

Folleto Multimiomics y Reactivos TotalSeq™

Soluciones integrales para descubrir que hace
cada célula única





Multimomics ha transformado los experimentos de secuenciación tradicionales al proporcionar análisis genéticos y de proteínas simultáneos a una profundidad incomparable. Ofrecemos una biblioteca completa de productos, que incluye anticuerpos, paneles y hashtags celulares para el multiplexing de muestras para permitir la detección de proteínas mediante secuenciación. Explore las capacidades de los reactivos TotalSeq™ y vea cómo se integran a la perfección en flujos de trabajo nuevos y existentes para descubrir qué hace cada célula única.



Tabla de contenidos

Detección de ARN y proteínas de célula única	4
Generación simultánea de datos de Multiómica	5
Formatos de anticuerpos para análisis de proteínas y de ARN de célula única	6
Multiplexing de Muestras o Hashtags	8
Formatos de Hashtags y Consideraciones	9
Fragmentación nuclear	9
Cócteles de anticuerpos	10
Cócteles universales	12
Cócteles TBNK	13
Software de Análisis de Multiómica (MAS)	14
Secuenciación en masa de epítipo y ácido nucleico (BEN-seq)	17
Detección de proteínas y ADN de célula única	20
Cócteles universales	22
Recursos	24
Videos y Seminarios	25
Blogs y Artículos	25
eBook y Notas de Aplicación	25
Publicaciones destacadas	25

Detección de ARN y proteínas de célula única

Los anticuerpos oligo-conjugados TotalSeq™ permiten la medición de proteínas a nivel de una sola célula en aplicaciones que integran la detección simultánea de ácidos nucleicos y proteínas, como CITE-Seq o REAP-Seq. Se integran a la perfección en los flujos de trabajo de secuenciación de ARN de célula única existentes, incluyendo los métodos de captura que usan la hibridación poli(dT) – ARNm poli(A), así como los flujos de trabajo disponibles en 10x Genomics.

Generación simultánea de datos de Multiómica

Aumentan el poder de los experimentos de célula única combinando datos proteómicos y transcriptómicos.

Tasas de error reducidas

Las colas de anticuerpos derivados de TotalSeq™ no son propensos a tasas de error.

Agrupamiento celular e identificación mejorados:

Algunas moléculas de ARN se expresan a niveles bajos o las variantes son difíciles de detectar a nivel de ARN, como CD54A y CD54RO. El uso de anticuerpos TotalSeq™ supera estas limitaciones lo que proporciona una mejor identificación celular.

Detección ultra-alta de parámetros de proteínas:

Detecta proteínas en una escala paralela de manera masiva mediante el multiplexing con 100 o más anticuerpos en un único experimento.

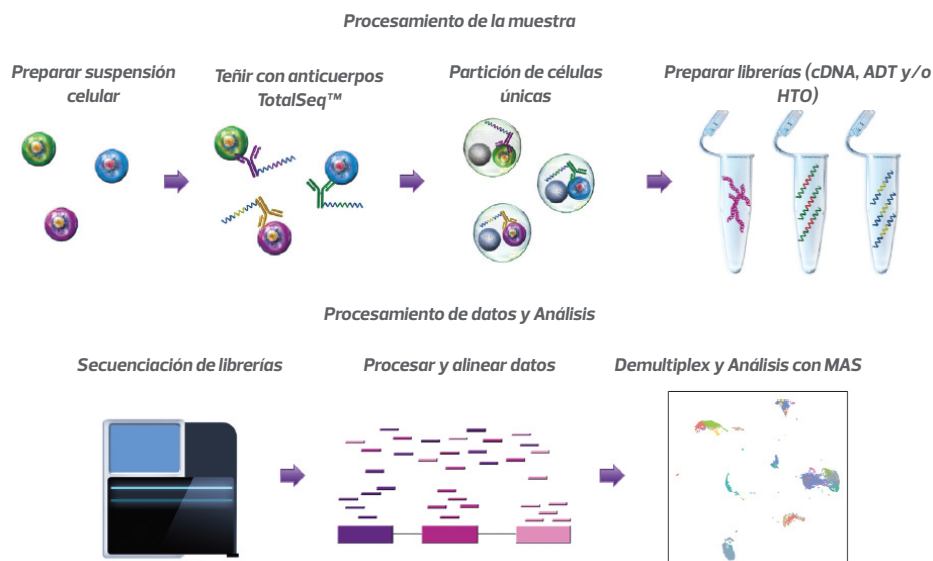
Mayor eficacia:

Combina fácilmente varias muestras con nuestros anticuerpos celulares de fragmentación para mejorar los flujos de trabajo y reducir el coste experimental.

Diversas aplicaciones:

Con una amplia gama de dianas humanas y de ratón disponibles, puede usar los anticuerpos TotalSeq™ en una variedad de áreas de investigación, que incluyen:

- Medicina personalizada o de precisión
- Investigación sobre el cáncer
- Investigación con células madre
- Inmunología básica y aplicada
- Descubrimiento de biomarcadores
- Caracterización de tipos celulares nuevos escasos
- Neuroinmunología
- Investigación sobre vacunas



Flujo de trabajo simultáneo de detección de proteínas y ARN de célula única

Más información: biolegend.com/en-us/totalseq/single-cell-rna

Formatos de anticuerpos para análisis de ARN y proteínas de célula única

Aprovechando nuestra cartera de clones de anticuerpos de confianza, ofrecemos la mayor selección de anticuerpos con oligo-secuencias específicas de la región variable del anticuerpo. Los anticuerpos están disponibles en múltiples formatos para que pueda diseñar experimentos personalizados para responder a sus preguntas de investigaciones exclusivas.

Cada anticuerpo TotalSeq™ está conjugado con un oligonucleótido único que contiene un/a:

1. Secuencia de captura
2. Secuencia con secuencia específica de la región variable del anticuerpo (Antibody Barcode) específica de clon.
3. Molde para PCR (PCR Handle) compatible con reactivos e instrumentos de secuenciación Illumina®.

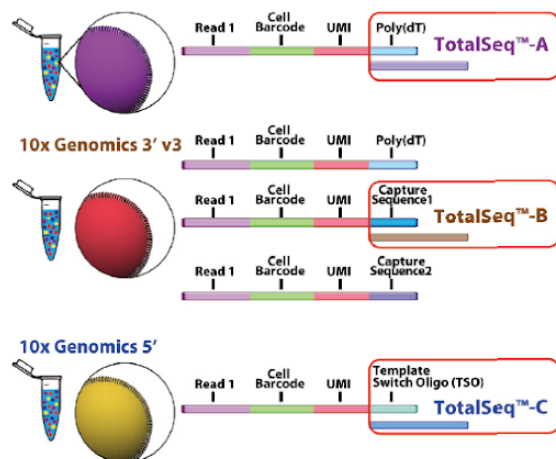
El oligonucleótido TotalSeq™ que está conjugado con nuestros anticuerpos también se denomina cola derivada de anticuerpo (ADT) o un oligonucleótido hashtag (HTO) dependiendo de la aplicación y el uso.

TotalSeq™-A: Diseñado para funcionar con cualquier plataforma de secuenciación que se base en oligonucleótidos poli(dT) como el método de captura del ARNm. Los anticuerpos TotalSeq™-A contienen una secuencia poli(A) que imita a un ARNm natural.

TotalSeq™-B: La secuencia de captura es compatible con el kit de la solución 3 de expresión de célula única de cromó de 10x Genomics con tecnología Feature Barcode (v3 o posterior).

TotalSeq™-C: La secuencia de captura es compatible con el kit de la solución 5 de perfiles inmunológicos de célula única de cromó de 10x Genomics que permite la creación de perfiles del repertorio inmunológico de los receptores de células T y B con una resolución de célula única.

Sistema basado en poli(dT)



Compare y contraste formatos de anticuerpos

	TotalSeq™-A	TotalSeq™-B	TotalSeq™-C
Compatibilidad con plataforma de célula única 10x Genomics	Solución de expresión génica de célula única (3', v2 o posterior) y cualquier sistema que emplee el método de captura de cola poli(A)	Solución de expresión génica de célula única (3', v3 o posterior) con tecnología Feature Barcoding y software de análisis de datos de 10x Genomics1	Solución de perfiles inmunológicos de célula única (5') con tecnología Feature Barcoding y software de análisis de datos de 10x Genomics
Molde para PCR	CCTTGGCACCCGAGAAT TCCA	GTGACTGGAGTTCAGACGTG TGCTCTCCGATCTNNNNNN NNNN2	CGGAGATGTGTATAAGA GACAGNNNNNNNNNN
Secuencia de captura	Poli-A[(A)30*A*3]	NNNNNNNNNGCTTTAAGGC CGGTCCTAGC*A*A4	NNNNNNNNNCCCATATA AGA*A*A4
Compatibilidad de secuenciación de última generación	Compatible con instrumentos Illumina	Compatible con instrumentos Illumina	Compatible con instrumentos Illumina

1. El software de análisis de datos de 10x Genomics no admite el análisis de fragmentación de célula colaboradora.

2. N representa secuencias de nucleótidos cortas aleatorias que evitan los sesgos de amplificación.

3. El símbolo * indica un enlace fósforo tioado. Este se añade para prevenir la degradación por nucleasas.

4. Estas secuencias son exclusivas de los conjugados TotalSeq™-B y -C y se desarrollaron independientemente de los reactivos usados por los investigadores del New York Genome Center (NYGC, CITE-seq.com). TotalSeq™-B, -C y los anticuerpos usados por NYGC son todos compatibles con las soluciones de 10x Genomics, aunque utilizan diferentes oligo secuencias. Como tal, los protocolos y reactivos adicionales, que incluyen los cebadores requeridos, difieren entre los formatos de anticuerpos. Por favor, consulte nuestros protocolos cuando use los reactivos TotalSeq™

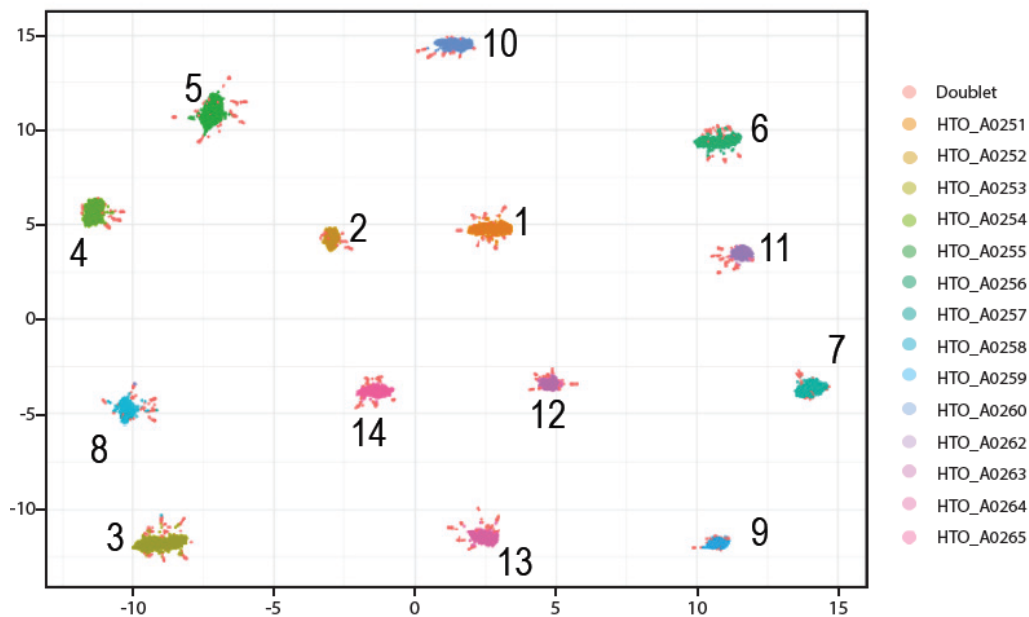
Multiplexing de muestras o Hashtags

Fragmentación celular

Pruebe uno de nuestros reactivos hashtag para agrupar múltiples muestras antes de cargarlas en una plataforma capaz de aislar una célula única. Cada reactivo hashtag listo para usar contiene un conjunto de anticuerpos diseñados para reconocer marcadores de superficie celular expresados de manera ubicua y que está conjugado con una secuencia específica de la región variable del anticuerpo única. Para muestras humanas, nuestros reactivos hashtag reconocen CD298 y $\beta 2$ -Microglobulina, y para muestras de ratón, los anticuerpos hashtag reconocen CD45 y MHC de Clase I H-2.

Beneficios de usar fragmentación celular:

- Identificación robusta de multipletes
- Minimiza la variabilidad y reduce los efectos del lote entre muestras.
- Recoge muestras más pequeñas para alcanzar un número mínimo de células.
- Optimiza el coste experimental.



Se tiñeron por separado células PBMCs humanas de un único donante con 14 Hashtags TotalSeq™-A y se recogieron en una única muestra. Las muestras se sometieron luego a CITE-seq usando el kit 3' de expresión celular de célula única de chromo de 10x Genomics v3.1. Las coordenadas UMAP se generaron usando una matriz de recuento UMI transformada asinh. Se usó la misma matriz para de-multiplexar con el algoritmo DemuxEM, y los resultados se usaron para colorear los agrupamientos celulares en el gráfico UMAP.

Formatos Hashtag y Consideraciones

Ofrecemos reactivos hashtag en nuestros formatos TotalSeq™-A, -B y -C. Los reactivos hashtag de todos los formatos funcionarán de manera similar, aunque el flujo de trabajo y los cebadores requeridos difieren.

Reactivos Hashtag TotalSeq™-A

-anticuerpos de fragmentación, 14 humanos y 15 de ratón disponibles.

-Las librerías con las colas derivadas de anticuerpos (ADT) y las de oligo hashtag (HTO) se construyen de forma independiente lo que puede permitir una mayor optimización de la secuenciación.

Reactivos Hashtag TotalSeq™-B y -C

-anticuerpos de fragmentación, 10 humanos y 10 de ratón disponibles en cada formato. Las librerías con las colas derivadas de anticuerpos (ADT) y las de oligo hashtag (HTO) se construyen juntas como una sola librería.

-Los anticuerpos hashtag se deben titular durante la tinción para optimizar la profundidad de la secuenciación.

Fragmentación nuclear

La ARN-seq de núcleo único hace posible caracterizar los estados celulares y la fisiología en tejidos que son difíciles de disociar. Esto incluye tejidos ricos en ciertos tipos de células como neuronas, adipocitos y células musculares. La ARN-seq de núcleo único también puede ayudar cuando se requiere el almacenamiento de tejido, ya que es difícil recuperar y obtener suspensiones unicelulares a partir del material congelado archivado.

Para recopilar núcleos aislados de diferentes muestras desarrollamos reactivos de fragmentación nucleares. Nuestros anticuerpos hashtag nucleares reconocen una familia de proteínas del complejo de poro nuclear y pueden reaccionar de forma cruzada con una amplia gama de organismos eucariotas, incluidas células humanas, de ratón y de rata, así como con otros modelos animales como *Xenopus* y levadura.

Cócteles de anticuerpos

Examine más de 100 marcadores de superficie celular en un solo experimento usando cócteles liofilizados de anticuerpos TotalSeq™ optimizados. Cada tubo de un solo uso contiene una cantidad titulada previamente de cada anticuerpo, lo que elimina la necesidad de una optimización adicional y minimiza la variabilidad entre experimentos.

Beneficios de usar cócteles TotalSeq™:

- Se proporciona en un práctico tubo de un solo uso.
- Menor coste en comparación con la compra de anticuerpos individuales.
- Anticuerpos previamente titulados para un rendimiento óptimo
- Minimiza la variabilidad entre diferentes experimentos, diferentes laboratorios y durante estudios longitudinales.



Cócteles universales

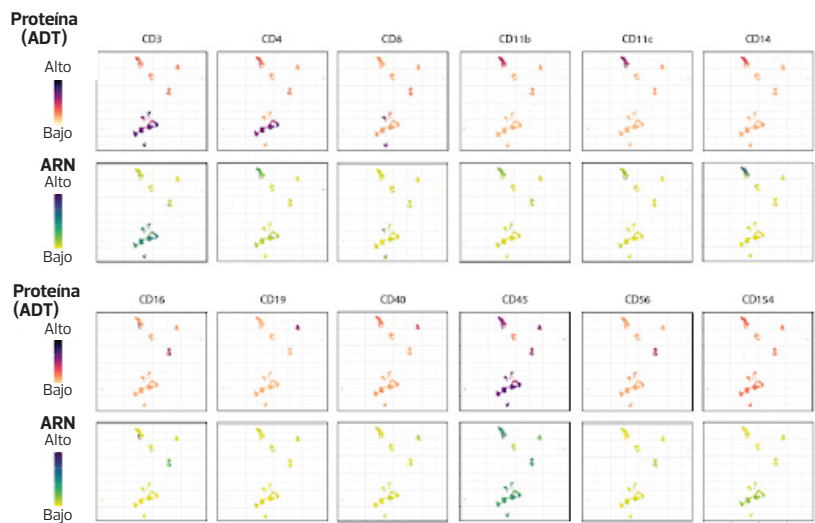
Eche un vistazo más profundo a las células inmunes con nuestros cócteles universales humanos TotalSeq™ disponibles en los formatos TotalSeq™-A y C. Cada cóctel contiene más de 125 anticuerpos y sus controles de isotipo asociados para la detección de proteínas a gran escala. Dentro del cóctel, se ha titulado cada anticuerpo individualmente usando la secuenciación de última generación como una lectura para proporcionar una discriminación óptima de poblaciones celulares positivas y negativas.

Cóctel Universal TotalSeq™-A v1.0

–Compatible con cualquier plataforma de célula única que usa oligonucleótidos poli(dT) como el método de captura de ARNm.
–Contiene 154 anticuerpos primarios y 9 controles de isotipo.
agrupamientos celulares en el gráfico UMAP.

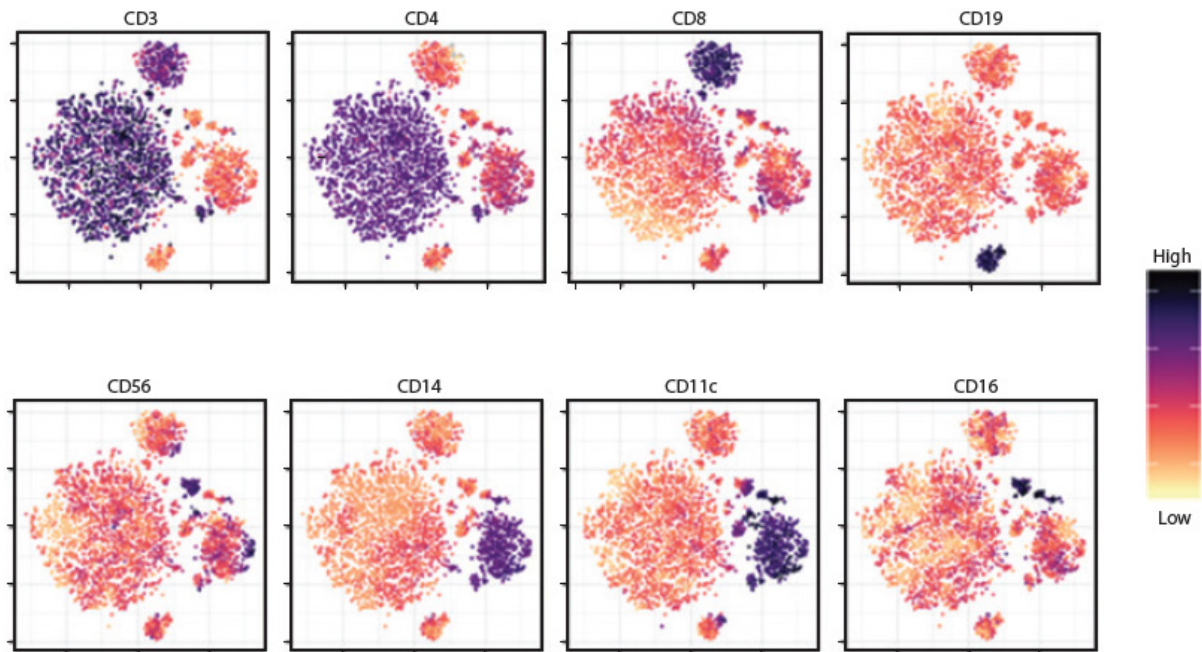
Cóctel Universal TotalSeq™-C v1.0

–Compatible con v1 y v2 Single Cell Immune Profiling Solution de 10x Genomics, lo que permite obtener la expresión de proteínas de superficie celular, la expresión de la transcripción y las secuencias completa de los receptores de células B y T emparejadas.
–Contiene 130 anticuerpos primarios y 7 controles de isotipo.



Cócteles TBNK

Nuestros paneles TBNK están diseñados para identificar células T, B y NK según lo definido mediante la expresión de CD3, CD4, CD8, CD11c, CD14, CD16, CD19, CD45 y CD56. El cóctel TBNK está disponible en los formatos TotalSeq™-A, B o C.



Se tiñeron PBMCs humanas con el panel TotalSeq™ Human TBNK que contenía anticuerpos contra CD3, CD4, CD8, CD19, CD56, CD14, CD11c, CD16 y se procesaron usando el kit con tecnología de secuencia específica de la región variable del anticuerpo de 10x Genomics, Single Cell 3' v3 y secuenciación Illumina. Los datos de recuento de proteína se transformaron y se visualizaron en una proyección UMAP superpuesta con los niveles de expresión de proteína para cada componente del cóctel. Se identificaron los agrupamientos basándose únicamente en la expresión de proteína.

¿Falta un marcador crítico para su estudio? Añada anticuerpos individuales a cualquiera de nuestros paneles para ampliar el panel e incluya los marcadores que necesite. Explore nuestra amplia selección de anticuerpos conjugados individuales para encontrar más dianas

Software de análisis de Multiómica (MAS)

El análisis de los datos de multiómica de célula única requiere a menudo herramientas avanzadas y una amplia experiencia. La capacidad para analizar datos con éxito puede depender de la disponibilidad de recursos y del nivel de comodidad del investigador con la aplicación. Para facilitar el análisis de datos de célula única hemos desarrollado el software de análisis de multiómica (MAS), un programa gratuito basado en la nube para explorar rápida y fácilmente los datos CITE-seq sin necesidad de un profundo conocimiento de bioinformática

Las características del software incluyen:

- Interfaz de usuario simple y fácil de usar.
- Realización de ventanas similar a la citometría de flujo basada en la tinción de anticuerpos TotalSeq™.
- Accesibilidad a través de cualquier navegador web
- Crea gráficos de reducción de dimensionalidad UMAP, tSNE o TriMAP.

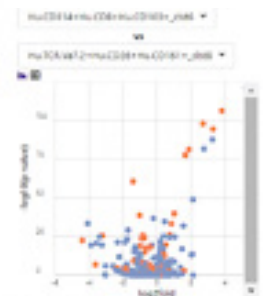
Cree gráficos interactivos para la fácil exploración de los datos de célula única



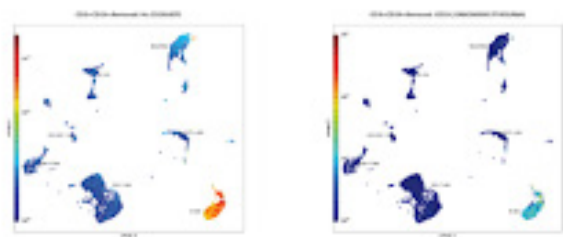
Vea datos de expresión de proteínas y ARN por agrupamiento

Marker	log ₁₀ (log FC)
Hu CD32a	2.289
Hu CD31a	2.081
Hu CD31	1.999
Hu CD317	1.879
Hu CD318	1.872
Hu CD319	1.869
Hu CD319	1.874
Hu CD318	1.482
Hu CD314	1.18

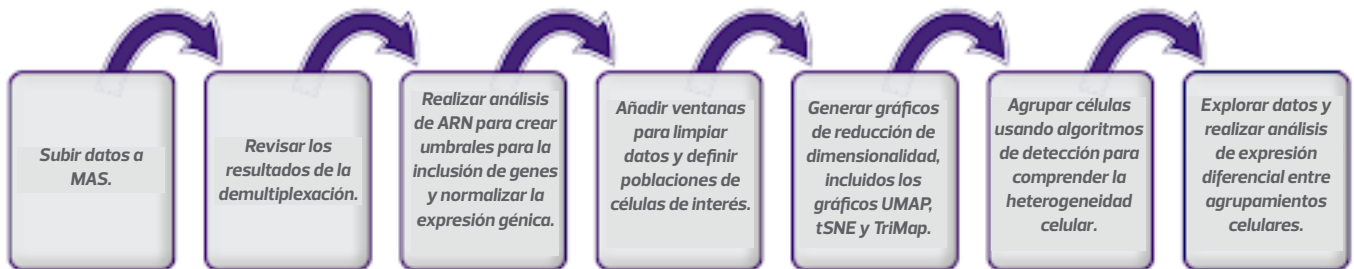
Compare agrupamientos para identificar marcadores de interés



Visualice la expresión de proteína y ARN



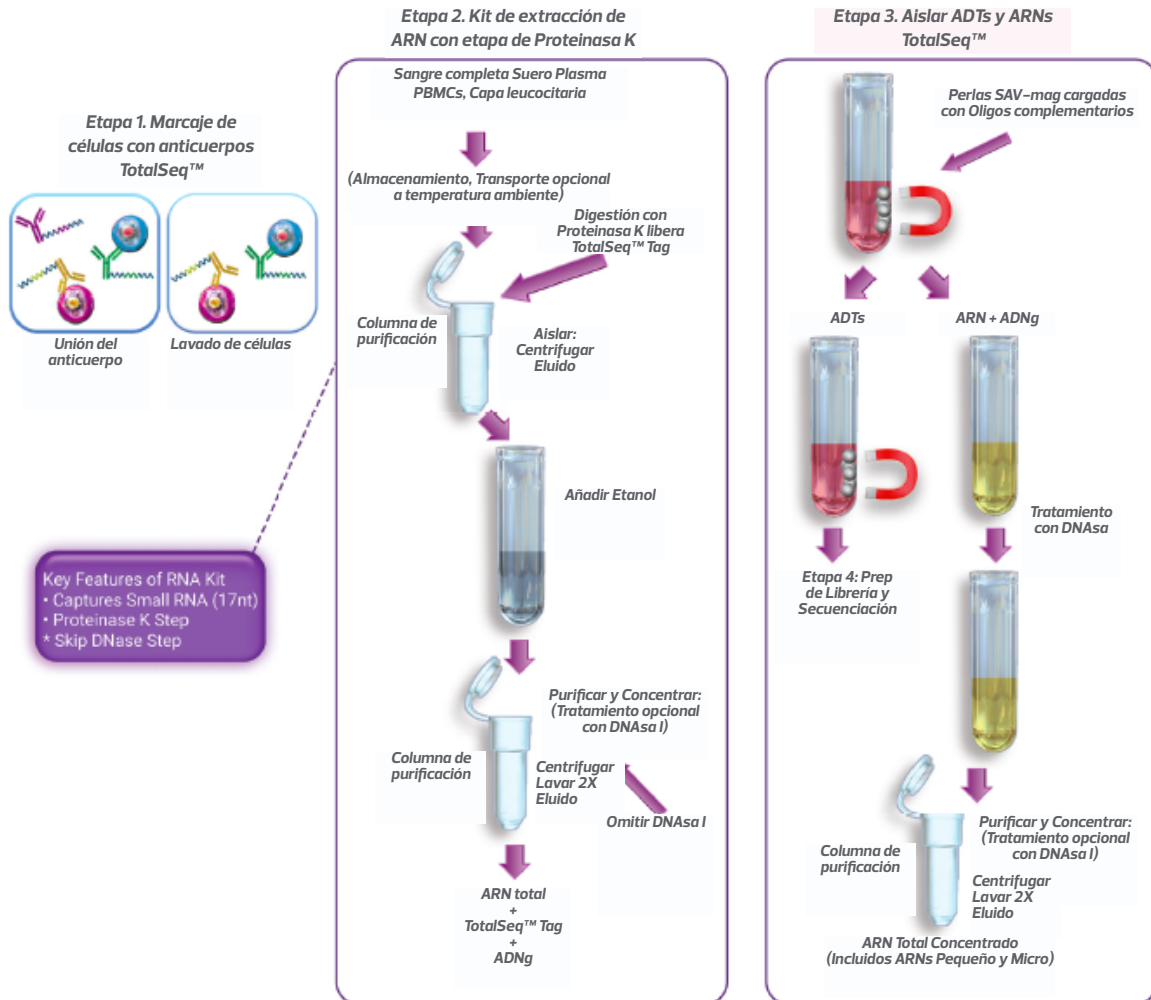
Flujo de trabajo MAS recomendado



Más información: [Más información: biolegend.com/en-us/totalseq/mas](https://biolegend.com/en-us/totalseq/mas)

Secuenciación en masa de epítipo y de ácido nucleico (BEN-Seq)

La secuenciación en masa de ARN se usa comúnmente para analizar la expresión de ARN de una muestra de tejido o población de células heterogéneas. Tradicionalmente, este método ha carecido de la capacidad para medir simultáneamente proteínas o la resolución de detectar más de unas pocas proteínas en un experimento. Si bien los protocolos de secuenciación de célula única se han adaptado para incluir la detección de proteínas mediante secuenciación, no se han desarrollado métodos similares para poblaciones de células completas.



Encuentre los protocolos y descargue una nota de aplicación: [biolegend.com/en-us/totalseq/ben-seq](https://www.biolegend.com/en-us/totalseq/ben-seq)

Nuestro flujo de trabajo BEN-seq, desarrollado en colaboración con Illumina, tiñe las células en suspensión usando anticuerpos TotalSeq™-A antes de la secuenciación en masa de ARN, permitiendo el perfil simultáneo de proteínas de superficie celular y ARN.



Detección de proteínas y ADN de célula única

Resuelva cuestiones genéticas complejas de genotipo a fenotipo combinando el análisis de ADN de célula única con la detección de proteínas usando reactivos oligo-conjugados TotalSeq™-D. La secuenciación de célula única aumenta la sensibilidad y permite la resolución de diferentes genotipos dentro de una muestra heterogénea, lo que es fundamental para comprender enfermedades complejas como el cáncer.

La resolución aumenta con la adición de medidas de expresión de proteínas y le permite:

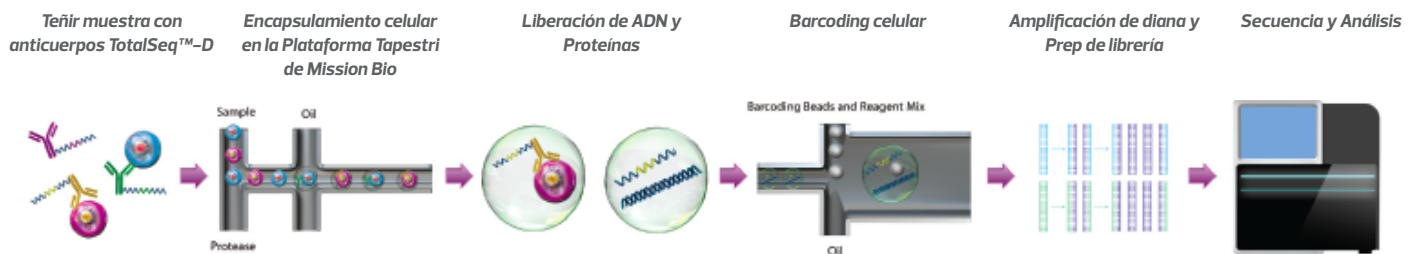
-Realizar inmunofenotipaje simultáneo para determinar si las mutaciones están asociadas con tipos o estados celulares específicos.

-Vincular el genotipo al fenotipo mediante la detección simultánea de SNVs/indels, CNVs y proteínas

-Descubrir nuevas dianas.

Descubra variaciones genéticas en muestras heterogéneas usando la plataforma Tapestry de Mission Bio y añada los anticuerpos TotalSeq™-D de Bio Legend para correlacionar estas mutaciones con la expresión de proteínas.

Encuentre los protocolos y descargue una nota de aplicación: biolegend.com/en-us/totalseq/single-cell-dna



Cócteles de anticuerpos

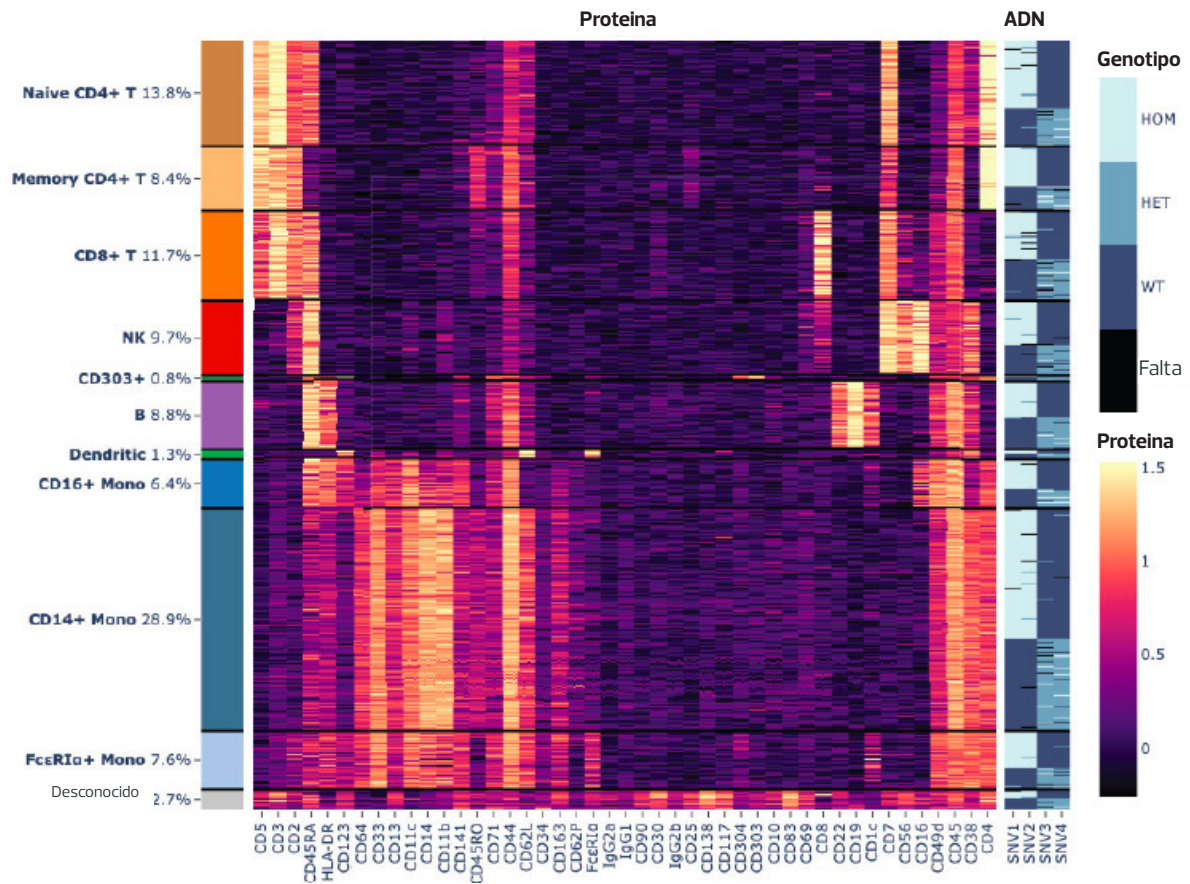
La línea de reactivos TotalSeq™-D está diseñada para ser compatible con la plataforma Tapestri de Mission Bio. Cada anticuerpo se conjuga con un oligonucleótido que consiste en una secuencia de captura, una secuencia específica de la región variable del anticuerpo específica del clon y una secuencia molde para PCR compatible con las plataformas de secuenciación Illumina®.

Nuestro cóctel de Hemo-Oncología TotalSeq™-D v1.0 contiene 42 anticuerpos primarios y 3 anticuerpos de control de isotipo. Cada anticuerpo se ha titulado previamente para un rendimiento óptimo y el cóctel se proporciona en prácticos tubos de un solo uso.

Dianas del cóctel de Hemo-Oncología TotalSeq™-D v1.0:

CD1c	CD10	CD22	CD45	CD64	CD138
CD2	CD11b	CD25	CD45RA	CD69	CD141
CD3	CD11c	CD30	CD45RO	CD71	CD163
CD4	CD13	CD33	CD49d	CD83	CD303
CD5	CD14	CD34	CD56	CD90	CD304
CD7	CD16	CD38	CD62L	CD117	FcεRIα
CD8	CD19	CD44	CD62P	CD123	HLA-DR

Huella digital del agrupamiento de proteínas vs analito y la secuencia específica de la región variable del anticuerpo, clasificado por el ADN



Se mezclaron las PBMCs de dos muestras de donantes, se mezclaron, se tiñeron con anticuerpos TotalSeq™-D y se procesaron en la plataforma Tapestry de Mission Bio. La visualización del mapa de calor revela el poder de obtener el genotipo y el fenotipo a partir de las mismas células a través de miles de células.

Recursos



Videos y Seminarios

Vea videos introductorios, tutoriales de protocolos y seminarios para ayudarle a comenzar y aprender más sobre cómo los reactivos TotalSeq™ pueden añadir valor a su investigación.

Los seminarios incluyen:

- Proteómica y Transcriptómica simultánea funcionando con soluciones integrales
- Multiomics TotalSeq™ para células T y B.
- Técnicas multimodales para el fenotipaje de alto contenido y de alto rendimiento.
- Entender los datos ómicos multimodales de célula única.

- Biología de célula única en tejidos de barrera y COVID-19.

Véalo ahora: biolegend.com/en-us/video-library

Blogs y Artículos

Lea nuestro blog para obtener más información sobre la multiómica de célula única, incluidos consejos y trucos para la titulación de anticuerpos, los conceptos básicos de CITE-seq y una descripción general de los métodos de aislamiento de célula única.

Léalo ahora: biolegend.com/en-us/blog

eBook y Notas de Aplicación

Descargue nuestro eBook y las notas de la aplicación para comprender la utilidad de los reactivos TotalSeq™ en las aplicaciones multiómicas.

- eBook: La evolución y el futuro de la proteogenómica de célula única.
- Expresión correlacionada de proteínas y ARN usando proteogenómica en masa y de célula única.
- La multiómica de célula única revela nuevas correlaciones entre las variantes genómicas y la expresión de proteínas en muestras de pacientes con AML.

Descárguelo ahora: biolegend.com/en-us/literature

Protocolos

Vea nuestros protocolos técnicos para obtener instrucciones paso a paso que describen cómo usar nuestros reactivos TotalSeq™ dentro de los flujos de trabajo de secuenciación.

Véalo ahora: biolegend.com/en-us/technical-protocols

Publicaciones destacadas

Multiomics resuelve un claro cambio en el estado de la enfermedad entre COVID-19 leve y moderado

Su, Yapeng et al. Cell, 183: 6, 1479-1495 (2020)

Usando un panel de más de 190 anticuerpos TotalSeq™, este estudio usó CITE-seq para identificar nuevas poblaciones de células inmunes que surgían en pacientes que experimentan COVID-19 moderado que se expanden en casos graves.

Un programa regulador de células dendríticas conservado limita la inmunidad antitumoral

Maier, B. et al. Nature, 580, 257-262 (2020)

El bloqueo de puntos de control inmunológico es un método reciente de tratamiento del cáncer que induce una respuesta antitumoral duradera. Este estudio tiene como objetivo comprender el mecanismo por el cual se produce el aumento de la inmunidad sistémica de las células T antitumorales después del bloqueo del neoadyuvante PD-L1. Mediante el uso de la proteogenómica de célula única, los autores identifican un programa regulador de células dendríticas que limita la actividad antitumoral y se induce por la expresión de IL-4.

El comprador es el único responsable de determinar si el comprador tiene todos los derechos de propiedad intelectual que son necesarios para los usos previstos por el comprador de los productos TotalSeq™ Bio Legend. Por ejemplo, para cualquier plataforma tecnológica que el comprador use con TotalSeq™, es responsabilidad exclusiva del comprador determinar si tiene todos los derechos intelectuales de terceros necesarios para usar esa plataforma y TotalSeq™ con esa plataforma.

Dirección:

Palex Medical SA
División Laboratorio
Parque Arbea Campus Empresarial
Edificio 5, planta baja
Ctra. de Fuencarral M603, Km. 3.800
28108 Alcobendas
Madrid (España)

Teléfono:

+34 917 376 536

Para obtener detalles completos de pedidos en todo el mundo, visite: biolegend.com