

シングルセル分解能での免疫系マルチオミックス プロファイリング

Feature Barcodeテクノロジー によるシングルセル免疫 プロファイリングv2

Chromiumシングルセル免疫プロファイリングソリューションは、免疫系細胞の不均一性、T細胞およびB細胞のレパトアの多様性、抗原特異性をシングルセル分解能で同時に調べることができる包括的なアプローチを提供します。全トランスクリプトーム解析を用いて新しい細胞種や細胞状態を発見したり、関心のあるターゲット遺伝子発現パネルを使うことで研究のフォーカスを絞ることが可能です。最近リリースされたSingle Cell Immune Profiling v2は感度が大幅に向上し、希少な細胞集団・表現型の検出が可能になりました。このような規模と分解能を有する包括的な免疫フェノタイピングを、これまで以上に身近に使えるようになりました。

ハイライト

- 適応免疫細胞や自然免疫細胞の多様性を探索
- 希少な細胞種およびバイオマーカーの同定および特徴づけ
- 組織微小環境、疾患の進行、薬物免疫反応の解析
- 新規抗原に関する抗体およびTCRの大規模探索の実施
- クローン増大や免疫細胞表現型の測定に基づいた、感染に対する免疫応答の特徴づけ
- 設計済み遺伝子発現パネルまたはカスタムパネルを用いて、関連遺伝子およびパスウェイにフォーカスし経済的に実験をスケールアップ

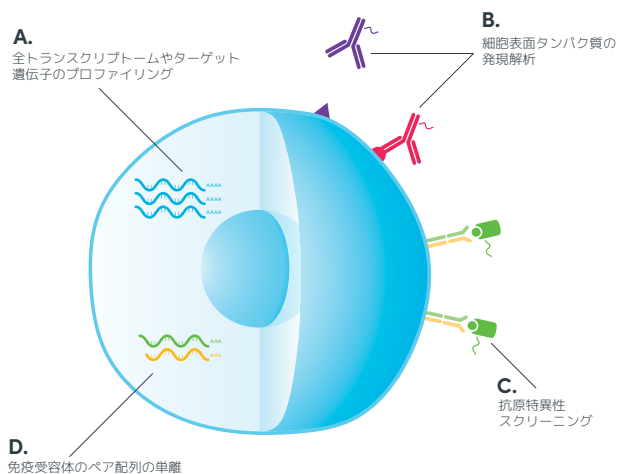


図1. 免疫受容体マッピングを含むマルチオミックスプロファイリングによる、適応性免疫応答の完全な特徴付け

全トランスクリプトームまたは標的遺伝子の発現を、細胞表面タンパク質、T細胞またはB細胞の受容体全長ペア配列、抗原特異性とともを検出する。**A.** Chromiumシングルセル免疫プロファイリングは、1回の反応で数百から数万個の細胞を対象に、シングルセルレベルで全トランスクリプトームまたは標的遺伝子の発現を高感度に解析する。**B.** Feature Barcodeテクノロジーを用いて、数百個の細胞表面タンパク質をシングルセルレベルの分解能で測定することができる。**C.** Feature Barcodeテクノロジーにより、T細胞およびB細胞の抗原特異性をスクリーニングすることができる。**D.** 対応する完全長の免疫受容体ペア配列を介して、異なるクローンタイプを識別する。

製品の特長

- 5'末端にバーコード付与したmRNAにより、シングルセルレベルで数千の遺伝子をプロファイリングし、細胞種や細胞状態をバイアスなく特徴づけ
- 同一細胞の免疫レパトア(BCR/TCR)と遺伝子発現を同時にプロファイリングし、クロナタイプと細胞サブタイプの関係性を明確化
- ヒトまたはマウスのサンプルについて、完全なアイソタイプの分解能でT細胞/B細胞の全長受容体ペア配列を取得し、抗体・TCR発見のためのデータを取得
- 遺伝子発現解析と数百もの細胞表面タンパク質の検出を高分解能で同時に実現する超高パラメーターマルチオミックスサイトメトリー
- ターゲット遺伝子発現パネルを使用し重要な遺伝子に的を絞り、実用可能な研究を加速
- マルチオミックスプロファイリングを簡単に始めるため、パートナー企業のFeature Barcodeテクノロジー製品(オリゴ結合抗体、オリゴ結合MHC)を活用
- 優れたシーケンスデータ品質をもたらすデュアルインデックスライブラリーを使用

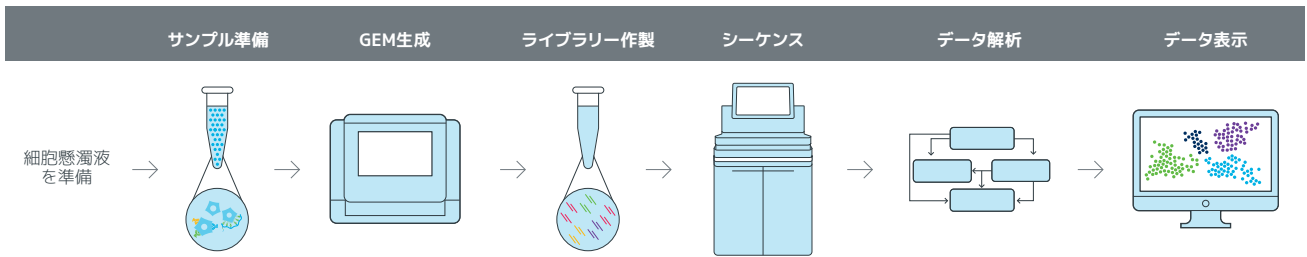
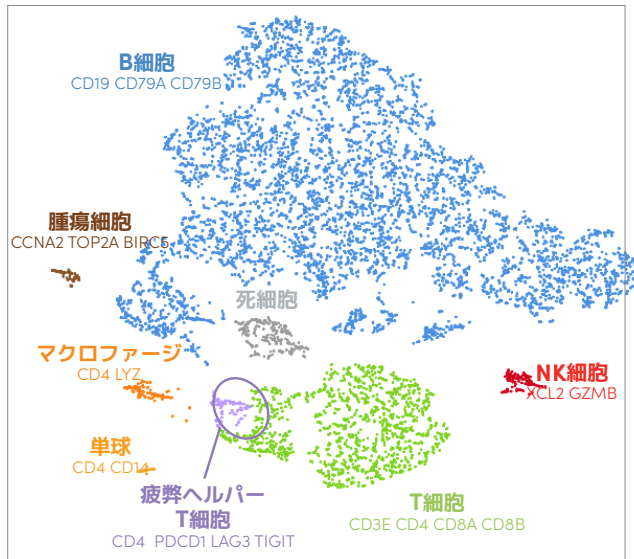


図2. 免疫システムのマルチオミックスプロファイリングのための効率的で合理化されたワークフロー

標識化されていない細胞、オリゴ結合抗体で標識された細胞、またはオリゴ結合MHCに結合した細胞の懸濁液から開始する。GEM生成後、1つのサンプルから最大3種類の別々のライブラリーを構築することができ、それぞれが同じ細胞に紐づいている複数のデータを得ることが可能。Cell Rangerでデータを処理し、Loupe BrowserまたはLoupe V(D)J Browserでサンプルの不均一性とクローンの増大を視覚化して解析。

A. 遺伝子発現のt-SNE



B. タンパク質発現のt-SNE

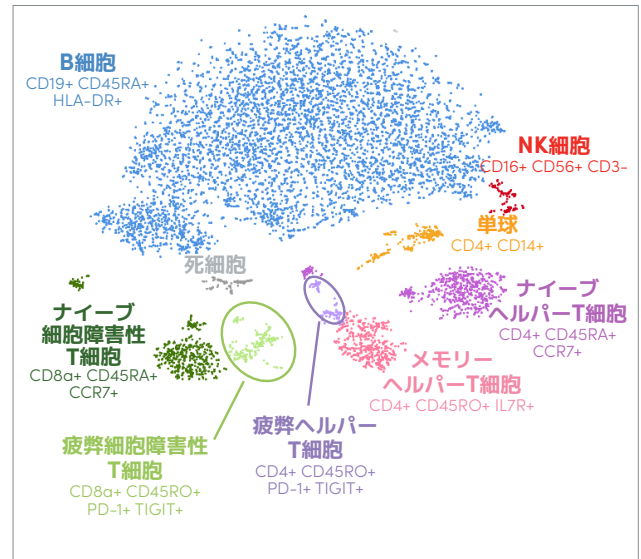
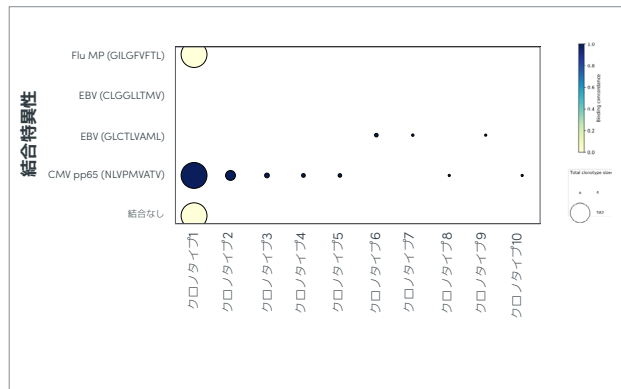


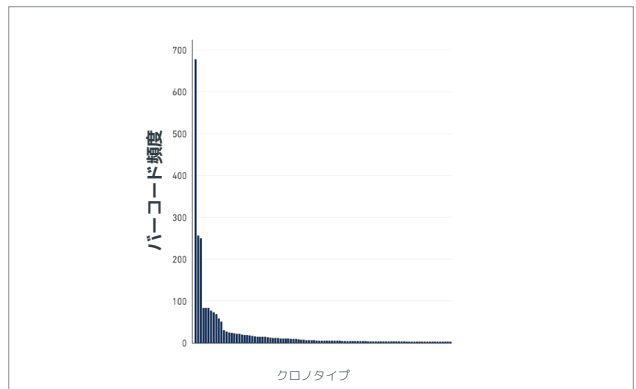
図3. マルチオミクスデータは、複雑な癌サンプルにおける多様な免疫細胞集団についての補足的洞察を与える

A. 解離したヒトメラノーマサンプルからの7,859個の細胞のt-SNEプロット。各細胞は1つのドットで示されている。タンパク質マーカーでは同定されなかったマクロファージ(オレンジ色)や腫瘍細胞の小集団(茶色)を含む免疫細胞集団の広範なカテゴリーが、遺伝子発現シグネチャー(図1、Aのように)を通じて同定された。**B.** 16マーカーパネルを使用し、図1、Bと同様に細胞表面タンパク質発現に基づいてクラスター化した同じサンプルのt-SNEを投影した。細胞表面タンパク質発現の解析により、T細胞をさらにナイーブ、メモリー、疲弊亜集団に特徴づけられた。

A. 抗原結合特異性



B. TCRクローンタイプの頻度



C. クローンタイプ1の全長配列：TCRのα鎖およびβ鎖

<p>TCR α</p> <pre>TGGGGAGTCCACAGTTAGGACGGCCACTTCTGAAAGGTTGCAATTCCTGTTGTTCACACATCATGGGGGATTTCCCTCAAGTTTAAAGTGGCCCTGAAGAA AGCAGTTACTCGACCCCTCTTGTGAACCCACAGAACTGAACATAGGGCAGAGCGTTTCTAGGACATTTGGAGCTGGCTCTGTTGGCTGAGCAACCAAG ATGCAGAACTCTGTTTCTGAGAGCAATATTCACACAGTTTTCGCTGCAAAAGTCTTGTGCTGTTGGCTAGTGGAGGAAACATGGAGAGAAATGCTTTGG CAGCCCTTACATTCCTCTGTTTATGATTTGACTGGTAGGAGATACACTGACGCTGGACACAAAGTCTCTGCTACTGCACTTTGTCGAGGGGAGACAGACCA TTTCACCTCCAGCTTCCCTCCAGCAATTTATGCTTACACTGGTACAGATGGGAACTGCAAAAAGCCCGAGCCCTGTTTGTAAATGACTTAAATGGGAGT AAAGAGAAAGGAGAGAAATAGTCCACTCTTAAACCAAGAGGGTTACAGCTATTTGTACATCAAGGATCCGAGCCTGAGAGCTCAGCCACATCTCTGTGTC CTTATCAGCGGTAAACAGTCTATTTGGGAGGGACAGCTTTGACGCTGATTCGAAATTTCCAGAGACCTGAGCCCTGGCCTGTACAGCTCAGAGAGC</pre>	<p>TCR β</p> <pre>GAGAGTCCCTCCCTTTCATCAATGCACAGATACAGAGACCCCTCCGCTATCAGCATCTGCCATGAGCATCGGCCTCTGTGCTGTGACAGCCTGTCTCTC CTGTGGGACAGTCCAGTGAATGCTGGTGTCACTCAGACCCCAAAATCCAGTCTCTGAGAGAGACAGACATGACACTGCAGTGTGCCAGGATATGAACCAT GATACATCTGCTGGTATGGAGAGACCCAGGATGGGCTGAGGCTGATTCATTCAGAGTGTGTGCTGTGATCACTGACAGAGGAGAGTCCCAATGCTGAC AATGCTCCAGATCCACAGAGGATTTCCGCTCAGAGCTGCTGTGGGCTCCCTCCGACATCTGTGTACTTGTCCACAGACCTGTTTACCGGAGC AGGGCATACAGGCTACCTCTGCTGGTCCGGGACCAAGTTAACCTGTGAGAGACCTGACAGAGTGTCCCAACCGAGTCCGCTGTGTTGAGCCATCAGA</pre>
---	---

図4. 数千個の細胞にまたがるシングルセルの分解能での免疫受容体マッピングにより、実用可能な研究を加速

A. 上位10種の抗原結合クローンタイプを、結合特異性および結合一致度(dCODE Dextramer®試薬との結合で定義される)に従ってプロットした(図1C)。「結合なし」は、y軸上のペプチド-MHC(pMHC)との結合が認められないクローンタイプとして定義される。円の存在は、クローンタイプのうち少なくとも1つが、特定のpMHCに対して特異的であったことを示す。円のサイズは、そのクローンタイプに属する細胞の総数を表す。円の色は、そのクローンタイプの中で特定のpMHCと結合する細胞の割合を表し、色が濃いものほど結合一致度が高いことを示している。**B.** TCRクローンタイプを頻度の高い順にランク付けした。最上位のCMV特異的クローンタイプは678細胞にある。**C.** 図4Bの最も増大していたクローンタイプについての完全長TCRαおよびβ鎖V(D)Jのパア配列(図1、D参照)を示す。5'UTR(灰色)、V(赤色)、D(紫色)、J(緑色)、C(青色)、およびCDR3(太字)。

遺伝子発現 / 免疫レパトアのプロファイリング	
製品	製品コード
Chromium Next GEM Single Cell 5' Kit v2, 16 rxns	1000263
Chromium Next GEM Single Cell 5' Kit v2, 4 rxns	1000265
Chromium Next GEM Chip K Single Cell Kit, 48 rxns	1000286
Chromium Next GEM Chip K Single Cell Kit, 16 rxns	1000287
Library Construction Kit, 16 rxns	1000190
Dual Index Kit TT Set A, 96-rxns	1000215

Feature Barcodeキット	
試薬キット	製品コード
5' Feature Barcode Kit, 16 rxns	1000256
Dual Index Kit TN Set A, 96-rxns	1000250

研究分野

- 感染症 & ワクチン
- 自己免疫、炎症 & アレルギー
- 免疫腫瘍学 & 免疫治療法
- 移植免疫学
- 細胞免疫学 & 分子免疫学

アプリケーション

- 免疫細胞のアトラス作成
- B細胞受容体 & T細胞受容体のプロファイリング
- 抗体の発見
- マルチオミックスサイトメトリー
- 組織浸潤リンパ球の特性解析
- 細胞免疫療法の発見

V(D)J増幅キット		
生物種およびターゲット	試薬キット	製品コード
ヒトT細胞	Chromium Single Cell Human TCR Amplification Kit, 16 rxns	1000252
ヒトB細胞	Chromium Single Cell Human BCR Amplification Kit, 16 rxns	1000253
マウスT細胞	Chromium Single Cell Mouse TCR Amplification Kit, 16 rxns	1000254
マウスB細胞	Chromium Single Cell Mouse BCR Amplification Kit, 16 rxns	1000255

関連製品	製品コード
Chromium Controller & Accessory Kit, 12 Mo. Warranty	120223
Chromium Controller & Accessory Kit, 24 Mo. Warranty	120246
Cell Ranger go.10xgenomics.com/vdj/cell-ranger	ダウンロード
Loupe Browser go.10xgenomics.com/vdj/loupe-cell	ダウンロード
Loupe V(D)J Browse go.10xgenomics.com/vdj/loupe-VDJ	ダウンロード
パートナー企業の対応製品： Biolegend TotalSeq™-C go.10xgenomics.com/totalseq-C	ダウンロード
パートナー企業の対応製品： Immudex dCODE Dextramers® go.10xgenomics.com/dCODE-Dextramers	ダウンロード