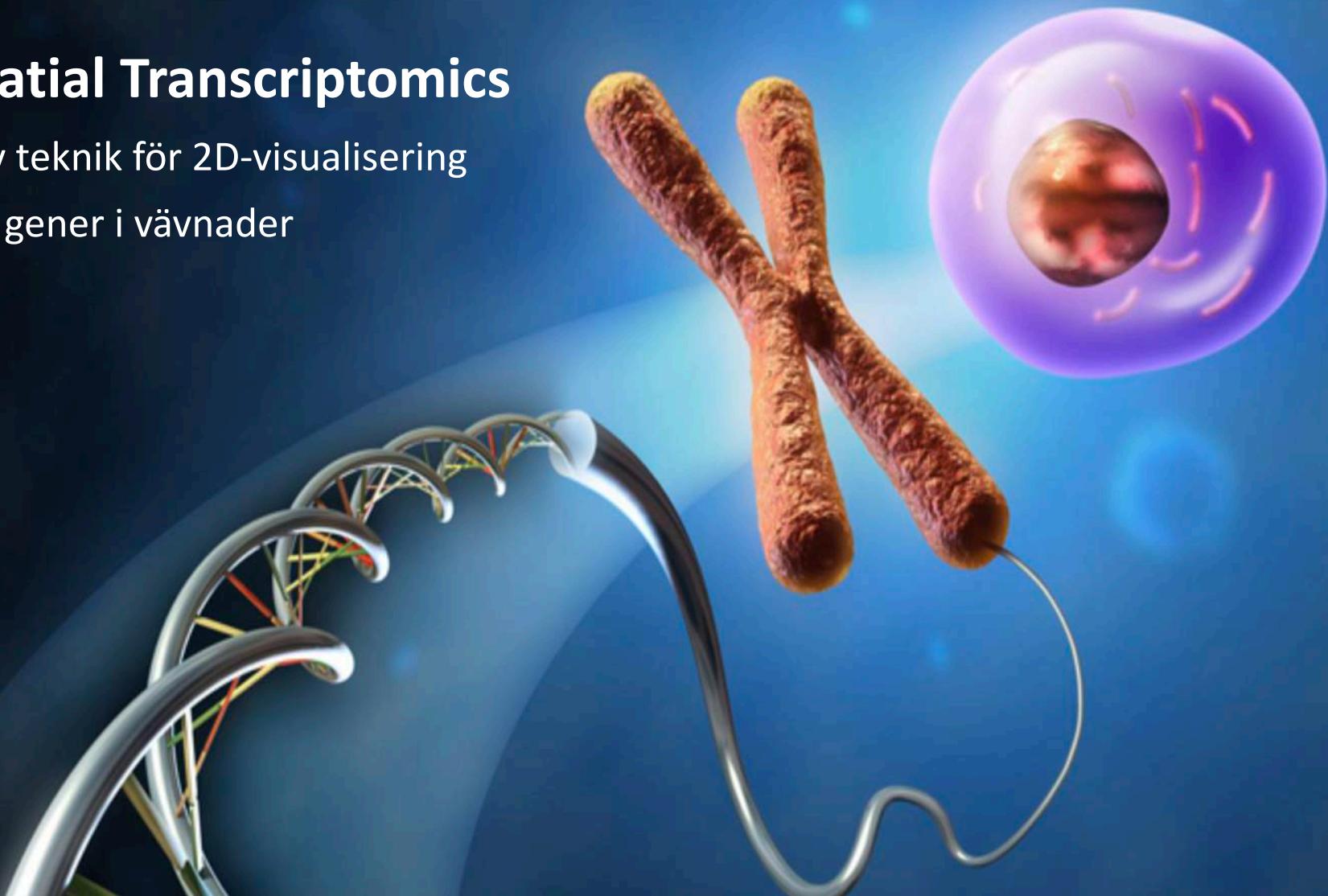


## Spatial Transcriptomics

- Ny teknik för 2D-visualisering  
av gener i vävnader

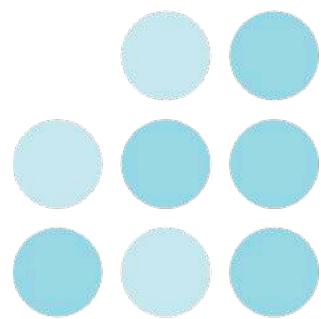


- Från Skellefteå
- Civilingenjör, Medicinsk Bioteknik, KTH
- Forskning: Spatiell analys av nukleinsyror
  - Institutionen för Genteknik, KTH



- Vetenskapligt centrum för molekylärbiologisk forskning
- Drivs av KTH, Karolinska institutet, Stockholms universitet och Uppsala universitet

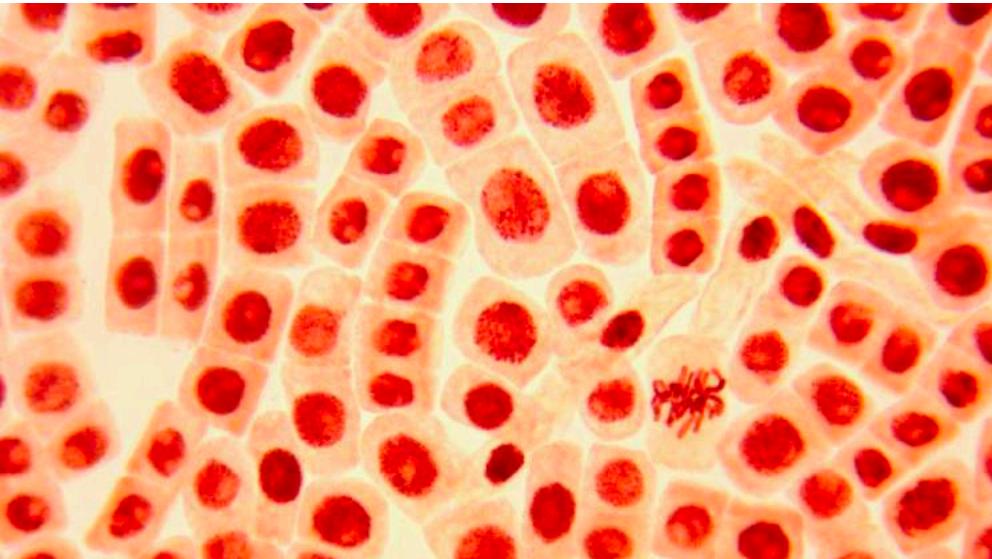


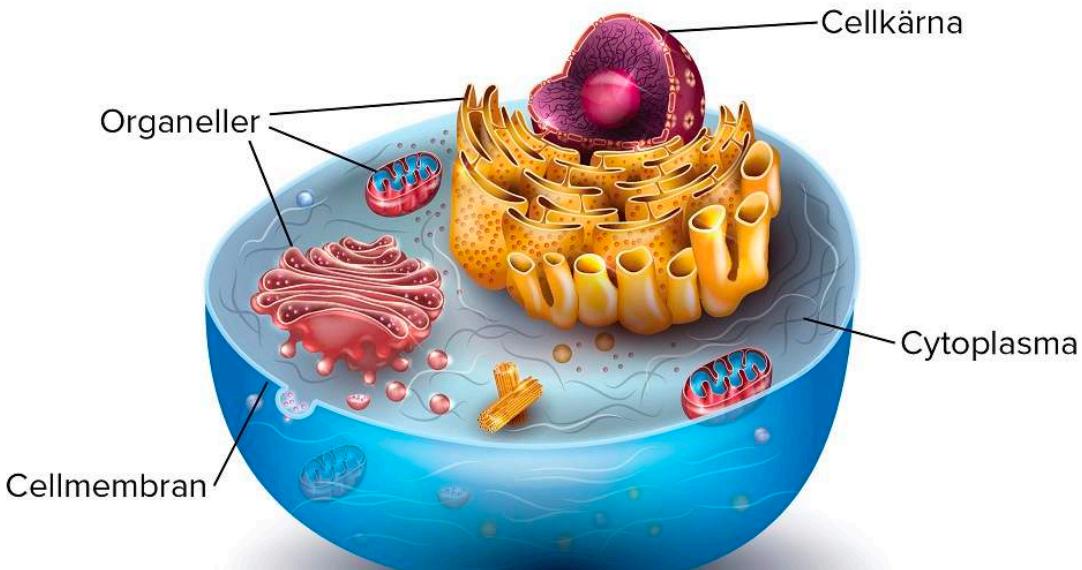


SPATIAL  
research

- Bakgrund
  - Vävnader och celler
  - Genomet
  - Analys under mikroskop
  - Mutationer
  - Cancer
  - DNA-sekvensering
- Kunskapsglapp som behöver fyllas i
- Tekniken vi utvecklat: Spatial Transcriptomics
- Spatial Transcriptomics applicerat på prostatacancer
- NASA-samarbete







Ordets ursprung:  
cellula (latin) = "litet rum"

Genomsnittlig storlek:  
10 µm

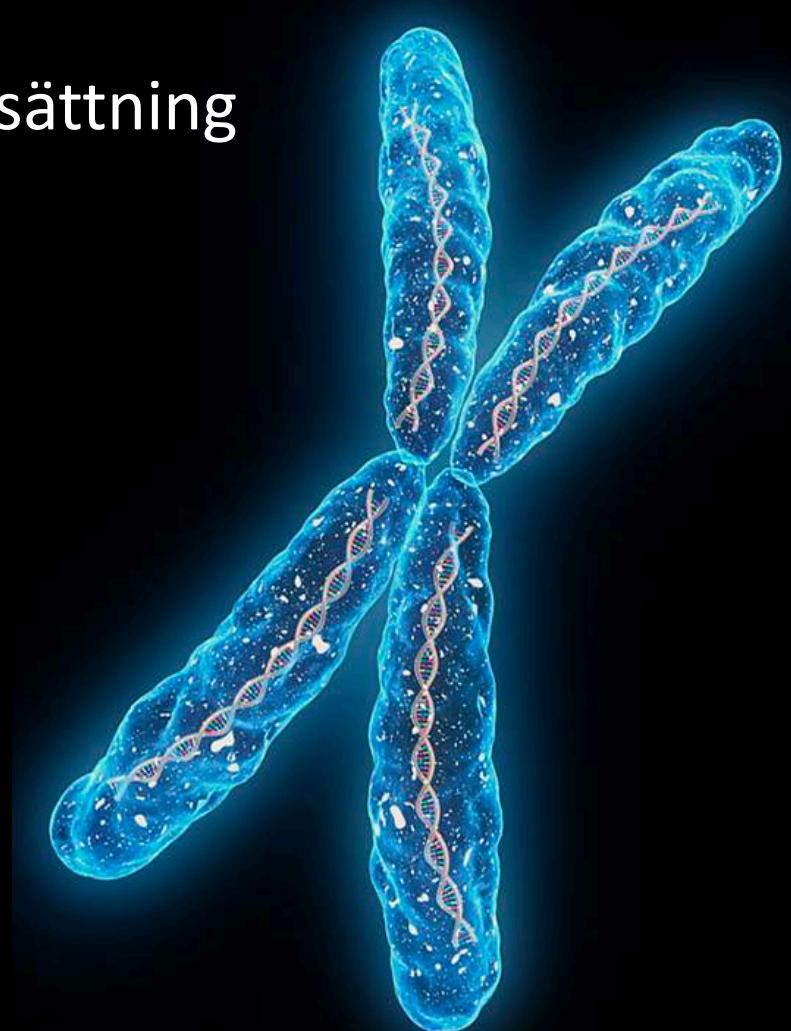
Innehåller  
arvsanlagen

Förökar sig genom att  
kopiera sig själv och bli 2 celler

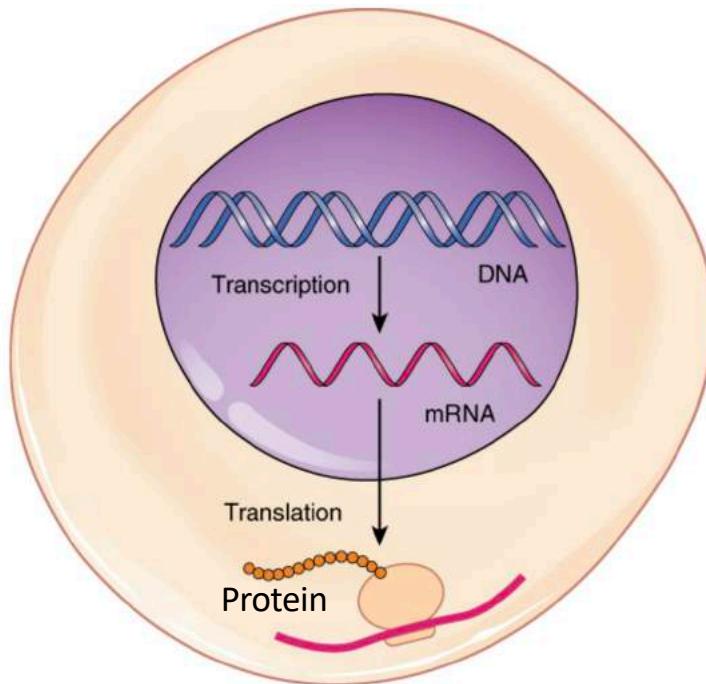


Kromosomerna finns i 2 kopior i varje cell, en från mamman och en från pappan

- 3 miljarder baspar per enkel uppsättning
- Proteinkodande regioner
  - ca 21 000 gener
  - Utgör ca 1% av hela genomet
- Icke proteinkodande regioner
  - Reglerande sekvenser
  - Okända funktioner ("junk DNA")



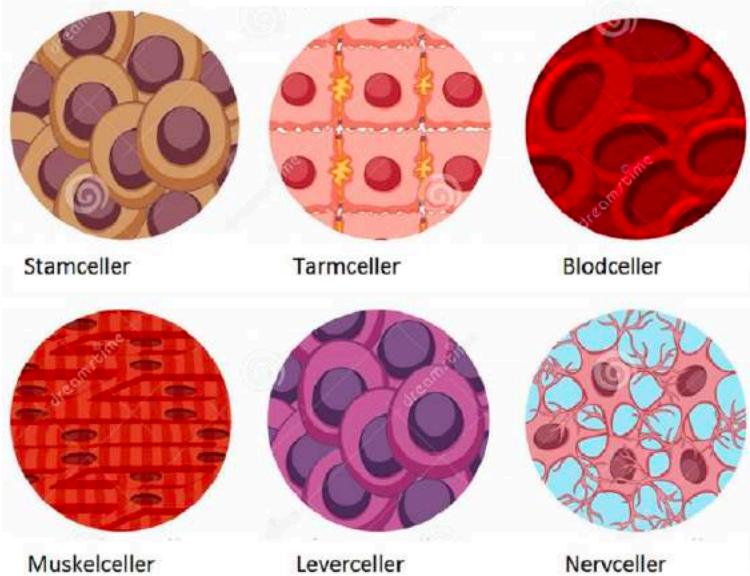
# Centrala dogmat



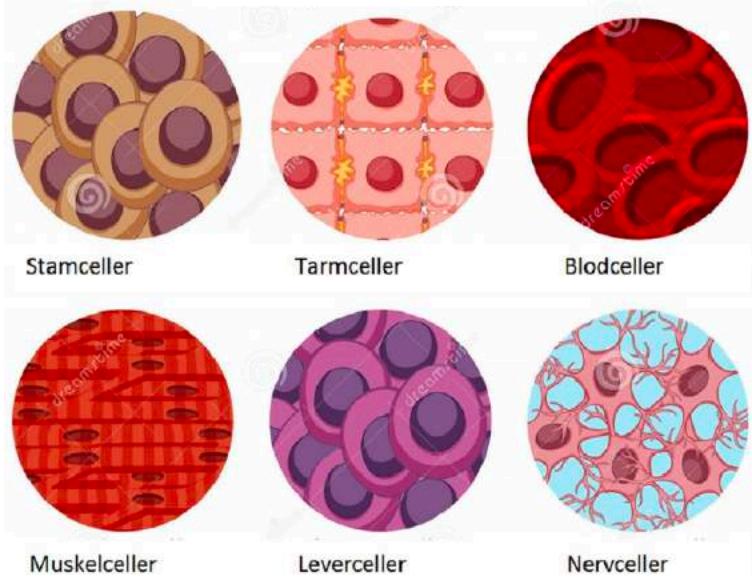
DNA  
= Genetiska koden

messenger RNA (mRNA)  
= budbärarmolekylen

Protein = huvudbeståndsdelen  
i allt levande

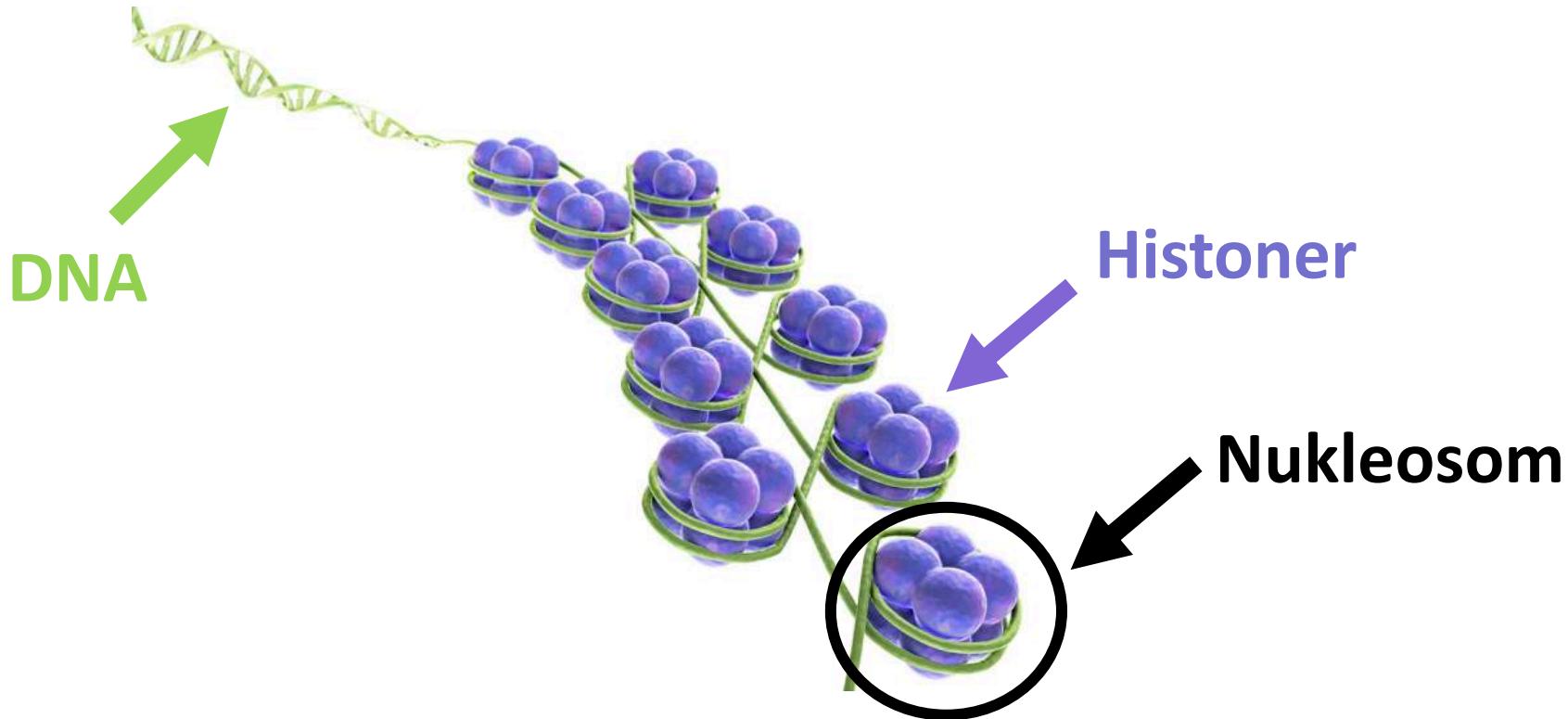


DNA är identiskt i alla celler i en människa. Men ändå ser celler olika ut, tex hårceller, hudceller, hjärtceller etc. Hur kan det komma sig?



DNA är identiskt i alla celler i en människa. Men ändå ser celler olika ut, tex hårceller, hudceller, hjärtceller etc. Hur kan det komma sig?

**Aktivering av specifika gener**

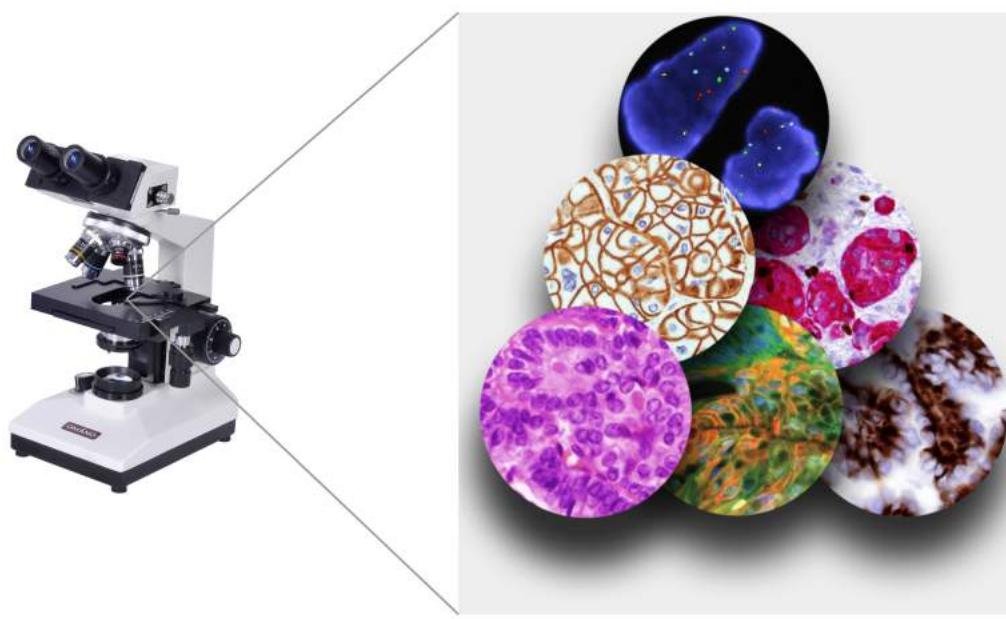


Kromatin = packat  
DNA inuti cellkärnan

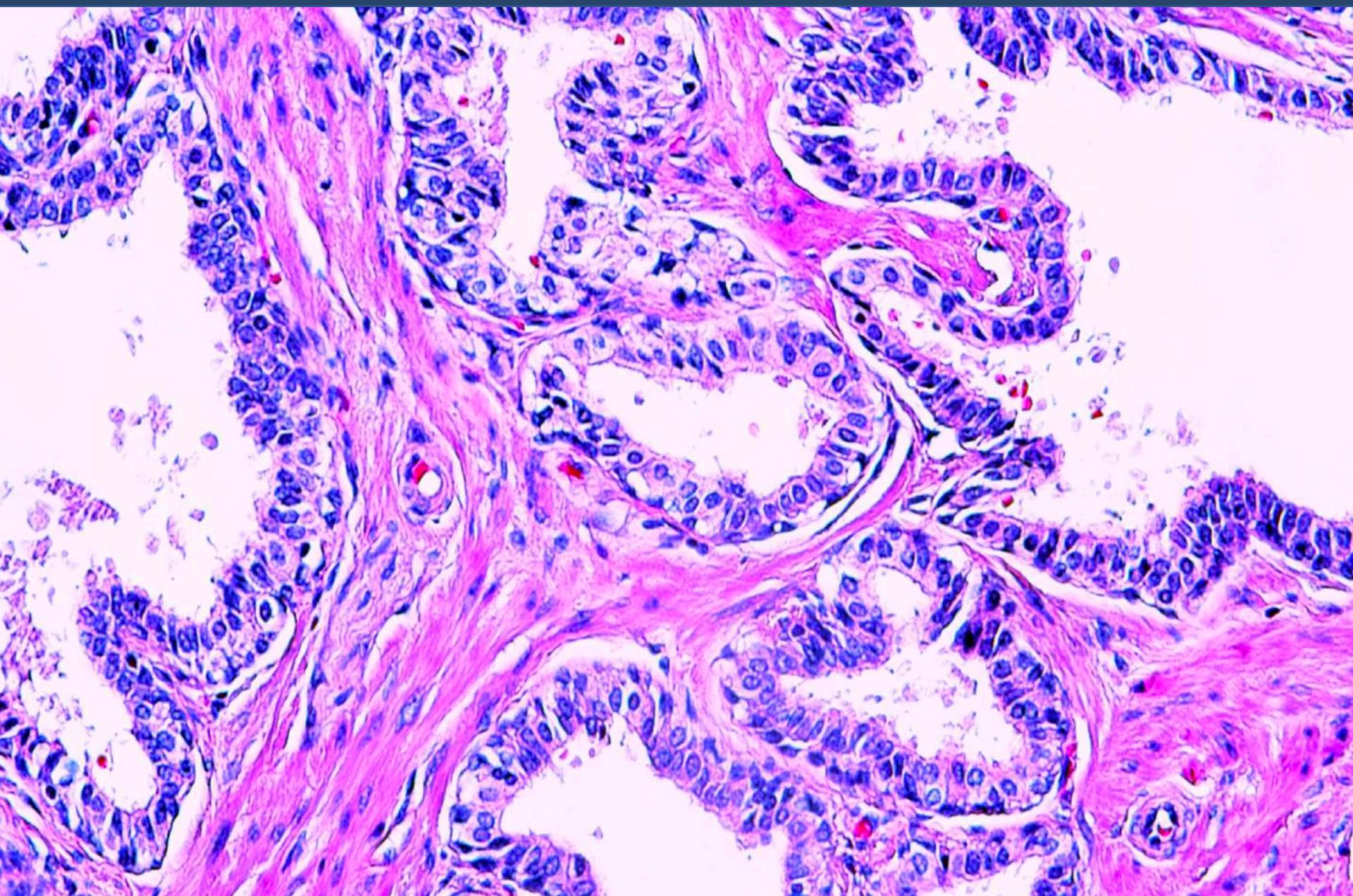
Löspackade gener är lättare  
att komma åt → Högre genaktivitet

Epigenomet = fulla beskrivning av alla kemiska modifikationer  
av DNA och histonproteiner som reglerar genaktiviteten.

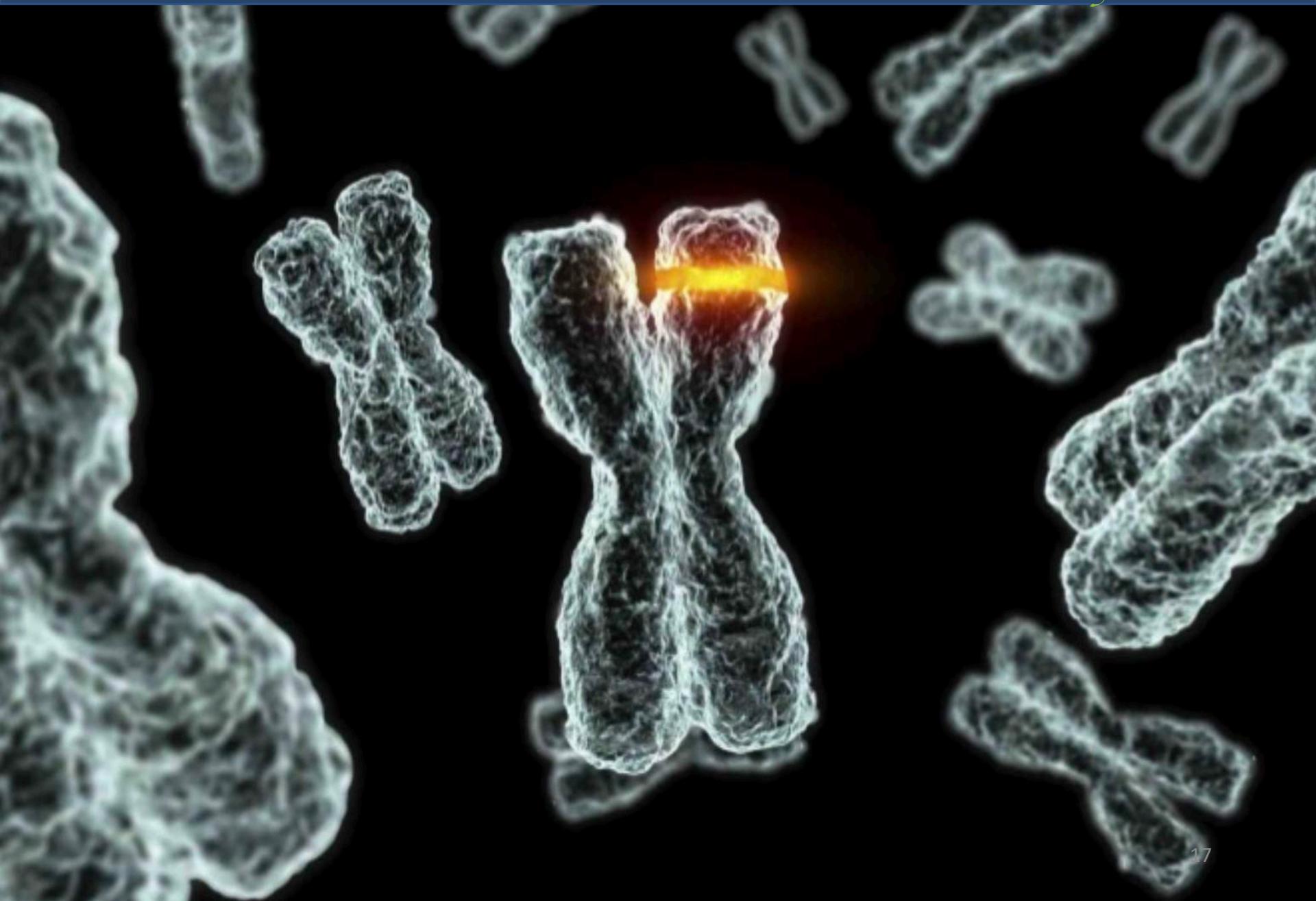
# Analys i mikroskop



## Infärgning av vävnad



# Mutationer

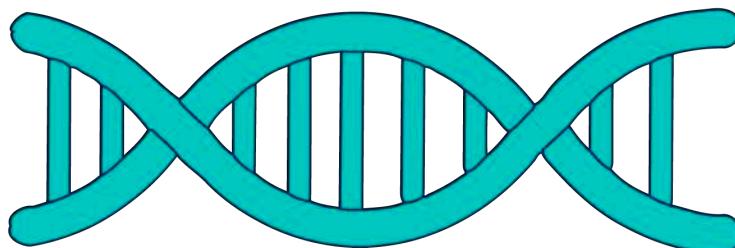


- Orsaker:
  - slumpmässiga kopieringsfel under celldelningen
  - UV-strålning, annan strålning
  - Giftiga kemikalier
  - etc.
- Reparationsmekanismer lagar många av feLEN
  - Apoptos = Programmerad celldöd
- Sker många mutationer hela tiden. De flesta mutationer sker på platser där det inte påverkar ngt alls, så om reparationsmekanismerna misslyckas att laga det, så gör det inget.
- Genmutation: Om det sker så det påverkar gener eller regleringen av gener → påverkan

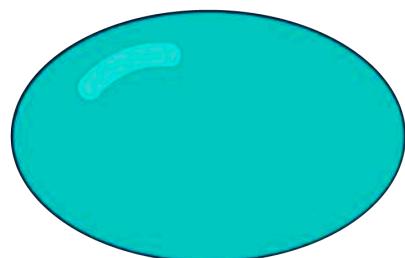
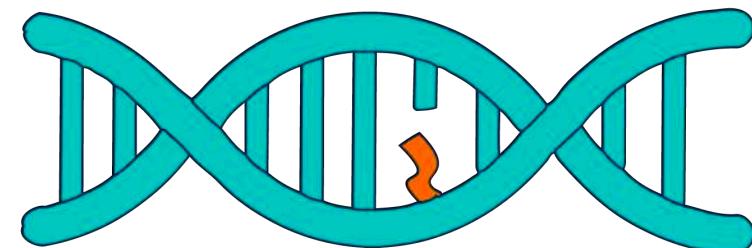


**Mutationer** = förändringar i celler genetiska material

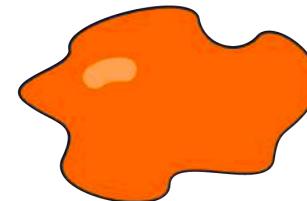
**Normal Gene**



**Mutated Gene**



**Normal Protein**



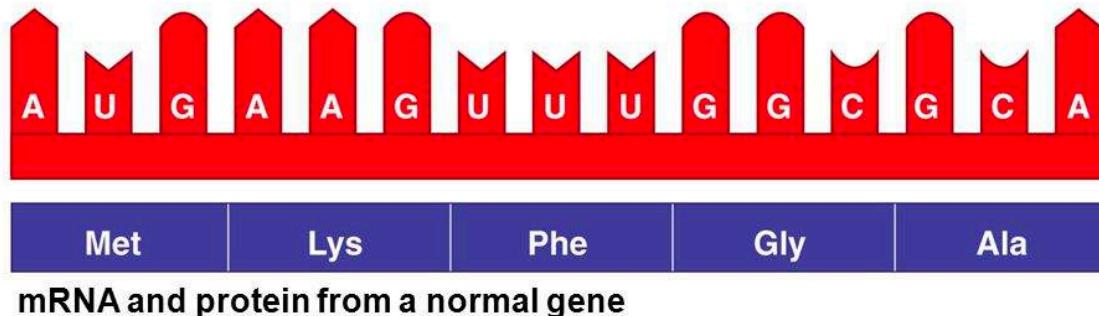
**Abnormal Protein**

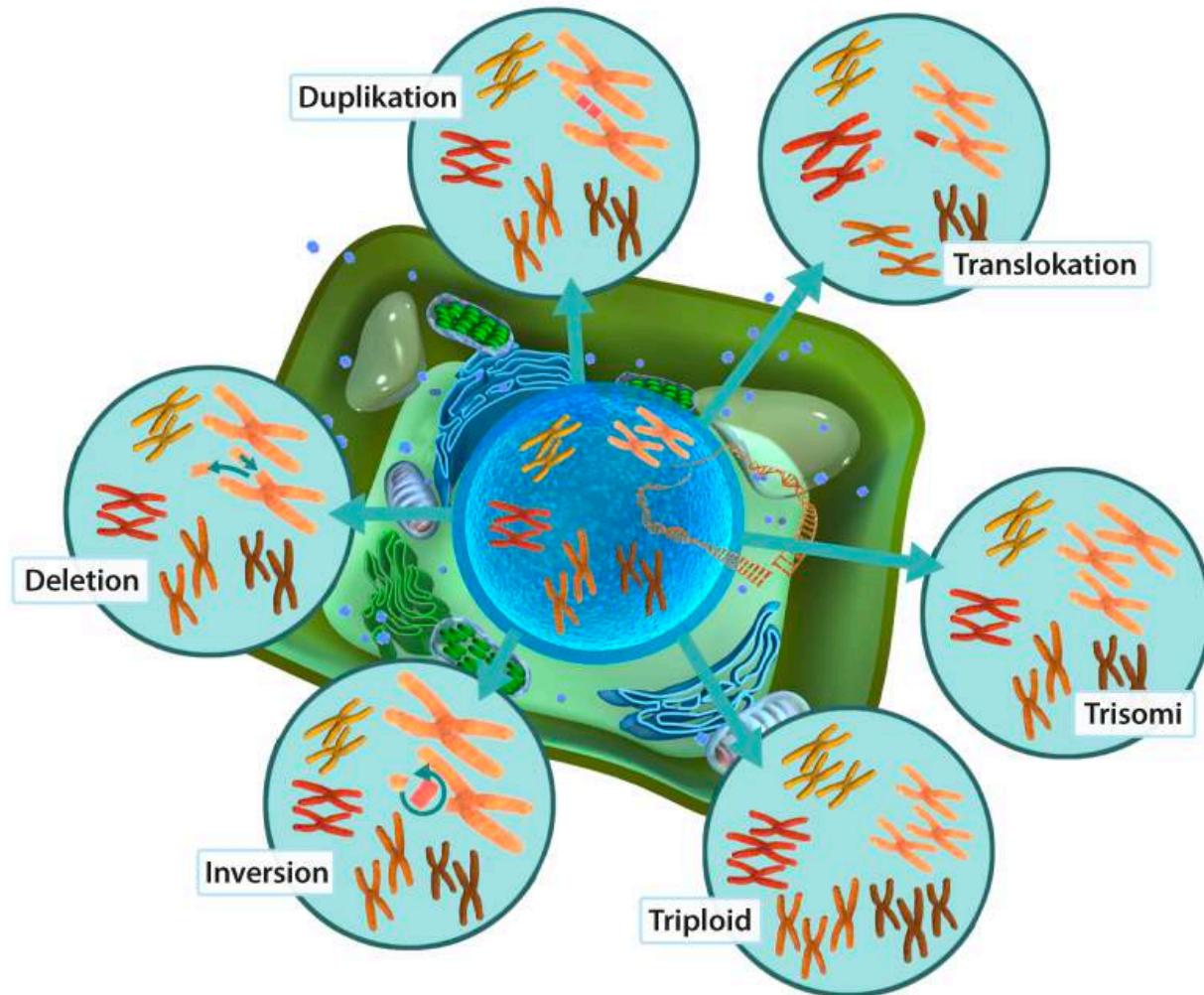
or



**No Protein**

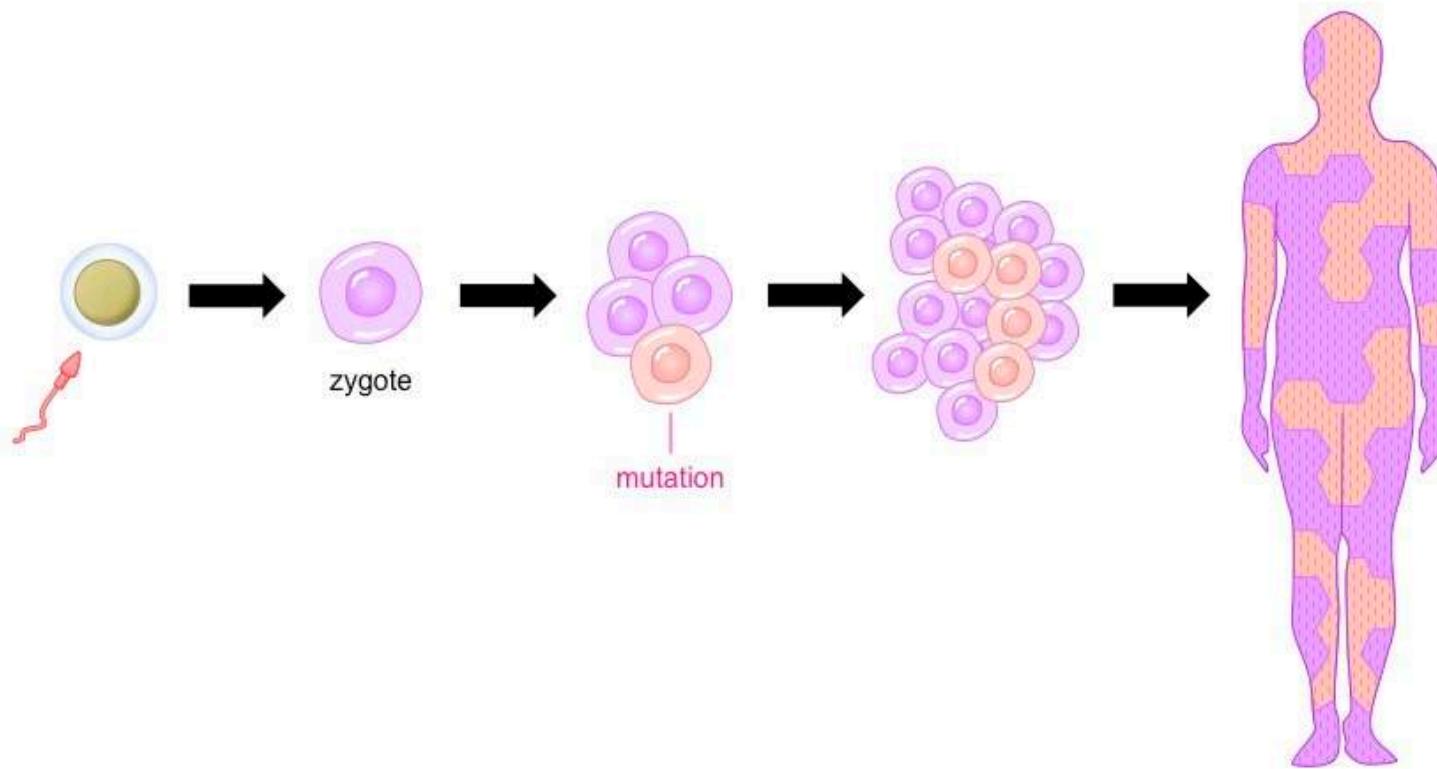
- Punktmutation
- Deletion = enstaka baspar försvinner
- Insertion = enstaka baspar läggs till



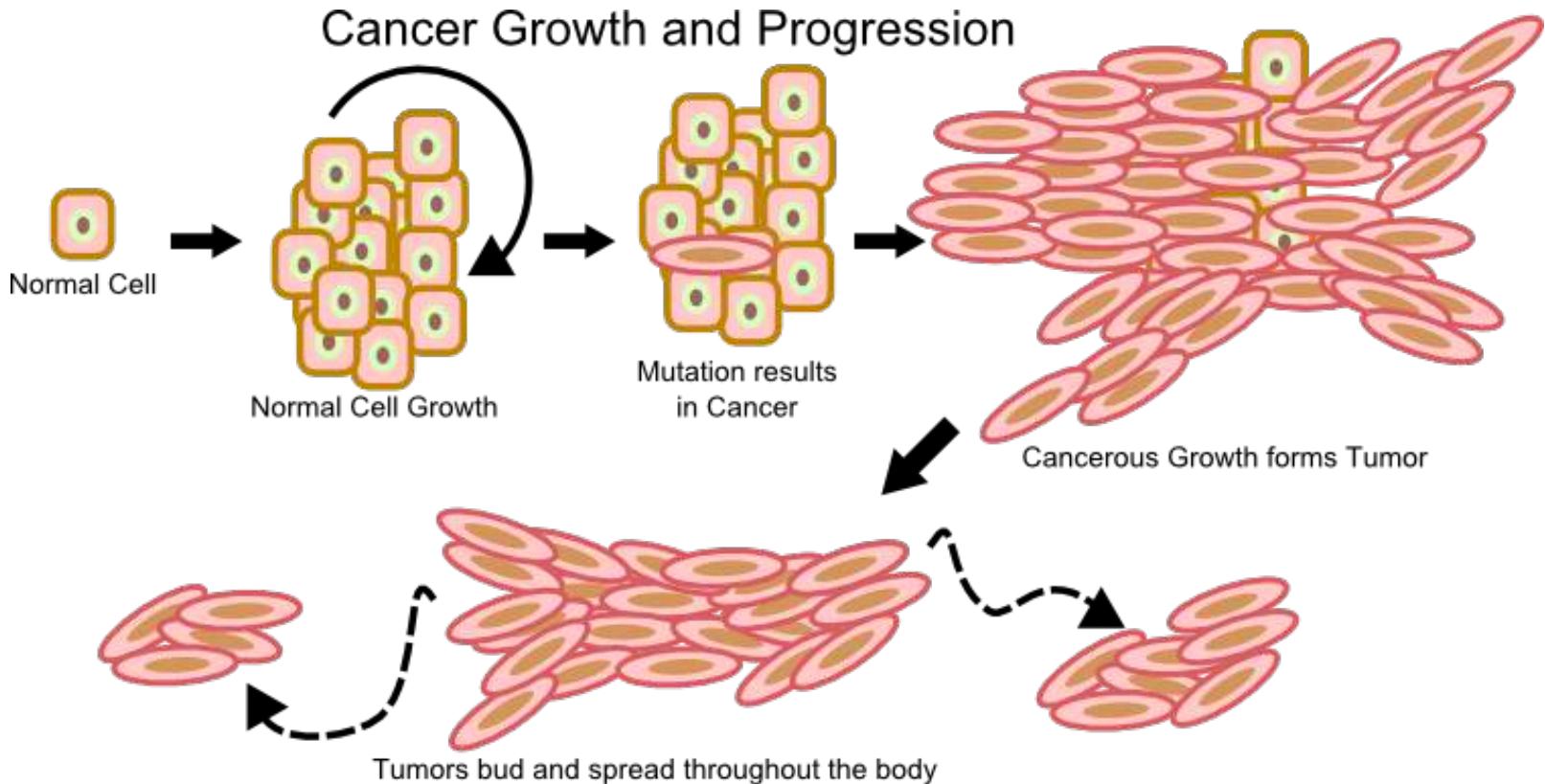


- Exempel: Albinos
  - Pigmenteringsgenens försvinner
    - melanin produceras inte



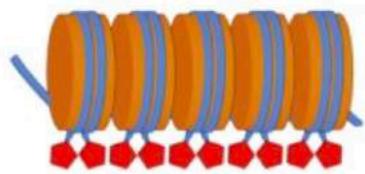
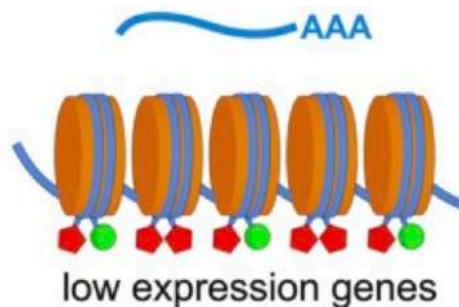
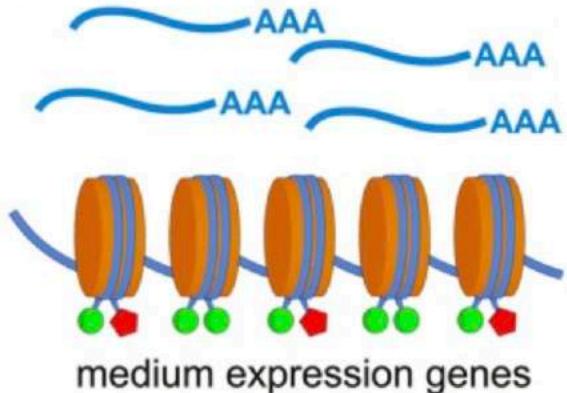
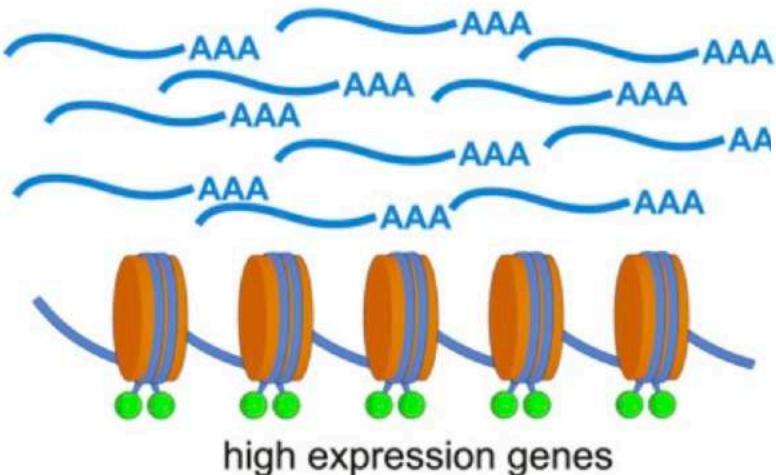


# Cancer

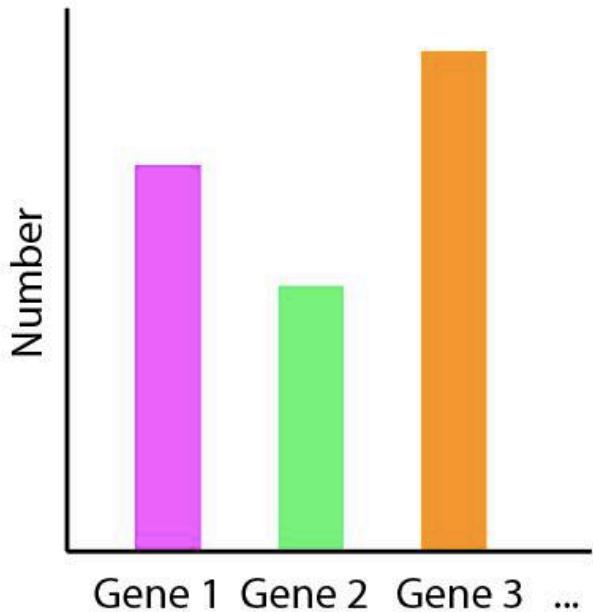


- Svårt hitta bra botemedel mot cancer
  - Genetiskt heterogent = Många olika celler muterade på många olika sätt
- Exempel på behandlingar
  - Kemoterapi: Dödar celler som förökar sig snabbt
  - Kirurgi: Man opererar bort cancercellerna (tumören)
  - Strålningsbehandling: Cancerceller kan ej reparera sig lika bra som friska celler → dör av strålningen
  - Immunoterapi: Aktivering av kroppens eget immunförsvar att döda cancercellerna
  - Skräddarsydd behandling: Angriper endast tumörceller

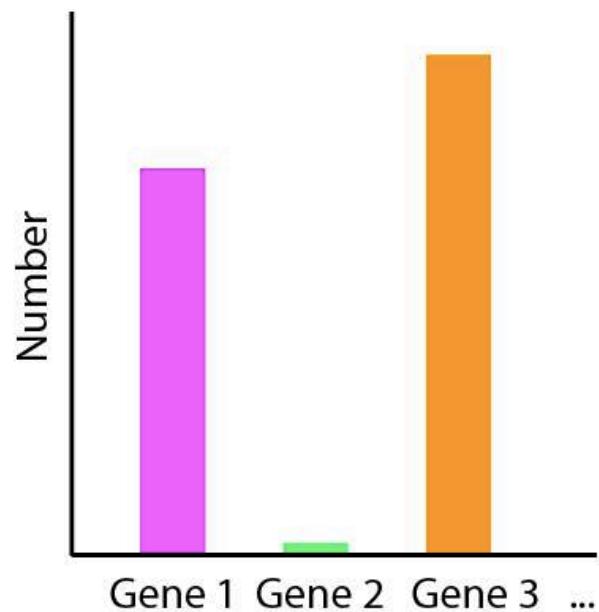


**A****B****C****D**

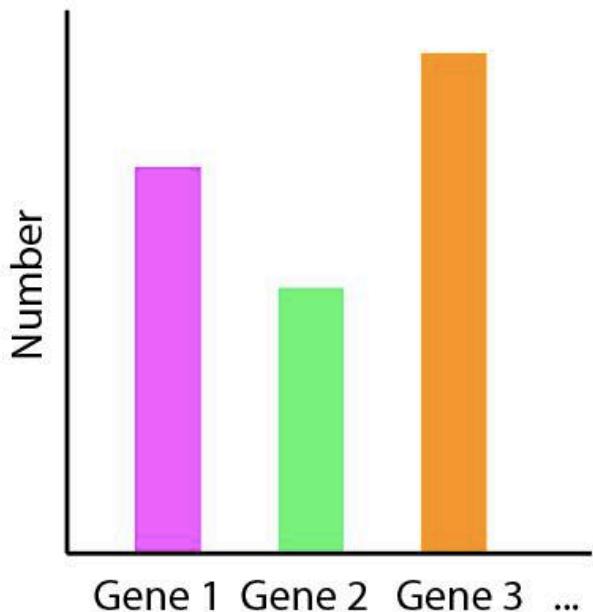
Cell 1



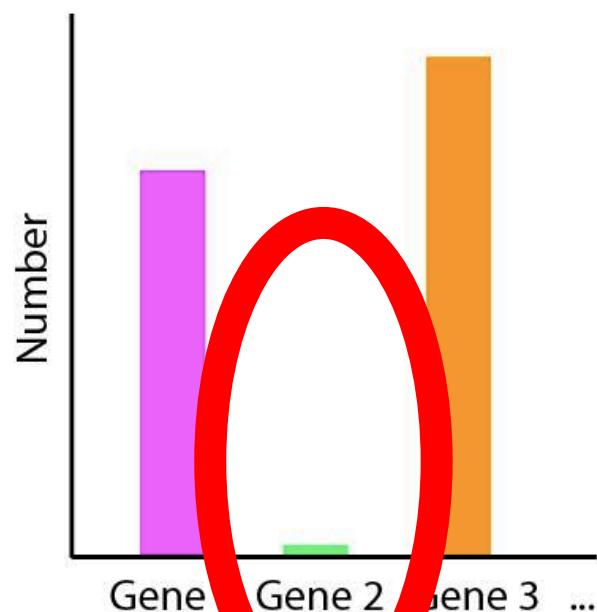
Cell 2  
Muterad



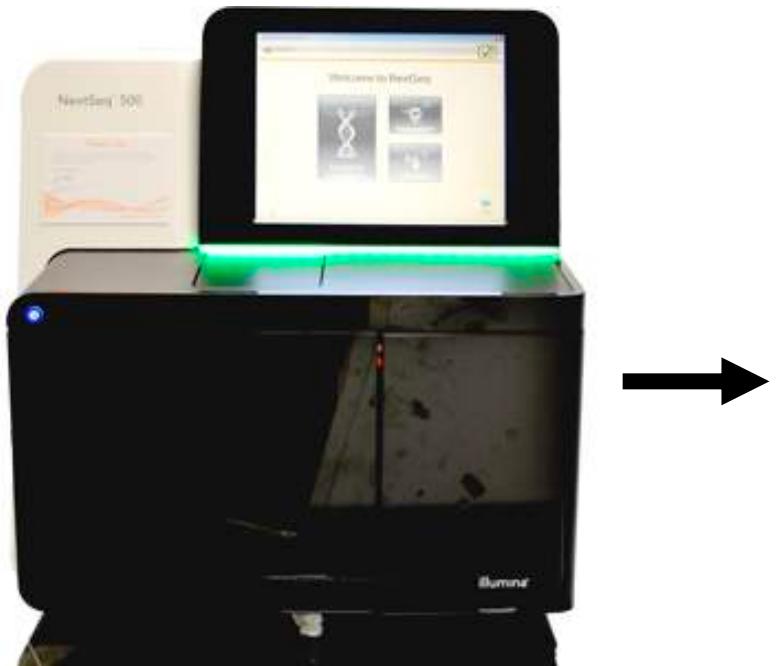
Cell 1



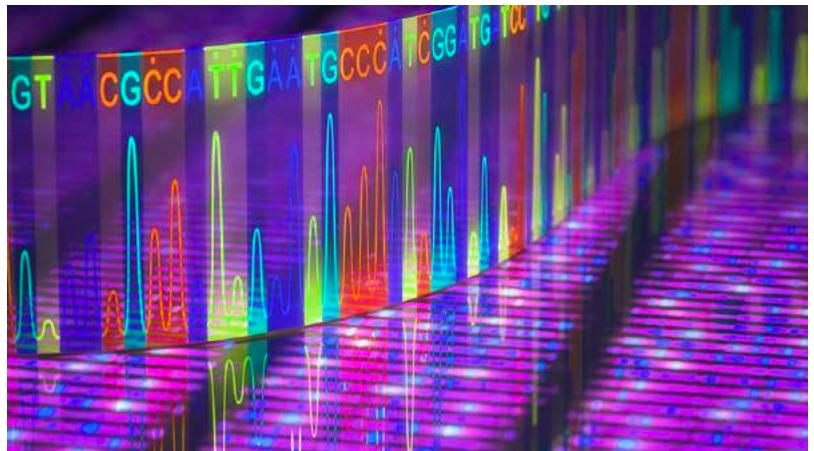
Cell 2  
Muterad



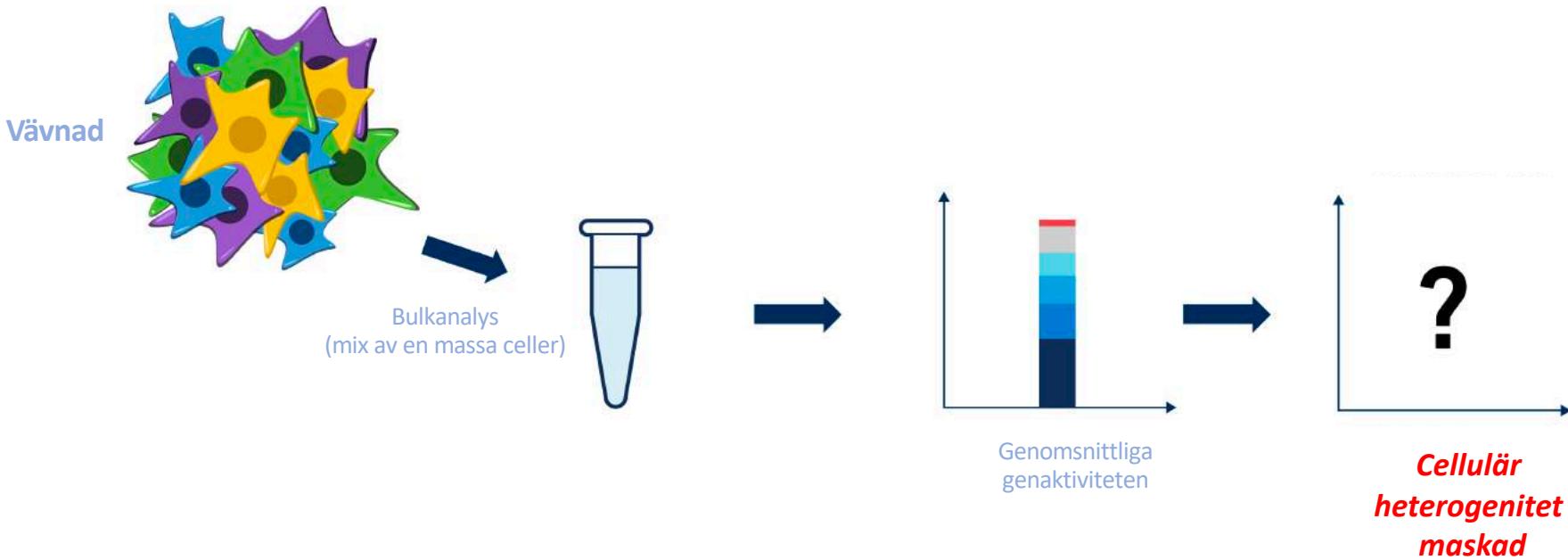
*I verkligheten 20 000 gener!*



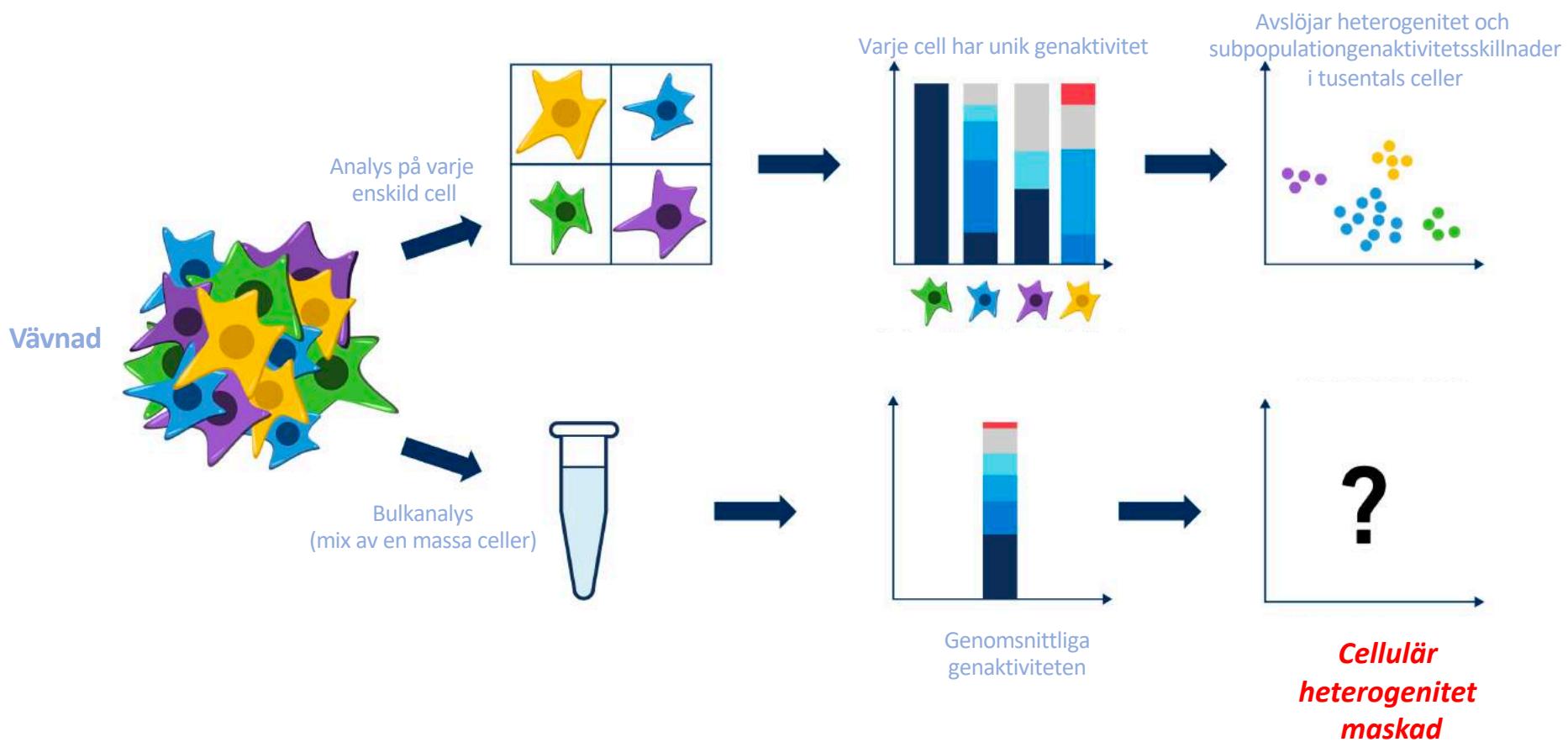
Sekvenseringsmaskin



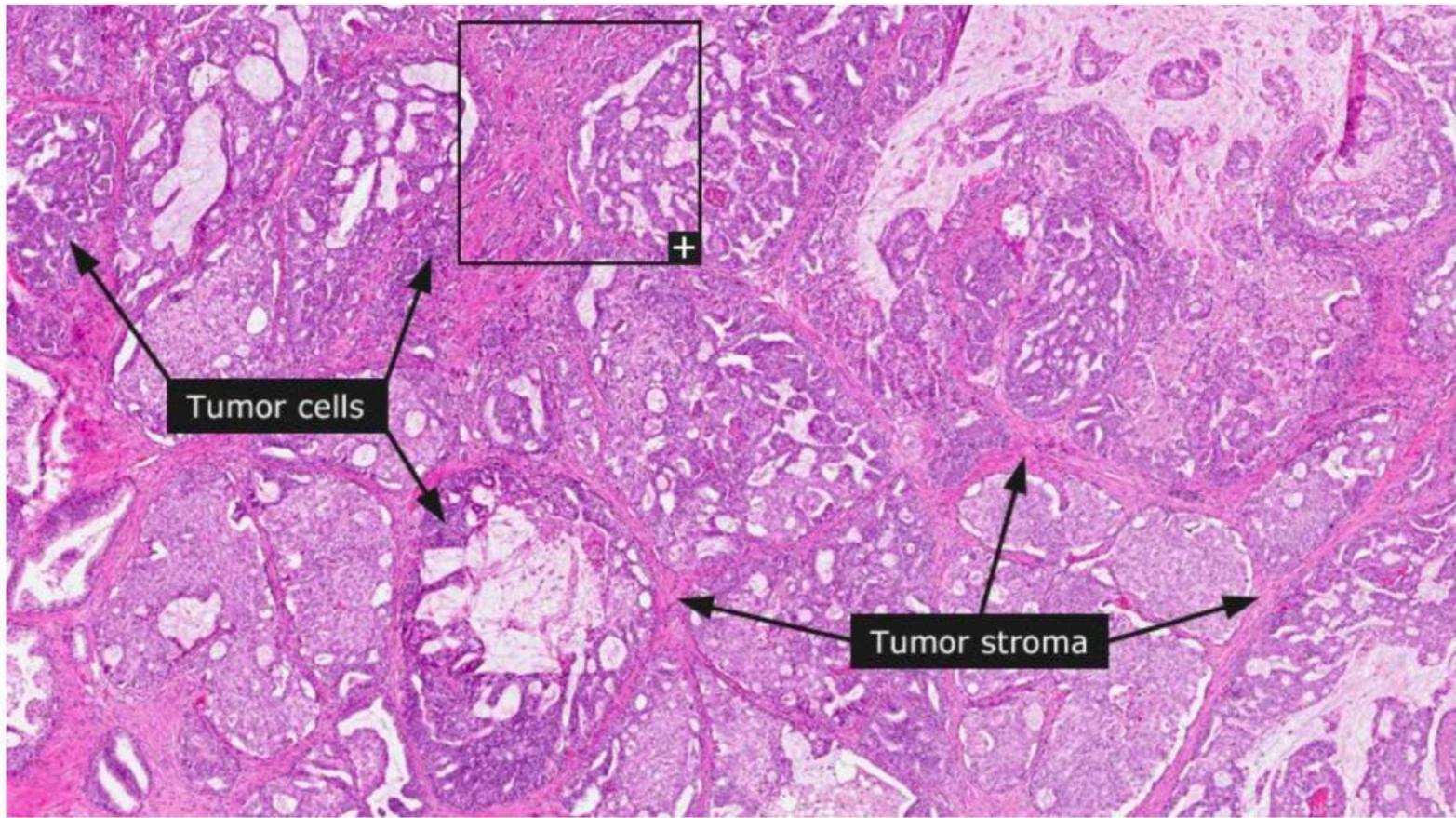
# RNA-analys av vävnadsbit innehållandes miljontals olika celler



# RNA-analys på enskilda celler är bättre



## Lokalisering av celler är av betydelse



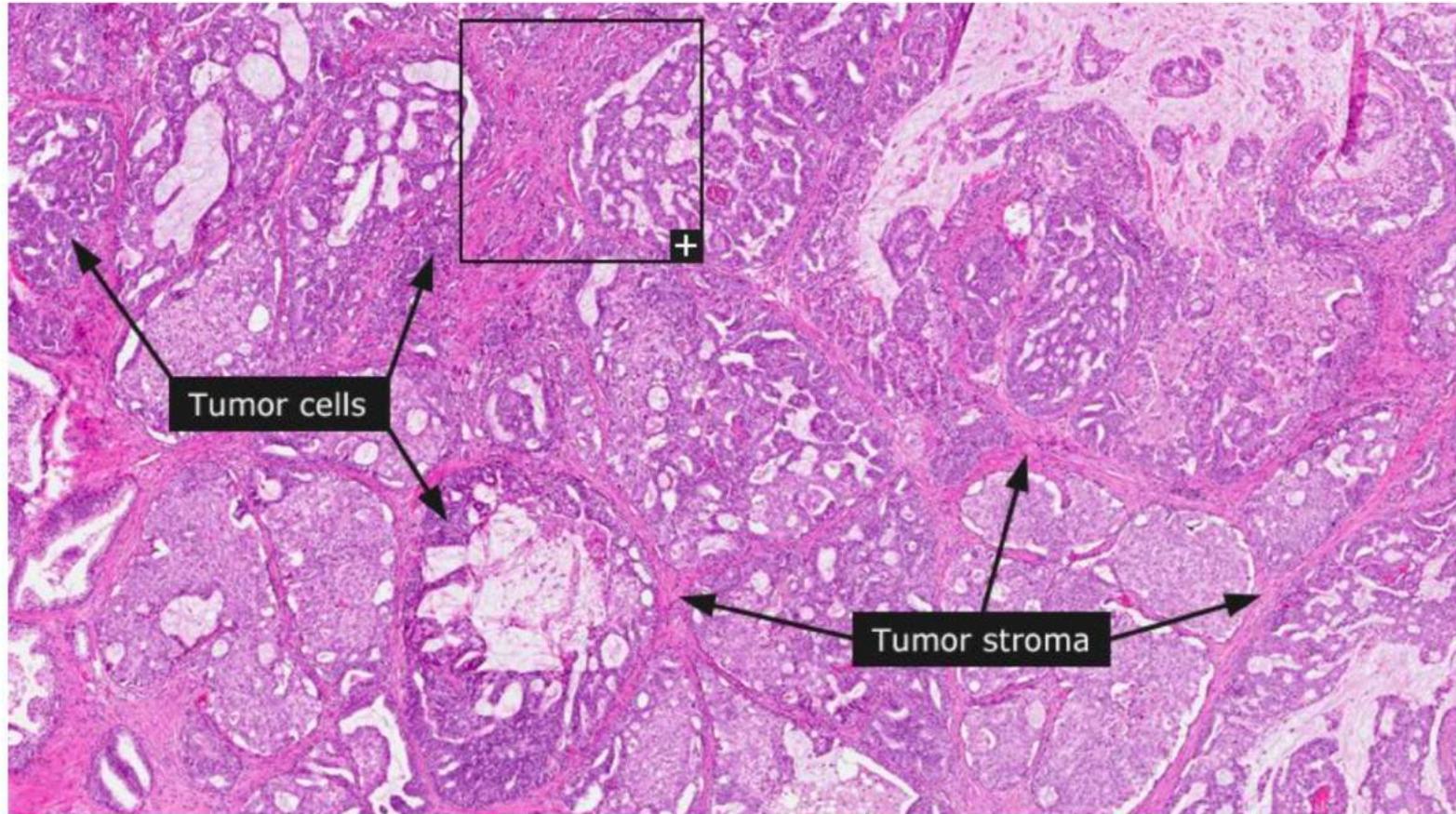
H&E-infärgat vävnadssnitt  
avslöjar hur vävnaden ser ut

Histologi =  
Läran om vävnader

Patolog = Läkare  
specialiserad på vävnader

Patolog = Läkare  
specialiserad på vävnader

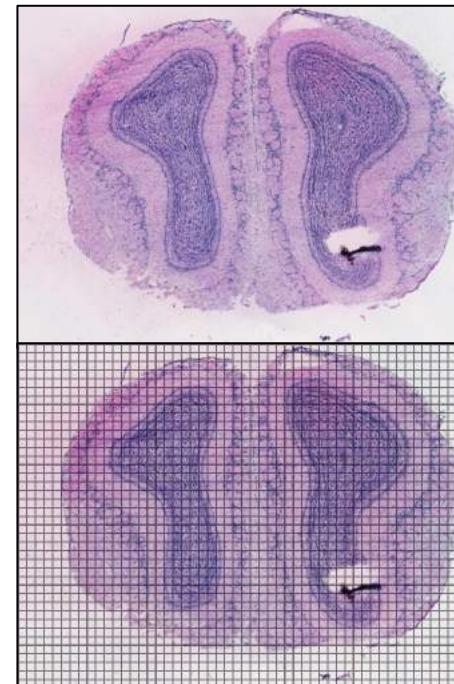
## Lokalisering av celler är av betydelse



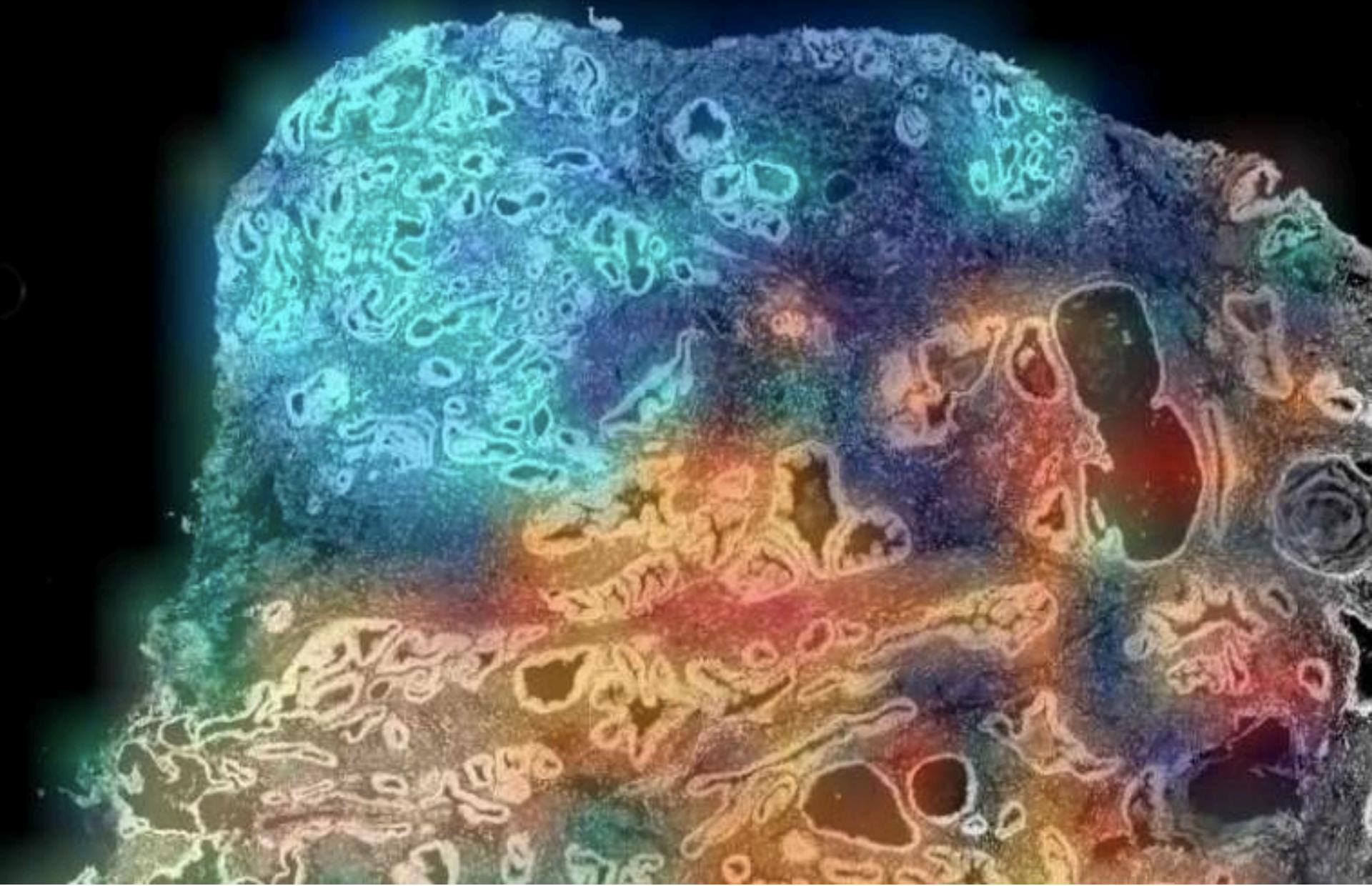
**Behov: Koppla ihop histologi med genaktivitet**

# Spatial Transcriptomics

- Morfologisk information
- Genaktivitet
- Många regioner



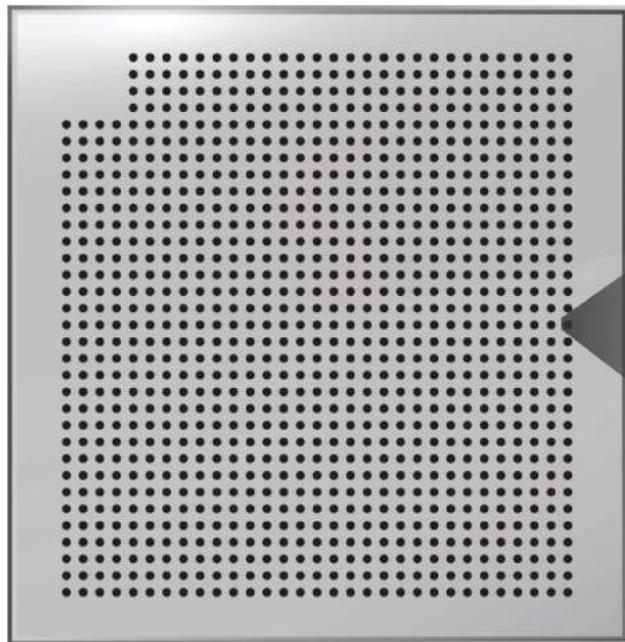
# Metoden Spatial Transcriptomics



Spatial Transcriptomics – The Technology  
Litén array (ca 5x5 mm)

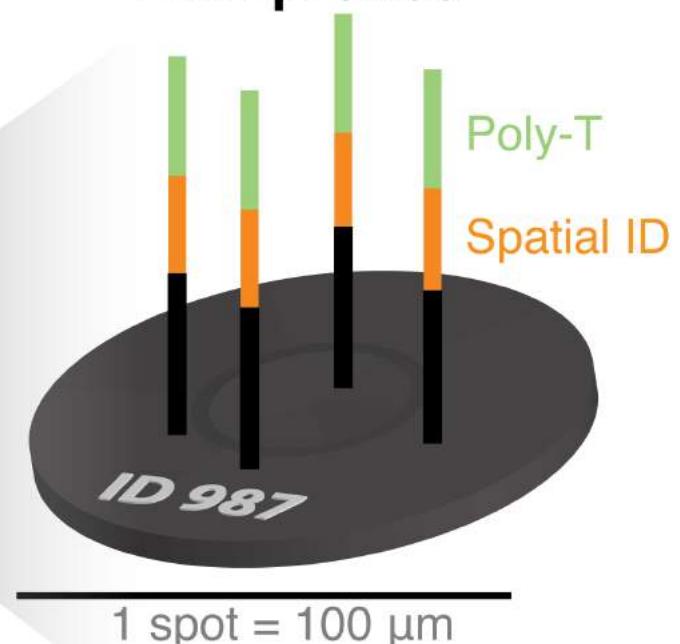
**Spatially  
barcoded spots**

5 mm

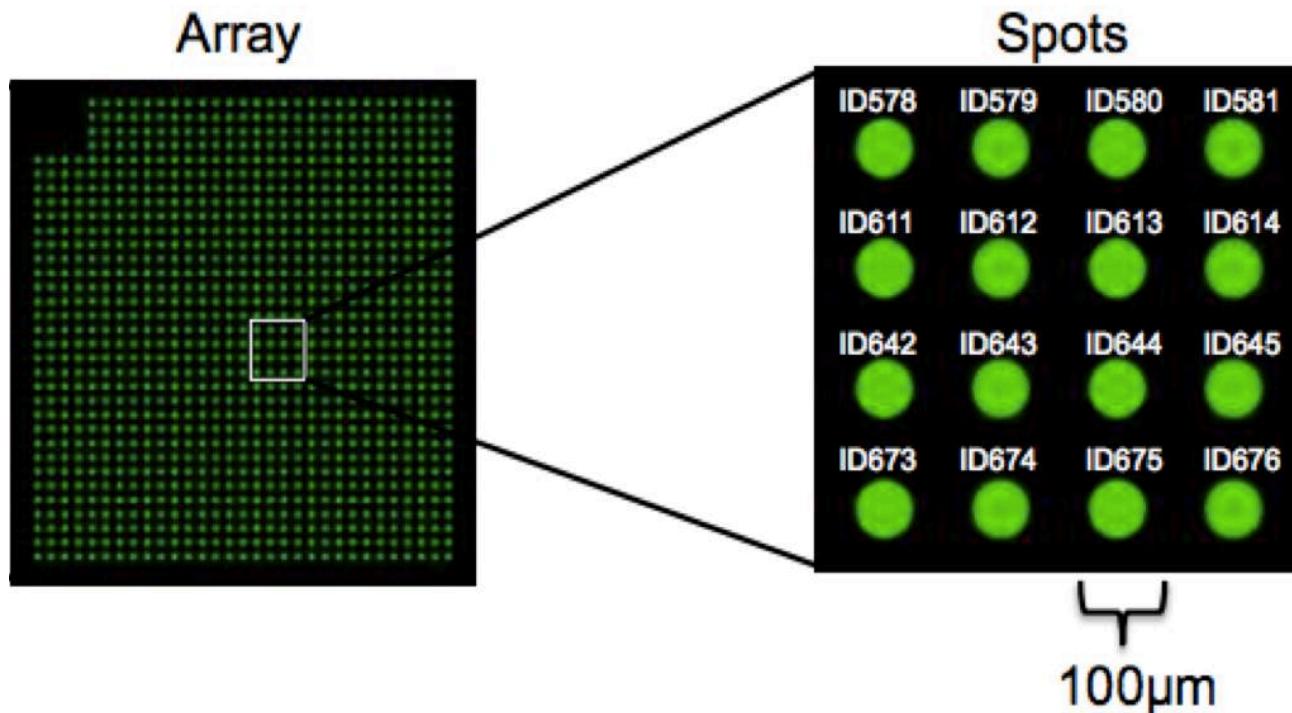


5 mm

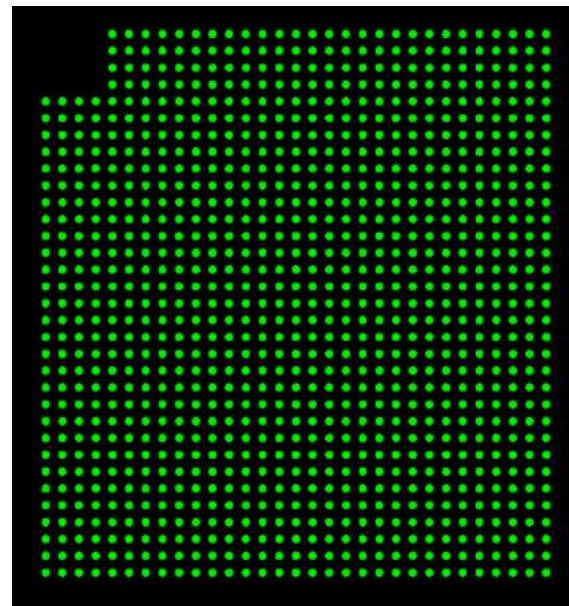
**Millions of  
DNA probes**



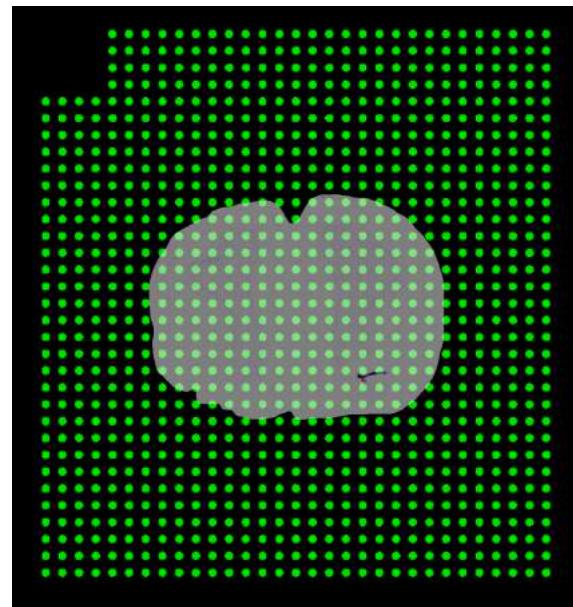
# Protokollet



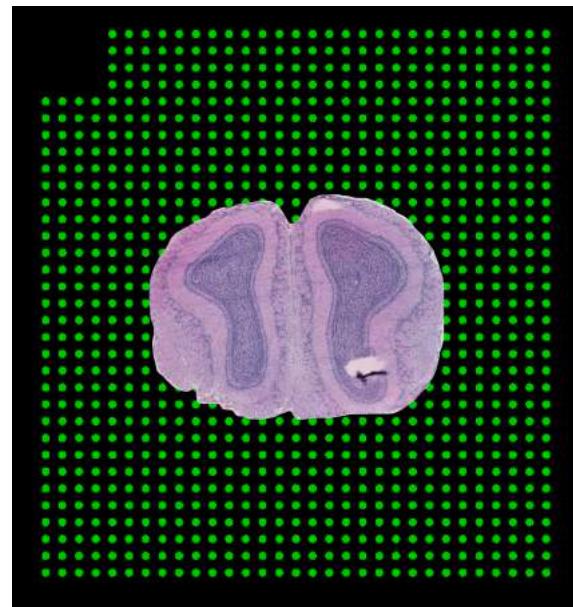
# Protokollet



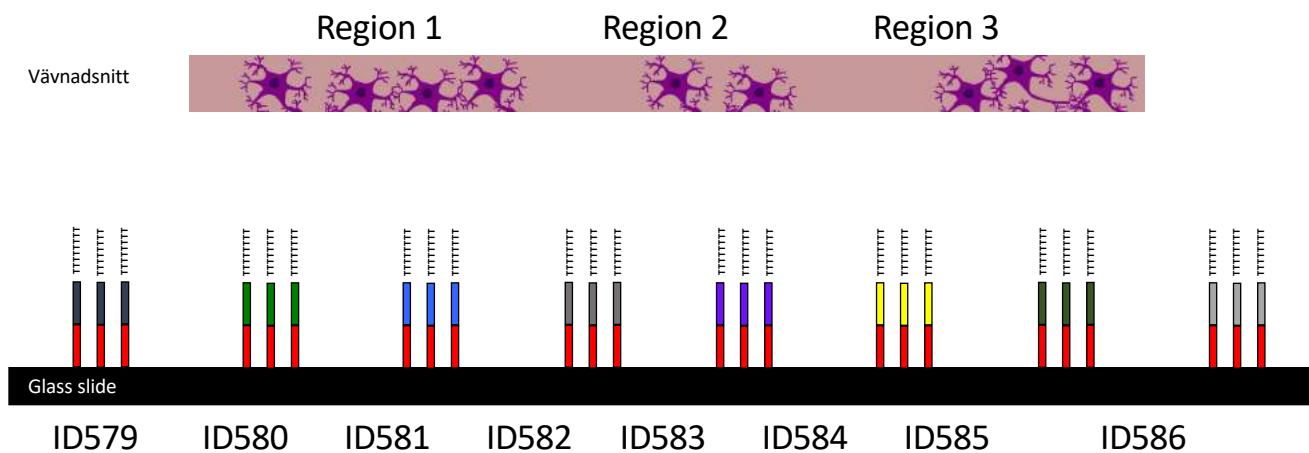
## Lägga på vävnadsnitt



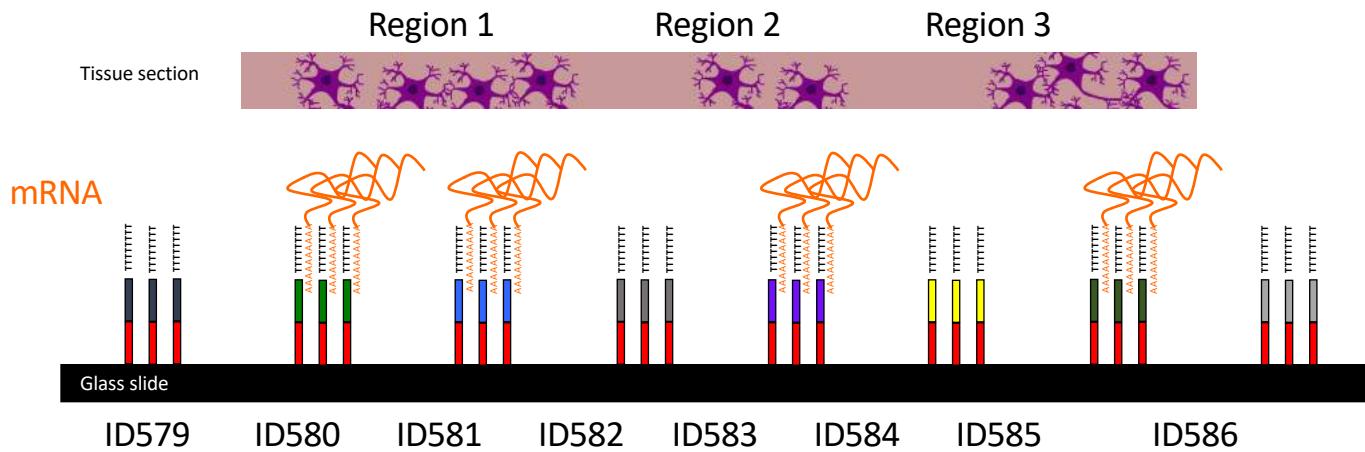
## Färgning och mikroskåpbild



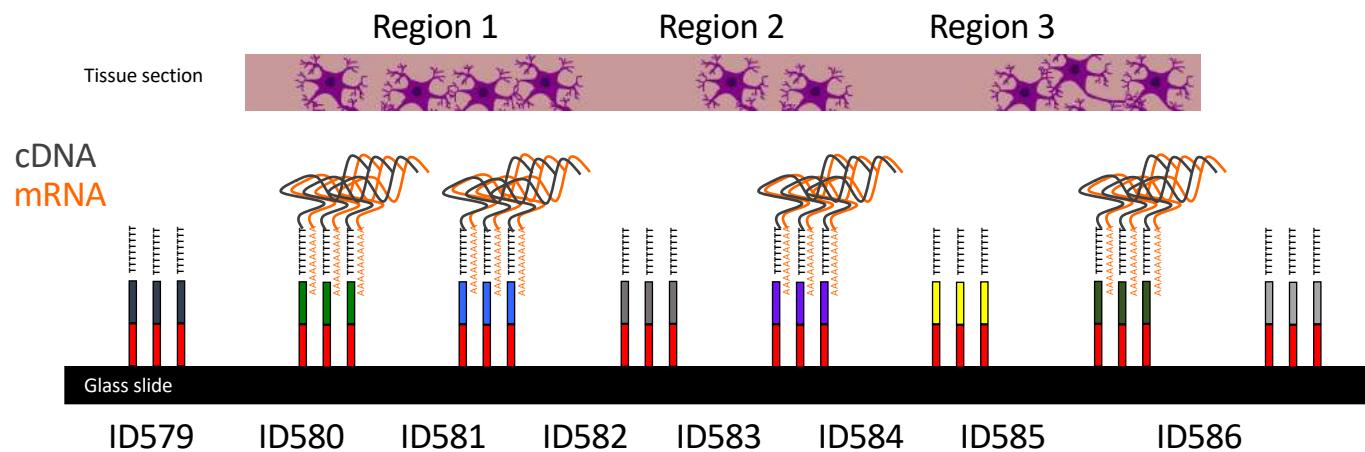
## Färgning och mikroskåpbild



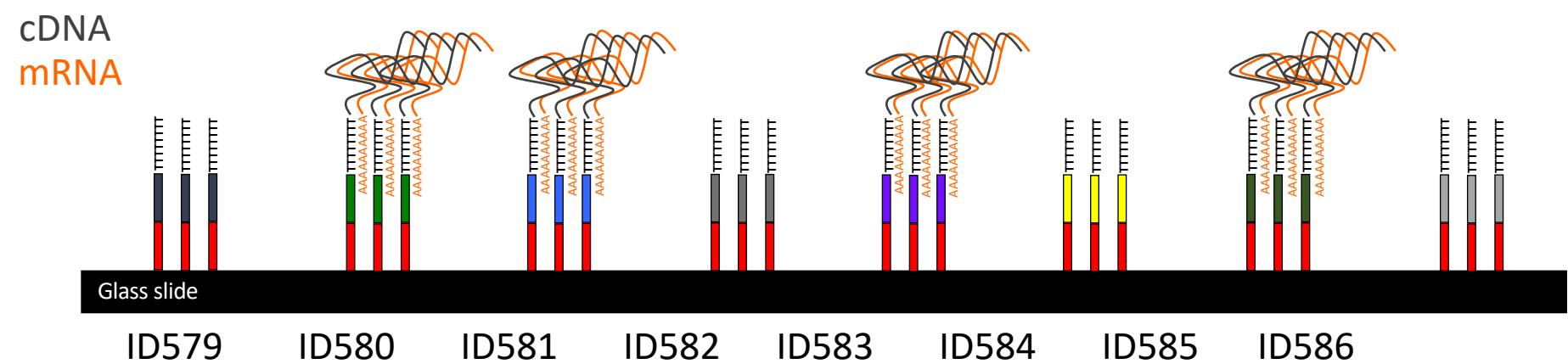
Skapa hål i cellerna (permeabilisering) → RNA-transkript läcker ut till underliggande spot



# Kopierar RNA-molekyler som fastnar på ytan



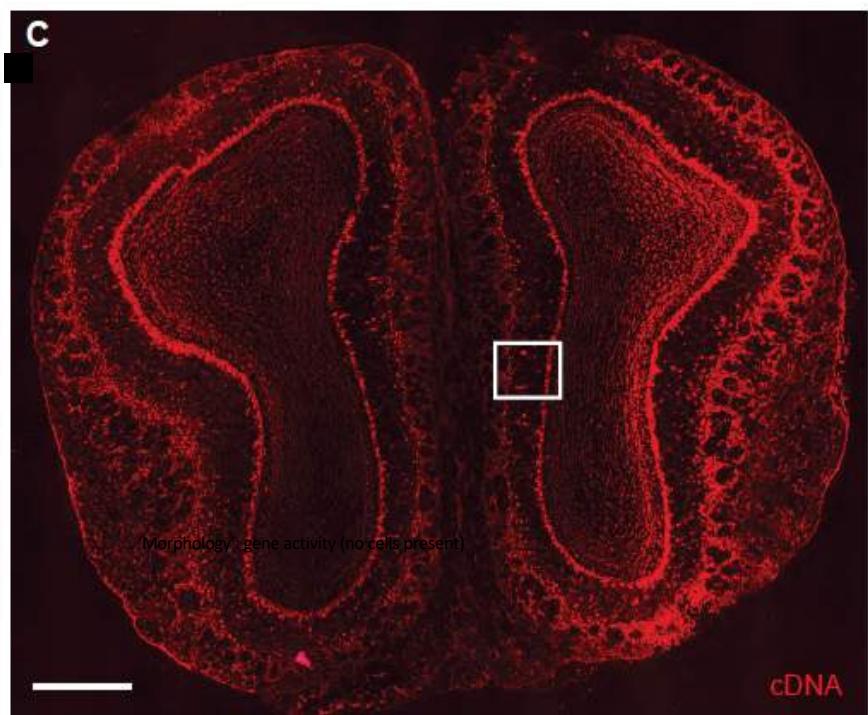
# Vävnadsborttagning



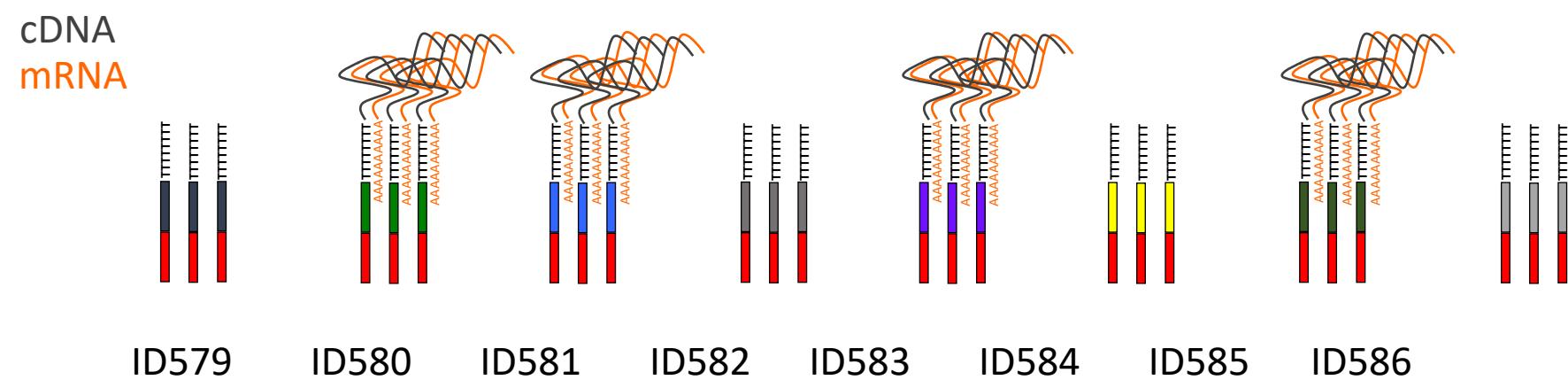
Hematoxylin och eosin  
(H&E-färgning)



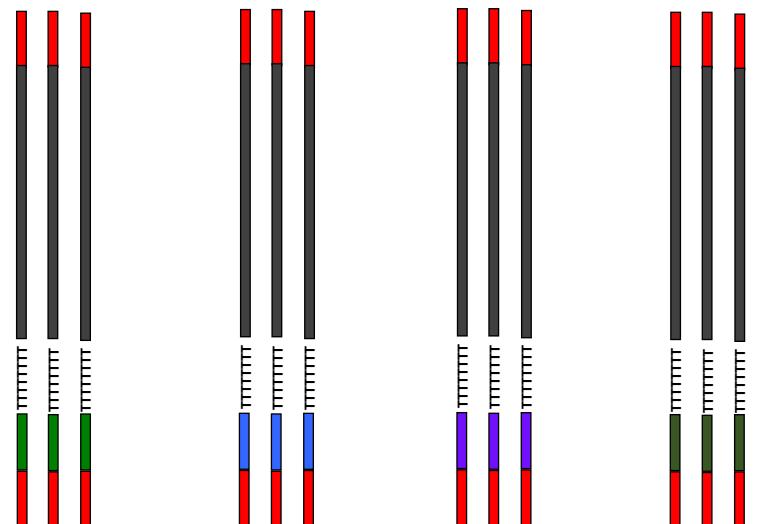
Flourescerande RNA-molekyler  
som fångats på arrayen



# Release from surface



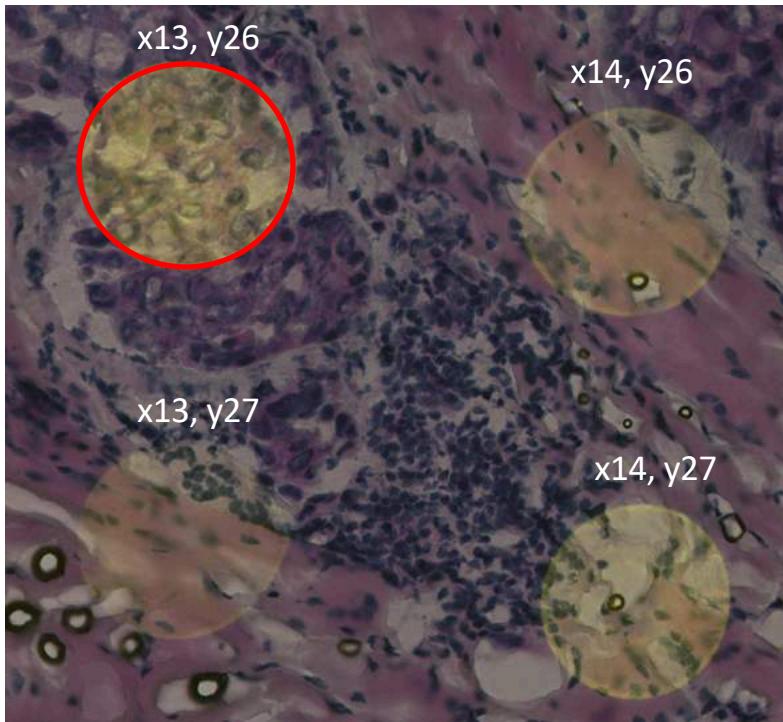
# Sekvensering



# Data analysis and visualization

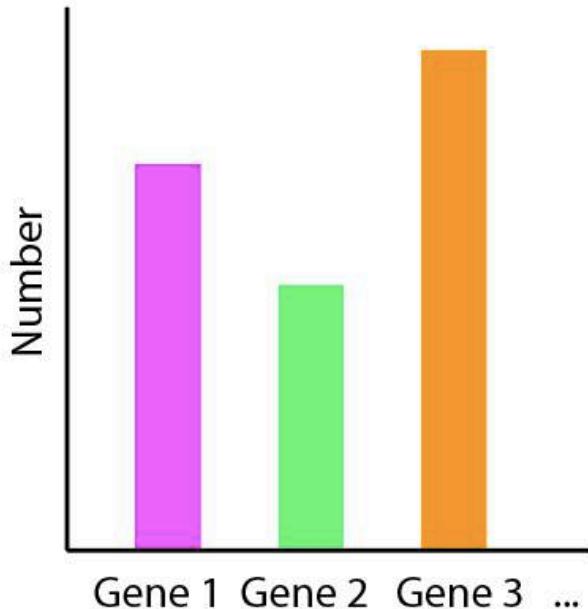
| barcode            | gene  | counts | x-coordinate | y-coordinate |
|--------------------|-------|--------|--------------|--------------|
| ACTTGCCTCCGAATGCTA | ACTG  | 403    | 13           | 26           |
| ACTTGCCTCCGAATGCTA | ERBB2 | 229    | 13           | 26           |
| ACTTGCCTCCGAATGCTA | PGR   | 10     | 13           | 26           |
| ACTTGCCTCCGAATGCTA | ACTG  | 2      | 13           | 26           |

# Dataanalys och visualisering

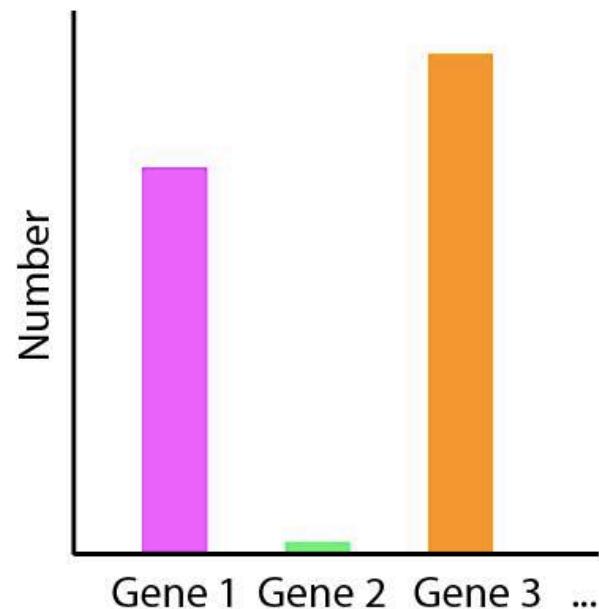


# Genprofiler

Spot 1

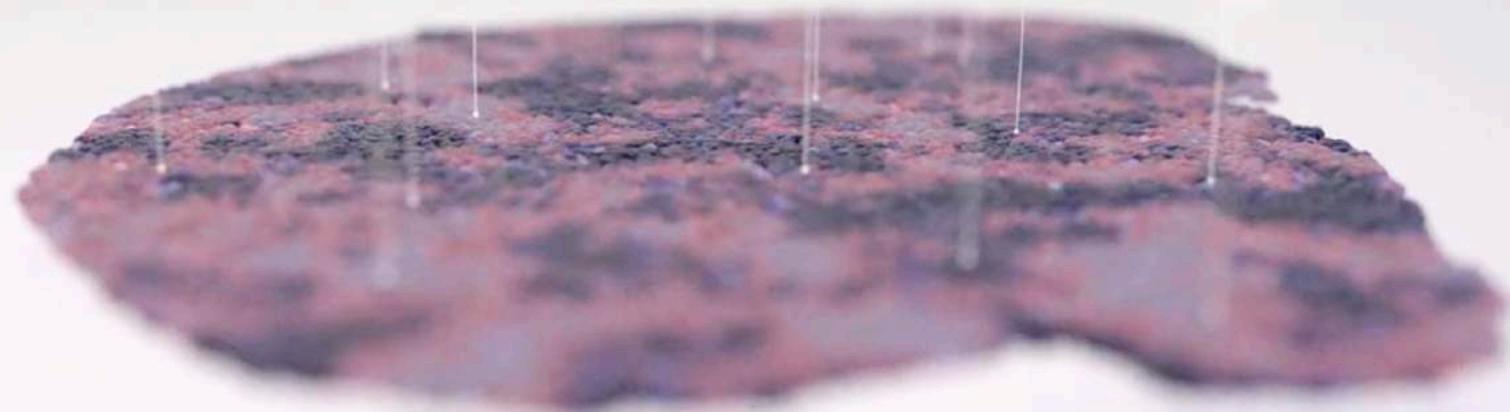


Spot 2

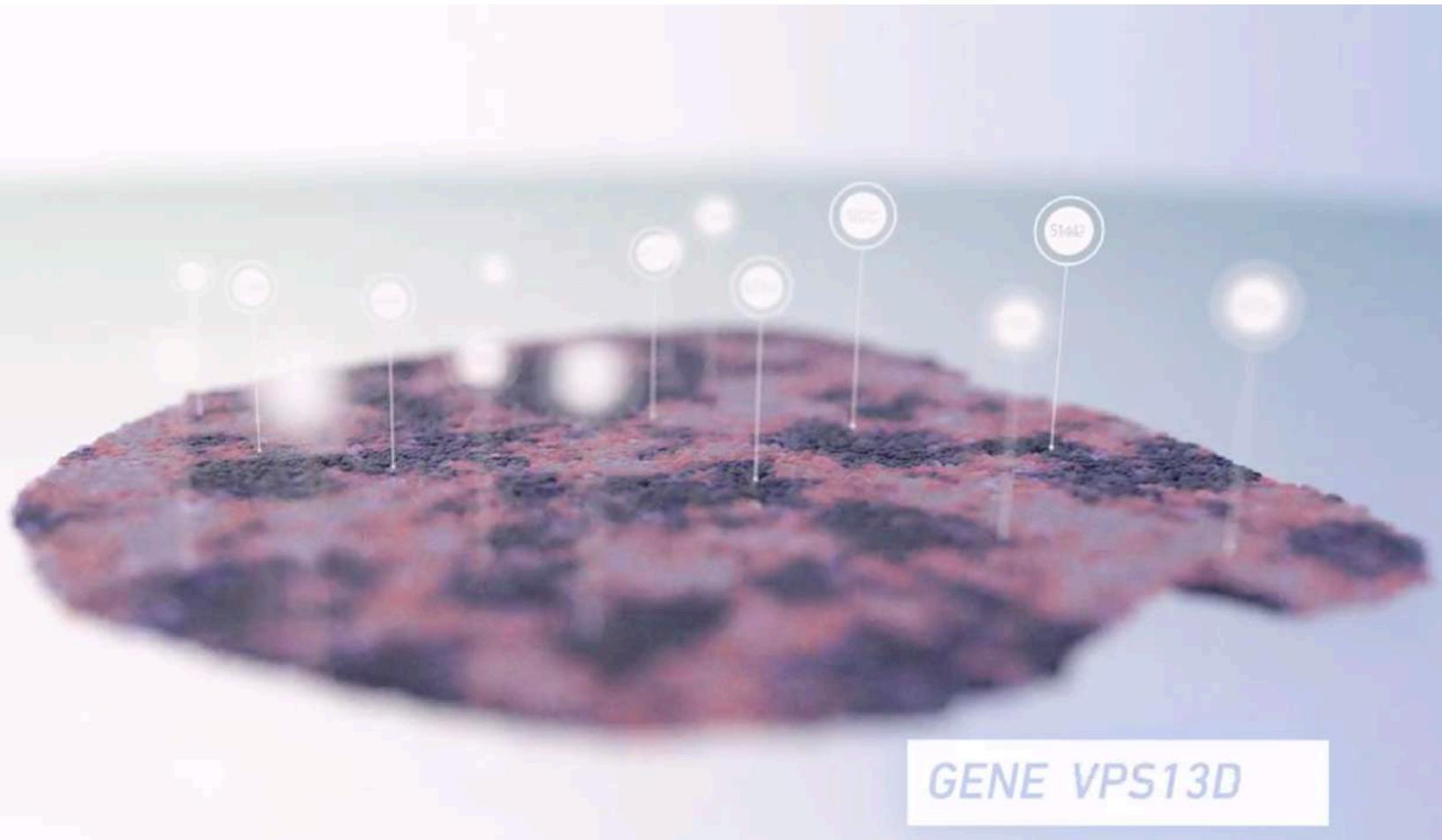




*GENE GBP2*



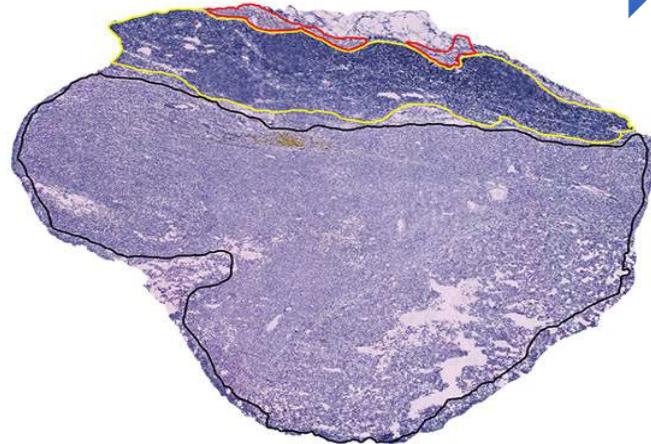
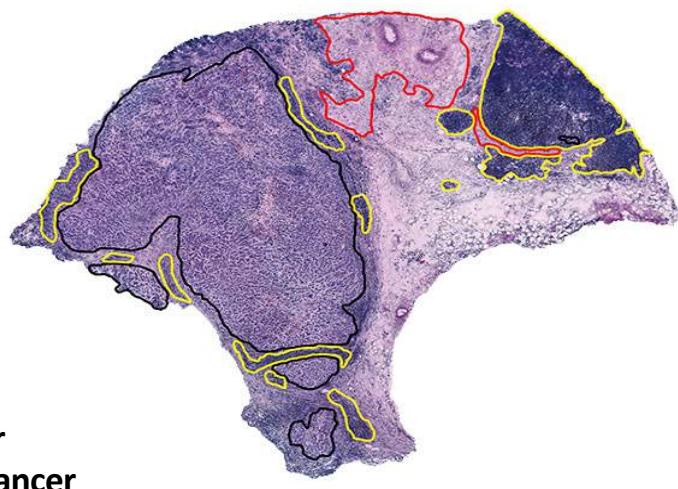
GENE ACTL8



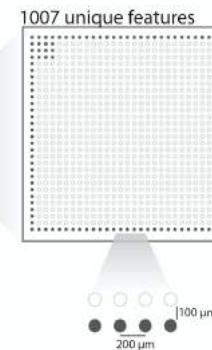
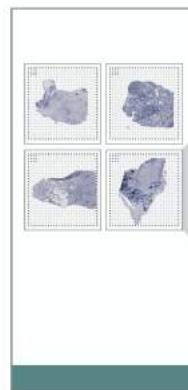
GENE VPS13D

# Hudcancer

Patolog har  
markerat cancer  
(svart cirkel)



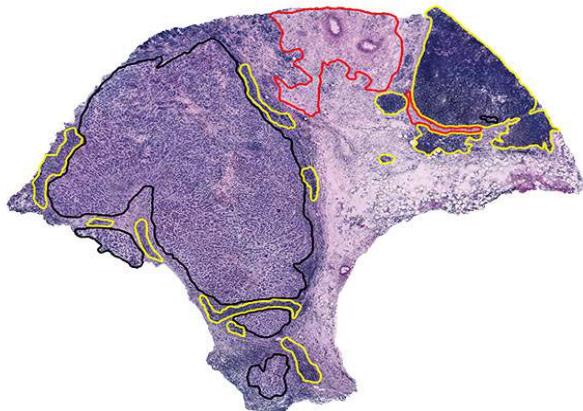
Melanoma (black),  
Stroma (red)  
Lymphoid tissue (yellow)



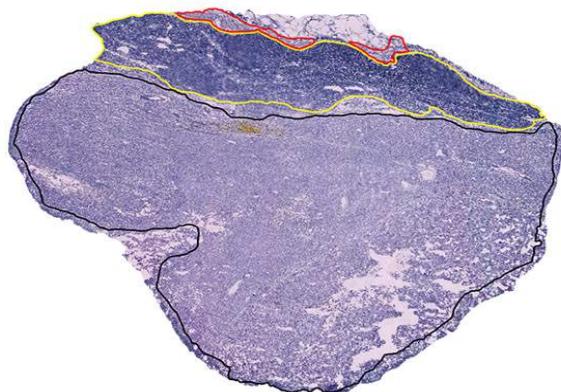
Dataanalys



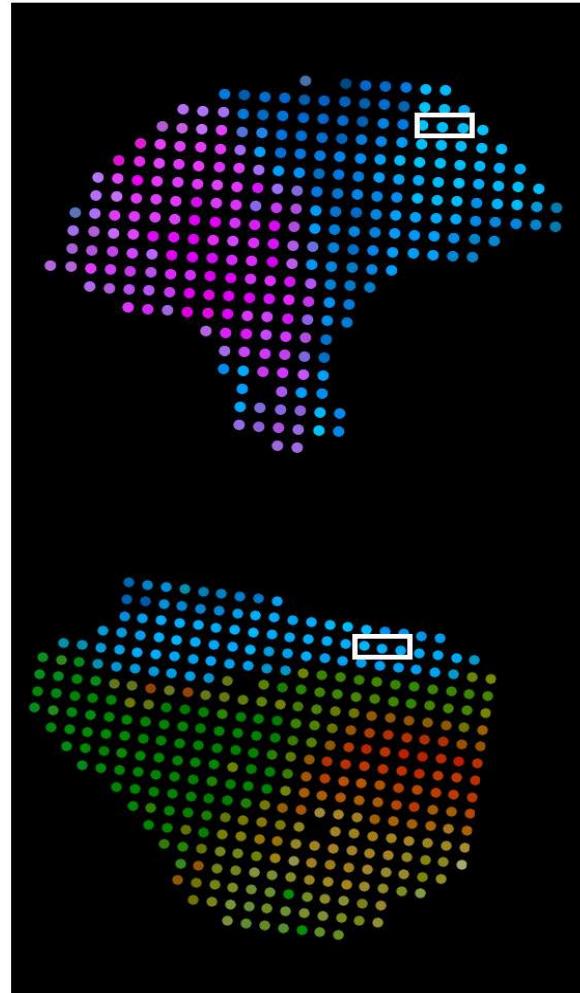
# Heterogeneity – melanoma lymph node metastasis



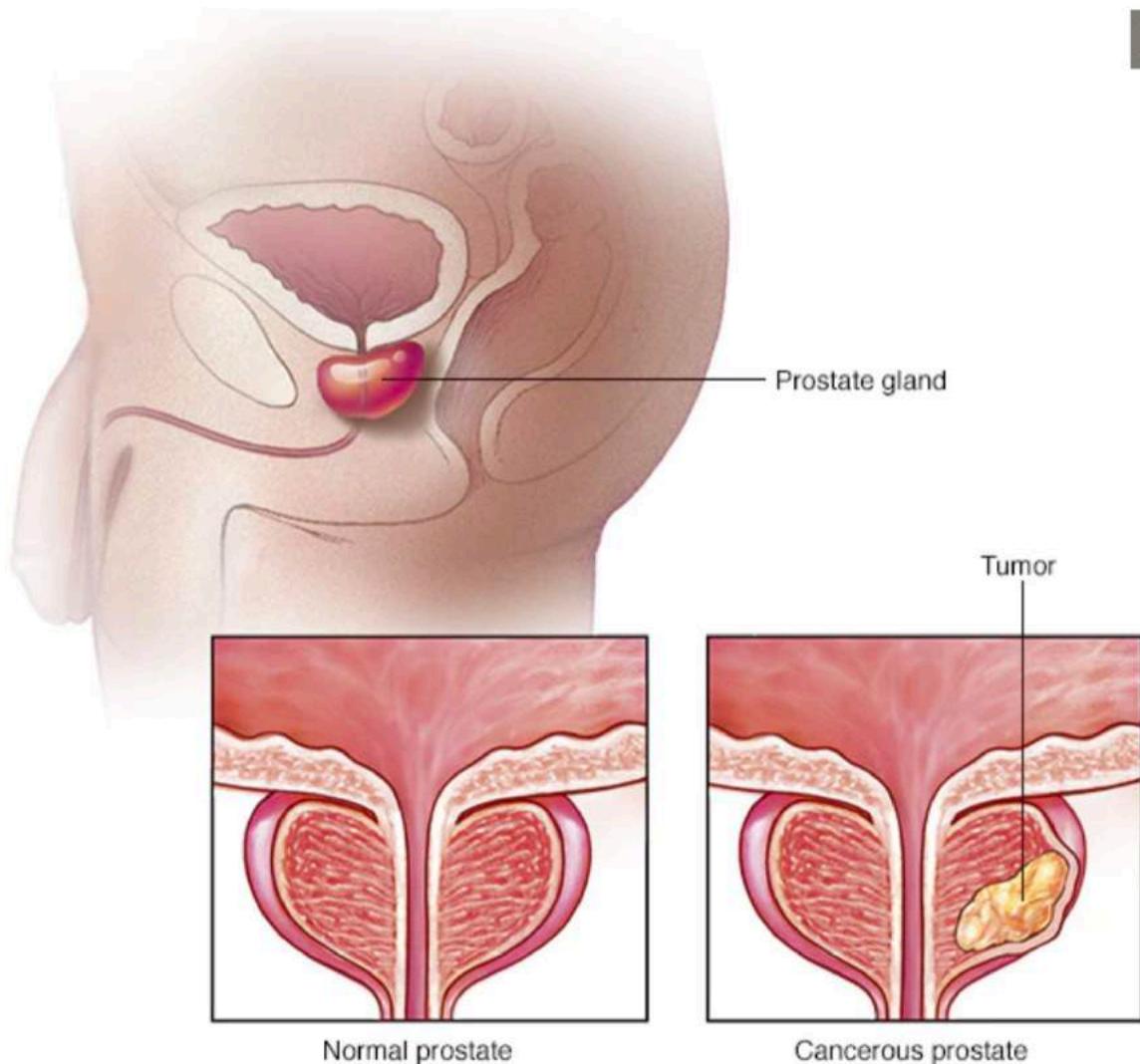
Patolog har  
markerat cancer  
(svart cirkel)

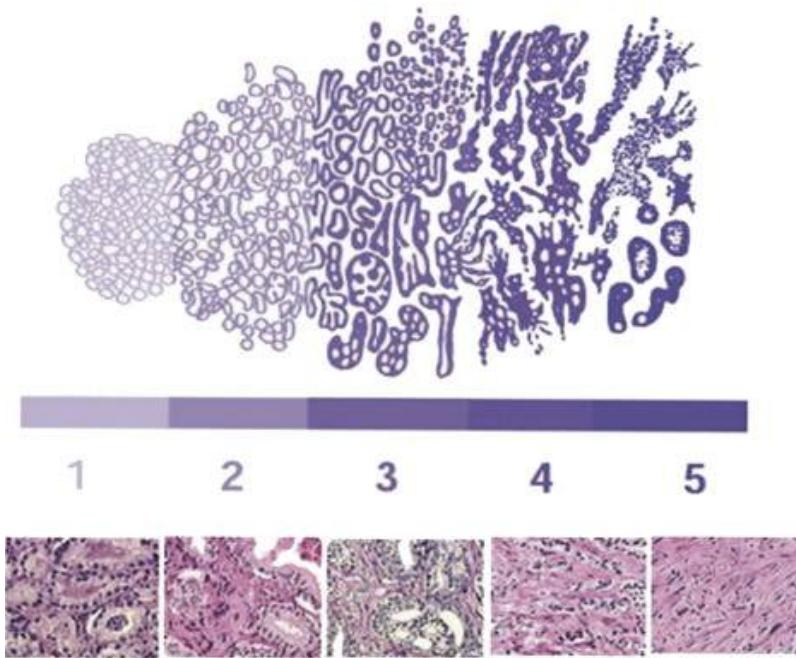


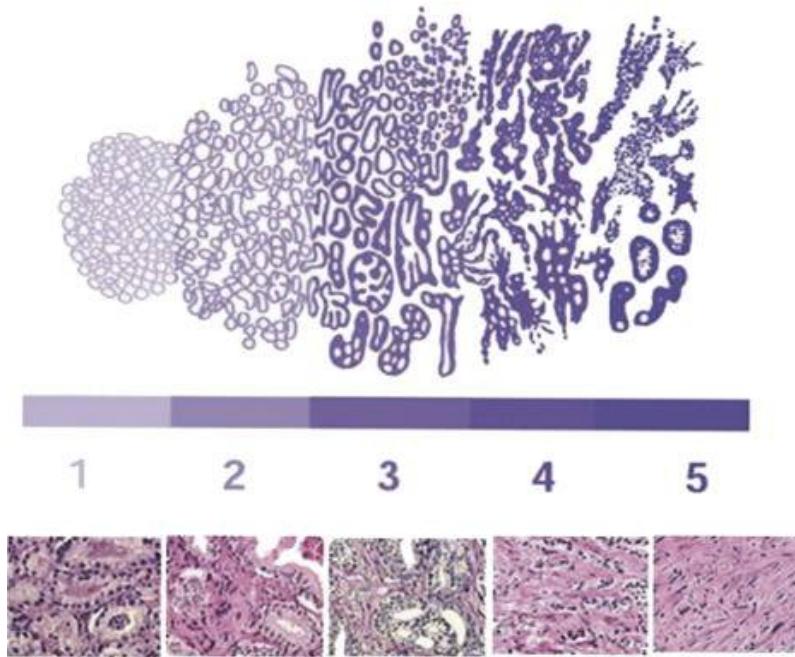
Melanoma (black),  
Stroma (red)  
Lymphoid tissue (yellow)



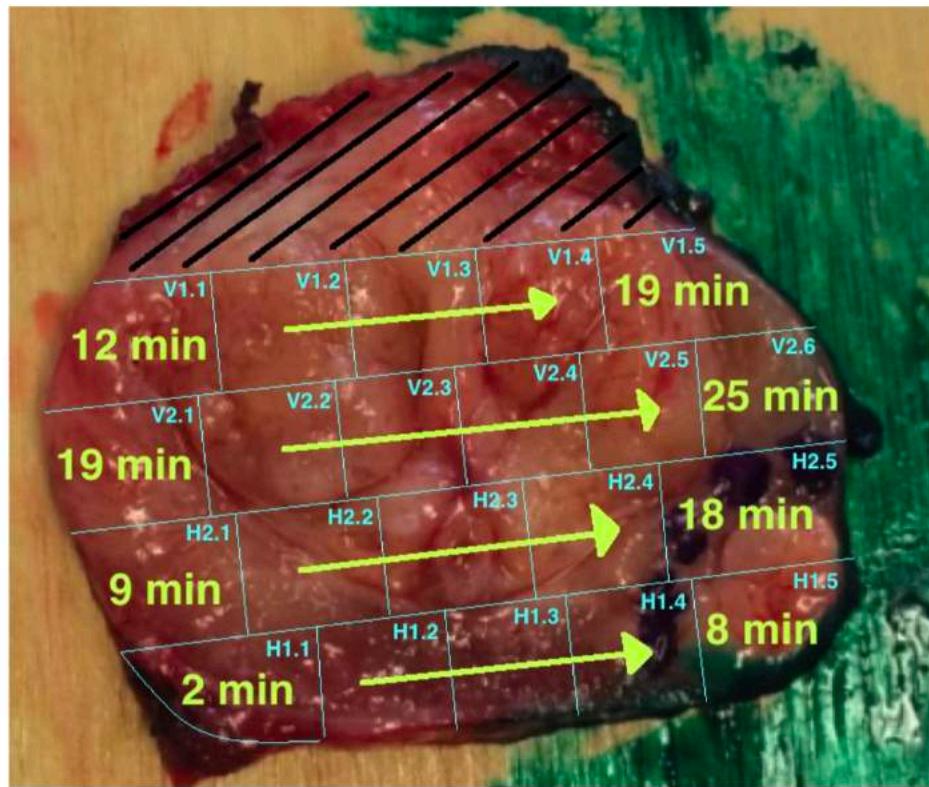
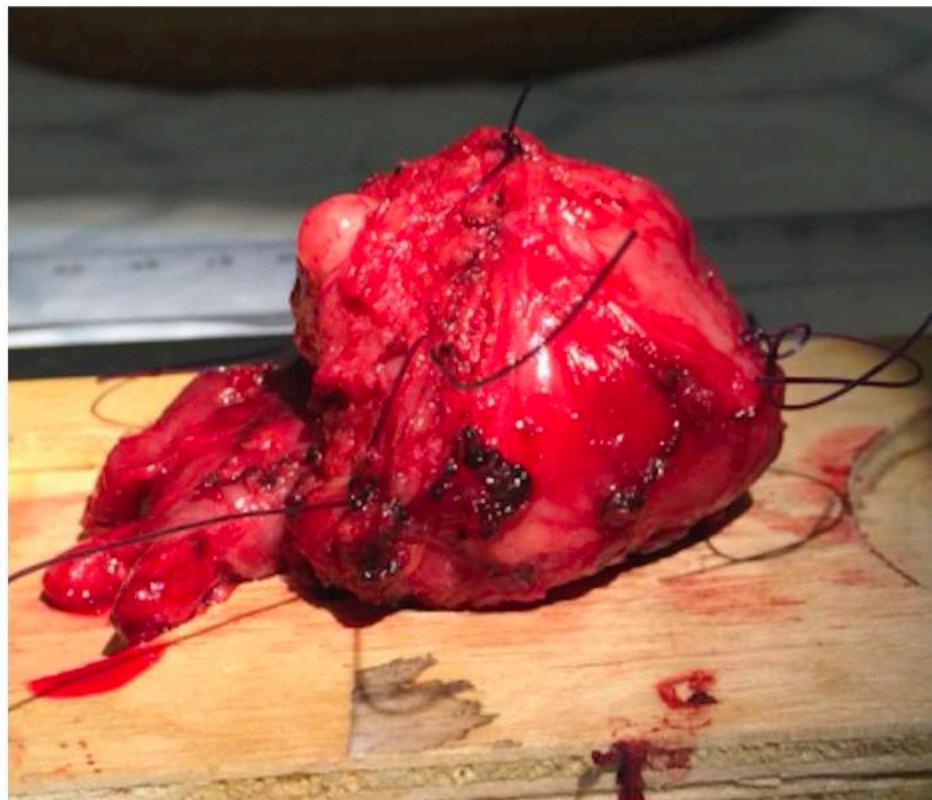
Data analys  
ger RNA-baserad  
annotering







*Rätt prognos av prostatacancer svår!*



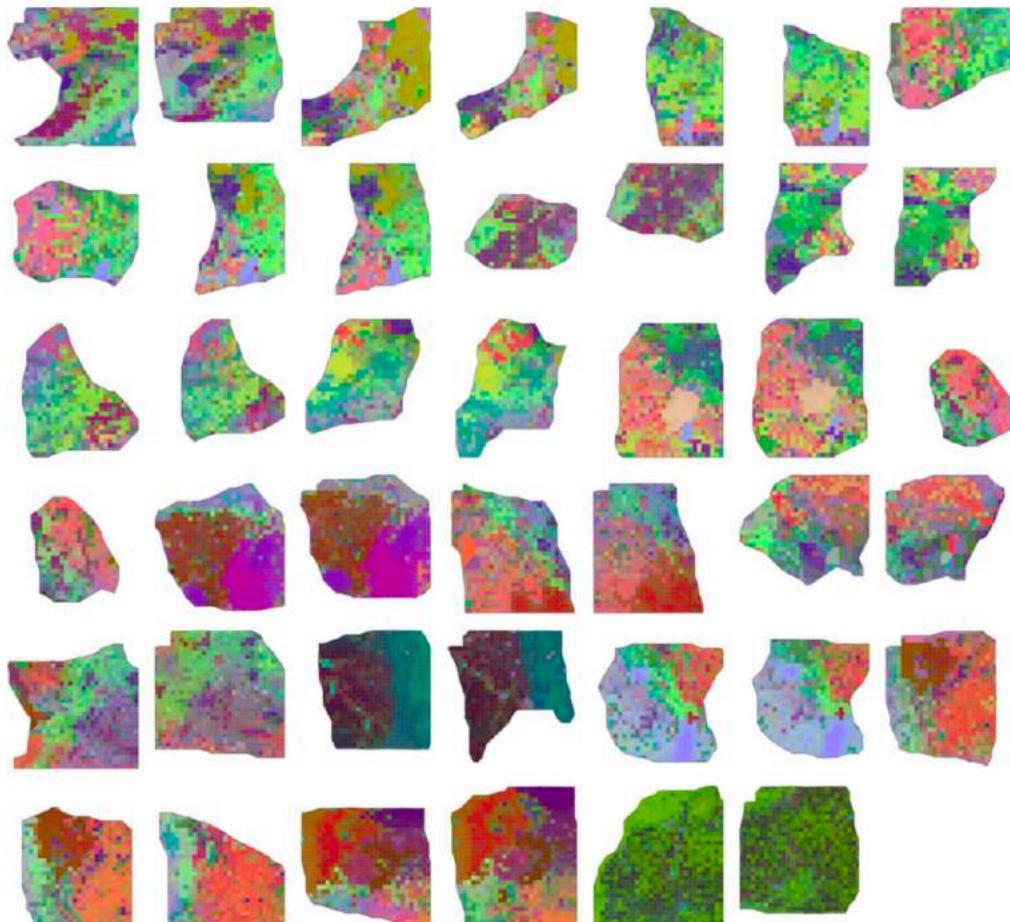
## Patient 2

Firas skär i prostatan  
för att ge ett tvärsnitt  
på 5 mm till forskningen!



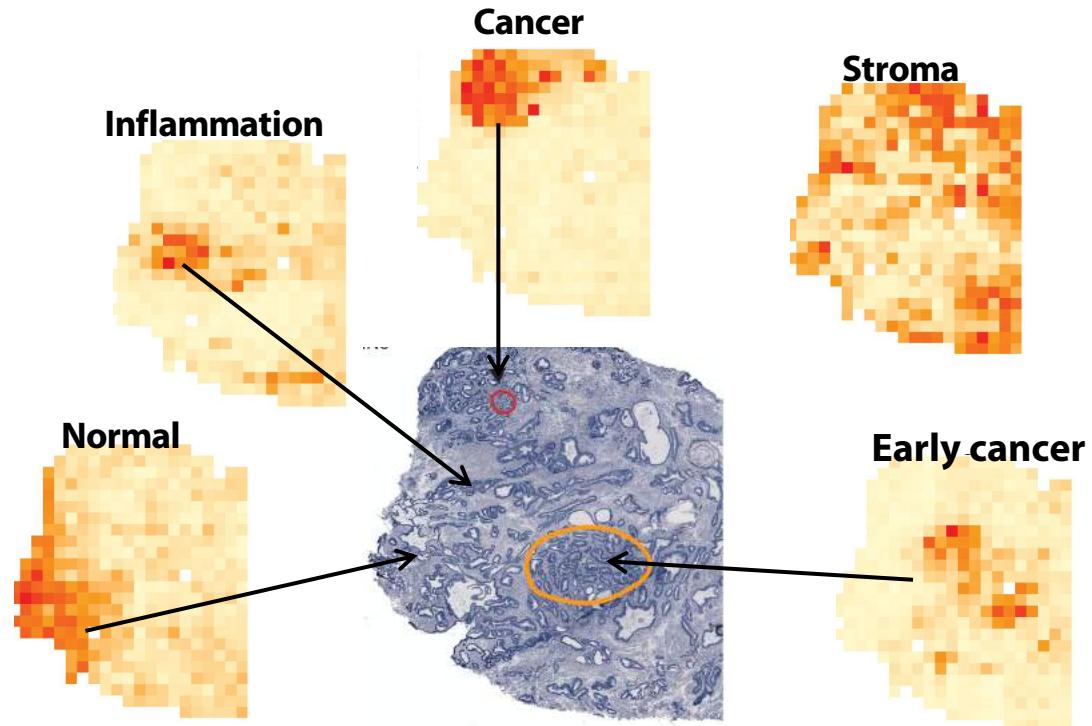
## Patient 2



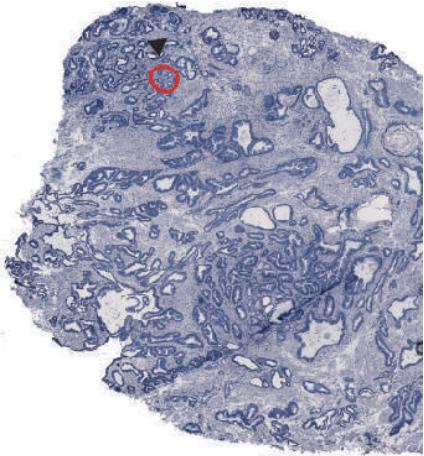


7  
cancer clones

$\approx 20\,000$  tissue regions



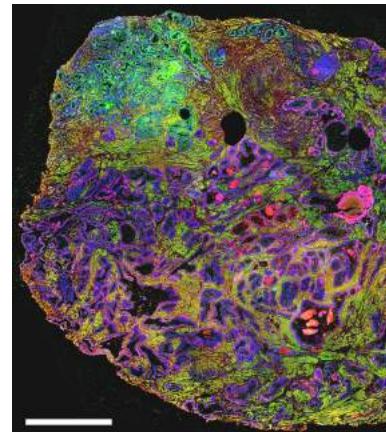
*Klassificera olika vävnadskomponenter (stroma, immunceller, PIN3, cancer)  
till genuttrycksprofiler*



Annotering av patolog



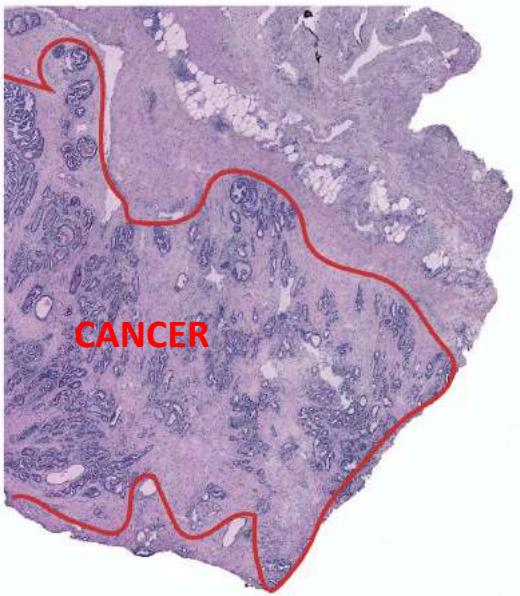
Datadriven  
annotering



Immunohistokemi

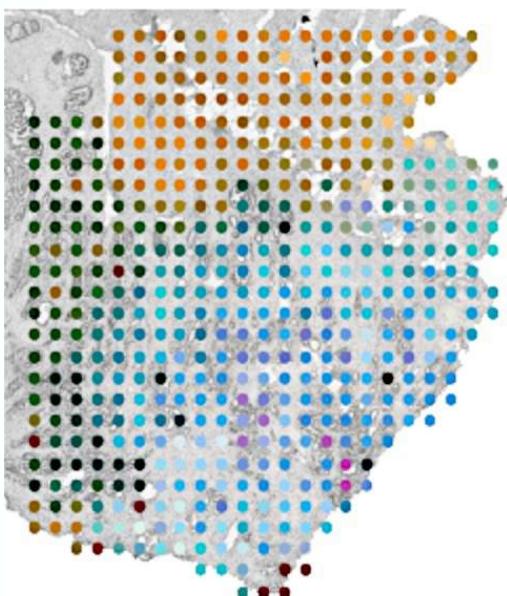
*Molekylära förändringar sker innan ändring av histologisk fenotyp*

1 region

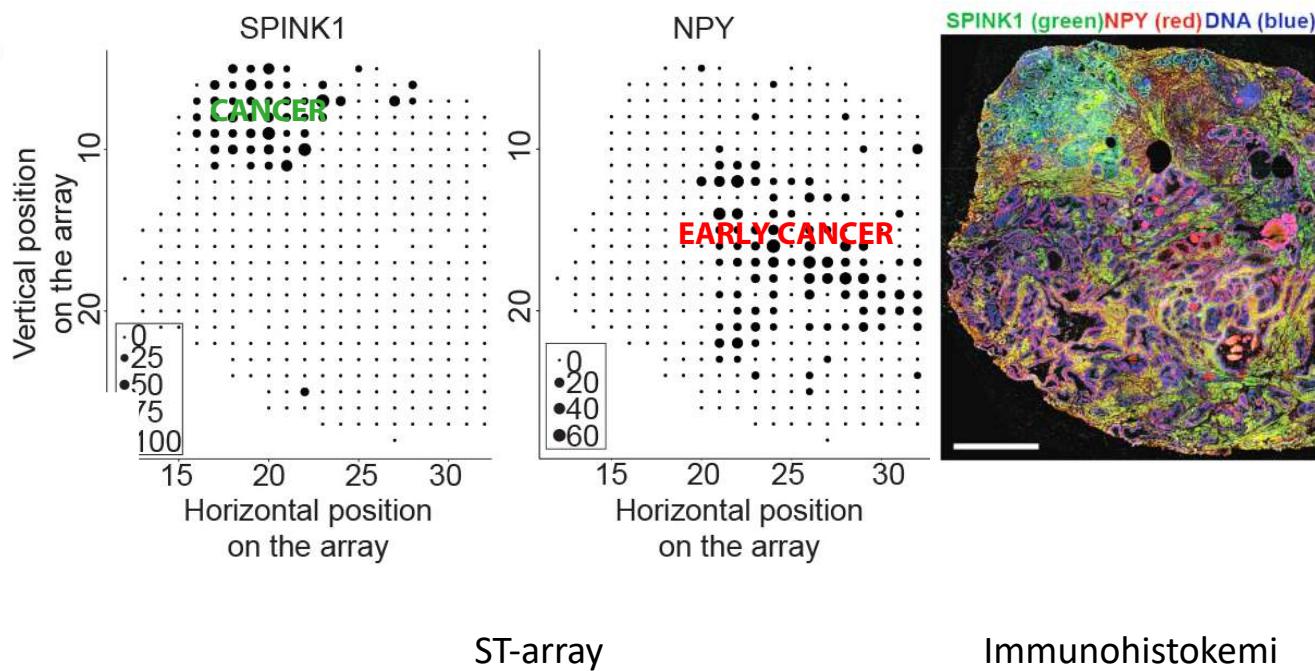


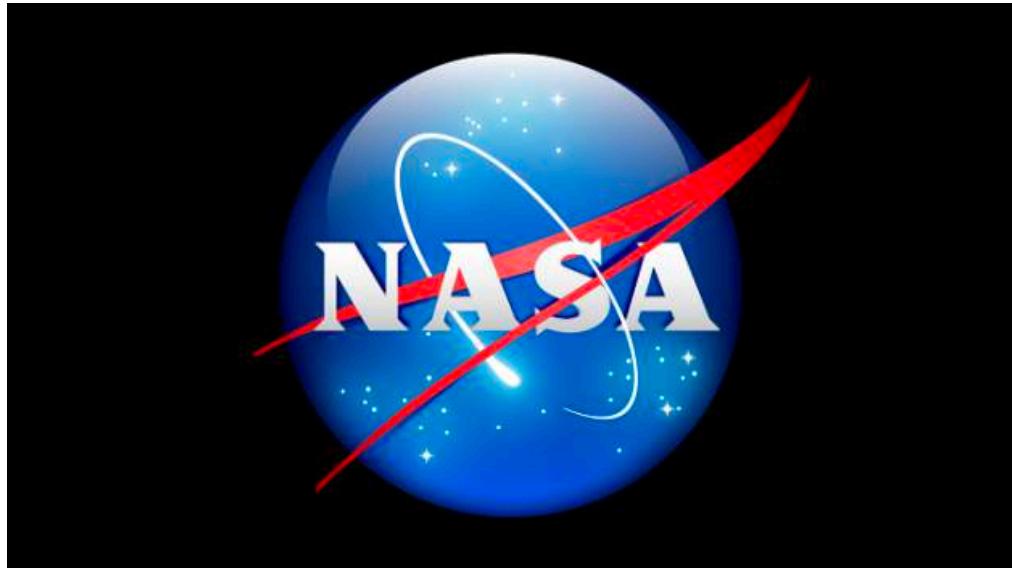
Annotering av patolog

Fler regioner identifierade



Datordriven annotering





**Hur påverkas man av att vara i rymden?**

**Vad händer med kroppen på molekylärt plan?**



Tvillingstudie



**Hur påverkas man av att vara i rymden?**

**Vad händer med kroppen på molekylärt plan?**

- Nytt samarbete – Inga resultat ännu
- Tidigare genuttrycksanalyser:
  - DNA mer eller mindre oförändrat
  - Genaktivitet förändrad ---> Vissa gener aktiverade
    - Bl.a. Reparationsgener

## Mars-projektet

*Hur kan NASA förbättra  
förutsättningarna för  
marsmänniskorna?*



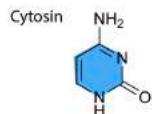


**Tack för mig!**

# **EXTRA**

# DNA och RNA

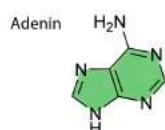
## RNA



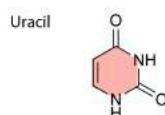
C



G



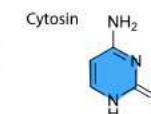
A



U



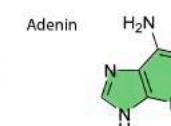
## DNA



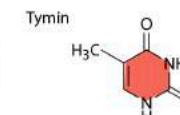
C



G



A



T

RNA är  
enkelsträngat

RNA has bases  
U instead of T

DNA builds  
base pairs

