

下一步分析建议

基于空间转录组测序 的下一步分析建议



- www.oebiotech.com -



声明

欧易生物在此声明：

一、本方案仅供客户作为项目研究的参考。

二、本方案不排除以下可能：

- 1) 方案存在未列入其中的项目风险；
- 2) 方案的合理性和可行性存在部分疏漏；
- 3) 项目的实际结果产出与预期存在一定程度的偏差；
- 4) 项目存在其他未知的风险因素。

三、项目实际实施方案，请客户根据具体情况予以确定。



一、分析方向

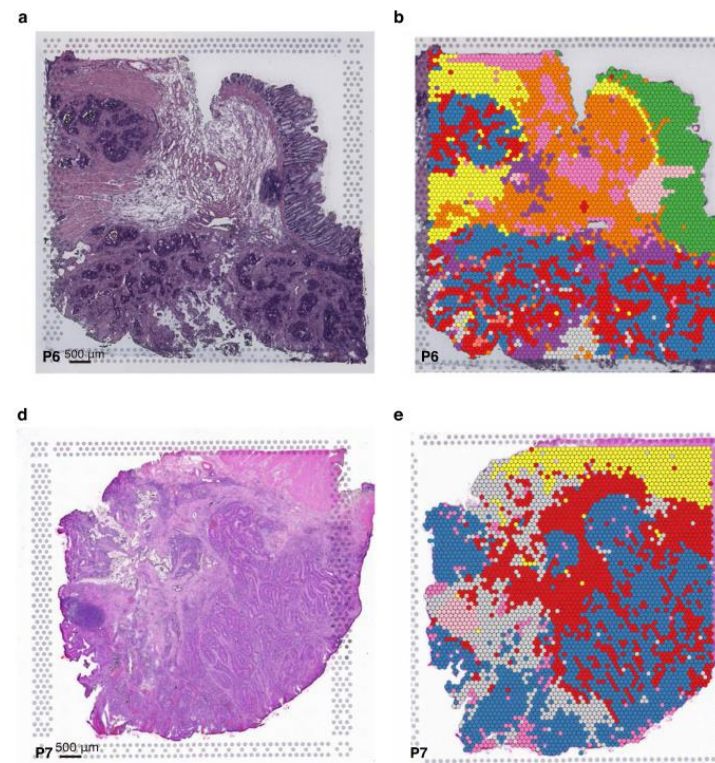
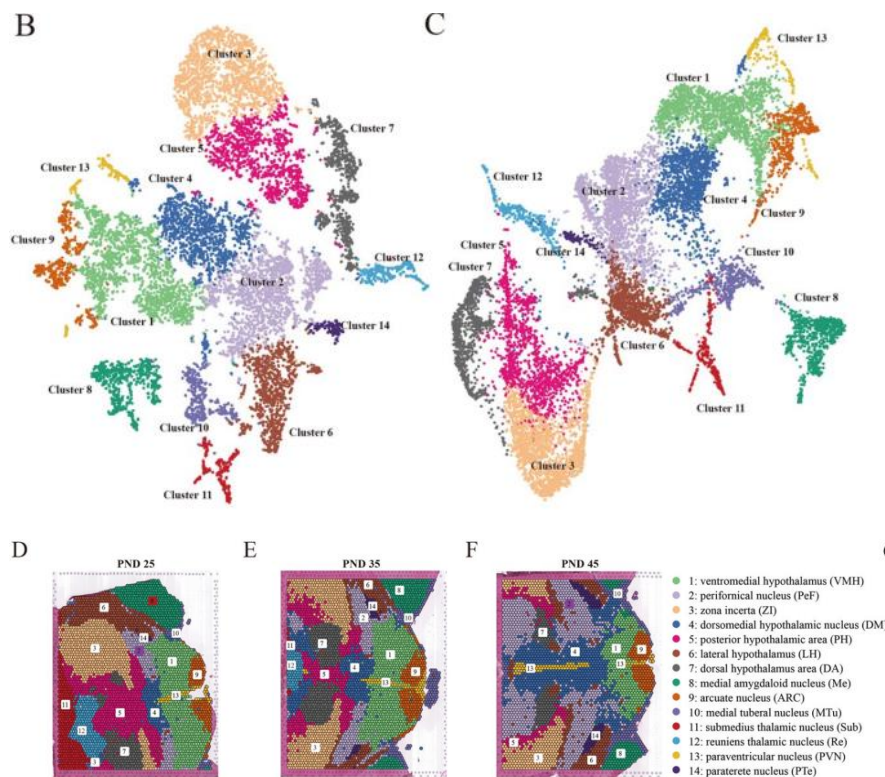
1. 仅空间转录组数据
2. 结合单细胞转录组

空间转录组数据挖掘视频链接: https://www.bilibili.com/video/BV1434y1W7nm/?spm_id_from=333.337.search-card.all.click

方向1：仅空间转录组数据

分析之前需要明确的几点

1. 先确定空间切片的特征（癌和癌旁？不同脑区？损伤和非损伤.....）
2. 同一个切片中具有不同空间结构的情况，是否要不同的区域分开讨论？
3. 单张切片内部的区域比较，还是同一区域不同分组的比较？



方向1：仅空间转录组数据

研究思路参考

1 对于**空间转录组**数据，首先通过HE染色，判断切片部位是否为关注的位置，靶向位置确定后，即可进行后续分析，可从以下维度进行后续分析：

1.1 先确定切片是否具有不同的组织结构，如不同脑区、肿瘤和非肿瘤等，确定好区域等，可以考虑进行同一个位置的组间差异分析（分组比较），或不同组织区域之间的比较（单张切片内部）。**注意空转spots的聚类，有时候和空间结构能一一对应，某种情况下能通过调整cluster直接用于后续分析；**

1.2 如果有关注的基因、通路等目标信息

- 1) 可以考虑直接将目标分子、通路等信息进行空间映射，分析这些分子的富集区域；
- 2) 结合分子定位的区域，筛选区域内的分子指标、GO/KEGG、转录因子等信息，和重点关注的内容建立联系；
- 3) 能在空间上还原细胞类型的信息，是每个科研工作者都想实现的内容，鉴于没有单细胞数据的支持，可以考虑针对本组织类型的细胞类型信息（可以结合公开的单细胞数据），下载单细胞数据做整合，或整理对应组织的细胞类型marker基因，在空间上做评分，以此来分析不同空间位置上的细胞类型组成差异（甚至是组间的细胞类型差异）；

方向1：仅空间转录组数据

研究思路参考

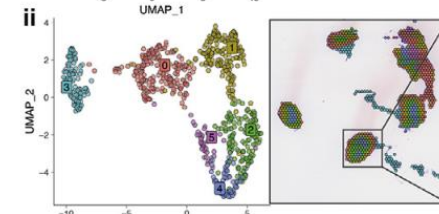
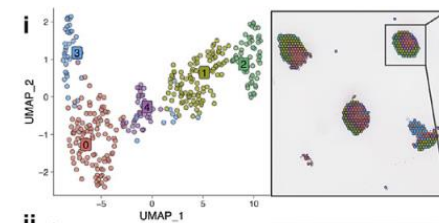
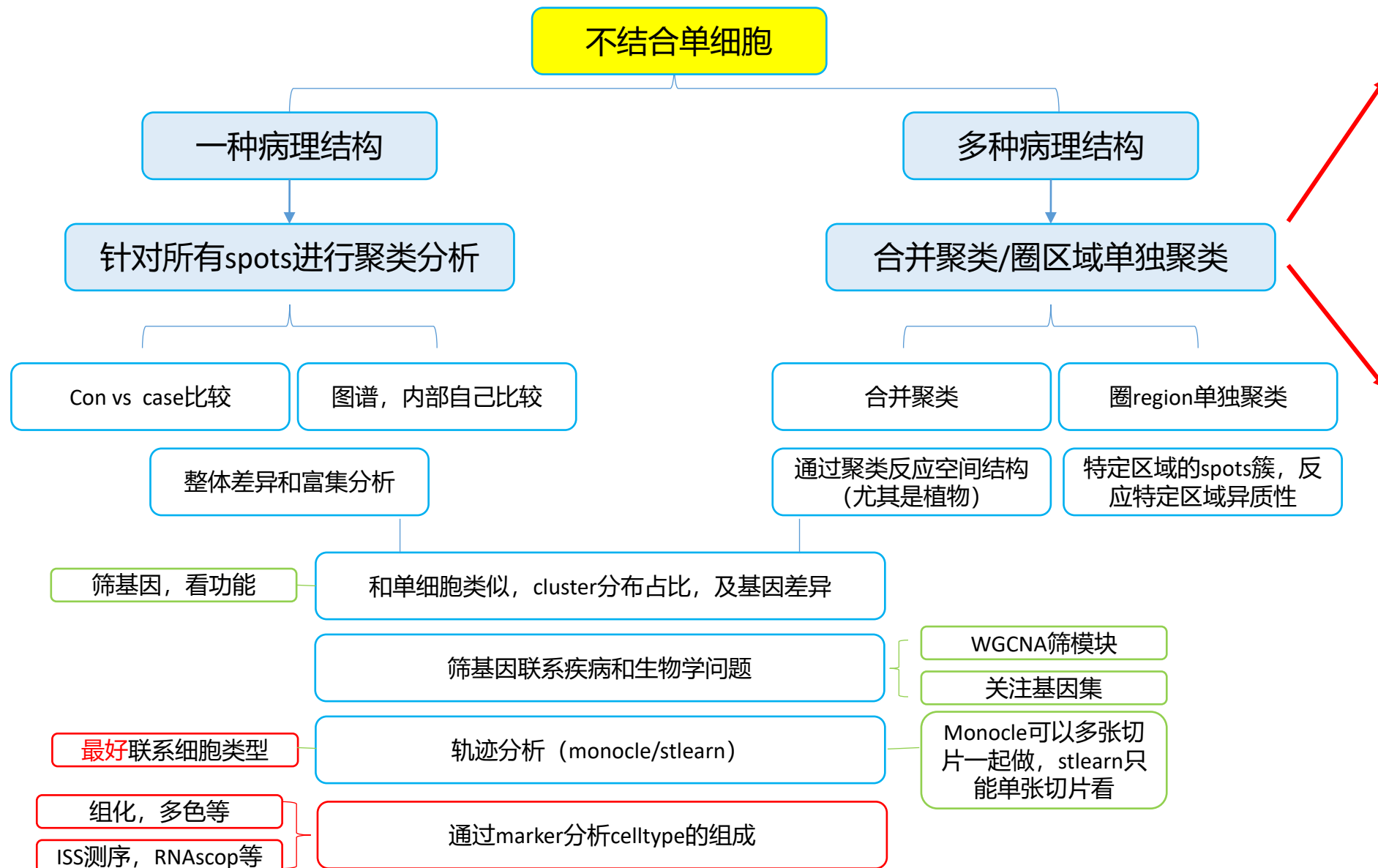
- 4) 结合3) 的celltype信息，可以和2) 的分子指标，GO/KEGG等进行关联，推测组间/不同空间结构的分子/通路差异，主要由于那些celltype的改变和定位决定的，实现信息多样化；
- 5) 鉴于组织内部的celltype信息分布多样性，多细胞之间可能存在互作，因此可以针对某一空间位置的spots或者cluster做通讯分析，找到关键细胞之间的通讯关系，及不同距离下各细胞之间的分布特征；
- 6) 针对肿瘤或者发育类的样本，也可以结合空间拟时序分析进行挖掘。

1.3 如果没有重点关注的信息

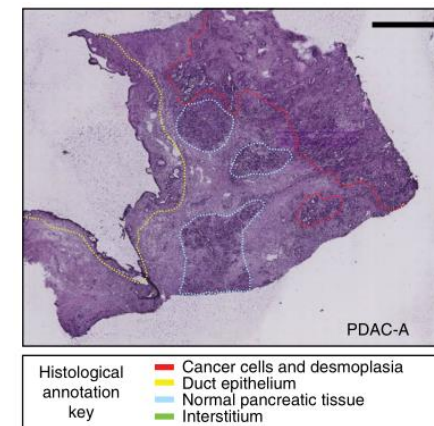
- 1) 可以考虑直接针对关注区域（客户选定）进行组间差异分析，或者针对单张切片的不同区域（或者cluster区域）进行marker筛选，首先确定下一步的分析方向；
- 2) 结合上述的基因，可以考虑从top10（看有没有能和生物学问题联系上的），或者上述marker的富集结果锁定相关的目标；
- 3) 其余分析，和上述1.2 3) -6) 的策略一样，可以进行参考。

提醒： celltype的信息不是必须的，如果老师想要针对某一个分子进行重点分析和挖掘验证的话，也是可以的。

方向1：仅空间转录组数据



David Fawcner-Corbett et al. Cell 2021

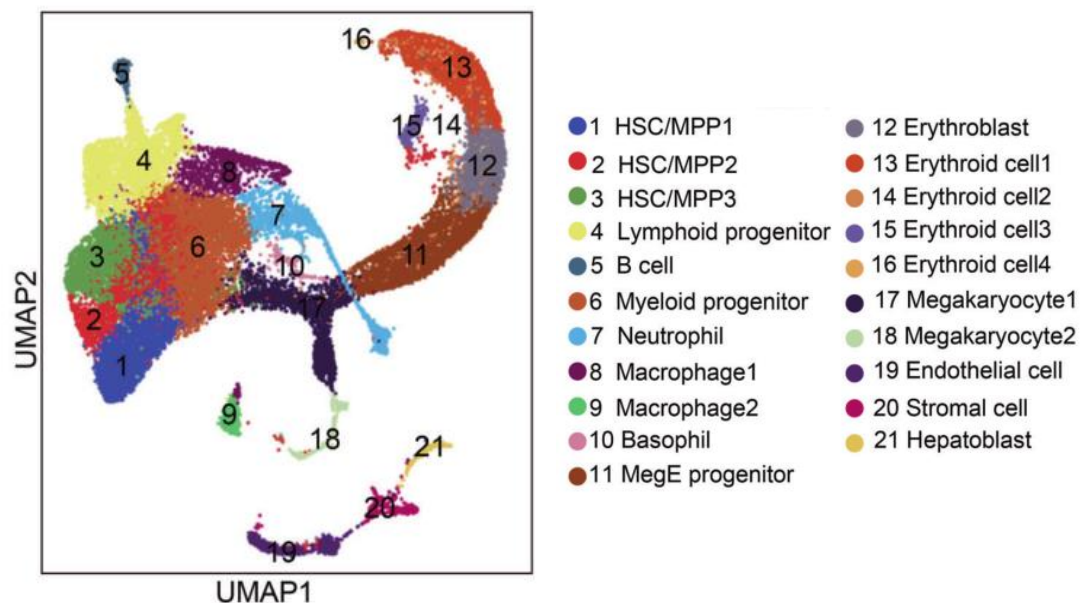
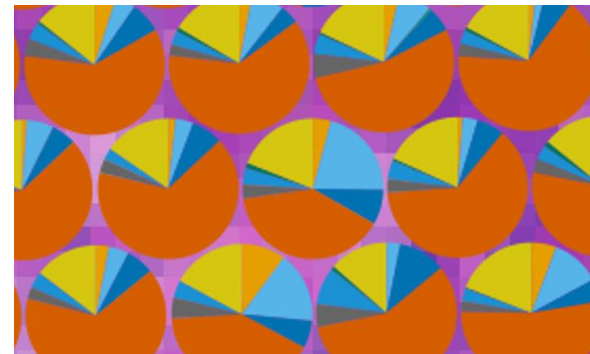


Reuben Moncada et al. NBT 2020

方向2：结合单细胞转录组

联合分析

1. 单细胞获得细胞类型的鉴定结果和表达谱（可以自己做或者公共数据库数据下载）
2. 利用单细胞数据进行反卷积鉴定空转中各spots的细胞组成和占比
3. 优势细胞筛选，关注区域细胞微环境分析等
4. Crosstalk分析（聚焦空转celltype）



一、本课题方案设计

研究思路参考

- 1 针对单细胞转录组和空间转录组数据，分别进行质控和后续数据分析；
- 2 对于**单细胞转录组**测序数据，首先得到样本的细胞图谱信息，明确两组间的细胞类型组成和占比，这些区别的发生可能与**XXX疾病**发生/进展存在一定关系。在得到细胞图谱后，可从以下维度进行后续分析：
 - 1) 可将差异的细胞类型进行亚型分析，从subcluster角度出发，分析某种细胞类型的异质性，找到和**XXX疾病**具有显著相关的细胞亚型，探究其基因表达和功能特征，尤其相关通路和功能的富集情况；
 - 2) 通过拟时序分析相关细胞的发育轨迹，探究细胞发育过程以及在**XXX疾病**过程中基因的变化趋势，可以寻找出关键基因的变化并进行功能分析；
 - 3) 细胞通讯分析构建相关细胞的相互作用网络，探究细胞间关键的配体-受体信息，比较**XX组**和**XXX组**组间细胞通讯网络构成的差异；
 - 4) 从转录因子角度出发探究关键细胞群中相关的调控子（SCENIC分析），寻找关键转录因子并进行体外验证。
- 3 对于**空间转录组**数据，首先通过HE染色，判断切片部位是否为关注的位置，靶向位置确定后，即可进行后续分析，可从以下维度进行后续分析：

一、本课题方案设计

1) 根据HE结果，进行区域划分：分析不同区域以及不同组间的基因表差异，及差异基因相关的功能和通路差异；

2) 基于spots簇的分析：和单细胞分析类似，可基于spots进行聚类分析，探讨同区域内部的异质性；

3) 单细胞的空间定位分析：这部分可联合单细胞一起分析，可将单细胞中鉴定到的细胞类型或某种细胞的亚型，映射到空间位置上进行分析，探究不同区域细胞类型或亚型的分布差异，甚至同一区域，细胞类型共定位情况，以此来揭示XXX疾病的特征，以及哪些细胞之间可能存在的相互作用，由此推断发病机制。

4) 其余分析内容参考方向1-1.2的3) -6) 分析策略，如果存在分组可以考虑重点关注差异。

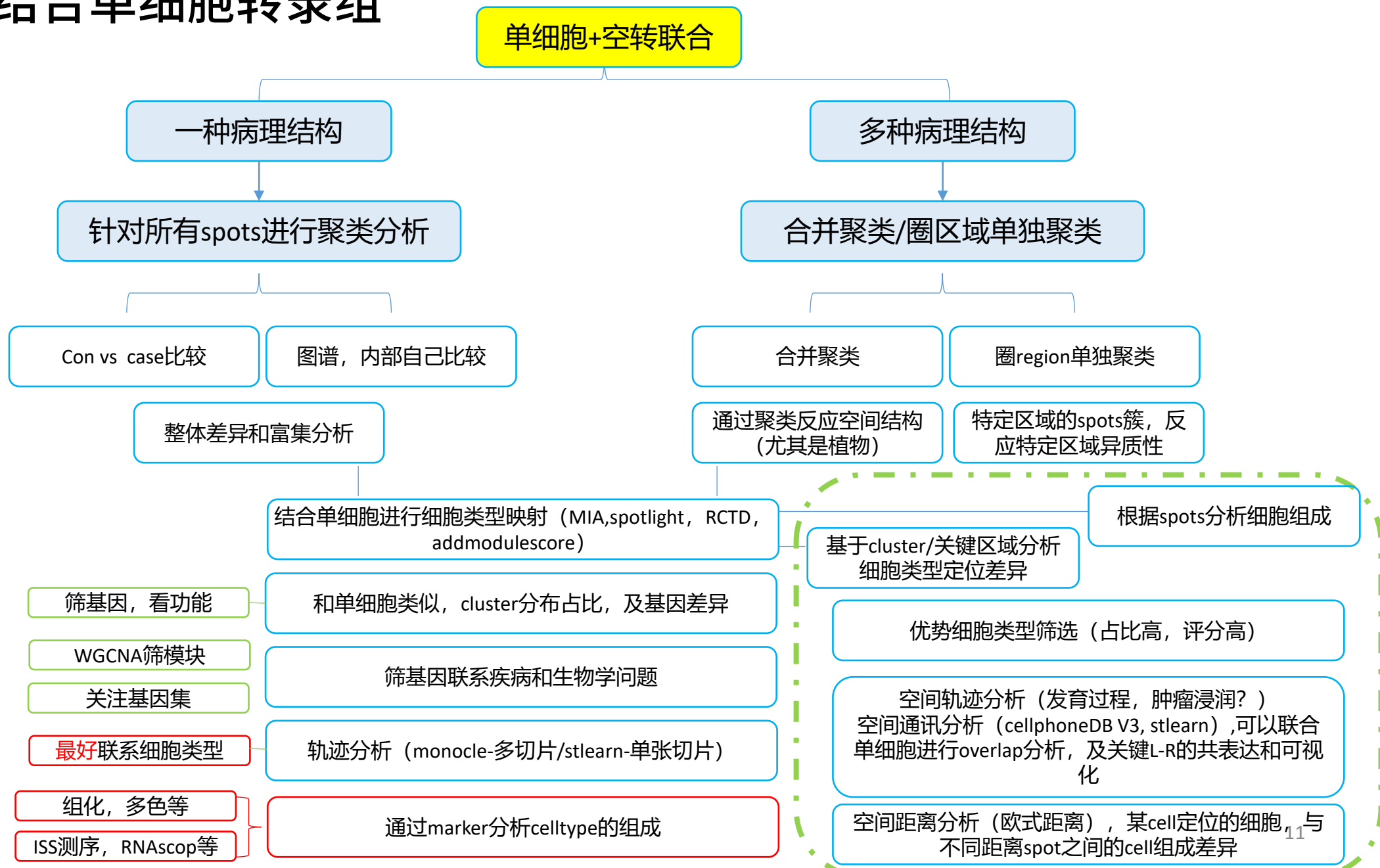
4 后续验证（提高文章影响因子的重要方式）

1) 简单的验证，可增加免疫荧光实验（多色是常用的验证方式）等；

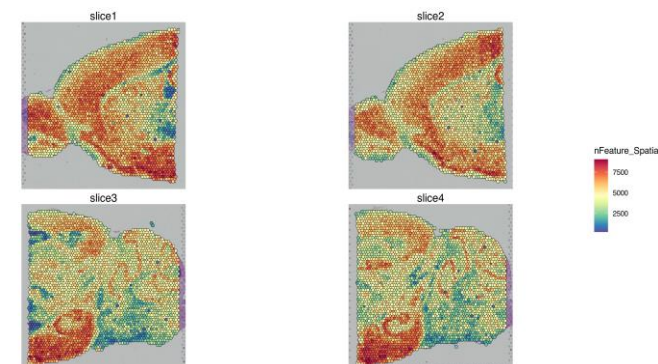
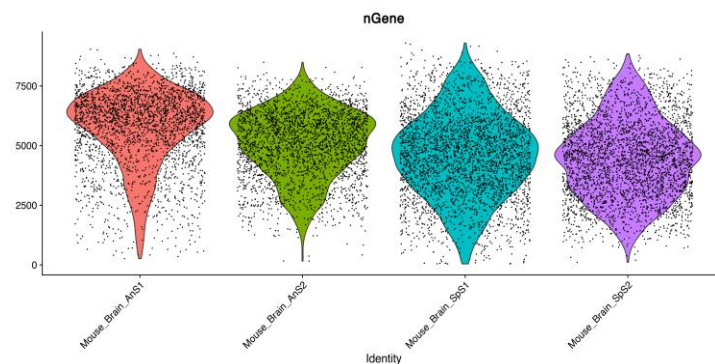
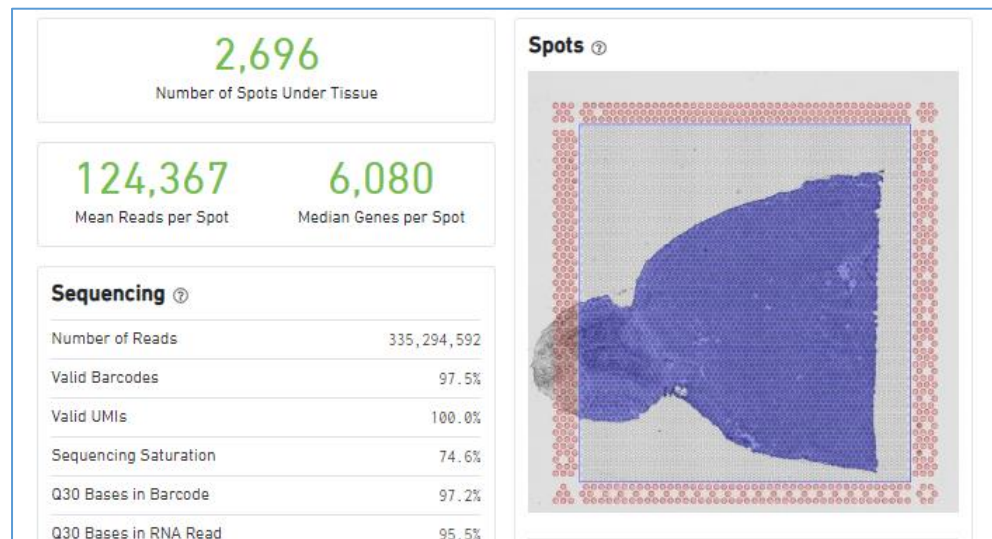
2) 深入的验证，可在细胞层面进行敲降，过表达，共培养等；

3) 可针对关键的基因进行敲除，过表达等造模实验。

方向2：结合单细胞转录组



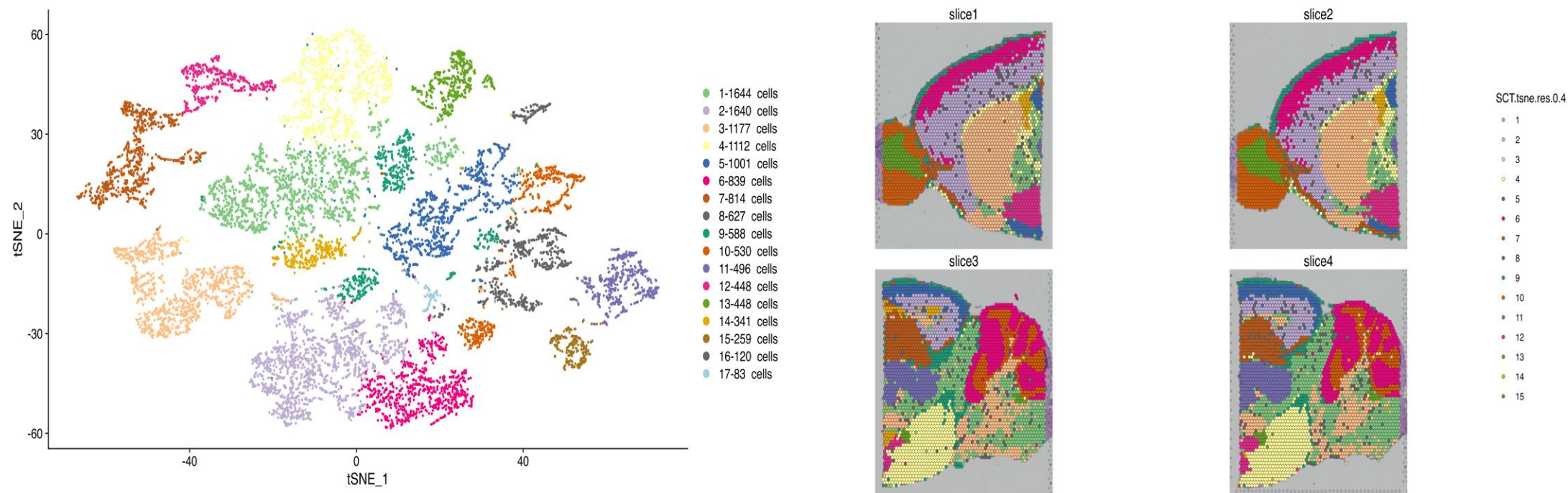
二、分析内容参考——空间转录组之数据质控和标准化分析



10x Genomics 官方软件 Space Ranger

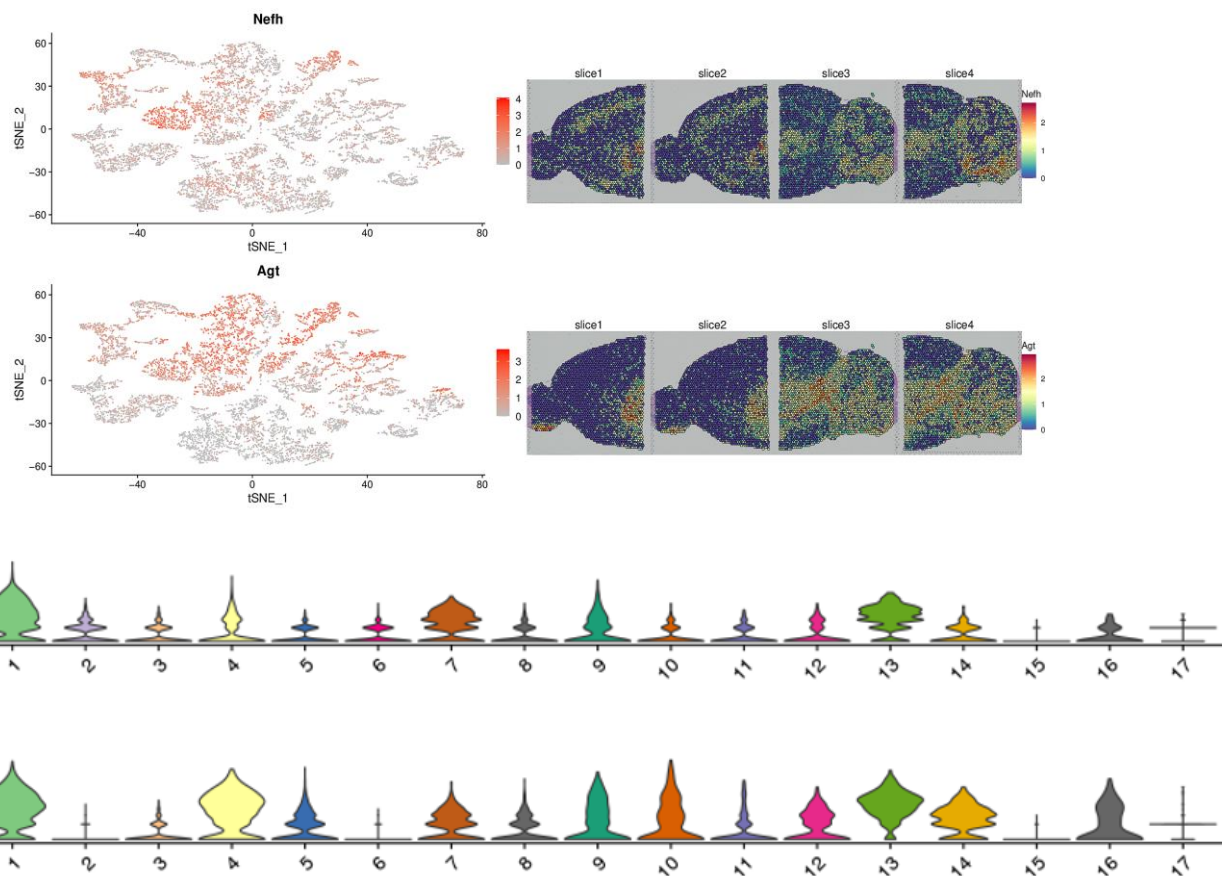
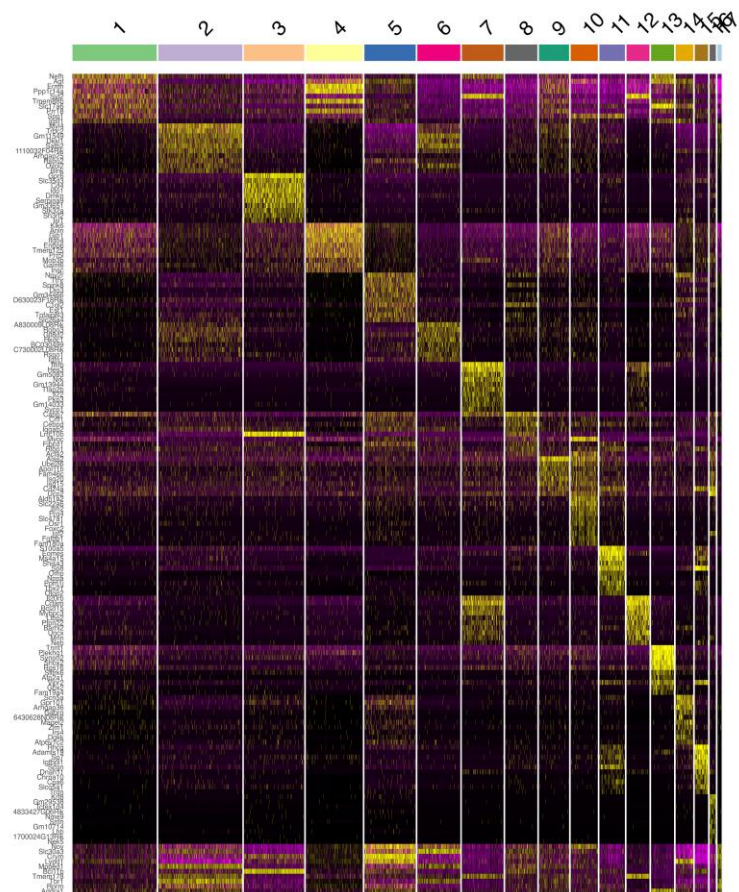
参考：分样本进行空间转录组测序，数据质控和标准化分析。

四、分析内容参考——空间转录组之降维、聚类 and 可视化



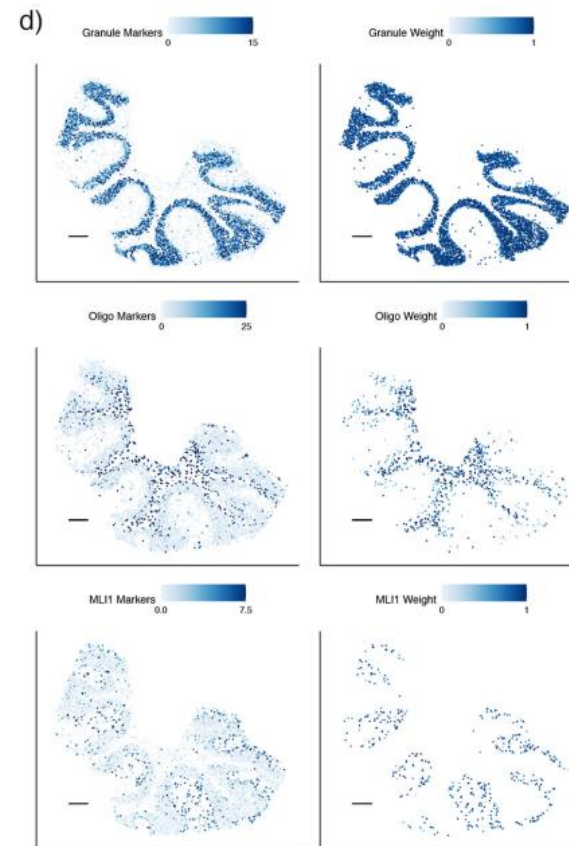
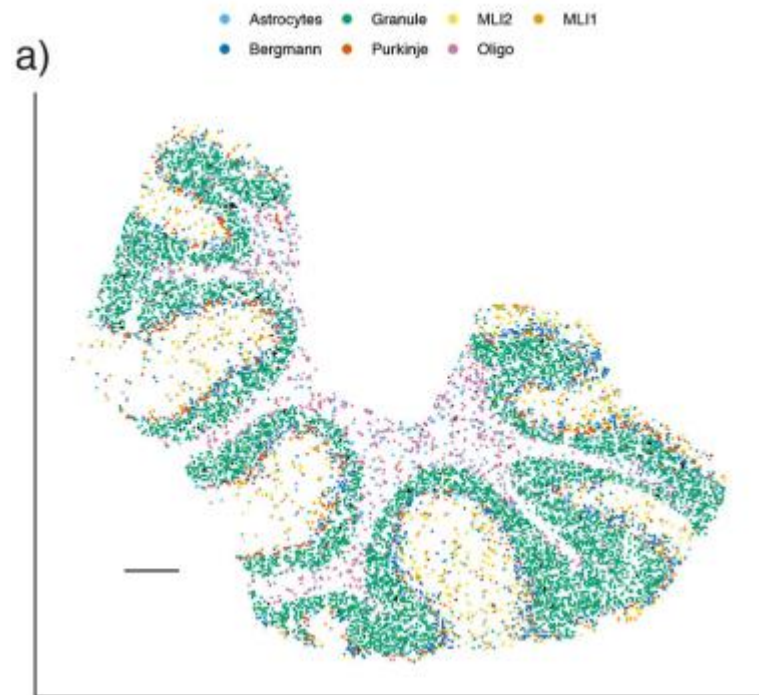
参考：不同群细胞以不同颜色区分。

三、分析内容参考——空间转录组之空间特征基因表达



参考：鉴定marker基因。

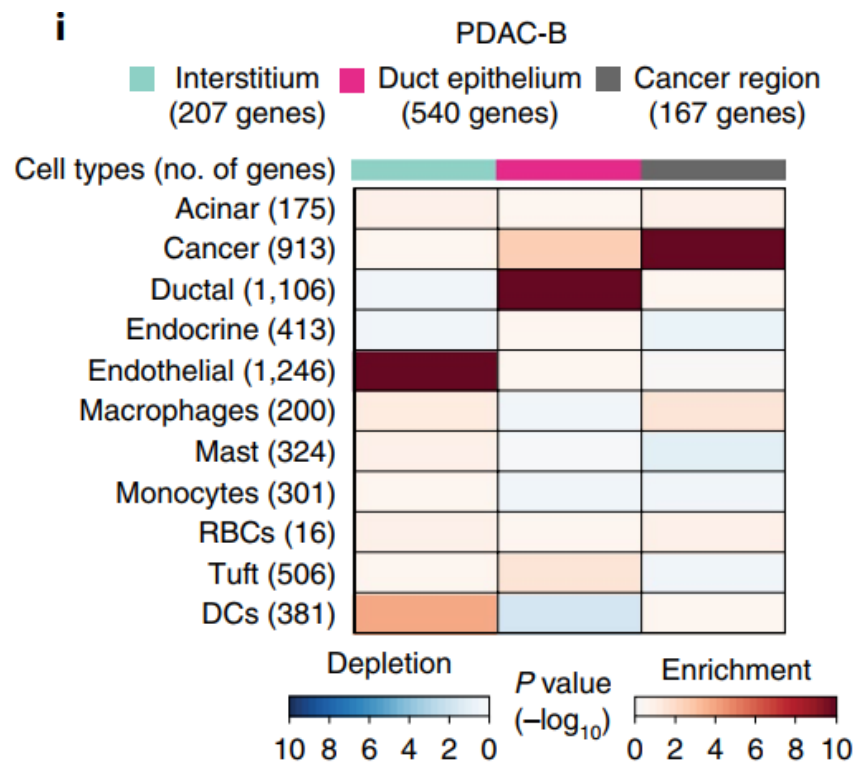
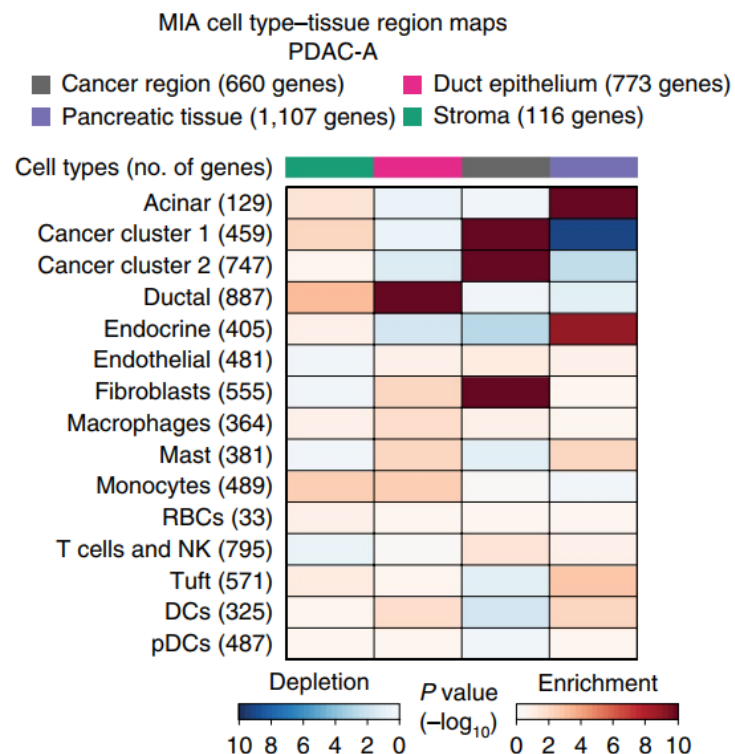
三、分析内容参考——单细胞转录组与空间转录组联合分析 (RCTD)



Dylan M. Cable et al, Nat Biotechnol. 2022

参考：联合单细胞和空转数据，从空间角度进行细胞类型共定位。

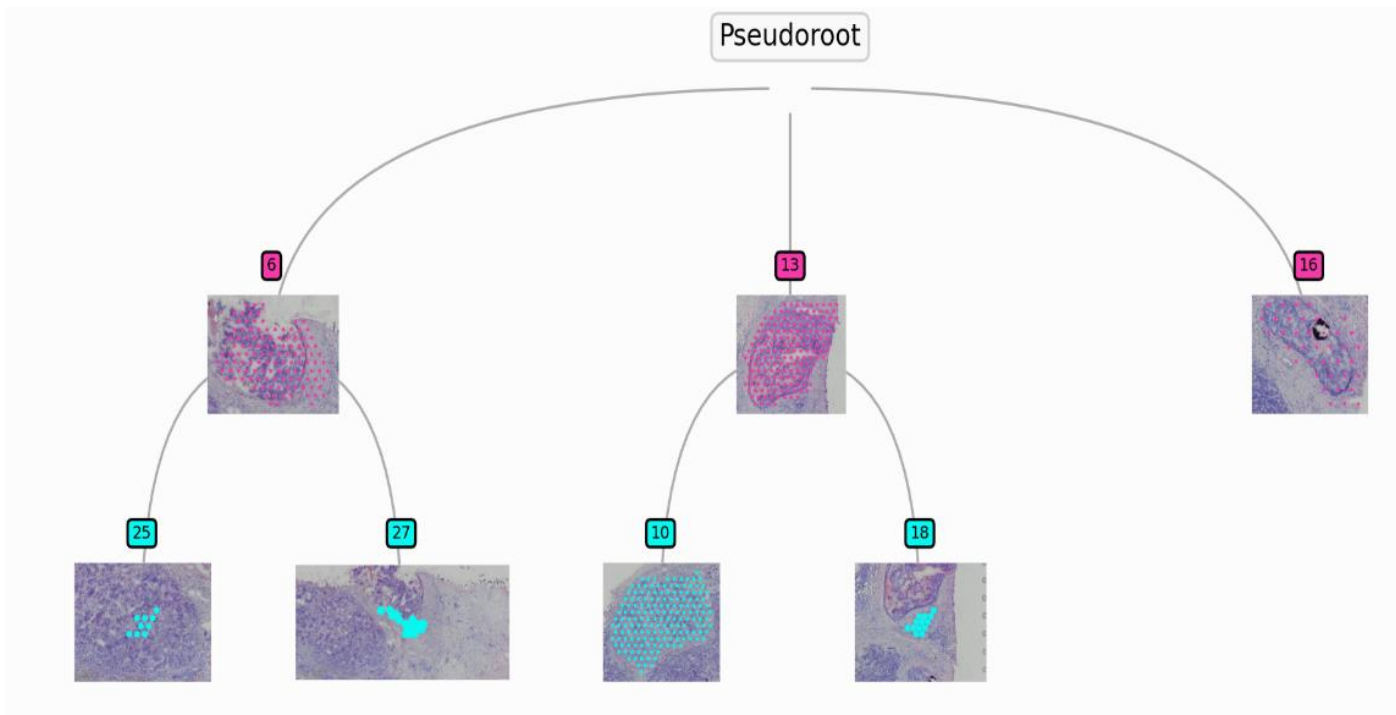
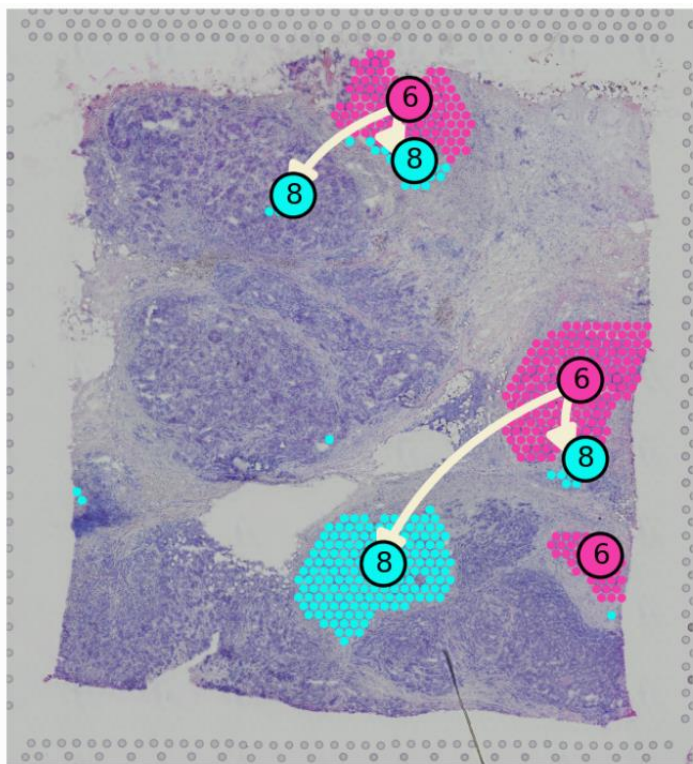
三、分析内容参考——单细胞转录组与空间转录组联合分析 (MIA)



Reuben Moncada et al. NBT 2020

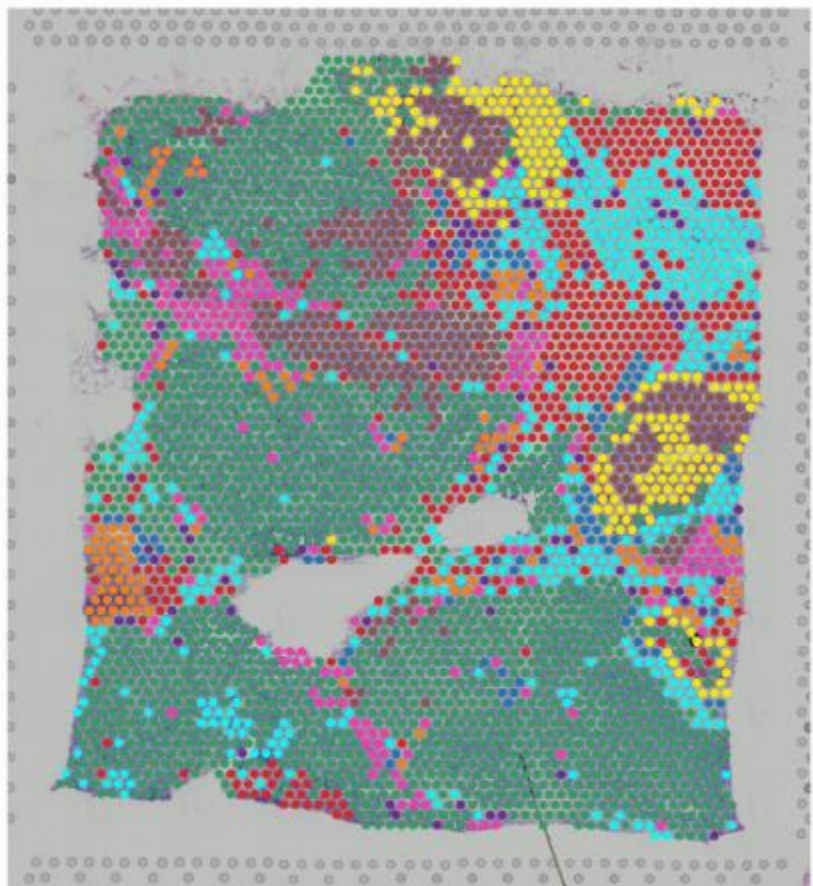
参考：联合单细胞和空转数据，从空间角度进行细胞类型共定位。

三、分析内容参考——空间转录组之空间拟时序分析 (stLearn)

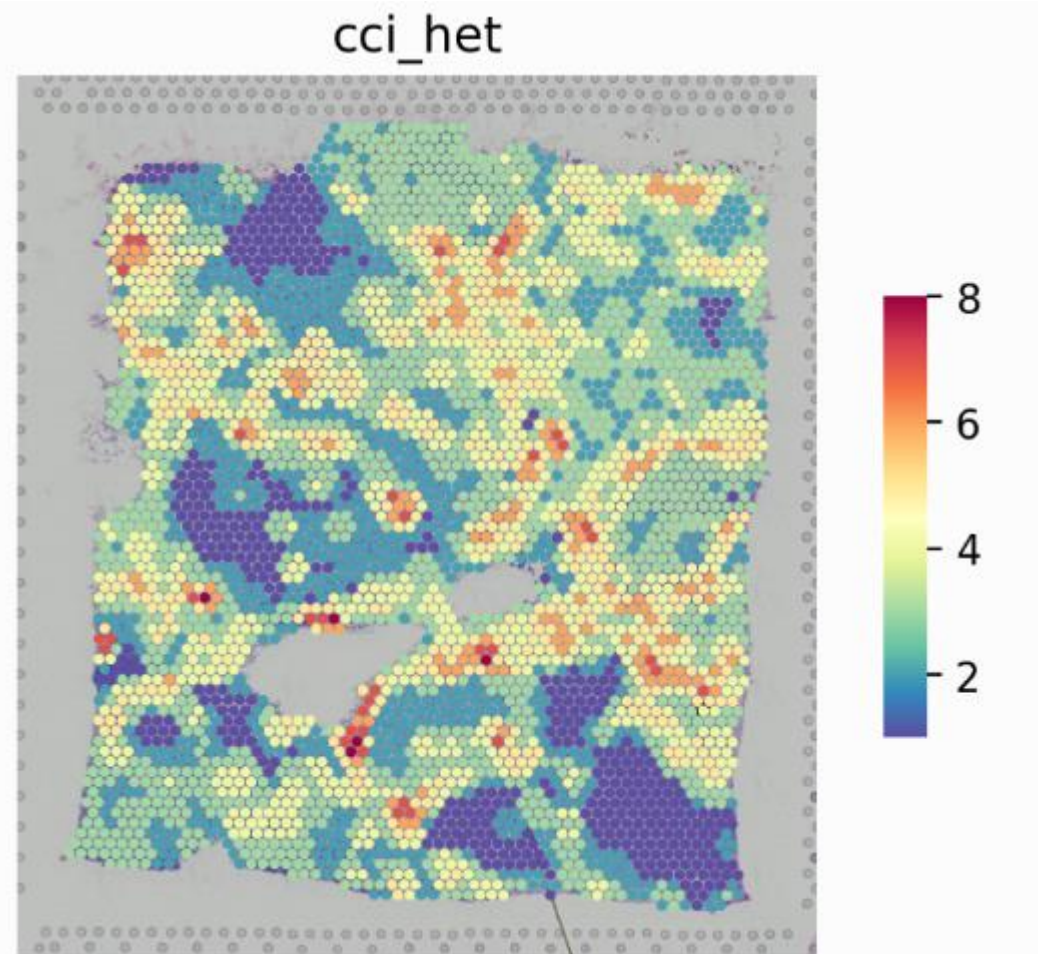


参考：从空间分布角度，推测疾病发生过程中细胞的变化轨迹。

三、分析内容参考——空间转录组之空间通讯分析（stLearn）



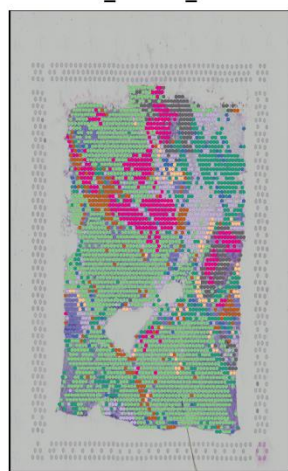
- Bcell
- Tcell
- basal_like_1
- basal_like_2
- endothelial
- luminal_ar
- macrophage
- mesenchymal
- stroma



参考：研究关键细胞群间的相互作用，寻找关键细胞间作用，由此推断影响疾病发生的因素。

三、分析内容参考——空间近邻分析

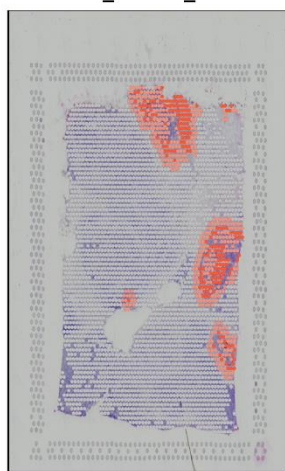
human_breast_cancer



celltype

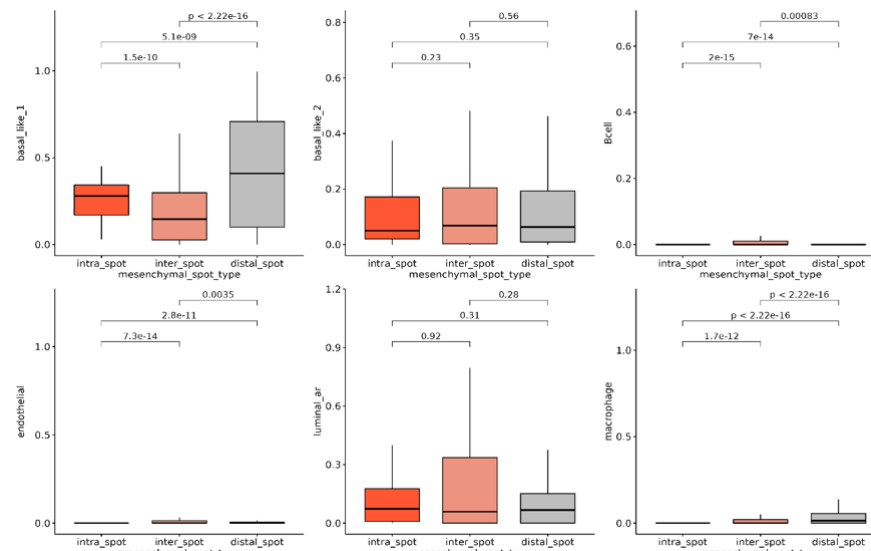
- basal_like_1
- basal_like_2
- Bcell
- endothelial
- luminal_ar
- macrophage
- mesenchymal
- stroma
- Tcell

human_breast_cancer

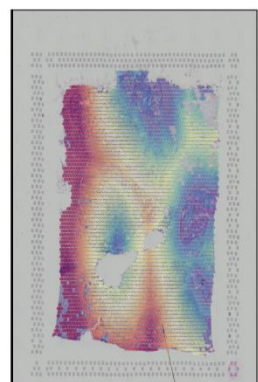


mesenchymal_spot_type

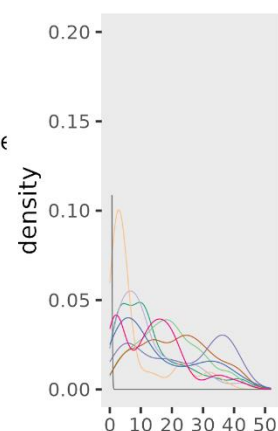
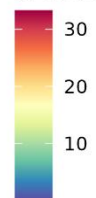
- intra_spot
- inter_spot
- distal_spot



human_breast_cancer



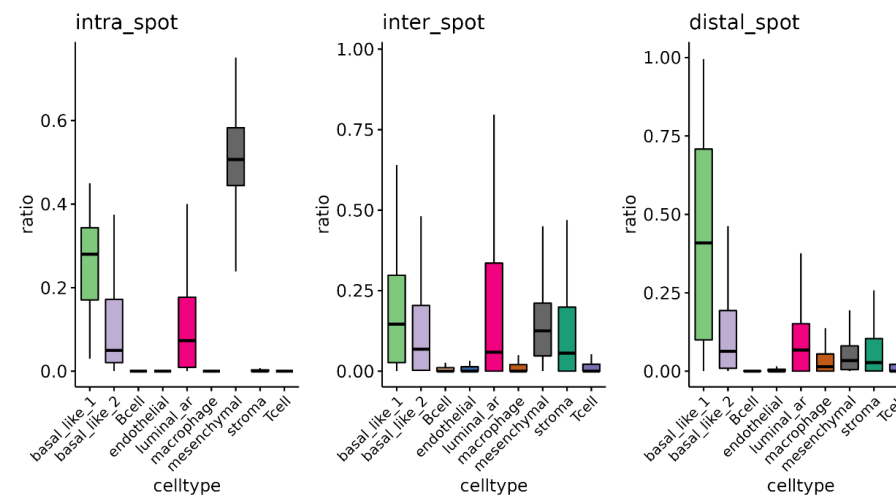
mesenchymal_distance



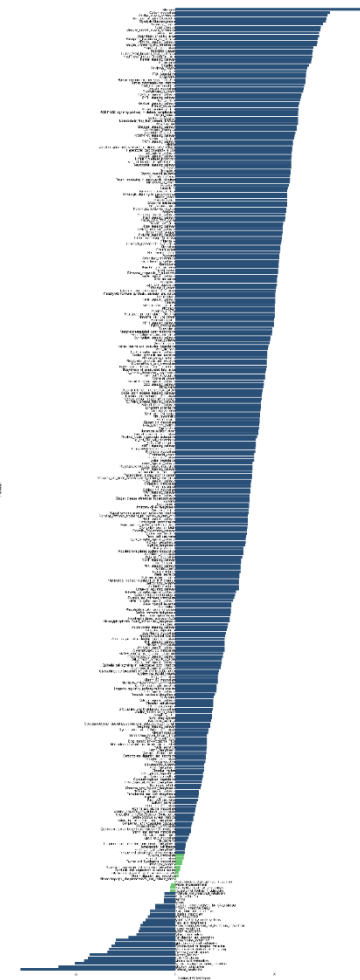
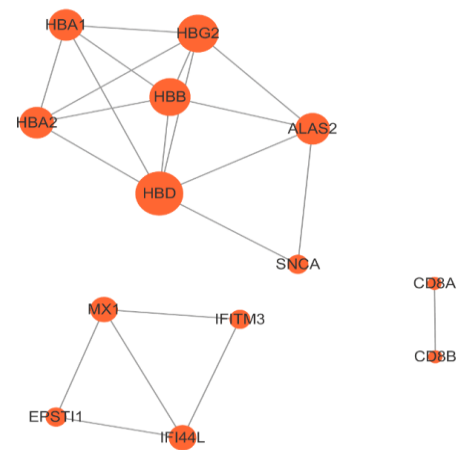
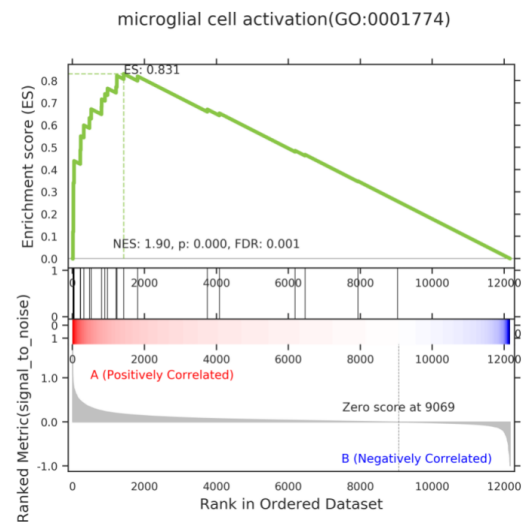
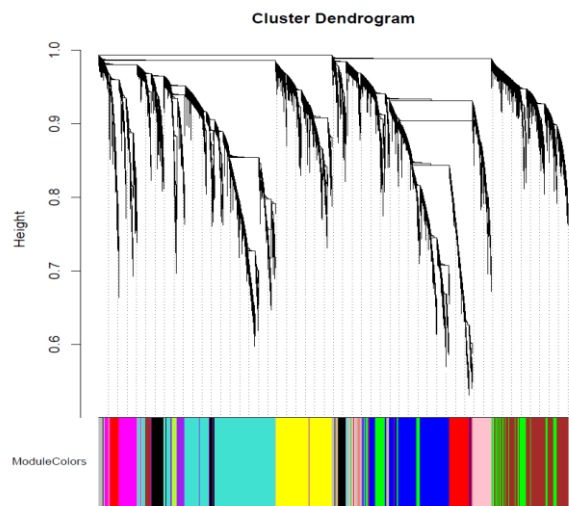
celltype

- basal_like_1
- basal_like_2
- Bcell
- endothelial
- luminal_ar
- macrophage
- mesenchymal
- stroma
- Tcell

distance to mesenchymal of human_breast_cancer



三、分析内容参考——其他个性化分析



WGCNA (基因共表达)、PPI (蛋白互作)、GSEA/GSVA (基因集富集/变异分析)，可根据需求选择。

THANKS FOR LISTENING

感谢观看

