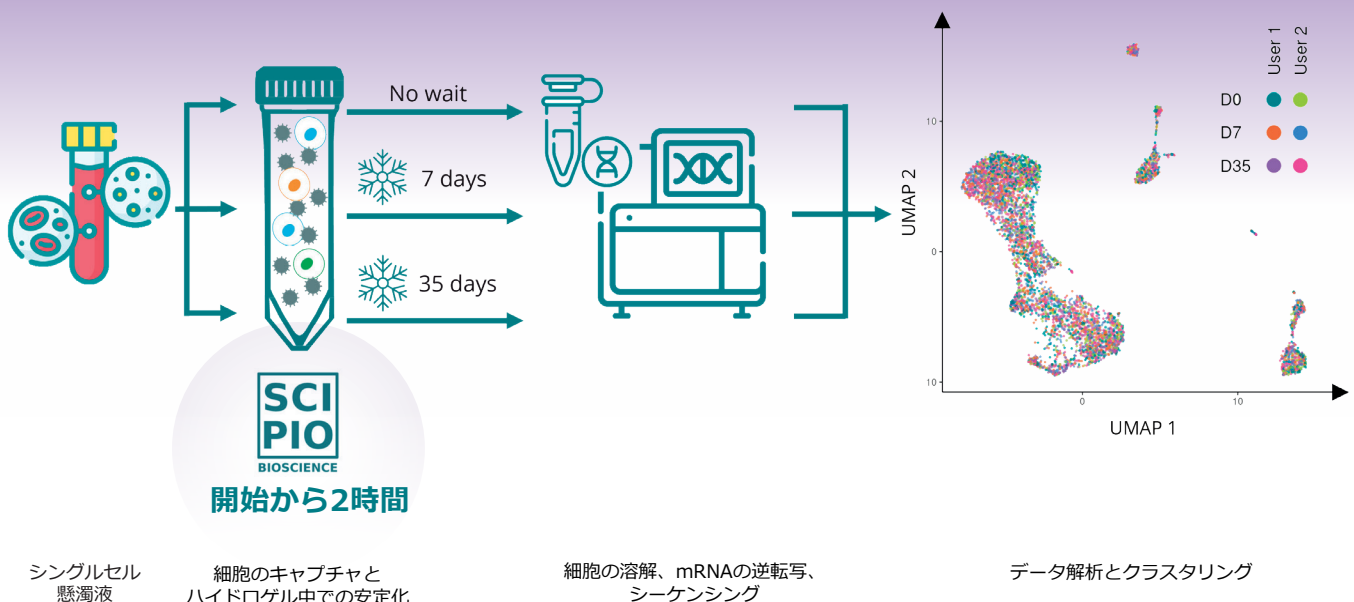


# 新鮮なトランスクリプトーム の状態を実験スケジュールを 柔軟に調整できる便利な停止 ポイントを活用しましょう

## 要約

Scipio bioscience社のAsteria™ シングルセルRNA-seqキットは、装置不要で、必要な時に新鮮なシングルセルサンプルの処理が可能です。これによりやむを得ない固定または解凍したサンプルや核での作業を行わずに済み、より信頼性の高いトランスクリプトームを得ることができます。Asteria™ プロトコルには、ワークフローに柔軟性を持たせるために、実験開始後2時間で停止するポイントが設定されており、ユーザーは手術の後などでサンプルのラボへの到着が遅れても、予定外のサンプルを処理することができます。ここでは、Scipio bioscience社で行った、停止ポイントが結果に影響を与えず、**サンプルの安定性が35日まで延長されたことの実証結果**を紹介します。



シングルセル  
懸濁液

細胞のキャプチャと  
ハイドロゲル中での安定化

細胞の溶解、mRNAの逆転写、  
シーケンシング

データ解析とクラスタリング

## アプリケーション #1

Asteriaキットでは、サンプル到着後すぐに処理を開始し、2時間後に停止することができます。スケジュールに合わせて翌日以降に再開し、いつでもトランスクリプトームを取得できます。これにより、トランスクリプトームに影響を与える可能性のある処理で、デリケートな組織を急速凍結したり、固定したりする必要もなくなります。

## 方法

新鮮なヒト末梢血単核細胞（PBMC）を全血から抽出した後、6サンプルに分割し、2人のオペレーターが3サンプルずつ処理を行いました（図1）。最初の停止点までプロトコルを進め、サンプルを新鮮なまま（D0）残りのプロトコルを行うか、ドライアイスで急速凍結し、-80℃で7日間（D7）または35日間（D35）保存した後、プロトコルを再開し、バーコード付きcDNAを調製しました。6サンプルのシーケン斯拉イブラリを調製し、シーケンシングを行い、得られたデータをCytonaut™で解析しました。

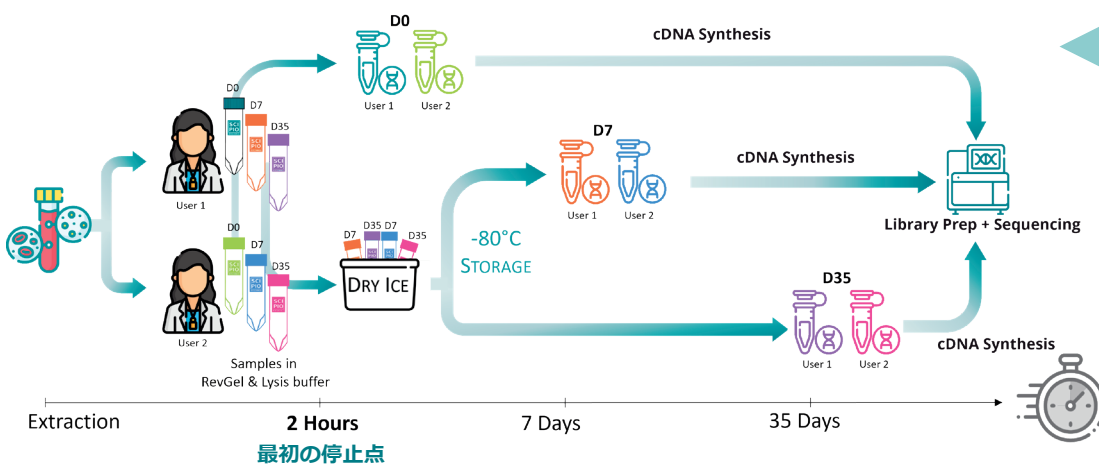


図1  
すべてのプロトコルはAsteriaおよびCytonautのユーザーガイドに従って実施されました。

## 結果

いずれの停止条件も、試験したすべての条件の中で、細胞集団に有意な影響を示しませんでした（図2）。停止を行わなかった対照条件と比較して、停止条件ではバーコードあたりのトランスクリプト数中央値と細胞関連バーコードあたりの遺伝子数中央値がわずかに減少していました（図3）。しかし、両パラメーターは依然として、Asteria™キットを用いてこれらの細胞に期待される結果の範囲内にあり、遺伝子発現プロファイルに基づく細胞クラスタリングにドリフトは観察されませんでした。冷凍することにより変化する可能性のあるcell apoptosis<sup>3</sup>およびcold shock

response<sup>4</sup>に関する遺伝子発現、ならびに検出された細胞関連バーコードにおけるミトコンドリア由来の転写産物数は、冷凍条件と非冷凍条件との間で実質的な相対的差異を示しませんでした（図4）。全体として、D7とD35の両条件は、D0対照と比較して、サンプルの質にも多様性にも影響を与えませんでした。

図2

MonacoImmuneData<sup>3</sup>データセットによる自動アノテーション後の各条件における細胞タイプの割合。

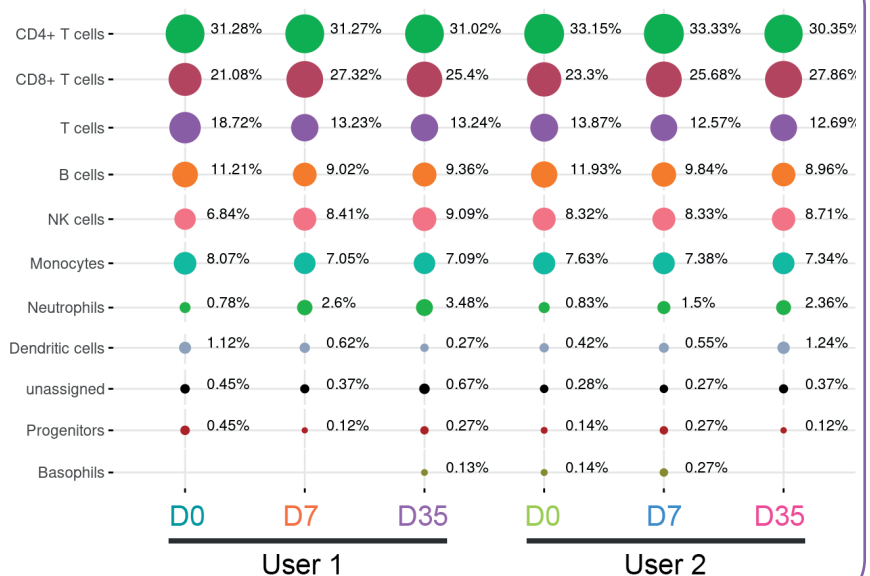
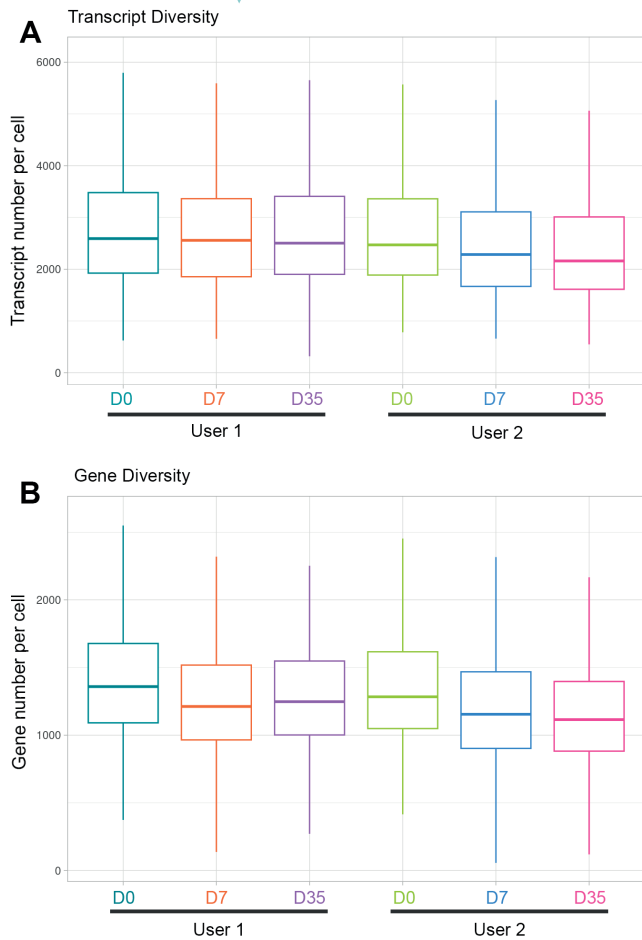


図3

各条件における細胞あたりの平均トランスクリプト数（上）と平均遺伝子数（下）の箱ひげ図。



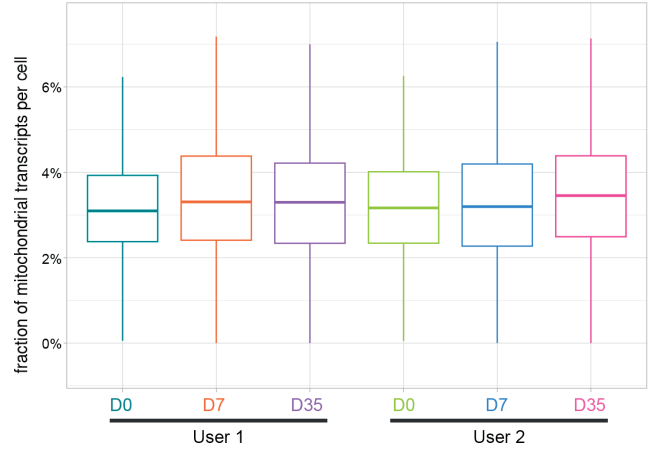
## 結論

このアプリケーションでは、実験開始後2時間での停止点を使用することで、キットにドライアイス以外の試薬を追加することなくAsteria™プロトコルを一時停止でき、回収されたトランスクリプトのわずかな減少のみでサンプルを最長35日間安定して保存できることを示しました。さらに、この停止ポイントは、細胞に顕著な低温ショック誘発ストレスを発生させず、患者の生検そのままの新鮮なサンプルに使用できることを実証しました。

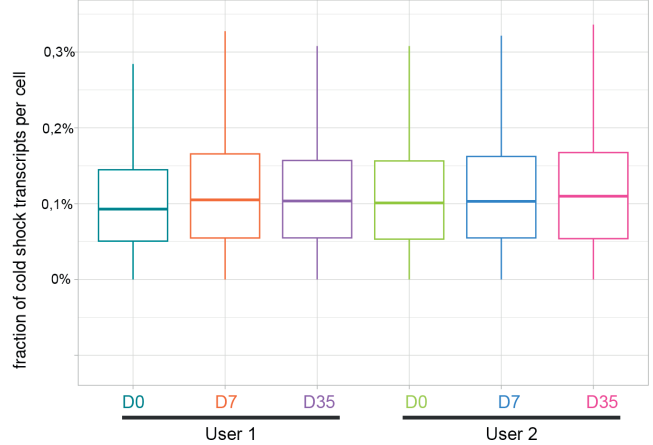
## アプリケーション #2

1ヶ月の間に複数のシングルセルサンプルを処理する予定であり、物流上の理由またはバッチ効果を防ぐために、1つのバッチをシーケンス施設に送りたい場合、得られた新鮮サンプルを処理し、トランスクリプトームを保存しながらゲル化装置で凍結します。すべてのサンプルが揃ったら、同時に解凍して、残りのプロトコルを並行して実行し、同時にライブラリーを調製することができます。

A Mitochondrial genes



B Cold shock genes



C Apoptosis genes

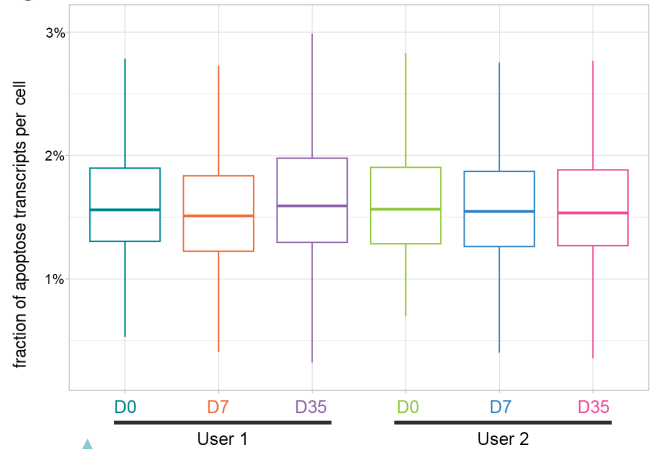


図4

上から、各条件におけるミトコンドリアのトランスクリプト、コールドショック誘導トランスクリプト<sup>4</sup>、アポトーシストランスクリプト<sup>5</sup>の分画の箱ひげ図。

いくつかの遺伝子は他の経路に関連しているため、ゼロにはならないことが予想されます。

## 参照

<sup>1</sup> Asteria™ User guide v1.0, available on <https://scipio.bio>

<sup>2</sup> Cytonaut™ User guide v1.5, available on <https://scipio.bio>

<sup>3</sup> Monaco G et al. (2019). RNA-Seq Signatures Normalized by mRNA Abundance Allow Absolute Deconvolution of Human Immune Cell Types Cell Rep. 26, 1627-1640.

<sup>4</sup> Lindquist, J.A., Mertens, P.R. Cold shock proteins: from cellular mechanisms to pathophysiology and disease. Cell Commun Signal 16, 63 (2018).

<sup>5</sup> GSEA (2015), HALLMARK\_APOPTOSIS [database]. Retrieved from [http://www.gsea-msigdb.org/gsea/msigdb/human/geneset/HALLMARK\\_APOPTOSIS.html](http://www.gsea-msigdb.org/gsea/msigdb/human/geneset/HALLMARK_APOPTOSIS.html).

# Single - Cell Single - Tube Single - Software



穏やかな細胞分離と強力なソフトウェアのコンビで、  
新しい細胞タイプの検出と分析を可能にします

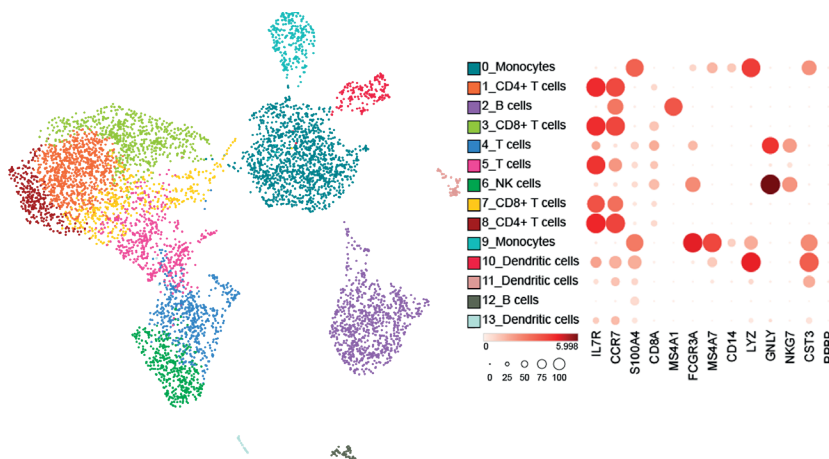


Asteria™キットで  
装置を使用しない  
シングルセル調製を



細胞サイズの制限を受けず、最適なトランスクリプトーム保護が可能な hidrojel 技術により、どこにいても新鮮なシングルセルサンプルから最良のデータを得られます。

Cytonaut™ ソフトウェアは無料でお試しいただけます  
こちらにアクセス ▶ [cytonaut-scipio.bio](https://cytonaut-scipio.bio)



生データ処理からインタラクティブな視覚化まで、パイプライン全体をカバーするプラグアンドプレイの直感的なソフトウェアを使用して、数時間以内にデータを分析します。

## ご注文情報

Asteria シングルセルRNA-seqキット  
(型式 001-1000)



お問合せ：  
**プライムテック株式会社**  
www.primetech.co.jp

ライフサイエンス事業部 バイオ試薬ソリューション部  
東京都文京区小石川1-3-25 小石川大園ビル2F  
Phone : 03-3816-0851 (代表) Fax : 03-3814-5080  
E-mail : reagents@primetech.co.jp

SCIPIO BIOSCIENCE



本製品は研究用です。診断用には使用しないでください。

FIND MORE INFORMATION ON [SCIPIO.BIO](https://scipio.bio)