

Illumina Single Cell 3' RNA Prep

접근성과 확장성이 뛰어난 scRNA-Seq

숙련도와 상관없이 모든 사용자가 완료할 수 있는 간단하고 합리적인 가격의 벤치탑 워크플로우

더 많은 유전자와 전사물을 검출하는 높은 assay 민감도

최대 수십만 개의 세포를 비용 대비 효과적으로 처리해 희귀 세포 유형 발견 가능



소개

단일세포 RNA 시퀀싱(Single-cell RNA sequencing, 줄여서 scRNA-Seq)은 단일세포 포획 및 바코드를 차세대 시퀀싱(next-generation sequencing, NGS)과 결합한 것으로, 복합 조직에 대한 고해상도 이미지를 제공합니다. 연구자들은 scRNA-Seq을 활용해 이질적인 세포 군집(heterogeneous cell population)을 연구하고 희귀 세포 유형을 발견하며 세포 레벨에서 질병 및 발달 과정의 특징을 확인할 수 있습니다. 하지만 특수 자본 장비의 필요성, 높은 시약 가격, 제한된 확장성으로 인해 단일세포 시퀀싱의 광범위한 도입이 쉽지 않았습니다. 이제 Illumina Single Cell 3' RNA Prep으로 단일세포 시퀀싱의 도입이 가속화될 것입니다.

Illumina Single Cell 3' RNA Prep^{*}은 복잡한 워크플로우나 미세유체(microfluidics) 기술 없이 단일세포 mRNA 포획, 바코드, 라이브러리 준비를 할 수 있도록 해 줍니다. Illumina의 시퀀싱 및 인포마틱스(informatics, 정보학) 솔루션이 결합되어 있는 Illumina Single Cell 3' RNA Prep은 사용이 쉽고 확장이 가능한 워크플로우(그림 1)를 제공함으로써 더 많은 랩의 고성능 scRNA-Seq 도입을 돋룹니다.

접근성이 뛰어난 워크플로우

Illumina Single Cell 3' RNA Prep 워크플로우는 비용이 많이 드는 미세유체 시스템이나 노동 집약적인 프로토콜이 필요하지 않아 실행이 아주 간단합니다.[†] 연구자는 유연한 중단 지점 옵션을 제공하는 간단한 수동 워크플로우를 통해 본인의 작업대에서 단일세포 연구를 진행할 수 있습니다. 이 assay는 샘플 처리 전 DSP-메탄을 고정(fixation)[†]을 지원하므로 시간 경과에 따라 수집되거나 운송이 필요한 샘플을 사용하는 경우 scRNA-Seq 실험의 유용성도 확장할 수 있습니다.

Assay 원리

Illumina Single Cell 3' RNA Prep은 간단하고 확장 가능한 단일세포 mRNA 포획 및 바코드를 위해 새로운 PIPseq™ chemistry를 사용합니다(그림 2).[†] PIP은 particle-templated instant partition의 약자로, 하이드로겔 비드(hydrogel bead) 결합 후 바코드가 부착된 올리고뉴클레오티드(oligonucleotide)를 포함하는 템플릿 입자를 사용해 유화(emulsification)를 진행하는 assay입니다. 샘플 준비 단계에서 관심 세포 혼탁액(cell suspension)이 템플릿 입자 및 오일과 혼합된 후 볼텍싱을 통해 템플릿화된 유화액(emulsion)으로 분리됩니다. 유화액 내 세포가 용해되면, 바코드가 부착된 템플릿이 mRNA를 포획합니다. 이후 유화액이 분해되고 포획된 mRNA에서 역전사(reverse transcription) 과정을 통해 cDNA가 생성되며 증폭(amplification)을 거치면 각각의 세포에 대한 cDNA 라이브러리가 만들어집니다. 그다음 단일세포 cDNA 라이브러리는 일반적인 라이브러리 준비

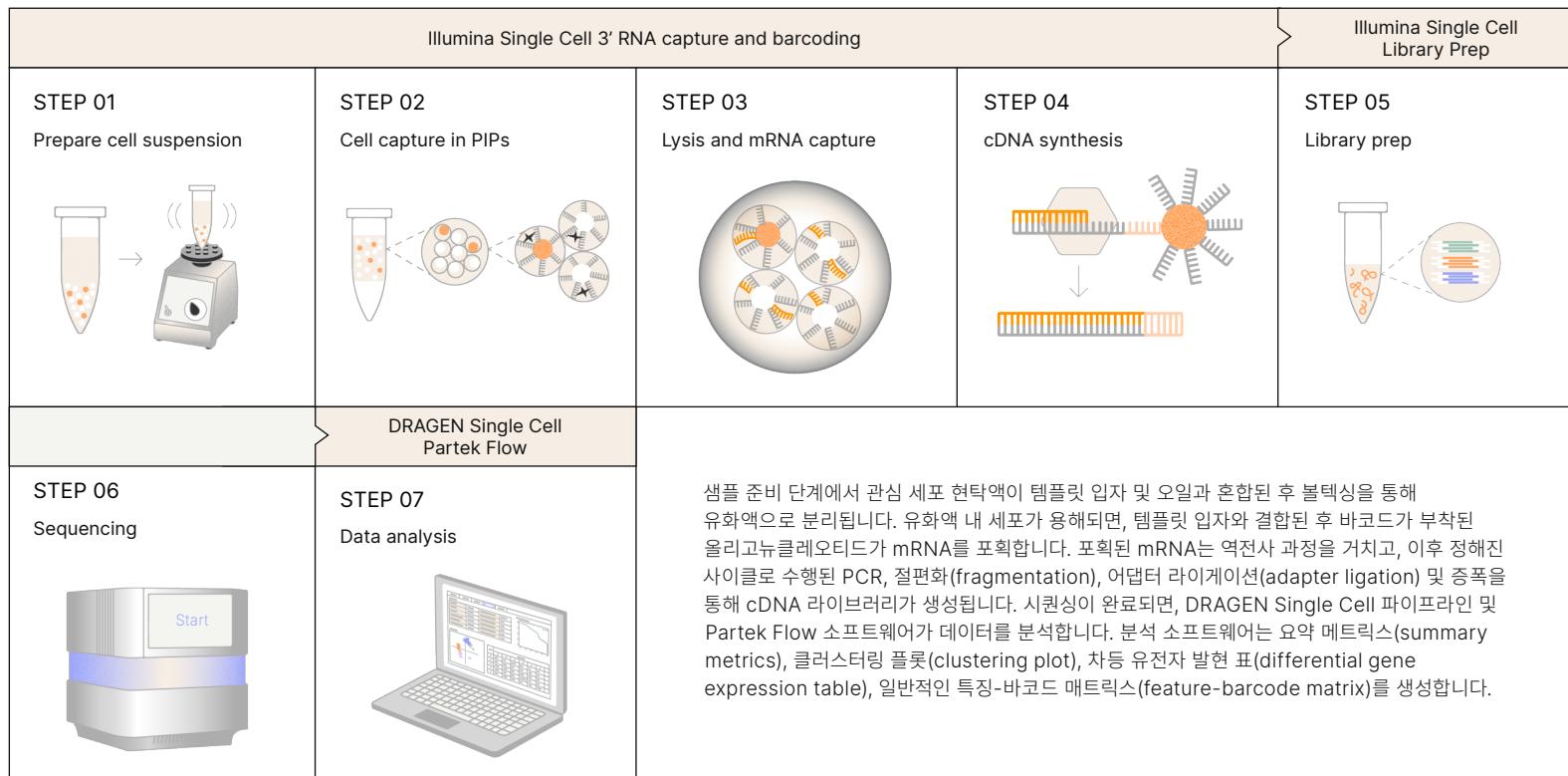
* Illumina Single Cell 3' RNA Prep의 기존 제품명: Fluent PIPseq V 3' Single Cell RNA Kit

[†] DSP: dithiobis(succinimidyl propionate), 디티오비스(숙신이미딜 프로피오네이트)

그림 1: Illumina Single Cell 3' RNA 워크플로우



그림 2: PIPseq chemistry를 이용한 단일세포 mRNA 포획 및 바코드팅

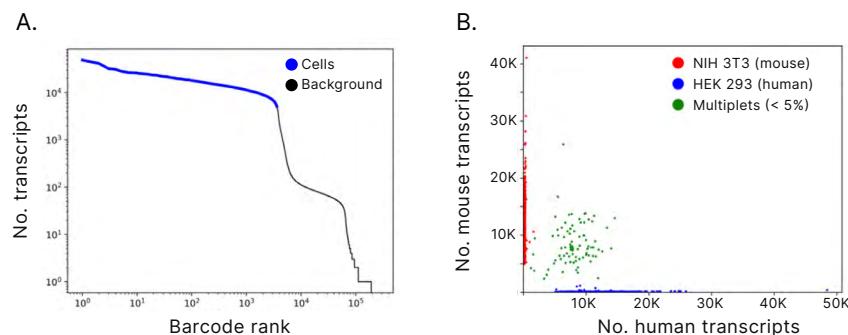


방법을 사용해 시퀀싱 라이브러리로 처리된 후 NGS 분석이 진행됩니다. 마지막으로 시퀀싱 데이터는 DRAGEN Single Cell 파이프라인과 Partek Flow 소프트웨어로 분석됩니다.

고품질 성능

Illumina Single Cell 3' RNA Prep은 높은 전사물(transcript) 및 유전자 분석 민감도(sensitivity)를 기반으로 고품질의 데이터를 제공합니다(그림 3, 그림 4, 표 1). 섬세한 분리 기술은 보통 다른 방법이 놓치는 연약한 세포를 검출할 수 있습니다. 최신 버전의 PIPseq chemistry는 주변 RNA(ambient RNA) 백그라운드를 줄여, 특정 유형의 세포 내 유전자 및 전사물의 분석 민감도를 30% 향상시키고² 시퀀싱 artifact는 감소시켜 더욱더 유용한 NGS 데이터를 확보해 줍니다.

그림 3: 단일 세포에서 mRNA를 포획하는 고해상도 scRNA-Seq

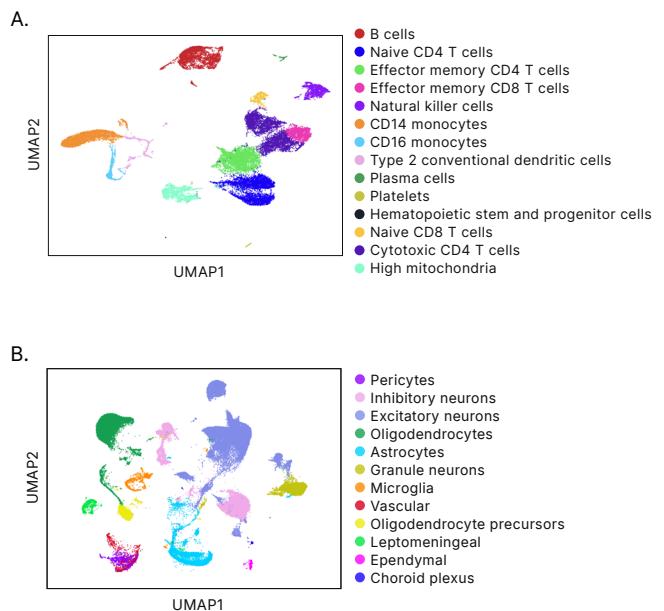


NIH 3T3(마우스) 및 HEK 293(인간) 세포주를 혼합한 배양체의 (A) 바코드 순위 플롯 (barcode rank plot)과 (B) 산점도(barnyard scatter plot)를 나타낸 것으로, Illumina Single Cell 3' RNA Prep T2 키트 사용 시 4,106개의 세포가 검출되었으며 80%의 포획률을 보였고 5% 미만의 멀티플렛(multiplet, 즉 하나의 반응에서 두 개 이상의 세포 포획)이 확인됨

유연성과 확장성을 갖춘 솔루션

Illumina Single Cell 3' RNA Prep에는 볼텍스 믹서 기반의 간단한 방법이 사용되므로 비용 대비 효과적으로 연구 규모를 확장할 수 있습니다. 더 많은 세포를 처리하려면, 더 용량이 큰 PIP 투브를 사용하면 됩니다.¹ 수백에서 수십만 개의 세포를 광범위하게 처리할 수 있어, 선행 연구나 세포 다양성(cell diversity)이 낮은 프로젝트에서 복합 조직 분석까지 다양한 연구 요구 사항을 충족하는 솔루션입니다.¹ 현재 제공되는 키트별로 샘플당 프로파일링할 수 있는 최대 세포 수는 T2 키트가 2천 개, T10 키트가 1만 개, T20 키트가 2만 개, T100 키트가 10만 개입니다. 이 assay의 향상된 세포 처리량은 희귀 세포 유형의 발견 가능성을 높여 줄 수 있습니다(그림 5). 또한 96개의 고유한 듀얼 인덱스(unique dual index, UDI)가 지원되므로 샘플 멀티플렉싱(multiplexing)으로 대량의 샘플을 동시에 처리할 수 있습니다(표 2).

그림 4: 실험 규모와 애플리케이션에 적합한 고해상도 scRNA-Seq



(A) 냉동 보존된 인간 말초 혈액 단핵 세포(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)의 균일한 매니폴드 근사 및 투영(uniform manifold approximation and projection, UMAP) 결과를 나타낸 것으로, Illumina Single Cell 3' RNA Prep T20 키트 사용 시 31,613개의 세포가 검출되었고 79%의 포획률을 보여줍. (B) 냉동 조직에서 얻은 마우스 뇌 핵의 UMAP 결과를 나타낸 것으로, Illumina Single Cell 3' RNA Prep T100 키트 사용 시 15만 5천 개의 핵이 검출되었고 78%의 포획률을 보여줌

표 1: Illumina 시퀀싱 시스템 사용 시 성능이 확인된 Illumina Single Cell 3' RNA Prep

세포 유형	키트 사이즈	시퀀싱 시스템	크기	리드 수	세포 수	세포당 리드 수
HEK/3T3	T2	NextSeq 2000 시스템	9.8 Gb	140M	3611	38,633
HEK/3T3	T10	NextSeq 2000 시스템	23.6 Gb	333M	10,723	31,140
PBMC	T10	NovaSeq 6000 시스템	390 Gb	2.7B	14,307	190,526
PBMC	T20	NovaSeq X Plus 시스템	81.3 Gb	674M	31,613	21,314
마우스 뇌 핵 (고정)	T20	NextSeq 2000 시스템	39.5 Gb	590M	34,596	17,041
마우스 뇌 핵	T100	NextSeq 2000 시스템	176.6 Gb	2.6B	155,000	17,068

단일세포 연구 애플리케이션

Illumina Single Cell 3' RNA Prep의 우수한 접근성, 정밀도 및 분석 민감도는 새로운 연구와 발견을 가능하게 합니다. 보다 많은 세포를 처리하는 역량은 정상 상태와 질병 상태의 세포 지도(cell atlas) 프로젝트를 가속화하고 유전체 규모의 기능 유전체학 스크리닝(functional genomics screening)을 지원할 수 있습니다. 특히 암, 면역학, 신경과학 및 기타 복합 질환을 연구하는 랩은 광범위한 scRNA-Seq 도입으로 많은 혜택을 볼 것입니다.³⁻⁹

신경과학 연구에서의 scRNA-Seq 활용

신경 조직은 한 유기체의 일생 동안 지속적인 재구성(reorganization) 및 재형성(remodelling)을 거치는 다양한 세포 유형으로 복잡하게 구성되어 있습니다. scRNA-Seq은 전사 민감도를 기반으로 신경 세포군의 정확한 다양성을 분류하는 유용한 도구로, 다음에 대한 중요한 통찰력을 제공합니다.

- 신경발달성 질환(Neurodevelopmental disease)과 신경퇴행성 질환(neurodegenerative disease)⁹
- 특정 신경 세포군의 알려지지 않은 역할⁹
- 신경 면역 세포(Neuroimmune cell)가 질병 및 발달에 미치는 영향¹⁰

암 연구에서의 scRNA-Seq 활용

암은 복잡한 세포군이 관여하는 다양한 동적 질병입니다. 암을 유도하는 세포 유형과 변이를 이해하려면 정교한 분석 방법이 필요합니다. scRNA-Seq은 다음과 같은 분석 시 필수적인 도구로 사용되어 왔습니다.

- 종양 미세환경(microenvironment)의 이질성(heterogeneity) 상세 분석^{4,5,11,12}
- 새로운 암 바이오마커(biomarker)의 발견^{13,14}
- 면역요법(Immunotherapy) 및 약물 저항성(drug resistance) 메커니즘의 이해³

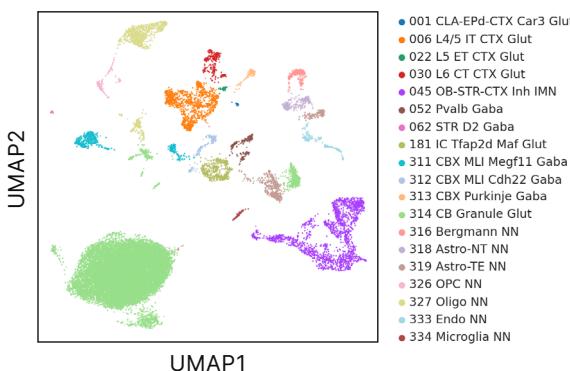
면역학적 연구에서의 scRNA-Seq 활용

면역 체계는 병원체(pathogen)의 식별, 표적화 및 제거를 위해 함께 활동하는 다양한 세포 유형으로 이루어진 복잡한 계층 구조로 되어 있습니다. 연구자들은 다음과 같은 분석 시 scRNA-Seq을 활용해 볼 수 있습니다.

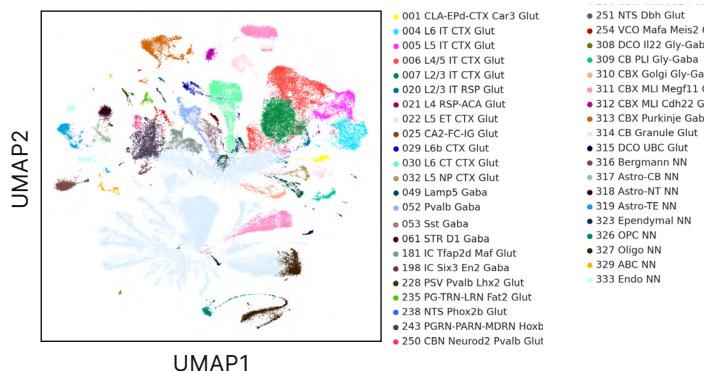
- 면역 세포군의 발달 및 분화(differentiation) 경로 이해¹⁵
- 면역 세포군의 역할 및 기능 파악^{12,16}
- 병원체에 대한 면역 반응 연구⁶

그림 5: Illumina Single Cell 3' RNA Prep이 확장한 실험 규모를 기반으로 발견된 더 많은 세포 유형

A. Microfluidics-based scRNA-Seq (20K cells)



B. Illumina Single Cell 3' RNA Prep (> 120K cells)



(A) 미세유체 기반의 scRNA-Seq으로 2만 개의 세포를 분석한 결과, 마우스의 뇌 핵에서 19가지의 특정 세포 유형이 확인됨. (B) 동일한 마우스의 뇌 핵 샘플을 사용해 Illumina Single Cell 3' RNA Prep으로 12만 개 넘는 세포를 분석한 결과, 42가지의 특정 세포 유형이 확인됨(미세유체 기반 scRNA-seq로 확인된 19가지 세포 유형 중 17가지와 추가로 확인된 25가지의 세포 유형)

표 2: Illumina Single Cell 3' RNA Prep의 플로우 셀당 샘플 처리량 예시^a

시퀀싱 시스템	NextSeq 550		NextSeq 1000/2000				NovaSeq 6000				NovaSeq X		
플로우 셀	Mid	High	P1	P2	P3 ^b	P4 ^b	SP	S1	S2	S4	1.5B	10B	25B
플로우 셀당 데이터 아웃풋(리드 수)	130M	400M	100M	400M	1.2B	1.8B	800M	1.6B	4.1B	10B	1.6B	10B	26B
키트 사이즈	플로우 셀당 처리 가능한 샘플 수												
T2	3	10	2	10	30	45	20	40	102	250 ^c	40	250 ^c	650 ^c
T10	-	2	-	2	6	9	4	8	20	50	8	50	130 ^c
T20	-	1	-	1	3	4	2	4	10	25	4	25	65
T100	-	-	-	-	-	-	-	-	2	5	-	5	13

a. 포함한 세포당 리드(read) 수 2만 개를 기준으로 계산한 값을 나타냄. T2 키트는 2천 개의 세포 포함 및 샘플당 40M 개의 리드가 요구됨. T10 키트는 1만 개의 세포 포함 및 샘플당 200M 개의 리드가 요구됨.

T20 키트는 2만 개의 세포 포함 및 샘플당 400M 개의 리드가 요구됨. T100 키트는 10만 개의 세포 포함 및 샘플당 2B 개의 리드가 요구됨

b. P3 및 P4 플로우 셀은 NextSeq 2000 시스템에서만 사용 가능함

c. Illumina Single Cell Unique Dual Indexes는 96개의 샘플을 위한 96개의 인덱스를 제공함. 개별 레인(lane) 로딩 기능을 지원하므로 플로우 셀당 96개가 넘는 샘플의 처리가 가능함. NovaSeq 6000 시스템에서 개별 레인 로딩 기능을 사용하려면 NovaSeq 6000 Xp Workflow를 선택해야 함

멀티오믹스 애플리케이션

Illumina Single Cell 3' RNA Prep은 다른 멀티오믹스 (multiomics) 분석 방법에도 사용할 수 있습니다.^{1,17} 이 assay를 활용하면 맞춤화된 단일세포 연구 시 포함된 mRNA를 재분석할 수 있습니다. 또한 역전사 과정에서 생성된 cDNA는 하이드로겔 비드에 결합된 상태로 유지되므로 추가적인 인리치먼트(enrichment) 또는 증폭 반응에 재사용해 볼 수 있습니다. 이러한 실험적 유연성은 연구자가 다른 단일세포 분석 방법 사용 시 직면하는 예산적, 기술적 제약 없이 더 큰 규모의 다양한 멀티오믹스 연구를 수행할 수 있도록 해 줍니다.

요약

단일세포 NGS 분석은 암 연구, 면역학 연구, 신경과학 연구 등 수많은 연구 분야에서 새로운 발견의 가능성을 열어줍니다. Illumina Single Cell 3' RNA Prep은 초보 연구자와 숙련된 연구자 모두의 발견 역량을 강화해 줄 수 있는 접근성과 우수한 확장성을 갖춘 scRNA-Seq 솔루션입니다. Illumina Single Cell 3' RNA Prep의 간단한 수동 워크플로우는 mRNA 포획, 바코딩 및 라이브러리 준비 단계를 포함하며, Illumina 시퀀싱 시스템 및 데이터 분석 소프트웨어와 원활하게 통합됩니다. Illumina Single Cell 3' RNA Prep의 뛰어난 성능과 사용 용의성은 더 많은 랩에 scRNA-Seq 기술을 도입할 수 있는 기회를 제공할 것입니다.

상세 정보

Illumina Single Cell 3' RNA Prep

단일세포 RNA 시퀀싱

참고 문헌

- 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.ccr.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

제품 목록

제품명	카탈로그 번호
Illumina Single Cell 3' RNA Prep, T2 (8 samples, 2000 cells/sample)	20135689
Illumina Single Cell 3' RNA Prep, T10 (8 samples, 10,000 cells/sample)	20135691
Illumina Single Cell 3' RNA Prep, T20 (4 samples, 20,000 cells/sample)	20135692
Illumina Single Cell 3' RNA Prep, T100 (2 samples, 100,000 cells/sample)	20135693
Illumina Single Cell Unique Dual Indexes (96 indexes, 96 samples)	20132788
Illumina Single Cell Nuclei Isolation Kit (4 samples)	20132795
Illumina Single Cell Supplemental Enrichment and Amplification Kit	20132794
Single Cell Vortexer and Accessories	20145920

6. Chang JT, Liu LB, Wang PG, An J. [Single-cell RNA sequencing to understand host-virus interactions](#). *Virol Sin.* 2024;39(1):1-8. doi:10.1016/j.virs.2023.11.009
7. 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
8. 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
9. 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
10. 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
11. 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](#). *Virol Sin.* doi:10.1016/j.virs.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



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

© 2025 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-03195 v3.0 KOR