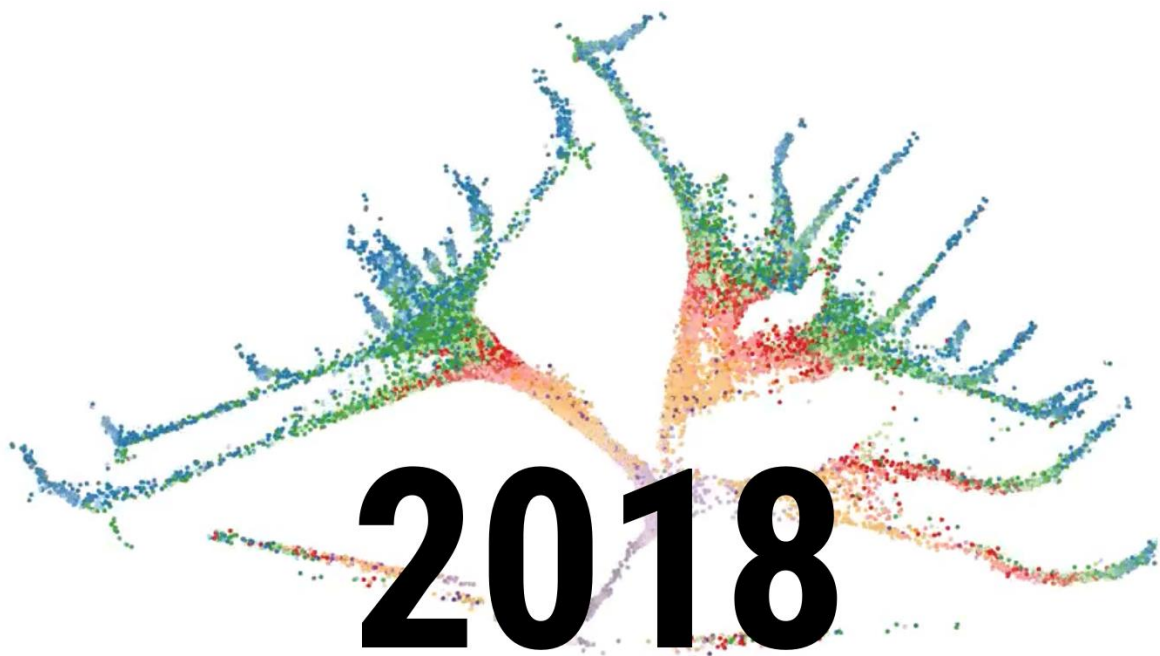


# シングルセルRNAシーケンスを用いた 単一細胞レベルの遺伝子発現解析



# 2018

BREAKTHROUGH  
*of the* YEAR

## Development cell by cell

With a trio of techniques, scientists are tracking embryo development in stunning detail

# nature methods



**METHOD OF THE YEAR 2019**

Localization microscopy twice as precise  
A cryo-EM-based structural proteomics approach  
Time-resolved crystallography at the European XFEL  
Magnetic resonance at high speed

**シングルセルRNA-seqの有用性**



**シングルセルRNA-seqの原理**



**実際の作業手順**



**実施例**

**シングルセルRNA-seqの有用性**



シングルセルRNA-seqの原理



実際の作業手順



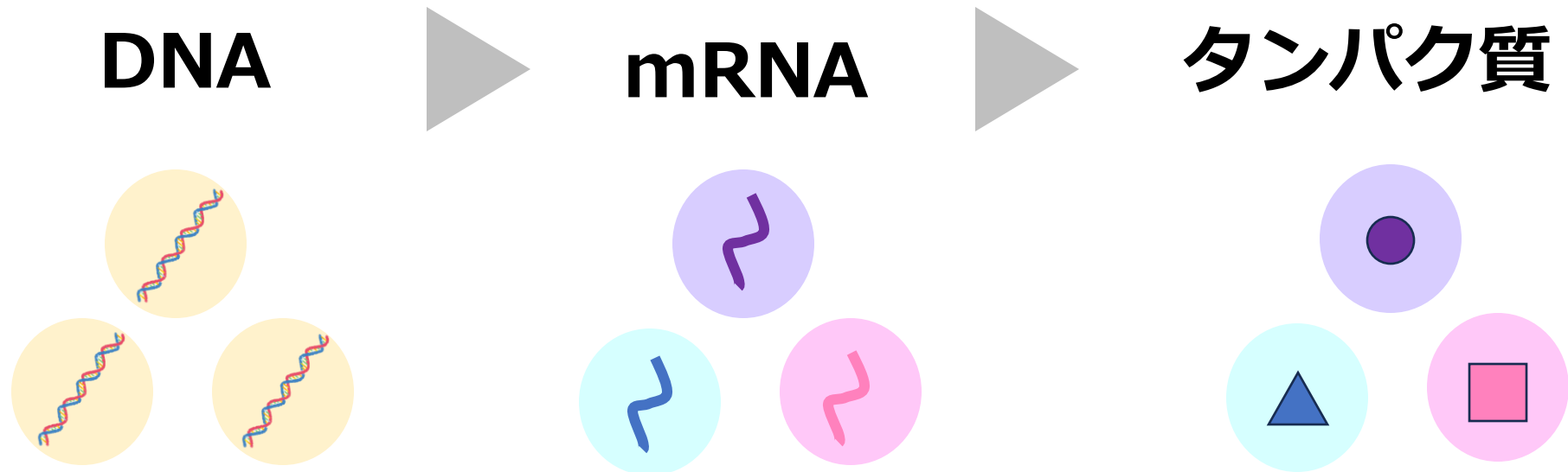
実施例

# 遺伝子発現解析の有用性

設計図

基本的にどの細胞にも存在

機能をもってはたらく



- ・ 組織、細胞によって異なる
- ・ タンパク質の種類、量を反映

# 遺伝子発現解析の有用性

薬の影響



疾患モデル



特定の遺伝子の機能

ノックアウトマウスなど



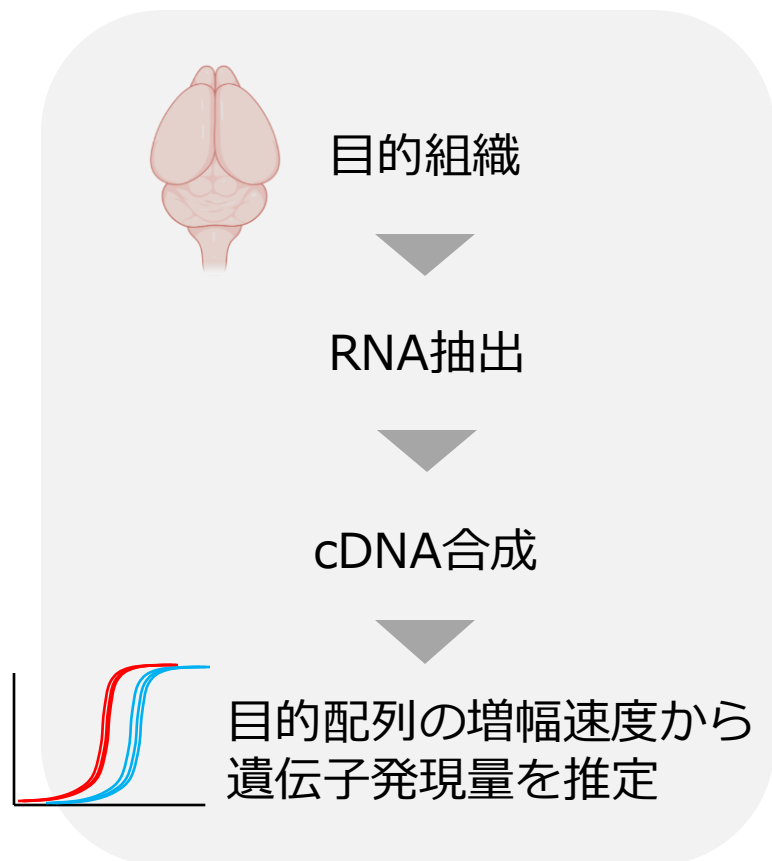
コントロールと比較することで  
発現量が変わる遺伝子が見つかる



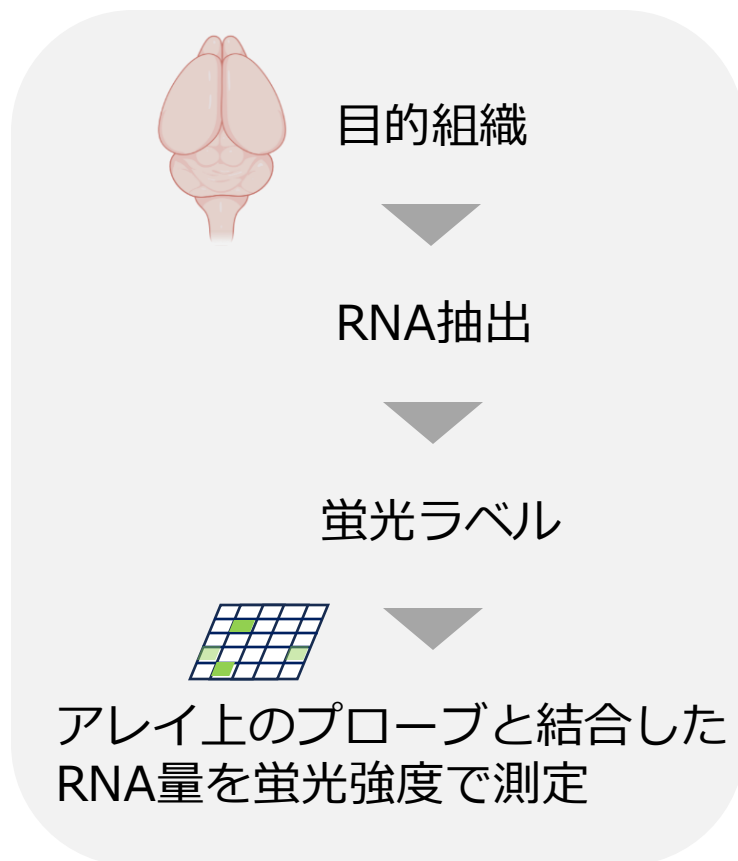
現象の理解につながる

# 遺伝子発現解析の方法

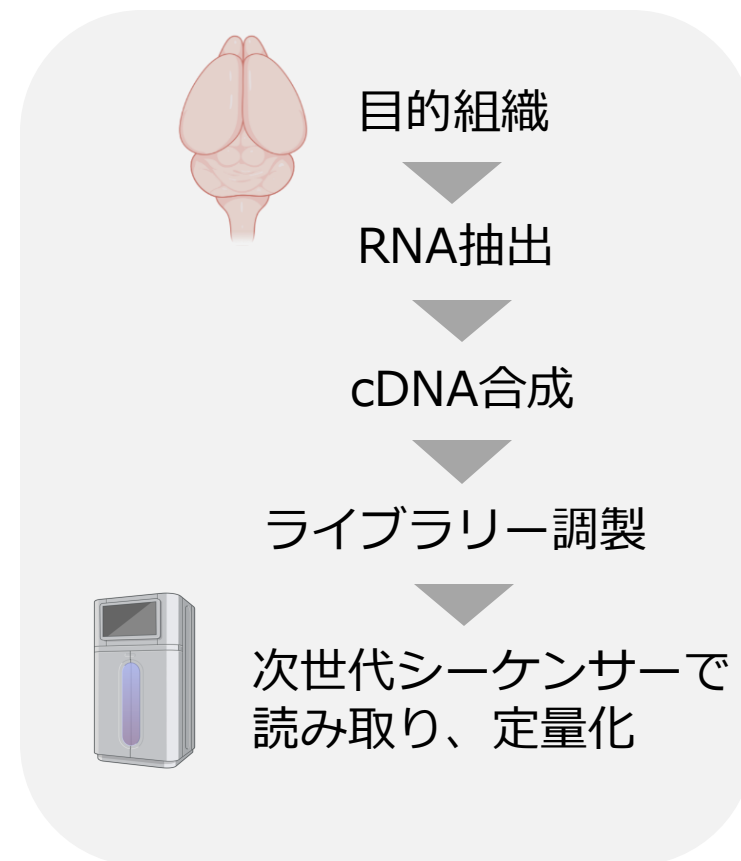
## リアルタイムPCR



## マイクロアレイ



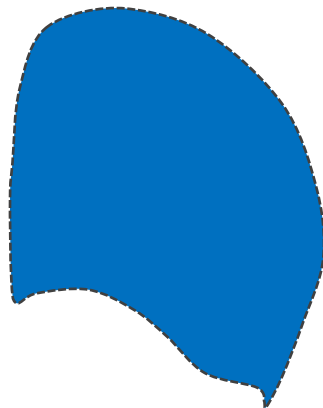
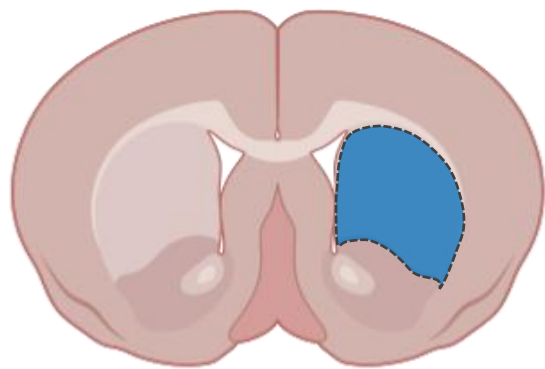
## RNAシーケンス(バルク)



標的とする遺伝子が限られる

標的とする遺伝子を  
設定しなくてよい

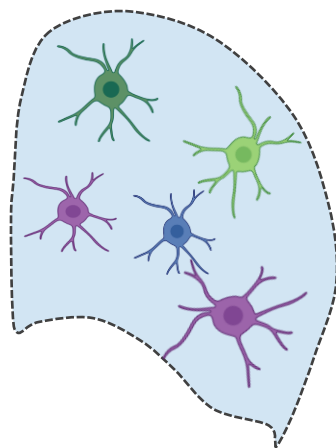
# シングルセルRNA-seqと従来の方法との違い



## RNAシーケンス(バルク)

組織全体の遺伝子発現を解析

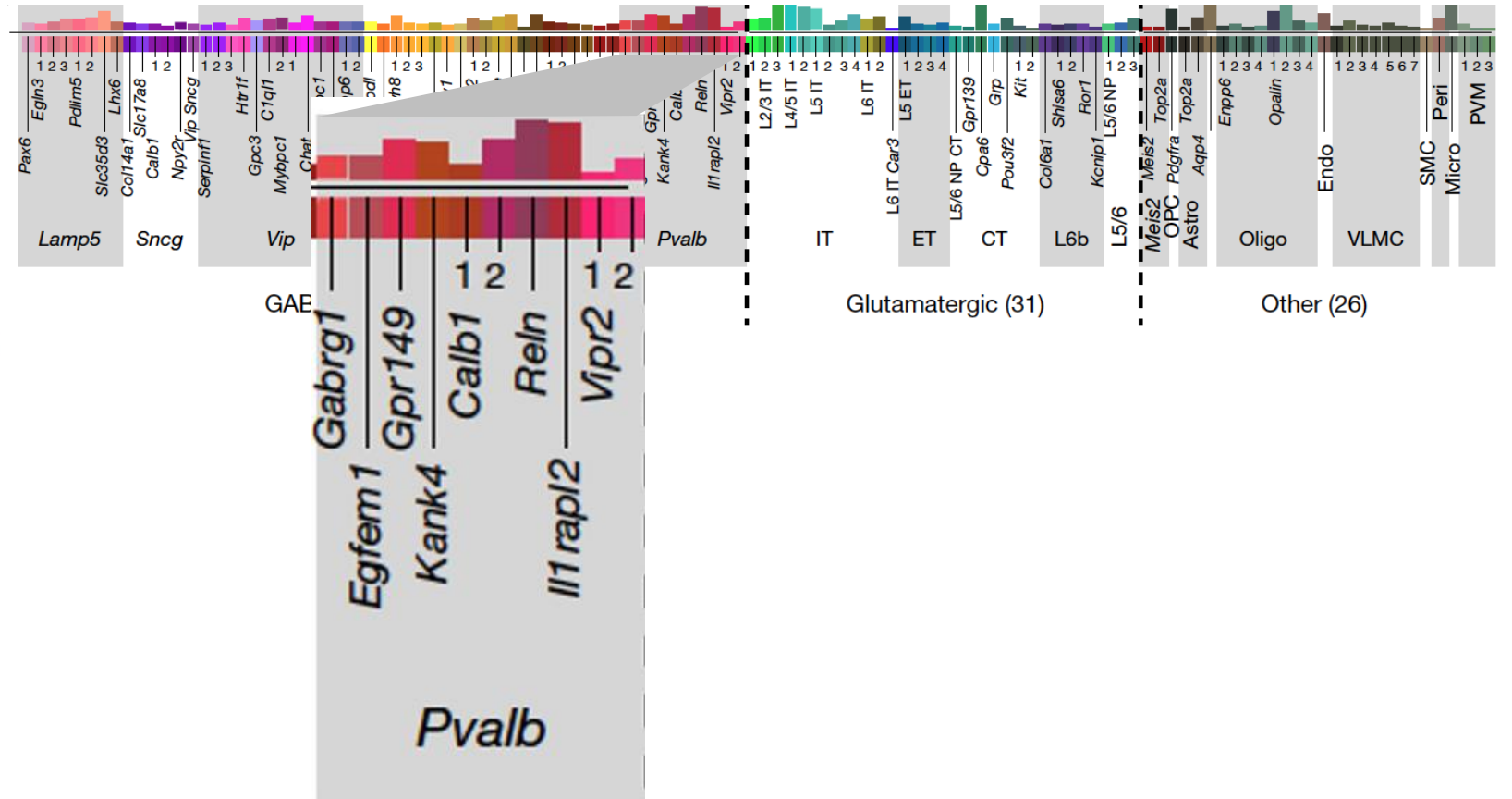
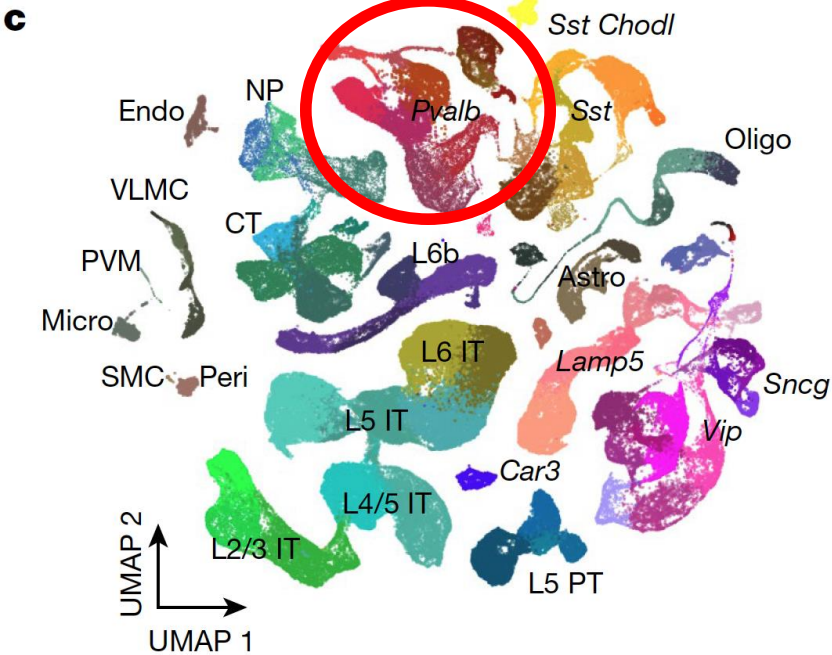
## シングルセルRNAシーケンス



それぞれの細胞における  
遺伝子発現を解析

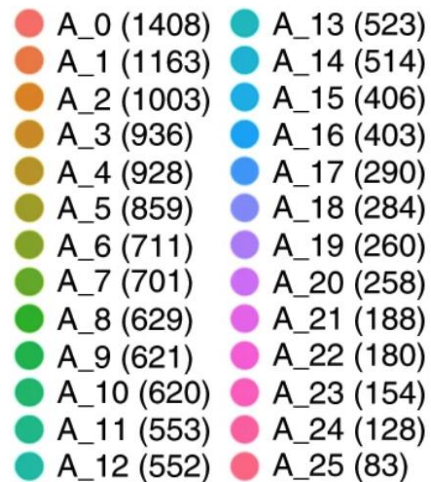
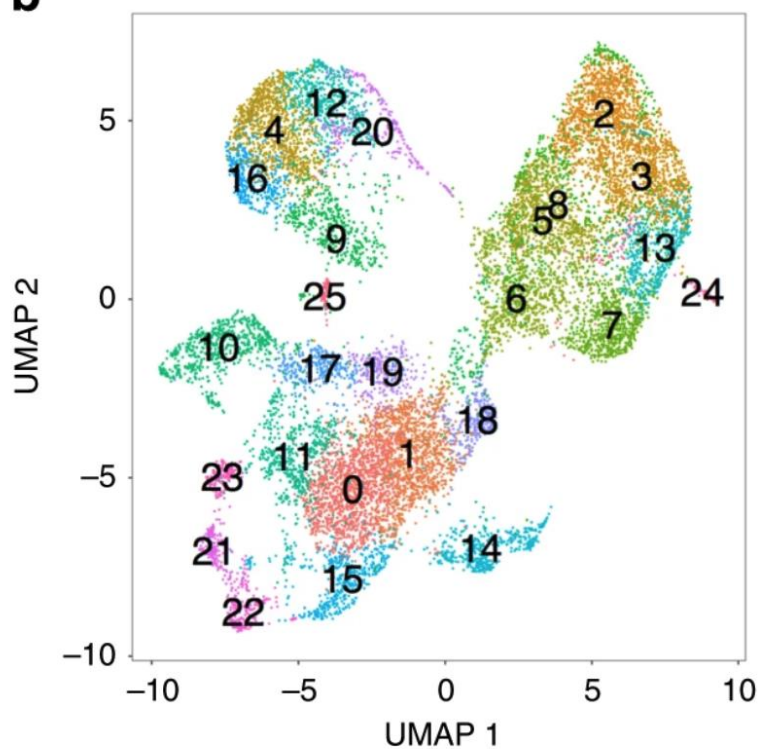
# シングルセルRNA-seqで得られる情報

組織中にどのような細胞集団が存在しているのか分かる  
新規の細胞集団の発見にもつながる

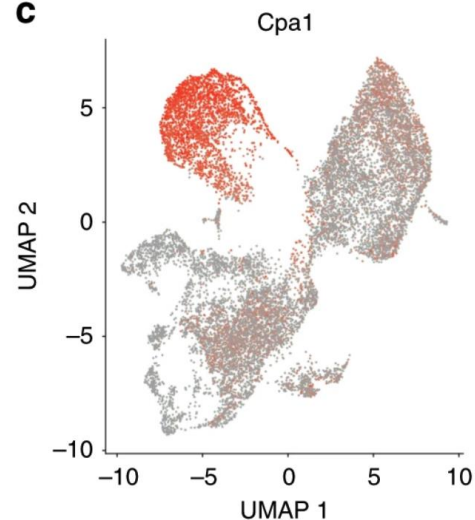


# シングルセルRNA-seqで得られる情報

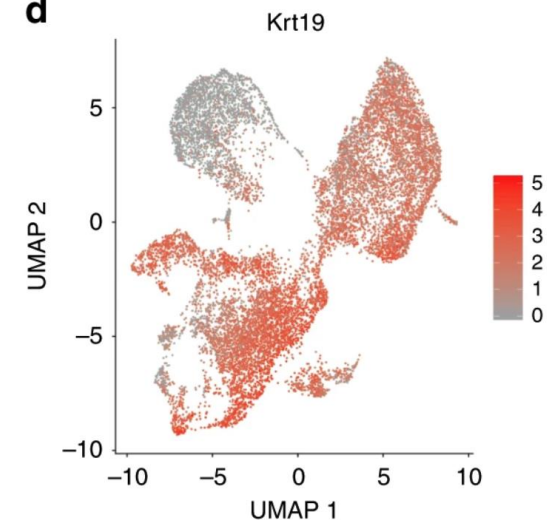
b



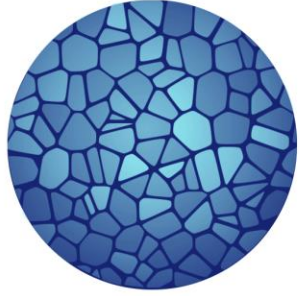
c



d



目的遺伝子を発現している細胞集団、遺伝子発現量が分かる



# HUMAN CELL ATLAS

## 公共データの活用

人体を構成する全ての細胞の遺伝子発現の情報を  
カタログ化するプロジェクト

About HCA ▶ Atlases & Datasets ▶ Ethics & Equity ▶ Publications ▶ News & Events ▶ Organization ▶



Datasets ▶ HCA BioNetworks ▶ Guides ▶ Metadata ▶ Contribute ▶ APIs ▶ Updates ▶



Help & Documentation ▶ Sign In ▶

Filters Clear All

Search:

Access

- Required 2
- Granted 487

Analysis Protocol

- 4.2.3 1
- 10x\_analysis 2
- 10x\_analysis\_protocol 3
- 10x\_gene\_expression\_analysis 1
- 10x\_initial 1
- 10x\_matrix\_generation 1
- 10x\_matrix\_normalisation 1

### Explore Data

64.1M Estimated Cells • 22.7k Specimens • 9.4k Donors • 520.1k Files Export

Samples Files

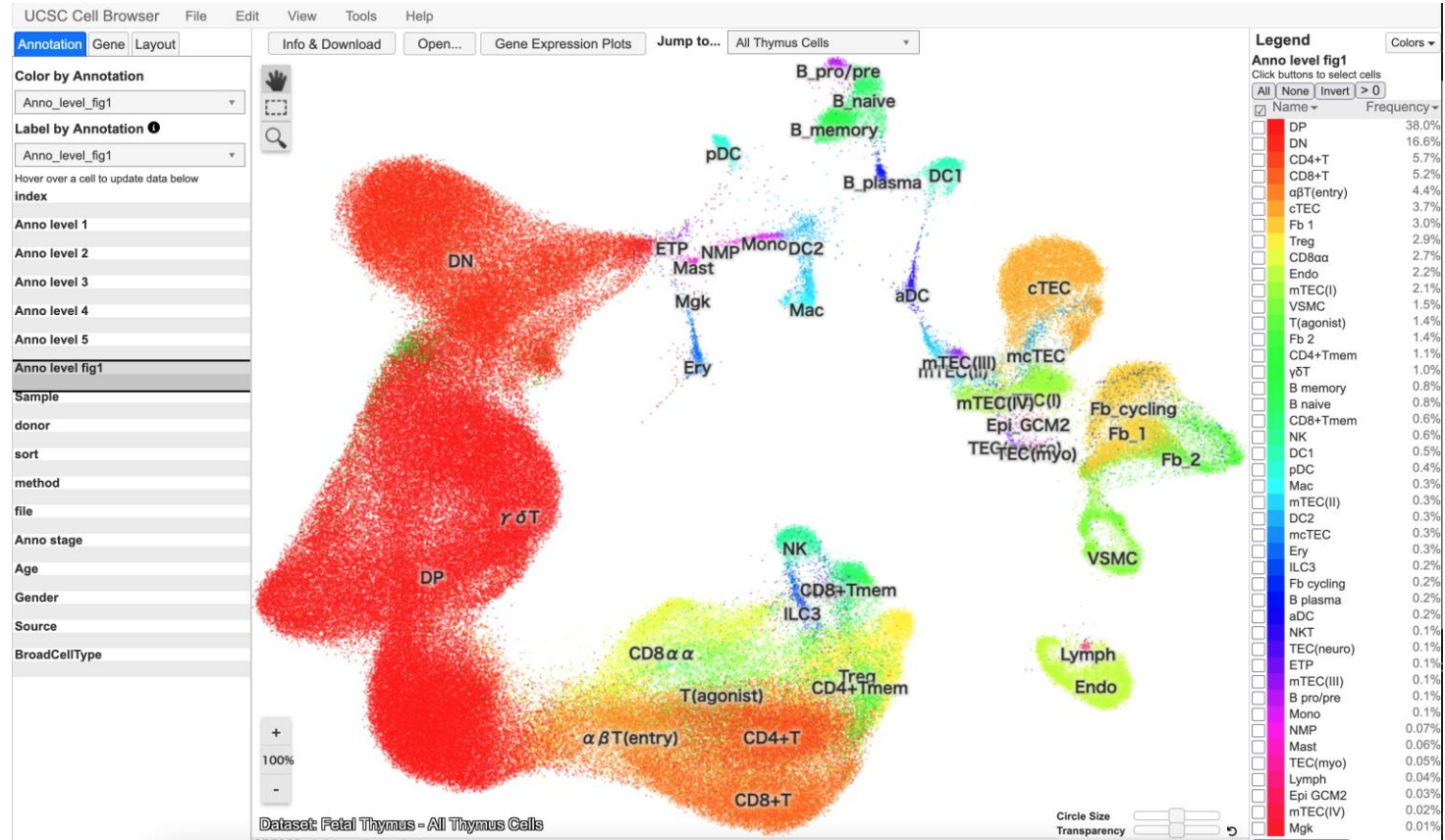
Access to data explorer is limited for unauthorized users. To view all available data please [sign in](#).

25 of 489 Edit Columns ▼

	Access	Data Use Restriction	Biological Network	Species	Anatomical Entity	Library Construction Method	Dis...
<a href="#">Transcriptome atlas of human early development</a>	Granted	NRES	Unspecified	Homo sapiens	Embryo	2 library c...	nor...
<a href="#">Genetic signatures of COVID-19 defines hallmarks of severity and specificity</a>	Granted	NRES	Immune	Homo sapiens	blood	2 library c...	4 d...
<a href="#">Single-cell RNA sequencing reveals human adipocyte heterogeneity with distinct sensitivities to insulin</a>	Granted	NRES	Adipose	Homo sapiens	Adipose tissue	Visium Spatial Gene Expression V1	3 d...

# 公共データの活用

Analysis Portals



Entry type

DataSets (46)  
Series (5,707)  
Samples (112,828)  
Platforms (23)

Organism

Customize ...

Study type

Expression profiling by array  
Methylation profiling by array  
Customize ...

Author

Customize ...

Attribute name

tissue (54,103)  
strain (31,426)  
Customize ...

Publication dates

30 days  
1 year  
Custom range...

Summary 20 per page Sort by Default order

Send to: Filters: Manage Filters

Search results

Items: 1 to 20 of 118604

<< First < Prev Page 1 of 5931 Next > Last >>

Top Organisms [Tree]

Mus musculus (54332)  
Homo sapiens (43518)  
Macaca mulatta (6205)  
Callithrix jacchus (6069)  
Pleurodeles waltl (2075)  
More...

Loss of adaptive DNA breaks in Alzheimer's disease brains

1. (Submitter supplied) Background: DNA breaks accumulate in Alzheimer's disease (AD) brains. While their role as true genomic lesions is recognized, DNA breaks also support cognitive function by facilitating the expression of activity-dependent immediate early genes. This process involves TOP2B, a DNA topoisomerase that catalyzes the formation of DNA double-strand breaks. Objective: To characterize how AD impacts adaptive DNA breaks at nervous system genes. more...

Organism: Homo sapiens  
Type: Genome binding/occupancy  
Platform: GPL24676 8 Samples  
Download data: BW  
Series Accession: GSE294102 ID: 200294102

Single nucleus RNA-seq of subcortical white matter in cuprizone toxicity mouse models

2. (Submitter supplied) We compared the transcriptional phenotypes of the oligodendrocyte and microglia, between the transcriptional phenotypes to human MS oligodendrocyte states with shared pathology.

Find related data

Database Select

GSM8891789 corpus callosum, LPC, rep 1

Relations

BioProject PRJNA1246592

Download family

SOFT formatted family file(s)  
MINiML formatted family file(s)  
Series Matrix File(s)

Format

SOFT ?  
MINiML ?  
TXT ?

Supplementary file	Size	Download	File type/resource
GSE293850_RAW.tar	147.5 Mb	(http)(custom)	TAR (of MTX, TSV)

SRA Run Selector ?

Raw data are available in SRA

シングルセルRNA-seqの有用性



**シングルセルRNA-seqの原理**

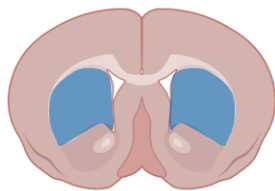


実際の作業手順

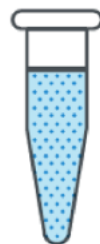


実施例

# シングルセルRNA-seqの流れ



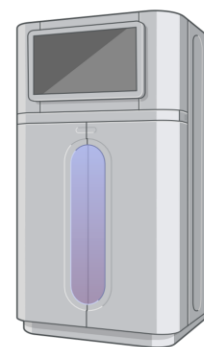
組織回収



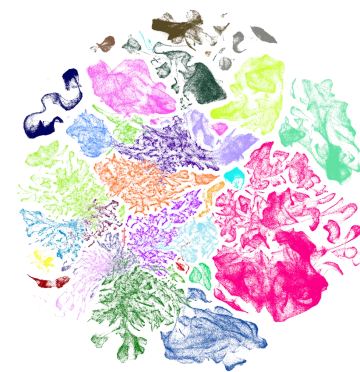
単一細胞化



ライブラリー作製

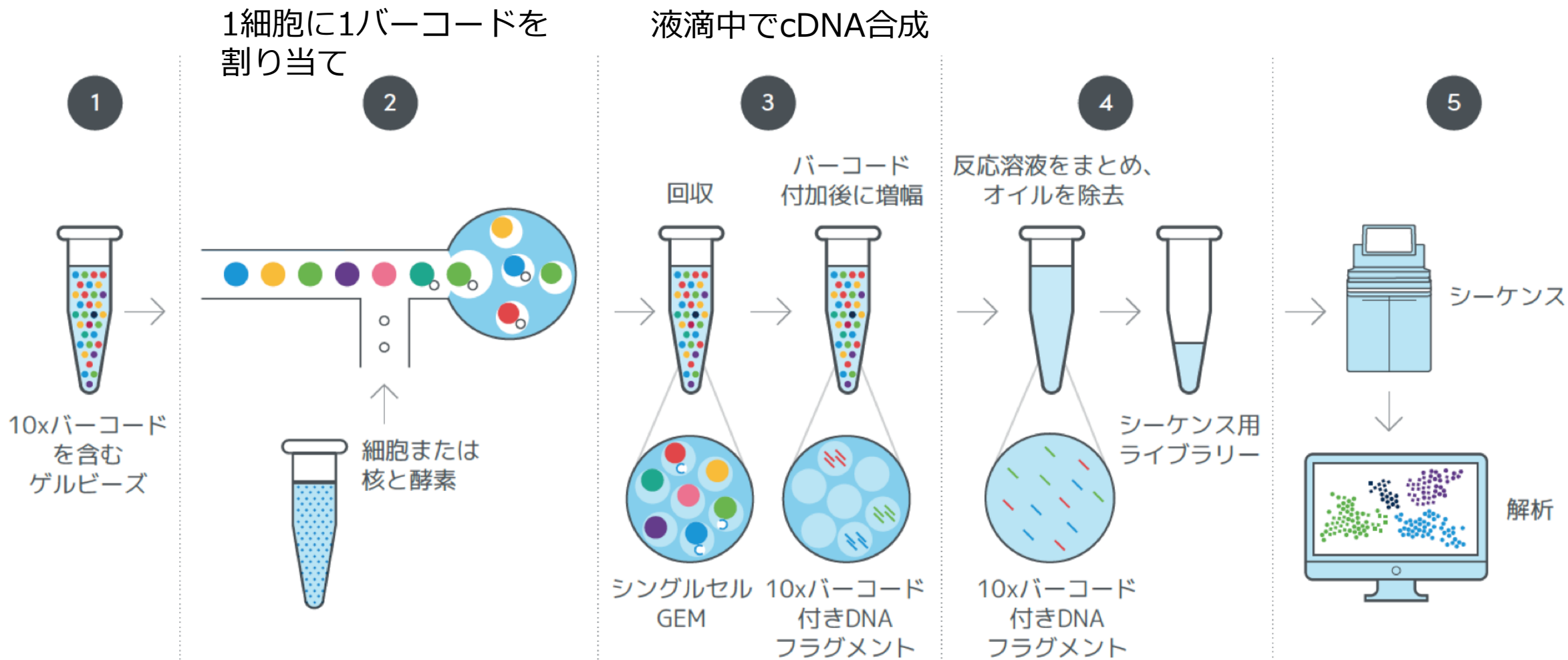


次世代シーケンス



解析

# シングルセルRNA-seqの原理 (ドロップレット式)



# シングルセルRNA-seqの原理

シングルセルRNA-seq解析 (3'/5'遺伝子発現解析)

シングルセル遺伝子発現Flex

固定化サンプルが使用できる!

# シングルセルRNA-seqの原理

## 3'/5'試薬でのライブラリー作製

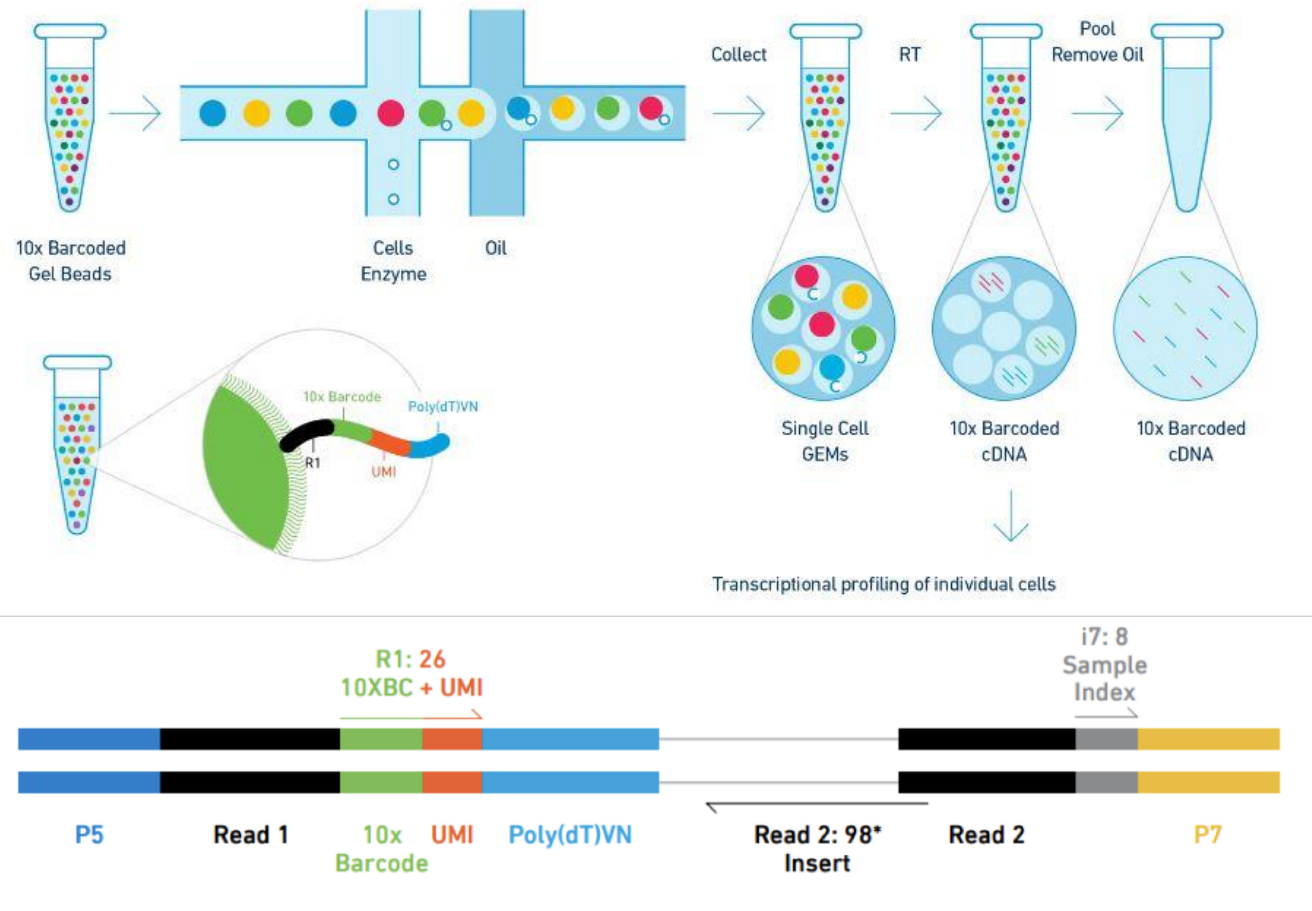
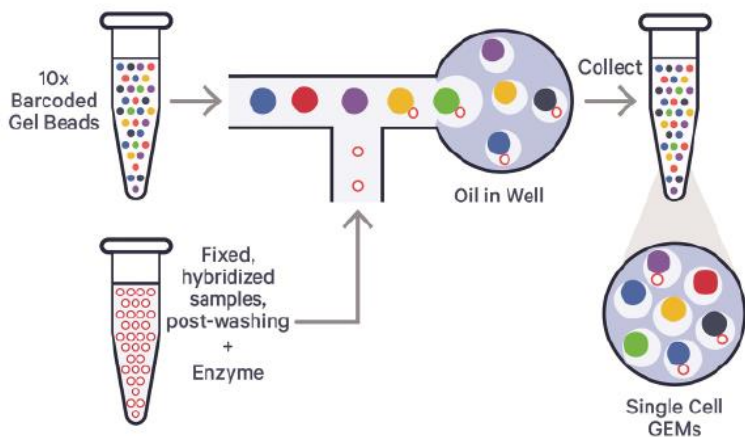
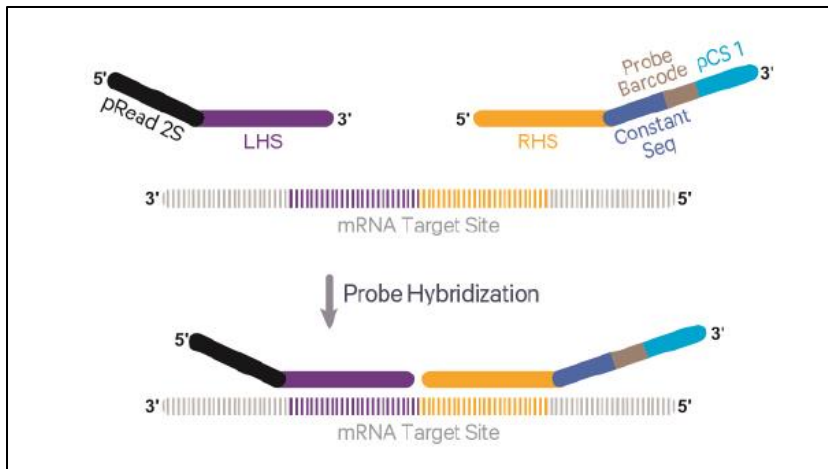


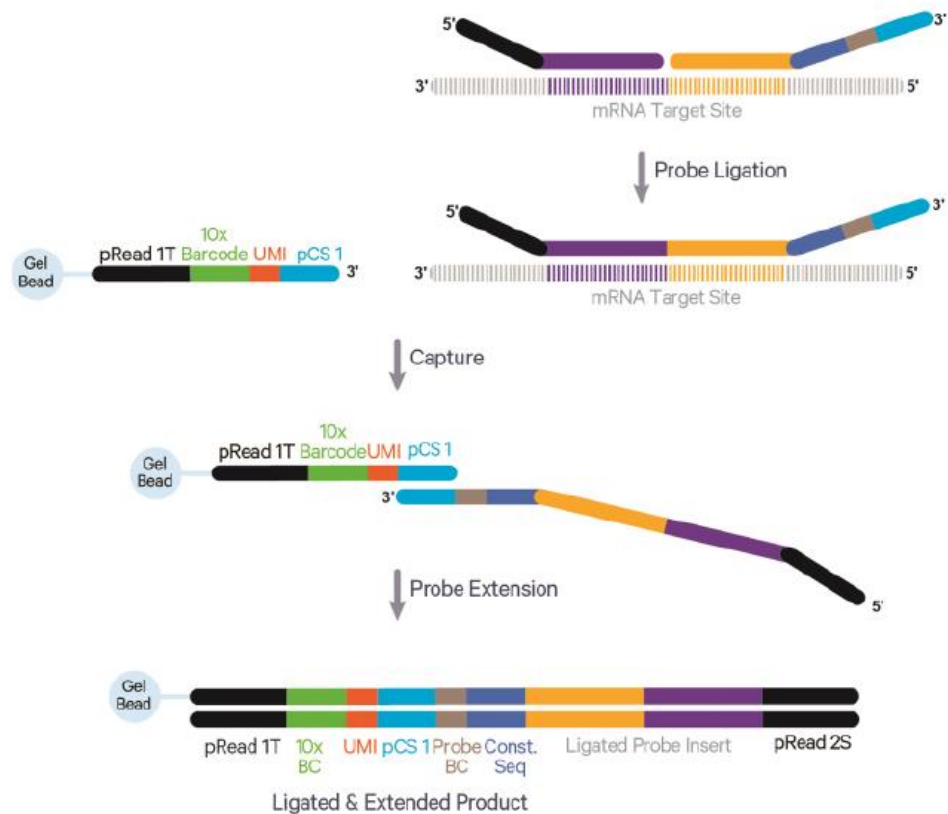
Fig. 2. Schematic of a fragment from a final Chromium™ Single Cell 3' v2 library. \*Can be adjusted.

# シングルセルRNA-seqの原理

## Flex試薬でのライブラリー作製



- 固定化サンプルの解析が可能 (-80°Cで保存可能)
- RNA velocity解析はできなくなる



シングルセルRNA-seqの有用性



シングルセルRNA-seqの原理



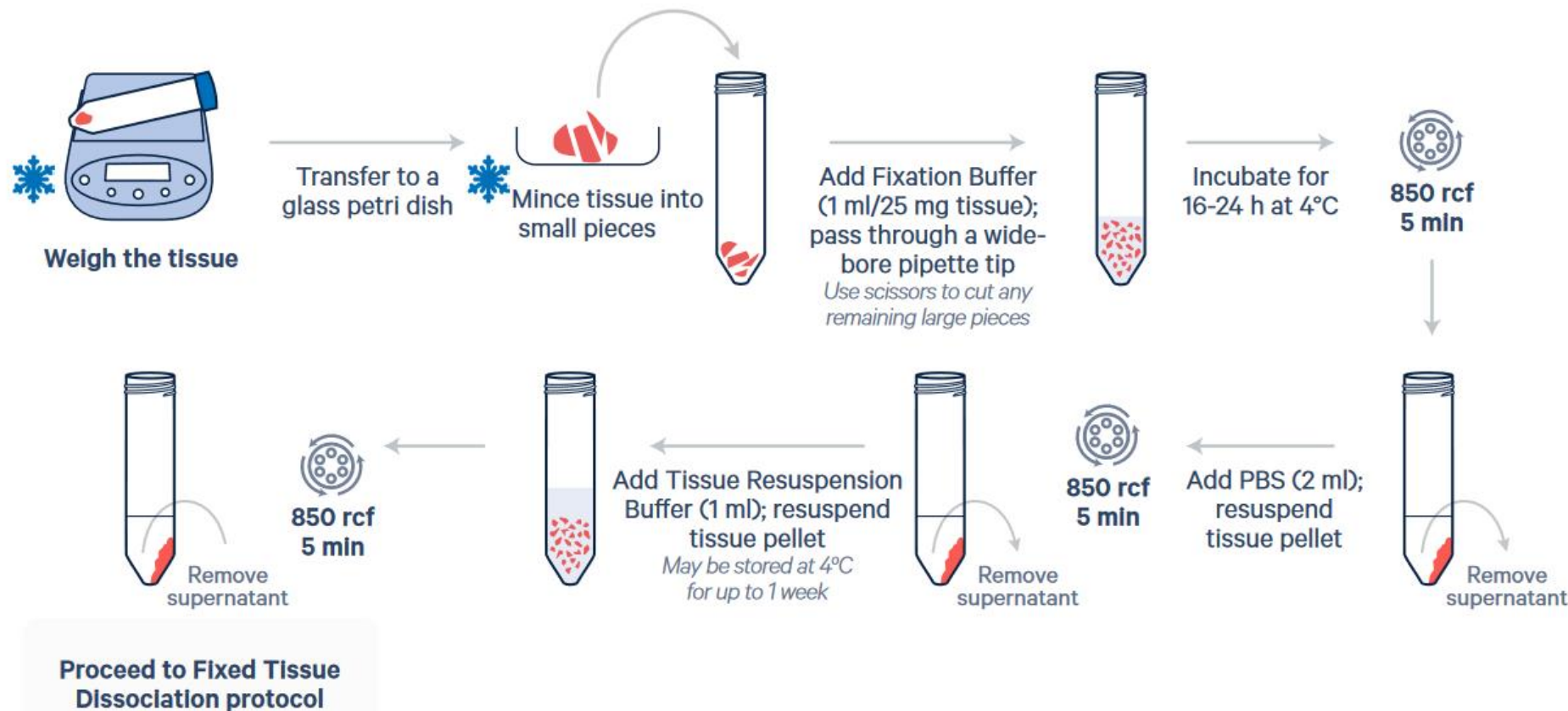
**実際の作業手順**



実施例

# 実際の実験の流れ (細胞の回収)

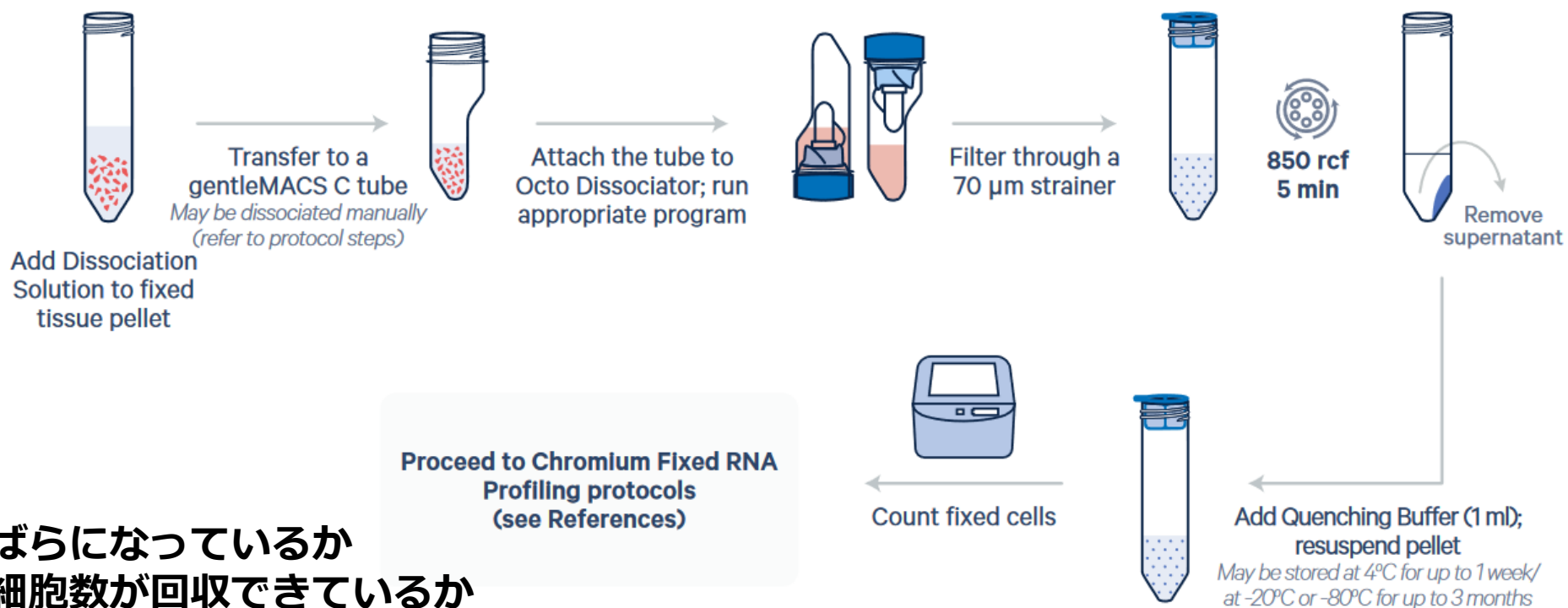
## 1. Tissue Fixation



サンプルの品質と、細胞数に注意!

# 実際の実験の流れ (細胞の回収)

## 2. Fixed Tissue Dissociation



細胞がばらばらになっているか  
解析可能な細胞数が回収できているか

**サンプルの品質と、細胞数に注意!**

# 実際の実験の流れ (細胞の回収)

gentleMACS



Comit 5Fに設置 (要予約)



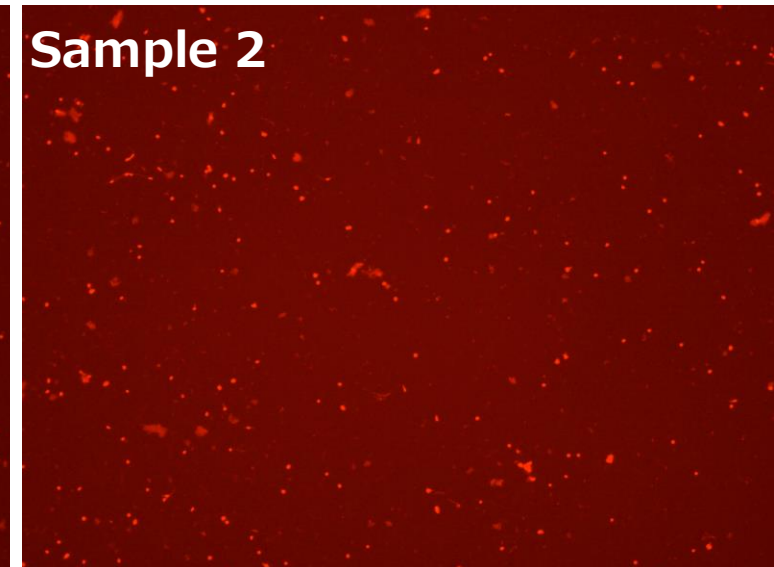
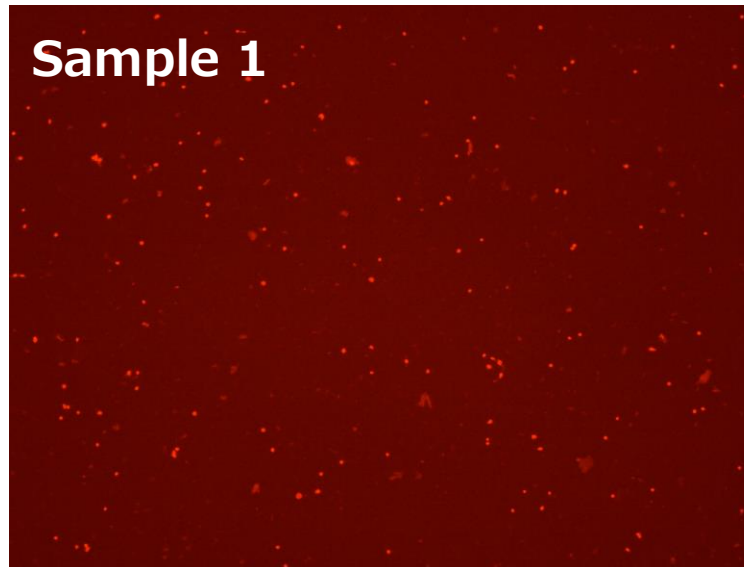
gentleMACS C tube  
Miltenyi Biotec



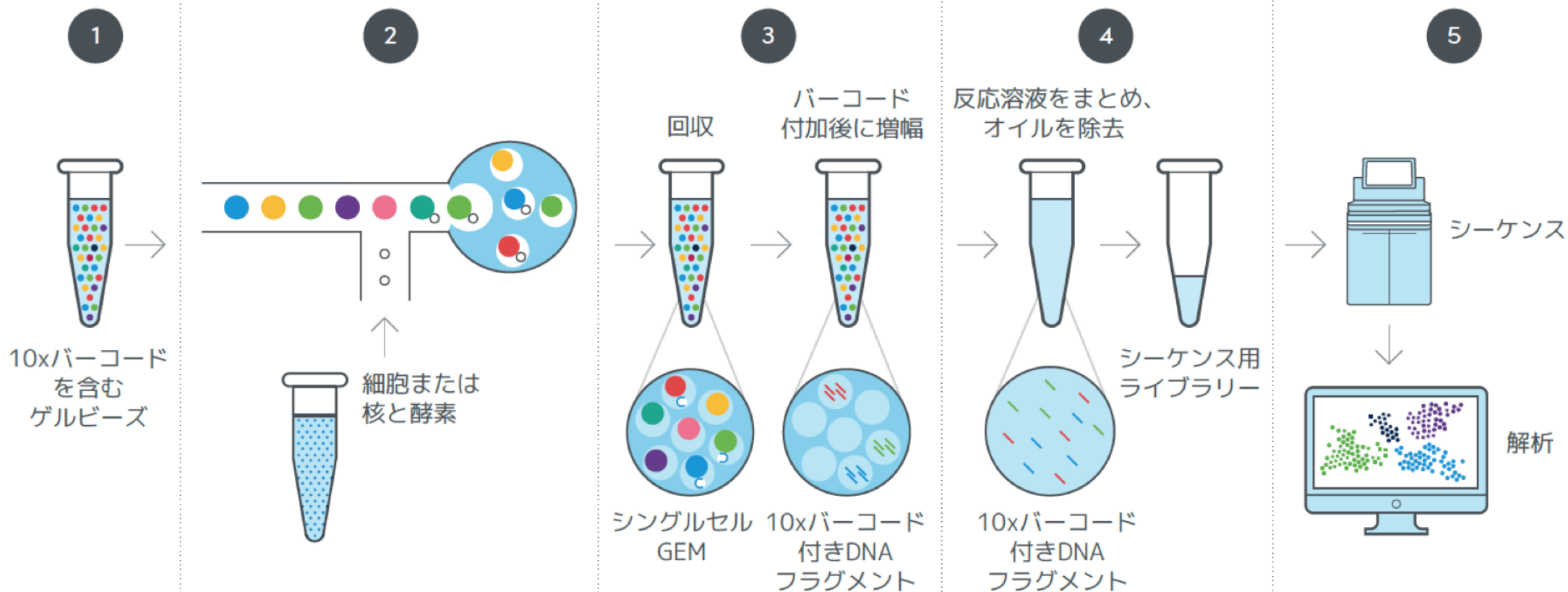
Countess II

Comit に設置  
COCにシングルセルの  
受託を行う場合は使用可能

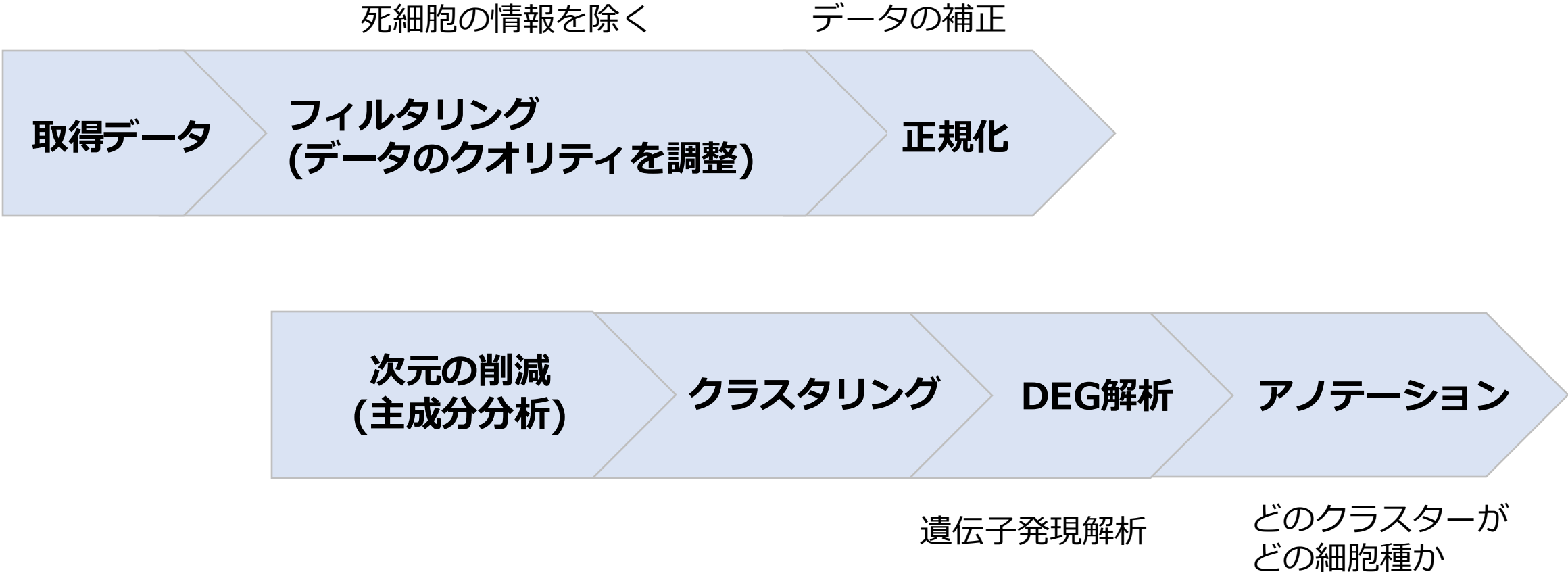
回収した細胞 (50万細胞は必要)

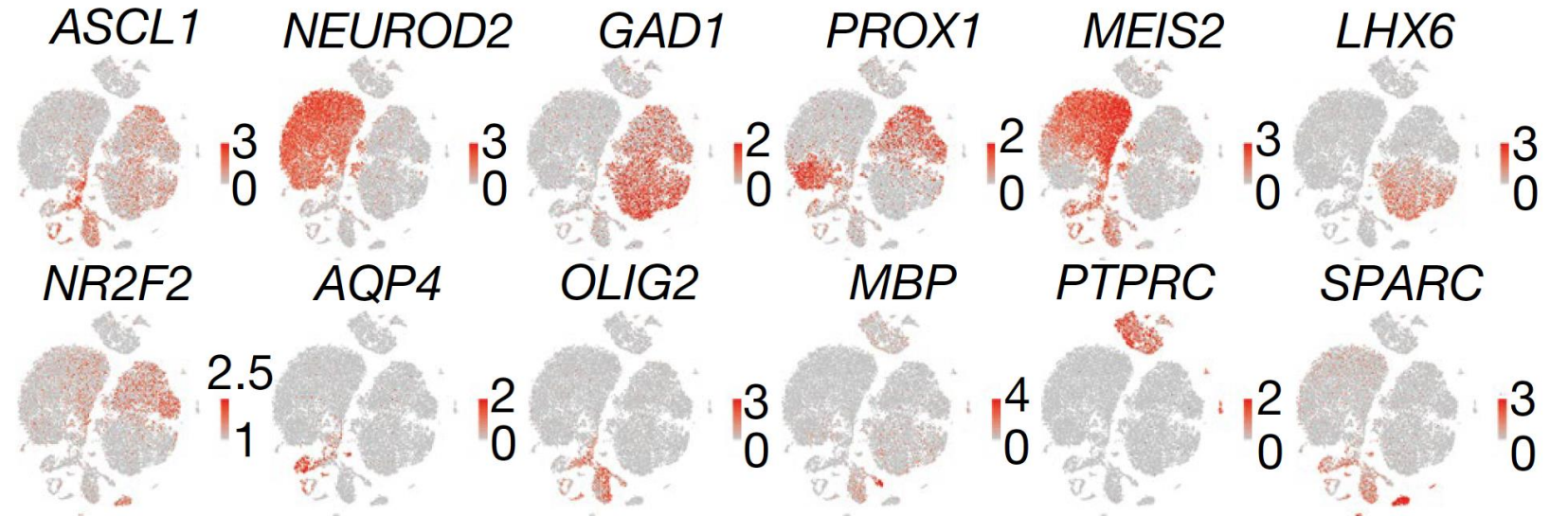
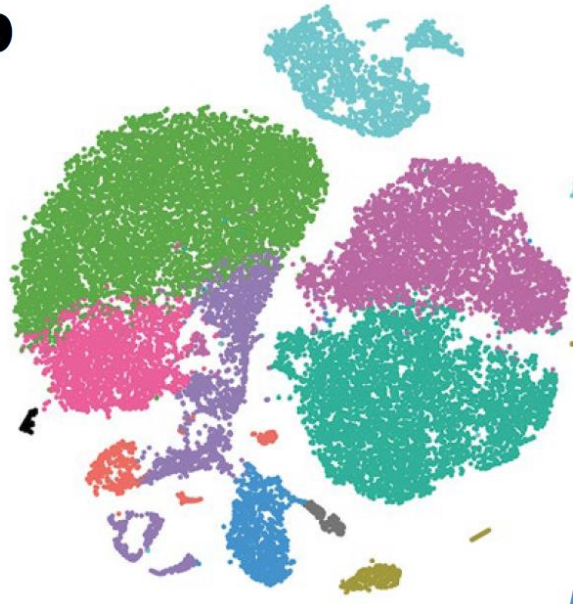


# 実際の実験の流れ (ライブラリー調製、シーケンス)



# 実際の実験の流れ (解析)



**b**

- a**
- Progenitor
  - CGE-derived InN
  - Non-DG ExN
  - MGE-derived InN
  - DG ExN
  - Cajal-Retzius
  - Astrocyte
  - OPC
  - Microglia
  - Oligodendrocyte
  - Endothelial cell

シングルセルRNA-seqの有用性



シングルセルRNAseqの原理



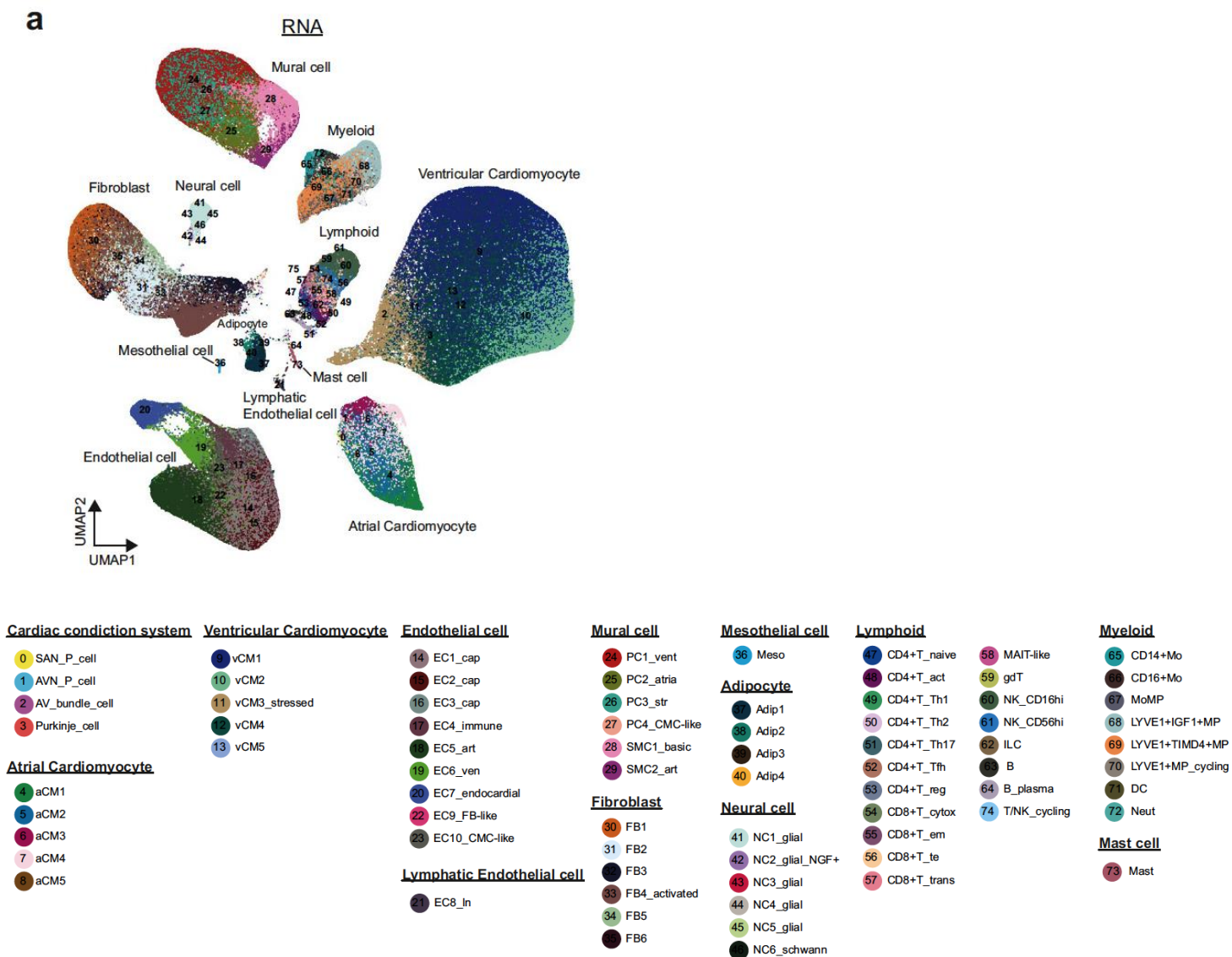
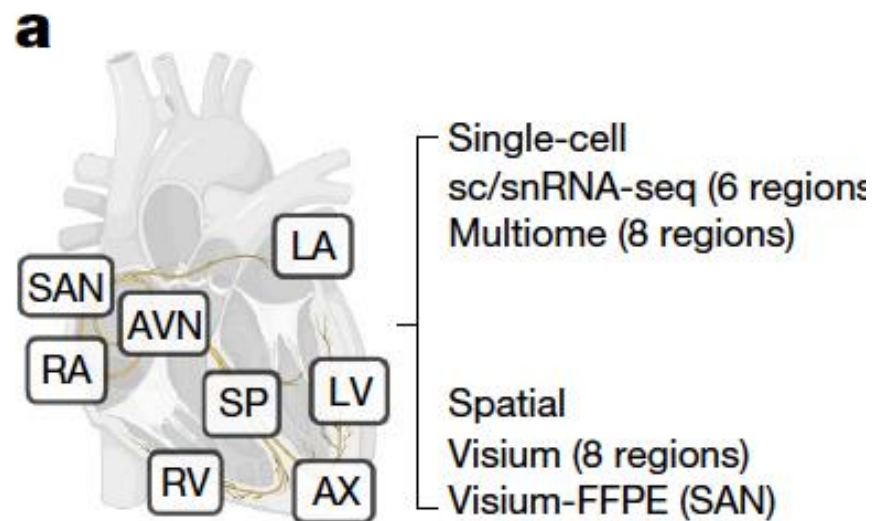
実際の作業手順

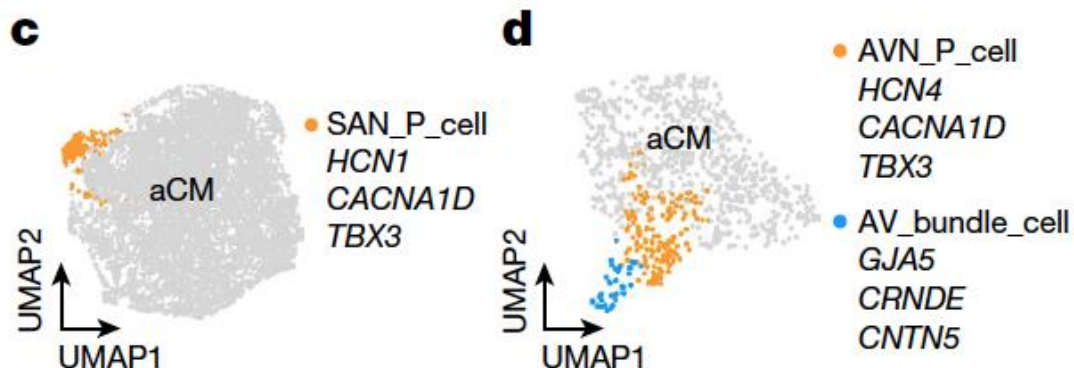


**実施例**

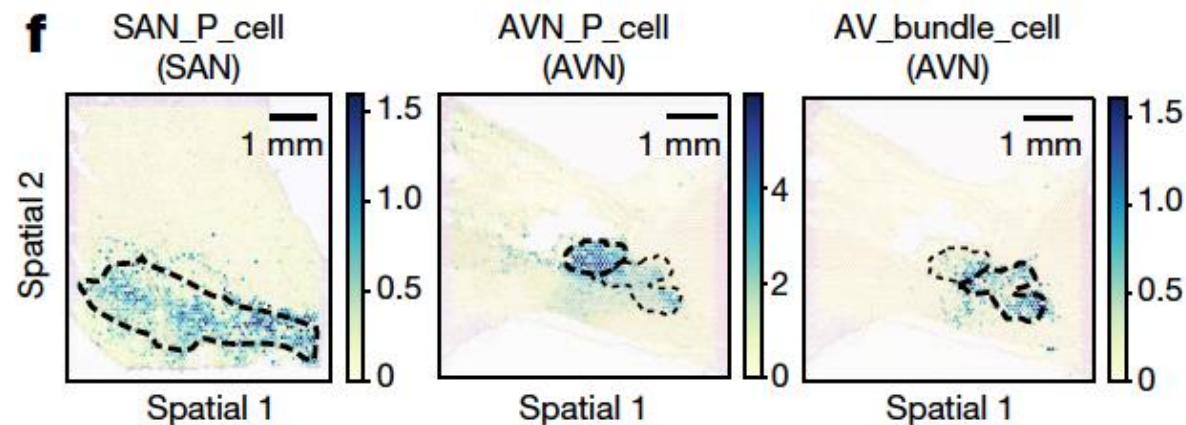
# Spatially resolved multiomics of human cardiac niches

Kanemaru et al., *Nature*, 2023

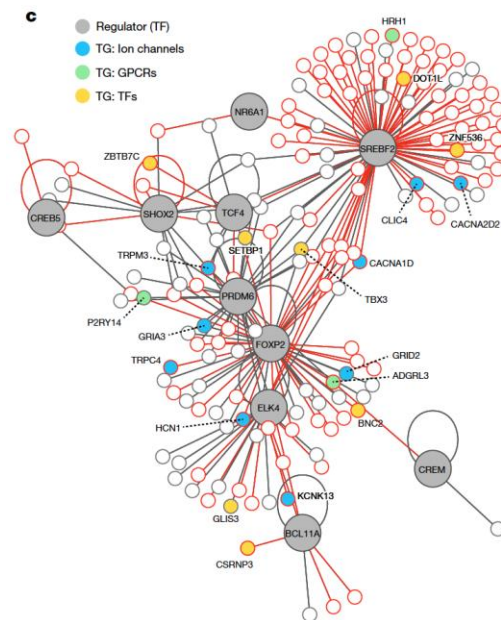




## ペースメーカー細胞のクラスター同定



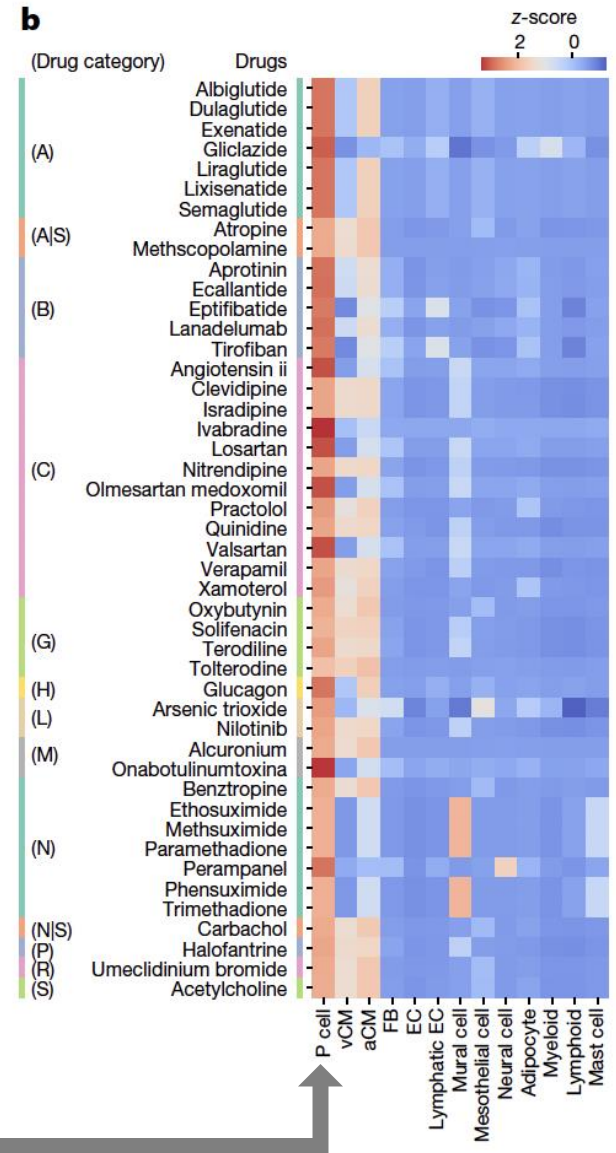
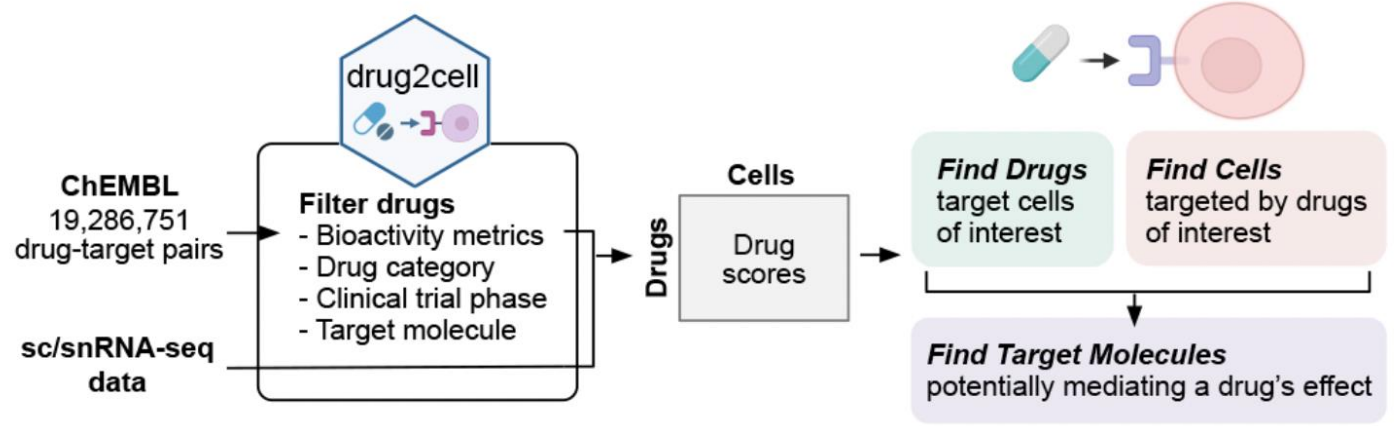
## 空間トランスクリプトームにより ペースメーカー細胞が存在していた場所を同定



## ペースメーカー細胞内の 遺伝子発現制御ネットワーク推定

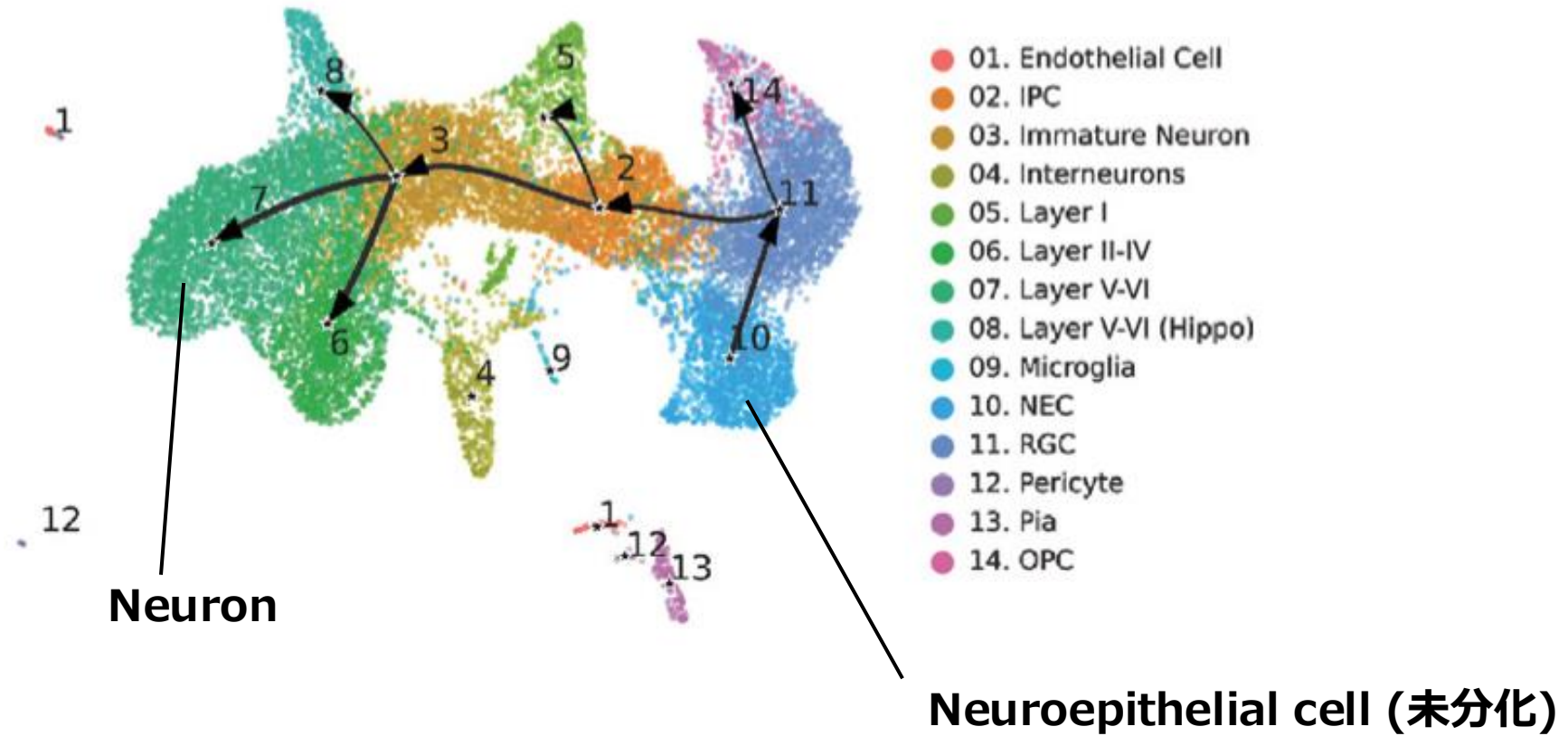
どの遺伝子がペースメーカーとして重要な  
イオンチャネルの発現を制御しているかを推定

# Drug2cell



ペースメーカー細胞に特異的に作用しうる化合物を推定

# 先行研究における実施例



羊土社  
 実験デザインからわかる  
 シングルセル研究実践テキスト



羊土社  
 誰でも再現できるNGS前  
 サンプル調製プロトコール



## お問い合わせ・アクセス

### お問い合わせフォーム

お問い合わせ内容によっては、お時間をいただく場合やメールではなく、お電話でご連絡させていただく場合もあります。あらかじめご了承ください。

お問い合わせ内容にあわせて下記から選択してください。

サービスを選ぶ <b>必須</b>	受託サービス		
	<input checked="" type="radio"/> 次世代シーケンス解析	<input type="radio"/> タンパク質同定解析	<input type="radio"/> サンガーシーケンス解析
	<input type="radio"/> 水生生物飼育		
	機器利用		
	<input type="radio"/> リアルタイムPCR	<input type="radio"/> FACS	<input type="radio"/> 顕微鏡
	<input type="radio"/> 細胞培養室	<input type="radio"/> 汎用機器 (デジタルPCR, バイオアナライザー等)	
	<input type="radio"/> その他		