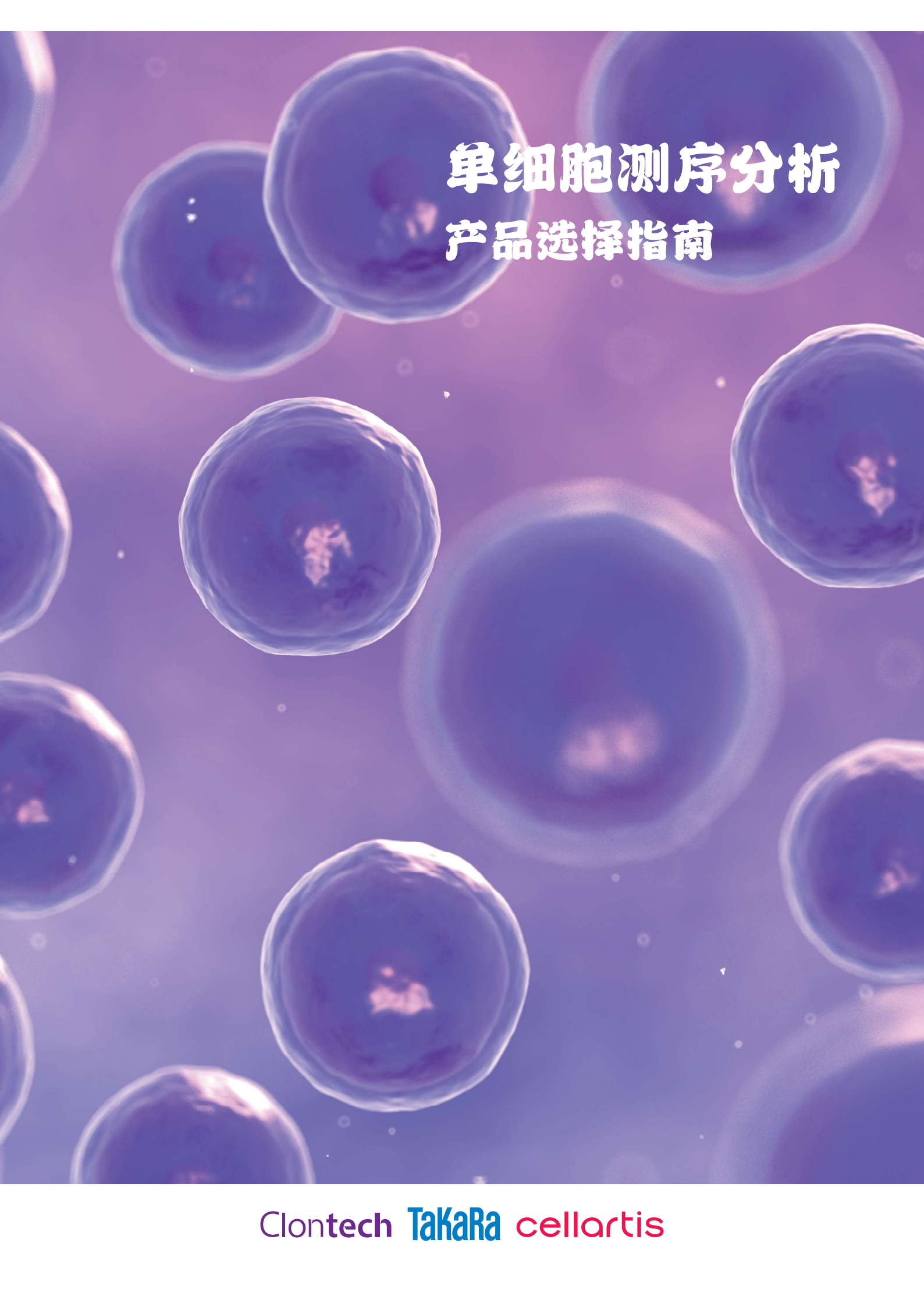


A microscopic view of several cells, likely yeast or similar microorganisms, showing their internal structure and nuclei. The cells are arranged in a cluster, with some in focus and others blurred in the background.

# 单细胞测序分析 产品选择指南

Clontech **TaKaRa** cellartis

# 单细胞RNA-Seq

## ◆◆ 单细胞RNA-Seq系列产品

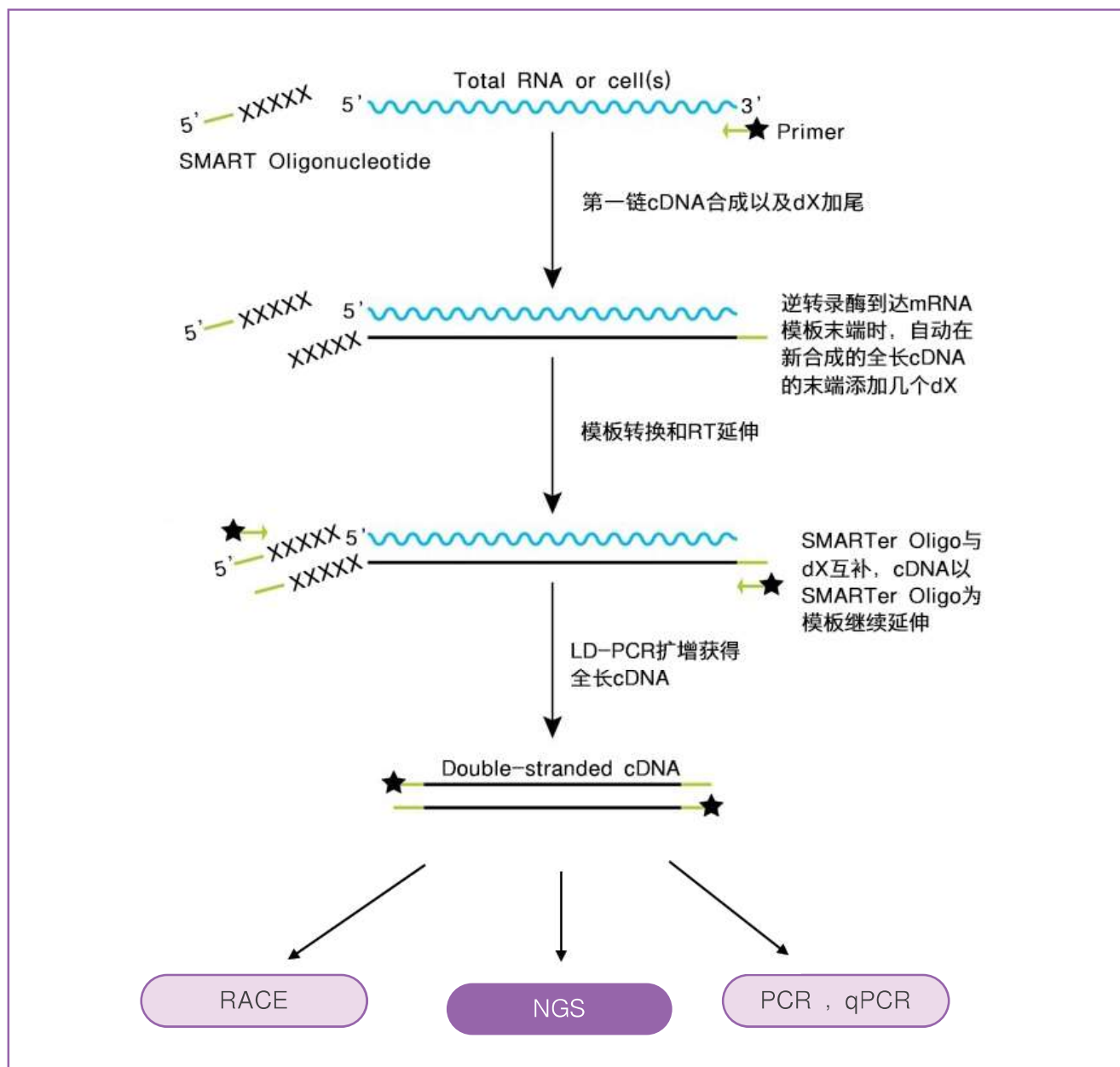
| 产品选择                                 | 产品类型      | 产品名称                          | 起始样本量                                                                                       |
|--------------------------------------|-----------|-------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| 带分子标签的（单）细胞<br>&<br>微量样本mRNA全长分析     | 文库构建试剂盒   | SMART-Seq mRNA LP (with UMIs) | <ul style="list-style-type: none"> <li>• 10 pg–100 ng的总RNA</li> <li>• 1–1,000个细胞</li> </ul> |
| 性能卓越的（单）细胞<br>&<br>微量样本mRNA全长分析      | 文库构建试剂盒   | SMART-Seq mRNA LP             | <ul style="list-style-type: none"> <li>• 10 pg–100 ng的总RNA</li> <li>• 1–1,000个细胞</li> </ul> |
|                                      | cDNA制备试剂盒 | SMART-Seq mRNA                |                                                                                             |
| 一步法RT-PCR的（单）细胞<br>&<br>微量样本mRNA全长分析 | 文库构建试剂盒   | SMART-Seq mRNA HT LP          | <ul style="list-style-type: none"> <li>• 10 pg–1 ng的总RNA</li> <li>• 1–100个细胞</li> </ul>     |
|                                      | cDNA制备试剂盒 | SMART-Seq mRNA HT             |                                                                                             |
| 单细胞mRNA全长分析                          | 文库构建试剂盒   | SMART-Seq mRNA Single Cell LP | <ul style="list-style-type: none"> <li>• 单个细胞</li> </ul>                                    |
|                                      | cDNA制备试剂盒 | SMART-Seq mRNA Single Cell    |                                                                                             |
| 单细胞链特异性总RNA分析                        | 文库构建试剂盒   | SMART-Seq Stranded Kit        | <ul style="list-style-type: none"> <li>• 10 pg–100 ng的总RNA</li> <li>• 1–1,000个细胞</li> </ul> |

# SMART技术概述

利用Takara Bio的“SMART”技术，即使是微量的样品也可以轻松制备测序文库。

## 什么是SMART技术.....

- 从RNA起始，有效获得全长cDNA的技术
- 即使从微量的pg级RNA样本起始，也可以制备高质量的cDNA
- 经PCR过程添加接头，而不使用连接反应，减少偏差



# 单细胞RNA-Seq

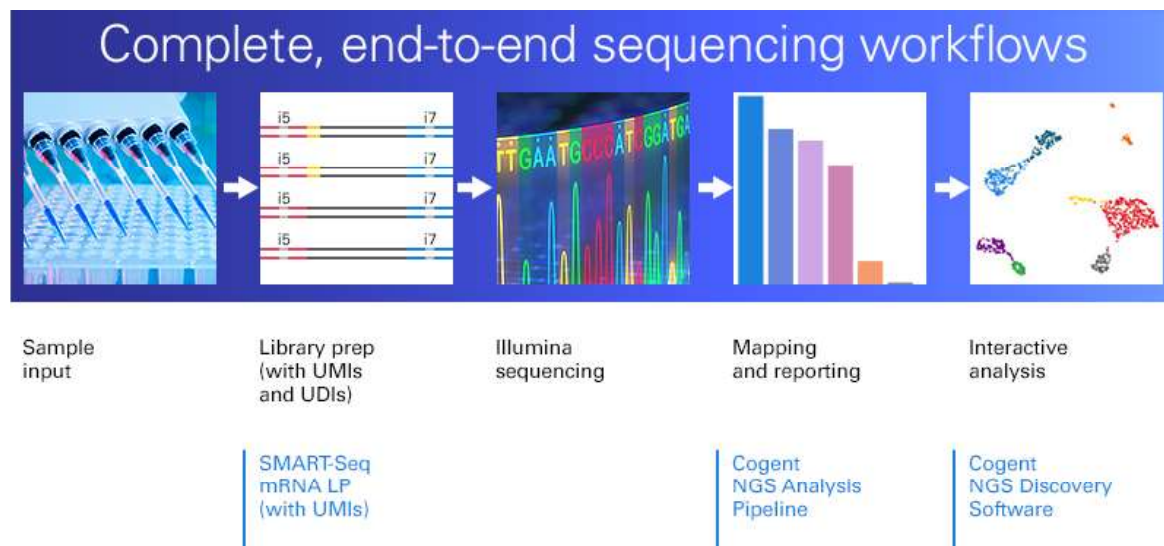
## SMART-Seq® mRNA LP (with UMIs)

### 整合UMI的单细胞/微量样本的mRNA文库构建试剂盒

| 样本类型      | 起始量范围        | 应用     | NGS分析    | 适用对象       | 反转录引物      |
|-----------|--------------|--------|----------|------------|------------|
| total RNA | 10 pg–100 ng | mRNA分析 | Illumina | 含poly A的生物 | oligo dT引物 |
| 细胞        | 1–1,000细胞    |        |          |            |            |

- 提供完整的Ultra low RNA或少量细胞由cDNA合成到文库构建的实验体验
- 添加UMI，可以获得更高准确性的基因或转录本检测数
- 搭配使用Unique Dual Index (UDI) kits（单独销售），有更好的样本拆析和测序可靠性
- 搭配特别开发的软件Cogent™ NGS Analysis，可以完成测序数据分析

### 完整的流程



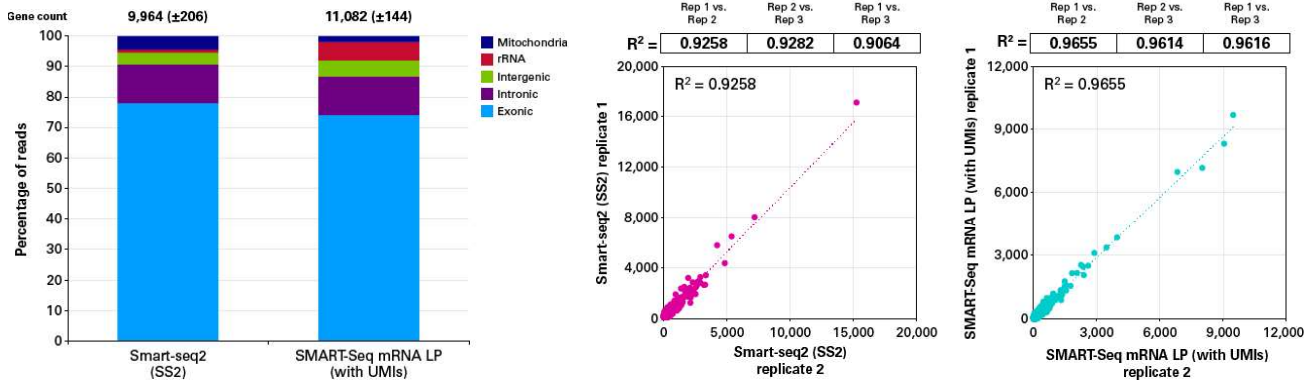
### 制品列表

| 产品名称                            | 包装量         | Code No. |
|---------------------------------|-------------|----------|
| SMART-Seq® mRNA LP (with UMIs)  | 24 Rxns     | 634762   |
|                                 | 96 Rxns     | 634765   |
|                                 | 4 × 96 Rxns | 634766   |
| Unique Dual Index Kit (1–24)    | 24 Rxns     | 634756   |
| Unique Dual Index Kit (1–96)    | 96 Rxns     | 634752   |
| Unique Dual Index Kit (97–192)  | 96 Rxns     | 634753   |
| Unique Dual Index Kit (193–288) | 96 Rxns     | 634754   |
| Unique Dual Index Kit (289–384) | 96 Rxns     | 634755   |

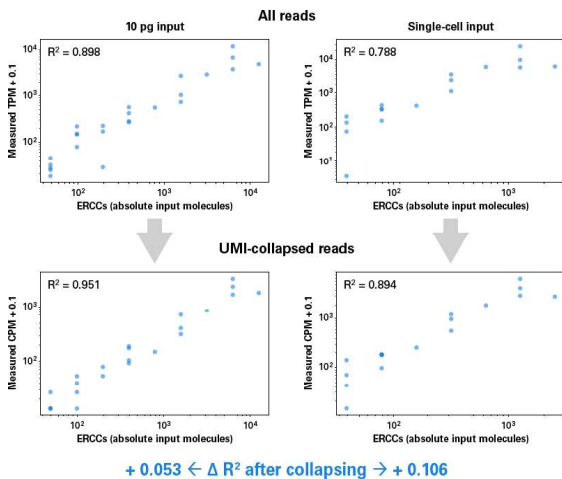
注：SMART-Seq® mRNA LP (with UMIs)不含index，需另外准备。推荐Unique Dual Index Kits。

# 单细胞RNA-Seq

## ◆◆◆ 灵敏度测试数据：与Smart-seq2比较



将SMART-Seq mRNA LP (with UMIs) (SSmRNA + UMIs) 与Smart-seq2 (SS2) 的性能进行比较。结果显示，使用SSmRNA + UMIs获得的基因检测数高于SS2，有更高的灵敏度。且与SS2方法相比，经过验证的SSmRNA + UMIs试剂盒具有更高的可重复性。



## ◆◆◆ 添加UMI校正偏差

单个细胞中的RNA的含量十分有限，因此，单细胞水平的测序数据，特别容易受到文库制备过程中引入的错误和偏差的影响。

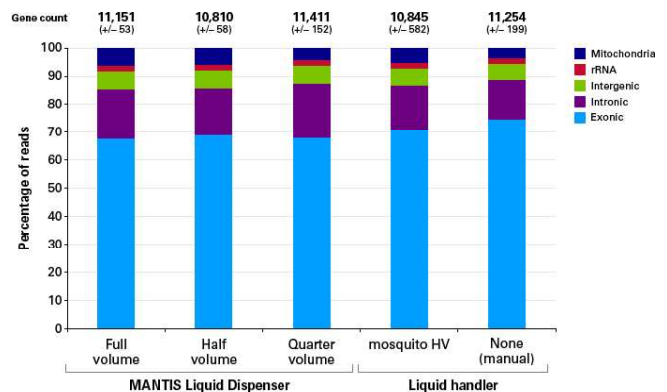
SSmRNA + UMIs通过添加UMIs，能够消除PCR错误和重复，从而提高转录组定量的准确性。

本实验分别对10 pg RNA和单个细胞获得的RNA样本，掺入ERCC control RNA，使用SSmRNA + UMIs进行文库制备，然后进行测序分析。结果显示，添加UMI后，决定系数R<sup>2</sup>值明显提高，表明添加UMI降低PCR duplication，获得更准确的RNA counts。

## ◆◆◆ 兼容自动化平台

具有高通量需求的研究小组可能需要自动制备测序文库。自动化减少了动手时间，提高了处理的再现性，并最大限度地减少了处理错误。

SSmRNA + UMIs兼容多种自动化液体工作站进行微缩化建库。比如使用SSmRNA + UMIs在Mantis Liquid Handler (Formulatrix)上将反应体系体积微缩至1/2 (HV)，1/4 (QV) 以及在mosquito HV liquid handler (SPT Labs)上将反应体系体积微缩至1/8，均能获得与使用原反应体系结果高度一致的结果！





# 单细胞RNA-Seq

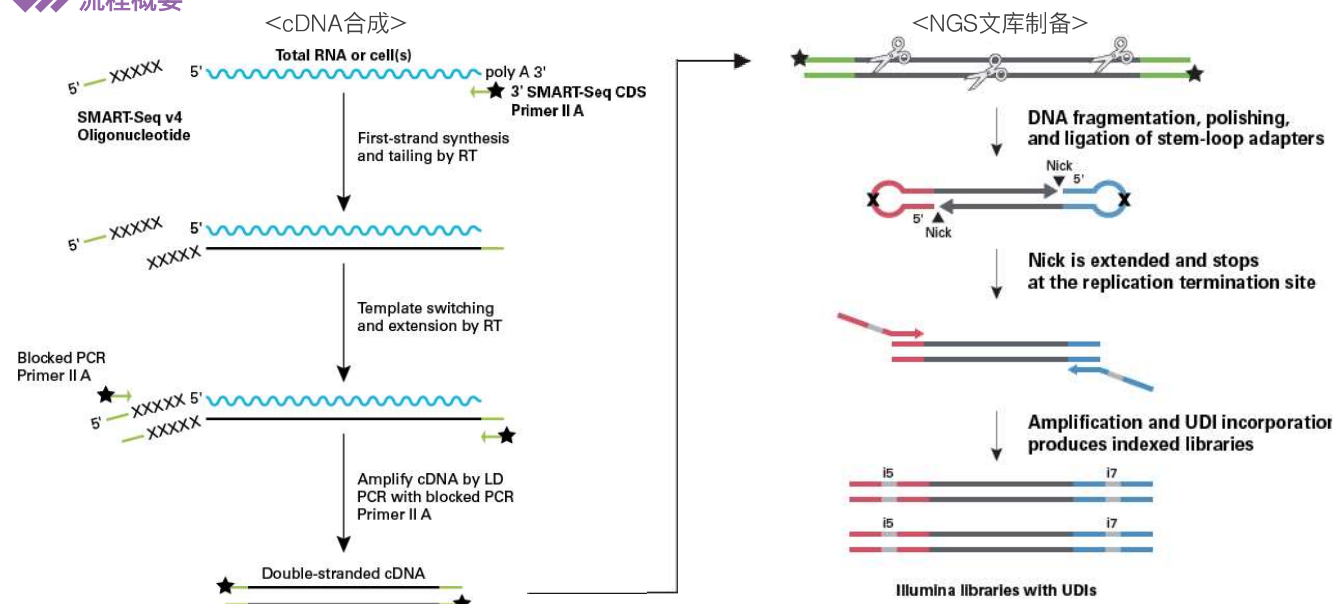
## SMART-Seq® mRNA LP

### 灵敏度高的单细胞/微量样本的mRNA文库构建试剂盒

| 样本类型      | 起始量范围        | 应用     | NGS分析    | 适用对象       | 反转录引物      |
|-----------|--------------|--------|----------|------------|------------|
| total RNA | 10 pg–100 ng | mRNA分析 | Illumina | 含poly A的生物 | oligo dT引物 |
| 细胞        | 1–1,000细胞    |        |          |            |            |

- 提供完整的Ultra low RNA或少量细胞由cDNA合成到文库构建的实验体验
- 提供全长转录本信息，支持分析转录本异构体、融合基因、点突变等
- 搭配使用Unique Dual Index (UDI) kits（单独销售），有更好的样本拆析与测序可靠性
- 搭配特别开发的软件Cogent™ NGS Analysis，可以完成测序数据分析

### ◆◆ 流程概要



### ◆◆ 制品列表

| 产品名称              | 包装量         | Code No. |
|-------------------|-------------|----------|
| SMART-Seq mRNA LP | 24 Rxns     | 634768   |
|                   | 96 Rxns     | 634769   |
|                   | 4 × 96 Rxns | 634771   |

注：本Kit不含index，需另外准备。推荐Unique Dual Index Kits。

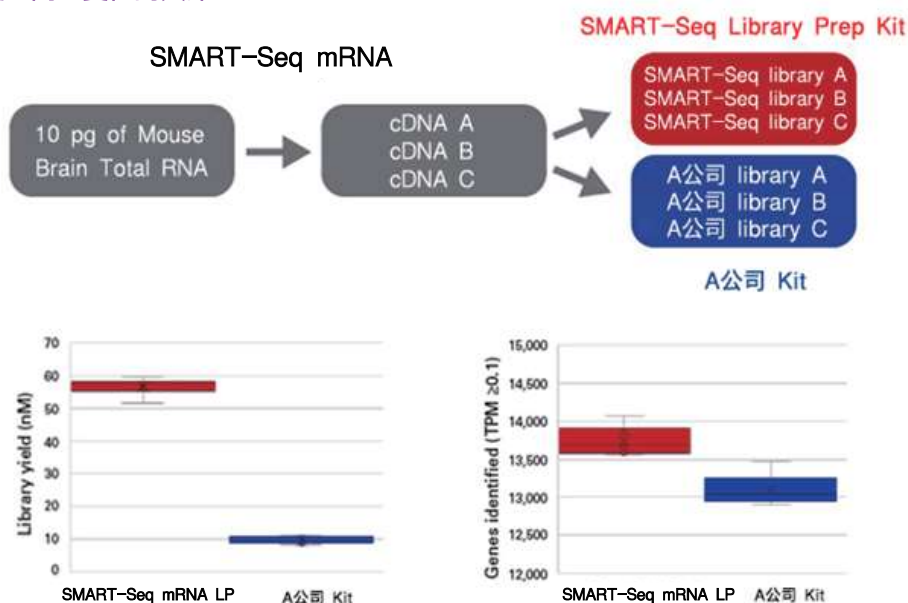
### ◆◆ 关联制品 灵敏度高的单细胞/微量样本的cDNA制备试剂盒

| 产品名称           | 包装量         | Code No. |
|----------------|-------------|----------|
| SMART-Seq mRNA | 24 Rxns     | 634772   |
|                | 96 Rxns     | 634773   |
|                | 4 × 96 Rxns | 634770   |

注：SMART-Seq mRNA LP和SMART-Seq mRNA是SMART-Seq v4 PLUS和SMART-Seq v4 Ultra Low Input RNA Kit for Sequencing的等效替代品。

# 单细胞RNA-Seq

## 构建高灵敏度、高重复性的文库



(数据来源于Takara Bio USA, Inc.)

从10 pg小鼠脑total RNA起始，采用SMART-Seq mRNA完成cDNA合成。随后分别使用SMART-Seq Library Prep Kit模块与市面上较常用的A公司试剂盒构建文库，并比较性能差异。结果显示，**SMART-Seq mRNA LP**文库产量高于A公司Kit产量，而更高的文库产量更适于高通量型Illumina测序仪，如Novaseq。而且**SMART-Seq mRNA LP**能检出更多基因，从同样的cDNA起始能“捕获”更全的信息！

## 不同起始量均有出色的结果

| Sequencing metrics comparing input RNA amounts |         |                       |        |        |        |        |        |        |        |
|------------------------------------------------|---------|-----------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| RNA source                                     |         | Human Brain Total RNA |        |        |        |        |        |        |        |
| Input amount                                   |         | 10 pg                 |        | 100 pg |        | 1 ng   |        | 10 ng  |        |
| Yield (ng)                                     |         | 3.2                   | 3.2    | 5.2    | 5.6    | 3.5    | 4.4    | 6.7    | 6.1    |
| Number of transcripts                          | FPKM >1 | 11,627                | 11,227 | 16,460 | 16,600 | 17,218 | 17,119 | 17,383 | 17,333 |
| Mapped to rRNA                                 |         | 1.6                   | 1.4    | 1.9    | 1.9    | 3.8    | 3.8    | 11.8   | 11.6   |
| Mapped to genome                               |         | 93                    | 94     | 95     | 96     | 95     | 95     | 94     | 95     |
| Pearson R                                      |         | 0.96                  |        | 0.99   |        | 1.00   |        | 1.00   |        |

使用SMART-Seq mRNA合成的cDNA文库，然后建库测序。结果显示**SMART-Seq mRNA**有较高的转录本检测数，比对到rRNA的比例非常低，而比对到基因组比例很高。**SMART-Seq mRNA**已针对微量样本起始进行了优化，因此在10 pg-10 ng的起始范围均可生成高质量、一致的测序指标。

# 单细胞RNA-Seq

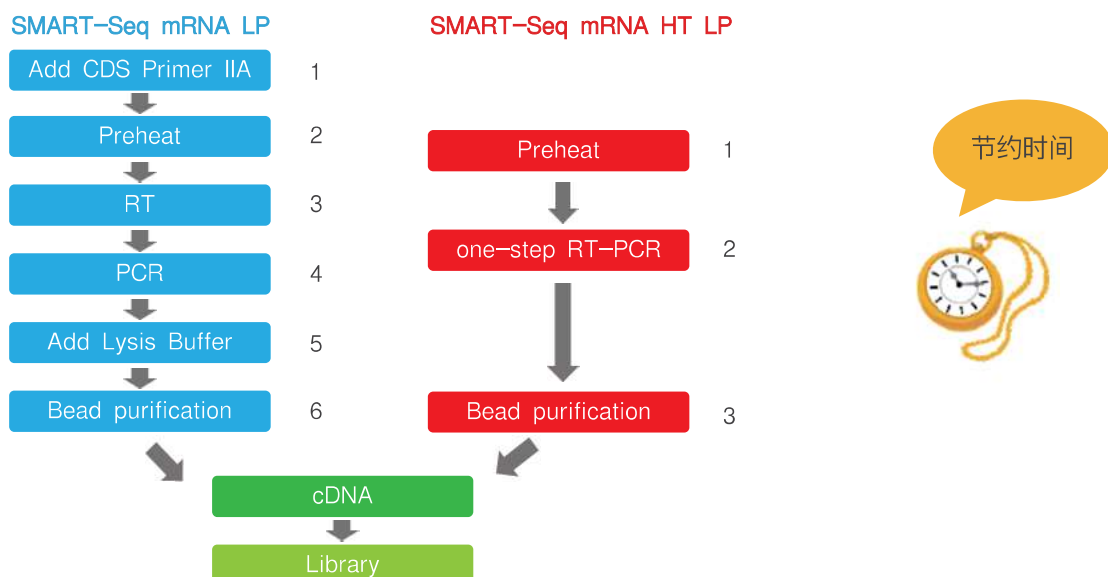
## SMART-Seq® mRNA HT LP

操作更加简便 (one-step RT-PCR) 的mRNA文库构建试剂盒

| 样本类型      | 起始量范围      | 应用     | NGS分析    | 适用对象       | 反转录引物         |
|-----------|------------|--------|----------|------------|---------------|
| total RNA | 10 pg-1 ng | mRNA分析 | Illumina | 含poly A的生物 | 改良型oligo dT引物 |
| 细胞        | 1-100细胞    |        |          |            |               |

- 具有简化的操作流程，引入了一步法RT-PCR扩增步骤，从而减少了手动操作时间
- 兼容自动化工作站，更少的时间分析更多的样本
- 搭配使用Unique Dual Index (UDI) kits（单独销售），有更好的样本拆析与测序可靠性
- 搭配特别开发的软件Cogent™ NGS Analysis，可以完成测序数据分析

### 简单的操作流程



### 制品列表

| 产品名称                  | 包装量         | Code No. |
|-----------------------|-------------|----------|
| SMART-Seq® mRNA HT LP | 24 Rxns     | 634792   |
|                       | 96 Rxns     | 634793   |
|                       | 4 × 96 Rxns | 634794   |

注：本Kit不含index，需另外准备。推荐Unique Dual Index Kits。

### 关联制品 操作更加简便的单细胞/微量样本的cDNA制备试剂盒

| 产品名称               | 包装量         | Code No. |
|--------------------|-------------|----------|
| SMART-Seq® mRNA HT | 24 Rxns     | 634795   |
|                    | 96 Rxns     | 634796   |
|                    | 4 × 96 Rxns | 634791   |

注：SMART-Seq mRNA HT LP和SMART-Seq mRNA HT是SMART-Seq HT PLUS Kit和SMART-Seq HT Kit的等效替代品。



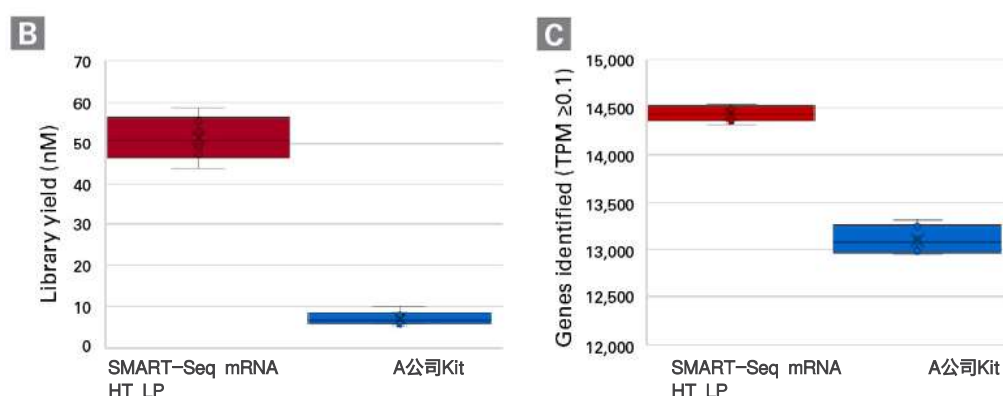
# 单细胞RNA-Seq

## ◆◆ SMART-Seq mRNA HT和SMART-Seq mRNA之间的基因表达分析比较

| RNA source                     |         | 10 pg Mouse Brain Total RNA |        |        |                   |        |        |
|--------------------------------|---------|-----------------------------|--------|--------|-------------------|--------|--------|
| cDNA synthesis                 |         | SMART-Seq mRNA              |        |        | SMART-Seq mRNA HT |        |        |
| Yield (ng)                     |         | 7.3                         | 8.5    | 9.4    | 9.5               | 9.9    | 9.2    |
| Number of transcripts          | FPKM >1 | 11,455                      | 11,267 | 11,349 | 11,582            | 11,670 | 11,454 |
| Average Pearson/Spearman       |         | 0.97/0.67                   |        |        | 0.97/0.68         |        |        |
|                                |         | 0.96/0.66                   |        |        |                   |        |        |
| Proportion of reads mapped (%) |         |                             |        |        |                   |        |        |
| rRNA                           |         | 0.7                         | 0.6    | 0.5    | 1.1               | 1.1    | 1.1    |
| Mitochondria                   |         | 2.8                         | 4.2    | 4.1    | 3.7               | 3.8    | 4.2    |
| Genome                         |         | 92.3                        | 90.8   | 86.6   | 89.1              | 89.0   | 87.8   |
| Exons                          |         | 74.8                        | 72.5   | 69.0   | 67.3              | 67.1   | 65.3   |
| Introns                        |         | 13.3                        | 14.1   | 13.3   | 16.9              | 16.9   | 17.4   |
| Intergenic regions             |         | 4.2                         | 4.2    | 4.4    | 4.9               | 5.0    | 5.2    |

分别使用SMART-Seq mRNA和SMART-Seq mRNA HT从10 pg小鼠脑总RNA制备cDNA。然后制备文库并测序。结果显示，使用SMART-Seq mRNA和SMART-Seq HT试剂盒鉴定的转录本高度重叠。**SMART-Seq mRNA HT**采用One-Step RT-PCR技术，可大幅缩短操作时间，但性能与SMART-Seq mRNA性能接近。

## ◆◆ 构建高品质的文库



(数据来源于Takara Bio USA, Inc.)

采用SMART-Seq mRNA HT完成cDNA合成，随后分别使用**SMART-Seq mRNA HT LP**中SMART-Seq Library Prep Kit (SSlp) 与市面上较常用的A公司试剂盒构建文库，并比较性能差异。结果显示，**SMART-Seq mRNA HT LP**所建文库的产量是A公司Kit产量的5倍，而更高的文库产量更适于高通量型Illumina测序仪，如Novaseq。而且**SMART-Seq mRNA HT LP**文库能比A公司文库多检出10%的基因，从同样的cDNA起始能“捕获”更全的信息！

# 单细胞RNA-Seq

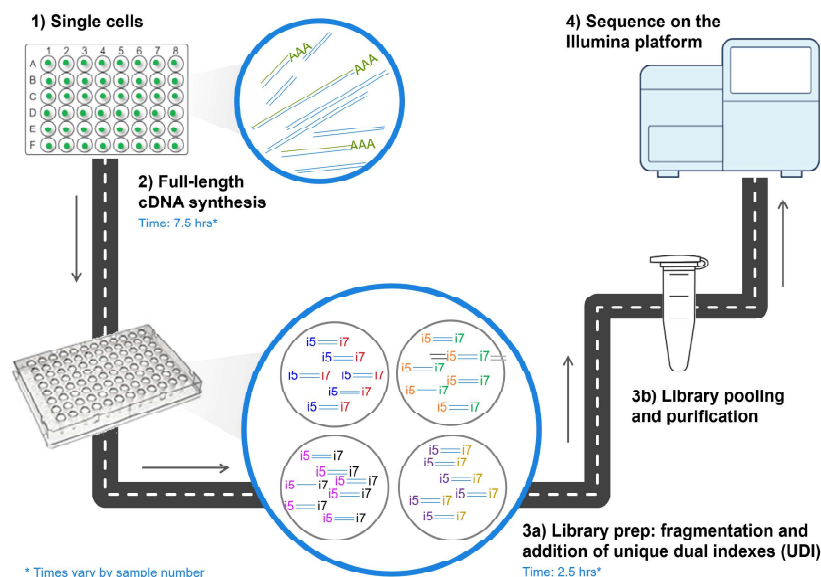
## SMART-Seq® mRNA Single Cell LP

专为单个细胞进行RNA-Seq分析的文库构建试剂盒

| 样本类型 | 起始量范围 | 应用     | NGS分析    | 适用对象       | 反转录引物         |
|------|-------|--------|----------|------------|---------------|
| 细胞   | 单个细胞  | mRNA分析 | Illumina | 含poly A的生物 | 改良型oligo dT引物 |

- 提供完整的RNA-Seq分析流程，包含从样本制备cDNA到文库构建的实验流程
- 非常适用于单细胞（尤其是RNA含量非常低的细胞和细胞核）RNA-Seq的研究
- 搭配使用Unique Dual Index (UDI) kits（单独销售），有更好的样本拆析与测序可靠性
- 搭配特别开发的软件Cogent™ NGS Analysis，可以完成测序数据分析

### 简单的操作流程



### 制品列表

| 产品名称                           | 包装量         | Code No. |
|--------------------------------|-------------|----------|
| SMART-Seq® mRNA Single Cell LP | 24 Rxns     | 634786   |
|                                | 96 Rxns     | 634787   |
|                                | 4 × 96 Rxns | 634788   |

注：本Kit不含index，需另外准备。推荐Unique Dual Index Kits。

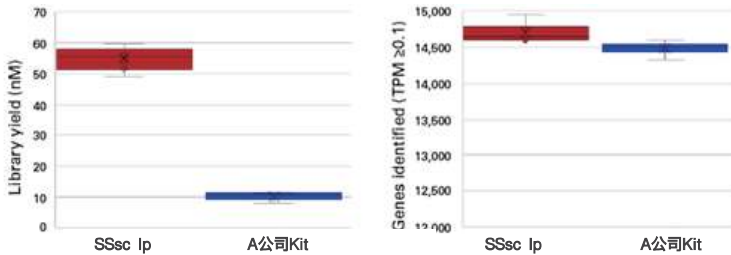
### 关联制品 单细胞cDNA制备试剂盒

| 产品名称                        | 包装量         | Code No. |
|-----------------------------|-------------|----------|
| SMART-Seq® mRNA Single Cell | 24 Rxns     | 634789   |
|                             | 96 Rxns     | 634790   |
|                             | 4 × 96 Rxns | 634785   |

注：SMART-Seq mRNA Single Cell LP和SMART-Seq mRNA Single Cell是SMART-Seq Single Cell PLUS Kit和SMART-Seq Single Cell Kit的等效替代品。

# 单细胞RNA-Seq

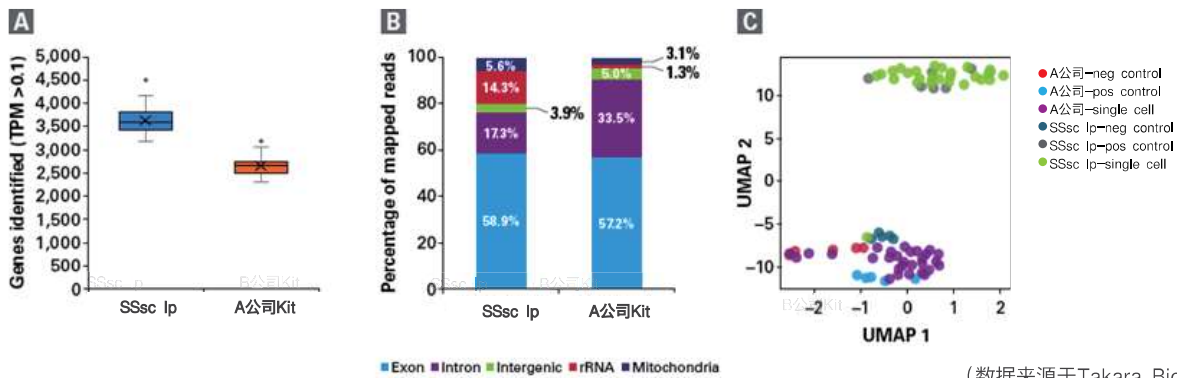
## ◆◆ SMART-Seq mRNA Single Cell LP 提供完整的单细胞RNA-Seq建库体验



采用SMART-Seq mRNA Single Cell完成cDNA合成。随后分别采用**SMART-Seq mRNA Single Cell LP(SSsc lp)**中的SMART-Seq Library Prep Kit模块与市面上较常用的A公司试剂盒构建文库，并比较性能差异。结果显示，SSsc lp所建文库的产量更高，且能检出更多的基因。

(数据来源于Takara Bio USA, Inc.)

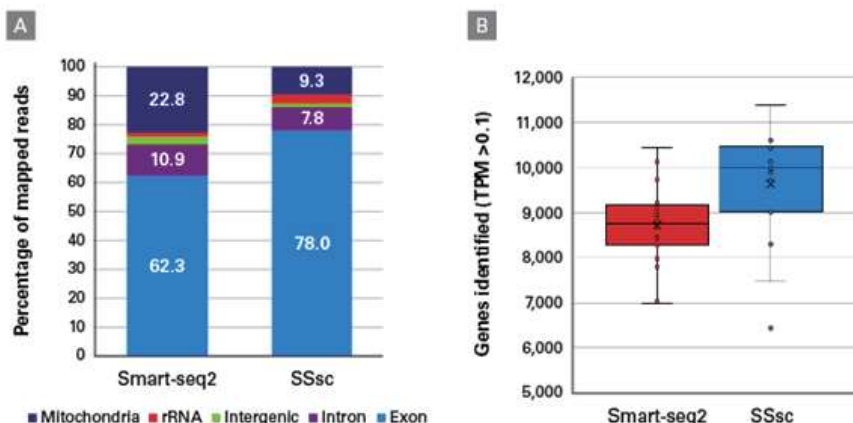
## ◆◆ SMART-Seq mRNA Single Cell LP vs A公司试剂盒



(数据来源于Takara Bio USA, Inc.)

分别使用**SMART-Seq mRNA Single Cell LP(SSsc lp)**和A公司同类试剂盒对FACS分选的T细胞制备cDNA。然后制备文库并测序。与A公司同类试剂盒相比，SSsc lp可以比A公司试剂盒基因检测数多40%，具有更高的灵敏度。SSsc lp可以比对到更多的外显子信息。另外通过UMAP分析，SSc lp的阴性对照、阳性对照以及单细胞样本之间有明显的分离。

## ◆◆ SMART-Seq mRNA Single Cell vs Smart-seq2



以淋巴瘤细胞系GM12878单细胞为样本制备文库，分别使用**SMART-Seq mRNA Single Cell(SSsc)**和Smart-seq2合成cDNA，然后制备RNA-Seq文库进行测序分析。Smart-seq2结果比对到线粒体基因组的比率较高，而检测到基因鉴别的reads数相对较少。SSsc能检测到比Smart-seq2更多的基因。

# 单细胞RNA-Seq

## SMART-Seq® Stranded Kit

### 单细胞起始链特异性RNA-Seq文库构建试剂盒

| 样本类型      | 起始量范围       | 应用                | NGS分析    | 适用对象    | 反转录引物   |
|-----------|-------------|-------------------|----------|---------|---------|
| total RNA | 10 pg–10 ng | mRNA和<br>lncRNA分析 | Illumina | 人、小鼠、大鼠 | 改良型随机引物 |
| 细胞        | 1–1,000细胞   |                   |          |         |         |

可用于分析微量RNA，降解RNA，长非编码RNA！

- ✓ pg级起始RNA OK
- ✓ 降解RNA OK
- ✓ 长非编码RNA分析 OK
- ✓ FFPE/LCM来源的RNA OK
- ✓ 单细胞分析 OK
- ✓ 链特异性分析 OK

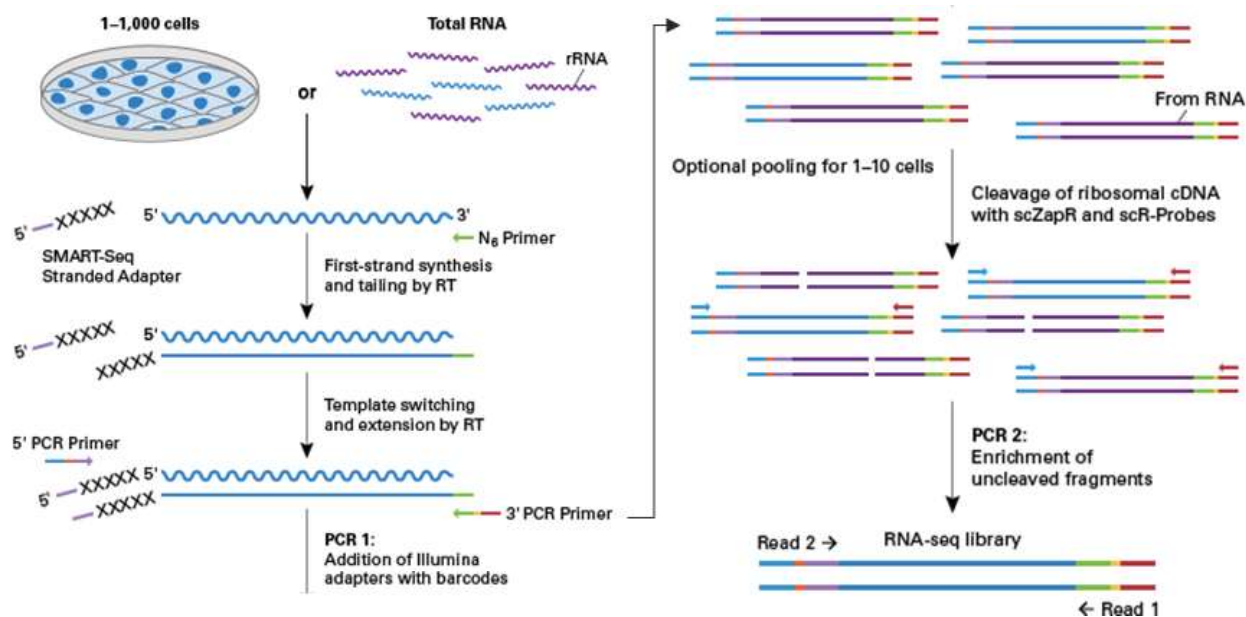
### 操作流程

#### ★ 要点1

通过PCR添加接头

#### ★ 要点2

本试剂采用专有的scZapR & scR-Probes技术，在文库制备过程中去除核糖体cDNA，因而不需要前处理（去除核糖体RNA）



### 制品列表

| 产品名称                    | 包装量     | Code No. |
|-------------------------|---------|----------|
| SMART-Seq® Stranded Kit | 24 Rxns | 634442   |
|                         | 48 Rxns | 634443   |
|                         | 96 Rxns | 634444   |

注：Index种类分别为12、48、96种。

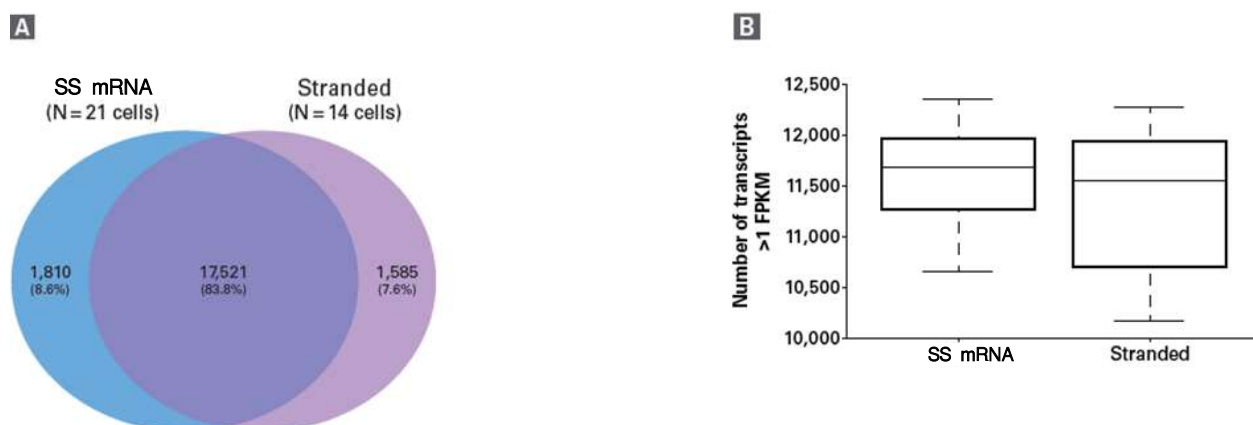
# 单细胞RNA-Seq

## ◆◆◆ 不同样品起始量的再现性比较

| Sequencing alignment metrics for A375 total RNA and cells |           |             |           |           |           |           |           |
|-----------------------------------------------------------|-----------|-------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Input                                                     | Total RNA | 1,000 cells | 500 cells | 100 cells | 10 cells  | 5 cells   | 1 cell    |
| Number of reads (pairs)                                   | 6,000,000 | 6,000,000   | 6,000,000 | 6,000,000 | 6,000,000 | 6,000,000 | 5,873,974 |
| Number of transcripts >1 FPKM                             | 13,260    | 13,294      | 13,583    | 13,520    | 12,726    | 12,602    | 11,540    |
| Exonic                                                    | 34.7      | 36.4        | 39.2      | 42.7      | 36.7      | 36.2      | 37.3      |
| Intronic                                                  | 29.6      | 29.3        | 27.7      | 28.3      | 34.0      | 30.4      | 21.1      |
| Intergenic                                                | 14.2      | 13.4        | 12.2      | 12.9      | 16.7      | 16.8      | 10.1      |
| rRNA                                                      | 7.0       | 11.4        | 11.5      | 6.3       | 3.6       | 4.9       | 7.1       |
| Mitochondrial                                             | 4.1       | 3.5         | 3.7       | 4.9       | 3.8       | 4.4       | 4.6       |
| Overall mapping (%)                                       | 89.6      | 93.9        | 94.3      | 95.1      | 94.9      | 92.7      | 80.2      |
| lncRNA mapping:                                           |           |             |           |           |           |           |           |
| Number of mapped reads (%)                                | 7.2       | 10.4        | 10.8      | 9.4       | 8.7       | 8.6       | 7.3       |
| lncRNA transcripts detected                               | 5,395     | 4,687       | 4,565     | 5,439     | 5,440     | 4,983     | 2,802     |

利用FACS分离出A375细胞，分别以1–1,000个细胞起始使用**SMART-Seq Stranded Kit**制备测序文库。其中，以5–1,000个细胞起始时，均做两个重复；以单个细胞起始时，做12个重复。为了作比较，同时使用从两种1,000个细胞中纯化的总RNA制备文库。与对照样品相比，以不同细胞数（1–1,000个细胞）起始时均有非常高的再现性。结果表明，即使以少量细胞起始也可以获得准确的结果。

## ◆◆◆ 本试剂盒（Stranded）与SMART-Seq mRNA(SSmRNA)的比较



以K562细胞起始，使用**SMART-Seq Stranded Kit**（Stranded）与SMART-Seq mRNA(SS mRNA)进行单细胞转录组分析。结果表明，两个试剂盒之间转录本的重叠率很高（图A），且检测到的转录本的数量相当（图B）。从而也说明**Stranded试剂盒**可以获得与SS mRNA试剂盒基本一致的结果。

# 单细胞DNA-Seq

## ◆◆ 单细胞DNA-Seq系列产品

| 产品选择                 | 产品类型      | 产品名称                                  | 起始样本量                                                                                  |
|----------------------|-----------|---------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| 性能卓越的单细胞全基因组扩增分析     | 全基因组扩增试剂盒 | PicoPLEX WGA Kit                      | <ul style="list-style-type: none"> <li>• 6 pg–60 pg gDNA</li> <li>• 1–10个细胞</li> </ul> |
| 产量更高的单细胞全基因组扩增分析     | 全基因组扩增试剂盒 | PicoPLEX Single Cell WGA Kit          | <ul style="list-style-type: none"> <li>• 6 pg–60 pg gDNA</li> <li>• 1–10个细胞</li> </ul> |
| 可用于SNV检测的单细胞全基因组扩增分析 | 全基因组扩增试剂盒 | PicoPLEX Single Cell WGA Kit v3       | <ul style="list-style-type: none"> <li>• 6 pg–60 pg gDNA</li> <li>• 1–10个细胞</li> </ul> |
| 优化用于单细胞起始的SNV和CNV检测  | 文库构建试剂盒   | PicoPLEX Gold Single Cell DNA-Seq Kit | <ul style="list-style-type: none"> <li>• 6 pg–30 pg gDNA</li> <li>• 1–5个细胞</li> </ul>  |



# PicoPLEX 技术概述

## 单细胞全基因组扩增技术的重要性

由于每个细胞中的DNA非常少（皮克级），远没有达到测序所需的样品量，因此需要先对单细胞内的DNA进行全基因组扩增（whole genome amplification, WGA）。

而这一过程必须尽可能避免样本的损失和污染，并尽可能保证扩增的覆盖度、均一性等，这都是极其困难的，所以选对单细胞全基因组扩增技术很重要！

Takara致力于通过卓越的技术为科学研究提供支持，倾力推出的PicoPLEX技术，助力单细胞DNA分析！

## 什么是PicoPLEX技术……

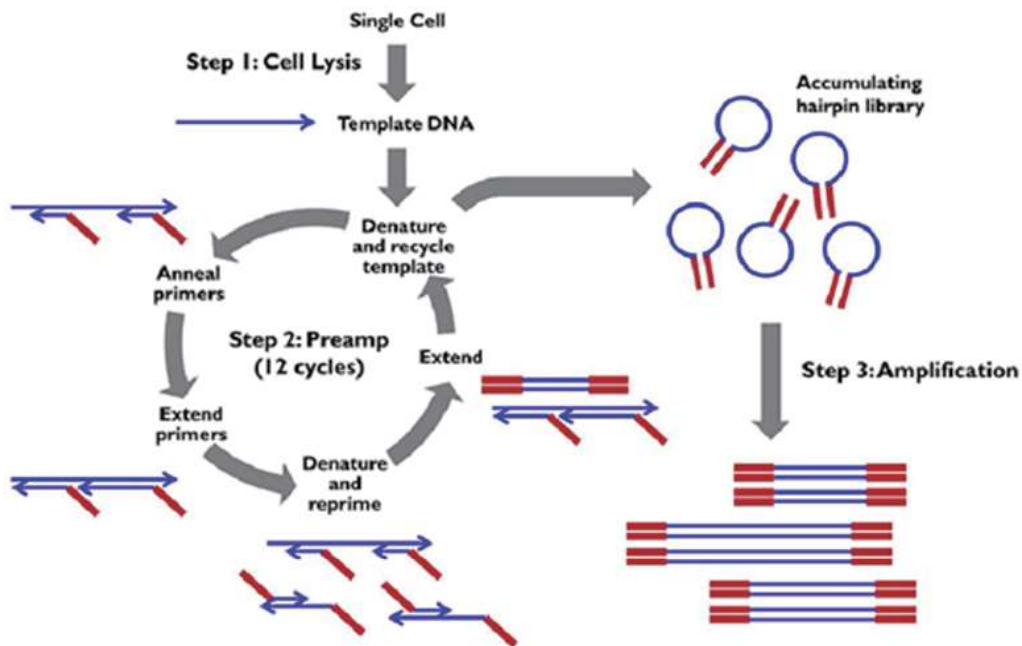
- “准线性预扩增+发夹结构”加持，保证扩增的均一性

在经过细胞裂解后，以DNA作为模板使用准线性扩增方法进行预扩增，并在每个循环最后形成一个不能被进一步扩增的发夹结构，这样做的好处是有效避免PCR过程中可能引入的扩增错误无限放大，避免序列偏向性。

- 操作简便，避免珍贵样品的损失

细胞裂解和预扩增后，进行低背景的PCR扩增，并在3小时内获得微克级产物。

- 卓越的等位基因再现性



# 单细胞DNA-Seq

## PicoPLEX® WGA Kits

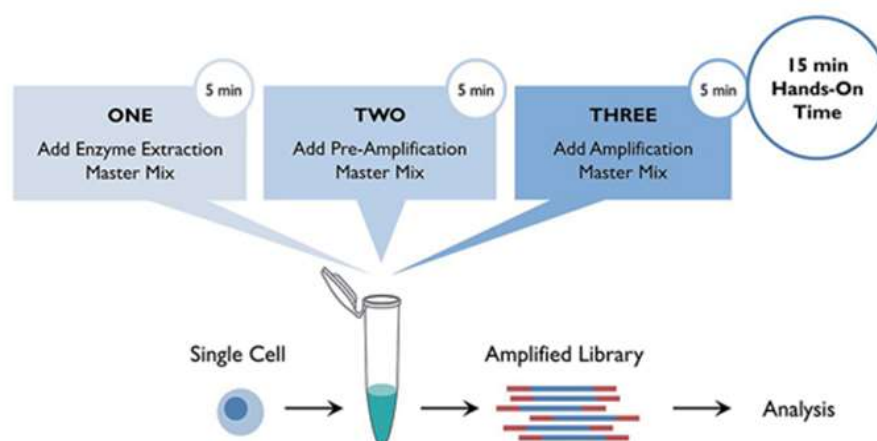
### 单细胞全基因组扩增（WGA）试剂盒

| 样本类型 | 起始量范围    | 应用                   |
|------|----------|----------------------|
| 真核细胞 | 1–10个细胞  | CNV<br>SNV<br>染色体异倍性 |
| gDNA | 6– 60 pg |                      |

- 单细胞或者6 pg gDNA起始的**全基因组DNA扩增试剂盒**
- 单管反应、3小时，3步反应的简单操作流程（手动操作时间只需要15分钟）
- 适合拷贝数多样性（CNV）、染色体异倍性（aneuploidy）的分析

### ◆◆◆ 单个反应管、3步反应的简单操作流程

大幅降低操作过程中的样品损失，能够简便的完成分析。



### ◆◆◆ 制品列表

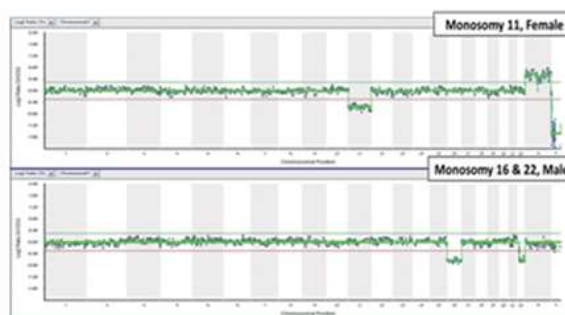
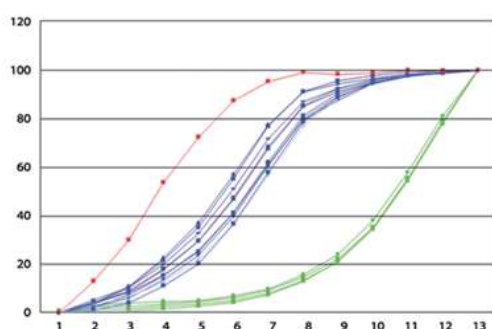
| 产品名称                             | 包装量      | Code No. |
|----------------------------------|----------|----------|
| PicoPLEX® WGA Kit                | 50 Rxns  | R30050   |
| PicoPLEX® Single Cell WGA Kit    | 24 Rxns  | R300671  |
|                                  | 96 Rxns  | R300672  |
|                                  | 480 Rxns | R300673  |
| PicoPLEX® Single Cell Kit WGA v3 | 24 Rxns  | R300718  |
|                                  | 96 Rxns  | R300722  |
|                                  | 480 Rxns | R300723  |

# 单细胞DNA-Seq

## PicoPLEX® WGA Kits系列的文库产量和大小

|        | PicoPLEX® WGA Kit | PicoPLEX® Single Cell WGA Kit | PicoPLEX® Single Cell WGA Kit v3 |
|--------|-------------------|-------------------------------|----------------------------------|
| 文库产量   | 2 – 5 µg          | 8 – 12 µg                     | 2 – 5 µg                         |
| 文库平均大小 | 100 bp – 1 kb     | 100 bp – 1 kb                 | 100 bp – 2 kb                    |

## 单细胞起始的高再现性的扩增和准确度高的CNV分析



- 【A】FACS分选的癌细胞 (no cell, 1 cell, 5 cells) 经PicoPLEX WGA Kit扩增后, 进行qPCR分析。各细胞获得了相同扩增比例, 再现性高的结果。此外, 不含细胞 (no cell) 的样品显示了很低的背景。
- 【B】使用PicoPLEX WGA Kit对单个卵裂球活检样品进行扩增后, 经24 sure array分析, 得到了准确的CNV结果, 明确显示了Monosomy等染色体异常性。

## 与同类试剂盒比较

| Depth of SNV position $\geq 10$ Allele frequency $\geq 20\%$ |      | PicoPLEX WGA v3 1 cell |      | PicoPLEX WGA v3 5 cells |      | A公司kit 1 cell |      | A公司kit 5 cells |      | B公司kit 1 cell |        | B公司kit 5 cells |        |
|--------------------------------------------------------------|------|------------------------|------|-------------------------|------|---------------|------|----------------|------|---------------|--------|----------------|--------|
|                                                              | Bulk | Rep1                   | Rep2 | Rep1                    | Rep2 | Rep1          | Rep2 | Rep1           | Rep2 | Rep1          | Rep2   | Rep1           | Rep2   |
| Number of SNVs called                                        | 74   | 57                     | 67   | 69                      | 67   | 34            | 57   | 62             | 67   | Failed        | Failed | 40             | Failed |
| Number of false positives                                    |      | 3                      | 1    | 0                       | 1    | 5             | 1    | 5              | 7    | Failed        | Failed | 0              | Failed |
| Average false positives                                      |      | 0.02%                  |      | 0.05%                   |      | 0.03%         |      | 0.035%         |      | Failed        |        | 0              | Failed |
| Call rate                                                    |      | 78%                    | 92%  | 95%                     | 92%  | 47%           | 78%  | 85%            | 92%  | Failed        | Failed | 55%            | Failed |
| Average call rate                                            |      | 85%                    |      | 93%                     |      | 62%           |      | 88%            |      | Failed        |        | 55%            | Failed |
| Missed                                                       |      | 17                     | 7    | 5                       | 7    | 40            | 17   | 12             | 7    | Failed        | Failed | 34             | Failed |
| Average locus dropouts                                       |      | 16.2%                  |      | 8.1%                    |      | 38.5%         |      | 12.8%          |      | Failed        |        | 45.9%          | Failed |
| Number of heterozygous SNVs called                           | 45   | 45                     | 38   | 45                      | 45   | 36            | 31   | 38             | 41   | Failed        | Failed | 32             | Failed |
| Average allele dropouts                                      |      | 7.8%                   |      | 0.0%                    |      | 25.6%         |      | 12.2%          |      | Failed        |        | 71.1%          | Failed |

(数据来源于Takara Bio USA, Inc.)

以单细胞 (1 cell) 和5个细胞 (5 cells) 的GM12878细胞系 (Coriell研究所) 起始 (一式两份), 分别使用PicoPLEX Single Cell WGA v3, A公司试剂盒和B公司试剂盒, 以及bulk gDNA对照制备全基因组扩增产物, 进行SNV检测的比较。其中B公司试剂盒虽然制备了足够的扩增产物, 但只有5 cells样本中一个包含足够的扩增子进行测序, 而其他样本无可用数据进行测序。与其他两个公司试剂盒相比, PicoPLEX Single Cell WGA v3具有更高的call rates和更低的等位基因丢失率。

# 单细胞DNA-Seq

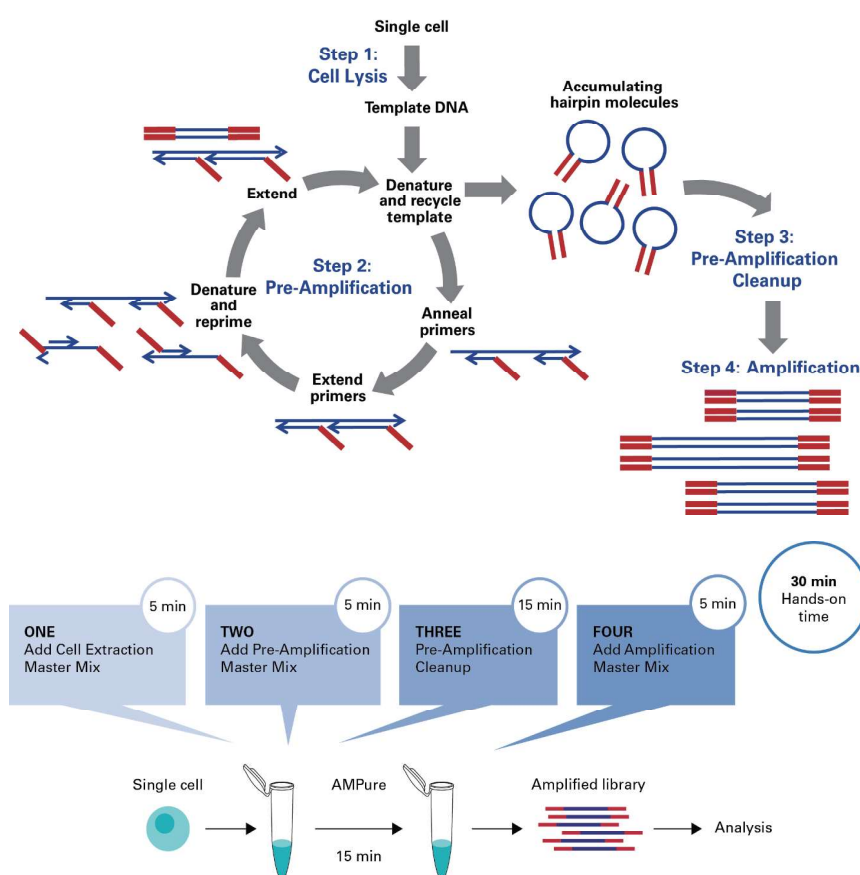
## PicoPLEX® Gold Single Cell DNA-Seq Kit

### 单细胞DNA-Seq文库构建试剂盒

| 样本类型 | 起始量范围     | 应用  | NGS分析    |
|------|-----------|-----|----------|
| 真核细胞 | 1 – 5 个细胞 | CNV | Illumina |
| gDNA | 6 – 30 pg | SNV |          |

- 可以从**单细胞**中生成高质量的**DNA测序文库**
- 3小时的工作流程，手动操作时间只需要30分钟
- 适合拷贝数变异（CNV）、单核苷酸变异（SNV）、插入缺失(indels)和结构变异（SV）等的分析

### 流程概要

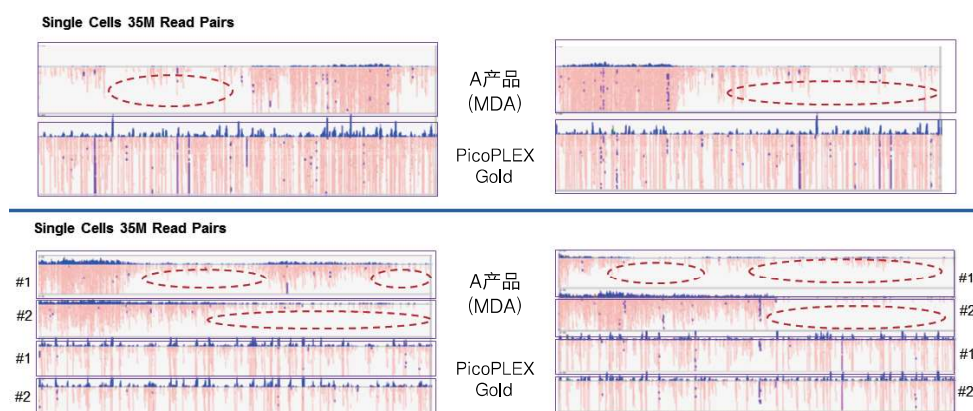


### 制品列表

| 产品名称                                   | 包装量      | Code No. |
|----------------------------------------|----------|----------|
| PicoPLEX® Gold Single Cell DNA-Seq Kit | 24 Rxns  | R300669  |
|                                        | 96 Rxns  | R300670  |
|                                        | 384 Rxns | R300698  |

# 单细胞DNA-Seq

## PicoPLEX Gold vs MDA法

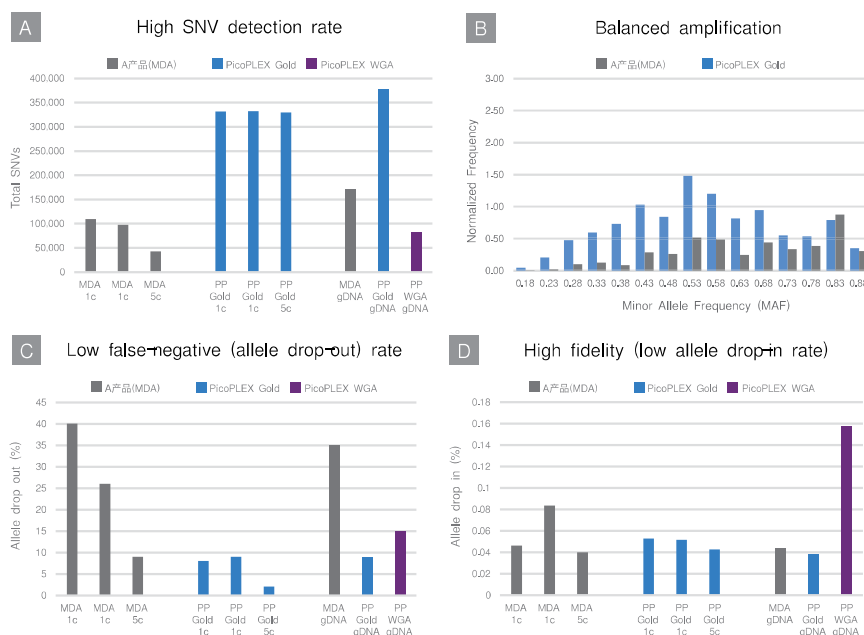


(数据来源于Takara Bio USA, Inc.)

**PicoPLEX Gold Single Cell DNA-Seq Kit**的主要特点：高覆盖度，高均匀性，和高重现性（与A产品MDA法相比）。

以gDNA样本（NA12878）和单细胞样本（GM12878）起始，使用PicoPLEX Gold和A产品进行全基因组扩增。相比较于MDA，PicoPLEX Gold显示出更均匀的覆盖度。

## SNV分析



(数据来源于Takara Bio USA, Inc.)

Panel A. **PicoPLEX Gold** (蓝色) 有高的保真度和覆盖度，与A产品（灰色）和PicoPLEX WGA（紫色）相比，可以高质量的检测更多的SNV（2-9倍），具有明显的优势。

Panel B. 与A产品（MDA）相比，**PicoPLEX Gold**（蓝色）具有更好的等位基因平衡（灰色）。

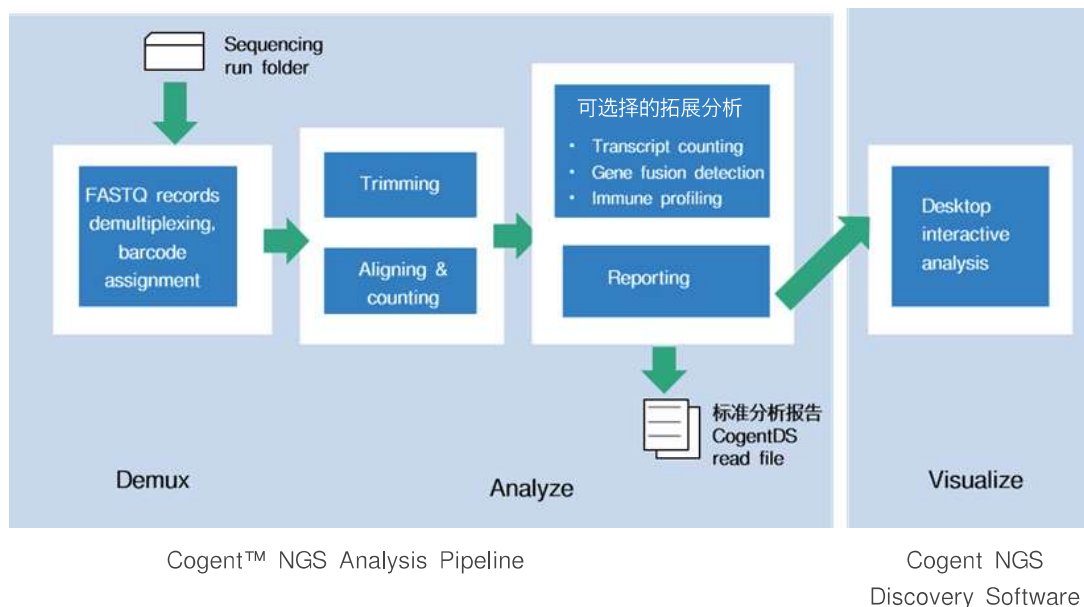
Panel C. **PicoPLEX Gold**的无偏扩增，在测试的所有单细胞文库制备的技术中，表现出最低的等位基因脱扣率（假阴性）。

Panel D. **PicoPLEX Gold**试剂盒中的聚合酶具有高保真度（蓝色），使得等位基因插入率与A产品（灰色）相当，且明显低于PicoPLEX WGA（紫色）。

## 拓展：单细胞测序数据分析软件

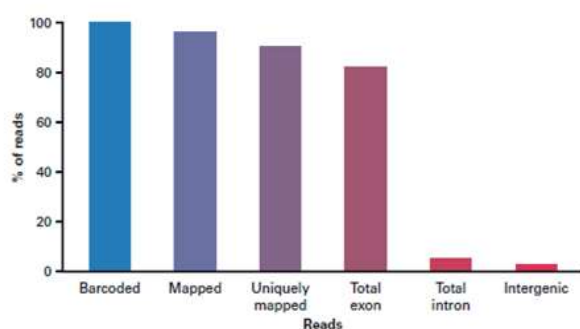
Takara提供工具和科学专业知识助力单细胞研究。为了您的单细胞实验流程提供完整的解决方案，我们开发了简单的基于GUI-based的分析工具，帮助您克服在进行单细胞数据分析时的困难。

### Cogent™ NGS Analysis Pipeline & Discovery Software



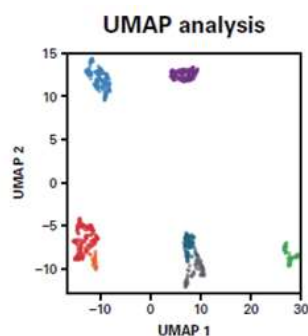
#### Cogent NGS Analysis Pipeline

- 便捷的安装，简洁的界面，强大的分析功能
- 简便的操作，流畅的基于Linux GUI的分析系统
- 数分钟时间便可生成分析数据



#### Cogent NGS Discovery Software

- 基于R交互式工具包，用于探索单细胞 read counts 信息之外的内容
- 可定制化的可视化设置
- 包含quality-control filtering, PCA, UMAP, tSNE plots, 关联分析等模块



- 本宣传页上登载的制品，都是以科研为目的。请不要用于其它方面，如：不要用于人、动物的临床诊断和治疗。也不能用于食品、化妆品及家庭用品等方面。
- 未经本公司许可，严禁产品的转售·转让、以转售·转让为目的的产品更改、以及用于商品的制造。
- 专利许可信息请在本公司网站上确认：<https://www.takarabiomed.com.cn/>。
- 本宣传页上登载的公司名称及制品名称即使没有特殊标注，使用的也是各公司的商标或注册商标。
- 本宣传页仅限于中国大陆地区客户使用，其他地区客户请咨询当地代理商。
- 本宣传页上记载的产品信息是2023年9月1日的信息，最新信息请参考公司官网。

Ver.1 2023年10月印刷 1.5K