

Illumina Single Cell 3' RNA Prep

scRNA-Seq accesible y flexible

Flujo de trabajo de sobremesa sencillo y asequible que pueden llevar a cabo usuarios con cualquier nivel de experiencia.

Ensayo con una alta sensibilidad para detectar más genes y transcritos.

Intervalo de procesamiento rentable de hasta cientos de miles de células para revelar tipos de células raras.



Introducción

La secuenciación de ARN de células individuales (scRNA-Seq, single-cell RNA sequencing) combina la captura de células individuales y la adición de códigos de barras mediante secuenciación de nueva generación (NGS, next-generation sequencing) para aportar una visión de alta resolución de tejidos complejos. Los investigadores pueden utilizar scRNA-Seq para estudiar poblaciones celulares heterogéneas, descubrir tipos de células raras, y caracterizar procesos patológicos y de desarrollo a nivel celular. Sin embargo, la necesidad de equipos de capital especializados, los elevados costes de los reactivos y la escasa flexibilidad han ralentizado la adopción generalizada de la secuenciación de células individuales. Pero todo esto cambia con Illumina Single Cell 3' RNA Prep.

Illumina Single Cell 3' RNA Prep* permite la captura de ARNm de células individuales, la incorporación de códigos de barras y la preparación de librerías sin flujos de trabajo complejos ni microfluídica. En combinación con las soluciones informáticas y de secuenciación de Illumina, Illumina Single Cell 3' RNA Prep proporciona un flujo de trabajo fácil y flexible (figura 1) que hace que la scRNA-Seq de alto rendimiento sea accesible para más laboratorios.

* Illumina Single Cell 3' RNA Prep se conocía anteriormente como Fluent PIPseq V 3' Single Cell RNA Kit.

Flujo de trabajo accesible

El flujo de trabajo de Illumina Single Cell 3' RNA Prep es fácil de aplicar y no requiere costosos equipos de microfluídica ni laboriosos protocolos.¹ Los usuarios pueden realizar estudios de células individuales en su mesa de trabajo utilizando un flujo de trabajo manual sencillo con puntos de detención flexibles. En el caso de las muestras recogidas durante un período o que requieran transporte, el ensayo es compatible con la fijación de DSP-metanol† antes del procesamiento de muestras, lo que amplía la utilidad de los experimentos de scRNA-Seq.

Cómo funciona el ensayo

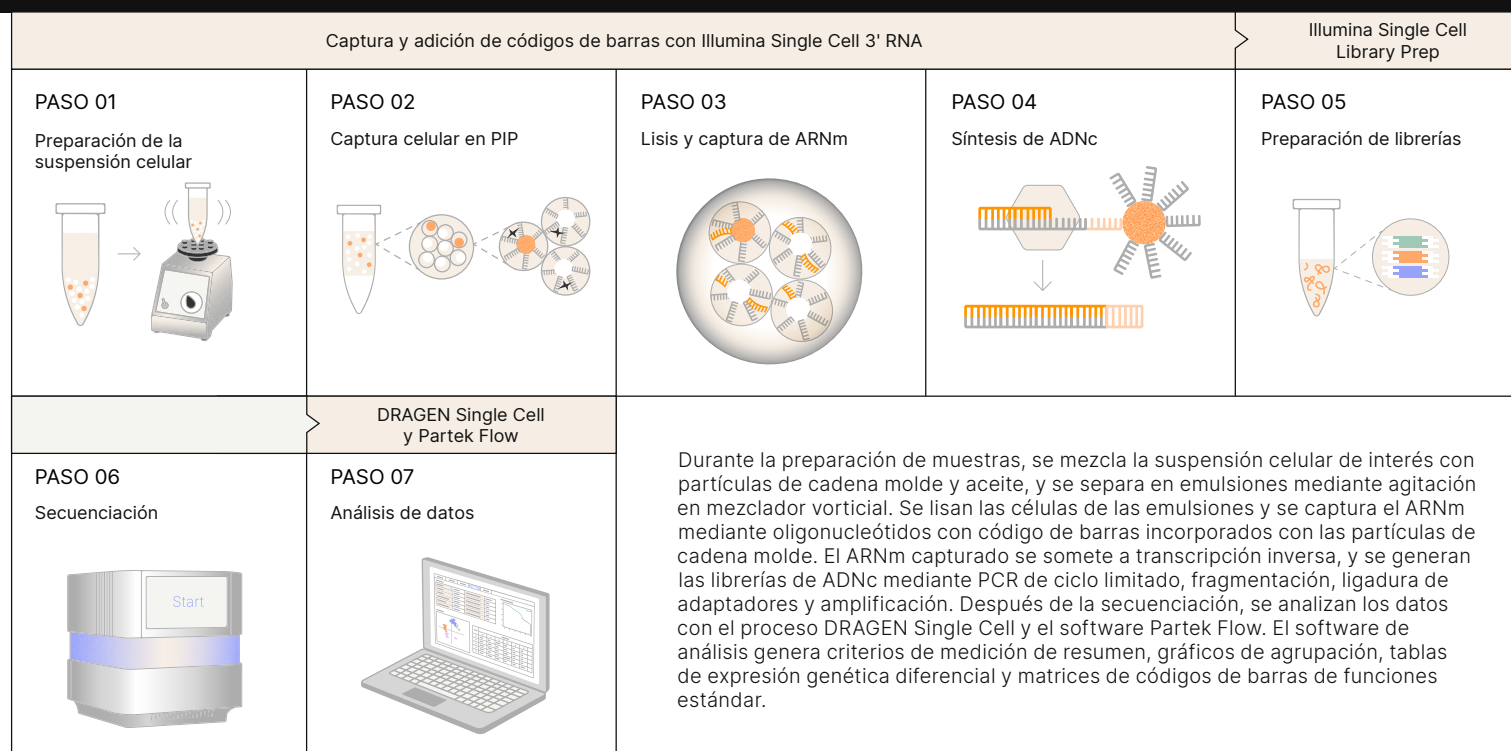
Illumina Single Cell 3' RNA Prep utiliza la nueva química de PIPseq™ para la captura de ARNm de células individuales e incorpora códigos de barras, de manera simple y flexible (figura 2).¹ Las particiones instantáneas con partículas de cadena molde (PIP, particle-templated instant partitions) utilizan la emulsificación con plantilla, que incluye oligonucleótidos etiquetados con código de barras unidos a bolas de hidrogel. Durante la preparación de las muestras, se mezcla la suspensión celular de interés con partículas de cadena molde y aceite, y se separa en emulsiones con plantilla mediante agitación en mezclador vorticial. A continuación, se lisan las células de las emulsiones y se captura el ARNm mediante las plantillas codificadas con código de barras. Se rompe la emulsión y, mediante transcripción inversa a partir del ARNm capturado, se genera el ADN complementario (ADNc) que luego se amplifica para crear una librería de ADNc para cada célula individual.

† DSP: ditiobis (propionato de succinimidilo).

Figura 1: Flujo de trabajo de Illumina Single Cell 3' RNA



Figura 2: Captura de ARNm de células individuales e incorporación de códigos de barras con la química PIPseq

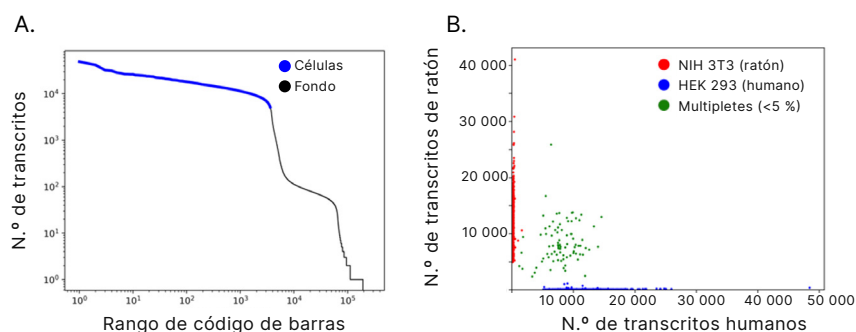


A continuación, las librerías de ADNc de células individuales se procesan en librerías de secuenciación utilizando métodos de preparación de librerías estándar seguidos de NGS. Los datos de secuenciación se analizan con el proceso DRAGEN™ Single Cell y el software Partek™ Flow.

Rendimiento de alta calidad

Illumina Single Cell 3' RNA Prep ofrece datos de alta calidad con alta sensibilidad génica y de transcritos (figura 3, figura 4, tabla 1). La técnica de aislamiento suave ayuda a detectar células frágiles que a menudo se pasan por alto con otros métodos.

Figura 3: La scRNA-Seq de alta resolución captura ARNm de células individuales



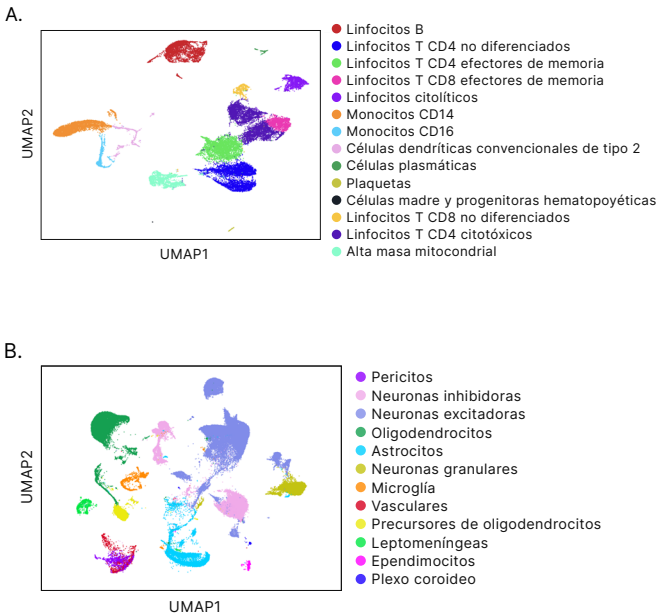
(A) Gráfico de rangos de códigos de barras y (B) gráfico de dispersión con cultivo mixto de líneas celulares NIH3T3 (ratón) y HEK 293 (humanas), 4106 células detectadas, tasa de captura del 80 % y menos del 5 % de multipletes (dos o más células en la misma reacción) con el kit Illumina Single Cell 3 to RNA Prep T2.

La última versión de la química de PIPseq reduce el fondo de ARN ambiental, lo que mejora la sensibilidad en un 30 % para genes y transcritos en determinados tipos de células² y reduce los artefactos de secuenciación para obtener datos de NGS más utilizables.

Solución flexible y adaptable

El sencillo método basado en la mezcla vorticial para Illumina Single Cell 3' RNA Prep ofrece una flexibilidad rentable. Para obtener un mayor número de células, utilice tubos PIP de mayor volumen.¹ El amplio intervalo de procesamiento de cientos a cientos de miles de células es compatible con necesidades de aplicación de investigación, desde proyectos piloto y de baja diversidad celular hasta análisis de tejidos complejos.¹ Las configuraciones actuales del kit pueden perfilar hasta 2000 células por muestra (kit T2), 10 000 células por muestra (kit T10), 20 000 células por muestra (kit T20) o 100 000 células por muestra (kit T100). La capacidad del ensayo para aumentar la productividad celular facilita la revelación de tipos de células raras (figura 5). Con 96 índices dobles únicos disponibles, el multiplexado de muestras permite a los usuarios procesar muchas muestras en paralelo (tabla 2).

Figura 4: scRNA-Seq de alta resolución para adaptarse a la escala y a la aplicación del experimento



(A) Aproximación y proyección uniforme múltiple (UMAP, uniform manifold approximation and projection) de células mononucleares de sangre periférica (CMSP) humanas crioconservadas, 31 613 células detectadas y una tasa de captura del 79 % con el kit Illumina Single Cell 3' RNA Prep T20. (B) UMAP de núcleos de células cerebrales de ratón a partir de tejido congelado, 155 000 núcleos detectados y una tasa de captura del 78 % con el kit Illumina Single Cell 3' RNA Prep T100.

Tabla 1: Rendimiento validado de Illumina Single Cell 3' RNA Prep en sistemas de secuenciación de Illumina

Tipo de célula	Tamaño del kit	Sistema de secuenciación	Tamaño	Lecturas	Células	Lecturas por célula
HEK/3T3	T2	NextSeq 2000 System	9,8 Gb	140 M	3611	38 633
HEK/3T3	T10	NextSeq 2000 System	23,6 Gb	333 M	10 723	31 140
CMSP	T10	NovaSeq 6000 System	390 Gb	2700 M	14 307	190 526
CMSP	T20	NovaSeq X Plus System	81,3 Gb	674 M	31 613	21 314
Núcleos de células pulmonares de ratón	T20	NextSeq 2000 System	8,9 Gb	131 M	2768	47 276
Núcleos de células cerebrales de ratón	T20	NextSeq 2000 System	10,4 Gb	155 M	2019	76 784
Núcleos de células cerebrales de ratón (fijados)	T20	NextSeq 2000 System	39,5 Gb	590 M	34 596	17 041
Núcleos de células cerebrales de ratón	T100	NextSeq 2000 System	176,6 Gb	2600 M	155 000	17 068

Aplicaciones de células únicas

La accesibilidad, precisión y sensibilidad de Illumina Single Cell 3' RNA Prep permite nuevas investigaciones y descubrimientos. El procesamiento de una mayor cantidad de células acelerará los proyectos de atlas celulares para estados normales y de enfermedad, y potenciará las pruebas genómicas funcionales a escala genómica. Una adopción más generalizada de scRNA-Seq beneficiará especialmente a los laboratorios dedicados al estudio del cáncer, la inmunología, la neurociencia y otras enfermedades complejas.^{3,9}

scRNA-Seq en neurociencia

La compleja organización de los tejidos neuronales consta de diversos tipos de células que se reorganizan y remodelan continuamente a lo largo de la vida de un organismo. La scRNA-Seq es una herramienta valiosa para catalogar la verdadera diversidad de poblaciones de células neuronales con sensibilidad transcripcional, proporcionando información sobre:

- Enfermedades neurodegenerativas y del neurodesarrollo⁹
- Funciones previamente desconocidas de poblaciones neuronales específicas⁹
- El efecto de las células neuroinmunitarias en la enfermedad y el desarrollo¹⁰

scRNA-Seq en investigación oncológica

El cáncer es una enfermedad dinámica y diversa que afecta a poblaciones celulares complejas. Comprender los tipos celulares y las mutaciones causantes del cáncer requiere métodos sofisticados. La scRNA-Seq ha sido una herramienta vital para:

- Detallar la heterogeneidad del microentorno tumoral.^{4,5,11,12}
- Identificar nuevos biomarcadores del cáncer.^{13,14}
- Comprender los mecanismos de la inmunoterapia y la resistencia a los fármacos.³

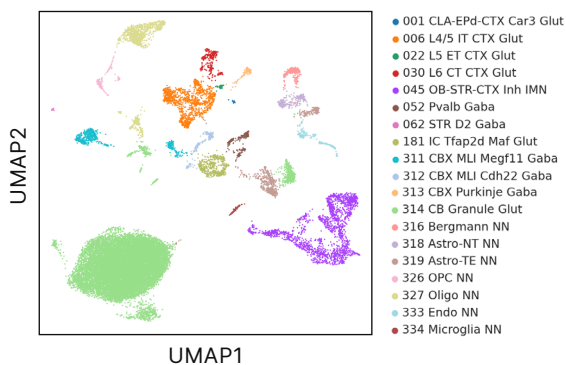
scRNA-Seq en inmunología

El sistema inmunitario se compone de una compleja jerarquía de diversos tipos de células que trabajan juntas para identificar, actuar de manera selectiva y eliminar patógenos. La scRNA-Seq permite a los investigadores:

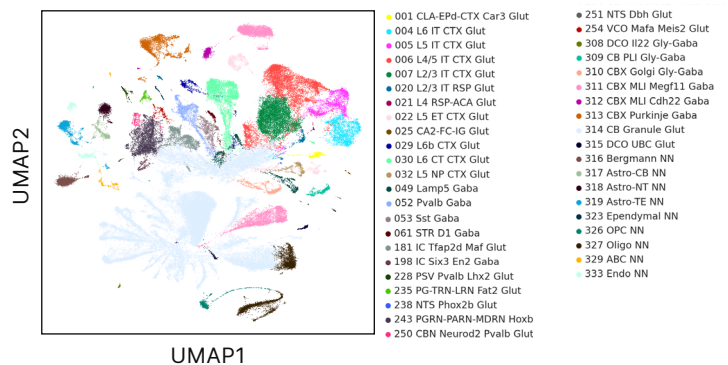
- Comprender las vías de desarrollo y diferenciación en poblaciones de células inmunitarias.¹⁵
- Evaluar las funciones y los roles de las poblaciones de células inmunitarias.^{12,16}
- Estudiar la respuesta inmunitaria a patógenos.⁶

Figura 5: La mayor flexibilidad experimental con Illumina Single Cell 3' RNA Prep revela más tipos de células

A. scRNA-Seq basado en microfluídica (20 000 células)



B. Illumina Single Cell 3' RNA Prep (>120 000 células)



(A) La scRNA-seq basada en microfluídica en 20 000 células identificó 19 tipos de células diferentes de núcleos de células cerebrales de ratón. (B) Illumina Single Cell 3' RNA Prep en más de 120 000 células de la misma preparación de muestra de núcleos cerebrales de ratón identificó 42 tipos de células diferentes: 17 de los 19 tipos identificados mediante scRNA-seq basada en microfluídica más 25 tipos de células adicionales.

Tabla 2: Ejemplo de productividad de muestras por celda de flujo para Illumina Single Cell 3' RNA Prep^a

Sistema	NextSeq 550		NextSeq 1000/2000				NovaSeq 6000				NovaSeq X		
Celda de flujo	Medio	Elevado	P1	P2	P3 ^b	P4 ^b	SP	S1	S2	S4	1,5 B	10 B	25 B
Rendimiento por celda de flujo (lecturas)	130 M	400 M	100 M	400 M	1200 M	1800 M	800 M	1600 M	4100 M	10 000 M	1600 M	10 000 M	26 000 M
Tamaño del kit	N.º de muestras por celda de flujo												
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. Cálculos basados en 20 000 lecturas por célula de entrada. T2 requiere 5000 células de entrada, además de 100 M de lecturas por muestra. T10 requiere 17 000 células de entrada, además de 340 M de lecturas por muestra. T20 requiere 40 000 células de entrada, además de 800 M de lecturas por muestra. T100 requiere 200 000 células de entrada, además de 4000 M por muestra.

b. Las celdas de flujo P3 y P4 solo están disponibles en NextSeq 2000 System.

c. Illumina Single Cell Unique Dual Indexes ofrece 96 índices para 96 muestras. Es posible procesar más de 96 muestras por celda de flujo con la carga de carril individual. Utilice el flujo de trabajo de NovaSeq 6000 Xp para la carga individual de carriles en NovaSeq 6000 System.

Aplicaciones en multiómica

Illumina Single Cell 3' RNA Prep es compatible con otras mediciones multiómicas.^{1,17} El ensayo permite volver a analizar el ARNm capturado para aplicaciones personalizadas de células individuales. El ADNc generado durante la transcripción inversa permanece unido a las bolas de hidrogel, lo que permite la reutilización para reacciones de enriquecimiento o amplificación complementarias. Esta versatilidad experimental puede ayudar a los investigadores a llevar a cabo estudios multiómicos más amplios y variados sin las limitaciones presupuestarias o tecnológicas de otras estrategias con células individuales.

Resumen

El análisis de células individuales mediante NGS abre las puertas a nuevas áreas de descubrimiento en la investigación oncológica, la inmunología, la neurociencia y otros campos. Illumina Single Cell 3' RNA Prep es una solución de scRNA-Seq accesible y con una gran flexibilidad, que ampliará la capacidad de descubrimiento en el ámbito de las células individuales, tanto para investigadores nuevos como experimentados. El sencillo flujo de trabajo manual incluye la captura de ARNm, la adición de códigos de barras y la preparación de librerías, que se integra perfectamente con los sistemas de secuenciación de Illumina y el software de análisis de datos. Illumina Single Cell 3' RNA Prep ofrece un alto rendimiento y facilidad de uso para acercar las capacidades de scRNA-Seq a más laboratorios.

MÁS INFORMACIÓN →

- [Illumina Single Cell 3' RNA Prep](#)
- [Secuenciación de ARN de células individuales](#)

Datos para realizar pedidos

Producto	N.º de catálogo
Illumina Single Cell 3' RNA Prep, T2 (8 samples, 2000 cells/sample)	20135689
Illumina Single Cell 3' RNA Prep, T10 (8 samples, 10,000 cells/sample)	20135691
Illumina Single Cell 3' RNA Prep, T20 (4 samples, 20,000 cells/sample)	20135692
Illumina Single Cell 3' RNA Prep, T100 (2 samples, 100,000 cells/sample)	20135693
Illumina Single Cell Unique Dual Indexes (96 indexes, 96 samples)	20132788
Illumina Single Cell Library Prep (8 reactions)	20132789
Illumina Single Cell 3' RNA Capture, T2 (8 samples, 2000 cells/sample)	20132790
Illumina Single Cell 3' RNA Capture, T10 (8 samples, 10,000 cells/sample)	20132791
Illumina Single Cell 3' RNA Capture, T20 (4 samples, 20,000 cells/sample)	20132792
Illumina Single Cell 3' RNA Capture, T100 (2 samples, 100,000 cells/sample)	20132793
Illumina Single Cell Nuclei Isolation Kit (4 samples)	20132795
Illumina Single Cell Supplemental Enrichment and Amplification Kit	20132794
Illumina Single Cell Prep Starter Equipment	20132796

Bibliografía

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



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

© 2024 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-03195 ESP v1.0