

# 基于 GRN 的垂体基因表达差异分析

## 2021 武汉大学本科毕业答辩

郑晖

武汉大学弘毅学堂

2021 年 5 月 13 日



## ① 研究背景与内容

## ② 相关工作

## ③ 实验设计流程

## ④ 实验数据分析

## ⑤ 总结与展望

## ⑥ 致谢

## ① 研究背景与内容

## ② 相关工作

## ③ 实验设计流程

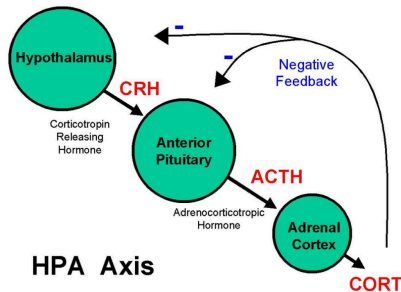
## ④ 实验数据分析

## ⑤ 总结与展望

## ⑥ 致谢

# 研究背景

- HPA 轴是体内的压力反应中心，连接中枢神经系统（CNS）和内分泌系统。
- 作为 HPA 轴组成部分的垂体，在炎症事件调节过程中起到重要的作用。
- 以往探究垂体在中枢神经内分泌炎症调节过程中作用的研究都没有涉及到单细胞转录层级。



# 研究内容

- 我们主要关注不同的垂体细胞如何响应炎症刺激，动态炎症研究将成为我们实验中最重要的一部分。
- 我们将基于病毒或细菌感染建立炎症小鼠模型，并主要使用单细胞转录组测序以及数据分析和数据挖掘来找出炎症、垂体和激素之间的关系。

## ① 研究背景与内容

## ② 相关工作

单细胞 RNA 测序  
基因调控网络

## ③ 实验设计流程

## ④ 实验数据分析

## ⑤ 总结与展望

## ⑥ 致谢

## ① 研究背景与内容

## ② 相关工作

单细胞 RNA 测序  
基因调控网络

## ③ 实验设计流程

## ④ 实验数据分析

## ⑤ 总结与展望

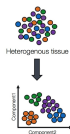
## ⑥ 致谢

# 单细胞 RNA 测序

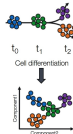
单细胞 RNA 测序 (scRNAseq) 技术提供了在单细胞水平观测基因表达的方法，可以更好地研究以下问题：

- 探究异质性
- 谱系路径分析
- 随机基因表达研究

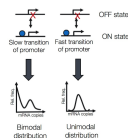
Studying heterogeneity



Lineage tracing study



Stochastic gene expression study





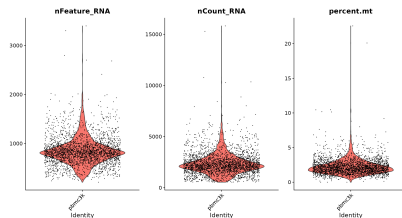
# 单细胞 RNA 测序数据处理流程

- 将原始测序数据转化为基因表达矩阵。



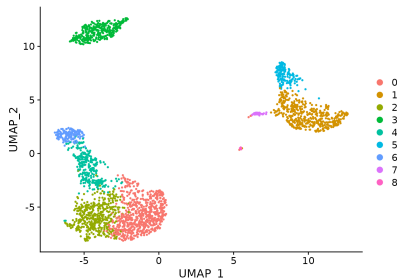
# 单细胞 RNA 测序数据处理流程

- 将原始测序数据转化为基因表达矩阵。
- 对基因表达矩阵进行质量控制。



# 单细胞 RNA 测序数据处理流程

- 将原始测序数据转化为基因表达矩阵。
- 对基因表达矩阵进行质量控制。
- 依据基因表达矩阵进行聚类。



## ① 研究背景与内容

## ② 相关工作

单细胞 RNA 测序  
基因调控网络

## ③ 实验设计流程

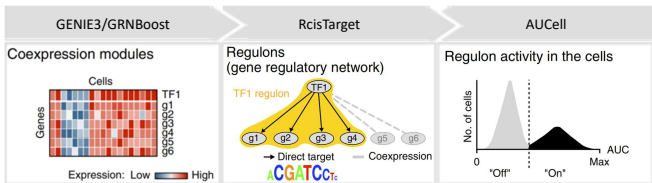
## ④ 实验数据分析

## ⑤ 总结与展望

## ⑥ 致谢

# 基因调控网络

- 基因调控网络（GRN）定义并维持特定于细胞类型的转录状态，这反过来又是细胞形态和功能的基础。
- 基于大规模转录组和表观基因组数据来计算预测 GRN 是一个广泛研究的领域。相关算法包括 GENIE3、GRNBoost2 和 BEELINE 等，在这项研究中我们主要使用基于 GRNBoost2 的 SCENIC，进行基因调控网络推断。



## ① 研究背景与内容

## ② 相关工作

## ③ 实验设计流程

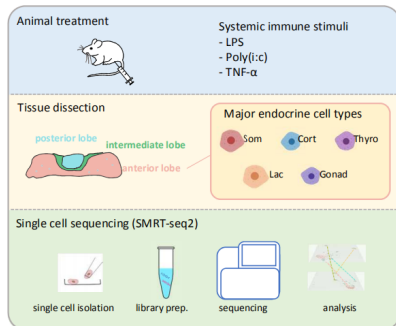
## ④ 实验数据分析

## ⑤ 总结与展望

## ⑥ 致谢

# 实验设计流程

- 建立一个涉及多种免疫刺激剂、多尺度给药剂量与恢复时程的小鼠炎症模型。
- 组织解离、梯度离心分离。
- 使用改进的 Smart-seq2 方法获得垂体单细胞转录组。



## ① 研究背景与内容

## ② 相关工作

## ③ 实验设计流程

## ④ 实验数据分析

测序数据预处理

测序数据 SCENIC 分析

## ⑤ 总结与展望

## ⑥ 致谢



## ① 研究背景与内容

## ② 相关工作

## ③ 实验设计流程

## ④ 实验数据分析

测序数据预处理

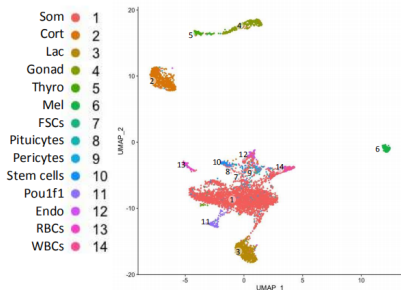
测序数据 SCENIC 分析

## ⑤ 总结与展望

## ⑥ 致谢

# 测序数据预处理

- 对基因-细胞矩阵进行质量控制、降维可视化。
- 依据各细胞类型已知的基因 marker 对数据进行标注。
- 留下 Som、Cort、Lac、Thyro 以及 Gonad 五类细胞，进行进一步分析。



## ① 研究背景与内容

## ② 相关工作

## ③ 实验设计流程

## ④ 实验数据分析

测序数据预处理

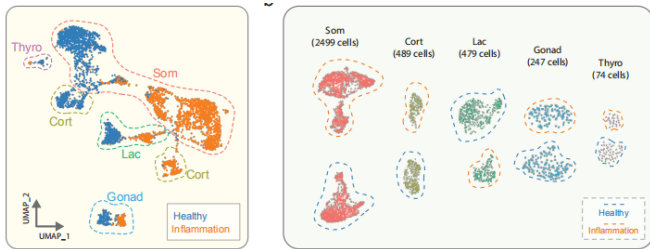
测序数据 SCENIC 分析

## ⑤ 总结与展望

## ⑥ 致谢

# 测序数据 SCENIC 分析

我们对筛选出来的测序数据进行 SCENIC 分析，以推断其潜在转录因子及对应目的基因。对输出的 AUC-score 矩阵进行降维聚类，并用其聚类结果作为细胞是否处于炎症状态的判别标准。





# 分析不同细胞在炎症状态下的基因表达差异

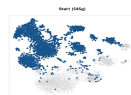
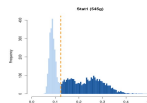
- 我们进一步分析了垂体中不同细胞在两种状态下的差异表达基因集合。
- 同处于炎症状态，垂体中不同细胞应对炎症所做出的基因表达调整并不一致。
- 在中枢神经内分泌系统处于炎症状态时，垂体内各类细胞会采取不同的应激方式，组成一个调节炎症反应的复杂系统。



# 分析导致炎症状态的转录因子

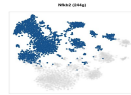
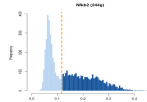
- 寻找具备双峰分布或者重尾分布的转录因子，对其自适应二值化后可以很好地与 SCENIC 标签匹配起来。
- Stat、Irf 以及 Nfkb 等转录因子家族没有展现出细胞种类的特异性，是垂体参与中枢神经内分泌炎症调节过程中的 Master Regulator Genes (MRs)。

Stat1(545g)



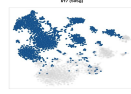
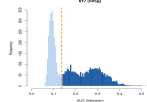
Cells with AUC &gt; 0.10

Nfkb2(244g)



Cells with AUC &gt; 0.10

Irf7(505g)



Cells with AUC &gt; 0.10

## ① 研究背景与内容

## ② 相关工作

## ③ 实验设计流程

## ④ 实验数据分析

## ⑤ 总结与展望

## ⑥ 致谢



# 主要贡献

- 建立了一个涉及多种免疫刺激剂、多尺度给药剂量与恢复时程的小鼠炎症模型，并在单细胞水平上提供了其垂体细胞测序数据。
- 揭示了不同种类垂体细胞在参与中枢神经内分泌炎症调节的过程中的转录水平差异，表明其在炎症调节过程中扮演不同的角色。
- 发现了一类在不同种类垂体细胞中统一表达的转录因子，表明其在垂体参与中枢神经内分泌炎症调节过程中的重要地位。

# 未来工作

- 在给以小鼠  $TNF - \alpha$  刺激之后，其部分垂体细胞在经历 UMAP 可视化降维之后，呈现出与其他炎症状态细胞相分离的现象。
- 进一步探讨面对不可恢复炎症刺激与可恢复炎症刺激时垂体细胞在转录水平上的差异，揭示由健康 (healthy) 状态向这两种炎症 (inflammation) 状态转变的关键转录因子。

## ① 研究背景与内容

## ② 相关工作

## ③ 实验设计流程

## ④ 实验数据分析

## ⑤ 总结与展望

## ⑥ 致谢

# Thanks

# Thanks!

- 指导老师：蔡朝晖、罗敏敏
- 答辩学生：郑晖（2017300030039）