

人脑单核RNA测序揭示神 经元亚型的多样性

报告人：秦璇

学号：2016317110034

内容

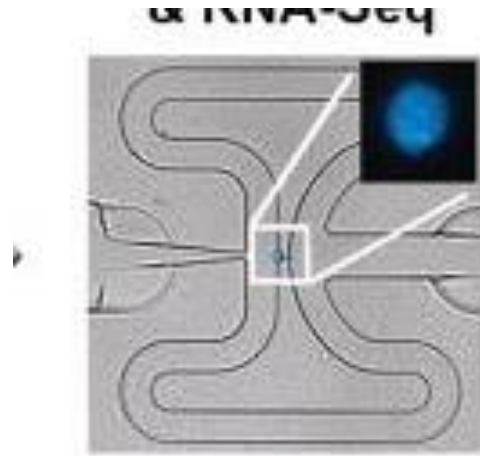
- 背景
- 文章
- 总结

背景

研究人脑神经亚型，通过单核RNA测序

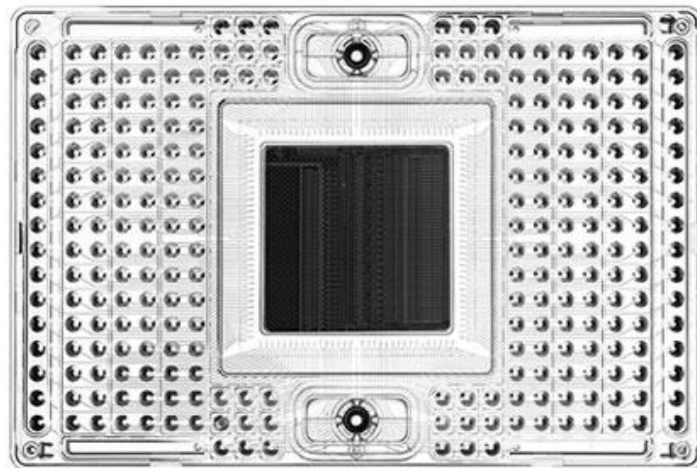
- 材料特殊性
- 亚型研究

拓展微流控



- 微流控 (Microfluidics) 指的是使用微管道 (尺寸为数十到数百微米) 处理或操纵微小流体 (体积为纳升到阿升) 的系统所涉及的科学和技术, 是一门涉及化学、流体物理、微电子、新材料、生物学和生物医学工程的新兴交叉学科。

背景



POLARIS IFC

集成流体通路（IFCS）赋予生命科学研究通过自动化的分子生物学在纳升体积。这意味着使用更少的样品和试剂，和一个单一的微流体设备，以实现高品质，一致的结果。

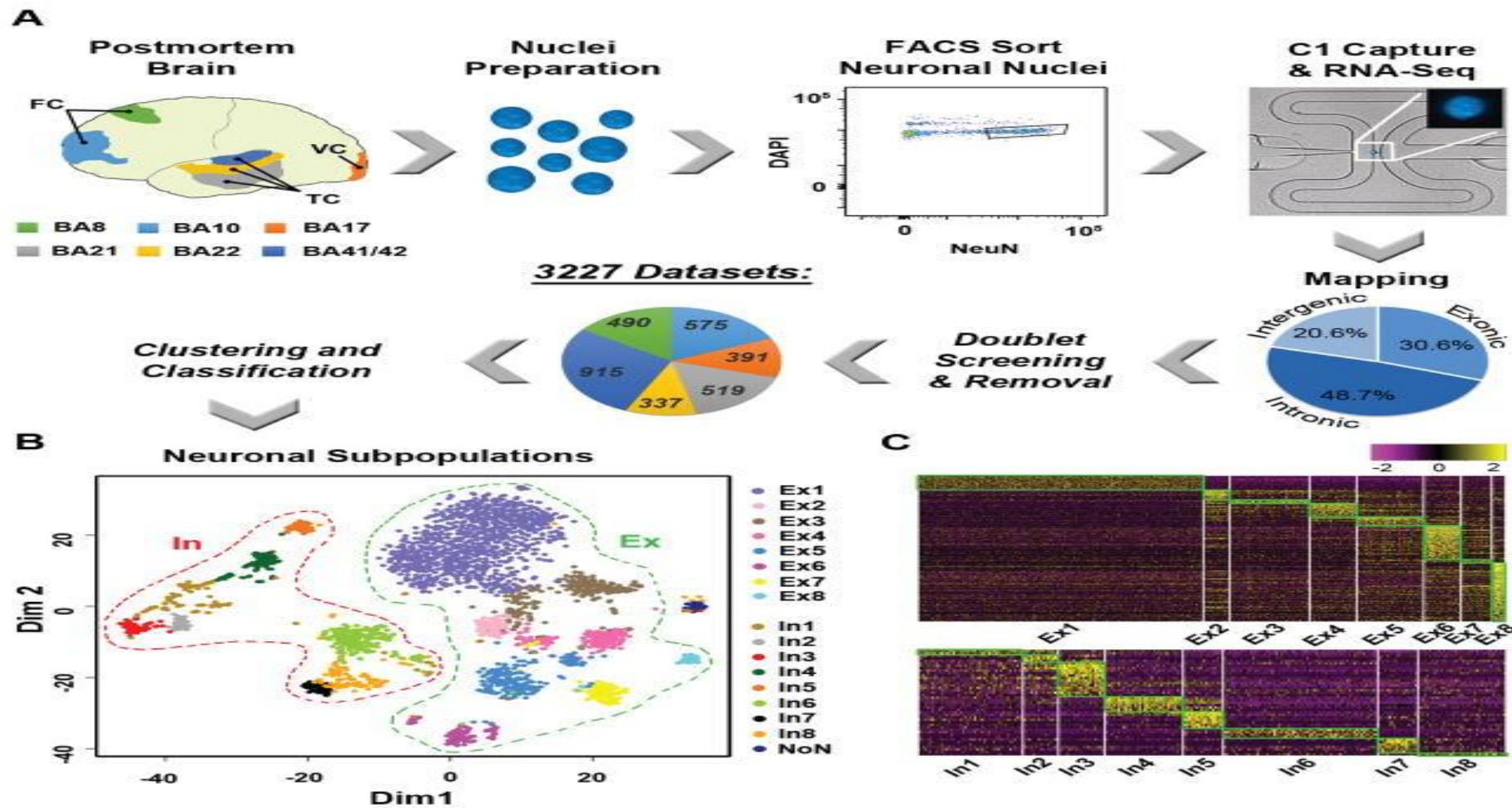
单细胞全自动制备系统，基于Fluidigm创新的微流体技术，能够让研究者们快速可靠地分离单个细胞并进行基因组分析。前所未有的，将**分离细胞**、**提取**、**逆转录**和**预放大**全过程实现全面**自动化**，使细胞活性的检测和分析成为可能。随着其BioMark™ 和 BioMark HD 系统的广泛应用，Fluidigm 正在成为单细胞基因组学这一新兴领域的佼佼者。它可以让研究者们轻松检测到单细胞水平上的基因组特征。

背景

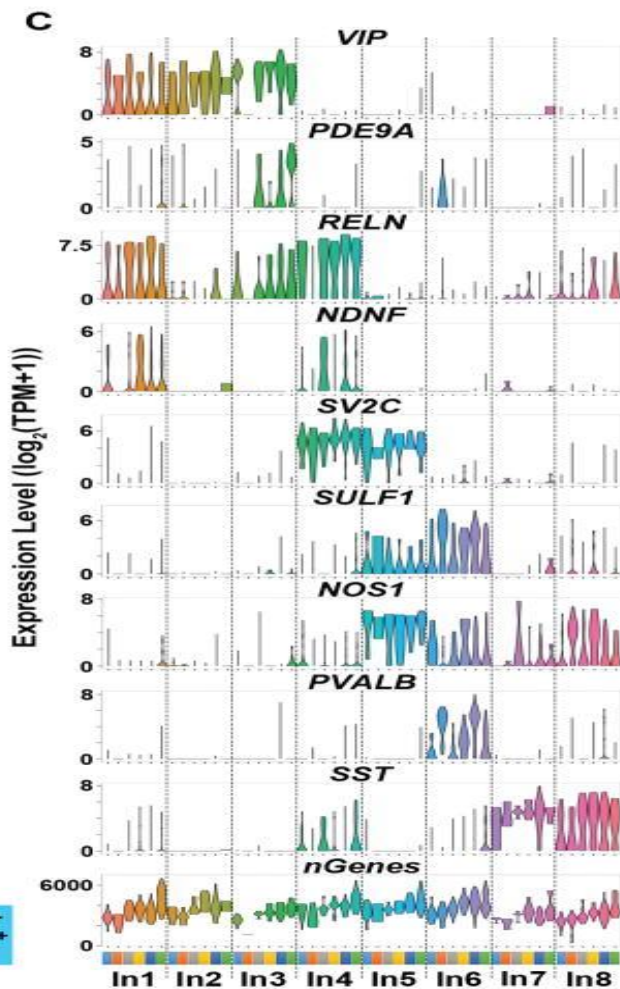
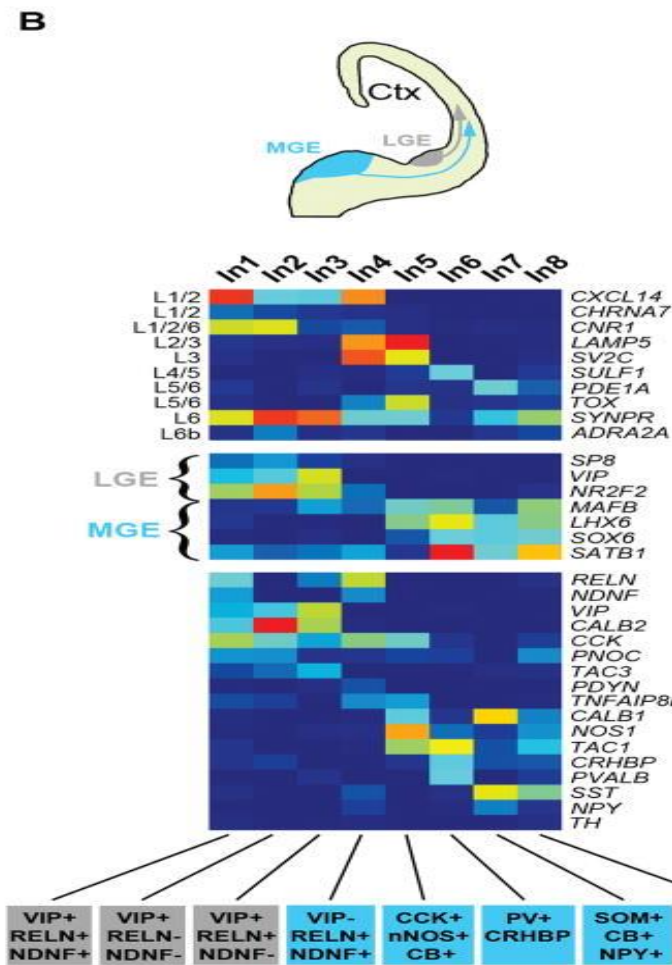
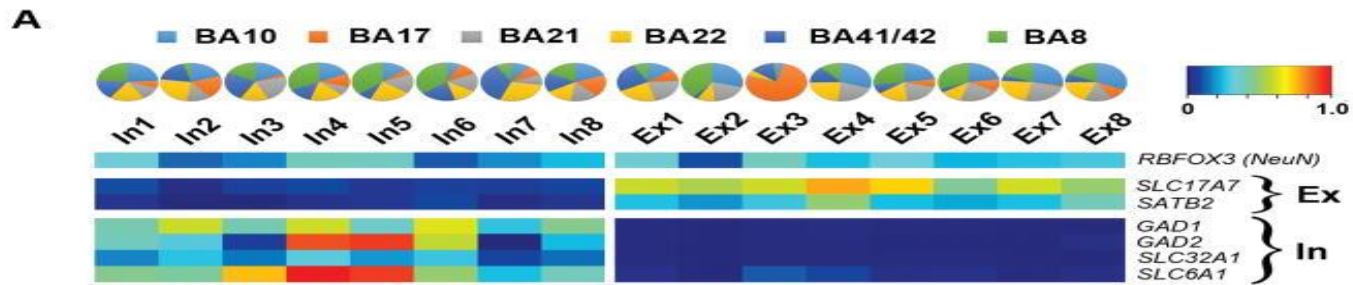
- C1™ 单细胞全自动制备系统基于Fluidigm创新的微流体技术，能够让研究者们快速可靠地分离单个细胞并进行基因组分析。前所未有地将**分离细胞、提取、逆转录和预放大**全过程实现全面自动化，使**细胞活性的检测和分析**成为可能。BioMark HD基因分析系统则整合先进的微流控芯片和qPCR技术，为客户提供芯片的高通量和qPCR的准确性。随着C1™和 BioMark™ HD 系统的广泛应用，Fluidigm 正在成为单细胞基因组学这一新兴领域的佼佼者。它可以让研究者们轻松检测到单细胞水平上的基因组。
- 2013年斯坦福大学的Stephen R Quake研究组在《自然·方法学》上发表了利用C1微流控分离系统的研究论文，对肺癌细胞系HCT116的96个细胞进行了转录组的分析，并对比了6个单管操作的结果，在对比了主要的单细胞转录组扩增试剂SMARTer Ultra Low RNA Kit (Clontech)和the TransPlex Kit (Sigma-Aldrich)之后，发现C1系统在**转录组水平**上，有更好的重复性和数据的稳定性。并证明了C1，已经可以承担大量单细胞分离和cDNA扩增的工作，为后面的转录组研究提供了很好的平台。随后，来自EMBL的John C Marioni和Marcus G Heisler研究组在《自然·方法学》又做了拟南芥和小鼠的单细胞表达谱，也对C1进行来自植物和来自小鼠组织的单细胞转录组研究能力给予了很高的评价。而来自瑞典卡罗林斯卡学院的Sten Linnarsson研究组在《自然·方法学》上发表了关于分子标记和随机扩增的方法结合C1，可以更大程度上保证扩增的线性，从而还原转录组最初的状态的文章。

实验

- 材料：The postmortem brain of a normal,51-year-old female
- 数据：实验测得，文献对比引用
- 技术：single-nucleus RNA sequencing (SNS)



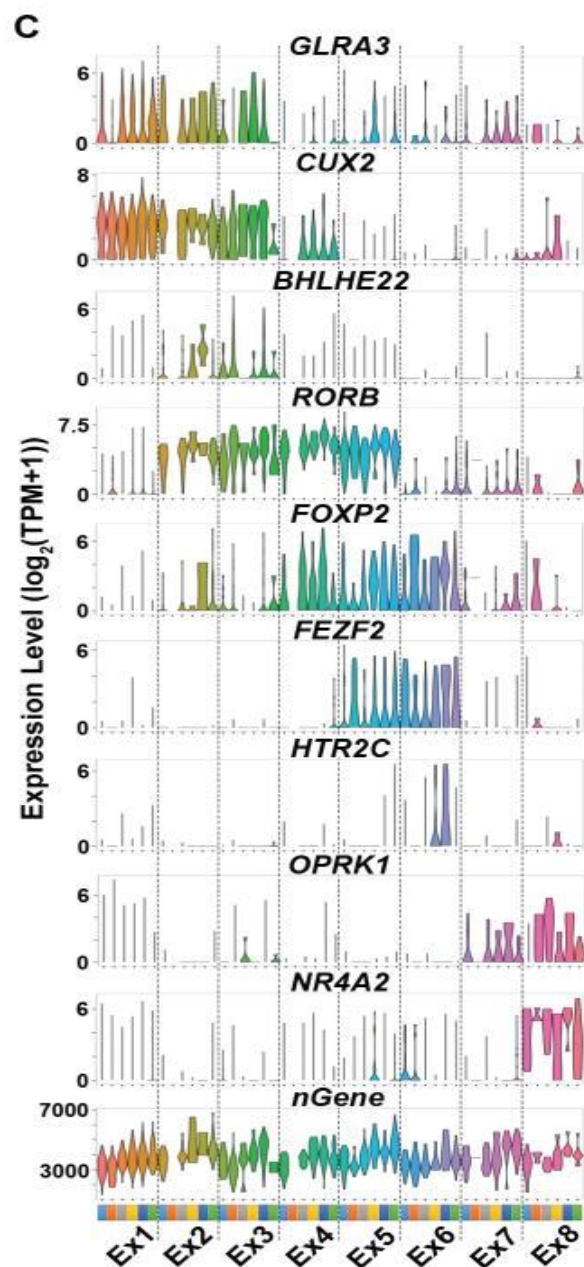
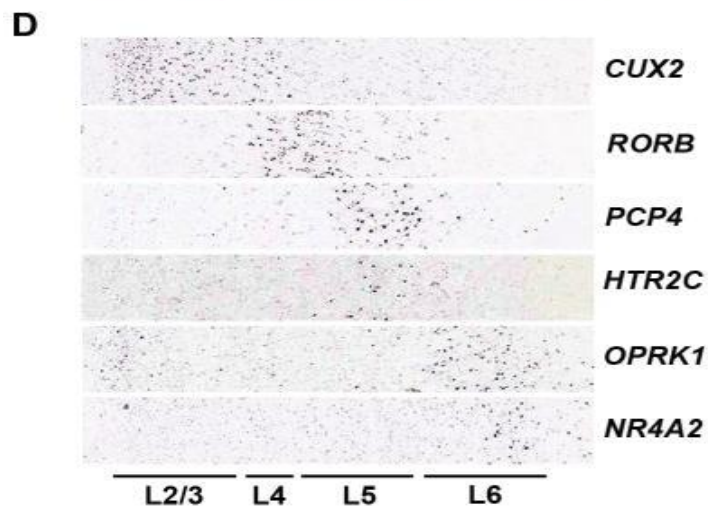
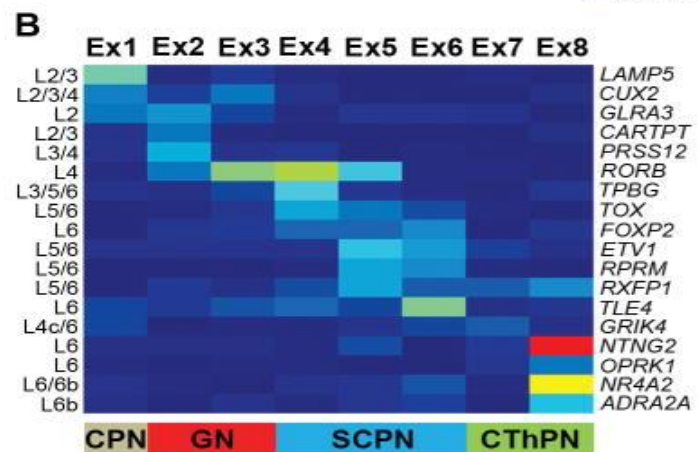
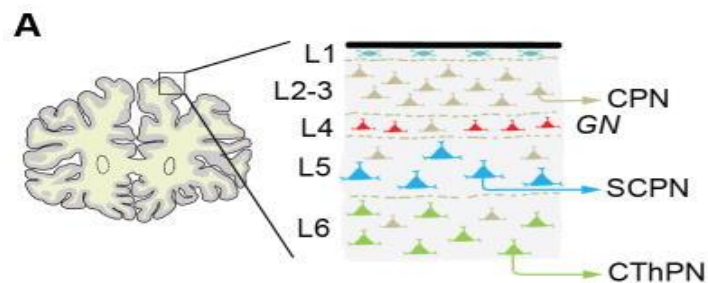
- processed 86 Fluidigm C1 chips and sequenced 4488 single nuclei to an average depth of 8.34 million reads



A,
1, 饼图代表亚型
2, 已知序列比对到各亚型的分布情况

B
1, 图表为子皮层起源的中间神经元, 从底层到top层, 潜在神经元为

C
1, BA区mark基因表达值



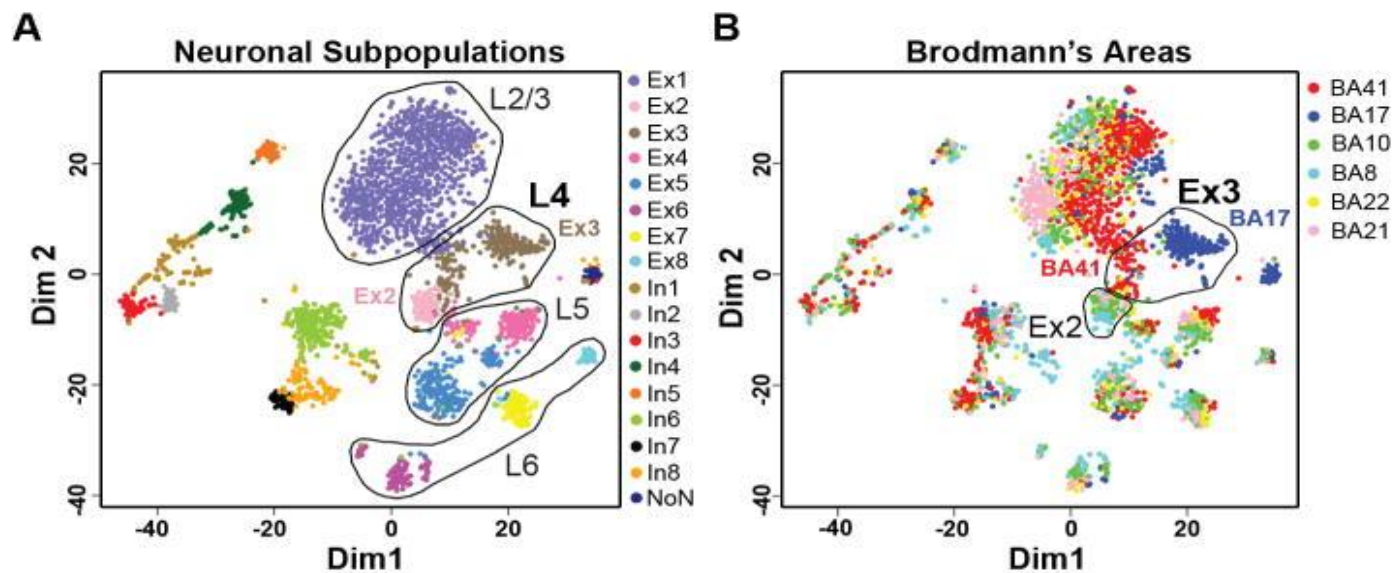
兴奋性神经元亚型表现出明显的空间组织

A, 电路图

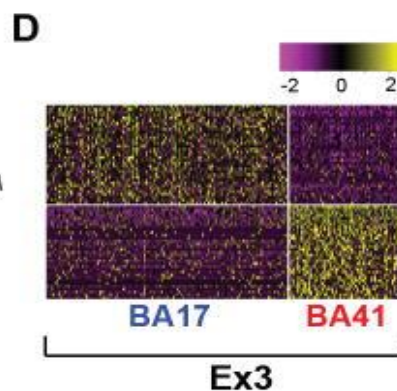
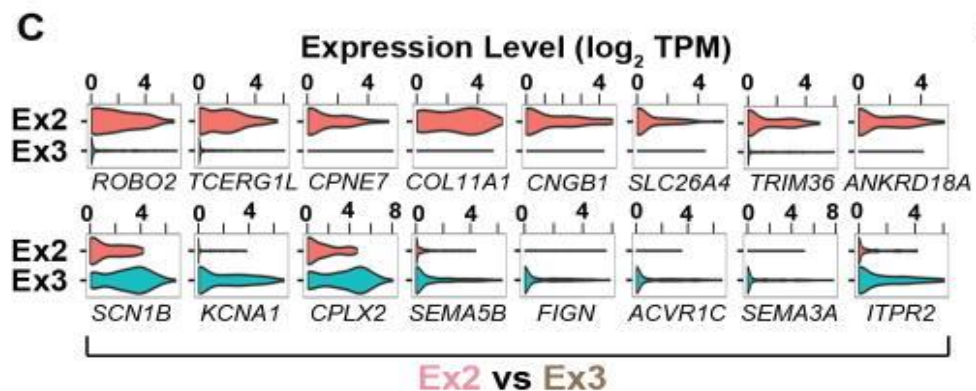
B, 热图

C, violin图

D, 热图基因表达



神经元亚型显示BAS异质性
 多维点显示预测的神经元亚型
 分布基于他们预测的皮层识别



文章内容总结

- 通过一种新技术集成流体通路 (IFCS)，进行人脑单细胞核RNA进行测序，利用已知序列的表达来区别神经亚型。
- 通过热图，基因表达量来区别神经亚型
- 1, postmortem SNS can identify expected and previously unidentified neuronal subtypes (自身实验数据)
- 2, CARTPT, CHRNA7, PDYN, and RELN have ISH differences between individual donors (对比文献数据)
- 3, , our subtypes remain highly conserved in mice, with differences highlighting evolutionary changes in potential orthologs (分析对比文献数据)

优缺点总结

优点

1, 方法

实验主导

数据分析：热图，violin图，饼图，联合运用显示基因差异表达

主流对象:人脑神经元，实验新方法的应用，单细胞分离

研究基础性：以已知基因mark标记未知区域

逻辑性严密

2, 结果

有切实的数据产生实验结果

局限性：

1, 在应用上还具有局限性，仅是区别不同区域

2, 结果偏差性，单个细胞避免了基因间污染，但也会由于个体差异性造成结果差异性代表性，推广性的缺失。同时，文章的单细胞分析对象仅为一个个体(一位女性样本)。

3, 结果显示上，神经元亚型对比结果:人的单细胞SNS实验数据与文献中人与小鼠的数据进行对比，实验方法不一样，能否对比。单个人的亚型分析结果能否推广到其他人，乃至其他动物身上，存疑。

个人杂谈

- 阅读方式：生物信息专业看纯生物文献，先把图看懂。
- 总的来说：实验思路不复杂，一套流程应用到多个对象上，实验工作强度值得认可。实验数据验证理论也是科研文章的主流。细节方法未作深究。如果走测序方向，前面的集成流体通路（IFCS）值得细看，用以测序误差。
- 从生物信息角度评价：
 - 文章主要利用数据为序列信息，小用到百分比。主体以序列信息为主，序列信息分析方法采用SNS，(单核RNA测序技术)。对这一部分，可以详细看看。
 - 文章只采用了一个个体样本进行实验，其他数据为文献数据。其他样本来自 multiple brain banks or repositories。样本数据的获取文献值得收藏，作为今后的研究数据基础。
 - 从专业文本角度可做进一步拓展， multiple brain banks or repositories数据储存，背景信息分类。