

NextSeq™ 1000 & NextSeq 2000 단일세포 RNA 시퀀싱 솔루션

단일세포 내 유전자 발현을
측정하는 유연하고 비용 대비
효과적인 워크플로우

- Illumina 및 타사 시퀀싱 솔루션의 대규모 생태계를 이용해 단일세포 시퀀싱 데이터를 생성하는 신뢰할 수 있는 프로토콜
- 광범위한 단일세포 시퀀싱 연구를 위해 조정이 가능한 시퀀싱 처리량
- 벌크 샘플링 방법으로는 확인이 어려운 세포 차이를 발견할 수 있는 고해상도 분석



소개

단일세포 시퀀싱(Single-cell sequencing)은 개별 세포의 전사체(transcriptome)를 분석하여 세포 간 변이(cell-to-cell variation)를 고해상도로 보여주는 차세대 시퀀싱(next-generation sequencing, NGS) 기술입니다. 세포 군집(Cell population)을 벌크 샘플링(bulk sampling)하는 기존의 RNA 시퀀싱(이하 RNA-Seq) 기술과는 달리, 고감도의 단일세포 RNA 시퀀싱(이하 scRNA-Seq) 기술은 연구자가 복잡한 조직 내 개별 세포에 대한 생물학적 정보를 얻고 환경적 단서(environmental cue)에 대한 세포 아군집(subpopulation)의 반응을 관찰할 수 있도록 해 줍니다. 연구자는 이러한 assay를 이용해 분화(differentiation), 증식(proliferation), 종양 형성(tumorigenesis)과 같은 시간에 따라 변화하는 세포의 기능 및 이질성(heterogeneity)을 더 심층적으로 연구할 수 있습니다.

scRNA-Seq은 벌크 샘플링 방법과 비교했을 때 여러 이점을 제공합니다. 연구자는 다음과 같이 이러한 이점을 활용해 볼 수 있습니다.

- 세포 유형(Cell type)의 식별 및 전사 활동(transcriptional activity)에 기인하는 특정 세포 유형 파악.
- 복잡한 환경에서 새로운 기능을 할 가능성이 있는 새로운 세포 유형의 발견.
- 벌크 샘플링으로는 확인이 어려운 저빈도 세포 유형에서의 전사 패턴 검출.
- 기계적 모델(Mechanistic model) 및 경로 모델(pathway model)에 필요한 정보를 얻기 위한 개별 세포 유형의 전사 변화 분석.



그림 1: NextSeq 1000 및 NextSeq 2000 시퀀싱 시스템 — XLEAP-SBS chemistry를 활용해 간소해진 시퀀싱 워크플로우를 제공하는 NextSeq 1000 및 NextSeq 2000 시스템

유연한 scRNA-Seq 솔루션

NextSeq 1000 및 NextSeq 2000 시퀀싱 시스템(그림 1)은 포괄적인 scRNA-Seq 워크플로우의 한 구성 요소로, Illumina sequencing by synthesis(SBS) 기반의 XLEAP-SBS™ chemistry를 활용합니다. scRNA-Seq 워크플로우는 첫 조직 준비 단계로 시작해 다양한 옵션이 제공되는 단일세포 분리 및 라이브러리 준비 단계, 시퀀싱 단계, 1차 분석 단계 그리고 데이터 시각화 및 해석 단계로 구성됩니다(그림 2).



그림 2: NextSeq 1000 및 NextSeq 2000 scRNA-Seq 워크플로우 — 조직 준비 단계, 단일세포 분리 및 라이브러리 준비 단계, 시퀀싱 단계, 1차 분석 단계 및 데이터 시각화 및 해석 단계로 구성되어 있는 통합된 NGS 워크플로우의 한 구성 요소인 NextSeq 1000 및 NextSeq 2000 시스템

조직 준비 및 세포 분리

초기의 단일세포 분리 방법은 처리량이 낮아 실험 건당 수십에서 수천 개의 세포만을 처리할 수 있었으나, 지금은 처리량이 높은 미세유체 기반의 세포 분리 방법을 활용하면 실험 건당 수백에서 수만 개의 세포를 비용 대비 효과적으로 연구할 수 있게 되었습니다. 또한 광범위한 조직 준비, 단일세포 분리 및 라이브러리 준비 옵션이 마련되어 있어, 다양한 조직, 종(species), 세포 유형 및 방법에 맞춤형 scRNA-Seq 연구가 가능합니다(표 1).

NextSeq 1000 및 NextSeq 2000 시스템

NextSeq 1000 및 NextSeq 2000 시스템은 다양한 프로젝트의 요구 사항을 충족할 수 있는 역량과 유연성을 갖추고 있어, 연구자가 샘플당 세포 수, 세포당 리드(read) 수, 실험 건당 샘플 수를 조정할 수 있습니다. 풍부도(Abundance)가 비교적 낮은 전사물(transcript)의 연구를 위해 딥 시퀀싱(deep sequencing)이 필요할 때나 더 많은 세포 또는 샘플의 시퀀싱이 필요할 때, NextSeq 1000 및 NextSeq 2000 시스템은 연구자에게 벤치탑 시퀀싱 시스템으로 시퀀싱과 1차 분석을 모두 수행할 수 있는 비용 대비 효과적인 솔루션을 제공합니다. 또 연구자는 네 가지 플로우 셀을 유연하게 선택해 다양한 NGS 분석 방법을 활용하고 여러 실험 설계를 수용할 수 있습니다. 훨씬 더 높은 샘플 처리량이 요구되는 연구를 진행하는 경우에는 NovaSeq™ X 시리즈로 연구 규모를 확대해 볼 수 있습니다(표 2).

표 1: scRNA-Seq 연구 설계 예시^a

방법	세포 분리 방법 예시	라이브러리 준비 방법 예시	샘플당 세포 수	세포당 리드 페어 수	데이터 분석
전장 RNA-Seq	FACS	Takara SMARTer cDNA Synthesis Kits	100개	1M 개	DRAGEN Single-Cell RNA
mRNA 말단 태그 증폭 (3' WTA 또는 5' WTA)	10x Genomics Chromium	10x Genomics Chromium Single Cell Gene Expression	5,000개	20,000개	10x Genomics Cell Ranger DRAGEN Single-Cell RNA
RNA 프로브 기반 포획	10x Genomics Chromium	10x Genomics Single Cell Gene Expression Flex	5,000개	10,000개	10x Genomics Cell Ranger DRAGEN Single-Cell RNA
표적 패널	BD Rhapsody Single-Cell Analysis System	BD Rhapsody Single-Cell Analysis	5,000개	2,000개	Seven Bridges Genomics
mRNA 말단 태그 증폭(3' 포획)	Dolomite Bio Nadia instrument	Dolomite Bio RNAdia kit	6,000개	25,000개	dropSeqPipe Partek Flow

a. 상기 명시된 세포 수와 리드 수는 오직 이해를 돕기 위해 제공된 것으로, 실제 세포 수, 리드 수, 샘플 수는 연구 설계의 요구 사항에 따라 신중한 선택이 필요함. 자세한 정보는 [Single-Cell Sequencing eBook](#) 참조. WTA = whole-transcriptome amplification(전장 전사체 증폭), BD = Becton Dickinson(벡톤 디킨슨), FACS = fluorescence-activated cell sorting(형광 활성화 세포 분류).

표 2: Illumina 시퀀싱 시스템의 scRNA-Seq 샘플 처리량

시퀀싱 시스템	시퀀싱 시약	플로우 셀당 처리 샘플 수 ^a
NextSeq 1000 및 NextSeq 2000 시스템	P1 (100 cycles)	1개 ^b
	P2 (100 cycles)	4개
	P3 ^c (100 cycles)	11~12개
	P4 ^c (100 cycles)	18개
NovaSeq X 시리즈 ^d	1.5B (100 cycles)	15개
	10B (100 cycles)	96개
	25B (300 cycles)	250개

- a. 샘플당 5,000개의 세포와 세포당 20,000개의 리드 페어(read pair)로 계산한 값으로, 고유한 분자 식별자(unique molecular identifier, UMI) 지원을 위한 추가적인 38사이클을 포함함. 샘플당 세포 수와 세포당 리드 페어 수는 원하는 애플리케이션과 샘플 종류에 따라 결정됨.
- b. P1은 QC(quality control, 품질 관리) 실험에 적합함.
- c. P3 및 P4는 NextSeq 2000 시스템에서만 사용이 가능함.
- d. NovaSeq X Plus 시스템은 싱글 플로우 셀 런(single flow cell run) 및 듀얼 플로우 셀 런(dual flow cell run)을 모두 지원함. NovaSeq X 시스템은 싱글 플로우 셀 런만 지원함.

XLEAP-SBS chemistry를 통한 새로운 발견

NextSeq 1000 및 NextSeq 2000 시스템에는 가장 우수한 품질과 속도를 제공하는 강력한 Illumina의 SBS chemistry인 XLEAP-SBS chemistry가 적용되었습니다. 이미 입증된 Illumina의 SBS chemistry를 기반으로 하는 XLEAP-SBS chemistry는 향상된 시약 안정성을 제공하며 혼입(incorporation) 시간은 2배 빨라졌습니다. 따라서 scRNA-Seq 연구 시 한층 더 정확한 배수 변화(fold-change) 추정이 가능할 뿐만 아니라 유전자, 전사물 및 단일세포 바코드 검출 시 높은 민감도를 확보해 줍니다. Illumina의 벤치탑 시퀀싱 시스템 중 1M 개의 리드당 가장 적은 비용이 들고 가장 많은 수의 리드를 생성하는 NextSeq 1000 및 NextSeq 2000 시스템은 연구자에게 다음과 같은 혜택을 제공할 수 있습니다.

- 풍부도가 비교적 낮은 전사물에 관한 정보 수집을 위해 세포당 더 많은 리드 선택 가능.
- 연구 예산 범위 내 실험 설계를 위해 더 많은 세포와 샘플 처리 가능.
- 더 복잡한 생물학적 정보를 얻기 위해 필요한 추가 조건, 시점 또는 방법 적용 가능.

유연한 애플리케이션 간 전환

NextSeq 1000 및 NextSeq 2000 시스템은 scRNA-Seq만 지원하는 것이 아니라 여러 애플리케이션 간 높은 유연성까지 제공해 연구자가 원활하게 시퀀싱 프로젝트 간 전환할 수 있도록 해 줍니다. 또한 NextSeq 1000 및 NextSeq 2000 시스템은 Illumina 및 타사의 다양한 라이브러리 프렙 키트와 호환이 가능하므로 Illumina의 벌크 RNA-Seq, scRNA-Seq, 엑솜 시퀀싱(exome sequencing), 기타 애플리케이션으로 손쉽게 연구 방법을 변경할 수 있습니다. 또 P4 플로우 셀은 데이터 아웃풋이 더 높아 멀티오믹스 연구에 대한 접근성을 높여 줍니다. 예를 들어, 연구자는 NextSeq 2000 시스템으로 scRNA-Seq과 엑솜 시퀀싱을 수행하여 코딩 변이(coding variant)가 전사물 발현에 영향을 주는지 확인하거나, ATAC-Seq*을 수행하여 크로마틴 접근성(chromatin accessibility)을 분석하고 기능 조절 특성을 파악할 수 있습니다.

단일세포 데이터 분석의 간소화

NextSeq 1000 및 NextSeq 2000 시스템으로 생성한 시퀀싱 데이터는 광범위한 상용 및 오픈소스 단일세포 시퀀싱 소프트웨어 도구와 호환이 가능한 표준 형식으로 제공됩니다. 이러한 상용 소프트웨어로는 Cell Ranger(10x Genomics), SeqGeq(FlowJo/BD Biosciences) 등이 있으며 오픈소스 도구로는 Seurat¹, Monocle² 등이 있습니다.

scRNA-Seq 데이터는 정확하고 포괄적이며 효율적인 데이터 분석 파이프라인을 제공하는 Illumina의 DRAGEN™ Secondary Analysis†를 사용해 분석할 수 있습니다. NextSeq 1000 및 NextSeq 2000 시스템은 DRAGEN Single-Cell 파이프라인을 온보드 데이터 분석 파이프라인으로 제공하므로 데이터 분석 속도를 높이고 오류 수정을 통해 정확도를 개선하며 새로운 단일세포 연구 방법에 필요한 다양한 맞춤형 바코딩 디자인을 지원할 수 있습니다. 또 DRAGEN Single-Cell 파이프라인은 BaseSpace™ Sequence Hub 또는 Illumina Connected Analytics를 사용해 클라우드에서도 실행할 수 있습니다. 이미 Illumina는 scRNA-Seq 외에도 연구 프로젝트 완료에 필요한 추가적인 시퀀싱 방법도 지원할 수 있도록 다양한 상용 및 오픈소스 데이터 분석 소프트웨어 도구를 마련해 두었습니다.

* ATAC-Seq = assay for transposase-accessible chromatin with sequencing

† DRAGEN 하드웨어는 NextSeq 1000 및 NextSeq 2000 시스템에 내장되어 있음. DRAGEN 라이선스는 기기에 포함되어 있으므로 별도 구매가 필요하지 않음.

illumina의 포괄적인 기술 지원

illumina는 라이브러리 준비, 시퀀싱 및 분석에 대한 전문 지식을 갖춘 숙련된 과학자들로 구성된 세계적인 수준의 기술지원팀을 운영하고 있습니다. illumina의 기술지원팀은 고도의 자격을 갖춘 필드 서비스 엔지니어(field service engineer, FSE), 테크니컬 애플리케이션스 사이언티스트(technical applications scientist, TAS), 필드 애플리케이션스 사이언티스트(field applications scientist, FAS), 시스템 서포트 엔지니어, 바이오인포매틱스(bioinformatics, 생명정보학) 전문가 그리고 IT 네트워크 전문가로 이루어져 있으며, NGS뿐만 아니라 전 세계 고객분들이 원하는 광범위한 애플리케이션에 대해 높은 이해력을 보유하고 있습니다. **기술 지원**의 경우 전 세계적으로 전화 서비스는 주 5일, 온라인 서비스는 연중무휴 다국어로 제공되고 있습니다.

illumina는 이렇듯 우수한 서비스와 기술 지원을 통해 고객분들이 NextSeq 1000 및 NextSeq 2000 시스템을 최대한 효율적으로 활용하고, 신규 직원을 교육하며, 최신 기법과 모범 사례를 배울 수 있도록 노력하고 있습니다.

요약

NextSeq 1000 및 NextSeq 2000 시퀀싱 시스템은 유연한 scRNA-Seq 솔루션을 제공함으로써 단일세포 전사체에 대한 명확하고 포괄적인 관점을 제시하며 랩이 원할 때 더 많은 도구를 사용할 수 있도록 해 줍니다. 또한 플로우 셀 구성이 다양하므로 연구자가 필요에 따라 실험 건당 세포 수와 세포당 리드 페어 수를 조정할 수 있습니다. NextSeq 1000 및 NextSeq 2000 시스템으로 scRNA-Seq을 수행하면 NextSeq 1000 및 NextSeq 2000 시스템이 제공하는 역량, 속도 및 유연성을 모두 누리는 동시에 다양한 종류의 라이브러리 프렙 키트와 소프트웨어를 활용해 전사체를 단일세포 해상도로 면밀히 연구할 수 있습니다.

제품 목록

제품명	카탈로그 번호
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}	20100983
NextSeq 1000/2000 P1 XLEAP-SBS Reagent Kit (300 cycles) ^a	20100982
NextSeq 1000/2000 P1 XLEAP-SBS Reagent Kit (600 cycles) ^a	20100981
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (100 cycles) ^a	20100987
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (200 cycles) ^a	20100986
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (300 cycles) ^a	20100985
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (600 cycles) ^a	20100984
NextSeq 2000 P3 XLEAP-SBS Reagent Kit (100 cycles) ^a	20100990
NextSeq 2000 P3 XLEAP-SBS Reagent Kit (200 cycles) ^a	20100989
NextSeq 2000 P3 XLEAP-SBS Reagent Kit (300 cycles) ^a	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. NextSeq 1000 및 NextSeq 2000 시스템에 사용되는 XLEAP-SBS Reagent Kit는 표준 SBS Reagent Kit와 동일한 온도로 배송 및 보관됨.
b. QC 분석을 위한 제품

상세 정보

[단일세포 RNA 시퀀싱](#)

[NextSeq 1000 및 NextSeq 2000 시퀀싱 시스템](#)

[DRAGEN Secondary Analysis](#)

[BaseSpace Sequence Hub 데모 데이터](#)

참고 문헌

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



무료 전화(한국) 080-234-5300
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2024 Illumina, Inc. All rights reserved.
모든 상표는 Illumina, Inc. 또는 각 소유주의 자산입니다.
특정 상표 정보는 www.illumina.com/company/legal.html을 참조하십시오.
M-GL-00478 v4.0 KOR