

Solução de sequenciamento de RNA de célula única NextSeq™ 1000 e NextSeq 2000

Fluxo de trabalho flexível e econômico para medir a expressão gênica em células únicas

- Protocolos confiáveis para gerar dados de célula única usando um grande ecossistema de soluções de sequenciamento da Illumina e de terceiros.
- Rendimento de sequenciamento escalável para oferecer suporte a uma ampla gama de experimentos de célula única.
- Análise de alta resolução para descobrir diferenças celulares geralmente mascaradas por métodos de amostragem em massa.

illumina®

Introdução

O sequenciamento de célula única é um método de sequenciamento de última geração (NGS, next-generation sequencing) que examina os transcriptomas de células individuais, fornecendo uma visão de alta resolução da variação de célula para célula. Em contraste com o sequenciamento de RNA (RNA-Seq) tradicional, em que as populações de células são amostradas em massa, métodos altamente sensíveis de sequenciamento de RNA de célula única (scRNA-Seq) permitem que os pesquisadores explorem a biologia distinta de células individuais em tecidos complexos e entendam as respostas da subpopulação celular a sinais ambientais. Esses ensaios melhoram o estudo da função e heterogeneidade celular em processos dependentes do tempo, como diferenciação, proliferação e tumorigênese.

O scRNA-Seq oferece várias vantagens em relação aos métodos de amostragem em massa. Essas vantagens permitem que os pesquisadores:

- Identifiquem tipos de células e atribuam atividades transcricionais a tipos de células específicos.
- Descubram novos tipos de células que podem cumprir novas funções em sistemas complexos.
- Detectem padrões de transcrição em tipos de células de frequência mais baixa que seriam mascaradas em métodos de amostragem em massa.
- Resolvam alterações transcricionais até tipos de células individuais para informar modelos mecanísticos e de via.



Figura 1: NextSeq 1000 Sequencing System e NextSeq 2000 Sequencing System — Os sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000 Systems utilizam a química XLEAP-SBS para simplificar os fluxos de trabalho de sequenciamento.

Uma solução flexível de scRNA-Seq

Os sistemas de sequenciamento NextSeq 1000 e NextSeq 2000 (Figura 1) aproveitam a química XLEAP-SBS™ de sequenciamento por síntese (SBS, sequencing by synthesis) Illumina como parte de um fluxo de trabalho de scRNA-Seq abrangente. O scRNA-Seq inclui preparação inicial do tecido, uma ampla gama de opções de isolamento de célula única e preparação da biblioteca, sequenciamento e análise primária e visualização e interpretação de dados (Figura 2).

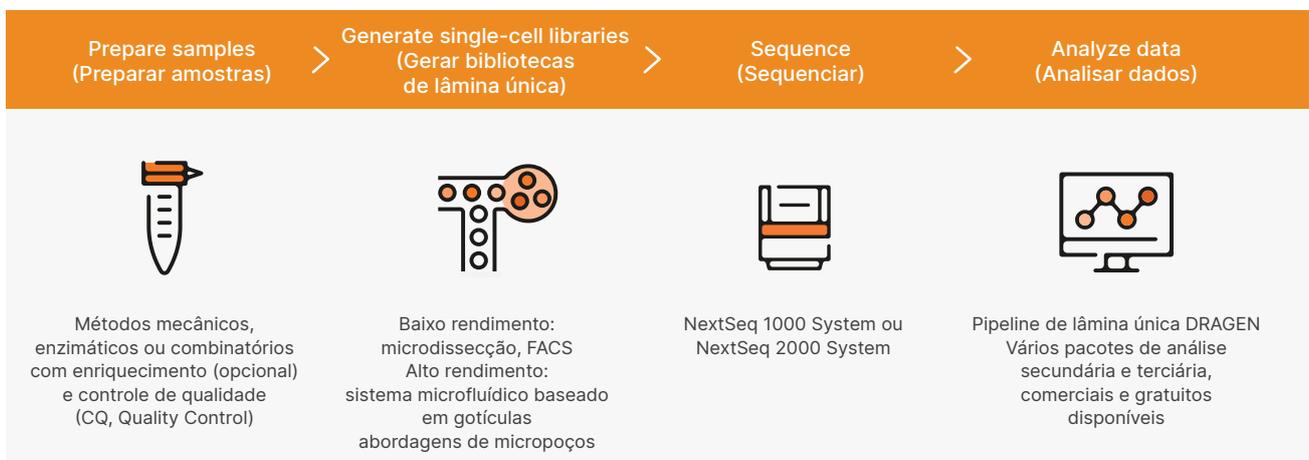


Figura 2: Fluxo de trabalho de scRNA-Seq NextSeq 1000 e NextSeq 2000 — Os sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000 fazem parte de um fluxo de trabalho NGS integrado que prossegue desde a preparação inicial do tecido até o isolamento de uma única célula e a preparação de bibliotecas, sequenciamento e análise primária e visualização e interpretação de dados.

Preparação do tecido e isolamento celular

Os métodos iniciais para isolamento de célula única eram de baixo rendimento, capazes de processar apenas de dezenas a alguns milhares de células por experimento. A disponibilidade de métodos de alto rendimento baseados em microfluidos para isolamento de células agora permite que os pesquisadores examinem de centenas a dezenas de milhares de células por experimento de maneira econômica. Os pesquisadores podem escolher entre um grande ecossistema de provedores de preparação de tecidos, isolamento de células únicas e preparação de bibliotecas, permitindo que os estudos de scRNA-Seq sejam adaptados a uma ampla variedade de tecidos, espécies, tipos de células e métodos ([Tabela 1](#)).

Os Sistemas de Sequenciamento NextSeq 1000 e NextSeq 2000

Os sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000 oferecem o poder e a flexibilidade para acomodar uma ampla variedade de necessidades de projeto, permitindo o ajuste de células por amostra, leituras por célula e amostras por experimento. Independente de se os pesquisadores desejam sequenciar mais profundamente para acessar transcrições de menor abundância ou sequenciar mais células ou amostras, os sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000 oferecem uma solução econômica para sequenciamento e análise primária em um sistema de sequenciamento de bancada. Com quatro tipos de lâminas de fluxo disponíveis, os pesquisadores têm flexibilidade para usar vários métodos de análise de NGS e acomodar uma variedade de desenhos experimentais. Se for necessário um rendimento de amostras ainda maior, os estudos podem ser dimensionados usando a NovaSeq™ X Series ([Tabela 2](#)).

Tabela 1: Exemplo de desenhos de estudo para scRNA-Seq^a

| Método | Exemplo de método de isolamento de lâmina | Exemplo de método de preparação da biblioteca | Lâminas por amostra | Leituras de pares por célula | Análise de dados |
|--|---|---|---------------------|------------------------------|--------------------------|
| RNA-Seq completo | FACS | Takara SMARTer cDNA Synthesis Kits | 100 | 1 milhão | DRAGEN Single-Cell RNA |
| Amplificação de end-tag de mRNA (3' WTA or 5' WTA) | 10x Genomics Chromium | 10x Genomics Chromium Single Cell Gene Expression | 5 mil | 20 mil | 10x Genomics Cell Ranger |
| | | | | | DRAGEN Single-Cell RNA |
| Captura de RNA baseada em sonda | 10x Genomics Chromium | 10x Genomics Single Cell Gene Expression Flex | 5 mil | 10 mil | 10x Genomics Cell Ranger |
| | | | | | DRAGEN Single-Cell RNA |
| Painel direcionado | BD Rhapsody Single-Cell Analysis System | BD Rhapsody Single-Cell Analysis | 5 mil | 2 mil | Seven Bridges Genomics |
| Amplificação de end-tag de mRNA (captura de 3') | Instrumento Dolomite Bio Nadia | Dolomite Bio RNAdia kit | 6 mil | 25 mil | dropSeqPipe |
| | | | | | Partek Flow |

a. Os números de leituras e células declarados são apenas para fins ilustrativos. Números de células, leituras e amostras devem ser cuidadosamente selecionados com base nas exigências do desenho do estudo. Baixe o [eBook Single-Cell Sequencing](#) para obter mais informações. WTA, whole-transcriptome amplification; BD, Becton Dickinson, FACS, fluorescence-activated cell sorting.

Tabela 2: Rendimento de amostra de RNA-Seq de célula única em sistemas de sequenciamento Illumina

| Sistema de sequenciamento | Reagentes de sequenciamento | Número de amostras por lâmina de fluxo ^a |
|--------------------------------------|-----------------------------|---|
| Sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000 | P1 100 cycles | 1 ^b |
| | P2 100 cycles | 4 |
| | P3 ^c 100 cycles | 11–12 |
| | P4 ^c 100 cycles | 16–17 |
| NovaSeq X Series ^d | 1.5B 100 ciclos | 15 |
| | 10B 100 ciclos | 96 |
| | 25B 300 ciclos | 250 |

a. Calculado para 5 mil células por amostra e 20 mil pares de leitura por célula; inclui 38 ciclos extras para apoiar identificadores moleculares exclusivos (UMIs, unique molecular identifiers). O número de células por amostra e pares de leitura por célula depende do tipo de amostra e aplicação desejados.

b. Os reagentes P1 são uma boa opção para experimentos de controle de qualidade.

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.

Descubra mais com a química XLEAP-SBS

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. Construído sobre a base comprovada da química SBS padrão Illumina, a química XLEAP-SBS oferece estabilidade aprimorada do reagente com tempos de incorporação duas vezes mais rápidos. Para o scRNA-Seq, isso resulta em estimativas de fold-change mais precisas e sensibilidade superior na detecção de genes, transcrições e códigos de barras de célula única. Com a maior produtividade de leitura e o menor preço por milhão de leituras de qualquer sistema de sequenciamento de bancada Illumina, os sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000 permitem que os pesquisadores acessem:

- Mais leituras por célula para capturar informações sobre transcrições de abundância mais baixa.
- Mais células e amostras para possibilitar desenhos experimentais dentro de um determinado orçamento de pesquisa.
- Condições, pontos temporais ou métodos adicionais para investigar facetas mais complexas da biologia.

Flexibilidade entre aplicações

Além do scRNA-Seq, os sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000 oferecem ampla flexibilidade entre aplicações, permitindo que os pesquisadores passem facilmente de um projeto de sequenciamento para outro. Os sistemas são compatíveis com uma ampla variedade de kits de preparação de bibliotecas da Illumina e de terceiros, permitindo uma fácil mudança entre Illumina bulk RNA-Seq, scRNA-Seq, sequenciamento de exoma e outras aplicações. As percepções multiômicas são mais acessíveis com a maior produtividade das lâminas de fluxo P4. Por exemplo, os pesquisadores podem emparelhar o scRNA-Seq com o sequenciamento do exoma nos sistemas 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.

Simplifique a análise de dados de célula única

Os dados de sequenciamento gerados com os sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000 estão disponíveis em formatos padronizados compatíveis com um amplo ecossistema de ferramentas de software de sequenciamento de célula única comerciais e de código aberto, incluindo softwares comerciais como Cell Ranger (10x Genomics) e SeqGeq (FlowJo/BD Biosciences) e ferramentas de código aberto como Seurat¹ e Monocle.²

A análise de dados scRNA-Seq pode ser realizada usando ferramentas do Illumina DRAGEN[™] secondary analysis,[†] um conjunto de pipelines de análise de dados precisos, abrangentes e eficientes. Os sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000 oferecem o pipeline DRAGEN Single-Cell como um pipeline de análise de dados integrado, capaz de acelerar a análise de dados, melhorar a precisão com correção de erros e oferecer suporte a vários desenhos de código de barras personalizados para permitir novos métodos de célula única. O pipeline DRAGEN Single-Cell também pode ser lançado na nuvem no BaseSpace[™] Sequence Hub ou no Illumina Connected Analytics. Além do scRNA-Seq, a Illumina oferece uma ampla coleção de ferramentas de software de análise de dados comerciais e de código aberto para apoiar métodos adicionais necessários para concluir um projeto de pesquisa.

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

† 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.

Suporte técnico abrangente da Illumina

A Illumina fornece uma equipe de suporte de qualidade internacional formada 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 maximizarem a eficácia do sistema NextSeq 1000 e NextSeq 2000, treinar novos funcionários e aprender as técnicas e práticas recomendadas mais recentes.

Resumo

Os sistemas de sequenciamento NextSeq 1000 e NextSeq 2000 oferecem uma solução flexível para scRNA-Seq, fornecendo uma visão clara e abrangente do transcriptoma de célula única e permitindo que os laboratórios expandam o conjunto de ferramentas à sua disposição. Diferentes configurações de lâminas de fluxo permitem que os pesquisadores ajustem as lâminas por experimento e pares de leitura por lâmina para atender às suas necessidades. Combinando o poder, a velocidade e a flexibilidade dos sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000 com um amplo ecossistema de preparação de bibliotecas e soluções de software, o scRNA-Seq nos sistemas NextSeq 1000 e NextSeq 2000 permite que os pesquisadores alcancem uma compreensão mais profunda do transcriptoma na resolução de célula única.

Saiba mais

[Sequenciamento de RNA de lâmina única](#)

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

[DRAGEN secondary analysis](#)

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

Referências

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

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,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 |

Informações para pedido

| Produto | N.º do catálogo |
|---|-----------------|
| 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. 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. Para análise de CQ.



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-00478 PTB v3.0