

细胞发育和分化和发现新的细胞类型

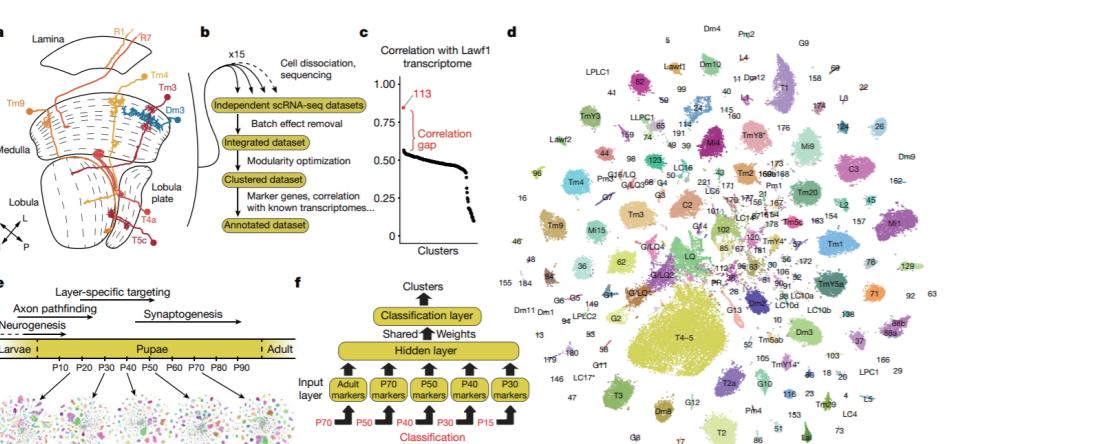
文献名称: Neuronal diversity and convergence in a visual system developmental atlas

发表期刊: *Nature*

发表时间: 2020.11

本研究针对成年果蝇109743个单细胞转录组并进行聚类分析, 并由此扩展到发育中的神经元, 对涵盖神经元分化所有阶段的五个蛹期共275000个单细胞进行测序, 发现了200多个细胞类型。在蛹期数据集中发现两个大型神经元簇, 在P70阶段强表达促凋亡基因*sickle*, 而且这些细胞在蛹后期阶段死亡, 也刚好印证了其不存于成年数据集中。相反, 如果表达抗凋亡蛋白p35则会使这类神经元持续存在于成年大脑中, 因此, 作者将这些细胞命名为瞬态外在神经元 (transient extrinsic, TE)。

对两个Tm9亚组在P50差异基因表达的分析表明, 两个分别表达Wnt4和Wnt10, 且Wnt4-Gal4表达仅与腹侧Tm9s重叠。同时, 通过基因表达分析, 发现Wnt4-Gal4表达仅限于蛹阶段的腹侧光感受器R7和R8, 因此在发育过程中, 感受视野及其下游环路由差异Wnt信号划分。



简介

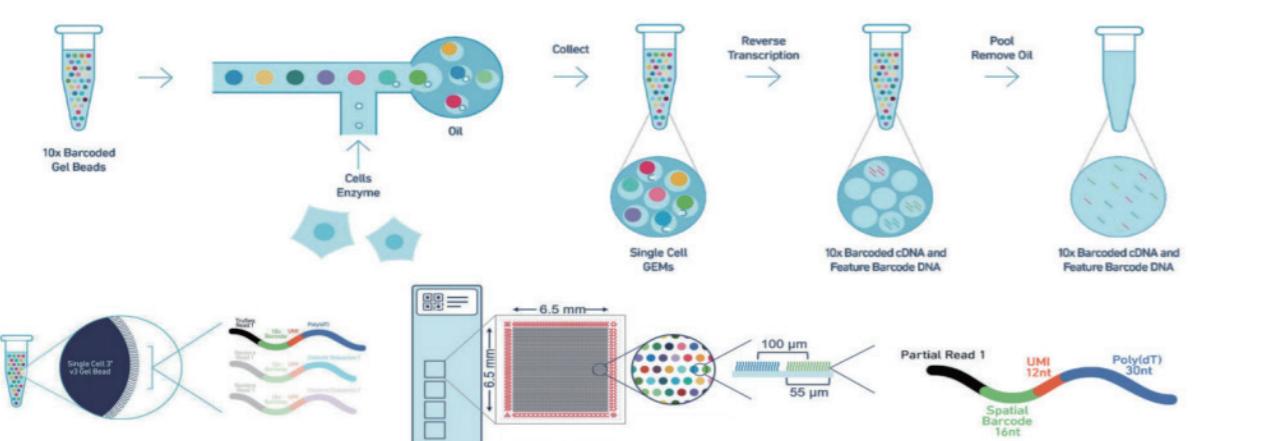
10x Genomics单细胞转录组测序 (single cell RNA-seq, scRNA-seq) , 是基于10x Genomics平台, 针对单个细胞水平对 mRNA 进行高通量测序的一项技术手段, 能够以单细胞的分辨率和高通量来研究单个细胞表达谱, 进而揭示复杂细胞群体的异质性, 同时, 可以避免单个细胞的基因表达信号被群体的平均化所掩盖。

10x Genomics平台, 能够一次性分离、并标记500~10000个单细胞, 并能在单细胞水平进行检测的技术, 其通过微流控系统, 将单细胞快速分配到油包水的微反应体系中, 每个微反应体系中的单DNA分子会获得唯一的特异性分子标签, 制备生成的测序文库可以在Illumina平台进行测序。



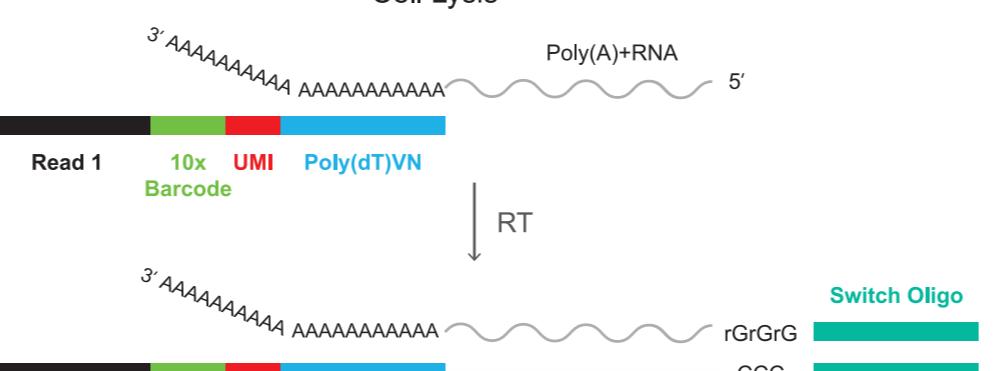
建库原理

建立在GemCode技术上的微流体平台, 将带有条形码和引物的凝胶珠与单个细胞包裹在油滴中; 接下来在每个油滴内, 凝胶珠溶解, 细胞裂解释放mRNA, 通过逆转录产生用于测序的带条形码的cDNA。液体油层破坏后, cDNA为模板进行PCR扩增, 然后进行cDNA打断、加测序接头P5及测序引物R1等传统二代测序基因表达文库构建, 然后使用Illumina测序平台对文库进行测序检测, 即可一次性获得大量单细胞的基因表达数据, 从而实现在单细胞水平对基因转录本进行高通量测序的新方法。得到每个细胞的转录组表达谱, Barcode标记细胞, UMI标记基因并记录表达量。

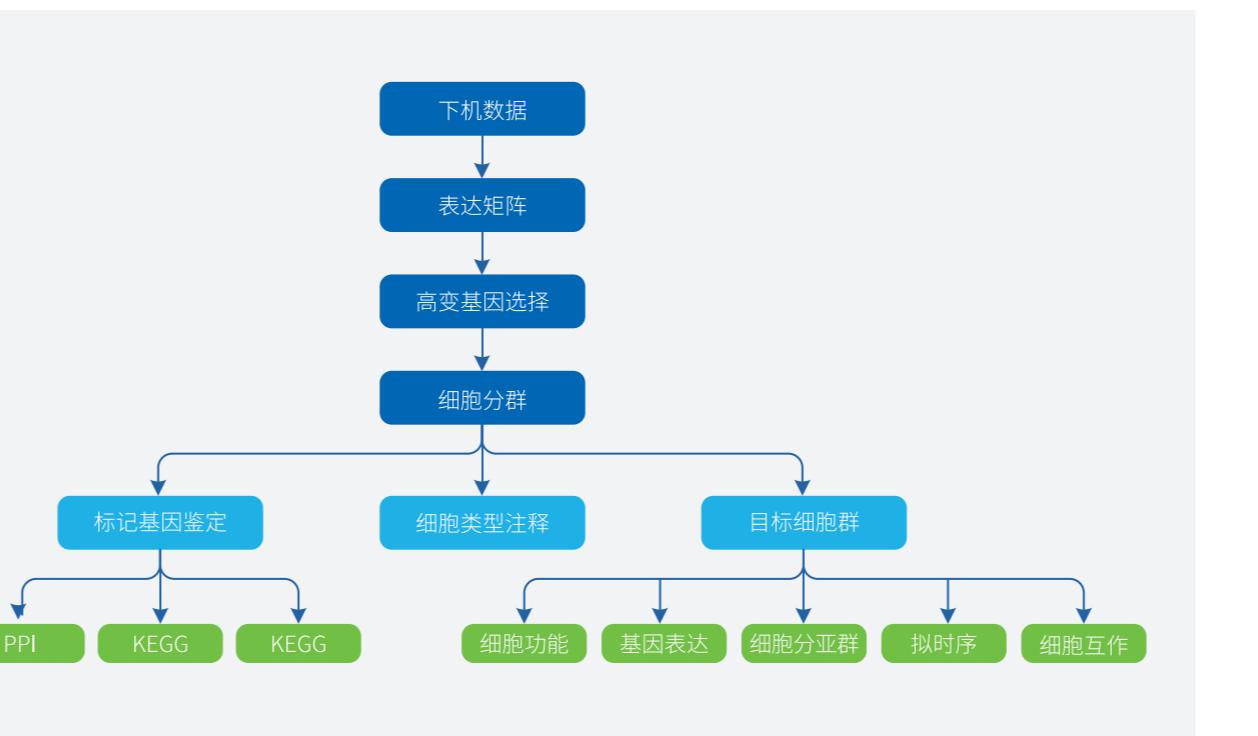


GEMs

Cell Lysis



分析流程



应用方向

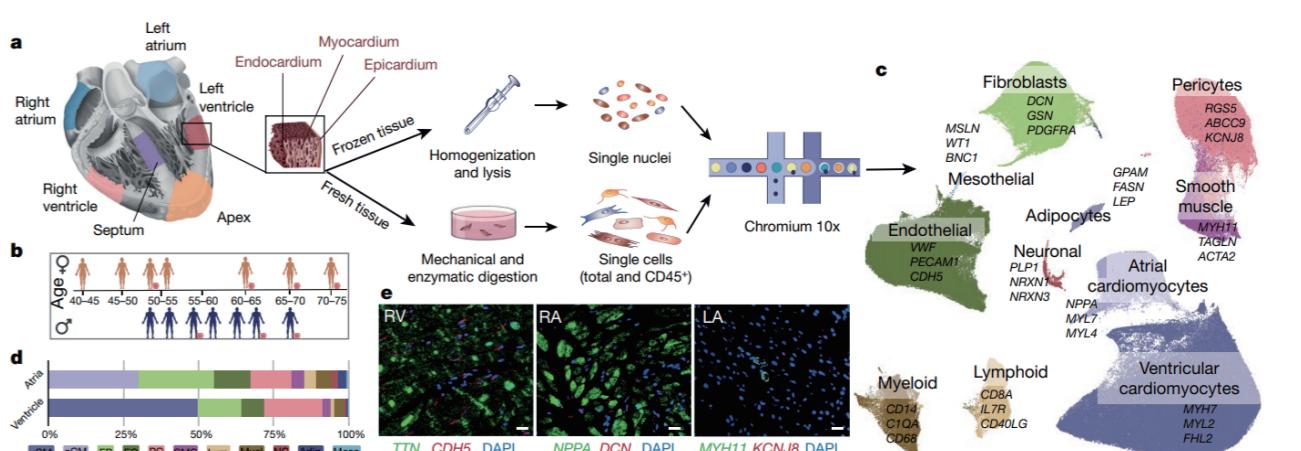
- 1 肿瘤细胞异质性研究
- 2 细胞发育和分化
- 3 细胞图谱构建
- 4 疾病相关类型细胞发现

构建细胞图谱

文献名称: Cells of the adult human heart
发表期刊: *Nature*
发表时间: 2020.09

本研究通过来自7个男性、7个女性的心脏的近50万个单细胞进行了单细胞转录组分析, 构建了迄今为止最广泛的人类心脏细胞图谱。该图谱显示了心脏细胞的多样性, 并揭示了心肌细胞类型、心脏免疫细胞以及复杂的血管网络。心脏不同区域的细胞存在很大的差异。通过细胞分群分析发现心脏的每个区域都有特定的细胞亚群——这意味着心脏的不同区域可能有着不同的发育起源, 并表明这些细胞会对同一治疗方法有不同的反应。

通过观察健康心脏的免疫细胞是如何与其他细胞相互作用和交流的, 识别出具有炎症和保护性转录特征的心脏巨噬细胞, 由此揭示免疫细胞在心血管系统中的复杂作用。除此之外, 还通过细胞-细胞相互作用的推断, 突出了心房和心室之间不同的巨噬细胞-纤维细胞-心肌细胞网络。



肿瘤细胞异质性

文献名称: Single-Cell Analysis Reveals Fibroblast Clusters Linked to Immunotherapy Resistance in Cancer
发表期刊: *Cancer Discovery*
发表时间: 2020.09

本研究针对7例未经任何治疗的原发性乳腺癌组织中分离超过19,000个CAF-S1成纤维细胞。针对分离得到CAF-S1成纤维细胞进行单细胞转录组测序, 平均每个细胞检测到2,428个基因。其聚类分析鉴定出8个不同的CAF-S1细胞亚群。

标记基因差异表达分析表明, CAF-S1细胞亚群具有独特的转录表达模式。其中, 第1、2和5个亚群属于炎症成纤维细胞亚群, 分别与解毒、刺激反应、IFN- γ 与细胞因子有关。而且第5个亚群还具有抗原递呈成纤维细胞亚群的表达特征。第0、3、4、6和7个亚群属于成肌纤维母细胞亚群, 分别与细胞外基质、TGF- β 、创伤愈合、IFN- α/β 和肌动球蛋白相关。同时, 利用TCGA数据库中不同乳腺癌亚型样本的转录组信息, 还发现CAF-S1成纤维细胞不同细胞亚群在乳腺癌亚型中表现出一定的差异。本研究可以为治疗乳腺癌不同亚型纤维细胞提供一些新思路。