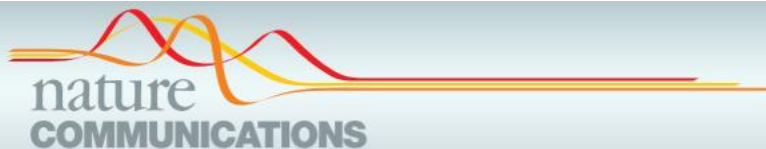


成年果蝇卵巢单细胞图谱及谱系分析

分享人：吕岩

时间：2020年11月29日



成年果蝇卵巢单细胞图谱及谱系分析

A single-cell atlas and lineage analysis of the adult *Drosophila* ovary

◆ 物种名称:	果蝇
◆ 研究单位:	加州大学等
◆ 发表期刊:	Nature Communications
◆ 发表时间:	2020年11月
◆ 影响因子:	12.121

目录/content

- 一、研究背景
- 二、研究思路
- 三、研究结果
- 四、亮点与待完善内容



一、研究背景

- ◆ 果蝇卵巢是广泛的生物模型，细胞多样性丰富
- ◆ 果蝇中，每个卵巢由大约16股发育中的卵泡组成，称为卵巢孔，卵子发生开始于每个卵巢的前部，结构称为生殖室
- ◆ 从TF往右分化发育

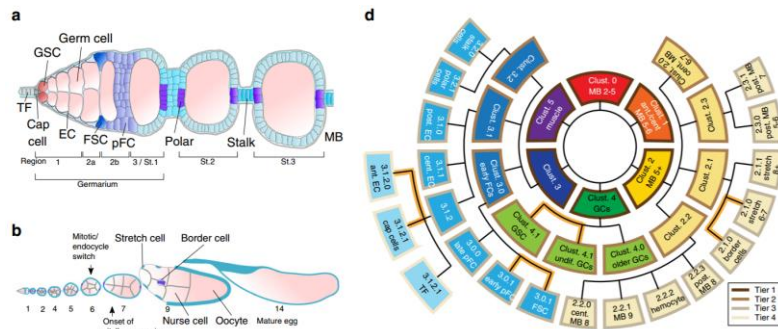


图 果蝇卵巢结构图



二、研究思路——材料与方法

- **样本选择：**年轻期、非分泌性阶段雌性果蝇
- **研究方法：**Single-cell RNA-seq
- **试验方法：**

微小剪刀处理果蝇，获得卵巢组织，解离获得单细胞悬液，上10x单细胞平台。



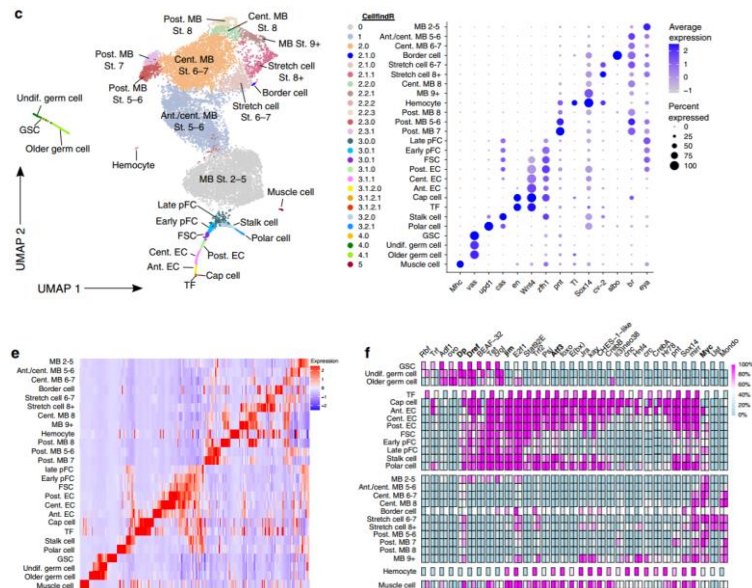
二、研究思路——技术路线

研究要点：

- (1)：利用单细胞RNA-seq结果，获得果蝇卵巢的单细胞图谱；
- (2)：鉴定新的细胞类型；
- (3)：针对不同细胞类群进行拟时分析，研究发育机制；
- (4)：实验验证。

三、研究结果

◆ 结果1：卵巢细胞的转录组和基因调控网络



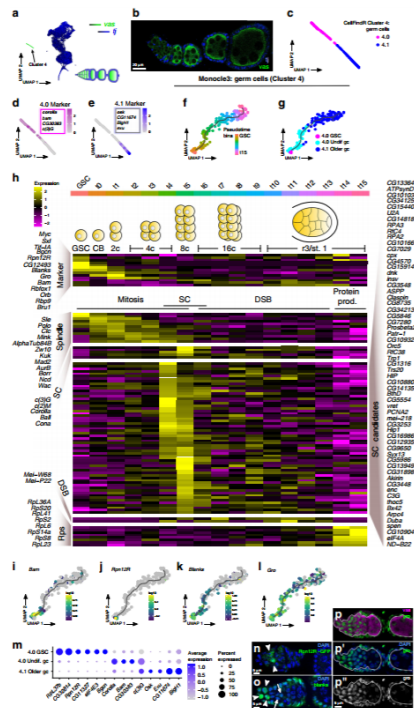
- 3个生物学重复，单细胞测序，共获得约14000个细胞的转录谱，使卵巢覆盖率超过2倍；
- Seurat+CellFindR进行细胞聚类鉴定；
- 数据具有重复性 ($r_2 > 0.96$) 和可靠性（所有数据集几乎对每个聚类都有贡献）；
- 已知的和新识别的标记，我们能够分配所有26个集群的细胞类型标识，并且GO-term分析进一步确认了类群标记；
- 为了确定在数据集中富集在一个或多个细胞簇中的调控因子，对两个较大的数据集2和3进行了SCENIC分析，并测试了通过该算法识别的转录因子的RNAi敲除是否在卵巢中产生表型。该分析确定了许多在卵子发生的特定阶段活跃的调节因子，包括一些根据以前的研究而预测的调控因子，还有一些在卵巢中具有先前未描述作用的调节因子。

图 果蝇卵巢单细胞图谱



三、研究结果

◆ 结果2: 生殖细胞转录组在发育过程中变化迅速



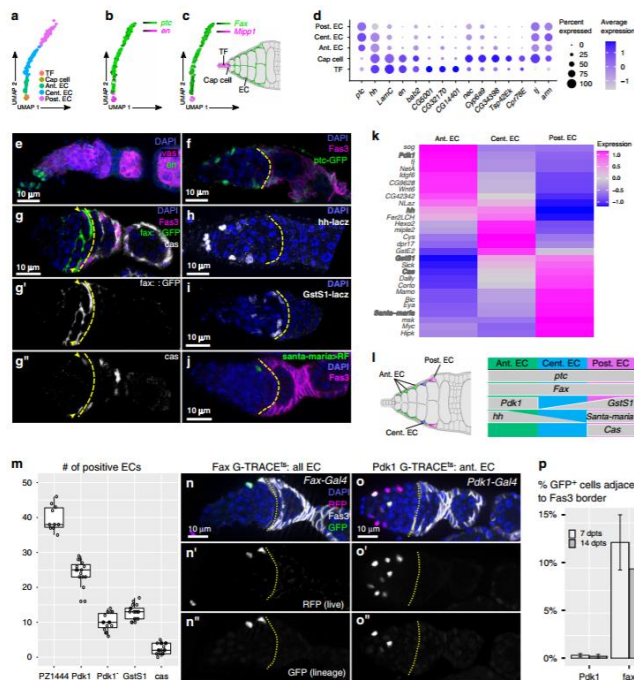
- 根据生殖细胞标记如vasa，将生殖细胞和体细胞分成两个大分支，根据不同发育阶段的marker可以将不同发育阶段的生殖细胞区分开来（但是发育后期细胞太大，10x捕获不到）；
- Monocle3拟时分析估计生殖细胞发育时序性，生殖细胞排列成一条与已知的生殖细胞发育进程相一致的直线轨迹，细胞表达有丝分裂标记的细胞在那些表达减数分裂标记的细胞之前；
- 实验验证了三个候选标记，结果一致。

图 PF-EPN（后颅窝）肿瘤内的异质性



三、研究结果

◆ 结果3：由基因表达梯度定义的不同内生生殖鞘细胞亚型



- 通过EC标记的表达来区分三个末端簇，通过簇特异性标记的表达可以明显区分它们，表明它们各自包含一个单独的ECs群体；
- 使用公开的增强子trap和protein trap线来研究这些EC群体的位置，*ptc*-GFP和*fax*::GFP；
- 整个EC群体进行了monocel3分析，发现它确定了三个不同的EC群体；
- EC特性存在从前到后的基因表达梯度；
- 大量实验验证工作，包括细胞谱系追踪、GTRACE等。

图 前生殖体细胞



三、研究结果

◆ 结果4：早期卵泡细胞谱系

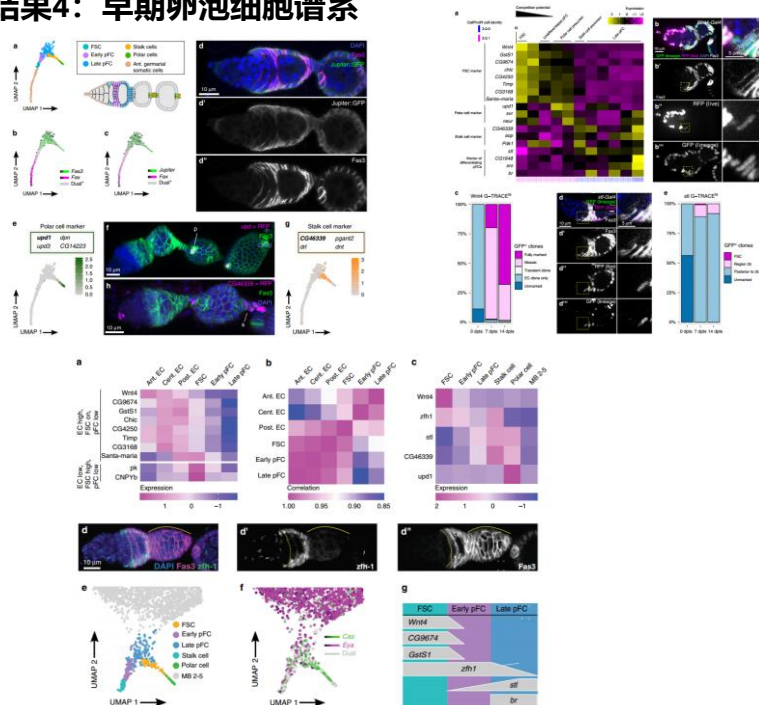


图 后生殖体细胞、极性细胞和柄细胞、早期FSC谱系

- 与ECs、TF细胞和cap细胞在同一分支上的四个末端簇表达卵泡细胞标记物，如Fas3和Jupiter，因此是FSC谱系的一部分。利用拟时分析和GFP实验验证，还原细胞发生时序，并排除了一些非特异性marker、鉴定出一些新的marker；
- 谱系追踪实验与其他研究的结合表明，虽然FSC可以被PFC取代，但并非所有的PFC都适合竞争。这为这些卵泡细胞系的转运扩增细胞之间的异质性提供了证据。



三、研究结果

◆ 结果5: MB卵泡细胞转录组在时间和位置上的变化

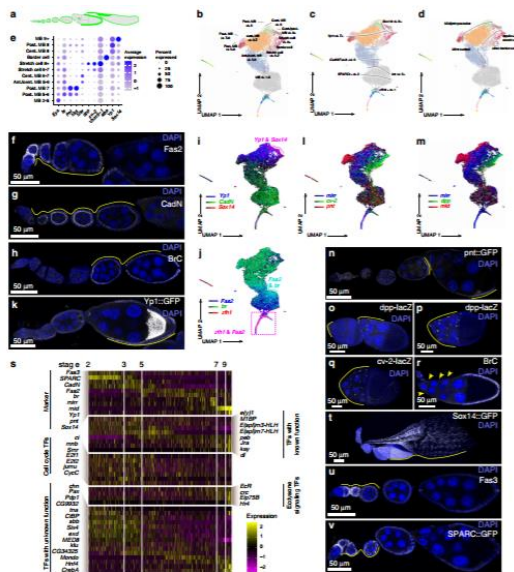


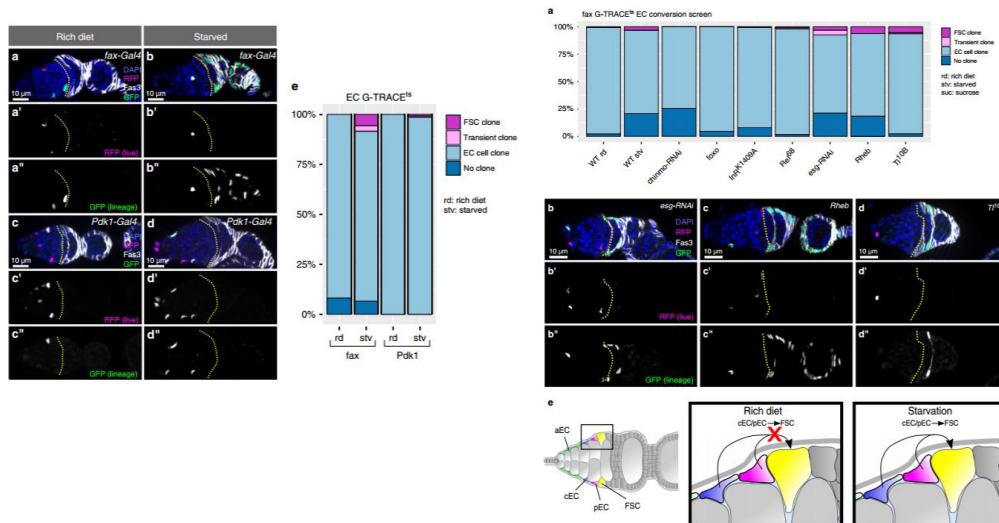
图 主体卵泡细胞的不同阶段

- 其余的终末簇包含主体卵泡细胞及其衍生细胞类型。早期卵泡的主体卵泡细胞数量相对均匀，中晚期卵泡的卵泡细胞分化更为多样。
- 用拟时分析，检测卵泡发育过程中发生的转录变化。
- 发现了一些在卵子发生过程中具有已知作用的转录因子，如早期卵泡中的细胞周期调节因子和晚期蜕皮激素反应的转录因子，以及其他在卵子发生中功能未知的转录因子



三、研究结果

◆ 结果6: 在饥饿状态下, EC胞亚群可以转化为FSC



- 观察到在一只苍蝇的卵巢中存在卵泡细胞克隆, 这促使我们考虑环境条件, 如营养物质的可用性是否会影响克隆的形成模式。在EC驱动器fax-Gal4驱动G-TRACETs的情况下, 暴露于24小时的完全饥饿(仅水)或蛋白质饥饿(水加蔗糖)中, 分别有80%和71%的受检苍蝇产生FSC克隆。营养良好的条件下, 无论GFP+EC的位置如何, 都不含有FSC克隆。
- 利用RNAi进行基因表达验证, 进一步证实了FSC克隆源于EC转化事件, 也证明了该过程是由基因控制的。

图 EC转化为FSC受基因控制



三、研究结果——思路及总结

◆ **材料：**雌性果蝇卵巢、以及EC、FSC细胞系

◆ **方法：**10x Genomics scRNA-seq

◆ **内容：**

- (1) 利用ScRNA-seq分析年轻果蝇卵巢的单细胞图谱；
- (2) 利用拟时分析确认果蝇卵巢细胞发育时序性；
- (3) 发现新的细胞类型及饥饿条件处理下细胞的转化模式。

◆ **结果：**

- (1) 生成了一个成年果蝇卵巢细胞的详细图谱；
- (2) 鉴定了我们的数据集中的GSCs和FSCs，其中显示了一些预测为每一个干细胞群体特异的基因；
- (3) 发现了几种Gal4驱动因子；
- (4) 非干细胞转化为干细胞的能力可能是成体干细胞的一个更普遍的特征。



四、亮点与待完善内容

◆ 文章亮点

- 通过单细胞转录的测序技术研究了全面的果蝇卵巢单细胞图谱，并做了大量实验验证；
- 生殖细胞对表达癌症主要驱动因素的细胞富集，而内皮细胞和滤泡细胞对与心脏功能不全有关的基因富集，这表明这些细胞类型可能是研究这些人类疾病基础的遗传相互作用的良好起点；
- CellFindR构建的树与预期一致，并提供了一些有趣的新见解；
- 胚胎干细胞在饥饿的条件下，可以利用胚胎干细胞的遗传转化潜能，为研究成体干细胞生态位中细胞对生理应激反应的机制提供了新的机会。

◆ 待完善

- 尽管在这项研究中主要关注每个簇最独特表达的基因，但每个簇的转录谱是一个丰富的数据集，可以挖掘这些数据集来识别与其他感兴趣主题相关的细胞群；
- 可以利用其他研究的scRNA-seq数据集进一步提高卵巢细胞atlas的准确性和分辨率，并且对地图集的预测进行跟踪，重点关注特定细胞群体。

Thank You!



官方网站



官方微信

www.berrygenomics.com