

次世代シーケンス(NGS)に関するお役立ち情報をお届けします。

今号のポイント:「SMART-Seq[®] Single Cell Kit」を使うことで、論文ベースのSMART-Seq2法よりも高感度で再現性の高いシングルセルRNA-Seqが可能になりました。

【キーワード】 シングルセルRNA-Seq、SMART-Seq2、セルソーター、スプライシングバリエーション、SNP解析

SMART-Seq[®] Single Cell Kitによる最高感度のシングルセルRNA-Seq

私たちの体は数兆個の細胞で構成されており、これらの細胞はそれぞれユニークで特殊な機能を持っています。人体を完全に理解するためには、それぞれの細胞タイプについて深く理解することが必要不可欠です。しかし人体の絶大なスケールと多様性を考えると、人体を理解することは無謀な挑戦のように思えます。

幸いなことに、人体を理解することは可能であるとする研究者もいます。スペイン・バルセロナにあるNational Centre for Genomic Analysisのチームリーダー、Holger Heyn博士はそのひとりです。Heyn博士は、最近まで論文ベースの手法であるSMART-Seq2 (**SS2**)を広く使用していましたが、他のSS2ユーザーと同じように、再現性がありかつ高感度な検証済みのキット品を求めていました。そこで今回は、Heyn博士にSMART-Seq[®] Single Cell Kit (**SSsc**)を評価していただいた結果の一部をご紹介します。

■ 評価方法

RNA含量の少ないB細胞とT細胞を用いて評価しました。**SS2**と**SSsc**のいずれも、ライブラリー調製は反応液量を減らして実施し、B細胞とT細胞に対して2つの条件(23サイクルと25サイクル)でPCR増幅を行いました。

■ 評価結果 ※データは裏面を参照

調製したライブラリーは、Agilent 2100 バイオアナライザを用いて定量と分析を行いました。**SS2**と**SSsc**の波形パターンは一致していましたが、cDNAの収量は**SSsc**の方が高いことが示されました(データは示さず)。

シーケンス後、各ライブラリー(**SS2**、**SSsc**)から得られるリード数は同程度でしたが、マッピングリードの割合は、**SSsc**ではいずれのPCRサイクル数(23サイクル、25サイクル)においても高い再現性を示し、**SS2**では異なるPCRサイクル数において顕著な違いが見られました(図1)。

さらに、**SSsc**は同定された遺伝子数においても**SS2**より優れたパフォーマンスを示しました。**SS2**はすべての条件において1ライブラリー(1細胞)から平均~400遺伝子を検出しましたが、**SSsc**はその5倍以上の遺伝子数(~2,000-2,750遺伝子)を検出しました(図2)。このことから、**SSsc**は前例のない感度を持っていると言えます。

◆ シングルセルやシングル核からのRNA-Seqに適した、高感度で再現性の高いcDNA調製キット

製品名	容量	製品コード	価格(税別)
SMART-Seq [®] Single Cell Kit	12回	634470	¥198,000

注1) 断片化とライブラリー調製のために、イルミナ社Nextera XT DNA Library Prep KitおよびNextera XT Index Kitが別途必要です。
改変プロトコルを採用しているため、必ずSMART-Seq Single Cell Kitのユーザーマニュアルをご確認ください。

注2) 480回以上の大容量品もご用意しています。詳細はお問い合わせください。



裏面につづく ➡

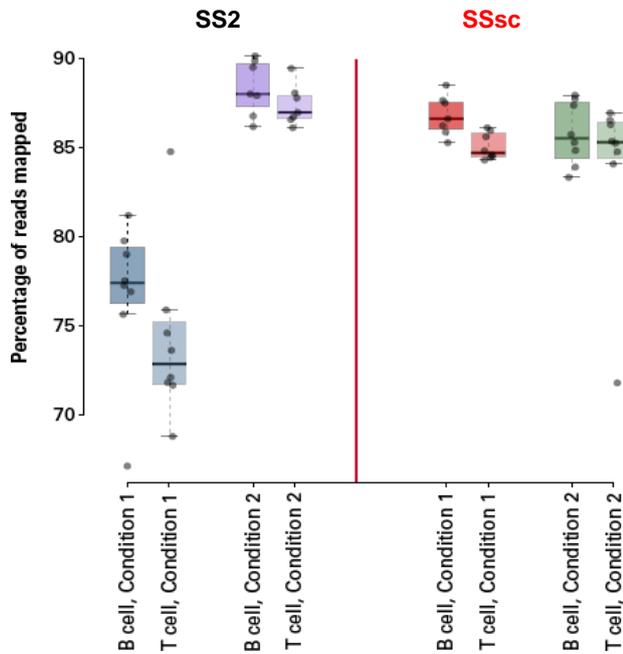
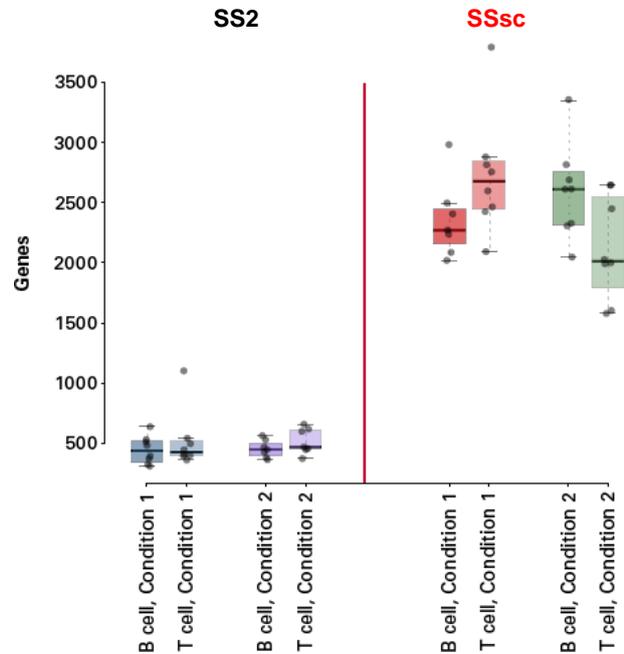


図1. **SSsc**は、**SS2**と比較してより安定的なパフォーマンスを示す。

B細胞とT細胞からそれぞれライブラリーを調製し、23サイクルのPCRで増幅したものをCondition 1、25サイクルで増幅したものをCondition 2としました。マッピングリードの割合を比較すると、**SSsc**では2つの条件でわずかな差しか見られませんでした。この結果から、**SS2**はワークフローのわずかな変化がライブラリーの再現性に大きな影響を与えてしまうことが示されました。

図2. **SSsc**は、遺伝子同定数において**SS2**よりも優れたパフォーマンスを示す。

すべてのサンプルおよび条件(図1と同様)において**SSsc**は**SS2**の5倍以上の遺伝子を同定し、前例のない感度を示しました。



■ まとめ

Heyn博士は、SMART-Seq® Single Cell Kit (**SSsc**)の長所を活かしてパフォーマンスの壁を打ち破ることができました。ラボ間の再現性を高めるために厳しい品質基準の下で製造された本キットを使用することで、**SS2**よりも高いcDNA量を得ることができ、かつ**SS2**より優れた感度を示すことができました。

・本チラシで紹介した製品はすべて研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。
 ・タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。
 ・ライセンスなどに関する最新の情報は弊社ウェブサイトをご覧ください。
 ・本チラシに記載された社名および製品名は、特に記載がなくても各社の商標または登録商標です。
 ・本チラシ記載の価格は2020年1月1日現在の希望小売価格です。価格に消費税は含まれておりません。

2020年1月作成G

タカラバイオ株式会社

東京支店 TEL 03-3271-8553 FAX 03-3271-7282
 関西支店 TEL 077-565-6969 FAX 077-565-6995
 テクニカルサポートライン
 TEL 077-565-6999 FAX 077-565-6995
 Website <http://www.takara-bio.co.jp>
 Facebook <http://www.facebook.com/takarabio.jp>

取扱店

