

ポスターノート

アプリケーション: 大型細胞の解析を可能にする、ハイドロゲルベースのシングルセル調製技術「AsteriaシングルセルRNA-seqキット」 - 心筋細胞の例 -

Léa Cathaly¹, Stanislas Lipin¹, Frédéric Guérin¹,
Elodie Balvadia¹, Sara Majello¹, Raya Poncin¹,
Nicolas Fernandez¹, Hélène Eckert¹.

1. Scipio bioscience, Paris, France

NATURE OF THE SAMPLE

scRNAシーケンシングのための技術は、細胞サイズを含むそれぞれの細胞タイプの特徴を考慮して選択する必要があります。成熟すると30µm以上になる心筋細胞は特に大型の細胞で、マイクロ流路ベースのシングルセルプラットフォームでは調製が困難です。実際に、小さなチャンネルサイズにより大きな細胞にストレスやダメージを与えたり、チャンネルが詰まったりします。ここでは、in vitroで分化させたヒト心筋細胞のシングルセル解析を、ハイドロゲルをベースとした技術を用いたAsteriaシングルセルRNA-SeqキットとCytonautシングルセル解析ソフトウェアで実施した例について紹介します。

METHODOLOGY

実験には、市販されているヒト胚性幹細胞 (Cellartis®, Takara Bio®)を遺伝的に改変して得られたヒト心筋細胞 (直径20-35µm)を用いました。凍結細胞を解冻し、プレートに蒔き、製造者の推奨条件で培養しました。シングルセル実験には培養3-14日の細胞を用いました。

10,000細胞をAsteriaシングルセルRNA-seqキットで処理し、mRNAキャプチャビーズと結合させることができました。

続いて、細胞とビーズの懸濁液をハイドロゲル溶液で希釈し、ハイドロゲル溶液のゲル化後、細胞を溶解することで、mRNAは細胞と結合したビーズによってキャプチャされます。ビーズの回収後、mRNAを逆転写し、PCRで増幅した後、ライブラリに調製しIllumina® NovaSeqでシーケンシングを行いました。

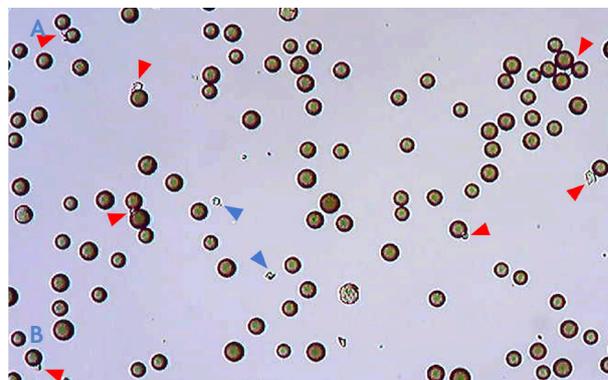


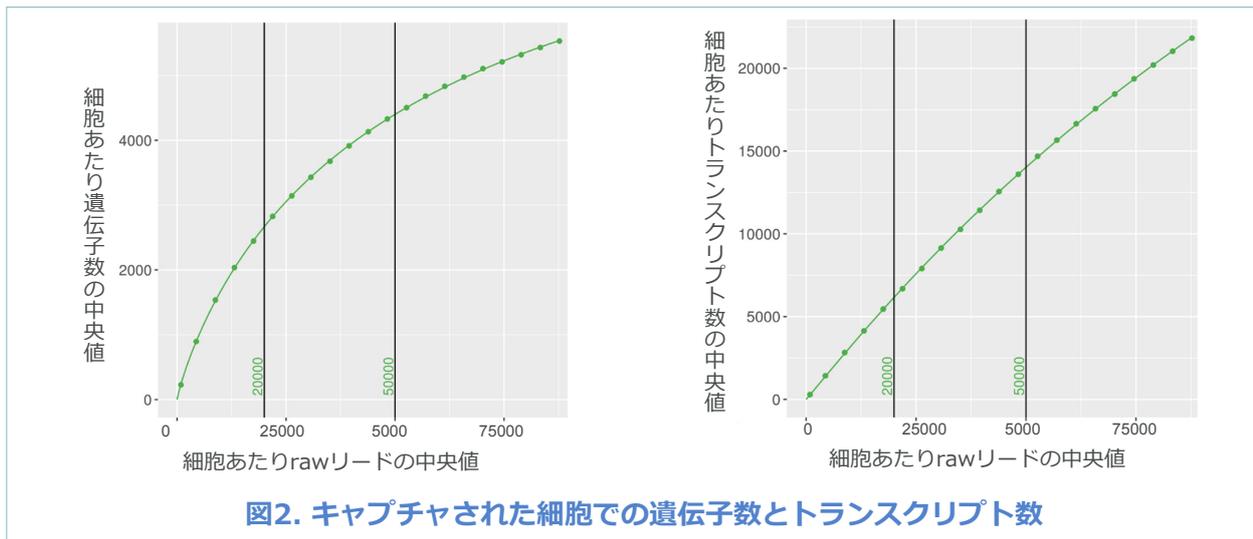
図1. ヒトES細胞由来の培養細胞と結合したキャプチャビーズの顕微鏡写真

- ▶ キャプチャビーズに結合した細胞
- ▶ 結合しなかった細胞

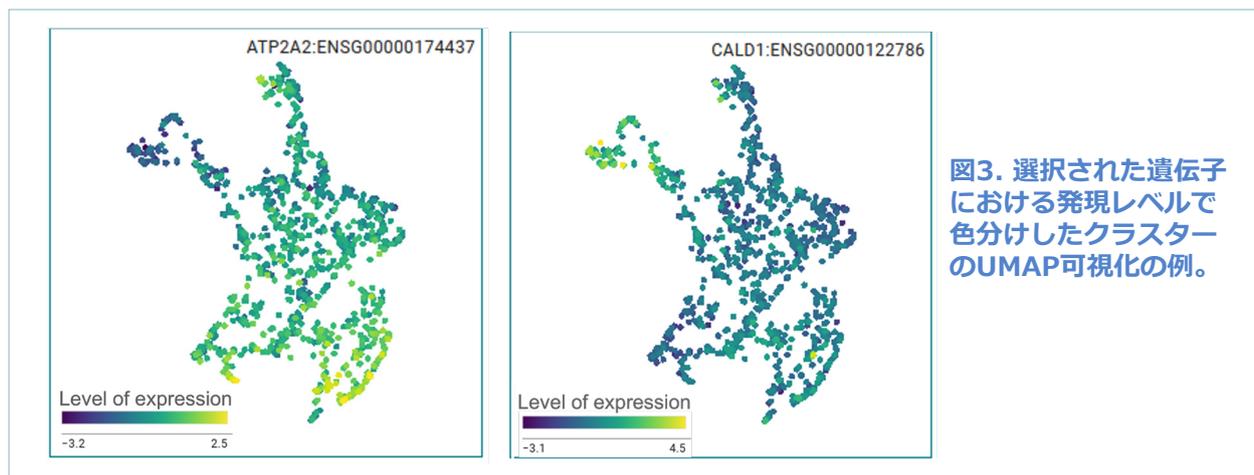
ポスターノート

RESULTING DATASETS

生シーケンシングデータをCytonautシングルセル解析ソフトウェアで解析しました。リードのアライメント、重複の除去、アサインメント後、カウントマトリックスが生成されました。



シングルセルのUMAP解析により、心筋（ATP2A2）または平滑筋（CALD1）に特異的な遺伝子の発現レベルに基づく、明確なクラスターが明らかになりました。シングルセル解析から、心筋細胞とは別の細胞型が存在することが明らかになりましたが、これはおそらく分化過程が不完全なためだと考えられます。



ご注文情報

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

本製品は研究用です。診断用には使用しないでください。

Scipio bioscience

Pépinère Paris Santé Cochin

29 rue du Faubourg Saint Jacques 75014

Paris, France



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