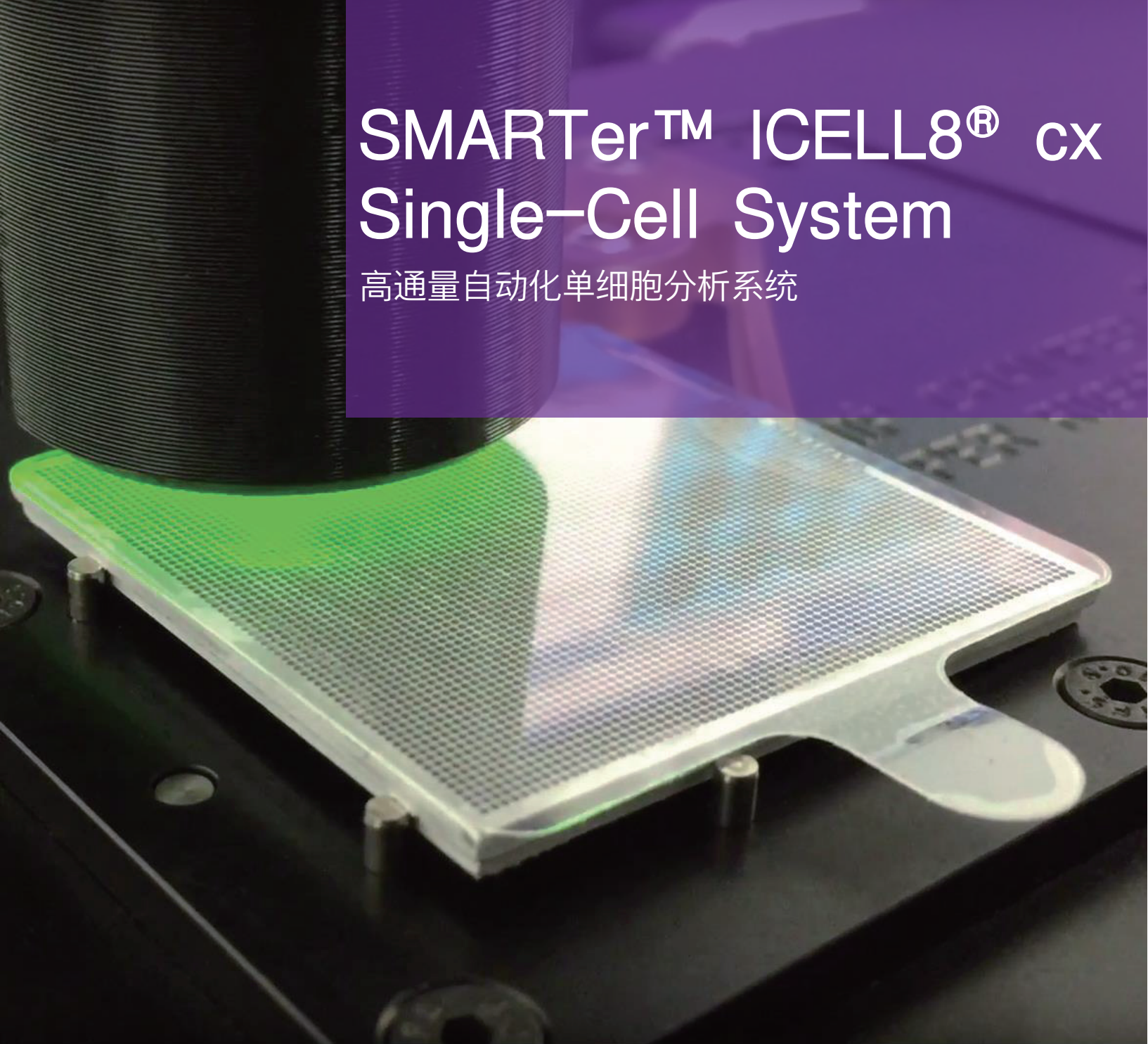
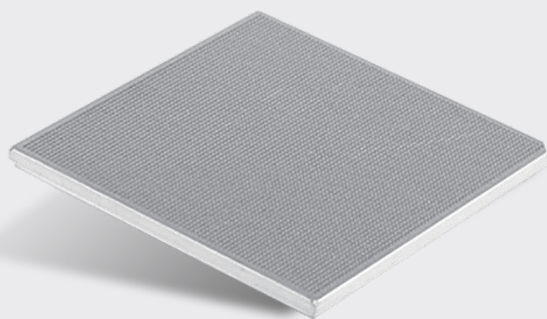


SMARTer™ ICELL8® cx Single-Cell System

高通量自动化单细胞分析系统



Clontech **Takara** cellartis
www.takarabiomed.com.cn



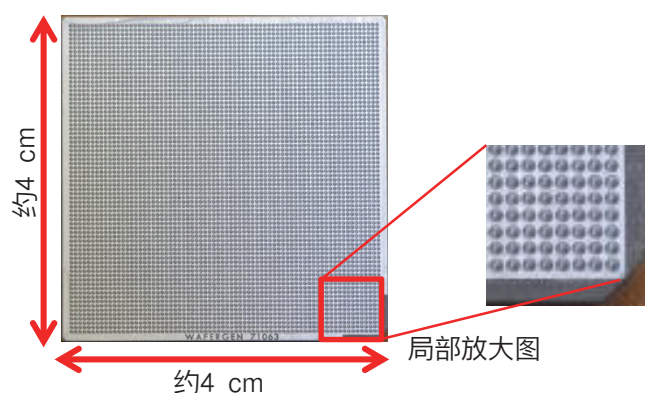
ICELL8 cx给您不同凡响的单细胞分析体验

纳升级别自动化单细胞分析系统

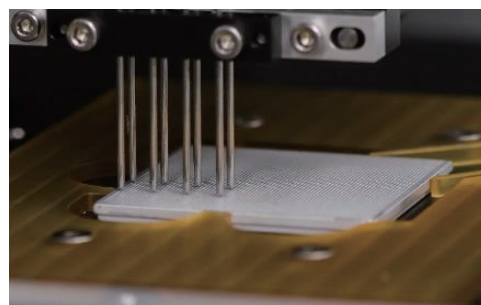
SMARTer™ ICELL8® cx Single-Cell System

- 将细胞悬液以纳升级别分注到含5,184个微孔的ICELL8 cx芯片上，一次最多可获得1,800个单细胞
- 支持分析5-100 μm 大小的细胞，及各种大小的细胞团
- 支持只挑选活的单细胞，成像系统自动排除多细胞、死细胞及空白来源微孔
- 一枚ICELL8 cx芯片上一次最多可以分析8种细胞样品，避免技术错误

通过纳升级别微孔分离单细胞



ICELL8cx芯片约4 cm × 4 cm大小，搭载了5,184个纳升级微孔。部分类型芯片在每个纳米孔中预先固相化了barcode（如用于3'端差异表达分析的芯片）

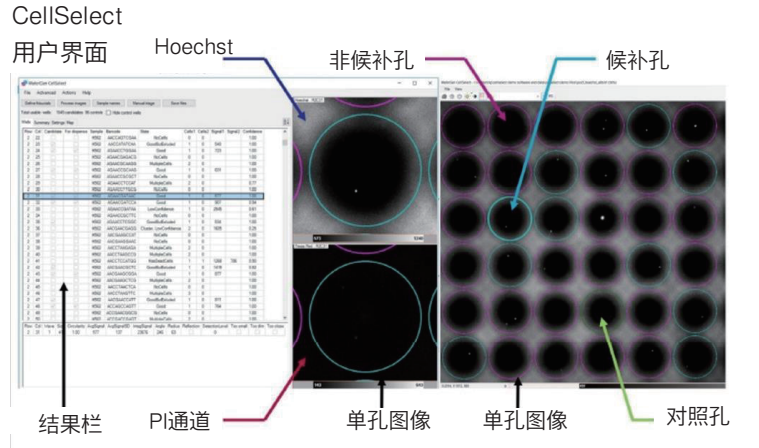
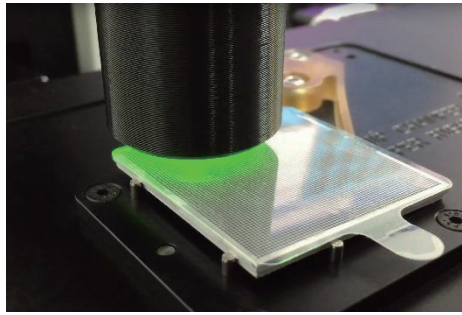


通过将样品准确的分注到ICELL8 cx芯片的每个纳米孔中获得单个细胞

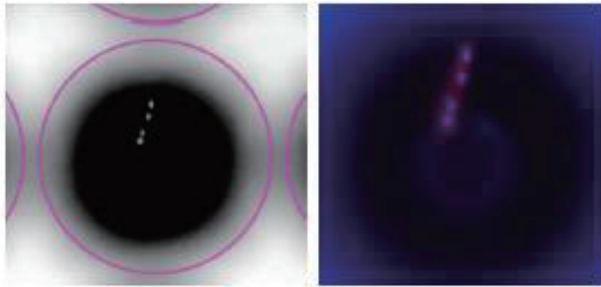
采用单细胞技术在单个细胞水平上进行基因组测序和RNA表达分析，能够动态、系统地了解个体细胞的变化，而不是群体细胞分析的平均数据。

SMARTer ICELL8 cx系统能够准确地将纳升级细胞悬液分注在仅4 cm见方的5,184-纳米孔芯片中，捕获单细胞。细胞分注的结果遵循泊松分布原理，一次最多可获得1,800个单细胞。此外，一张芯片上可同时进行多达8种样品的分注，约15 min即可完成，细胞损伤更小。

自动成像判断活细胞/死细胞



将细胞分注到芯片上后，通过系统内置的成像系统获得5,184个纳米孔的图像。使用专用的CellSelect软件对图像进行分析，检测各孔中细胞的数量与活/死状态，并自动选择记录“活的单细胞”微孔。由于只有选定的孔才可以进入到后续操作，因此可以消除多细胞、空白微孔、死细胞的影响。此外，由于支持手动模式，所以可以自由选择您所感兴趣的细胞进行后续分析。



SMARTer ICELL8cx系统可以从5–100 μm的各种大小细胞样本中获取单个细胞，例如细胞核、血细胞、心肌细胞。

案例

微孔中捕获的成体小鼠心肌细胞（约100 μm）。左图为Hoechst染色细胞，右图为CellTracker Red染色细胞。

SMARTer ICELL8 cx系统分析流程示意图（3'端差异表达分析）





使用基于SMART技术的专用试剂

—微量RNA起始也具有高灵敏度和高重复性，确保更多基因的检出一—

3'端差异表达分析

SMARTer ICELL8 cx 3' DE Kit

- 高通量单细胞分析：同时生成上千单细胞测序数据
- 样品灵活性高：一次实验可同时对8个不同样品进行单细胞分析
- mRNA 3'端捕获测序：通过mRNA 3'端捕获测序，3'端差异表达分析所需reads数更少
- 更少样品处理：自动完成文库构建前的细胞分离、挑选及混样，偏差更小
- 兼容illumina平台：构建的文库支持illumina平台测序

由于芯片纳米孔中预制了barcode，可由此回溯单个细胞cDNA文库数据，结合mRNA 3'末端技术进行遗传差异表达分析。一次分析上千个单细胞3'末端测序数据，是一种低成本高效率的单细胞基因差异表达分析技术。

iPS向心肌细胞分化过程中单细胞基因差异表达分析实例

分别取第1、3、9、21天的细胞样品并用SMARTer ICELL8 cx系统进行单细胞基因差异表达分析



由tSNE解析可以看出各分化阶段单细胞存在明显的基因表达差异。部分Day3和Day9细胞群体聚集在一起，说明在相同细胞群体中也存在异质性。

NGS分析结果

单细胞捕获数：约1,000个细胞（总共4个样本）
 平均reads数：12万reads（每个细胞）
 平均检出基因数：1,200个基因（每个细胞）
 ※最大75万reads，检测出4,500个基因

细胞来源

京都大学 iPS细胞研究所 未来生命科学发展部 渡边亮教授

产品名称	包装量	Code No.	价格
SMARTer™ ICELL8® cx 3' DE Chip	1 Chip	640199	询价
SMARTer® ICELL8® 3' DE Reagent Kit ※1	1 Kit	640167	
SMARTer® ICELL8® 3' DE for UMI Reagent Kit ※2	1 Kit	640005	
SMARTer™ ICELL8® Collection Kit	1 Kit	640048	
SMARTer™ ICELL8® cx Loading Kit	1 Kit	640197	

※1：若数据分析时不使用Unique molecular identifiers (UMI)，可选择该试剂盒。试剂盒包含制备cDNA的反转录酶、PCR酶

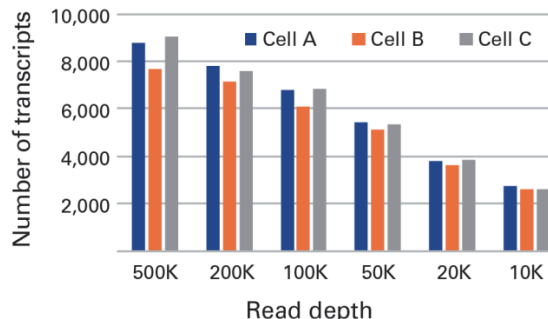
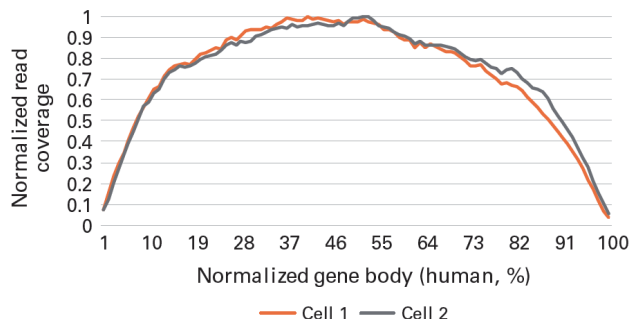
※2：若数据分析时使用Unique molecular identifiers (UMI)，可选择该试剂盒。试剂盒不包含制备cDNA的反转录酶、PCR酶，需另行购买

全长转录组分析

SMART-Seq® ICELL8® Reagent Kit

- 通过将高灵敏度的SMART-seq技术与SMARTer ICELL8 cx系统相结合，从最多1,800个单细胞中制备高品质的scRNA-seq cDNA文库
- 通过在芯片上完成cDNA片段化与index分注，实现全长转录组的分析
- 所制备的文库，即使在低测序深度的情况下，也能检测出大量基因和转录本

K562单细胞全长RNA-Seq案例

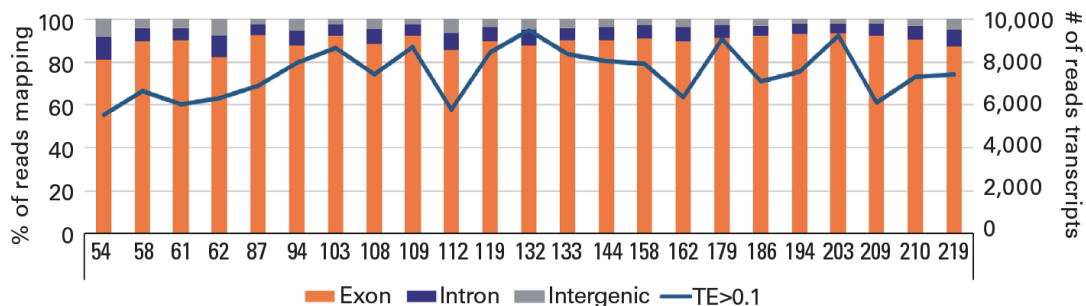


Gene body覆盖度分析

将人类基因组编码的转录本进行长度均一化处理，两个不同分选的分选K562细胞比对的reads覆盖度沿均一化的转录本进行绘制（X轴上均一化转录本中的位置用百分数表示）。沿均一化转录本方向观察均一化覆盖度（Y轴上由0到1范围表示）相对于最大覆盖度的情况。如图所示，在5'到3'（1~100%）范围内没有偏差，可以均匀覆盖全部基因。

Reads数与检测到的转录本数量之间的关系

对于不同的K562细胞，不同reads数所检测出的转录本数量如图所示。



单细胞测序数据reads比对分配情况

直方图展示了比对到人类基因组特定区域的reads百分比：外显子（橙色），内含子（蓝色），基因间隔区（灰色）；直方图上方的深蓝色折线用于表示各孔中鉴定到的转录本数目（RPKM值>0.1）。直方图底部的数据表示被选定的单细胞微孔的对应位置，数据即由这些单细胞微孔产生。

产品名称	包装量	Code No.	价格
SMARTer™ ICELL8® cx Blank Chip – 250 nl FB	1 Chip	640193	询价
SMART-Seq® ICELL8® Reagent Kit	1 Kit	640202	
	3 Kit	640203	
SMART-Seq® ICELL8® Indexing Primer Set	5 Kit	640204	
	1 Kit	640205	
SMARTer™ ICELL8® Collection Kit	1 Kit	640048	
SMARTer™ ICELL8® Loading Kit-B	1 Kit	640206	

TCR分析

SMARTer® ICELL8® Human TCR a/b Profiling Reagent Kit

- SMARTer ICELL8 cx系统可分离捕获数百个单个人源T细胞，获得TCR α链和β链V(D)J可变区序列和配对信息
- 结合SMART技术和RACE方法，可以对低频TCR变体进行有效检测
- 一次可同时分析多达8种不同的细胞样本
- 可同时进行5' DE分析和单细胞TCR分析

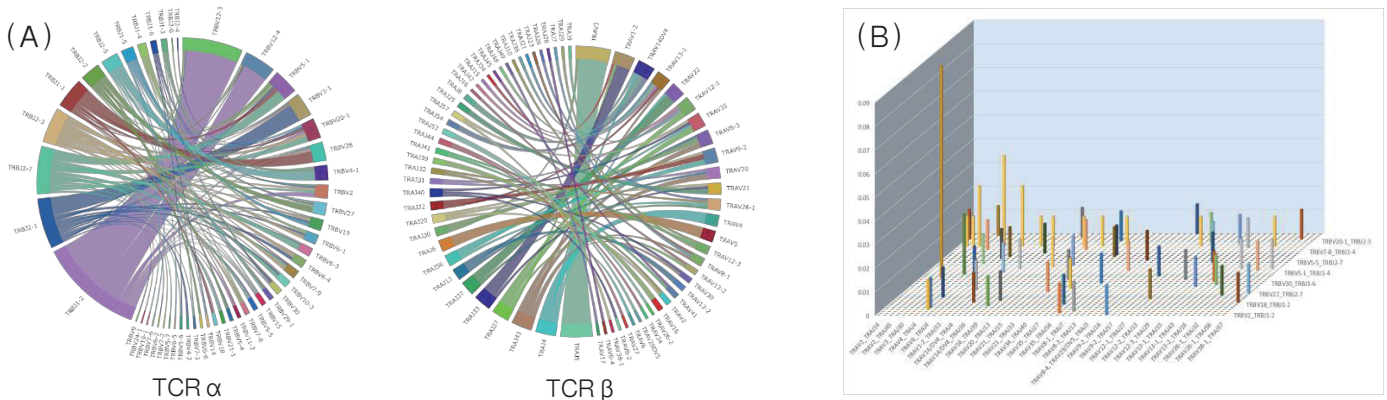
由于使用了预制barcodes的SMARTer™ ICELL8® cx TCR芯片及相关试剂，SMARTer ICELL8 cx系统获得的数百个单个T细胞受体α链和β链信息可以合并为一个文库进行分析。此外，使用Indexing Primer Set可合并多达10个ICELL8 cx TCR芯片产生的cDNA文库，再进行NGS分析。通过SMART方法的cDNA合成和基于RACE的TCR基因特异性PCR，使用本产品可以扩增TCR α链和TCR β链V(D)J可变区全长序列，实现高灵敏度的TCR测序。

★可同时进行单细胞TCR分析和5' DE分析

本品支持同时进行单细胞TCR分析和5'端基因差异表达分析。选取一部分收集的cDNA扩增产物进行5' DE分析文库制备，可以对具有特定克隆型的T细胞进行基因表达分析。

TCR克隆型分析

采用SMARTer ICELL8 cx及配套的TCR试剂盒分析外周血单核细胞（PBMC）



(A) V-J区分析

对每个细胞，分别对其TCR α链和β链VJ区域进行分析，并进行组合。用弦图表示V区和J区组合的结果，外围弧长表示具有特定VJ区域组合的细胞数量。结果表明，细胞群中的VJ区组合具有多样性。

(B) TCR α / β 对出现频率

从每个细胞获得的TCR α和TCR β VJ区组合信息，通过3D条形图展示其出现的频率。横轴表示TCR α的VJ区组合模式，纵轴表示TCR β的VJ区组合模式。每个TCR α / β 对的出现频率由条形图的高度表示。

在PBMC中，TCR α / β 组合存在多样性。此外，一些特定的TCR α / β 组合出现的频率很大。虽然很难获得TCR α / β 的准确配对信息，但是相较而言，通过单细胞分析获得的配对信息更准确，也可以研究细胞群中TCR的多样性和占有率。

产品名称	包装量	Code No.	价格
SMARTer™ ICELL8® cx TCR Chip	1 Chip	640200	询价
SMARTer® ICELL8® Human TCR a/b Profiling – Indexing Primer Set	1 Set	640179	
	5 Set	640180	
SMARTer® ICELL8® Human TCR a/b Profiling Reagent Kit	10 Set	640181	
	1 Kit	640182	
SMARTer™ ICELL8® Collection Kit	1 Kit	640048	
SMARTer™ ICELL8® cx Loading Kit	1 Kit	640197	

兼容的细胞类型

Cell line/type	Species	Source	Cell line/type	Species	Source
307	Mouse	Pancreas	KU812	Human	Blood, CML myeloblast
3T3	Mouse	Fibroblast	Lung epithelia	Mouse	Primary FACS-sorted cells
A-20	Mouse	B-lymphocyte	MCF7	Human	Breast
A-375	Human	Melanoma	MDA-MB-231	Human	Mammary gland
BaF/3	Mouse	Pre-B cells	MIA PaCa-2	Human	Pancreas
Beta-TC-6	Mouse	Pancreas	Nasal epithelia	Human	Primary nasal scraping
Primary cells	Mouse	Bone marrow	NCH421K	Human	Glioma/glioblastoma
Primary cells	Mouse	Cardiomyocyte (adult)	Neurons	Mouse	Fresh dissection
CHO	Hamster	Ovary	Nuclei	Human	Frozen lung tumor frozen breast cancer
ESC; Differentiated ESC	Mouse	Embryonic stem cells	PBMCs	Human	Blood
Ear	Mouse	Inner ear organs	Planaria SC	Planarium	Stem cells
Primary cells	Mouse	Embryos	Retina	Mouse	Primary cells
FACS-sorted lymphocytes	Human	Bone marrow	Scheider S2	Drosophila	Embryo
Fetal cortex	Human	Primary cells	SK-BR3	Human	Breast
Fetal neurons	Human	Fetal brain	Skin	Zebrafish	Skin
Gut cells	Mosquito	Gut	Spheroids	Human	MCF10CA-derived
H2452	Human	Lung	U-87-MG	Human	Glioblastoma; astrocytoma
HCT 116	Human	Colon	UTHSC	Human	Bone marrow-EW 8 Ewing Sarcoma
HSPC	Mouse	Hematopoietic stem cells	Z-138	Human	B-cell lymphoma

SMARTer ICELL8 cx系统可以分离各种大小的细胞样品

上表是SMARTer ICELL8系统分离过的细胞种类示例。以蓝色显示的样品是SMARTer ICELL8系统中首次成功分离的单细胞、细胞核和细胞球。

Application

使用ICELL8分选抗体染色后的细胞

采用外周血单核细胞 (PBMC) 进行CD45 · CD3阳性细胞选择实验

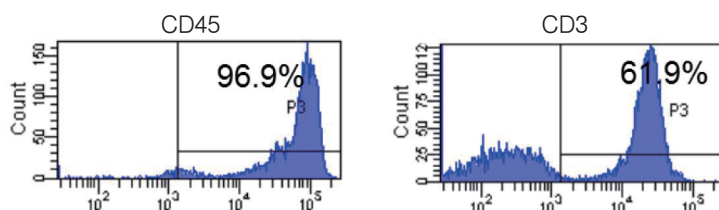
通过SMARTer ICELL8成像系统功能，结合荧光抗体检测表达特定膜表面蛋白质的细胞。使用SMARTer ICELL8检测经过CD45-BV421、CD45-PE-CF594、CD3-BV421的人PBMC，分选出表达特定蛋白质的细胞。

< PBMC样品染色条件和ICELL8检测到的细胞数 >

染色条件	细胞	蓝色荧光	检出细胞数	红色荧光	检出细胞数
1	PBMC	Hoechst	310	CD45-PE-CF594	343
2	PBMC	CD45-BV421	335	PI	8
3	PBMC	CD3-BV421	176	PI	8

染色条件1和2中CD45检测到的细胞数量约为340，这与染色条件1中Hoechst检测到的细胞数310（被认为是总细胞数）比较接近。该结果也与FCM中的CD45阳性率（约97%）一致。在染色条件3中，CD3的检测细胞数为176（约占细胞总数的57%），接近FCM中CD3 61.3%的阳性率。

这些结果表明PBMC可以通过使用蓝色荧光BV421标记的抗体和红色荧光PE-CF594标记的抗体染色，结合SMARTer ICELL8来分选出表达特定蛋白质的细胞。



SMARTer™ ICELL8® cx Single-Cell System



系统构成

- SMARTer ICELL8 cx系统主机
- Chip Cyclor
- CellSelect Software

规格

SMARTer ICELL8 cx系统主机	
大小 (长×宽×高)	107 cm × 56 cm × 56cm
重量	79.4 kg
电源	100–240 VAC, 50/60 Hz
Chip Cyclor	
大小 (长×宽×高)	26 cm × 34.5 cm × 26 cm
电源	100–240 VAC, 50/60 Hz

产品名称		包装量	Code No.	价格
仪器	SMARTer™ ICELL8® cx Single-Cell System	一套	640188	询价
消耗品	SMARTer™ ICELL8® cx Blank Chip – 250 nl FB	1 Chip	640193	
	SMARTer® ICELL8® Blank Chip Reagent Kit	1 Kit	640196	
	SMARTer™ ICELL8® 384-Well Source Plate and Seal	5 Set	640192	
	SMARTer™ ICELL8® Collection Kit	1 Kit	640048	
	SMARTer™ ICELL8® cx Loading Kit	1 Kit	640197	

注：文中涉及实验数据及图片均来自于Takara Bio Inc.

参考文献

High-throughput chromatin accessibility profiling at single-cell resolution

Anja Mezger, Sandy Klemm, Ishminder Mann, Kara Brower, Alain Mir, Magnolia Bostick, Andrew Farmer, Polly Fordyce¹, Sten Linnarsson, William Greenleaf
bioRxiv preprint first posted online Apr. 28, 2018

Nanogrid single-nucleus RNA sequencing reveals phenotypic diversity in breast cancer

Gao R, Kim C, Sei E, Foukakis T, Crosetto N, Chan LK, Srinivasan M, Zhang H, Meric-Bernstam F, Navin N
Nat Commun. 2017 Aug 9; **8**(1):228

pheno-seq-linking 3D phenotypes of clonal tumor spheroids to gene expression

Stephan Marius Tirier, Jeongbin Park, Friedrich Preusser, Lisa Amrhein, Zuguang Gu, Simon Steiger, Jan-Philipp Mallm, Marcel Waschow, Bjoern Eismann, Marta Gut, Ivo Glynne Gut, Karsten Rippe, Matthias Schlesner, Fabian Theis, Christiane Fuchs, Claudia R. Ball, Hanno Glimm, Roland Eils, Christian Conrad
bioRxiv preprint first posted online May. 1, 2018

- 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。
- 专利许可及注册商标信息请在网站上确认：<http://www.takarabio.com/>。
- 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。
- 本宣传页上记载的产品信息是2018年9月1日的信息，最新信息请参考公司官网。

Ver.1 2018年9月制作