

Séquençage unicellulaire et spatial sur les Flow Cell XLEAP-SBS^{MC} avec NextSeq^{MC} 1000 et NextSeq 2000

Effectuez des analyses
génomiques haute
résolution sur un système
de paillasse de pointe

Introduction

Les systèmes biologiques complexes relèvent des fonctions coordonnées de chaque cellule dans les tissus organisés. Les méthodes traditionnelles qui permettent l'examen d'échantillons dissociés en lots peuvent masquer l'hétérogénéité cellulaire et les relations spatiales qui sous-tendent cette complexité. Le séquençage unicellulaire et spatial sont des méthodes de séquençage de nouvelle génération (SNG) qui fournissent une vue haute résolution de la variation et de l'organisation d'une cellule à l'autre.

10x Genomics, un partenaire d'Illumina, a commercialisé plusieurs solutions de biologie spatiale et unicellulaire. Ces produits de préparation de bibliothèques et d'analyse largement adoptés reposent sur la précision et la simplicité des systèmes de séquençage d'Illumina. Les systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000 avec chimie XLEAP-SBS sont les systèmes de paillasse idéaux pour les études unicellulaires et spatiales, offrant flexibilité, évolutivité et données de grande qualité pour correspondre à la sensibilité de ces tests.

Séquençage d'ARN unicellulaire et spatial

Le profilage de l'expression génique au niveau unicellulaire ou avec un contexte spatial préservé augmente la puissance de découverte pour comprendre de manière plus approfondie et précise les mécanismes de développement et de maladie.

Le séquençage d'ARN unicellulaire (scRNA-Seq) utilise le partitionnement cellulaire et les codes à barres d'oligonucléotides pour examiner les transcriptomes de centaines, voire de dizaines de milliers de cellules individuelles. En fournissant une vue détaillée de la variation d'une cellule à l'autre, le scRNA-Seq facilite l'identification de nouveaux biomarqueurs et de types de cellules rares qui auraient été manqués avec le RNA-Seq en lots^{1,2}.

La transcriptomique spatiale combine des technologies d'imagerie et de séquençage à débit élevé pour montrer l'expression de l'ARNm au niveau cellulaire dans les tissus structurellement préservés. Associée à l'activité génique, la visualisation de la morphologie tissulaire peut aider les chercheurs à comprendre la relation spatiale entre les cellules dans les tissus normaux et malades.

Les approches de séquençage unicellulaire et spatial peuvent être appliquées à d'autres modalités que l'ARN, notamment l'ADN, l'épigénome ou les protéines. Par exemple, 10x Genomics propose des solutions multiomiques qui associent le scRNA-Seq à des tests pour l'accessibilité à la chromatine ou l'expression des protéines. Les solutions spatiales peuvent également mesurer l'expression de l'ARN et des protéines ensemble.

Systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000

Les systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000 sont alimentés par la chimie XLEAP-SBS, la chimie de séquençage par synthèse (SBS, Sequencing by Synthesis) 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 rapides³.

Les systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000 offrent l'évolutivité nécessaire pour répondre à un large éventail de besoins des projets unicellulaires ou spatiaux, permettant l'ajustement des cellules par échantillon, des lectures par cellule et des échantillons par expérience ([tableau 1](#), [tableau 2](#))^{*}. 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 accessible pour le séquençage et l'analyse primaire sur un système 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 de nombreuses conceptions expérimentales.

Cette note technique démontre la synergie de l'utilisation des systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000 pour les solutions unicellulaires et spatiales de 10x Genomics, à travers plusieurs types de bibliothèques et débits de Flow Cell. Nous comparons également les performances de la chimie XLEAP-SBS par rapport à celles de la chimie de SBS standard et fournissons des conseils sur la configuration de l'analyse, les performances de séquençage attendues et des exemples d'indicateurs d'analyse.

Méthodes

Tests de scRNA-Seq

Les tests d'expression génique unicellulaire Chromium de 10x Genomics offrent une solution rationalisée pour le scRNA-Seq. La technologie GEM-X améliore les performances et l'efficacité du flux de travail des tests Chromium, tout en fournissant une expression génique 3' du transcriptome unicellulaire et des capacités multiomiques. Le test Chromium Gene Expression Flex permet le profilage de l'expression génique pour des milliers, voire des centaines de milliers de cellules ou de noyaux fixes à l'aide d'une méthode sensible basée sur des sondes. Une expérience de scRNA-Seq typique avec les tests unicellulaires Chromium comporte un flux de travail de préparation des échantillons, de partitionnement et de codage cellulaires, de préparation des bibliothèques, de séquençage et d'analyse ([figure 1](#)).

* Pour les tests de biologie spatiale, les projets sont mesurés en termes de points tissulaires et de zones de capture au lieu de cellules.

Chromium GEM-X Single Cell 3' Gene Expression v4

Les échantillons pour le scRNA-Seq ont été préparés à partir de cellules mononucléées de sang périphérique humain (PBMC, Peripheral Blood Mononuclear Cell) cryoconservées. Les bibliothèques unicellulaires ont été préparées à l'aide des trousse Chromium GEM-X Single Cell 3' Reagent Kits v4 (10x Genomics, référence n° PN-1000691) en suivant le protocole du guide de l'utilisateur (10x Genomics, document n° CG000731, rév. A)⁴. Le séquençage a été effectué sur NextSeq 2000 System avec les trousse NextSeq 2000 XLEAP-SBS P4 Reagent Kit (100 cycles) (Illumina, référence n° 20100994). À titre de comparaison, les mêmes bibliothèques ont également été séquencées sur NextSeq 2000 System avec la trousse Standard SBS NextSeq 2000 P3 Reagent Kit (100 cycles) (Illumina, référence n° 20040559). Les configurations de l'analyse ont été effectuées selon les paramètres fournis par 10x Genomics : lecture 1 de 28 cycles, lectures d'index i5 et i7 de 10 cycles et lecture 2 de 90 cycles. La concentration de chargement pour les réactifs XLEAP-SBS et SBS standard était de 650 pM et 1 % de PhiX a été ajouté. L'analyse des données a été effectuée à l'aide de Cell Ranger Pipeline v8.0.0 (10x Genomics).

Chromium Single Cell Gene Expression Flex

Les échantillons ont été préparés à partir de PBMC humaines cryoconservées. Les cellules ont été fixées à l'aide de Chromium Next GEM Single Cell Fixed RNA Sample Preparation Kit (10x Genomics, référence n° PN-1000414) en suivant le protocole démontré (10x Genomics, document n° CG000478, rév. D)⁵. Les bibliothèques ont été préparées à l'aide de Chromium Fixed RNA Kit, Human Transcriptome (10x Genomics, référence n° PN-1000476) en suivant le protocole du guide de l'utilisateur (10x Genomics, document CG000527, rév. F)⁶. Le séquençage a été effectué sur NextSeq 2000 System avec la chimie XLEAP-SBS sur les Flow Cell P4 de 100 cycles et la chimie SBS standard sur les Flow Cell P3 de 100 cycles avec la longueur de lecture suivante : lecture 1 de 28 cycles, lectures d'index i7 et i5 de 10 cycles et lecture 2 de 90 cycles. La concentration de chargement était de 650 pM et 5 % de PhiX a été ajouté. L'analyse des données a été effectuée à l'aide de Cell Ranger Pipeline v7.1.0 (10x Genomics).

Tableau 1 : Exemple de débit d'échantillons pour les tests unicellulaires Chromium sur les systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000

Produit	Nombre minimum de paires de lectures par cellule ^a	Cellules par échantillon	Nombre d'échantillons par analyse ^b pour les Flow Cell de NextSeq 1000 et NextSeq 2000			
			P1 ^c	P2	P3 ^d	P4 ^d
Chromium GEM-X Single Cell 3' Gene Expression v4	20 000	5 000	1	4	12	18
Chromium Single Cell Gene Expression Flex – Multiplex	10 000	5 000	2	8	24	36

- a. Recommandations de lecture minimales courtoisie de 10x Genomics. Ajustez la profondeur de séquençage en fonction de la performance requise ou de l'application. L'indicateur et la courbe de saturation du séquençage dans le résumé d'analyse de Cell Ranger peuvent être utilisés pour optimiser la profondeur de séquençage pour des types d'échantillons spécifiques.
- b. Le nombre d'échantillons unicellulaires par analyse de séquençage est basé sur une bibliothèque de contrôle Phix d'Illumina aux densités d'amplifiants et à la concentration de chargement prises en charge. Les paramètres de performance réels peuvent varier en fonction du type d'échantillon, de la qualité de l'échantillon et du nombre d'amplifiants passant le filtre.
- c. Les Flow Cell P1 sont une bonne option pour les expériences de contrôle de la qualité à une seule cellule.
- d. Les Flow Cell P3 et P4 sont uniquement disponibles sur NextSeq 2000 System.



Figure 1 : Flux de travail de Chromium Single Cell Gene Expression : une expérience de scRNA-Seq typique comporte un flux de travail de préparation des échantillons, de partitionnement et de codage cellulaires, de préparation des bibliothèques, de séquençage et d'analyse des données.

Tests de RNA-Seq spatial

Les tests d'expression génique spatiale Visium de 10x Genomics cartographient l'ensemble du transcriptome dans un contexte morphologique dans des tissus fixés au formol et inclus en paraffine (FFIP) et frais/congelés. Les zones de capture sur lames de tissu Visium v1 et v2 ont une puce à ADN d'environ 5 000 points codés, un diamètre de 55 µm et sont espacées de 100 µm. En revanche, les zones de capture Visium HD haute définition contiennent une grille continue de carrés codés de 2 × 2 µm, soit environ 11,2 millions au total. Une expérience de RNA-Seq spatial typique avec les tests spatiaux Visium comporte un flux de travail de préparation des échantillons de tissus, d'imagerie, de préparation des bibliothèques, de séquençage et d'analyse (figure 2).

Visium CytAssist Spatial Gene Expression v2

Un bloc de tissus FFIP cérébraux de souris a été sectionné comme décrit dans le protocole démontré de préparation des tissus Visium CytAssist Spatial Gene Expression for FFPE (10x Genomics, document n° CG000518, rév. D)⁷. Le déparaffinage, le marquage à l'hématoxyline et à l'éosine, l'imagerie et la déréliction ont suivi ce protocole démontré (10x Genomics, document n° CG000520, rév. C)⁸ et les tissus ont été transférés sur une lame Visium CytAssist Spatial Gene Expression à l'aide de l'instrument CytAssist. Les bibliothèques ont été préparées à l'aide de Visium CytAssist Spatial Gene Expression for FFPE (10x Genomics, référence n° PN-1000521) en suivant le protocole du guide de l'utilisateur (10x Genomics, document n° CG000495, rév. F)⁹. Le séquençage a été effectué sur NextSeq 2000 System avec la chimie

Tableau 2 : Exemple de débit d'échantillons pour les tests spatiaux Visium sur les systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000

Produit	Type d'échantillon	Paires de lectures par point tissulaire ^c	Lectures par coupe de tissu ^c	Nombre de zones de capture par analyse ^{a,b} pour les Flow Cell de NextSeq 1000 et NextSeq 2000		
				P2	P3 ^d	P4 ^d
Visium CytAssist Spatial Gene Expression v2 ^a	Tissus FFIP	25 000	125 millions	3	9	14
	Tissu frais/congelé	50 000	250 millions	1	4	7
Visium HD Spatial Gene Expression ^b	Tissus FFIP	–	275 millions	1	4	6
	Tissu frais/congelé	–	700 millions	–	1	2

- Recommandations de lecture minimales courtoisie de 10x Genomics. Débit d'échantillons calculé sur la base des paires de lectures recommandées par point tissulaire, de 5 000 points tissulaires par zone de capture et de 50 %, en moyenne, de la zone de capture couverte par la coupe de tissu. Les lames Visium Spatial Gene Expression pour les tissus frais/congelés ont quatre zones de capture pour analyser jusqu'à quatre coupes de tissus par lame. Les lames Visium Spatial Gene Expression pour les tissus FFIP ont deux zones de capture pour analyser jusqu'à deux coupes de tissus par lame.
- Débit d'échantillons calculé sur la base de 275 millions de lectures (pour les tissus FFIP) ou de 700 millions de lectures (pour les tissus frais/congelés) par zone de capture entièrement couverte par la coupe de tissu (ou proportionnellement à la zone de capture couverte par la coupe de tissu). Les lames Visium HD Spatial Gene Expression contiennent une grille continue de carrés codés de 2 × 2 µm.
- Recommandations de lecture minimales courtoisie de 10x Genomics. Les recommandations de profondeur de lecture pour Visium HD pour les tissus frais/congelés sont fournies à titre de référence uniquement et ne sont pas encore validées sur NextSeq 2000 System avec la chimie XLEAP-SBS.
- Les Flow Cell P3 et P4 sont uniquement disponibles sur NextSeq 2000 System.



Figure 2 : Flux de travail de Visium Spatial Gene Expression : une expérience de RNA-Seq spatial typique comporte un flux de travail de préparation des échantillons de tissus, d'imagerie, de préparation des bibliothèques, de séquençage et d'analyse des données.

XLEAP-SBS sur les Flow Cell P4 de 100 cycles et la chimie SBS standard sur les Flow Cell P3 de 100 cycles avec la longueur de lecture suivante : lecture 1 de 28 cycles, lectures d'index i7 et i5 de 10 cycles et lecture 2 de 90 cycles. La concentration de chargement était de 650 pM et 1 % de PhiX a été ajouté. L'analyse des données a été effectuée à l'aide de Space Ranger Pipeline v2.0 (10x Genomics).

Visium HD Spatial Gene Expression

Un bloc de tissus FFIP d'embryon de souris a été sectionné, déparaffiné, marqué à l'hématoxyline et à l'éosine et imagé conformément au manuel de préparation des tissus Visium HD FFPE (10x Genomics, document n° CG000684, rév. A). Visium HD Reagent Kit (10x Genomics, référence n° PN-1000668) a été utilisé pour effectuer l'hybridation des sondes, la ligature des sondes, la préparation des lames, la libération des sondes, l'extension et l'élaboration des bibliothèques en suivant le protocole du guide de l'utilisateur (10x Genomics, document n° CG000685, rév. A)¹⁰. Le séquençage a été effectué sur NextSeq 2000 System avec la chimie XLEAP-SBS sur les Flow Cell P4 à 100 cycles et la chimie SBS standard sur les Flow Cell P3 à 100 cycles avec la longueur de lecture suivante : lecture 1 à 43 cycles, lectures d'index i7 et i5 à 10 cycles et lecture 2 à 50 cycles. La concentration de chargement était de 650 pM et 1 % de PhiX a été ajouté. L'analyse des données a été effectuée à l'aide de Space Ranger Pipeline v3.0 (10x Genomics).

Résultats

Le séquençage des bibliothèques unicellulaires Chromium ou des bibliothèques spatiales Visium à l'aide de la chimie XLEAP-SBS haute performance sur les systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000 a donné des résultats comparables à ceux de la chimie SBS standard, tout en offrant un débit de données supérieur et des durées d'analyse plus courtes (tableau 3).

Tests de scRNA-Seq

Chromium GEM-X Single Cell 3' Gene Expression v4

Les résultats démontrent une concordance élevée des données entre la chimie XLEAP-SBS et la chimie SBS standard pour les bibliothèques de scRNA-Seq Chromium. Pour les indicateurs principaux, on observe une amélioration d'environ 2 % du pourcentage d'amplifiats passant le filtre (% PF) et des scores Q30 (tableau 4). Pour les indicateurs de séquençage, on observe une amélioration de 2 % des bases Q30 dans le code à barres et les lectures d'ARN et une amélioration de 4 % des bases Q30 dans les identifiants moléculaires uniques (IMU) (tableau 5). La visualisation de la classification des types de cellules par le graphique de t-SNE montre des résultats comparables pour les deux ensembles de données (figure 3A).

Tableau 3 : Guide de chargement et résultat attendu des indicateurs d'analyse pour les Flow Cell P4 XLEAP-SBS de NextSeq 2000 par rapport aux Flow Cell P3 SBS standard de NextSeq 2000

Produit	Configuration du séquençage (R1, i7, i5, R2)	Concentration de chargement des bibliothèques	Pourcentage d'entrée de contrôle PhiX	Pourcentage de contrôle PhiX aligné ^a	Amplifiats, % PF P4 XLEAP-SBS ^b	Amplifiats, % PF P3 SBS standard ^b
Chromium GEM-X Single Cell 3' Gene Expression v4	28, 10, 10, 90	650 pM	1 %	0,4 %	77,4 %	75,8 %
Chromium Single Cell Gene Expression Flex – Multiplex	28, 10, 10, 90	650 pM	5 %	2,7 %	88,9 %	84,4 %
Visium CytAssist Spatial Gene Expression v2	28, 10, 10, 90	650 pM	1 %	0,9 %	87,8 %	78,3 %
Visium HD Spatial Gene Expression	43, 10, 10, 50	650 pM	1 %	0,5 %	89,2 %	72,2 %

a. Valeurs de pourcentage de contrôle PhiX aligné indiquées pour les Flow Cell P4 XLEAP-SBS de NextSeq 2000. Consultez les tableaux 4, 6, 8 et 10 pour les valeurs de Flow Cell P3 SBS standard de NextSeq 2000 pour le pourcentage de contrôle PhiX aligné. La variation dans le pourcentage de contrôle PhiX aligné se situe dans la variation normale entre analyses.

b. % PF, pourcentage d'amplifiats passant le filtre.

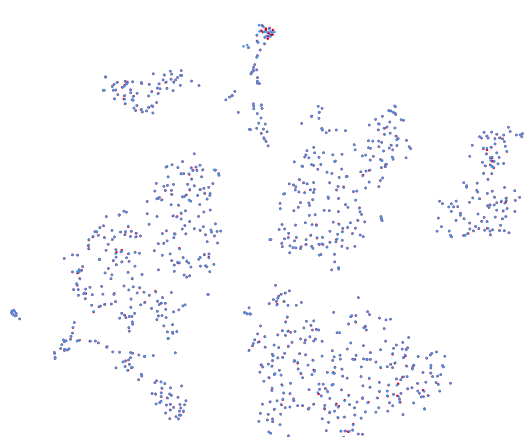
Tableau 4 : Indicateurs principaux pour Chromium GEM-X Single Cell 3' Gene Expression v4

	Chimie P4 XLEAP-SBS	Chimie P3 SBS standard
Configuration de l'analyse	28, 10, 10, 90	28, 10, 10, 90
Rendement	244,89 Gb	172,07 Gb
Concentration de chargement	650 pM	650 pM
% PF	77,4 %	75,8 %
% de contrôle PhiX aligné	0,4 %	1,9 %
Bases de la lecture 1 ≥ Q30	96,3 %	93,7 %
Bases de la lecture 2 ≥ Q30	94,2 %	92,3 %
Taux d'erreur de la lecture 1	0,07 %	0,07 %
Taux d'erreur de la lecture 2	0,16 %	0,16 %
Nbre estimé de cellules par échantillon	1 077	1 072
Nbre de gènes détectés	26 825	26 312
Nbre médian d'IMU par cellule	22 683	21 174

Tableau 5 : Indicateurs d'analyse de séquençage pour Chromium GEM-X Single Cell 3' Gene Expression v4

	Chimie P4 XLEAP-SBS	Chimie P3 SBS standard
Codes à barres valides	95,7 %	95,7 %
Lectures cartographiées avec confiance aux régions exoniques	57,2 %	57,0 %
Lectures cartographiées avec confiance au transcriptome	70,7 %	70,6 %
Proportion de lectures associées aux cellules	96,9 %	96,9 %
Bases Q30 dans le code à barres	96,2 %	93,9 %
Bases Q30 dans la lecture d'ARN	95,8 %	93,6 %
Bases Q30 dans les IMU	96,9 %	93,0 %

A. Chromium GEM-X Single Cell 3' Gene Expression v4



B. Chromium Single Cell Gene Expression Flex

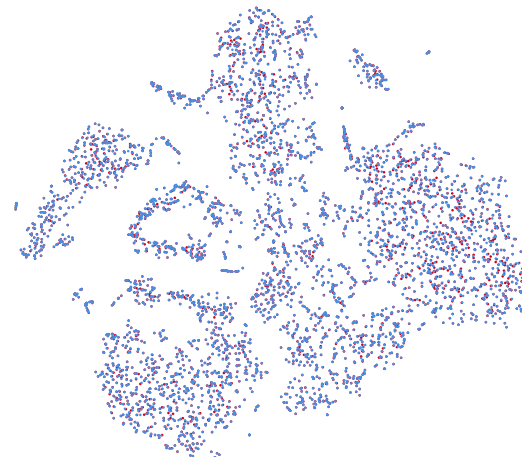


Figure 3 : Chromium Single Cell Gene Expression sur NextSeq 2000 System : visualisation de la classification des types de cellules avec les représentations graphiques de l'inclusion de voisins stochastiques distribués en t (t-SNE) pour (A) Chromium GEM-X Single Cell 3' Gene Expression v4 et (B) Chromium Single Cell Gene Expression Flex, séquençage sur NextSeq 2000 System avec la Flow Cell P4 pour NextSeq 2000 avec la chimie XLEAP-SBS (en bleu) et la Flow Cell P3 pour NextSeq 2000 avec la chimie SBS standard (en orange). Notez que les points bleus et orange peuvent être difficiles à distinguer en raison du chevauchement des données.

Chromium Single Cell Gene Expression Flex

Les résultats démontrent une concordance élevée des données entre la chimie XLEAP-SBS et la chimie SBS standard pour les bibliothèques de scRNA-Seq Chromium Flex. Pour les indicateurs principaux, on observe une amélioration d'environ 5 % du pourcentage d'amplifiats passant le filtre ([tableau 6](#)). L'augmentation du pourcentage d'amplifiats passant le filtre signifie qu'un nombre plus élevé de bases a passé le filtre, augmentant ainsi le débit de la Flow Cell. Les indicateurs de séquençage et les représentations graphiques de t-SNE montrent des résultats comparables entre les ensembles de données ([tableau 7](#), [figure 3B](#)).

Tests de RNA-Seq spatial

Visium CytAssist Spatial Gene Expression v2

Les résultats démontrent une concordance élevée des données entre la chimie XLEAP-SBS et la chimie SBS standard pour les bibliothèques de RNA-Seq spatial Visium. Pour les indicateurs principaux, on observe une amélioration d'environ 12 % du pourcentage d'amplifiats passant le filtre ([tableau 8](#)). Les indicateurs de séquençage et la visualisation de l'expression génique spatiale montrent des résultats comparables entre les ensembles de données ([tableau 9](#), [figure 4](#)).

Visium HD Spatial Gene Expression

Les résultats démontrent une concordance élevée des données entre la chimie XLEAP-SBS et la chimie SBS standard pour les bibliothèques de RNA-Seq spatial Visium HD. Pour les indicateurs principaux, on observe une amélioration d'environ 23 % du pourcentage d'amplifiats passant le filtre ([tableau 10](#)). Pour les indicateurs de séquençage, on observe une amélioration de 2 % des bases Q30 dans le code à barres et la lecture d'ARN et des bases Q30 dans les IMU ([tableau 11](#)). La visualisation de l'expression génique spatiale montre des nombres d'IMU plus élevés pour les données générées avec la chimie XLEAP-SBS ([figure 5](#)).

Tableau 6 : Indicateurs principaux pour Chromium Single Cell Gene Expression Flex

	Chimie P4 XLEAP-SBS	Chimie P3 SBS standard
Configuration de l'analyse	28, 10, 10, 90	28, 10, 10, 90
Rendement	281,25 Gb	191,85 Gb
Concentration de chargement	650 pM	650 pM
% PF	88,9 %	84,4 %
% de contrôle PhiX aligné	2,7 %	1,8 %
Bases de la lecture 1 ≥ Q30	97,3 %	95,9 %
Bases de la lecture 2 ≥ Q30	73,8 %	74,5 %
Taux d'erreur de la lecture 1	0,06 %	0,05 %
Taux d'erreur de la lecture 2	12,02 %	12,24 %
Nbre estimé de cellules par échantillon	4 033	4 015
Nbre de gènes détectés	13 717	13 686
Nbre médian d'IMU par cellule	5 809	5 472

Tableau 7 : Indicateurs d'analyse de séquençage pour Chromium Single Cell Gene Expression Flex

	Chimie P4 XLEAP-SBS	Chimie P3 SBS standard
Codes à barres valides	97,0 %	95,3 %
Lectures cartographiées avec confiance dans les cellules	96,3 %	96,2 %
Proportion de lectures cartographiées avec confiance à l'ensemble de sondes filtrées	94,9 %	94,9 %
Bases Q30 dans le code à barres	95,7 %	94,8 %
Bases Q30 dans la lecture de sonde	91,9 %	92,0 %
Bases Q30 dans les IMU	98,0 %	96,4 %

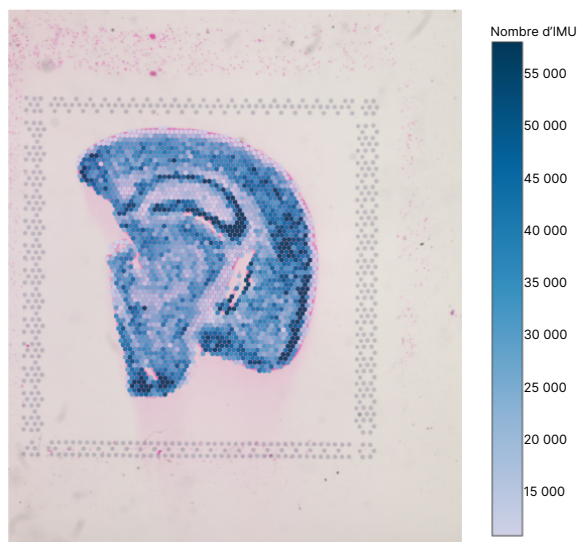
Tableau 8 : Indicateurs principaux pour Visium CytAssist Spatial Gene Expression v2

	Chimie P4 XLEAP-SBS	Chimie P3 SBS standard
Configuration de l'analyse	28, 10, 10, 90	28, 10, 10, 90
Rendement	277,89 Gb	177,56 Gb
Concentration de chargement	650 pM	650 pM
% PF	87,8 %	78,3 %
% de contrôle PhiX aligné	0,9 %	1,4 %
Bases de la lecture 1 ≥ Q30	97,2 %	96,3 %
Bases de la lecture 2 ≥ Q30	75,0 %	70,1 %
Taux d'erreur de la lecture 1	0,06 %	0,04 %
Taux d'erreur de la lecture 2	3,99 %	11,72 %
Nbre de gènes détectés	19 358	19 354
Nbre médian d'IMU par point	180 374	119 010

Tableau 9 : Indicateurs d'analyse de séquençage pour Visium CytAssist Spatial Gene Expression v2

	Chimie P4 XLEAP-SBS	Chimie P3 SBS standard
Codes à barres valides	99,1 %	99,1 %
IMU valides	99,5 %	100,0 %
Proportion de lectures dans les points sous les tissus	91,4 %	91,4 %
Proportion de lectures cartographiées avec confiance à l'ensemble de sondes filtrées	92,8 %	92,6 %
Bases Q30 dans le code à barres	97,3 %	96,5 %
Bases Q30 dans la lecture d'ARN	97,3 %	94,6 %
Bases Q30 dans les IMU	97,7 %	96,6 %

A. Flow Cell P4 pour NextSeq 2000 avec chimie XLEAP-SBS



B. Flow Cell P3 pour NextSeq 2000 avec chimie SBS standard

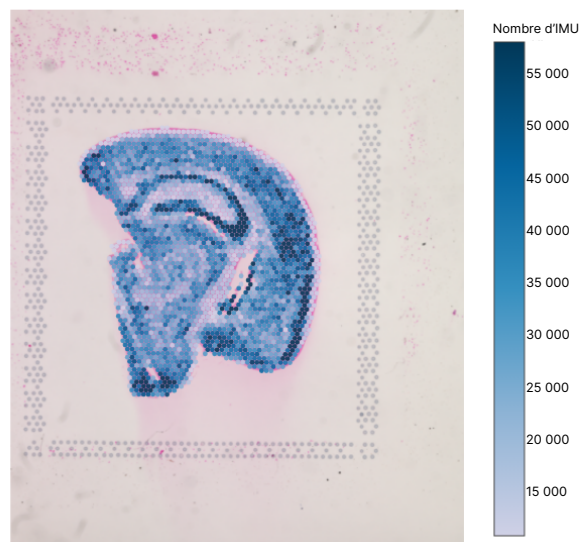


Figure 4 : Visium Spatial Gene Expression for FFPE sur NextSeq 2000 System : visualisation de l'expression génique dans le contexte de l'architecture tissulaire pour les coupes de tissu FFIP de cerveau de souris à l'aide de Visium CytAssist Spatial Gene Expression v2, séquençage sur NextSeq 2000 System avec (A) Flow Cell P4 pour NextSeq 2000 avec chimie XLEAP-SBS et (B) Flow Cell P3 pour NextSeq 2000 avec chimie SBS standard. Les graphiques tissulaires sont colorés par le nombre d'IMU. La Flow Cell P4 et la chimie XLEAP-SBS permettent d'obtenir des données comparables avec un nombre d'IMU plus élevé.

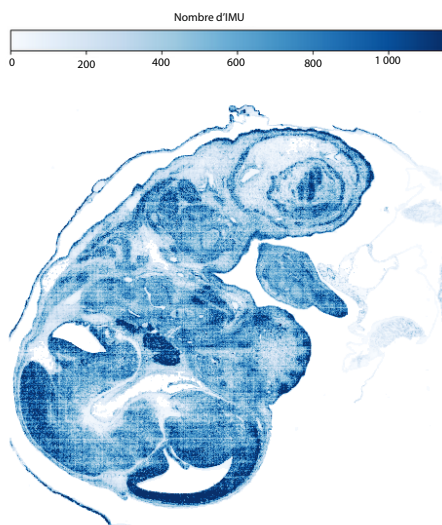
Tableau 10 : Indicateurs principaux pour Visium HD Spatial Gene Expression

	Chimie P4 XLEAP-SBS	Chimie P3 SBS standard
Configuration de l'analyse	43, 10, 10, 50	43, 10, 10, 50
Rendement	228,07 Gpb	133,24 Gpb
Concentration de chargement	650 pM	650 pM
% PF	89,2 %	72,2 %
% de contrôle PhiX aligné	0,5 %	1,9 %
Bases de la lecture 1 ≥ Q30	97,3 %	95,6 %
Bases de la lecture 2 ≥ Q30	96,7 %	94,4 %
Taux d'erreur de la lecture 1	0,09 %	0,06 %
Taux d'erreur de la lecture 2	0,10 %	0,14 %
Nbre de gènes détectés	19 038	19 036
Nombre médian d'IMU par compartiment de 8 µm	522,4	424,4

Tableau 11 : Indicateurs d'analyse de séquençage pour Visium HD Spatial Gene Expression

	Chimie P4 XLEAP-SBS	Chimie P3 SBS standard
Codes à barres valides	92,8 %	93,3 %
IMU valides	100,0 %	99,7 %
Proportion de lectures cartographiées avec confiance à l'ensemble de sondes filtrées	98,9 %	98,7 %
Bases Q30 dans le code à barres	97,6 %	95,5 %
Bases Q30 dans la lecture d'ARN	97,1 %	94,9 %
Bases Q30 dans les IMU	97,6 %	95,9 %

A. Flow Cell P4 pour NextSeq 2000 avec chimie XLEAP-SBS



B. Flow Cell P3 pour NextSeq 2000 avec chimie SBS standard

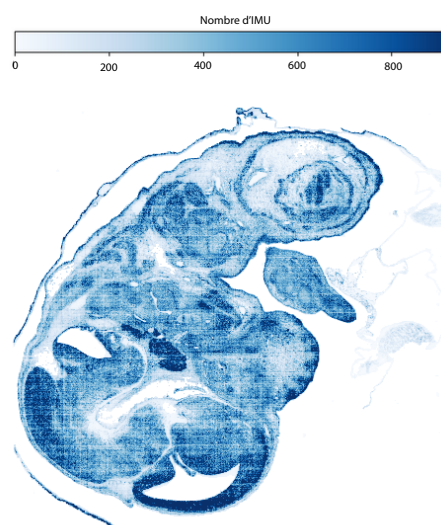


Figure 5 : Visium HD Spatial Gene Expression sur NextSeq 2000 System : visualisation de l'expression génique dans le contexte de l'architecture tissulaire pour les coupes de tissu FFIP d'embryon de souris à l'aide de Visium HD Spatial Gene Expression, séquençage sur NextSeq 2000 System avec (A) Flow Cell P4 pour NextSeq 2000 avec chimie XLEAP-SBS et (B) Flow Cell P3 pour NextSeq 2000 avec chimie SBS standard. Les graphiques tissulaires sont colorés par le nombre d'IMU. La Flow Cell P4 et la chimie XLEAP-SBS permettent d'obtenir des données comparables avec un nombre d'IMU plus élevé.

Résumé

Les méthodes de séquençage unicellulaire et spatial peuvent aider les chercheurs à mieux comprendre les populations et les tissus de cellules complexes. Les systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000, en association avec des solutions de préparation et d'analyse de bibliothèques unicellulaires et spatiales 10x Genomics, rendent ces méthodes de SNG haute résolution accessibles à davantage de laboratoires. La chimie XLEAP-SBS haute performance sur les systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000 offre des résultats comparables à ceux de la chimie SBS standard, tout en offrant un débit de données supérieur et des durées d'analyse plus courtes pour les tests d'expression génique unicellulaire et spatiale.

En savoir plus

[Systèmes NextSeq 1000 et NextSeq 2000](#)

[Chromium Single Cell Gene Expression](#)

[Visium Spatial Gene Expression](#)

Références

1. Wang Y, Mashock M, Tong Z, et al. [Changing Technologies of RNA Sequencing and Their Applications in Clinical Oncology](#). *Front Oncol*. 2020;10:447. doi:10.3389/fonc.2020.00447
2. Ke M, Elshenawy B, Sheldon H, Arora A, Buffa FM. [Single cell RNA-sequencing: A powerful yet still challenging technology to study cellular heterogeneity](#). *Bioessays*. 2022;44(11):e2200084. doi:10.1002/bies.202200084
3. Illumina. [NextSeq 1000 and NextSeq 2000 Sequencing Systems](#). [illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/nextseq-1000-2000-spec-sheet-m-na-00008/nextseq-1000-2000-spec-sheet-m-na-00008.pdf](https://www.illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/nextseq-1000-2000-spec-sheet-m-na-00008/nextseq-1000-2000-spec-sheet-m-na-00008.pdf). Publié en 2020. Mis à jour en 2024. Consulté le 4 novembre 2024.
4. 10x Genomics. [Chromium GEM-X Single Cell 3' Reagent Kits v4 User Guide, CG000731, Rev A](#). [10xgenomics.com/support/single-cell-gene-expression/documentation/steps/library-prep/chromium-gem-x-single-cell-3-v4-gene-expression-user-guide](https://www.10xgenomics.com/support/single-cell-gene-expression/documentation/steps/library-prep/chromium-gem-x-single-cell-3-v4-gene-expression-user-guide). Consulté le 26 août 2024.
5. 10x Genomics. [Fixation of Cells & Nuclei for Chromium Fixed RNA Profiling, CG000478, Rev D](#). [10xgenomics.com/support/single-cell-gene-expression-flex/documentation/steps/sample-prep/fixation-of-cells-and-nuclei-for-chromium-single-cell-gene-expression-flex](https://www.10xgenomics.com/support/single-cell-gene-expression-flex/documentation/steps/sample-prep/fixation-of-cells-and-nuclei-for-chromium-single-cell-gene-expression-flex). Consulté le 19 septembre 2024.
6. 10x Genomics. [Chromium Fixed RNA Profiling Reagent Kits for Multiplexed Samples User Guide, CG000527, Rev F](#). [10xgenomics.com/support/single-cell-gene-expression-flex/documentation/steps/library-prep/chromium-single-cell-gene-expression-flex-reagent-kits-for-multiplexed-samples](https://www.10xgenomics.com/support/single-cell-gene-expression-flex/documentation/steps/library-prep/chromium-single-cell-gene-expression-flex-reagent-kits-for-multiplexed-samples). Consulté le 26 août 2024.
7. 10x Genomics. [Visium CytAssist Spatial Gene Expression for FFPE – Tissue Preparation Guide Demonstrated Protocol, CG000518, Rev D](#). [10xgenomics.com/support/cytassist-spatial-gene-expression/documentation/steps/tissue-prep/visium-cyt-assist-spatial-gene-expression-for-ffpe-tissue-preparation-guide](https://www.10xgenomics.com/support/cytassist-spatial-gene-expression/documentation/steps/tissue-prep/visium-cyt-assist-spatial-gene-expression-for-ffpe-tissue-preparation-guide). Consulté le 26 août 2024.
8. 10x Genomics. [Visium CytAssist Spatial Gene Expression for FFPE – Deparaffinization, H&E Staining, Imaging & Decrosslinking Demonstrated Protocol, CG000520, Rev C](#). [10xgenomics.com/support/cytassist-spatial-gene-expression/documentation/steps/tissue-staining/visium-cyt-assist-spatial-gene-expression-for-ffpe-deparaffinization-hand-e-staining-imaging-and-decrosslinking](https://www.10xgenomics.com/support/cytassist-spatial-gene-expression/documentation/steps/tissue-staining/visium-cyt-assist-spatial-gene-expression-for-ffpe-deparaffinization-hand-e-staining-imaging-and-decrosslinking). Consulté le 26 août 2024.
9. 10x Genomics. [Visium CytAssist Spatial Gene Expression Reagent Kits User Guide, CG000495, Rev F](#). [10xgenomics.com/support/cytassist-spatial-gene-expression/documentation/steps/library-construction/visium-cyt-assist-spatial-gene-expression-reagent-kits-for-ffpe](https://www.10xgenomics.com/support/cytassist-spatial-gene-expression/documentation/steps/library-construction/visium-cyt-assist-spatial-gene-expression-reagent-kits-for-ffpe). Consulté le 26 août 2024.
10. 10x Genomics. [Visium HD Spatial Gene Expression Reagent Kits User Guide, CG000685, Rev A](#). [10xgenomics.com/support/spatial-gene-expression-hd/documentation/steps/library-construction/visium-hd-spatial-gene-expression-reagent-kits-user-guide](https://www.10xgenomics.com/support/spatial-gene-expression-hd/documentation/steps/library-construction/visium-hd-spatial-gene-expression-reagent-kits-user-guide). Consulté le 26 août 2024.



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-03053 FRA v1.0