

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:**シングルセルRNA-Seqにおいて、SMART-Seq® Single Cell Kitは、ホームブリュー法 Smart-seq3と比べて収量、感度とも優れた解析結果を示しました。

**【キーワード】** シングルセル(sc)RNA-Seq、Smart-seq3、低発現・ユニーク遺伝子検出数

## シングルセルRNA-SeqにおけるSMART-Seq® Single Cell KitとSmart-seq3の比較

### ■ 実験の背景

シングルセルRNA-Seqに特化したcDNA調製キットSMART-Seq® Single Cell Kit(**SSsc**)は、論文ベースの手法であるSmart-seq2(SS2)よりも高感度で再現性の高いscRNA-Seqが可能である(NGS情報便 vol.12参照)。最近、スウェーデンのカロリンスカ研究所のRickard Sandbergのグループは、SS2を改良して、より高感度のSmart-seq3(**SS3**)を開発した(Hagemann-Jensen *et al.* 2020)。今号では、シングルセルのRNA-Seqにおいて**SSsc**と**SS3**を比べ、どちらが良いデータを提供できるか検証した。

### ■ 評価方法

RNA含量の少ないT細胞を用いて評価した。末梢血単核球(PBMC)から単離したシングルT細胞から、**SSsc**と**SS3**でcDNAを調製し(PCR増幅は**SSsc**は21サイクル、**SS3**は23サイクル)、Nextera® XT DNA Library Preparation Kit(イルミナ社)を使用してライブラリーを調製し、NextSeq® 550(イルミナ社)でシーケンスを行った。

### ■ 評価結果 ※データは裏面を参照

調製したcDNAは、Quant-iT PicoGreen dsDNA detection assay(サーモフィッシャーサイエンティフィック社)により定量した。**SSsc**で調製したcDNAは**SS3**より少ないサイクル数でPCRを行ったにもかかわらず、収量は**SS3**の約3倍であった(図1)。

シーケンス後の**SSsc**、**SS3**の各ライブラリーのマッピングリード分布(エクソン領域)は同程度だったが、検出遺伝子数は、低発現遺伝子、高発現遺伝子のいずれにおいても**SSsc**は**SS3**より25%以上多く検出できた(図2)。

さらに、**SSsc**は**SS3**より多くのユニーク遺伝子が検出された(図3)。PANTHER overrepresentation testから、**SS3**により検出された遺伝子は、細胞代謝プロセスや嗅覚受容体など通常よく見られる生物学的な機能カテゴリーのものが多く、**SSsc**により検出された遺伝子は、antimicrobial humoral immune response(抗菌液性免疫応答)やkilling cells of other organismsなど免疫に関連するユニークな遺伝子が多いことが分かった(データは示さず)。これらの結果から、**SSsc**は**SS3**と比較して、シングルセル解析において、高感度の解析が行えることが示された。

### ◆ 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
	48回	634471	¥546,000
	96回	634472	¥984,000

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。

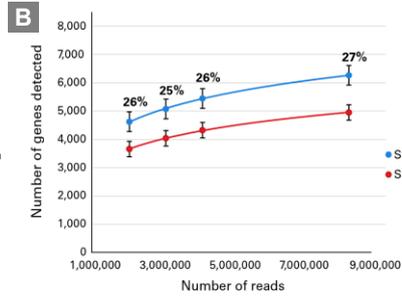
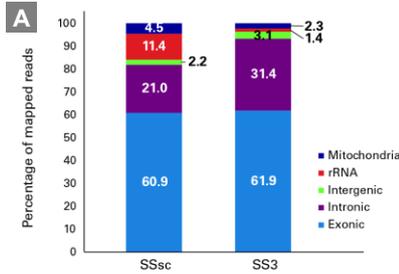
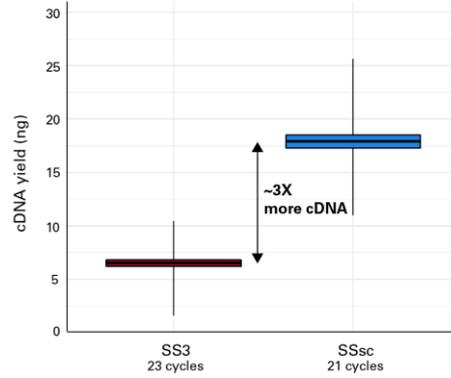


#### <参考文献>

Hagemann-Jensen, M. *et al.* Single-cell RNA counting at allele and isoform resolution using Smart-seq3. *Nat. Biotechnol.* 1-7 (2020)

### 図1. cDNA収量の比較

SSscはSS3と比較して、cDNAの収量が約3倍であった。



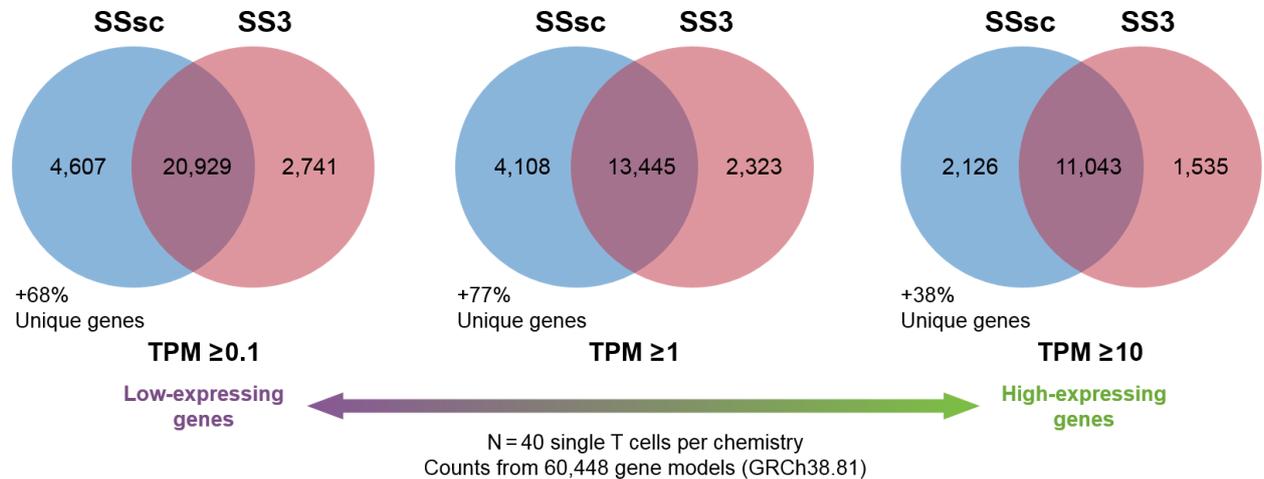
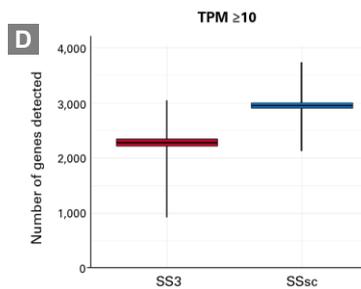
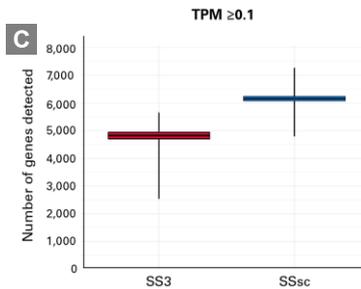
### 図2. 遺伝子検出数の比較

Panel A. エクソン領域について、両者の間で同様の分布パターンであった。

Panel B. リード数にかかわらず、SSscの方が検出遺伝子数は約25%多い結果となった。

Panel C. 低発現遺伝子 (TPM  $\geq 0.1$ ) において、検出遺伝子数はSSscの方が28%以上多かった。

Panel D. 高発現遺伝子 (TPM  $\geq 10$ ) において、検出遺伝子数はSSscの方が29%以上多かった。



### 図3. ユニーク遺伝子の検出

低発現遺伝子 (TPM  $\geq 0.1$ )、中発現遺伝子 (TPM  $\geq 1$ )、高発現遺伝子 (TPM  $\geq 10$ ) のいずれにおいても、SSscの方がより多くのユニーク遺伝子を検出できた。

・イルミナ社とは、Illumina, Inc. (本社：米国カリフォルニア州サンディエゴ) の日本法人であるイルミナ株式会社 (本社：東京都港区) をいいます。  
 ・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9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8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 <https://www.takara-bio.co.jp>  
 Facebook <http://www.facebook.com/takarabio.jp>

取扱店

