

2種類のシングルセル解析システム

BD Rhapsody[™] シングルセル解析システム BD Rhapsody[™] Expressシングルセル解析システム



細胞にやさしいマイクロウェル単離技術を用いて 再現性の高い解析を可能にするハイスループットシステム

BD Rhapsody™ シングルセル解析システムは、1細胞をカートリッジのマイクロウェルに封入し、個々の細胞へ識別バーコード配列を付加します。それにより、多くの細胞を一度に処理することが可能になります。細胞ごとに NGS 解析用のライブラリーを調整し、得られたシーケンスデータから、各バーコードをもとにシングルセル解析をしていただけます。

貴重なサンプルだからこそ、BD Rhapsody™システムを



細胞にやさしい マイクロウェルテクノロジー

- 流路の詰まりによるサンプルロスがない
- 電源不要で、場所を選ばず実験可能
- 細胞混濁液ロード量 575 uL



確実なシングルセル解析を 可能にする ビジュアル QC スキャナー

各実験ステップを確認しながら 慎重に失敗のないシングルセル解析



の 細胞捕捉率



低マルチプレット率

2-3% @ 10,000 細胞ロード8-10% @ 40,000 細胞ロード



広範囲の細胞数に対応

1カートリッジで処理可能な細胞数

100-40,000個









取扱いが難しい細胞の捕捉

顆粒球、好中球、CAR-T 細胞、腫瘍異種移植片由来細胞、 骨髄腫細胞、T 細胞、NK 細胞など各種の細胞に対応

少ないバッチ間差*

サンプル種、実験場所、実験者間差なく 信頼性の高いデータを可能にするシステム



フローサイトメトリーデータとの

高い相関性

ナナナナ

信頼性の高い BD 抗体を フローサイトメトリーと シングルセルマルチオミックス解析に使用



ビーズの有効活用

様々な実験系に柔軟に対応し、データの信頼性確認や、共同研究にも有用

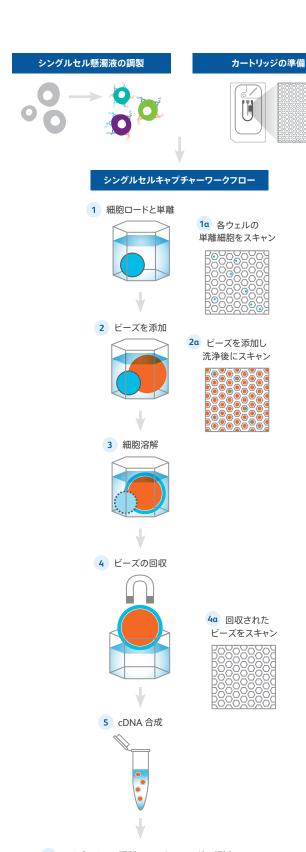


ビーズの安定性

cDNA 結合磁気ビーズは最大 12 週間 4℃で保存可能で、柔軟な実験計画が立てられます

^{*} 結果の信頼性は、サンプルの種類や実験条件によって異なります。

シングルセル実験を成功に導くシームレスなワークフロー



6 ライブラリーの調製、シーケンシング、解析

シングルセル懸濁液の調製

BD® Single-Cell Multiplexing Kit や BD® AbSeq Ab-Oligos 抗体を用いて細胞を染色

カートリッジの準備

• オート ピペットでカートリッジをプライミング

シングルセルキャプチャーワークフロー

1 細胞ロードと単離

- 細胞懸濁液 575 μL をロード
- マイクロ流路方式ではないため、目詰まりの心配はいりません
- 重力を利用した細胞に優しい調整のため、取扱いの難しい細胞の捕捉が可能
- BD Rhapsody™ Cartridge は >220,000 個のパーティション (ウェル) から成っており、最大 40,000 個の細胞を低マルチ プレット率で捕捉

10 ロード細胞のスキャン

• 捕捉された生細胞数と細胞のマルチプレット率を確認

2 ビーズの添加

マイクロウェルサイズと形状により、1つのビーズが1つのウェルに入るようになっています

2α ビーズの添加・洗浄後のスキャン

- 生細胞とビーズが 1 個ずつ入ったウェルの数を確認
- 洗浄による細胞状態を評価して細胞保持率を測定

3 細胞溶解

• 強力な溶解バッファーによるより確実な細胞溶解

4 ビーズの回収

• シンプルで効率的な磁気によるビーズ回収

4α ビーズ回収状況のスキャン

• ビーズが完全に回収されたことを確認

5 cDNA 合成

- 複数回のビーズ洗浄により不純物を除去することで、より効果 的な転写反応が可能
- ビーズは、実験の柔軟性をさらに向上させるために一時的な 保管や分注して小分け使用が可能

6 ライブラリーの調製、シーケンシング、解析

BD Rhapsody™ Analysis Pipelines や SeqGeq™ Software などのバイオインフォマティクスツールから成る、シングルセル解析の包括的ソリューション

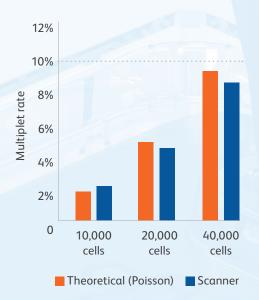
細胞ロード数に依存しない細胞の高捕捉率と 低マルチプレット率 ^{1,2}

必要な細胞数	ロード後の生細胞数 **	ウェル内でビーズに 捕捉される生細胞数	捕捉率
40,000 *	52,352	43,432	0.83
20,000 *	26,176	22,949	0.88
10,000 *	13,088	11,789	0.90

^{*} PBMC、Jurkat、Ramos、THP1 各細胞の混合

図 2. PBMC、Jurkat、Ramos、THP1 の各細胞が混ざったサンプルから、10,000 個、20,000 個、および 40,000 個の細胞をカートリッジにロード

ロード細胞数がこれらいずれの場合でも、細胞の捕捉率は高く、マルチプレット率は低かった。これらの値は細胞の種類や単離方法によって変わる可能性があります。



異なるサイズや形態の細胞をバイアス無く忠実に補足¹

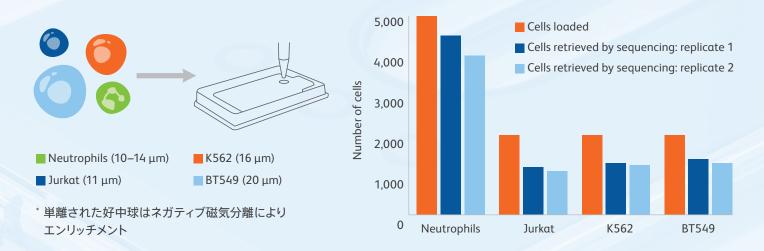


図 3. 好中球と共に、大、中、小サイズの細胞を事前に設定した細胞数比率でカートリッジにロード (細胞ロード総数 11,000 個、好中球: Jurkat: K562BT549 = 2.5:1:1:1) 回収された細胞について、シーケンシングにより細胞種を確認し、それぞれの細胞数を比較した結果、サイズが様々に異なる場合においても、好中球を含む各種細胞数比率はカートリッジにロードした最初の細胞数比率と変わらなかった。このことは、細胞はそのサイズや形態に依らず、確実に捕捉されることを示唆している。

References:

- 1. 社内資料 (BD Rhapsody™ Single Cell Analysis System A robust microwell based single cell partitioning system for high dimensional biology research) https://scomix.bd.com/hc/en-us/articles/360033294972-Single-Cell-Multiomics-Presentations
- 2. 社内資料 (BD Rhapsody™ Express Single-Cell Analysis System Instrument User Guide) https://scomix.bd.com/hc/en-us/articles/360023044392-Instrument-Guides

^{**} BD Rhapsody™ Scanner ヘモサイトメーターによる細胞カウント

ビジュアルワークフロー QC で再現性の高い シングルセル実験を

BD Rhapsody™ Scanner は、細胞の捕捉率やマルチプレット率など、ワークフローの各ステップにおいて、直接的なイメージングによる実験の品質管理手段として用いることができます。スキャナーのメトリクスにより、細胞の品質やカートリッジ内でのシングルセル化プロセスが問題なく進んでいることを確認できます。溶解処理されるまでの細胞の生細胞数の割合を評価し、シーケンシング結果に基づく回収可能な細胞数について、信頼できる予測値が得られます。この情報により、下流での高額なシーケンシングを実施する前に、必要に応じて実験の方向性を変更することができ、また問題への対応も可能になります。スキャナーのメトリクスにより、ワークフローの状況を追跡し、さらに研究施設間で互いに実験結果を確認することも可能です。

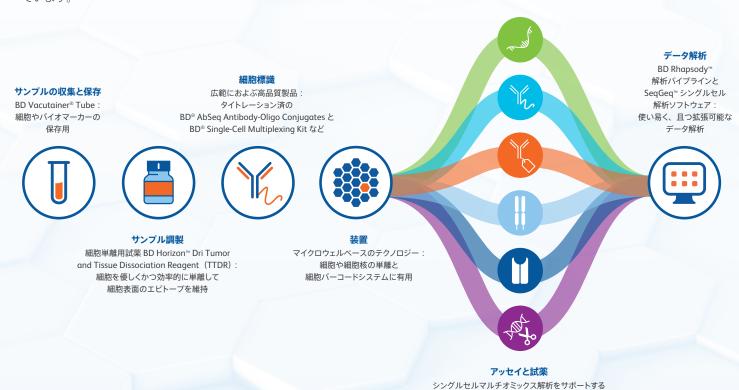


図 4. シーケンシング前のシングルセルキャプチャーを評価

シングルセルワークフローの実施に際し、組織サンプルを処理してシングルセル懸濁液に調製。シングルセル調製法の効率について、生細胞数の割合、マルチプレット率、および 保持率は、BD Rhapsody™ Scanner を用いることで大規模なシーケンシングに要する時間とコストを負担することなく、迅速に評価することが可能。

フローサイトメトリーで培った BD 抗体技術を生かした 包括的シングルセル・マルチオミックス・ソリューション

BD は、細胞のマルチプレックス化や標識に必要な試薬から、アプリケーション試薬やデータ解析用ソフトウェア、簡素化されたプロトコール、さらには技術的サポートに至るまで、シングルセルのマルチオミックス解析をサポートするために必要なツールを包括的に提供しています。



最適化された試薬と 専門的技術知識に基づく サポート

BD Rhapsody™システムに使用する試薬類は、併用できるようにデザインされており、検証されています。これにより、マルチオミックス解析において、サンプル調製で生じる可能性のある技術的問題を最小限におさえ、研究本来の生物学的問題への取組みに専念することができます。

このため、得られるデータには整合性があり、試験結果をすぐに構築することができます。これにより、生物学的システムに対する理解を迅速に拡張させることが可能になります。

BD は、お客様のシングルセル解析をさらにサポートするために、今後も、アッセイ製品や試薬類を開発し拡張していきます。また、マルチオミックス解析に関する様々な疑問や質問に対し、専門的技術知識でお客様をサポートします。



ターゲット遺伝子解析 / 全トランスクリプトーム解析

包括的な試薬ラインアップ: 細胞のバーコード化から シーケンシング用ライブラリー調製まで



タンパク質発現解析



サンプル・マルチプレックス



TCR/BCR レパトア解析



抗原特異的 T細胞の特定



CRISPR スクリーニング

BDトータルワークフローのご提案: BDフローサイトメトリー技術と BD Rhapsody[™] システムを 組み合わせて効率的かつ確実なシングルセル解析を

BD バイオサイエンスのフローサイトメトリー装置は、過去 45 年間に亘り、お客様のフローサイトメトリー解析をサポートしてまいりました。BD Rhapsody™ システムは、研究者のさらなるニーズに応えるようデザインされており、シングルセルレベルでの数千種類におよぶ遺伝子とタンパク質の同時解析を可能にします。

BD セルアナライザーは、ハイパラメーターのフローサイトメトリーパネルにより細胞集団の特性を識別します。次に、この同じパネルを BD セルソータに転送します。

BD セルソータは、識別された細胞集団から目的の細胞亜集団をソーティングします。次に、細胞標識で用いた抗体と同じ抗体を用いて BD Rhapsody™ システムによる解析に進みます。

BD Rhapsody™システムは、ソートされた細胞亜集団について、詳細なマルチオミックス解析を行います。

ワークフローの各ステップで使用する装置が互いにリンクしていることで、これら一連の BD プラットフォーム間でデータがシームレスに利用されます。



BD Rhapsody[™] System

BD Rhapsody™ Scanner あり

カタログ番号	製品名	構成内容
633701	BD Rhapsody™ Scanner シングルセル解析システム	 BD Rhapsody™ Scanner BD Rhaspody™ Pipetter (P1200M, P5000M) Hemocytometer Adapter
633702	BD Rhapsody™ Express シングルセル解析システム (Scanner 付属専用)	● BD Rhapsody™ Express 注: CAT#633701 BD Rhapsody™ Scannerと一緒にご購入ください。

BD Rhapsody™ Scanner なし

カタログ番号	製品名	構成内容
633707	BD Rhapsody™ Express シングルセル解析システム	BD Rhapsody™ ExpressBD Rhaspody™ Pipetter (P1200M, P5000M)

BD Rhapsody[™] 関連試薬

カタログ番号	製品名	入数
665913	BD Rhapsody™ Targeted mRNA and AbSeq Reagent Kit	4 回分
	664887, 633733, 633773, 633774 を各 1 キット含みます	
665915	BD Rhapsody™ WTA Reagent Kit	4 回分
	664887, 633733, 633773, 633801 を各 1 キット含みます	
665828	BD Rhapsody™ TCR/BCR Multiomic Assay for Targeted	4 回分
	664887, 633733, 633773, 633774, 665345 を各 1 キット含みます	
665829	BD Rhapsody™ TCR/BCR Multiomic Assay for WTA	4 回分
	664887, 633733, 633773, 633801, 665345 を各 1 キット含みます	
664887	BD Rhapsody™ Enhanced Cartridge Reagent Kit	4 回分
633733	Rhapsody Cartridge Kit	4枚
633773	Rhapsody cDNA Kit	4 回分
633774	Rhapsody Targeted mRNA & AbSeq Amp Kit	4 回分
633801	BD Rhapsody WTA Amplification Kit	4 回分
665345	BD Rhapsody TCR/BCR Amplification Kit	4 回分

BD Rhapsody™ 用カタログパネル

カタログ番号	製品名		入数
633750	BD Rhapsody™ Immune Response Panel Hs	ヒト免疫遺伝子用パネル(399 遺伝子)	4 回分
633751	BD Rhapsody™ T Cell Expression Panel Hs	ヒトT細胞遺伝子用パネル(259 遺伝子)	4 回分
633752	BD Rhapsody™ Onco-BC Panel Hs	乳がん遺伝子用パネル(389 遺伝子)	4 回分
633753	BD Rhapsody™ Immune Response Panel Mm	マウス免疫遺伝子用パネル(397 遺伝子)	4 回分

BD Rhapsody[™] サンプルマルチプレックス用試薬

カタログ番号	製品名	入数
633781	BD® Human Single-Cell Multiplexing Kit	12 Tags
633793	BD® Mouse Immune Single-Cell Multiplexing Kit(CD45)	12 Tags
626545	BD® Mouse Immune Single-Cell Multiplexing Kit (MHC H2 Class I)	12 Tags

BD° AbSeq 抗体パネル 詳細は BD° パネル製品リストをご確認ください。

カタログ番号	製品名	入数
625970	BD® AbSeq Human Immune Discovery Panel(30 マーカー)	5 Tests

BD flow cytometers are Class I Laser Products.

For Research Use Only. Not for use in diagnostic or therapeutic procedures.

日本ベクトン・ディッキンソン株式会社

本社:〒107-0052 東京都港区赤坂4-15-1 赤坂ガーデンシティ カスタマーサービス **☎** 0120-8555-90 FAX:024-593-3281 (ご注文・納期・資料請求)

機器のトラブルに関するサポート

55 0120-7099-12



