Москва / 29-30 ноября / 2024
III КОНФЕРЕНЦИЯ ПО ОНКОЭНДОКРИНОЛОГИИ
И АУТОИММУННЫМ ЭНДОКРИННЫМ ЗАБОЛЕВАНИЯМ

Авторы: Трофимов В.В., Попов С.В.
ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России, Москва

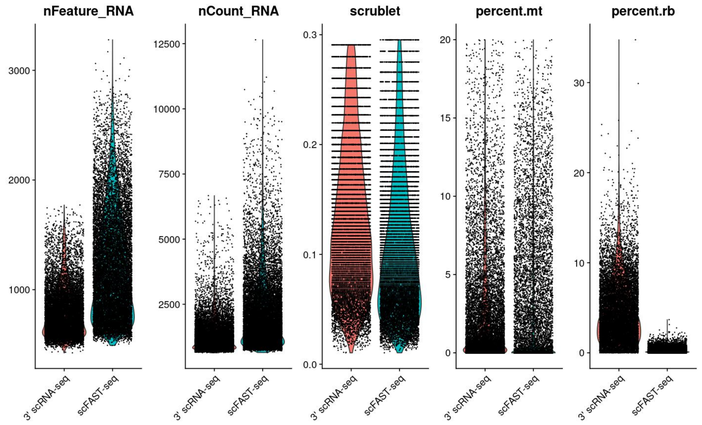
scFAST-seq раскрывает широкое разнообразие транскриптов, событий CNV и регуляторной активности в адренокортикальной опухоли

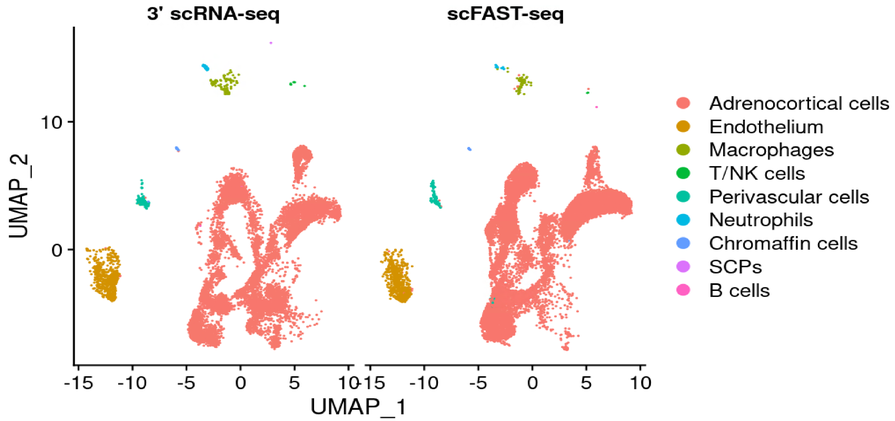
ВВЕДЕНИЕ

Одноклеточное секвенирование РНК (scRNAseq) представляет собой технологию, позволяющую анализировать экспрессию генов на уровне отдельных клеток. В числе методов подготовки ДНК библиотек часто используется капельная микрофлюидика. 10x Genomics 3' scRNA-seq считается одним из ведущих подходов в этой области. SeekOne DD scFAST-seq от Beijing SeekGene применяет полуслучайные праймеры, что обеспечивает преимущества в обнаружении транскриптов, включая неполиаденилированные транскрипты и участки, расположенные далеко от полиаденилированного хвоста РНК. Внедрение новых стратегий в scRNA-seq открывает новые возможности для исследований, включая изучение свойств аденокортикальных опухолей. Это исследование сосредоточено на анализе биологических характеристик образцов аденокортикальных опухолей с сравнением методик 3' scRNA-seq 10x Genomics и scFAST-seq от SeekOne.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Данное исследование было направлено на изучение биологических свойств образцов аденокортикальных опухолей путем сравнения методологии 3' scRNA-seq 10x Genomics и техники scFAST-seq от SeekOne биоинформатическими методами. Предварительно была проведена процедура экстракции адренокортикальной опухоли, получены ДНК библиотеки на основе транксприптомов отдельных клеток методами 3’ scRNA-seq и scFAST-seq, после чего было проведено секвенирование на базе платформы Illumina. Был осуществлен сравнительных анализ данных с сопоставлением ключевых характеристик, таких как параметры секвенирования, фильтрация данных, выявление клеточных подтипов, анализ регулонов, анализ вариации копий генов.





КОНТАКТЫ. Трофимов Валентин Викторович, биоинформатик Лаборатории Общей, Молекулярной и Популяционной Генетики, ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России, Москва, Россия.
Телефон: +7 (989)-122-31-66
E-mail: trofimov.valentin@endocrincentr.ru

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В ходе работы использовались биоинформатические инструменты, такие как Seurat, CellRanger, Seeksoultools, Numbat, Velocito.R, SCENIC. ДНК библиотеки образцов ткани адренокортикальной опухоли надпочечников были подготовлены с применением Chromium Next GEM Single Cell 3'GEM, Library & Gel Bead Kit v3.1, V1.1-SeekOne DD Single Cell Full-length RNA Sequence Transcriptome-seq Kit и отсеквенированы на платформе Illumina NGS.

	scFAST-seq	3’ scRNA-seq
Число клеток	19,337	21,443
Среднее прочтений на клетку	144,609	9,015
Медиана генов на клетку	1358	848
Фракция прочтений в клетках	91.27%	76,00%
Медиана UMI каунтов на клетку	2,169	1,254
Общее число генов	30,664	26,350
Число прочтений	2,796,318,616	193,304,592
Валидные баркоды	89.18%	97,70%
Картированные на геном прочтения	89.43%	96.60%
Прочтения интергенных участков	11.00%	9,90%
Прочтения картированных интронов	40.77%	40,80%
Прочтения картированных экзонов	34.03%	38,90%

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По итогам сравнительного анализа сделан вывод, что scFAST-seq (SeekGene) предоставляет наборы данных, качество которых сопоставимо с набором данных 3’ scRNA-seq (10x Genomics) для выявления биологических характеристик транскриптомов отдельных клеток и обладает высоким потенциалом в некоторых аспектах анализа транскриптома. Это связано с тем, что метод предоставляет дополнительную информацию о участках РНК, отдалённых от поли-А последовательности.