追加可能

アプリケーション間の柔軟性

NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムは、scRNA-Seq以外にも、アプリケーション間の広範な柔軟性を提供し、シーケンスプロジェクト間を簡単に切り替えできるようにします。本システムは、イルミナおよびサードパーティの幅広いライブラリー調製キットに対応しており、バルクRNA-Seq、scRNA-Seq、エクソームシーケンス、およびその他のアプリケーションの間を簡単に切り替えられます。P4フローセルのより高い出力で、マルチオミクスの洞察が得られやすくなります。例えば、NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムでscRNA-Seqとエクソームシーケンスを組み合わせ、コーディングバリエーションが転写発現に影響を与えるかどうかを評価したり、ATAC-Seq^{*}を実施し、クロマチンアクセシビリティを解析し、機能制御をより詳細に特徴付けることができます。

効率的なシングルセルデータ解析

NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムで生成されたシーケンスデータは、Cell Ranger (10x Genomics) およびSeqGeq (FlowJo/BD Biosciences) のような商用ソフトウェアやSeurat¹ およびMonocle² などのオープンソースツールなど、商用およびオープンソースのシングルセルシーケンスソフトウェアツールからなる広範なエコシステムと互換性のある標準化された形式で利用できます。

scRNA-Seqデータ解析は、正確で包括的かつ効率的なデータ解析パイプラインを取りそろえたイルミナDRAGEN™二次解析[†]のツールを使用して実施できます。NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムは、内蔵データ解析パイプラインとしてDRAGEN Single-Cellパイプラインを搭載しています。これにより、データ解析の高速化、エラー補正による精度の向上、および新しいシングルセル手法を可能にするさまざまなカスタムバークード設計の対応が可能になります。また、DRAGEN Single-Cellパイプラインは、BaseSpace™ Sequence HubまたはIllumina Connected Analytics上で起動することもできます。scRNA-Seq以外にも、イルミナでは、研究プロジェクトを完了するために必要な追加の手法に対応する、商用およびオープンソースのデータ解析ソフトウェアツールの広範なコレクションを取り揃えています。

* ATAC-Seq = assay for transposase-accessible chromatin with sequencing.

† DRAGENハードウェアはNextSeq 1000およびNextSeq 2000システムに搭載されています。DRAGENライセンスは機器に含まれており、別途購入する必要はありません。

包括的なイルミナテクニカルサポート

イルミナでは、ライブラリー調製、シーケンス、解析に精通した経験豊富なサイエンティストで構成された世界トップレベルのサポートチームをご用意しています。この専任チームには、高い技能を持つフィールドサービスエンジニア (FSE)、テクニカルアプリケーションサイエンティスト (TAS)、フィールドアプリケーションサイエンティスト (FAS)、システムサポートエンジニア、バイオインフォマティクス、ITネットワーク専門家が含まれており、メンバー全員がNGSと世界中のイルミナユーザーが取り組んでいる応用分野を熟知しています。[テクニカルサポート](#)は、お電話でのお問い合わせについては週5日、オンラインサポートについては24時間365日（夜間・土日祝日は英語のみでの対応）、世界中どこからでも複数の言語でご利用いただけます。

この比類のないサービスとサポートにより、イルミナはお客様がNextSeq 1000およびNextSeq 2000システムの有効性を最大限に高め、新入社員を教育し、最新の技術とベストプラクティスの習得をお手伝いします。

まとめ

NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムは、scRNA-Seqに柔軟なソリューションを提供し、シングルセルトランスクリプトームの明確で包括的な見解を提供し、ラボは自由に使えるツールセットを拡張できるようになります。異なるフローセル構成により、ニーズに合わせて実験ごとの細胞や細胞ごとのリードペアを調整できます。NextSeq 1000およびNextSeq 2000システムのパワー、スピード、柔軟性と、広範囲のライブラリー調製とソフトウェアソリューションのエコシステムを組み合わせることで、NextSeq 1000およびNextSeq 2000システム上のscRNA-Seqにより、シングルセルの解像度でトランスクリプトームをより深く理解できるようになります。

詳細はこちら

[シングルセルRNAシーケンス](#)

[NextSeq 1000およびNextSeq 2000システム](#)

[DRAGEN二次解析](#)

[BaseSpace Sequence Hub上でのデモデータ](#)

参考文献

1. Satija R, Farrell JA, Gennert D, Schier AF, Regev A. [Spatial reconstruction of single-cell gene expression](#). *Nat Biotechnol*. 2015;33(5):495-502. doi:10.1038/nbt.3192
2. Trapnell C, Cacchiarelli D, Grimsby J, et al. [The dynamics and regulators of cell fate decisions are revealed by pseudotemporal ordering of single cells](#). *Nat Biotechnol*. 2014;32(4):361-386. doi:10.1038/nbt.2859

製品情報

製品	カタログ 番号
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,c}	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

製品情報

製品	カタログ 番号
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
NextSeq 1000/2000 XLEAP-SBS Read Primer Kit ^a	20112859

- a. NextSeq1000およびNextSeq 2000システム用のXLEAP-SBS試薬キットは、標準のSBS試薬キットと同じ温度で出荷および保管されます。
- b. P1、P2、およびP3フローセル用のXLEAP-SBS試薬は2024年第2四半期に発売予定です。
- c. QC解析用。

イルミナ株式会社

〒108-0014 東京都港区芝 5-36-7 三田ベルジュビル 22 階
 Tel (03) 4578-2800 Fax (03) 4578-2810
jp.illumina.com

 www.facebook.com/illuminakk

販売店

本製品の使用目的は研究に限定されます。診断での使用はできません。 販売条件：jp.illumina.com/tc

© 2024 Illumina, Inc. All rights reserved.
 すべての商標および登録商標は、Illumina, Inc. または各所有者に帰属します。
 商標および登録商標の詳細は jp.illumina.com/company/legal.html をご覧ください。
 予告なしに仕様および希望販売価格を変更する場合があります。

