

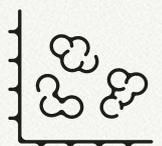
# illumina Single Cell 3' RNA Prep

Le scRNA-Seq accessible et évolutif

Flux de travail de paillasse simple et abordable pouvant être réalisé par des utilisateurs de tout niveau d'expérience

Sensibilité élevée du test pour détecter plus de gènes et de transcrits

Plage de traitement rentable allant jusqu'à des centaines de milliers de cellules pour révéler des types de cellules rares



## Introduction

Le séquençage d'ARN unicellulaire (scRNA-Seq, Single-cell RNA Sequencing) associe la capture unicellulaire et l'attribution d'un code à barres au séquençage de nouvelle génération (SNG) pour fournir une vue haute résolution des tissus complexes. Les chercheurs peuvent utiliser le scRNA-Seq pour étudier des populations cellulaires hétérogènes, découvrir des types de cellules rares et caractériser les processus pathologiques et développementaux au niveau cellulaire. Cependant, le besoin d'équipement spécialisé, les coûts élevés des réactifs et les possibilités d'évolution limitées ont ralenti l'adoption à grande échelle du séquençage unicellulaire. Cela change avec Illumina Single Cell 3' RNA Prep.

Illumina Single Cell 3' RNA Prep\* permet la capture d'ARNm unicellulaire, l'attribution d'un code à barres et la préparation de bibliothèques sans flux de travail complexes ni microfluidique. Associé aux solutions informatiques et de séquençage d'Illumina, Illumina Single Cell 3' RNA Prep fournit un flux de travail simple et évolutif (figure 1) qui rend le scRNA-Seq haute performance accessible à un plus grand nombre de laboratoires.

## Flux de travail accessible

Le flux de travail d'Illumina Single Cell 3' RNA Prep est facile à mettre en œuvre et ne nécessite pas d'équipement microfluidique coûteux ni de protocoles exigeants en main-d'œuvre<sup>†</sup>. Les utilisateurs peuvent effectuer des études unicellulaires sur leur paillasse à l'aide d'un flux de travail manuel simple à points d'arrêt flexibles. Pour les échantillons prélevés sur une période donnée ou qui nécessitent un transport, le test est compatible avec la fixation au DSP-méthanol<sup>†</sup> avant le traitement des échantillons, ce qui élargit l'utilité des expériences de scRNA-Seq.

## Fonctionnement du test

Illumina Single Cell 3' RNA Prep utilise la nouvelle chimie PIPseq<sup>MC</sup> pour la capture de l'ARNm unicellulaire et l'attribution d'un code à barres simples et évolutives (figure 2)<sup>1</sup>. Les partitionnements instantanés par modèles particuliers (PIP, Particle-templated Instant Partition) utilisent l'émulsification avec des particules modèles qui comprennent des oligonucléotides à code à barres liés aux billes d'hydrogel. Pendant la préparation des échantillons, la suspension cellulaire d'intérêt est mélangée aux particules modèles et à l'huile et séparée en émulsions modélisées par agitation. Les cellules des émulsions sont ensuite lysées et l'ARNm est capturé par les modèles à code à barres. L'émulsion est rompue et l'ADNc est généré à partir de l'ARNm capturé par transcription inverse et amplifié pour créer une bibliothèque d'ADNc pour chaque cellule individuelle.

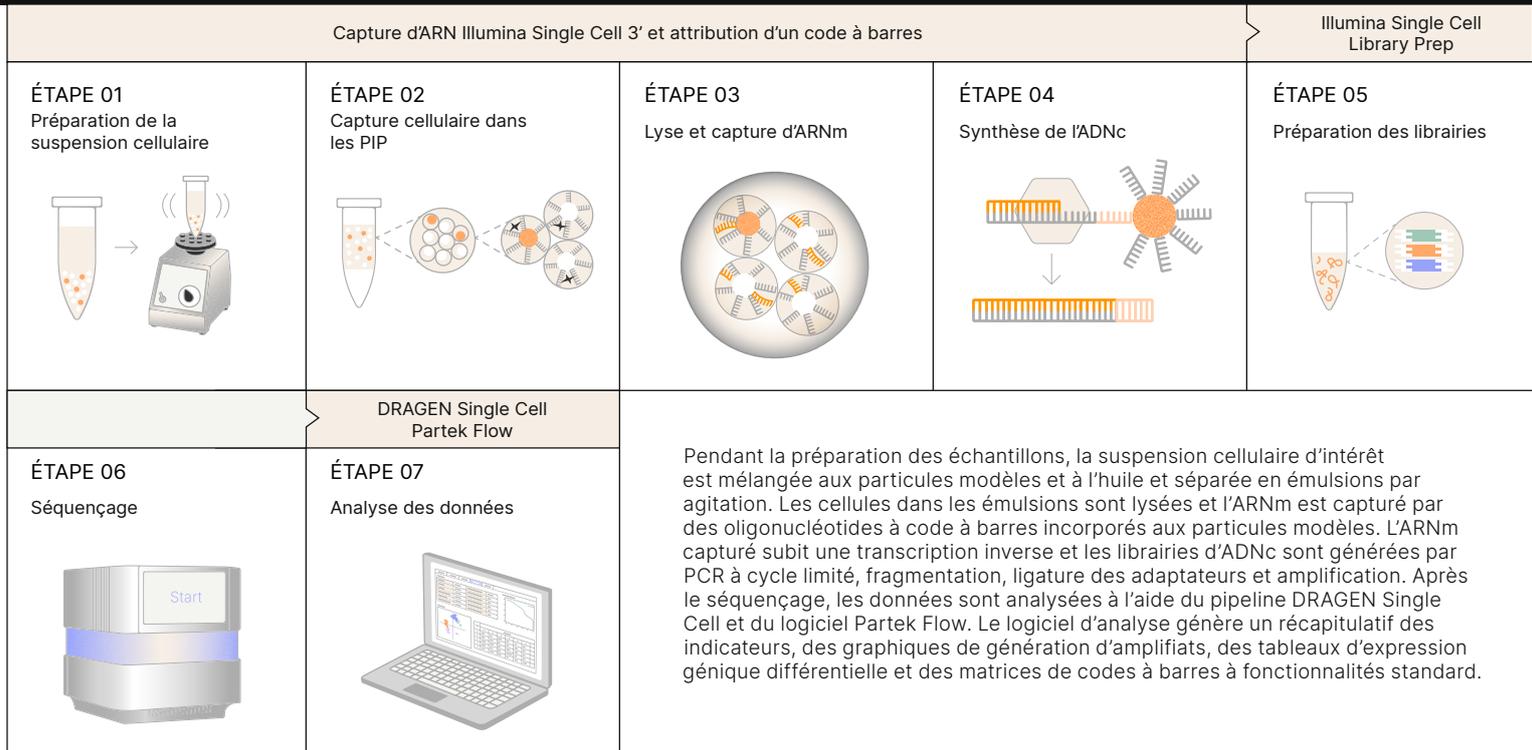
\* Illumina Single Cell 3' RNA Prep était auparavant appelé Fluent PIPseq V 3' Single Cell RNA Kit.

† DSP, dithiobis (succinimidyl propionate) (dithiobis (propionate de succinimide)).

Figure 1 : Flux de travail d'Illumina Single Cell 3' RNA



Figure 2 : Capture d'ARNm unicellulaire et attribution d'un code à barres avec la chimie PIPseq

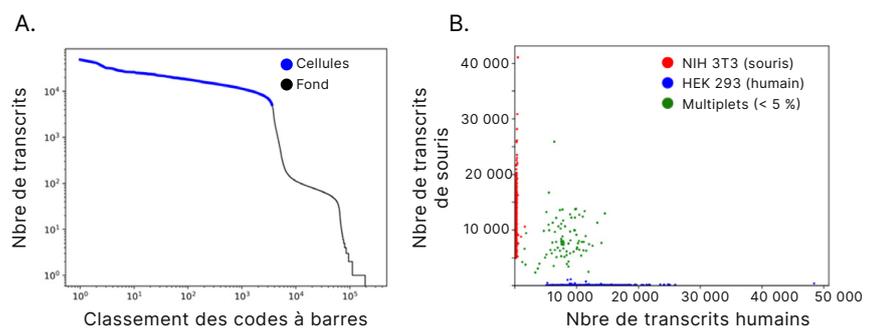


Les bibliothèques d'ADNc unicellulaires sont ensuite traitées en bibliothèques de séquençage à l'aide de méthodes de préparation de bibliothèques standard suivies du SNG. Les données de séquençage sont analysées à l'aide du pipeline DRAGEN<sup>MC</sup> Single Cell et du logiciel Partek<sup>MC</sup> Flow.

## Performance de haute qualité

Illumina Single Cell 3' RNA Prep offre des données de haute qualité avec une sensibilité élevée dans la détection des transcrits et des gènes (figure 3, figure 4, tableau 1). La technique d'isolation douce permet de détecter les cellules fragiles qui ne sont souvent pas détectées par d'autres méthodes.

Figure 3 : Le scRNA-Seq haute résolution capture l'ARNm à partir de cellules uniques



(A) Graphique de classement des codes à barres et (B) diagramme de dispersion désordonné avec culture mixte des lignées cellulaires NIH3T3 (souris) et HEK 293 (humain), 4 106 cellules détectées, un taux de capture de 80 % et moins de 5 % de multipliets (deux cellules ou plus dans la même réaction) avec Illumina Single Cell 3' RNA Prep T2 Kit.

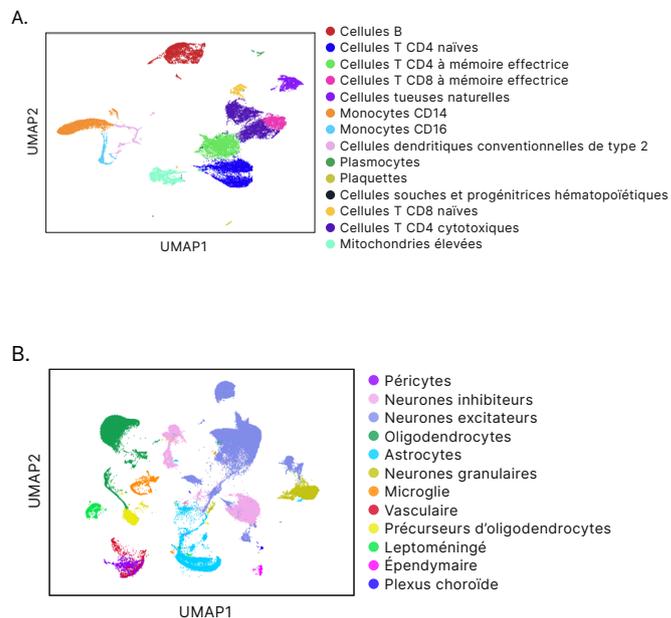
La dernière version de la chimie PIPseq réduit le fond d'ARN ambiant, améliorant la sensibilité de 30 % pour les gènes et les transcrits de certains types de cellules<sup>2</sup> et réduisant les artefacts de séquençage pour des données de SNG plus exploitables.

## Solution flexible et évolutive

La méthode simple basée sur un agitateur pour Illumina Single Cell 3' RNA Prep offre une évolutivité rentable. Pour un plus grand nombre de cellules, utilisez des tubes de PIP de plus grand volume<sup>1</sup>. La large plage de traitement allant de centaines à des centaines de milliers de cellules prend en charge les besoins des applications de recherche, des projets pilotes et à faible diversité cellulaire aux analyses de tissus complexes<sup>1</sup>.

Les configurations de trousse actuelles peuvent profiler jusqu'à 2 000 cellules par échantillon (trousse T2), 10 000 cellules par échantillon (trousse T10), 20 000 cellules par échantillon (trousse T20) ou 100 000 cellules par échantillon (trousse T100). La capacité du test à augmenter le débit cellulaire permet de mieux révéler les types de cellules rares (figure 5). Avec 96 index doubles uniques disponibles, le multiplexage des échantillons permet aux utilisateurs d'analyser de nombreux échantillons en parallèle (tableau 2).

Figure 4 : Le scRNA-Seq haute résolution pour s'adapter à l'échelle expérimentale et à l'application



(A) L'approximation et la projection uniformes du collecteur (UMAP, Uniform Manifold Approximation and Projection) de cellules mononucléées de sang périphérique humain (PBMC, Peripheral Blood Mononuclear Cell) cryoconservées, 31 613 cellules détectées et un taux de capture de 79 % avec Illumina Single Cell 3' RNA Prep T20 Kit. (B) UMAP des noyaux cérébraux de souris à partir de tissus congelés, 155 000 noyaux détectés et un taux de capture de 78 % avec Illumina Single Cell 3' RNA Prep T100 Kit.

Tableau 1 : Performance validée d'Illumina Single Cell 3' RNA Prep sur les systèmes de séquençage d'Illumina

Type de cellule	Taille de la trousse	Système de séquençage	Taille	Lectures	Cellules	Lectures par cellule
HEK/3T3	T2	NextSeq 2000 System	9,8 Gb	140 millions	3 611	38 633
HEK/3T3	T10	NextSeq 2000 System	23,6 Gb	333 millions	10 723	31 140
PBMC	T10	NovaSeq 6000 System	390 Gb	2,7 milliards	14 307	190 526
PBMC	T20	NovaSeq X Plus System	81,3 Gb	674 millions	31 613	21 314
Noyaux pulmonaires de souris	T20	NextSeq 2000 System	8,9 Gb	131 millions	2 768	47 276
Noyaux cérébraux de souris	T20	NextSeq 2000 System	10,4 Gb	155 millions	2 019	76 784
Noyaux cérébraux de souris (fixés)	T20	NextSeq 2000 System	39,5 Gb	590 millions	34 596	17 041
Noyaux cérébraux de souris	T100	NextSeq 2000 System	176,6 Gb	2,6 milliards	155 000	17 068

## Applications de cellules uniques

L'accessibilité, la précision et la sensibilité d'Illumina Single Cell 3' RNA Prep permettent de nouvelles recherches et découvertes. Le traitement d'un nombre de cellules plus élevé accélérera les projets d'atlas des cellules pour les états normaux et pathologiques et alimentera les dépistages génomiques fonctionnels à l'échelle du génome. L'adoption plus large du scRNA-Seq bénéficiera particulièrement aux laboratoires qui étudient le cancer, l'immunologie, les neurosciences et d'autres maladies complexes<sup>3-9</sup>.

### Le scRNA-Seq pour les neurosciences

Les tissus neuronaux comprennent une organisation complexe de divers types de cellules qui se réorganisent et se remodelent continuellement tout au long de la durée de vie d'un organisme. Le scRNA-Seq est un outil précieux pour cataloguer la véritable diversité des populations de cellules neuronales avec une sensibilité transcriptionnelle, fournissant des renseignements sur :

- les maladies neurodéveloppementales et neurodégénératives<sup>9</sup>;
- les rôles auparavant inconnus de populations neuronales spécifiques<sup>9</sup>;
- l'effet des cellules neuro-immunes sur la maladie et le développement<sup>10</sup>.

### Le scRNA-Seq pour la recherche sur le cancer

Le cancer est une maladie dynamique et diversifiée impliquant des populations cellulaires complexes. Comprendre les types de cellules et les mutations à l'origine du cancer nécessite des méthodes sophistiquées. Le scRNA-Seq a été un outil essentiel pour :

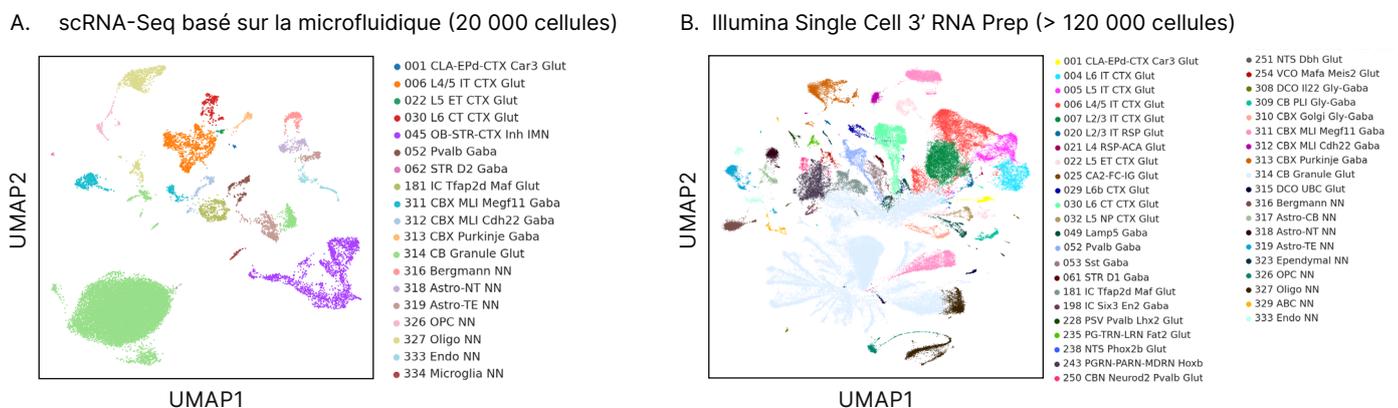
- l'hétérogénéité détaillée du microenvironnement tumoral<sup>4,5,11,12</sup>;
- identifier de nouveaux biomarqueurs du cancer<sup>13,14</sup>;
- comprendre les mécanismes de l'immunothérapie et de la résistance aux médicaments<sup>3</sup>.

### Le scRNA-Seq pour l'immunologie

Le système immunitaire est composé d'une hiérarchie complexe de divers types de cellules qui fonctionnent de concert pour identifier, cibler et éliminer les agents pathogènes. Le scRNA-Seq permet aux chercheurs de :

- comprendre les voies de développement et de différenciation dans les populations de cellules immunitaires<sup>15</sup>;
- évaluer les rôles et les fonctions des populations de cellules immunitaires<sup>12,16</sup>;
- étudier la réponse immunitaire aux agents pathogènes<sup>6</sup>.

Figure 5 : L'augmentation de l'échelle expérimentale avec Illumina Single Cell 3' RNA Prep révèle plus de types de cellules



(A) Le scRNA-Seq basé sur la microfluidique sur 20 000 cellules a identifié 19 types de cellules distincts à partir de noyaux cérébraux de souris. (B) Illumina Single Cell 3' RNA Prep sur > 120 000 cellules de la même préparation d'échantillons de noyaux cérébraux de souris a identifié 42 types de cellules distincts : 17 des 19 identifiés par le scRNA-seq basé sur la microfluidique plus 25 types de cellules supplémentaires.

Tableau 2 : Exemple de débit d'échantillon par Flow Cell pour Illumina Single Cell 3' RNA Prep<sup>a</sup>

Système	NextSeq 550		NextSeq 1000/2000				NovaSeq 6000				NovaSeq X		
Flow Cell	Moyen	Élevé	P1	P2	P3 <sup>b</sup>	P4 <sup>b</sup>	SP	S1	S2	S4	1.5B	10B	25B
Débit par Flow Cell (lectures)	130 millions	400 millions	100 millions	400 millions	1,2 milliard	1,8 milliard	800 millions	1,6 milliard	4,1 milliards	10 milliards	1,6 milliard	10 milliards	26 milliards
Taille de la trousse	Nombre d'échantillons par Flow Cell												
T2	1	4	1	4	12	18	8	16	41	100 <sup>c</sup>	16	100 <sup>c</sup>	260 <sup>c</sup>
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. Calculs basés sur 20 000 lectures par cellule d'entrée. T2 nécessite 5 000 cellules d'entrée et 100 millions de lectures par échantillon. T10 nécessite 17 000 cellules d'entrée et 340 millions de lectures par échantillon. T20 nécessite 40 000 cellules d'entrée et 800 millions de lectures par échantillon. T100 nécessite 200 000 cellules d'entrée et 4 milliards de lectures par échantillon.

b. Flow Cell P3 et P4 uniquement disponibles sur NextSeq 2000 System.

c. Illumina Single Cell Unique Dual Indexes fournit 96 index pour 96 échantillons. L'analyse de plus de 96 échantillons par Flow Cell est possible avec le chargement de lignes individuelles. Utilisez le flux de travail NovaSeq 6000 Xp pour le chargement de lignes individuelles sur NovaSeq 6000 System.

## Applications multiomiques

Illumina Single Cell 3' RNA Prep est compatible avec d'autres mesures multiomiques<sup>1,17</sup>. Le test permet de réinterroger l'ARNm capturé pour des applications unicellulaires personnalisées. L'ADNc généré pendant la transcription inverse reste lié aux billes d'hydrogel, ce qui permet sa réutilisation pour des réactions d'enrichissement ou d'amplification supplémentaires. Cette polyvalence expérimentale peut aider les chercheurs à entreprendre des études multiomiques plus importantes et plus variées sans les contraintes budgétaires ou technologiques d'autres approches unicellulaires.

## Résumé

L'analyse de SNG unicellulaire ouvre la voie à de nouveaux domaines de découverte dans la recherche sur le cancer, l'immunologie, les neurosciences, etc. Illumina Single Cell 3' RNA Prep est une solution de scRNA-Seq accessible et hautement évolutive qui élargira la puissance de découverte pour les chercheurs novices et chevronnés du domaine unicellulaire. Le flux de travail manuel simple comprend la capture d'ARNm, l'attribution d'un code à barres et la préparation de bibliothèques qui s'intègrent facilement aux systèmes de séquençage et au logiciel d'analyse de données d'Illumina. Illumina Single Cell 3' RNA Prep offre des performances élevées et une facilité d'utilisation pour fournir des capacités de scRNA-Seq à plus de laboratoires.

### EN SAVOIR PLUS →

[Illumina Single Cell 3' RNA Prep](#)

[Séquençage d'ARN unicellulaire](#)

## Renseignements relatifs à la commande

Produit	N° de référence
Illumina Single Cell 3' RNA Prep, T2 (8 échantillons, 2 000 cellules/échantillon)	20135689
Illumina Single Cell 3' RNA Prep, T10 (8 échantillons, 10 000 cellules/échantillon)	20135691
Illumina Single Cell 3' RNA Prep, T20 (4 échantillons, 20 000 cellules/échantillon)	20135692
Illumina Single Cell 3' RNA Prep, T100 (2 échantillons, 100 000 cellules/échantillon)	20135693
Illumina Single Cell Unique Dual Indexes (96 index, 96 échantillons)	20132788
Illumina Single Cell Library Prep (8 réactions)	20132789
Illumina Single Cell 3' RNA Capture, T2 (8 échantillons, 2 000 cellules/échantillon)	20132790
Illumina Single Cell 3' RNA Capture, T10 (8 échantillons, 10 000 cellules/échantillon)	20132791
Illumina Single Cell 3' RNA Capture, T20 (4 échantillons, 20 000 cellules/échantillon)	20132792
Illumina Single Cell 3' RNA Capture, T100 (2 échantillons, 100 000 cellules/échantillon)	20132793
Illumina Single Cell Nuclei Isolation Kit (4 échantillons)	20132795
Illumina Single Cell Supplemental Enrichment and Amplification Kit	20132794
Illumina Single Cell Prep Starter Equipment	20132796

## Références

- 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](#). *Viral 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



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](http://www.illumina.com/company/legal.html).

M-GL-03195 FRA v1.0