

Solution de séquençage d'ARN unicellulaire NextSeq^{MC} 1000 et NextSeq 2000

Flux de travail rentable et flexible
pour mesurer l'expression génique
dans des cellules uniques

- Protocoles fiables pour la génération de données unicellulaires à l'aide d'un vaste écosystème de solutions de séquençage d'Illumina et de tiers
- Débit de séquençage évolutif pour prendre en charge un large éventail d'expériences unicellulaires
- Analyse haute résolution pour découvrir les différences cellulaires généralement masquées par les méthodes d'échantillonnage en lots



Introduction

Le séquençage unicellulaire est une méthode de séquençage de nouvelle génération (SNG) qui examine les transcriptomes des cellules individuelles, offrant une vue haute résolution de la variation d'une cellule à l'autre. Contrairement au séquençage d'ARN traditionnel (RNA-Seq), où des populations de cellules sont échantillonnées en lots, les méthodes de séquençage d'ARN unicellulaire hautement sensibles (scRNA-Seq) permettent aux chercheurs d'explorer la biologie distincte des cellules individuelles dans des tissus complexes et de comprendre les réponses des sous-populations cellulaires aux indices environnementaux. Ces tests améliorent l'étude de la fonction cellulaire et de l'hétérogénéité dans des processus dépendants du temps, tels que la différenciation, la prolifération et la tumorigénèse.

Le scRNA-Seq offre plusieurs avantages par rapport aux méthodes d'échantillonnage en lots. Ces avantages permettent aux chercheurs de :

- Identifier les types de cellules et attribuer les activités transcriptionnelles à des types de cellules spécifiques
- Découvrir de nouveaux types de cellules qui peuvent servir de nouvelles fonctions dans des systèmes complexes
- Détecter les schémas transcriptionnels dans les types de cellules à fréquence inférieure qui seraient masqués dans les méthodes d'échantillonnage en lots
- Résoudre les changements transcriptionnels jusqu'aux types de cellules individuelles pour renseigner les modèles de mécanismes et de voies



Figure 1 : Systèmes de séquençage NextSeq 1000 et NextSeq 2000 : les systèmes NextSe 1000 et NextSeq 2000 exploitent la chimie XLEAP-SBS pour rationaliser les flux de travail de séquençage.

Une solution de scRNA-Seq flexible

Les systèmes de séquençage NextSeq 1000 et NextSeq 2000 (figure 1) exploitent la chimie de séquençage par synthèse (SBS) XLEAP-SBS^{MC} d'Illumina dans le cadre d'un flux de travail complet scRNA-Seq. Le scRNA-Seq comprend la préparation initiale des tissus, un large éventail d'options d'isolement unicellulaire et de préparation de bibliothèques, le séquençage et l'analyse primaire, ainsi que la visualisation et l'interprétation des données (figure 2).

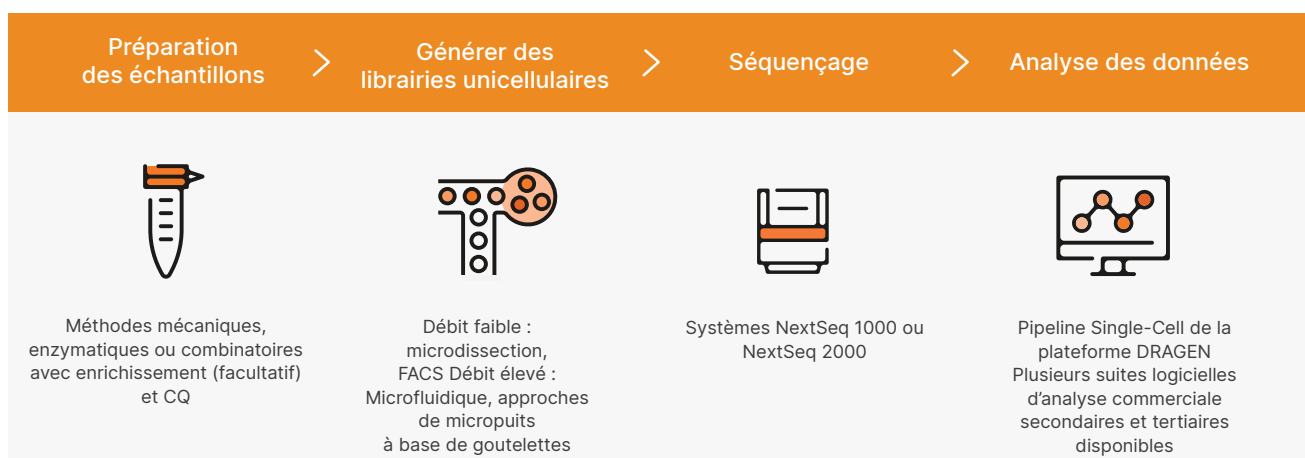


Figure 2 : Flux de travail NextSeq 1000 et NextSeq 2000 scRNA-Seq : les systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000 font partie d'un flux de travail de SNG intégré qui passe de la préparation initiale des tissus à la préparation de l'isolement et de la bibliothèque unicellulaires, au séquençage et à l'analyse primaire, ainsi qu'à la visualisation et l'interprétation des données.

Préparation des tissus et isolement des cellules

Les premières méthodes d'isolement unicellulaire étaient un débit faible, capable de traiter seulement des dizaines à quelques milliers de cellules par expérience. La disponibilité de méthodes microfluidiques à haut débit pour l'isolement cellulaire permet désormais aux chercheurs d'examiner des centaines à des dizaines de milliers de cellules par expérience de manière rentable. Les chercheurs peuvent choisir parmi un vaste écosystème de fournisseurs de préparation de tissus, d'isolement unicellulaire et de préparation de bibliothèques, ce qui permet d'adapter les études scRNA-Seq à une grande variété de tissus, d'espèces, de types de cellules et de méthodes ([tableau 1](#)).

Les systèmes de séquençage NextSeq 1000 et NextSeq 2000

Les systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000 offrent la puissance et la flexibilité nécessaires pour répondre à un large éventail de besoins du projet, permettant l'ajustement des cellules par échantillon, des lectures par cellule et des échantillons par expérience. Que les chercheurs souhaitent séquençer plus profondément pour accéder à des transcrits à faible abondance ou séquençer plus de cellules ou d'échantillons, les systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000 offrent une solution rentable pour le séquençage et l'analyse primaire dans un système de séquençage de paillasse. Avec quatre types de Flow Cell disponibles, les chercheurs ont la flexibilité d'utiliser plusieurs méthodes d'analyse du SNG et de s'adapter à une variété de conceptions expérimentales. Si un débit d'échantillons encore plus élevé est nécessaire, les études peuvent être étendues à l'aide de la série NovaSeq^{MC} X ([tableau 2](#)).

Tableau 1 : Exemples de conceptions d'études pour scRNA-Seq^a

Méthode	Exemple de méthode d'isolement des cellules	Exemple de méthode de préparation de bibliothèques	Cellules par échantillon	Paires de lecture par cellule	Analyse des données
RNA-Seq pleine longueur	FACS	Takara SMARTer cDNA Synthesis Kits	100	1 million	ARN cellule unique DRAGEN
Amplification de l'étiquette d'extrémité de l'ARNm (3' WTA ou 5' WTA)	10x Genomics Chromium	Expression génique monocellulaire 10x Genomics Chromium	5 000	20 000	10x Genomics Cell Ranger ARN cellule unique DRAGEN
Capture basée sur une sonde d'ARN	10x Genomics Chromium	Expression génique unicellulaire 10x Genomics Flex	5 000	10 000	10x Genomics Cell Ranger ARN cellule unique DRAGEN
Panel ciblé	Système d'analyse unicellulaire BD Rhapsody	Analyse unicellulaire BD Rhapsody	5 000	2 000	Seven Bridges Genomics
Amplification de l'étiquette de l'ARNm (capture de 3')	Instrument Dolomite Bio Nadia	Trousse Dolomite Bio RNAdia	6 000	25 000	dropSeqPipe Partek Flow

a. Les numéros de cellule et de lecture indiqués sont fournis à titre d'illustration uniquement. Les numéros de cellule, de lecture et d'échantillon doivent être soigneusement sélectionnés en fonction des exigences de conception de l'étude. Téléchargez le [livre électronique sur le séquençage unicellulaire](#) pour obtenir plus de renseignements. WTA, amplification du transcriptome entier; BD, Becton Dickinson, FACS, tri cellulaire activé par fluorescence.

Tableau 2 : Débit d'échantillons RNA-Seq unicellulaire sur les systèmes de séquençage d'Illumina

Système de séquençage	Réactifs de séquençage	Nombre d'échantillons par Flow Cell ^a
Systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000	P1 100 cycles	1 ^b
	P2 100 cycles	4
	P3 ^c 100 cycles	11 À 12
	P4 ^c 100 cycles	16 À 17
NovaSeq X Series ^d	1.5B 100 cycles	15
	10B 100 cycles	96
	25B 300 cycles	250

- a. Calculé pour 5 000 cellules par échantillon et 20 000 paires de lectures par cellule; comprend 38 cycles supplémentaires pour prendre en charge les identifiants moléculaires uniques (UMI). Le nombre de cellules par échantillon et les paires de lecture par cellule dépendent de l'application et du type d'échantillon que vous souhaitez.
- b. Les réactifs P1 sont une bonne option pour les expériences de contrôle de la qualité.
- c. Les réactifs P3 et P4 sont disponibles uniquement pour le système NextSeq 2000.
- d. Le système NovaSeq X Plus peut analyser des Flow Cell uniques ou des doubles Flow Cell. Le système NovaSeq X peut analyser des Flow Cell uniques.

Allez plus loin avec la chimie XLEAP-SBS

Les systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000 sont alimentés par la chimie XLEAP-SBS, la chimie SBS d'Illumina la plus rapide, de la plus haute qualité et la plus robuste à ce jour. Basée sur les bases éprouvées de la chimie SBS standard d'Illumina, la chimie XLEAP-SBS offre une meilleure stabilité des réactifs avec des temps d'incorporation deux fois plus rapides. Pour le scRNA-Seq, cela permet d'obtenir des estimations de facteur de changement plus précises et une sensibilité supérieure lors de la détection des gènes, des transcrits et des codes à barres unicellulaires. Avec le débit de lecture le plus élevé et le prix le plus bas par million de lectures de tout système de séquençage de paillasse Illumina, les systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000 permettent aux chercheurs d'accéder à :

- Plus de lectures par cellule pour recueillir des renseignements sur les transcrits à faible abondance
- Plus de cellules et d'échantillons pour renforcer les conceptions expérimentales dans un budget de recherche donné
- Conditions, points temporels ou méthodes supplémentaires pour étudier des facettes plus complexes de la biologie

Flexibilité inter-applications

Au-delà de scRNA-Seq, les systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000 offrent une grande flexibilité inter-applications, permettant aux chercheurs de passer facilement d'un projet de séquençage à l'autre. Les systèmes sont compatibles avec une large gamme de trousse de préparation de bibliothèques d'Illumina et de tiers, ce qui permet de passer facilement de RNA-Seq en lots, de scRNA-Seq, de séquençage de l'exome et d'autres applications d'Illumina. Les renseignements multiomiques sont plus accessibles avec le débit plus élevé des Flow Cell P4. Par exemple, les chercheurs peuvent associer le scRNA-Seq au séquençage de l'exome sur les systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000 pour évaluer si les variants de codage ont un impact sur l'expression des transcrits, ou effectuer l'ATAC-Seq^{*} pour analyser l'accessibilité à la chromatine et mieux caractériser la régulation fonctionnelle.

Rationalisez l'analyse des données unicellulaires

Les données de séquençage générées avec les systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000 sont disponibles dans des formats normalisés compatibles avec un vaste écosystème d'outils logiciels de séquençage monocellulaires commerciaux et à source ouverte, y compris des logiciels commerciaux tels que Cell Ranger (10x Genomics) et SeqGeq (FlowJo/BD Biosciences), et des outils à source ouverte tels que Seurat¹ et Monocle².

L'analyse des données de scRNA-Seq peut être effectuée à l'aide des outils d'analyse secondaire Illumina DRAGEN^{MC,†}, une suite de pipelines d'analyse de données précis, complets et efficaces. Les systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000 offrent le pipeline Single-Cell de la plateforme DRAGEN en tant que pipeline d'analyse de données intégré, capable d'accélérer l'analyse des données, d'améliorer la précision avec la correction des erreurs et de prendre en charge diverses conceptions de codes à barres personnalisés pour permettre de nouvelles méthodes unicellulaires. Le pipeline Single-Cell de la plateforme DRAGEN peut également être lancé sur le nuage dans BaseSpace^{MC} Sequence Hub ou Illumina Connected Analytics. Au-delà de scRNA-Seq, Illumina propose une vaste collection d'outils logiciels d'analyse de données commerciaux et open source pour prendre en charge les méthodes supplémentaires nécessaires à la réalisation d'un projet de recherche.

* ATAC-Seq, test de la chromatine accessible à la transposase avec séquençage.

† Le matériel DRAGEN est inclus dans les systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000. Une licence DRAGEN est incluse avec l'instrument et n'a pas besoin d'être achetée séparément.

Assistance technique complète d'Illumina

Illumina fournit une équipe de soutien de catégorie mondiale composée de scientifiques expérimentés qui sont experts dans la préparation de bibliothèques, le séquençage et l'analyse. Cette équipe dévouée comprend des techniciens d'assistance sur le terrain (FSE) hautement qualifiés, des scientifiques des applications techniques (TAS), des scientifiques des applications de terrain (FAS), des ingénieurs de support système, des bio-informaticiens et des experts en réseaux informatiques, tous parfaitement familiarisés avec le séquençage de nouvelle génération (SNG) et les applications que les clients d'Illumina exécutent à travers le monde entier. [L'assistance technique](#) est disponible par téléphone cinq jours par semaine ou via l'assistance en ligne, offerte en tout temps, de partout dans le monde et en plusieurs langues.

Grâce à ce service et à cette assistance inégalés, Illumina aide les utilisateurs à maximiser l'efficacité de leur système NextSeq 1000 et NextSeq 2000, à former de nouveaux employés et à apprendre les dernières techniques et meilleures pratiques.

Résumé

Les systèmes de séquençage NextSeq 1000 et NextSeq 2000 offrent une solution flexible pour scRNA-Seq, offrant une vue claire et complète du transcriptome unicellulaire et permettant aux laboratoires d'étendre l'ensemble des outils à leur disposition. Différentes configurations de Flow Cell permettent aux chercheurs d'ajuster les cellules par expérience et les paires de lectures par cellule pour répondre à leurs besoins. En combinant la puissance, la vitesse et la flexibilité des systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000 avec un vaste écosystème de solutions logicielles et de préparation de bibliothèques, le scRNA-Seq sur les systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000 permet aux chercheurs d'accéder à une compréhension plus approfondie du transcriptome à une résolution unicellulaire.

En savoir plus

[Séquençage d'ARN unicellulaire](#)

[NextSeq 1000 and NextSeq 2000 Sequencing Systems](#)

[Analyse secondaire DRAGEN](#)

[Données de démonstration sur BaseSpace Sequence Hub](#)

Références

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

Renseignements relatifs à la commande

Produit	N° de référence
NextSeq 2000 Sequencing System	20038897
NextSeq 1000 Sequencing System	20038898
Mise à niveau du NextSeq 1000 et NextSeq 2000	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

Renseignements relatifs à la commande

Produit	N° de référence
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. Les trousse de réactifs XLEAP-SBS pour les instruments NextSeq 1000 et NextSeq 2000 sont expédiées et stockées à la même température que les trousse de réactifs SBS standard.

b. Réactifs XLEAP-SBS pour Flow Cell P1, P2 et P3 disponibles au 2e trimestre 2024.

c. Pour l'analyse CQ.



Numéro sans frais aux États-Unis : + (1) 800 809-4566 | Téléphone : + (1) 858 202-4566
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2024 Illumina, Inc. Tous droits réservés. Toutes les marques de commerce sont la propriété d'Illumina, Inc. ou de leurs détenteurs respectifs. Pour obtenir des renseignements sur les marques de commerce, consultez la page www.illumina.com/company/legal.html.
M-GL-00478 FRA v3.0