

Solución de secuenciación de ARN de células individuales de NextSeqTM 1000 y NextSeq 2000

Flujo de trabajo rentable y adaptable
para medir la expresión genética
en células individuales

- Protocolos fiables para la generación de datos de células individuales mediante un amplio ecosistema de soluciones de secuenciación de Illumina y de terceros.
- Productividad de secuenciación flexible para admitir una amplia gama de experimentos con células individuales.
- Análisis de alta resolución para descubrir diferencias celulares normalmente ocultas mediante métodos de muestreo masivo.



Introducción

La secuenciación de células individuales es un método de secuenciación de nueva generación (NGS, next-generation sequencing) que examina los transcriptomas de células individuales, lo que proporciona una vista de alta resolución de la variación entre células. A diferencia de la secuenciación de ARN (RNA-Seq, RNA sequencing) tradicional, en la que se muestrean en masa poblaciones de células, los métodos de secuenciación de ARN de células individuales de alta sensibilidad (scRNA-Seq, single-cell RNA sequencing) permiten a los investigadores explorar la biología específica de las células individuales en tejidos complejos y comprender las respuestas de la subpoblación celular a las señales medioambientales. Estos ensayos mejoran el estudio de la función celular y la heterogeneidad en procesos dependientes del tiempo, como la diferenciación, la proliferación y la carcinogénesis.

La scRNA-Seq ofrece varias ventajas con respecto a los métodos de muestreo masivo. Estas ventajas permiten a los investigadores:

- Identificar tipos de células y atribuir actividades transcripcionales a tipos de células específicos.
- Descubrir nuevos tipos de células que pueden tener funciones novedosas en sistemas complejos.
- Detectar patrones transcripcionales en tipos de células de baja frecuencia que se ocultarían en métodos de muestreo masivo.
- Resolver los cambios transcripcionales hasta los tipos de células individuales para documentar los modelos mecanicistas y de vías.



Figura 1: NextSeq 1000 Sequencing System y NextSeq 2000 Sequencing System. NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System aprovechan la química XLEAP-SBS para optimizar los flujos de trabajo de secuenciación.

Una solución de scRNA-Seq flexible

NextSeq 1000 Sequencing System y NextSeq 2000 Sequencing System (figura 1) aprovechan la química XLEAP-SBS™ de secuenciación por síntesis (SBS) de Illumina como parte de un flujo de trabajo completo de scRNA-Seq. La scRNA-Seq incluye la preparación inicial de tejidos, una amplia gama de opciones de aislamiento de células individuales y preparación de librerías, secuenciación y análisis principal, y visualización e interpretación de datos (figura 2).



Figura 2: Flujo de trabajo de scRNA-Seq de NextSeq 1000 y NextSeq 2000. NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System forman parte de un flujo de trabajo de NGS integrado que abarca la preparación inicial de tejidos mediante el aislamiento de células individuales y la preparación de librerías, la secuenciación y el análisis principal, y la visualización e interpretación de datos.

Preparación del tejido y aislamiento de células

Los métodos de aislamiento de células individuales anteriores tenían una baja productividad y capacidad para procesar de unas decenas a unos pocos miles de células por experimento. La disponibilidad de métodos basados en microfluídica de alta productividad para el aislamiento de células ahora permite a los investigadores examinar de cientos a decenas de miles de células por experimento de una manera rentable. Los investigadores pueden elegir entre un amplio ecosistema de proveedores de preparación de tejidos, aislamiento de células individuales y preparación de librerías, lo que permite adaptar los estudios de scRNA-Seq a una amplia variedad de tejidos, especies, tipos celulares y métodos (tabla 1).

NextSeq 1000 Sequencing System y NextSeq 2000 Sequencing System

NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System ofrecen la capacidad y adaptabilidad para satisfacer una amplia gama de necesidades de proyectos, lo que permite ajustar las células por muestra, las lecturas por célula y las muestras por experimento. Tanto si los investigadores desean secuenciar más a fondo para acceder a transcritos de menor abundancia o secuenciar más células o muestras, NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System ofrecen una solución rentable para la secuenciación y el análisis principal en un sistema de secuenciación de sobremesa. Con cuatro tipos de celdas de flujo disponibles, los investigadores tienen la posibilidad de utilizar diversos métodos de análisis de NGS y adaptarse a diversos diseños de experimentos. Si se necesita una productividad de muestras aún mayor, pueden ampliarse los estudios con NovaSeq™ X Series (tabla 2).

Tabla 1: Ejemplos de diseños de estudios para scRNA-Seq^a

Método	Ejemplo de método de aislamiento celular	Ejemplo de método de preparación de librerías	Células por muestra	Pares de lectura por célula	Análisis de datos
RNA-Seq de longitud completa	FACS	Takara SMARTer cDNA Synthesis Kits	100	1 M	DRAGEN Single-Cell RNA
Amplificación de marcadores finales del ARNm (WTA 3' o WTA 5')	10x Genomics Chromium	10x Genomics Chromium Single Cell Gene Expression	5000	20 000	10x Genomics Cell Ranger
					DRAGEN Single-Cell RNA
Captura basada en sonda de ARN	10x Genomics Chromium	10x Genomics Single Cell Gene Expression Flex	5000	10 000	10x Genomics Cell Ranger DRAGEN Single-Cell RNA
Panel selectivo	BD Rhapsody Single-Cell Analysis System	BD Rhapsody Single-Cell Analysis	5000	2000	Seven Bridges Genomics
Amplificación de marcadores finales del ARNm (captura de 3')	Dolomite Bio Nadia Instrument	Dolomite Bio RNAdia Kit	6000	25 000	dropSeqPipe
					Partek Flow

a. Los números de células y lecturas indicados solo tienen fines ilustrativos. Los números de células, lecturas y muestras deben seleccionarse cuidadosamente en función de los requisitos de diseño del estudio. Para obtener más información, descargue el [libro electrónico sobre secuenciación de células individuales](#). WTA, amplificación del transcriptoma completo; BD, Becton Dickinson; FACS, clasificación celular activada por fluorescencia.

Tabla 2: Productividad de muestras de RNA-Seq de células individuales en los sistemas de secuenciación de Illumina

Sistema de secuenciación	Reactivos de secuenciación	N.º de muestras por celda de flujo ^a
NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System	P1 100 ciclos	1 ^b
	P2 100 ciclos	4
	P3 ^c 100 ciclos	11-12
	P4 ^c 100 ciclos	16-17
NovaSeq X Series ^d	1.5B 100 ciclos	15
	10B 100 ciclos	96
	25B 300 ciclos	250

- a. Calculado para 5000 células por muestra y 20 000 pares de lectura por célula; incluye 38 ciclos adicionales para admitir identificadores moleculares únicos (UMI, unique molecular identifier). El número de células por muestra y pares de lectura por célula depende de la aplicación y el tipo de muestra que desee.
- b. Los reactivos P1 son una buena opción para los experimentos de control de calidad.
- c. Los reactivos P3 y P4 solo están disponibles para NextSeq 2000 System.
- d. NovaSeq X Plus System puede realizar experimentos en celdas de flujo únicas o celdas de flujo dobles. NovaSeq X System puede realizar experimentos en celdas de flujo únicas.

Descubra más con la química XLEAP-SBS

NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System cuentan con la química XLEAP-SBS, que es la química de SBS de Illumina más rápida, de mayor calidad y más potente hasta la fecha. Basada en la química SBS estándar probada de Illumina, la química XLEAP-SBS ofrece una estabilidad mejorada de los reactivos con tiempos de incorporación dos veces más rápidos. En el caso de la scRNA-Seq, esto da como resultado estimaciones de múltiplo de cambio más precisas y una sensibilidad superior al detectar genes, transcritos y códigos de barras de células individuales. Con el mayor rendimiento de lectura y el menor precio por millón de lecturas de cualquier sistema de secuenciación de sobremesa de Illumina, NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System permiten a los investigadores acceder a:

- Más lecturas por célula para capturar información sobre transcritos de menor abundancia.
- Más células y muestras para impulsar diseños de experimentos dentro de un presupuesto de investigación determinado.
- Condiciones, puntos temporales o métodos adicionales para investigar facetas más complejas de la biología.

Adaptabilidad entre todas las aplicaciones

Más allá de la scRNA-Seq, NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System ofrecen una amplia adaptabilidad entre todas las aplicaciones, lo que permite a los investigadores realizar una transición fácil entre proyectos de secuenciación. Los sistemas son compatibles con una amplia gama de kits de preparación de librerías de Illumina y de terceros, lo que permite una transición fácil entre la RNA-Seq masiva, la scRNA-Seq, la secuenciación del exoma y otras aplicaciones de Illumina. Los conocimientos multiómicos son más accesibles gracias al mayor rendimiento de las celdas de flujo P4. Por ejemplo, los investigadores pueden emparejar la scRNA-Seq con la secuenciación del exoma en NextSeq 1000 System o NextSeq 2000 System para evaluar si las variantes de codificación afectan a la expresión de transcritos o realizar ensayos de cromatina accesible por transposasa con secuenciación (ATAC-Seq, assay for transposase accessible chromatin with sequencing)* para analizar la accesibilidad de la cromatina y caracterizar mejor la regulación funcional.

Optimice el análisis de datos de células individuales

Los datos de secuenciación generados con NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System están disponibles en formatos estandarizados compatibles con un amplio ecosistema de herramientas de software de secuenciación de células individuales comerciales y de código abierto, incluido software comercial, como Cell Ranger (10x Genomics) y SeqGeq (FlowJo/BD Biosciences), y herramientas de código abierto, como Seurat¹ y Monocle.²

El análisis de datos de scRNA-Seq se puede realizar con herramientas de análisis secundario de DRAGEN™ de Illumina,[†] un paquete de procesos de análisis de datos precisos, completos y eficientes. NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System ofrecen el proceso DRAGEN Single-Cell como proceso de análisis de datos integrado, capaz de acelerar el análisis de datos, mejorar la precisión de corrección de errores y con compatibilidad con diversos diseños de adición de códigos de barras personalizados para posibilitar nuevos métodos con células individuales. El proceso DRAGEN Single-Cell también puede emplearse en la nube en BaseSpace™ Sequence Hub o Illumina Connected Analytics. Más allá de la scRNA-Seq, Illumina ofrece una amplia colección de herramientas de software de análisis de datos comerciales y de código abierto para admitir métodos adicionales necesarios para completar un proyecto de investigación.

* ATAC-Seq, ensayo de cromatina accesible por transposasa con secuenciación.

† El hardware DRAGEN se encuentra integrado en NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System. El instrumento incluye una licencia de DRAGEN y no es necesario adquirirla por separado.

Servicio de asistencia técnica integral de Illumina

Illumina proporciona un equipo de asistencia técnica de alto nivel compuesto por científicos expertos en la preparación, secuenciación y análisis de librerías. Este equipo específico incluye ingenieros de servicio de campo (FSE, field service engineers) muy cualificados, científicos de aplicaciones técnicas (TAS, technical applications scientists), científicos de aplicaciones de campo (FAS, field applications scientists), ingenieros de asistencia técnica de sistemas, bioinformáticos y expertos en redes informáticas, todos ellos ampliamente familiarizados con la NGS y las aplicaciones que los clientes de Illumina llevan a cabo en todo el mundo. El [servicio de asistencia técnica](#) está disponible por teléfono cinco días a la semana; también puede acceder a esta en línea las 24 horas del día y los 7 días de la semana, en todo el mundo y en varios idiomas.

Con este servicio y asistencia inigualables, Illumina ayuda a los usuarios a aumentar al máximo la eficacia de sus NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System, formar a nuevos empleados y aprender las últimas técnicas y prácticas recomendadas.

Resumen

NextSeq 1000 Sequencing System y NextSeq 2000 Sequencing System ofrecen una solución adaptable para scRNA-Seq, lo que proporciona una visión clara y completa del transcriptoma de células individuales y permite a los laboratorios ampliar el juego de herramientas a su disposición. Las diferentes configuraciones de celdas de flujo permiten a los investigadores ajustar las células por experimento y los pares de lectura por célula para satisfacer sus necesidades. Al combinar la capacidad, la velocidad y la adaptabilidad de NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System con un amplio ecosistema de soluciones de software y preparación de librerías, la scRNA-Seq en NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System permite a los investigadores acceder a una comprensión más profunda del transcriptoma con resolución de una sola célula.

Información adicional

[Secuenciación de ARN de células individuales](#)

[NextSeq 1000 Sequencing System y NextSeq 2000 Sequencing System](#)

[Análisis secundario de DRAGEN](#)

[Datos de demostración en BaseSpace Sequence Hub](#)

Bibliografía

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

Datos para realizar pedidos

Producto	N.º de 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

Datos para realizar pedidos

Producto	N.º de 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. Los kits de reactivos XLEAP-SBS para los instrumentos NextSeq 1000 y NextSeq 2000 se envían y almacenan a la misma temperatura que los kits de reactivos de SBS estándar.

b. Reactivos XLEAP-SBS para celdas de flujo P1, P2 y P3 disponibles en el segundo trimestre de 2024.

c. Para el análisis de CC.



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-00478 ESP v3.0