

snRNA-seq: 동결 조직과 해리가 어려운 조직에 적용 가능한 단일핵 전사체 분석 기술

최근 단일세포 전사체 분석(single cell transcriptomics)은 조직을 구성하는 다양한 세포 집단의 이질성을 이해하기 위한 핵심 기술로 자리 잡았다. 동일한 조직 내에서도 세포 유형 및 상태에 따라 유전자 발현 양상이 크게 달라질 수 있으며, bulk RNA-seq 기반 분석에서는 이러한 세포 간 차이가 평균화 되어 관찰되지 않을 수 있다. 특히 질환의 진행 과정에서는 특정 세포 집단의 기능 변화나 희귀 세포군의 출현이 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.[1]

그러나 실제 연구 현장에서 발생하는 모든 샘플이 살아있는 세포 기반의 scRNA-seq에 적합한 것은 아니다. 조직 해리(dissociation) 과정에서 특정 세포 유형이 손상되거나 선택적으로 소실될 수 있으며, 일부 조직에서는 효소 처리 과정 자체가 스트레스 반응 유전자(immediate early genes, IEGs)의 비정상적 발현을 유도하여 데이터 해석에 영향을 줄 수 있다.[4] 더 나아가, 임상 연구에서 주로 다루는 동결 조직이나 뇌·심장처럼 효소 처리가 어려운 조직은 fresh cell suspension 확보 자체가 어려운 경우가 많다는 현실적인 한계가 존재한다.

Single nucleus RNA sequencing (snRNA-seq)은 바로 이러한 한계를 보완하기 위해 등장한 단일세포 전사체 분석 전략이다. 세포 전체가 아닌 핵(nucleus)만을 분리하여 핵 내 RNA를 분석함으로써, 동결 조직이나 해리가 어려운 조직에서도 세포 유형별 전사체 정보를 확보할 수 있다.[5] 특히 snRNA-seq은 scRNA-seq 적용이 제한적이었던 동결 임상 조직, 사후 뇌 조직[7], 섬유화 조직 등으로 단일세포 전사체 분석의 적용 범위를 확장한 접근법으로 평가되고 있다.

본 기술 노트에서는 snRNA-seq의 기술적 원리와 적용 사례를 중심으로, scRNA-seq과의 비교를 통해 snRNA-seq의 특성과 활용 가능성을 정리하고, snRNA-seq 데이터를 통해 얻을 수 있는 정보까지 순차적으로 다루고자 한다.

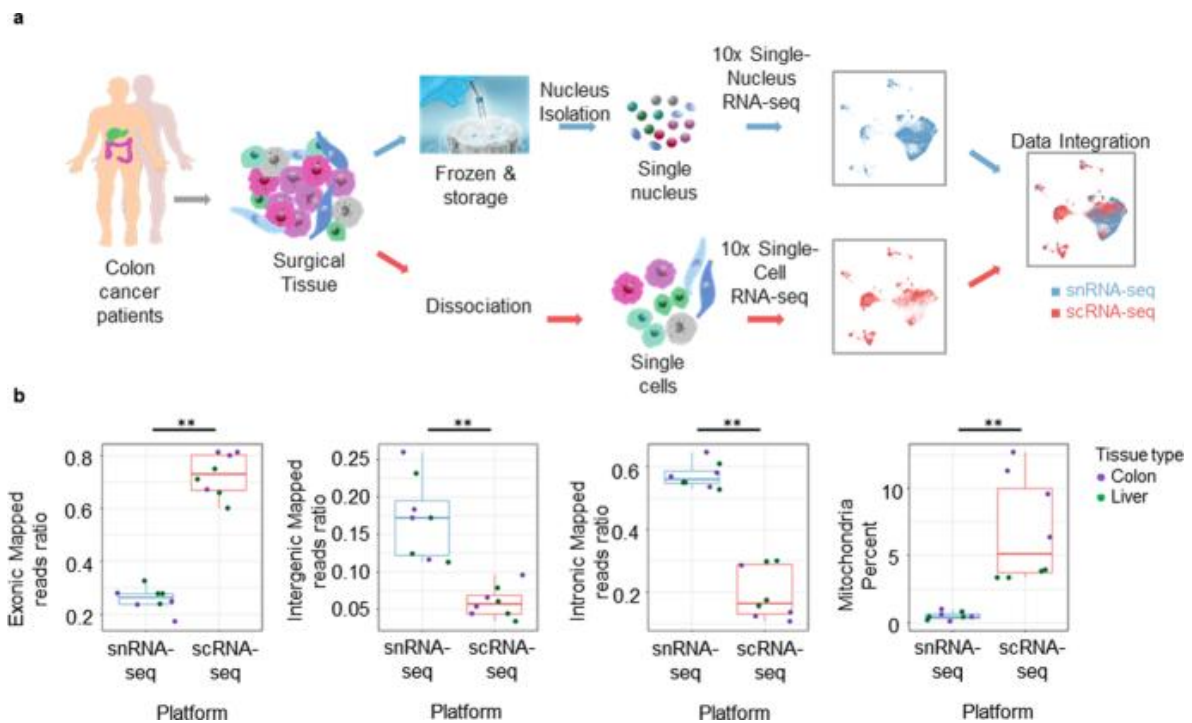


그림 1. scRNA-seq와 snRNA-seq에서 검출되는 세포 유형 분포 비교[2]

scRNA-seq와 snRNA-seq : 기술적 원리 및 적용 범위의 비교

scRNA-seq 와 snRNA-seq 는 분석 단위가 다른 만큼, 전처리 과정에서 준비하는 대상도 다르다. scRNA-seq 는 살아있는 단일세포 현탁액 (single-cell suspension)을 만든 뒤 세포질과 핵에 존재하는 RNA 를 함께 분석하는 방식으로, 조직 특성에 따라 효소적 해리와 물리적 해리 과정이 함께 적용된다. 이 과정에서 세포 생존율, 세포 손상, 세포 유형별 회수율 차이 등이 분석 결과에 영향을 줄 수 있다. 반면, snRNA-Seq 은 세포 전체가 아닌 핵을 분리하여 핵 내부의 RNA 를 분석하는 방식이다.[2] 일반적으로 detergent 기반 lysis buffer 와 물리적 균질화를 통해 핵 현탁액(nuclei suspension)을 준비하며, 세포막 integrity 에 대한 의존도가 낮기 때문에 동결 및 장기 보관 조직에도 비교적 안정적으로 적용될 수 있다. 또한 살아있는 intact cell 분리가 어려운 조직에서 조직 해리 과정에 따른 스트레스 반응 유전자 발현이나 세포 유형별 회수 편향을 줄이는 데 도움이 될 수 있다.[4]

다만 snRNA-seq 는 핵 내 RNA 를 중심으로 분석하기 때문에, 세포질 RNA 까지 포함하는 scRNA-seq 와는 검출되는 전사체의 특성이 다를 수 있다. 일반적으로 snRNA-seq 에서는 세포당 검출 유전자 수가 scRNA-seq 보다 낮게 나타날 수 있으나, 핵 내 pre-mRNA 및 intronic read 정보를 활용해 RNA velocity 와 같은 전사적 변화 방향성 분석에 적용할 수 있다는 특징이 있다.[3]

구분	scRNA-seq	snRNA-seq
분석 단위	Intact cell	Isolated nucleus
샘플 조건	Fresh Tissue	Frozen Tissue
분석 RNA	Mature mRNA	Pre-mRNA 및 intronic reads 포함
유전자 검출 수	일반적으로 높음	세포당 검출 gene 수 감소 가능
세포 적용	Fragile cell dissociation 에 제한 존재	Large/fragile cell 분석에 유리
주요 적용 조직	혈액, 면역세포, 배양세포, 신선 조직	뇌, 심장, 근육, 지방 조직, 동결 보관 임상 조직

표 1. scRNA-seq 와 snRNA-seq 의 기술적 비교[2][4][5]

scRNA-seq 와 snRNA-seq 은 어느 한 기술이 다른 기술을 완전히 대체하기보다, 샘플의 특성과 연구 목적에 따라 서로 보완적으로 활용될 수 있다. 일반적으로 동결 임상 조직이나 효소적 해리가 어려운 조직(예: 뇌, 심장, 신장), 또는 dissociation 과정에서 발생하는 스트레스 반응 유전자(IEG) 발현의 영향을 최소화하고자 하는 연구에서는 snRNA-seq 이 활용되는 경우가 많다. 또한 지방세포(adipocyte)나 심근세포(cardiomyocyte)와 같이 크기가 크거나 효소 처리 과정에서 손상되기 쉬운 세포를 포함한 조직에서도 snRNA-seq 이 대안적 접근법으로 사용될 수 있다. 반면, 신선 조직(fresh tissue), 혈액, 배양세포(cultured cell)와 같이 살아있는 단일세포 분리가 비교적 용이한 샘플에서는 일반적으로 scRNA-seq 이 널리 사용된다. 최근에는 대규모 단일세포 아틀라스(single cell atlas) 연구를

중심으로, 동일 조직에 대해 scRNA-seq 과 snRNA-seq 을 병행하여 세포 유형 및 전사체 특성을 상호 보완적으로 비교·분석하는 전략도 활용되고 있다.[6]

snRNA-seq 의 기술적 원리 : 10x Genomics Chromium 플랫폼

핵 분리, 라이브러리 제작 및 시퀀싱

snRNA-seq 에서는 세포 전체가 아닌 핵(nucleus)만을 안정적으로 분리하는 과정이 실험의 출발점이자 데이터 품질을 결정하는 핵심 단계이다. 핵 분리 과정에서는 핵의 integrity 유지, cellular debris 제거, 핵 간 aggregation 최소화가 요구되며, 이를 충족하지 못할 경우 라이브러리 품질 및 downstream 분석 결과에 영향을 미칠 수 있다.[7] 일반적으로 효소 처리 없이 저온 환경에서 기계적 균질화(mechanical homogenization)를 통해 세포막을 파쇄하고, 원심분리 및 여과를 거쳐 핵 현탁액을 정제한다. 효소 처리를 배제함으로써 스트레스 반응 유전자(IEG) 발현 유도가 억제되어 생체 내 전사 상태를 보다 충실히 반영할 수 있다. 10x Genomics 는 조직 유형에 따라 최적화된 Chromium Nuclei Isolation Kit 를 제공하여 핵 분리 단계의 표준화 및 재현성 확보를 지원한다.[8]

정제된 핵 현탁액은 10x Genomics Chromium 플랫폼에 로딩되어, microfluidic droplet 내에서 개별 핵과 barcode bead 가 함께 포획된다. 포획된 핵으로부터 역전사(reverse transcription)를 통해 cDNA library 가 제작되며, 각 핵 유래 전사체는 고유한 barcode 서열 기반으로 구분된다. 이를 통해 수천 개에서 수만 개 수준의 단일 핵 전사체 데이터를 동시에 분석할 수 있다.

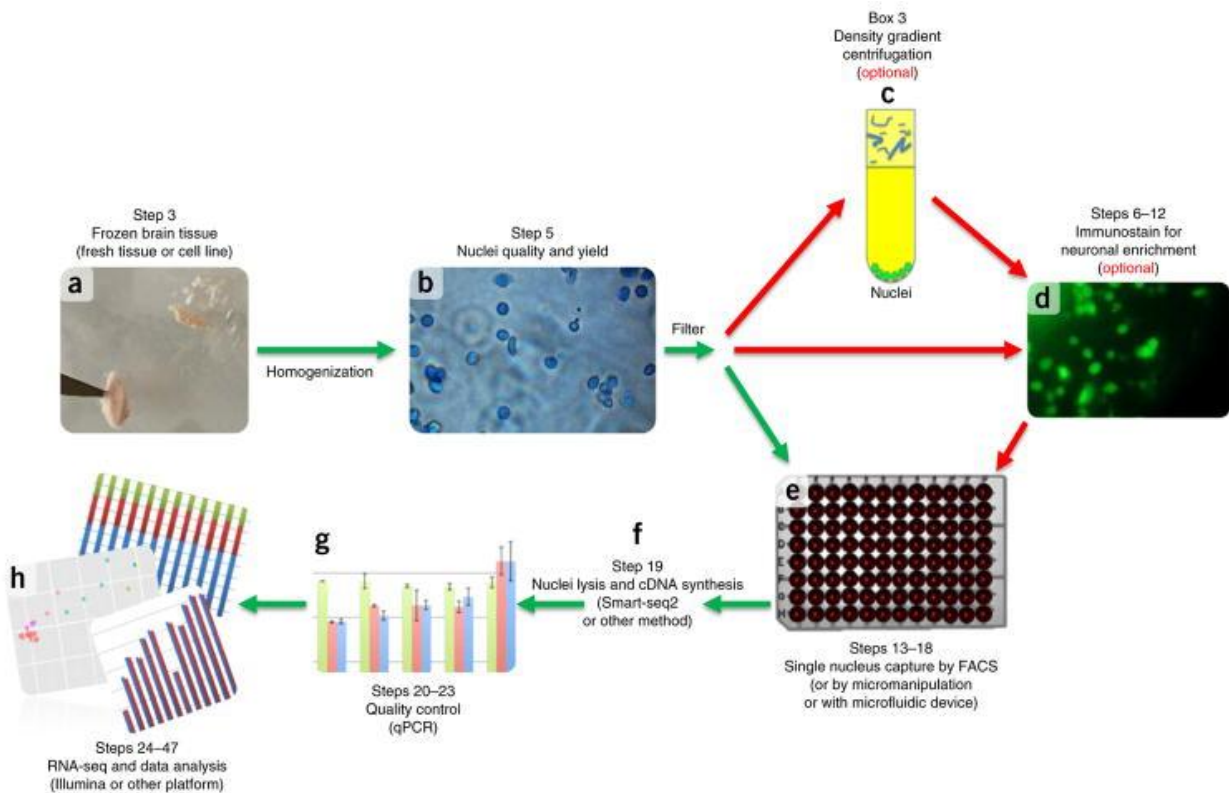


그림 2. snRNA-seq workflow overview.[7]

10x Genomics Chromium 플랫폼

10x Genomics Chromium 은 droplet 기반 microfluidics 기술을 이용하여 대규모 단일세포 및 단일 핵 전사체 분석을 수행할 수 있는 플랫폼이다. Chromium 시스템에서는 세포 또는 핵과 barcode 가 포함된 gel bead 를

GEM(Gel Bead-in-Emulsion) 내부에 함께 포획한 뒤, 각 세포(또는 핵) 유래 전사체에 고유 barcode 를 부여한다. snRNA-seq 에 적용되는 대표적인 Assay 는 3' Gene Expression 계열로, poly(A) RNA 를 기반으로 핵 내 전사체를 분석한다.[8] Chromium 플랫폼은 nucleus suspension 기반 workflow 또한 지원하며, frozen tissue 를 포함한 다양한 조직 유형에서 snRNA-seq 분석에 활용되고 있다.[8] 또한 Single Cell Multiome ATAC + Gene Expression assay 를 이용할 경우 동일 nucleus 수준에서 유전자 발현 정보와 chromatin accessibility 정보를 동시에 분석할 수 있다.[9] 이를 통해 세포 유형별 전사체 특성과 함께 epigenetic regulation 정보를 통합적으로 해석하는 접근이 가능하다.

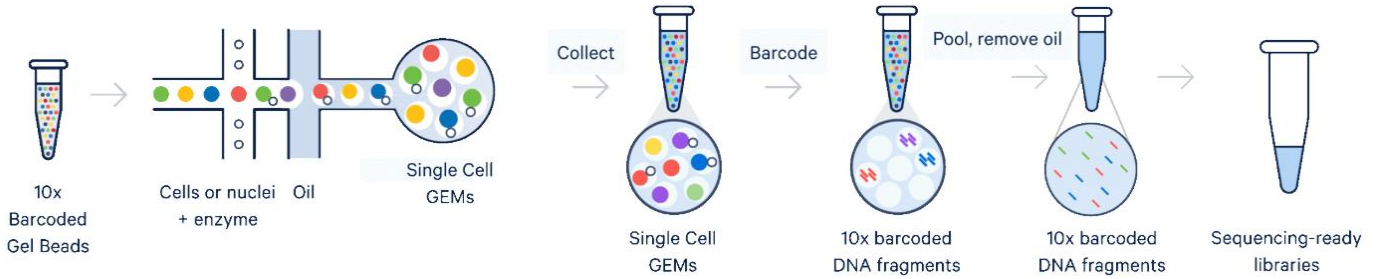


그림 3. 10x Genomics Chromium Gel Bead-in-Emulsion (GEM) 생성

분야별 적용 사례

뇌 신경과학 및 신경 퇴행성 질환

성인 신경세포(neuron)는 크기가 크고 복잡한 수상돌기 구조를 가지고 있어 효소 처리 기반의 단일세포 분리가 기술적으로 어렵다. 이로 인해 scRNA-seq 를 적용한 성인 뇌 조직 연구에서는 특정 세포 유형의 회수율이 낮아지거나 세포 구성 비율에 편향이 발생하는 것으로 보고되어 왔다.[7]

2023 년 *Science* 에 발표된 Siletti 등의 연구에서는 snRNA-seq 기반 분석을 통해 adult human brain 전반에 걸친 세포 유형 다양성을 고해상도로 규명하고, neuronal 및 non-neuronal subtype 의 전사체 특성을 체계적으로 정리하였다.[6] 해당 데이터는 알츠하이머병, 파킨슨병, 우울증 등 다양한 신경계 질환 연구를 위한 reference atlas 로 활용되고 있다.

또한 알츠하이머병 연구에서는 snRNA-seq 을 통해 특정 neuronal subtype 에서 선택적인 유전자 발현 변화 및 시냅스 기능 이상이 보고되면서, 신경퇴행성 질환의 세포 유형 특이적 병태생리를 이해하기 위한 핵심 분석 전략으로 활용되고 있다.[12]

암 미세환경 연구

종양 조직은 암세포뿐 아니라 T 세포, B 세포, NK 세포, 종양 관련 대식세포(TAM), 암 관련 섬유모세포(CAF) 등 다양한 세포 집단으로 구성되어 있으며, 세포 간 상호작용에 의해 복잡한 종양 미세환경(tumor microenvironment, TME)을 형성한다. scRNA-seq 와 snRNA-seq 를 통해 이러한 세포 집단을 개별적으로 분류하고, 세포 유형별 전사체 특성을 고해상도로 파악할 수 있다.

Zheng 등은 단일세포 전사체 분석을 통해 다양한 암종에서 종양 침윤 T 세포(tumor-infiltrating T cell)의 기능적 이질성을 규명하고, exhausted T cell의 분자적 특성을 보고하였다.[10] 이러한 정보는 면역관문억제제(checkpoint inhibitor) 반응 예측 및 종양 면역 미세환경 연구에 직접적으로 기여하고 있다. 또한 수술 후 동결 보관된 종양 조직이나 해리가 어려운 고형암 조직을 대상으로 snRNA-seq 적용 사례가 증가하고 있으며, 폐암, 유방암, 간암 등 다양한 암종에서 세포 유형별 전사체 atlas 구축 연구가 수행되고 있다.

신장·심장 등 섬유화 조직 연구

섬유화(fibrosis)가 진행된 조직은 세포외기질(extracellular matrix, ECM)의 축적으로 인해 효율적인 단일세포 분리가 어려운 경우가 많다. 만성 신장 질환, 심부전 후 심장 조직, 간 섬유화 조직 등에서는 이러한 조직학적 특성으로 인해 세포 해리 과정에서 세포 손실 및 세포 구성 편향이 발생할 수 있으며, 이를 보완하기 위한 접근법으로 snRNA-seq이 활발히 활용되고 있다.

Ma 등은 snRNA-seq와 spatial transcriptomics를 결합하여 신장 조직 내 세포 유형별 전사체 특성과 공간적 분포를 통합적으로 분석하였다.[11] 이를 통해 proximal tubule 손상과 연관된 세포 유형 특이적 전사체 변화 및 섬유모세포 활성화 경로를 규명하였으며, 신장 섬유화의 병태생리를 이해하기 위한 단일세포 수준의 정보를 제시하였다.

동결 임상 조직 및 바이오뱅크 샘플에의 적용

임상 연구에서 snRNA-seq의 중요한 장점 중 하나는 장기간 동결 보관된 조직에도 적용 가능하다는 점이다. 수술 직후 동결된 암 조직, 희귀 질환 생검 조직, postmortem brain tissue 등은 기존 scRNA-seq 적용에 제한이 있었으나, snRNA-seq을 통해 단일세포 수준의 전사체 분석이 가능해졌다.

Denisenko 등은 방광 조직에서 scRNA-seq와 snRNA-seq를 직접 비교하여, 동결 샘플 조건에서 snRNA-seq이 세포 유형 보존 및 재현성 측면에서 효과적인 분석 전략이 될 수 있음을 보고하였다.[4] 이러한 연구들은 바이오뱅크 기반 임상 샘플 연구에서 snRNA-seq의 활용 가능성을 확대하는 근거로 활용되고 있다.

snRNA-seq 데이터를 통해 얻을 수 있는 생물학적 정보

snRNA-seq 분석이 완료되면 각 nucleus 별 유전자 발현 정보가 생성되며, 이를 기반으로 조직 내 세포 구성과 세포 유형별 전사체 특성을 단일세포 해상도에서 분석할 수 있다. 연구자는 이러한 데이터를 통해 조직을 구성하는 세포 유형의 분포, 특정 세포군의 활성 상태 변화, 질환 연관 세포 아형(subtype)의 존재 여부 등을 확인할 수 있다.[1][5]

항목	설명
세포 유형 분류 및 구성 파악	조직 내에 어떤 세포 유형이 존재하며, 정상 대조군과 질환군에서 각 세포 유형의 비율이 어떻게 달라지는지 확인할 수 있다.
세포 유형 특이적 유전자 발현 변화	Bulk RNA-seq에서는 평균에 묻혀 보이지 않던 특정 세포 유형만의 발현 변화를 세포 해상도에서 포착할 수 있다.
희귀 세포군 발견	전체 세포 집단에서 낮은 비율로 존재하는 희귀 세포 아형의 존재를 탐색하고, 특정 marker gene 발현 패턴을 기반으로 특성을 분석할 수 있다.[1]
세포 상태 전환 및 분화 궤적	snRNA-seq에서는 핵 내 pre-mRNA 유래 intronic read가 상대적으로 풍부하게 검출될 수 있으며, 이를 활용한 RNA velocity 분석 등을 통해 세포 상태 전환이나 분화 방향성을 추정할 수 있다.[3]
세포 간 신호 전달 네트워크	리간드-수용체 발현 패턴을 기반으로 서로 다른 세포 유형 간의 신호 전달 관계를 추론할 수 있어, 종양 미세환경·면역 반응 연구에 활용된다.

표 2. snRNA-seq 단일 실험으로 확인 가능한 주요 분석 항목

Ebiogen Services

이바이오젠은 10x Genomics Chromium 플랫폼을 기반으로 Single Nucleus RNA Sequencing (snRNA-seq) 및 Single Cell RNA Sequencing (scRNA-seq) 서비스를 제공한다. 샘플 수령부터 핵 분리, 라이브러리 제작, 시퀀싱까지의 전 과정을 수행하며, 동결 조직, 해리가 어려운 조직, 신선 조직, 혈액, 배양세포 등 다양한 샘플 유형에 대응한다.

Single Nucleus RNA Seq Service

Sample requirement	Tissue : Frozen Tissue 200 mg 이상
Library method	10X Genomics GEM-X 3' technology
Number of Target nuclei	~ 20,000 Nuclei
Turnaround Time	~4 weeks after Cell counting & QC
Sample type	Tissue
Data analysis	ExSCEA Report, UMAP, t-SNE, PCA, Clustering heatmap (Seurat/Loupe 기반 분석 제공 등)

Single Cell RNA-Seq Service

Sample requirement	Cell line, Primary cell, FACS sorted cell : 250,000 cells (Viability > 70%) Tissue : Fresh Tissue 200 mg 이상 (in MACS buffer)
Library method	10X Genomics GEM-X 3' technology
Number of Target cell	~ 20,000 cells
Turnaround Time	~4 weeks after Cell counting & QC
Sample type	Cell, Tissue ⁺
Data analysis	ExSCEA Report, UMAP, t-SNE, PCA, Clustering heatmap (Seurat/Loupe 기반 분석 제공 등)

참고 문헌

1. Lähnemann, D., Köster, J., Szczurek, E., et al. (2020). Eleven grand challenges in single-cell data science. *Genome Biology*, 21, 31. <https://doi.org/10.1186/s13059-020-1926-6>
2. Kim, S., Kim, T.K., Kim, D., et al. (2022). Comparison of cell type distribution between single-cell and single-nucleus RNA sequencing: enrichment of adherent cell types in single-nucleus RNA sequencing. *Experimental & Molecular Medicine*, 54, 2089–2096. <https://doi.org/10.1038/s12276-022-00892-3>
3. Bergen, V., Lange, M., Peidli, S., et al. (2020). Generalizing RNA velocity to transient cell states through dynamical modeling. *Nature Biotechnology*, 38(12), 1408–1414. <https://doi.org/10.1038/s41587-020-0591-3>
4. Denisenko, E., Ramilowski, J.A., Zhao, H., et al. (2024). Exploring the utility of snRNA-seq in profiling human bladder tissue. *iScience*, 28(1), 111545. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2024.111545>
5. Grindberg, R.V., Yee-Greenbaum, J.L., McConnell, M.J., et al. (2013). RNA-sequencing from single nuclei. *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*, 110(49), 19860–19865. <https://doi.org/10.1073/pnas.1319700110>
6. Siletti, K., Bhatt, D., Bhatt, D., et al. (2023). Transcriptomic diversity of cell types across the adult human brain. *Science*, 382(6667), eadd7046. <https://doi.org/10.1126/science.add7046>
7. Krishnaswami, S.R., Grindberg, R.V., Novotny, M., et al. (2016). Using single nuclei for RNA-seq to capture the transcriptome of postmortem neurons. *Nature Protocols*, 11(3), 499–524. <https://doi.org/10.1038/nprot.2016.015>
8. 10x Genomics. (2024). Chromium Single Cell Gene Expression – Product Overview. Retrieved from <https://www.10xgenomics.com/products/single-cell-gene-expression>
9. 10x Genomics. (2024). Chromium Single Cell Multiome ATAC + Gene Expression – Product Overview. Retrieved from <https://www.10xgenomics.com/products/single-cell-multiome-atac-plus-gene-expression>
10. Zheng, L., Qin, S., Si, W., et al. (2021). Pan-cancer single-cell landscape of tumor-infiltrating T cells. *Science*, 374(6574), abe6474. <https://doi.org/10.1126/science.abe6474>
11. Ma, Q., Sun, Q., Yang, B., et al. (2025). Novel insights into kidney disease: the scRNA-seq and spatial transcriptomics. *Scientific Reports*. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-85419-y>
12. Mathys, H., Davila-Velderrain, J., Peng, Z., et al. (2019). Single-cell transcriptomic analysis of Alzheimer's disease. *Nature*, 570(7761), 332–337. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1195-2>