©2022 CapitalBio Technology. All rights reserved.

KYFW-2022-01 V1.0

博奥晶典控股成员

博奥检验 CapitalBio MedLab　博奥木华基因 CapitalBio Genomics　博奥新景 CapitalBioDx　博奥颐和 CapitalBio eHealth

北京博奥晶典生物技术有限公司

地址：北京市经济技术开发区科创六街生物医药园 C 座　邮编：101111　电话：010-69002900　传真：010-69002988　客服：400-9968-999
http://www.capitalbiotech.com

博奥晶典
CapitalBio Technology

单细胞多组学研究新革命

——10x Genomics 单细胞解决方案

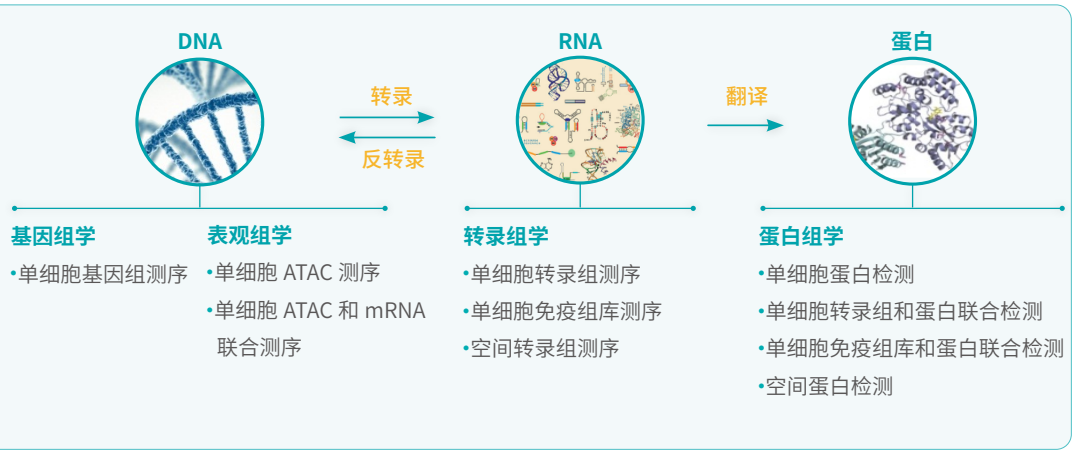
北京博奥晶典生物技术有限公司

博奥晶典单细胞测序平台介绍

博奥晶典作为国内首家引进 10x Genomics 平台的公司，率先在国内开展上万级通量的单细胞转录组测序服务。目前已经完成了 1 万多例样品、几百种不同样品类型的服务，覆盖的物种和样品类型包括人和小鼠的肝脏、肺脏、皮肤、心脏、脑、肾脏、血液、卵巢、神经等组织，以及鸡、斑马鱼、猪、水稻、拟南芥、油菜、白菜、橄榄等物种，是目前国内大规模单细胞测序经验非常丰富的公司。

博奥晶典于 2019 年 12 月同时获得了单细胞转录组、单细胞 ATAC、单细胞免疫组库 3 个服务产品的官方 CSP 认证，并于 2020 年 9 月获得了空间转录组产品的官方 CSP 认证，成为目前国内唯一一家同时获得 4 项 10x Genomics 平台服务官方认证的公司。

博奥晶典支持单细胞测序文章分别发表在 *Nature*、*Cell*、*Cancer Discovery*、*Circulation*、*Nature Cell Biology*、*Cell Research*、*Cell Stem Cell*、*Nature Immunology*、*Journal of Hepatology*、*Gut*、*Signal Transduction and Targeted Therapy*、*National Science Review*、*Advanced Science* 等期刊，应用领域涉及细胞图谱绘制、类器官、生殖发育、心血管疾病、干细胞、衰老、肿瘤异质性、肿瘤免疫治疗、疾病机制研究等。截至 2022 年 2 月，博奥晶典已累计支持客户发表单细胞高分文章 73 篇，影响因子超 1035 分，是目前国内利用 10x Genomics 单细胞平台支持发文最多、累计影响因子最高的公司。



目录

01 单细胞转录组测序

1. 技术原理 …… 01
2. 平台优势 …… 01
3. 分析展示 …… 02
4. 应用方向 …… 02
5. 应用案例 …… 03

02 单细胞免疫组库测序

1. 技术原理 …… 12
2. 平台优势 …… 13
3. 分析展示 …… 13
4. 应用方向 …… 14
5. 应用案例 …… 14

03 单细胞 ATAC 测序及单细胞 ATAC 与转录组联合检测

1. 技术原理 …… 21
2. 平台优势 …… 22
3. 分析展示 …… 23
4. 应用方向 …… 23
5. 应用案例 …… 24

04 单细胞表面蛋白检测

1. 技术原理 …… 30
2. 产品优势 …… 30
3. 应用方向 …… 30
4. 应用案例 …… 31

1 单细胞转录组测序

技术原理

博奥晶典单细胞转录组技术利用 10x Genomics Chromium 平台，可以在单细胞水平对每个细胞内的 mRNA 进行检测，通过大量的单细胞基因表达数据，可进行细胞表达特征聚类、亚群表达特征分析、细胞分化轨迹、细胞间互作关系等方面的研究。

10x Genomics 单细胞转录组技术基于微流体平台，将带有条形码和引物的凝胶珠和单个细胞包裹在油滴中；在每个油滴内，凝胶珠溶解，细胞裂解释放 mRNA，通过逆转录产生带条形码的 cDNA；液体油层破坏后，cDNA 后续进行文库构建，然后使用 Illumina 测序平台对文库进行测序检测，即可一次性获得大量单细胞的基因表达数据，从而实现在单细胞水平进行转录组测序的目的。

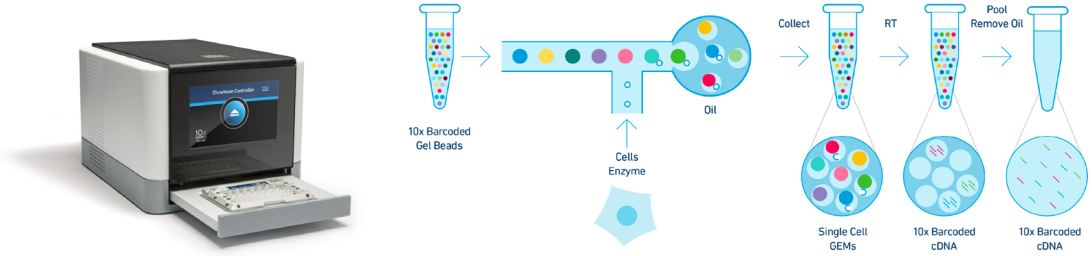


图 1. 单细胞转录组检测平台及原理

平台优势

通量高	每个样本可获取 20,000 个细胞
周期短	2 天内即可完成悬液制备、细胞捕获及建库
成本低	单个细胞成本远低于其他单细胞平台
经验丰富	博奥晶典已完成 1 万 + 样品，150+ 组织类型
实验质量认证	博奥晶典单细胞转录组测序已获得 10x Genomics 官方 CSP 认证证书
一站式服务	博奥晶典提供从样品处理到数据可视化一站式服务

分析展示

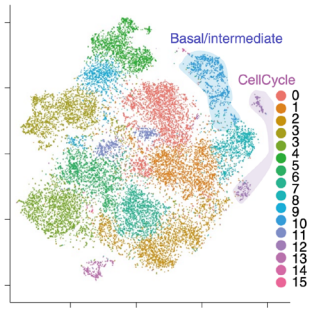


图 2. 细胞分群及亚群注释

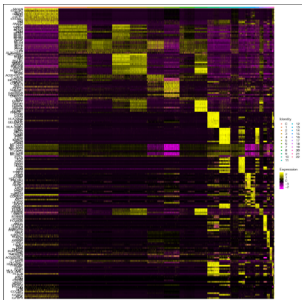


图 3. 差异基因聚类热图

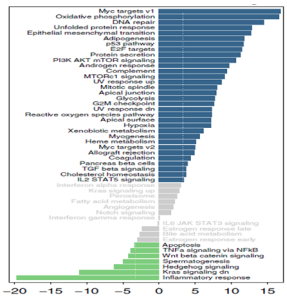


图 4. GSVA 富集分析

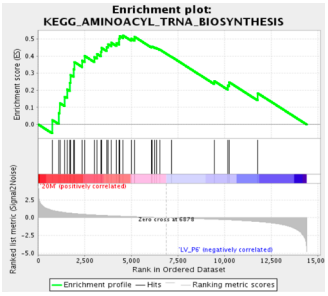


图 5. GSEA 富集分析

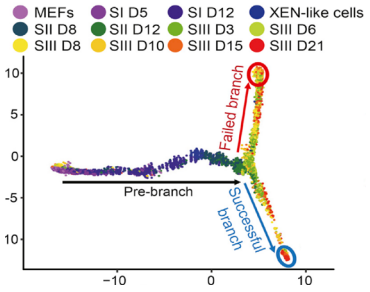


图 6. 拟时间序列分析

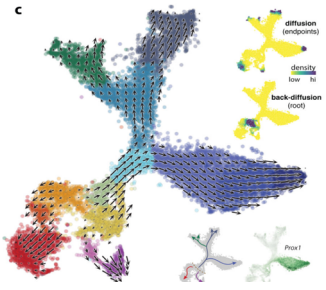


图 7. RNA 速率分析

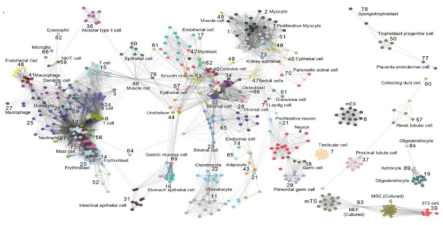


图 8. 细胞关联分析

图 9. Cellphone DB 细胞间通讯分析

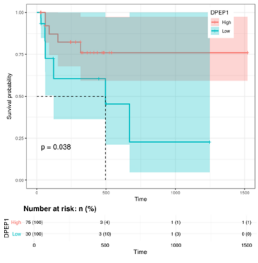


图 10. TCGA 生存分析

应用方向

1. 肿瘤研究
2. 干细胞研究
3. 免疫研究
4. 神经科学
5. 疾病机制
6. 衰老发育
7. 植物研究
8. 药物研究

应用案例——晶典支持

肿瘤研究方向
MET amplification attenuates lung tumor response to immunotherapy by inhibiting STING
单细胞转录组解析非小细胞肺癌免疫治疗机制
期刊：*Cancer Discovery* 影响因子：39.397 发表单位：同济医学院

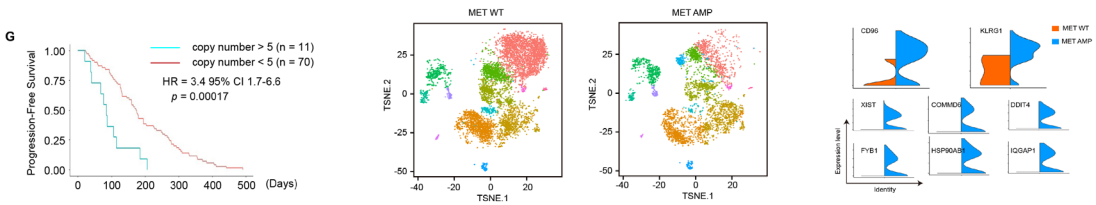
• 摘要

免疫检查点疗法（ICB）已在非小细胞肺癌（NSCLC）患者中表现出一定的治疗效果，在总生存期、持久反应和良好的安全性方面均有显著益处。但由于原发性或继发性耐药，大多数患者最终未能对 ICB 治疗产生反应。本研究通过 81 名 NSCLC 患者 ICB 治疗前后比较发现 MET 扩增的患者对 ICB 耐药，利用单细胞转录组测序发现肝细胞生长因子受体（MET）扩增通过 UPF1 蛋白降低了 STING 的表达，弱化了 IFN 反应，影响了抗肿瘤免疫的产生。而 MET 抑制剂与抗 PD-1 抑制剂联合使用，能增强抗肿瘤免疫，有助于肿瘤消退。本研究首次表明 MET 拷贝数是影响肺癌患者对 ICB 反应的一个关键因素，并有希望快速转化到临床应用中。该研究中的单细胞测序技术服务由博奥晶典提供。

81 名抗 PD-1 治疗患者，发现不响应患者 MET 拷贝数高 ▷ **单细胞测序：ICB 响应（n=2）与不响应患者（n=2）治疗前的 PBMC** ▷ 免疫细胞组成和功能存在差异 ▷ 实验验证：抗 PD-1 与抗 MET 联合治疗；MET 通过 UPF1 降低 STING 表达来影响抗肿瘤效果 ▷ **NSCLC 治疗的新方法**

• 主要结论

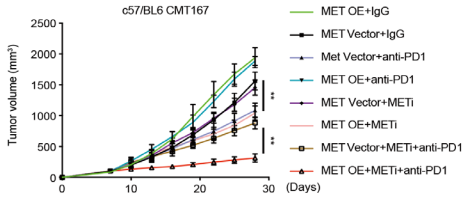
1. 在 81 名接受抗 PD1 疗法的 NSCLC 患者中发现不响应的患者与 MET 高拷贝数相关； 对按 MET 分型患者的 PBMC 样本进行单细胞测序，发现 MET 扩增的患者免疫细胞组成存在差异并且免疫细胞功能变差。



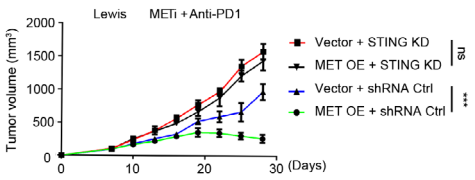
MET 高拷贝数与 WT 病人生存曲线　　MET 高拷贝数与 WT 病人免疫细胞组成差异　　不同病人基因表达差异

图 11. MET 高拷贝数与正常的病人免疫细胞图谱

2. 利用肿瘤移植小鼠模型验证，抗 PD-1 与抗 MET 联合治疗使得肿瘤生长速度减缓； MET 扩增对抗肿瘤免疫的削弱依赖于 STING ；细胞系敲除实验及小鼠肿瘤模型验证证明，MET 通过 UPF1 降低 STING 的表达，弱化了干扰素反应，影响了抗肿瘤免疫的产生。



抗 PD-1 与抗 MET 联合治疗使肿瘤生长减缓



STING 敲除使 METi+Anti-PD1 抗肿瘤效应消失

图 12. 抗 MET 疗法的作用机制

肿瘤研究方向

Dissecting transcriptional heterogeneity in primary gastric adenocarcinoma by single cell RNA sequencing

单细胞转录组绘制胃癌转录组图谱

期刊：*Gut*　影响因子：23.054　发表单位：解放军总医院

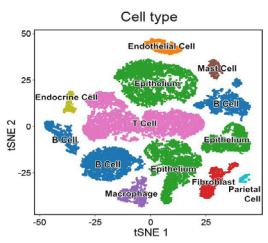
• 摘要

胃癌具有高度的分子异质性和形态学异质性。从分子层面解析胃癌异质性对于精确诊断及治疗具有重要意义。本研究利用单细胞测序技术构建了全方位的胃癌表达谱图谱，建立了一种新型的区分良恶性上皮细胞的分类方法。构建了一种量化细胞分化程度的计算方法，并揭示分化程度与胃癌的预后密切相关。发现了一种新型的胃癌类型，为剖析胃癌异质性、胃癌预后和解析胃癌化生演变进程提供了宝贵的数据资源。该研究中的单细胞测序技术服务由博奥晶典提供。

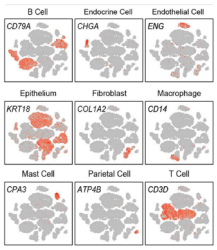
9 例胃肿瘤和 3 例非肿瘤样本的 27,677 个细胞 ▷ 共鉴定了 14 种细胞类型，绘制了胃癌细胞图谱 ▷ 构建恶性上皮和非恶性上皮的分类方法，恶性上皮聚类分析，揭示肿瘤异质性 ▷ 非恶性上皮细胞绘制谱系演变过程，揭示胃化生细胞的来源 ▷ 发现了一类特殊的细胞群体，与主细胞主导型胃底腺癌（GA-FG-CCP）的分子特征一致 ▷ 为胃腺癌的诊断和预后评估提供了宝贵的参考资料，为胃肿瘤异质性的研究提供了有价值的资源

• 主要结论

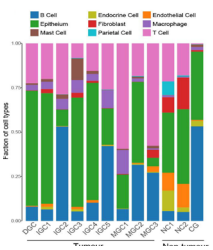
1. 单细胞测序构建了全面的胃癌单细胞图谱。



细胞分群图（图 13-1）



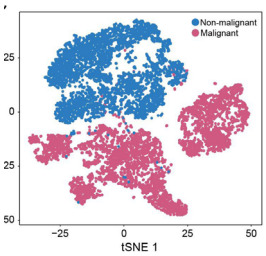
marker 基因展示（图 13-2）



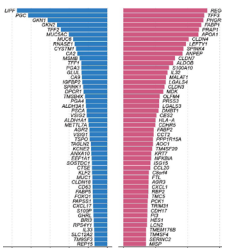
肿瘤与非肿瘤组织细胞比例比较（图 13-3）

图 13. 胃癌单细胞图谱

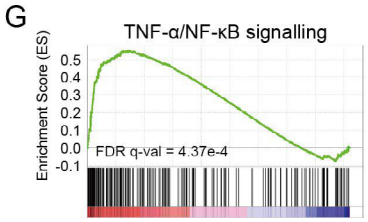
2. 利用 TCGA 数据和单细胞数据建立一种量化上皮细胞恶性程度的计算方法，将上皮细胞分为恶性上皮和非恶性上皮，并进行差异基因比较和富集分析。



恶性与非恶性上皮细胞分类



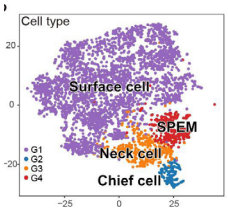
恶性与非恶性上皮差异基因



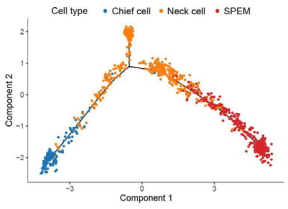
GSEA 富集分析

图 14. 恶性与非恶行上皮分类

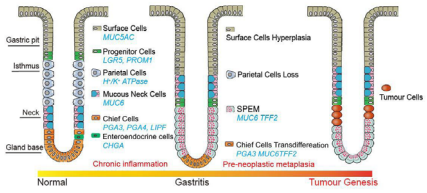
3. 对非恶性细胞进一步分群，分为四个亚群，并进行拟时间分析揭示它们之间的进化关系与胃化生的细胞起源。



非恶性细胞分群



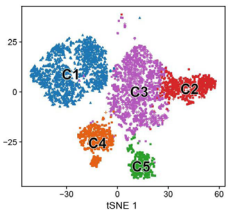
拟时间分析



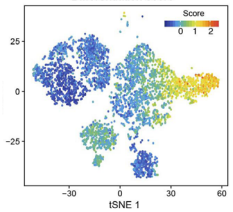
胃化生细胞进化示意图

图 15. 非恶性细胞分析

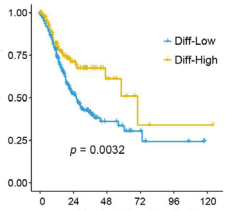
4. 对恶性细胞进一步分为 5 个亚群 C1-C5，根据基因表达数据计算了它们的分化值，发现分化数值高的亚群，对应生存期会越短； 发现 C4 大量表达 Chief 细胞 marker 基因，与主细胞主导型胃底腺癌（GA-FG-CCP）分子特征一致。



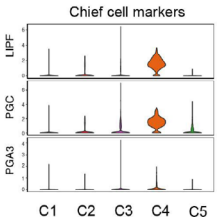
恶性细胞分群



分化值热图



生存分析曲线



C4 亚群中表达 Chief 细胞 marker

图 16. 恶性细胞分析

干细胞研究方向

Single-Cell RNA-Seq Reveals Dynamic Early Embryonic-like Programs during Chemical Reprogramming

单细胞转录组测序研究体细胞化学诱导重编程过程

期刊：*Cell Stem Cell* 影响因子：24.630 发表单位：北京大学

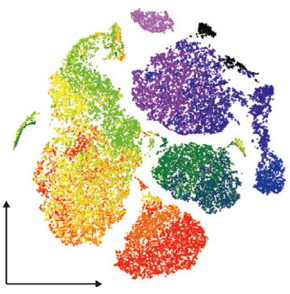
• 摘要

小分子化合物诱导重编程为探索导致体细胞多能性的分子动力学提供了一个强有力的平台。本研究利用 10x 单细胞平台分析小分子化合物重编程过程中的 36,199 个单细胞，高分辨率地解析了体细胞重编程全过程的基因表达谱，揭示了早期胚胎动态重编程过程，鉴定到从 XEN-like 重编程到多能性状态表观遗传学标签。该研究中的单细胞测序技术服务由博奥晶典提供。

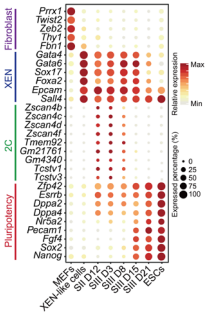
构建体细胞重编程为 CiPSCs 的体系，取重编程过程中的 12 个时间点共 36199 个细胞使用 10x Genomics 平台进行单细胞 RNA 测序 ▶ 拟时间序列分析构建化合物重编程过程的细胞变化轨迹 ▷ 发现 Ci2C 中间细胞亚型程序激活等分子事件 ▷ 通过基因敲除和过表达、全基因组甲基化测序验证生物信息分析的分子事件 ▷ 通过改进小分子的处理方式，促进 Ci2C-like 相关基因的激活，加速了重编程进程，将诱导周期从 40 天缩短至 16 天

• 主要结论

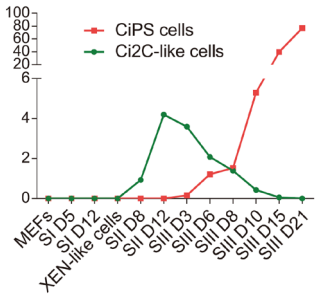
1. 收集细胞重编程过程中三个时期的 12 个时间点的样本进行单细胞测序，构建细胞图谱，鉴定分子表达特征。



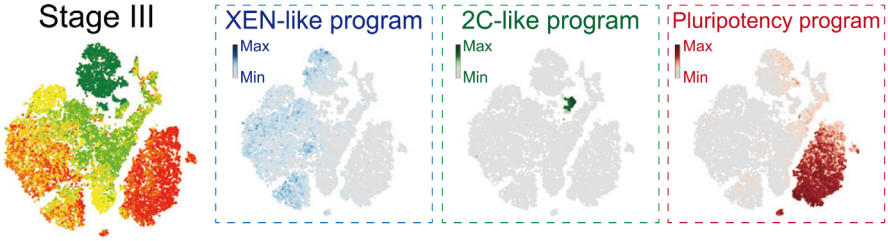
细胞分群图



亚群差异基因分析



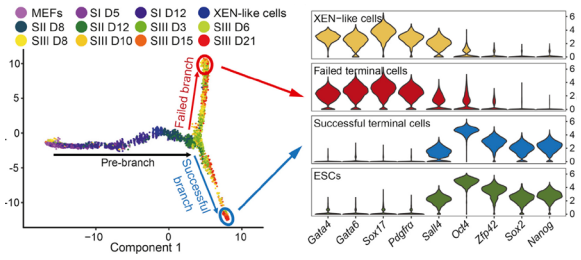
不同时期细胞亚群占比



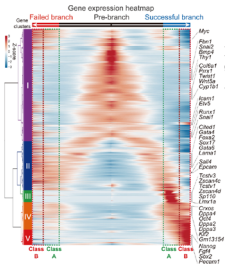
第三个时期细胞基因表达特征

图 17. 细胞重编程过程细胞图谱

2. 进行拟时间分析，确定细胞分化轨迹，发现分化成功的关键细胞群 Ci2C-like 细胞，比较了分化成功与失败的差异基因，并通过改进小分子的方式，加速了重编程进程至 16 天。



拟时间分析



分化成功与失败的基因差异分析

图 18. 拟时间分析确定分化成功关键细胞亚群和基因

神经科学研究方向
Cascade diversification directs generation of neuronal diversity in the hypothalamus
单细胞测序发现下丘脑神经元多样性起源的新规律
期刊：*Cell Stem Cell* 影响因子：24.630 发表单位：中科院遗传所

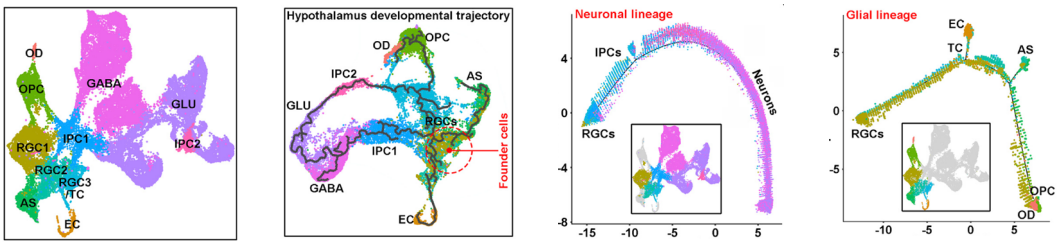
• 摘要

下丘脑的发育过程涉及到复杂的细胞谱系演化。本研究利用单细胞测序结合谱系追踪对 4 个时期的 43,261 个发育中的下丘脑特异性标记工具小鼠下丘脑细胞进行了分析，共鉴定出 8 大群神经细胞。成功描绘出放射状胶质细胞（RGCs）、中间祖细胞（IPCs）、新生神经元和肽能神经元在下丘脑神经谱系中的发育轨迹，鉴定出关键细胞类群的分子特征和发育潜能，并最终阐明了下丘脑神经元的复杂性来源，揭示了新规律，拓展了下丘脑发育的研究边界。该研究中的单细胞测序技术服务由博奥晶典支持。

下丘脑特异性标记工具鼠分选 E11、E14、P0、P7 共 4 个时期的下丘脑细胞 ▶ 10x 单细胞转录测序，43,261 个细胞分为 8 大群神经细胞，拟时序分析神经元谱系分化过程 ▷ 拟时序分析，多样本分析 TC 细胞形成机制，体内实验验证 ▷ 通过转录因子，调节子和神经递质分析神经元，描述神经元分化成熟过程 ▷ 利用基于嵌合双色标记（MADM）系统进行 RGC 单细胞谱系追踪 ▷ **结果：成功描绘出 RGCs，IPCs，新生神经元和肽能神经元在下丘脑神经谱系中的发育轨迹，鉴定出关键细胞类群的分子特征和发育潜能，阐明了下丘脑神经元的复杂性来源**

• 主要结论

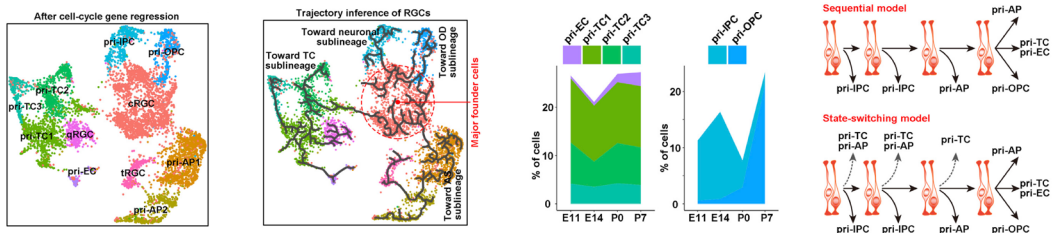
1. 单细胞测序构建 4 个发育时期的下丘脑细胞图谱，并利用拟时间分析解析了所有细胞、神经细胞、胶质细胞的发育轨迹。



细胞分群图　　拟时间分析　　神经细胞发育轨迹　　胶质细胞发育轨迹

图 19. 下丘脑发育细胞图谱

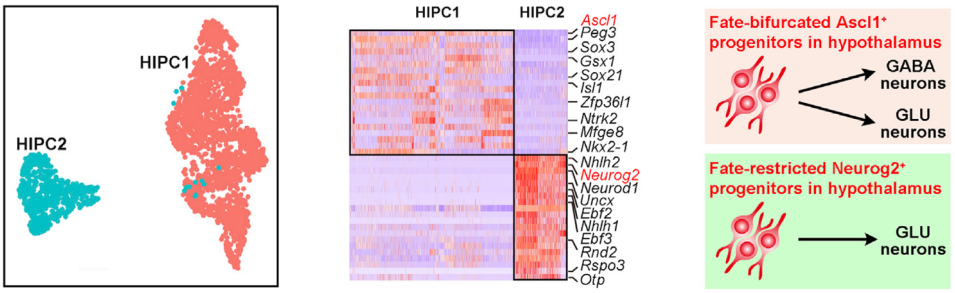
2. 对 4 个发育时期的 RGCs 进一步分群并进行轨迹分析，发现 RGCs 可分化为 IPCs、少突胶质细胞前体细胞（OPCs）、星型细胞前体细胞（Aps）、伸长细胞 - 室管膜细胞（TCs-ECs）； 分化模型相比于 Sequential 方式，更为符合 State-switching 方式， 即一大部分伸长细胞（TCs）是直接来源于 RGCs 的。



RGCs 分群图　　轨迹分析　　细胞比例比较　　RGCs 分化模型

图 20. RGCs 分化轨迹

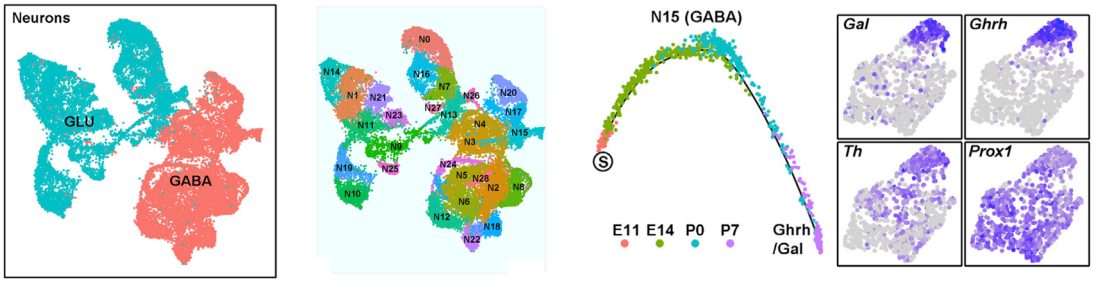
3. 对 IPCs 进一步分析，发现它由两个亚群组成，两个亚群存在不同的分子表达谱、谱系分化以及空间分布。



IPCs 细胞分群图　　亚群差异基因分析　　亚群谱系分化

图 21. IPCs 分析

4. 对神经元细胞进一步分群，探索了不同亚群的关键转录因子，轨迹分析神经元成熟过程中的命运分化，并进行了实验验证，利用基于嵌合双色标记（MADM）系统进行了单细胞谱系追踪，证明单个 RGC 平均能够产生 7.9 个神经元，并且它们具有分化为多种神经元亚型的能力。



神经元细胞分为 GLU$^+$ 和 GABA$^+$　　神经元细胞分群图　　轨迹分析与关键转录因子

图 22. 神经元分化

衰老发育研究方向
A single-cell transcriptomic landscape of primate arterial aging
灵长类动物动脉老化机制研究
期刊：*Nature Communications* 影响因子：14.910 发表单位：中科院动物所

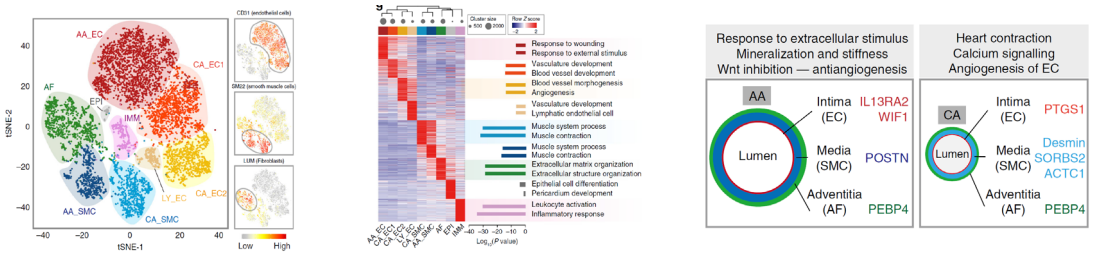
• 摘要

转录因子 FOXO3A 与长寿及人类中较低的心血管疾病患病率有关。该研究通过对青少年和老年食蟹猴的心脏主动脉弓和冠状动脉血管壁进行单细胞测序，绘制了灵长类血管衰老单细胞图谱。使用 SCENIC 构建了转录因子及其靶标基因的基因调控网络，其中 FOXO3A 是衰老涉及的靶基因数量最多的顶级调节中心。该研究有助于深入理解血管衰老过程中细胞组成和分子特征的变化规律，而且揭示了长寿基因 FOXO3A 表达水平的沉默是驱动灵长类动脉血管衰老的关键因素。该研究中的单细胞测序技术服务由博奥晶典提供。

8 只青年（4-6y），8 只老年食蟹猴（18-21y）的主动脉和冠状动脉 ▶ 单细胞转录组测序 ▷ 细胞分群、差异基因分析、转录因子分析 ▷ 功能试验验证 FOXO3A 作用机制 ▷ 结论：长寿基因 FOXO3A 表达水平的沉默是驱动灵长类动脉血管衰老的关键因素

• 主要结论

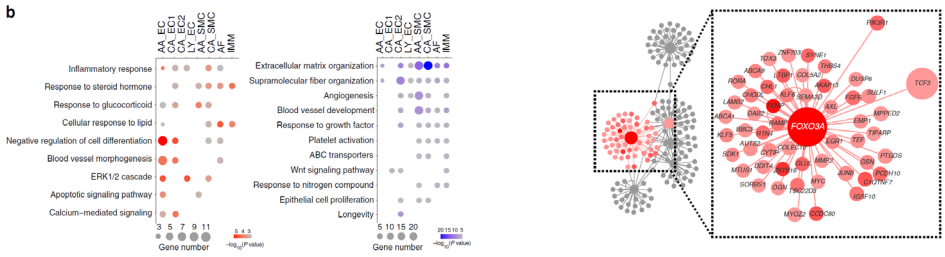
1. 单细胞测序构建血管细胞图谱，得到 9 个亚群，并对来自主动脉和冠状动脉的细胞进行差异基因比较。



细胞分群图　　亚群特征基因及富集分析　　位置特异性基因富集分析

图 23. 血管单细胞图谱

2. 对年老和年轻的细胞进行差异基因分析，发现年老的上调差异基因主要与动脉粥样硬化相关，如钙信号、对脂质的反应和炎症反应。转录因子调控网络发现 FOXO3A 表达下调是灵长类动脉血管衰老的重要特征，并进行了实验验证。



年轻和年老差异基因富集分析　　转录因子调控网络分析

图 24. 年轻和年老血管之间的差异比较

植物研究方向
Stochastic gene expression drives mesophyll protoplast regeneration
叶肉原生质体再生机制研究
期刊：*Science Advances* 影响因子：14.133 发表单位：中科院遗传与发育生物学研究所

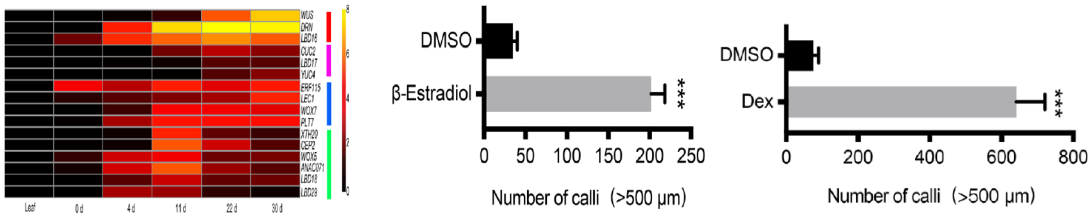
摘要

植物叶肉原生质体可以获得多能性再生为整颗植株，但其分子机制一直未完全解析。本研究使用实时成像和单细胞转录组学，发现原生质体分离诱导基因组增强表达变化和染色体可及性，进而提高基因表达的随机激活和原生质体的再生。研究认为细胞间的转录组混乱和增强的基因表达变异，为再生细胞创造了一种细胞水平上的演化驱动力。这一突破性研究解析了植物细胞重获多能性以及再生的分子机制。该研究中的单细胞测序技术服务由博奥晶典提供。

拟南芥原生质体分离培养，观察成像再生过程 ▷ Bulk RNA 测序鉴定出于原生质体再生关键转录因子 ▷ 敲除和过表达实验验证，延时成像示踪转录因子 ▷ 原生质体分离前后叶肉细胞 snRNA-seq、scRNA-seq、ATAC-seq ▶ 细胞之间的转录组混乱和增强的基因表达变异，为再生细胞创造了一种细胞水平上的演化驱动力。

• 主要结论

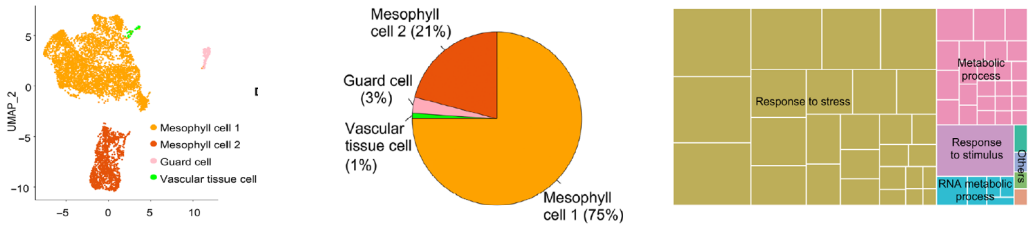
1. 原生质体分离诱导两个转录因子 WUS 和 DRN 的低频异位激活，促进原生质体再生。



原生质体再生过程中转录因子差异　　WUS 过表达导致愈伤组织增多　　Dex 过表达过表达导致愈伤组织增多

图 25. 原生质体再生过程中转录因子的变化

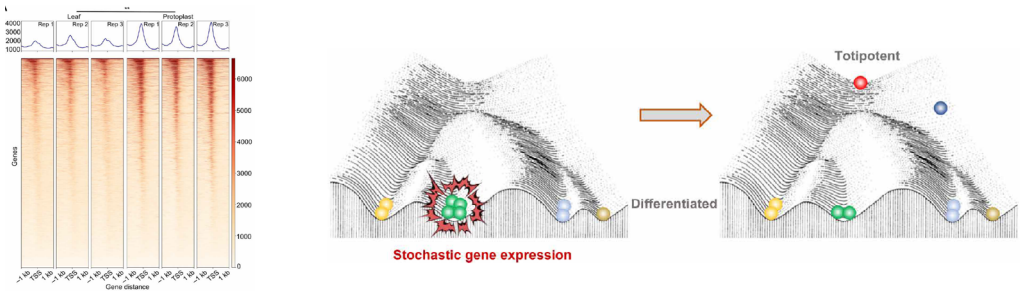
2. 单细胞转录组测序揭示原生质体分离导致基因组随机表达多样性。



细胞分群　　细胞比例　　高度差异表达基因的富集分析

图 26. 单细胞测序解析原生质体再生过程中的细胞及基因变化

3. ATAC-seq 结果显示原生质体分离增加染色体可及性，促进基因表达的随机激活，增强原生质体再生。



叶肉与原生质体染色质开放性差异　　叶肉原生质体再生模型

图 27. ATAC-seq 解析原生质体再生过程中染色体可及性变化

2 单细胞免疫组库测序

技术原理

免疫组库就是指机体内 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞多样性的总和，可以全面地反映机体免疫系统在特定时间段内应对外界刺激应答的能力，可以用于表征机体免疫系统的健康状况。T 细胞和 B 细胞的多样性主要体现在表面受体的多样性，即 TCR 和 BCR 的多样性，而 TCR 和 BCR 的多样性归根结底还是来源于胚系 V、D、J 基因的重组和重排。10x Genomics 单细胞平台检测免疫组库的多样性，就是通过检测受体上互补决定区 CDR3 区域的多样性来完成。

博奥晶典单细胞转录组技术利用 10x Genomics Chromium 平台，通过油滴包裹的技术原理，一次实验可以同时检测每个细胞的转录组信息和 TCR/BCR 多样性信息。既可以通过单细胞转录组信息发现一块组织内细胞的异质性，还可以通过检测 TCR 和 BCR 的克隆型来了解不同状态下生物体的免疫系统组成，辅助自身免疫疾病、炎症、感染性疾病、肿瘤免疫等研究，加深我们对机体免疫系统的理解。

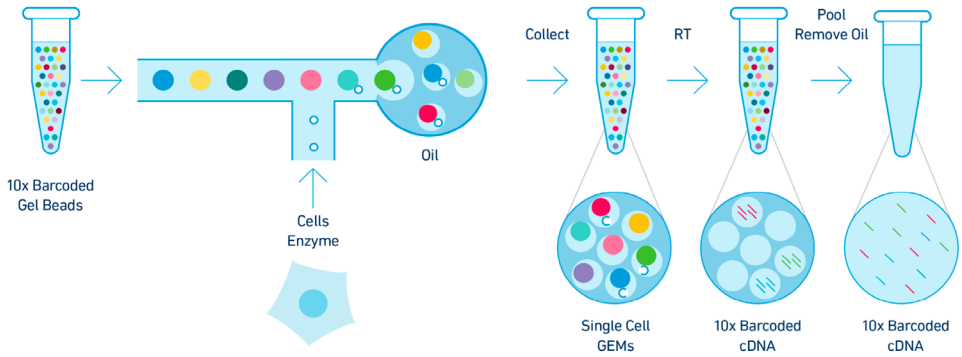


图 28. 单细胞免疫组库测序技术原理

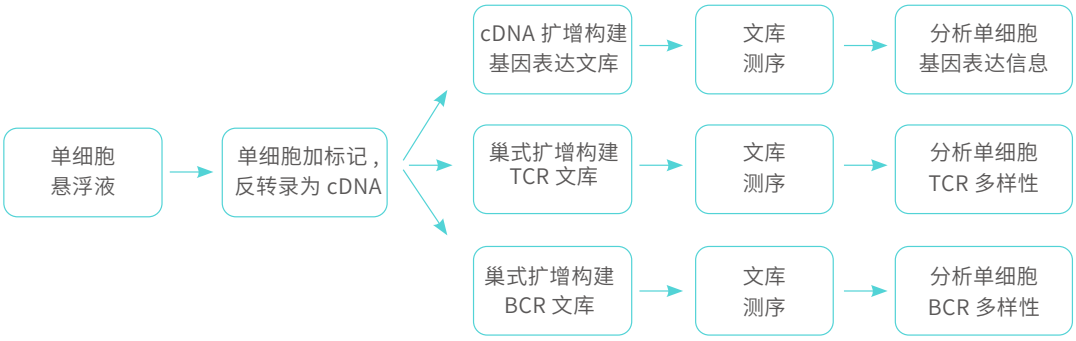


图 29. 单细胞免疫组库测序项目流程

平台优势

通量高	每个样本最多可获取 20,000 个细胞
周期短	2 天内即可完成悬液制备、细胞捕获及建库
成本低	单个细胞成本远低于其他单细胞平台
经验丰富	博奥晶典已完成 1 万 + 样品，150+ 组织类型
实验质量认证	博奥晶典单细胞免疫组库测序已获得 10x Genomics 官方 CSP 认证证书
一站式服务	博奥晶典提供从样品处理到数据可视化一站式服务

分析展示

- 单细胞免疫组库数据分析

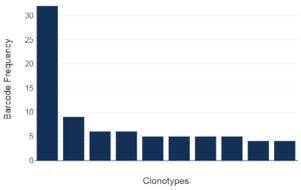


图 30. 克隆型注释与统计

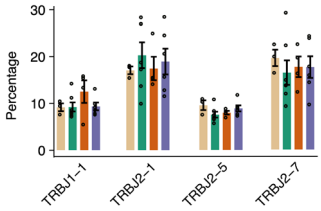


图 31. 不同样本中 VDJ 基因使用频率比较

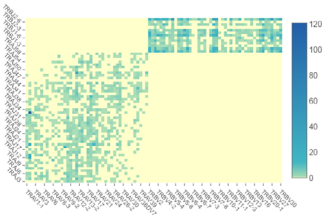


图 32. VJ 基因组合频率热图

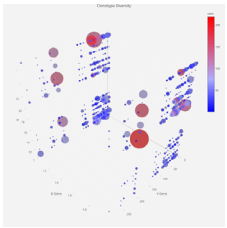


图 33. VDJ 基因组合频率 3D 图

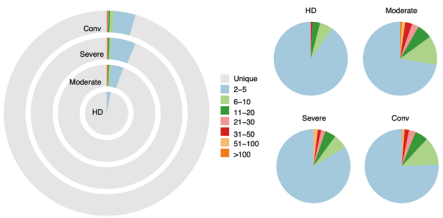


图 34. 样本间克隆型分布差异比较

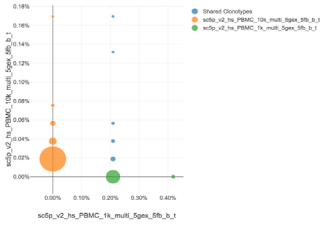


图 35. 样本间共有及独有克隆型比较

• 单细胞转录组与单细胞免疫组库联合分析

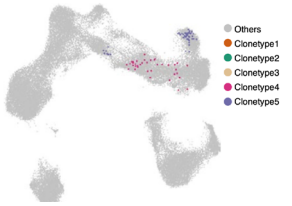


图 36. 不同克隆型展示

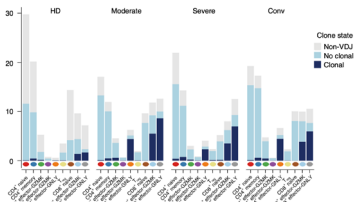


图 37. 不同克隆型在不同亚群中的比例

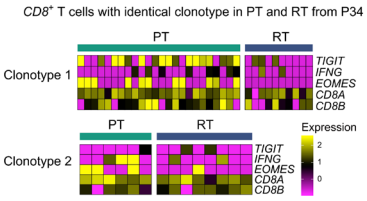


图 38. 相同克隆型在不同亚群的差异基因表达

应用方向

1. 肿瘤免疫
2. 感染性疾病
3. 抗体疫苗研究
4. 自身免疫病
5. 损伤与炎症
6. 移植和免疫重建
7. 免疫系统发育

应用案例

肿瘤免疫研究方向
Single-cell sequencing links multiregional immune landscapes and tissue-resident T cells in ccRCC to tumor topology and therapy efficacy
肾癌单细胞图谱揭示免疫治疗抵抗与肿瘤进展的关联
期刊：*Cancer Cell* 影响因子：31.743 发表时间： 2021.5

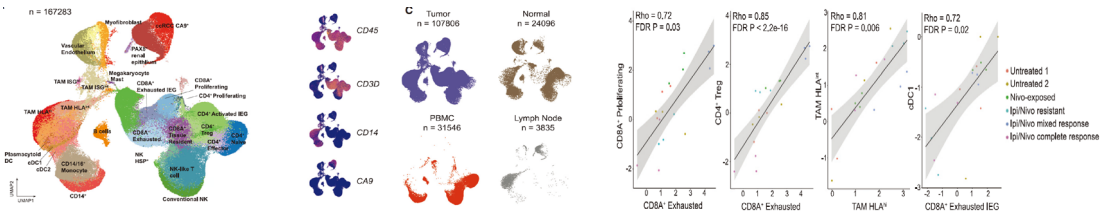
• 摘要

肾透明细胞癌（ccRCC）是最常见的肾癌亚型，单独给予免疫检查点阻断剂（ICB）或与抗血管生成的酪氨酸激酶抑制剂（TKIs）联用可以改善 ccRCC 的治疗前景。但大多数患者仍会发生自发或获得性治疗抵抗，这种治疗抵抗的机制尚未可知。本研究对来自多个 ccRCC 患者肿瘤区域、淋巴结、正常肾脏、两名未接受 ICB 患者和四名接受 ICB 治疗患者外周血一共 167,283 个细胞进行单细胞 RNA 和 TCR 测序，绘制 ccRCC 免疫景观。检测到患者内部和患者之间存在广泛的异质性，对 ICB 反应不同的患者免疫微环境存在差异，而且 TCR 轨迹分析表明，他们的 T 细胞分化途径不同，并在多个独立队列中进行了验证。本研究对 ccRCC 治疗效果的机制进行了深入探索。

2 例未经 ICB 治疗与 4 例 ICB 治疗后来自多个肿瘤区域、淋巴结、癌旁组织、PBMC → scRNA-seq 和 scTCR-seq → 浸润性免疫细胞随疾病进展的变化；免疫微环境与 ICB 的治疗效果的关系 → 在人群队列中进行验证 → ccRCC 治疗效果的相关机制

• 主要结论

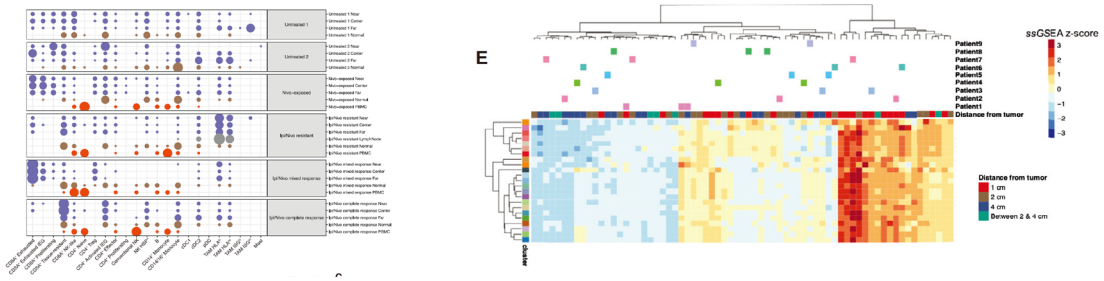
1. 对来自不同时期、不同治疗病人的不同组织的 29 个样本进行单细胞转录组和 TCR 测序，构建 ccRCC 免疫图谱。



细胞分群图　　不同位置细胞分群及 marker 展示　　肿瘤样本间免疫环境相关性分析

图 39. 单细胞测序构建 ccRCC 免疫细胞图谱

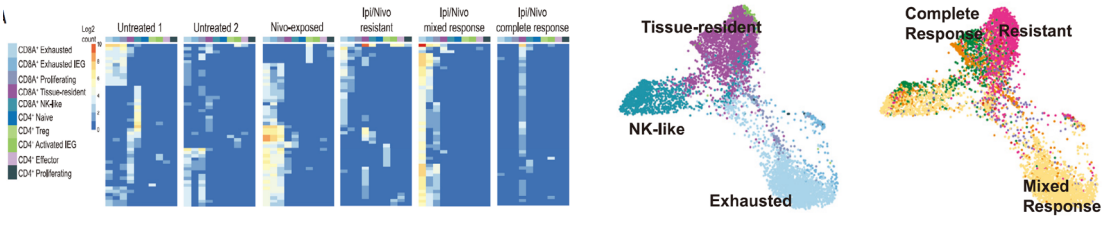
2. 对免疫细胞亚群在患者内部不同区域和患者之间进行比较，发现存在高度异质性，且异质性与 ICB 治疗响应相关， T 细胞不浸润和肿瘤相关巨噬细胞（TAM）浸润与耐药相关，有反应的患者中富集组织驻留 T 细胞。



不同样本细胞比例差异　　离肿瘤中心不同距离的样本免疫环境异质性分析

图 40. 患者之间免疫微环境比较

3. 进行 TCR 克隆扩增比较，发现克隆扩增大部分来源于耗竭 T 细胞，但治疗后的最大的克隆来自于 $CD8A^+$ 组织驻留 T 细胞； 轨迹分析表明治疗响应的患者组织驻留 T 会向 NK 样 T 细胞转化，而不响应的患者不会进行转化，而且 TCR 序列相似度更高。



TCR 克隆多样性比较　　T 细胞轨迹分析

图 41. TCR 克隆型分析

4. 在大队列中验证进行 bulk RNA-seq 检测 $CD8A^+$ 组织驻留 T 细胞和 TAM 基因表达特征，验证了 $CD8A^+$ 组织驻留 T 细胞特征和 TAM ISG^{hi} 亚群与长无进展生存期高度相关

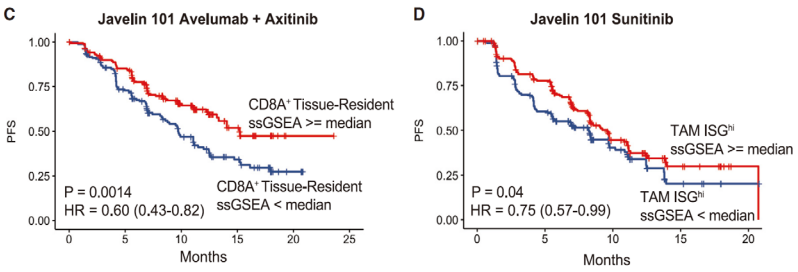


图 42. 不同药物处理下生存期分析

感染性疾病研究方向

Single-cell landscape of immunological responses in patients with COVID-19

单细胞测序揭示新冠肺炎发病过程中免疫反应特征

期刊：*Nature Immunology* 影响因子：25.600 发表单位：解放军总医院

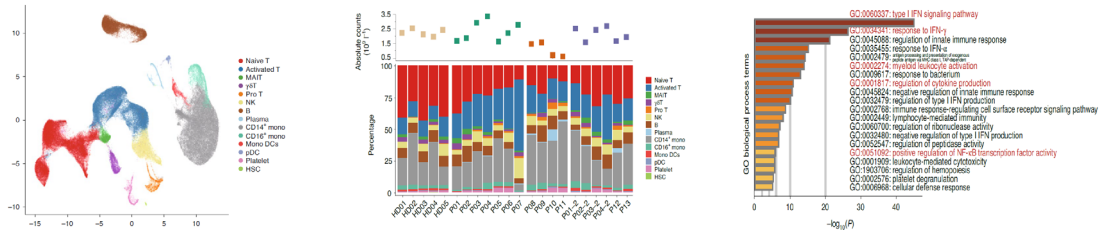
• 摘要

新冠肺炎发病进程及发病机制对临床诊治十分重要。本项研究通过对新冠肺炎感染者的 17 例 PBMC 样本进行单细胞测序。发现新冠肺炎患者中与特异性免疫应答相关的细胞占比大幅度上升，而 naïve T 等细胞相对下降，提示新冠肺炎患者存在广泛的免疫激活。在新冠肺炎患者 PBMC 中，多种免疫细胞类型在强烈的 I 型干扰素响应以及急性炎症反应和细胞凋亡、迁移能力的升高，并且这些现象在重型新冠肺炎患者中尤为明显。该研究中的单细胞测序技术服务由博奥晶典支持。

5 个健康个体和 17 例新冠肺炎患者（轻中型 7 例，重型 4 例和康复期 6 例）PBMC 样本 ▷ 获得 122,542 个单细胞转录组和免疫组库数据，识别出 14 种细胞类群 ▷ 分析发现患者先天免疫细胞有强烈干扰素反应 ▷ 描绘 CoV-2 感染对 T 细胞亚群类型和克隆特征的改变。 ▷ 描绘 Cov-2 感染对 B 细胞亚群类型和克隆特征的改变 ▷ 结论：COVID-19 患者有强烈 α 干扰素和炎症反应，感染过程中大量细胞毒性 T 细胞扩张，重度患者干扰素反应混乱，TCR/BCR 组库免疫耗竭。

• 主要结论

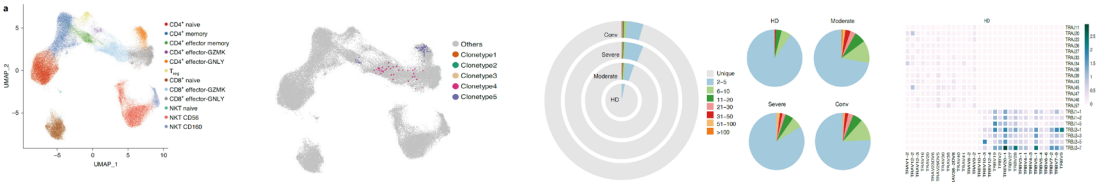
1. 对健康个体和新冠病人 PBMC 进行单细胞测序，发现新冠患者中与特异性免疫应答相关的细胞占比大幅上升，并且天然免疫细胞和适应性免疫细胞等多种细胞类型均存在非常强烈的 I 型干扰素响应以及较强的急性炎症反应。



PBMC 细胞分群　　病人间细胞比例差异　　病人 NK 细胞富集分析

图 43. 单细胞测序构建细胞图谱

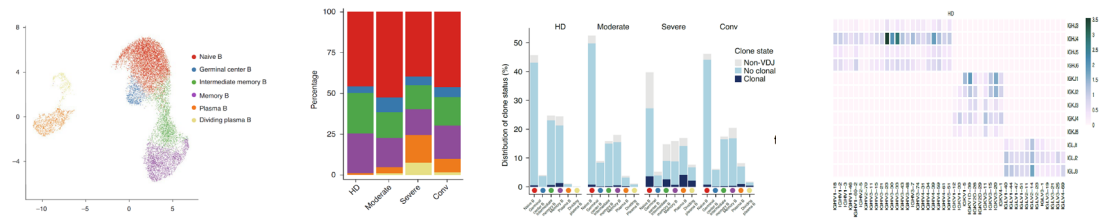
2. 对 T 细胞亚群进一步解析，发现新冠肺炎患者中效应 T 细胞亚群功能受损，重症患者中效应 T 细胞高度耗竭，并分析了病毒感染引起的 TCR 变化。



T 细胞亚群细分　　TCR 克隆型展示　　样本间不同克隆数量的克隆型占比比较　　TCR 中 V、J 基因组合频率

图 44. T 细胞克隆型分析

3. 对 B 细胞亚群近一步解析，发现新冠肺炎患者中浆细胞增加，重症患者 B 细胞克隆扩张，记忆 B 细胞减少。免疫组库分析说明新冠感染可以引起 B 细胞重排，其中 IGHV3-7 和 IGKV3-15 克隆型高表达。



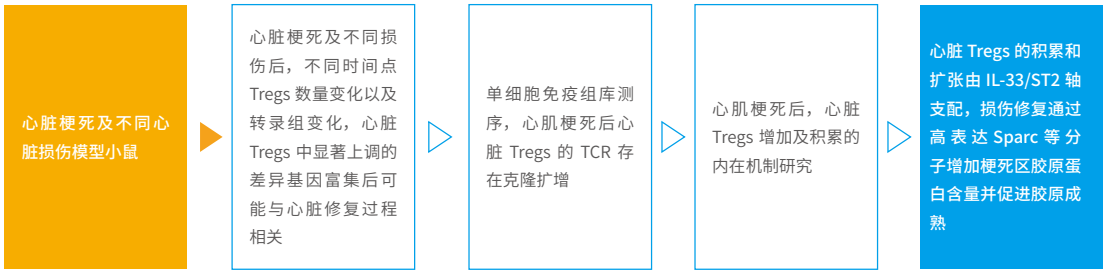
B 细胞亚群细分　　细胞比例差异比较　　BCR 在样本及亚群中的克隆扩增情况　　BCR 中 V、J 基因组合频率

图 45. B 细胞克隆型分析

损伤与炎症研究方向
A Unique Population of Regulatory T Cells in Heart Potentiates Cardiac Protection from Myocardial Infarction
单细胞免疫组库揭示心脏特异 Tregs 对心肌梗死的保护作用
期刊：*Circulation*　影响因子：29.694 发表单位：华中科技大学同济医学院

摘要

调节性 T 细胞 (Tregs) 作为经典的免疫调节细胞主要发挥抑制免疫反应的作用，而最新的研究表明，某些组织局部存在的 Tregs——“组织 Tregs”，可直接作用于实质细胞，维持组织稳态，然而，心脏是否存在组织 Tregs 以及其可能发挥的作用是什么仍不明确。本研究发现心脏损伤后心肌组织局部 Tregs 具有典型的“组织 Tregs”特征：其在心脏组织局部富集，主要来自于外周循环的招募，局部的维持依赖于 IL-33/ST2 轴；心脏 Tregs 具有独特的转录组和 TCR 特征，呈现促进损伤修复的表型，通过高表达 Sparc 等分子增加梗死区胶原蛋白含量并促进胶原成熟。本研究首次揭示了心脏局部组织特异性 Tregs 的表型和功能特征，为以 Treg 为基础的心脏免疫治疗提供了新的思路和靶点。该研究中的单细胞测序技术服务由博奥晶典支持。



主要结论

1. 构建小鼠心肌梗死模型，利用流式细胞仪检测发现 Tregs 在心肌梗死后第 7 天达到高峰，并至少维持到 28 天；RNA 测序发现心脏损伤后心肌组织局部 Tregs 具有“组织 Tregs”特征，其在心脏组织局部富集，主要来自于外周循环的招募。

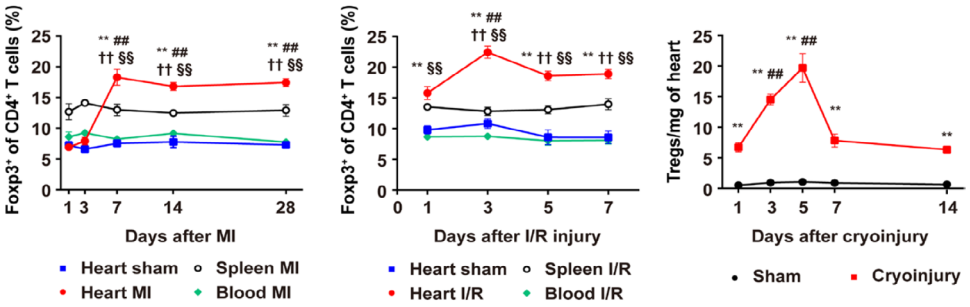
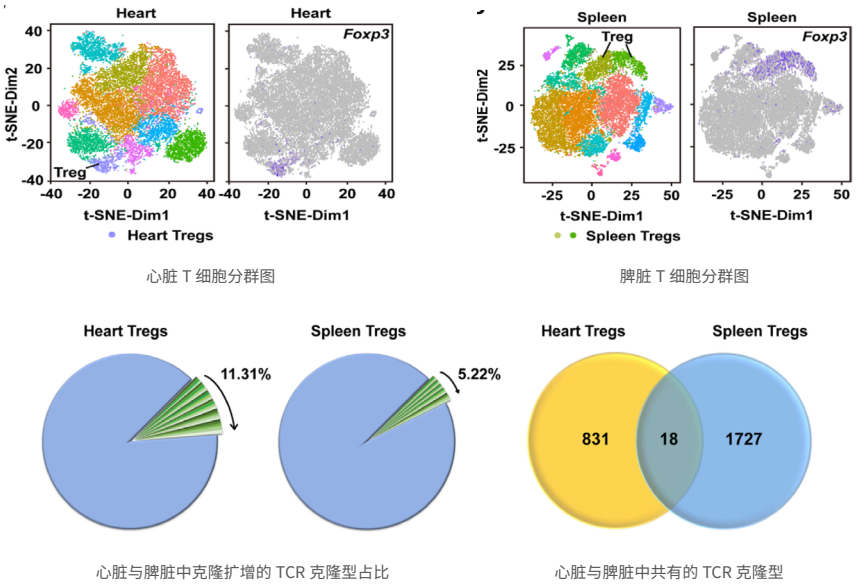


图 46. 小鼠心肌梗死（MI）、缺血再灌注（I/R）以及低温（Cryoinjury）损伤中 Tregs 比例随时间的变化

2. 对心肌梗死后 7 天的心脏和脾脏的 $CD4^+$ T 细胞进行单细胞转录组测序和 TCR 测序，部分心脏 Tregs 细胞（$Foxp3^+$）存在 TCR 克隆扩增，相比之下，脾脏 Tregs 克隆扩增的频率要低得多。

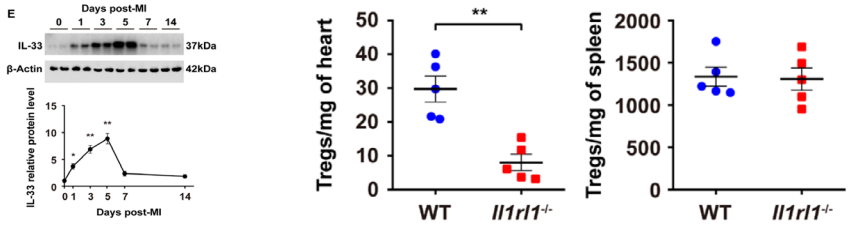


心脏 T 细胞分群图　　脾脏 T 细胞分群图

心脏与脾脏中克隆扩增的 TCR 克隆型占比　　心脏与脾脏中共有的 TCR 克隆型

图 47. 单细胞转录组测序和 TCR 测序

3. 机制研究表明，心脏 Tregs 的积累和扩张由 IL-33/ST2 轴支配，损伤修复通过高表达 Sparc 等分子增加梗死区胶原蛋白含量并促进胶原成熟。



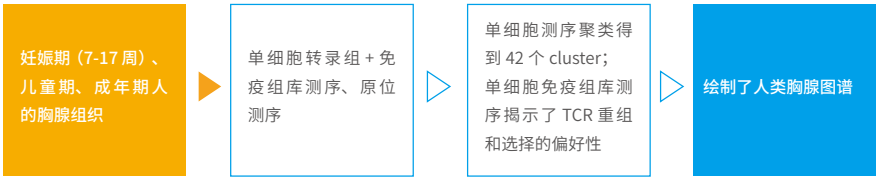
心肌梗死后不同时期 IL-33 的表达　　Il1rl1（IL-33 的受体）敲除会显著降低心脏中 Tregs 的水平

图 48. 实验验证 Tregs 的积累和扩张依赖于 IL-33/ST2 轴

免疫系统发育研究方向
A cell atlas of human thymic development defines T cell repertoire formation
单细胞测序绘制人类胸腺细胞图谱
期刊：*Science* 影响因子：47.722 发表时间：2020.2

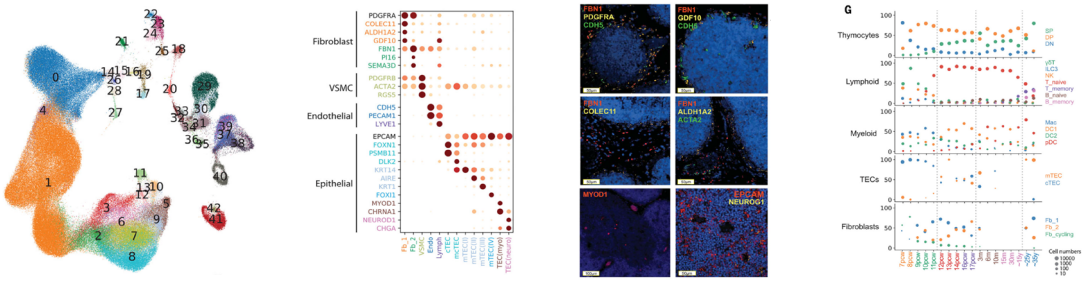
摘要

人类胸腺中 T 细胞类型的组成以及在发育过程中细胞类型、细胞转录组的变化现在并不清楚。本研究选取 15 个受孕后 7-17 周胚胎和胎儿胸腺组织，9 个儿童和成年胸腺组织进行单细胞转录组测序，绘制了首张人类胸腺细胞图谱，鉴定出 50 多个细胞亚群。确定了人胸腺成纤维细胞和上皮细胞的新亚群，并用原位杂交技术对其进行了空间定位。单细胞免疫组库测序揭示了 TCR 重组和选择的偏好性。该研究有助于我们理解免疫相关疾病，为基于 T 细胞的肿瘤免疫疗法提供了重要依据。



主要结论

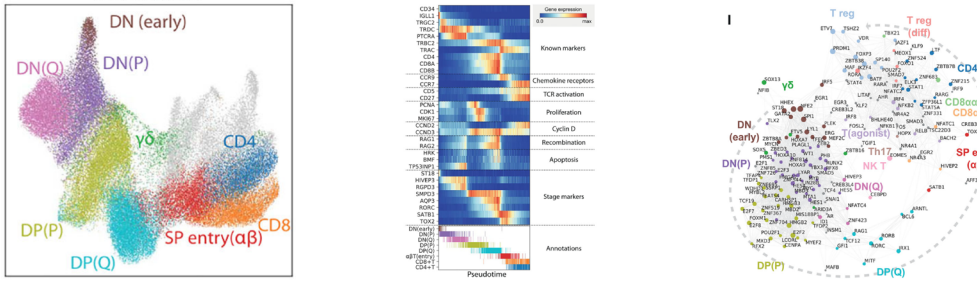
1. 对不同发育时期的胸腺组织进行单细胞测序，绘制了完整的胸腺图谱，鉴定出 50 多个细胞亚群，分析了不同发育阶段胸腺细胞的组成； 鉴定出 2 个成纤维细胞和 2 个上皮细胞新亚群，并用原位测序的方法确定了其在组织中的空间位置。



细胞分群　　亚群特征基因点图　　利用特异性基因定位新细胞亚群　　不同发育时期细胞类型比例

图 49. 单细胞测序构建胸腺细胞图谱

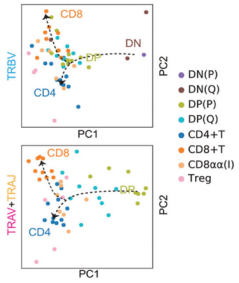
2. 基于单细胞转录组结果，构建了 T 细胞的分化轨迹，包括传统 T 细胞（conventional T cell）和非传统 T 细胞（unconventional T cell），绘制了 T 细胞谱系发育相关转录因子调控网络图。



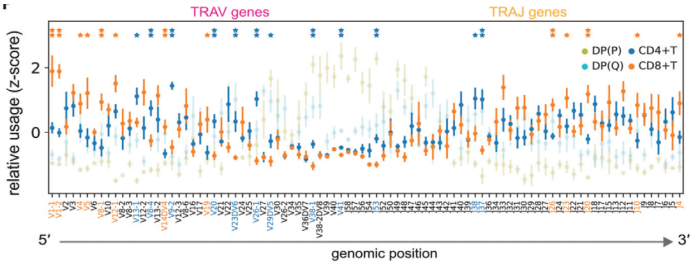
T 细胞分化轨迹　　沿拟时间顺序各分群的基因表达差异　　T 细胞发育相关转录因子调控网络

图 50. T 细胞发育谱系研究

3. 基于单细胞转录组测序和单细胞 TCR 测序数据，该研究发现在 TCR 形成过程中，V(D)J 基因的使用具有很强的偏好性，并在多种 T 细胞亚群中进行了验证。这种偏好性的存在使我们可以应对不同的 pMHC 组合，可能会极大的影响我们对抗原的响应。



对不同细胞中 V 或 VJ 基因使用规律进行 PCA 分析



不同细胞类型中 VDJ 基因使用频率

图 51. TCR 克隆型分析

3 单细胞 ATAC 测序及单细胞 ATAC 与转录组联合检测

技术原理

人的 DNA 链全部展开大约有 2m，需要折叠为染色质结构才可以存储到细胞核中。染色质的基本结构单位是核小体（由组蛋白组成），核小体再折叠最终形成高度压缩的染色质结构。高度折叠的染色质结构在复制和转录时需要暴露出 DNA 序列， 这个区域可以供转录因子和其他调控元件结合，因此它与转录调控密切相关。这种致密的核小体结构被破坏后，启动子、增强子、绝缘子、沉默子等顺式调控元件和反式作用因子可以接近的特性，叫染色质的可及性，这段区域叫开放染色质（Open Chromatin）或染色质可及性区域。

ATAC-seq（Assay for Transposase-Accessible Chromatin with high throughput sequencing）就是一种我们用来研究染色质可及性的方法，它是利用转座酶 Tn5 可结合开放染色质的特性来捕获开放区域 DNA 序列，进而通过高通量测序获得开放染色质区域的表观遗传研究技术。Tn5 转座酶进入并切割暴露的 DNA 区域，然后将这些区域连接上特异的测序 adaptor 进行高通量测序，被测序的区域即为开放染色质区域。

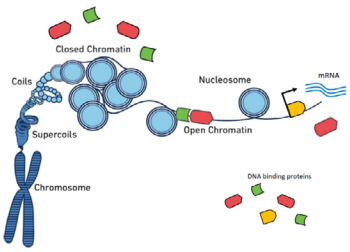


图 52. 染色质可及性

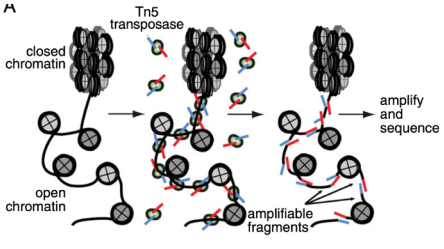


图 53. ATAC-seq 技术

博奥晶典单细胞 ATAC 测序技术利用 10x Genomics 单细胞 ATAC 测序平台，实现单细胞水平的细胞染色质开放区域检测。首先，转座酶进入细胞核，并优先在染色质的开放区域片段化 DNA，同时在 DNA 片段的末端添加测序引物；其次，带有条形码的凝胶珠在油滴内对每个细胞核内的 DNA 片段进行 barcode 标记，带有 barcode 标签的 DNA 进行后续文库构建；最后，Illumina 测序平台对文库进行测序检测，即可一次性获得大量单细胞的 DNA 染色质开放区域数据。

除了单一 ATAC 检测之外，10x Genomics 最近还推出了单细胞多组学技术，经过转座酶处理的细胞核被包裹在油滴内后，带有条形码的特殊凝胶珠可以同时捕获细胞核内的 DNA 和 mRNA，从而实现在同一个细胞核内进行 ATAC 与转录组的联合检测。

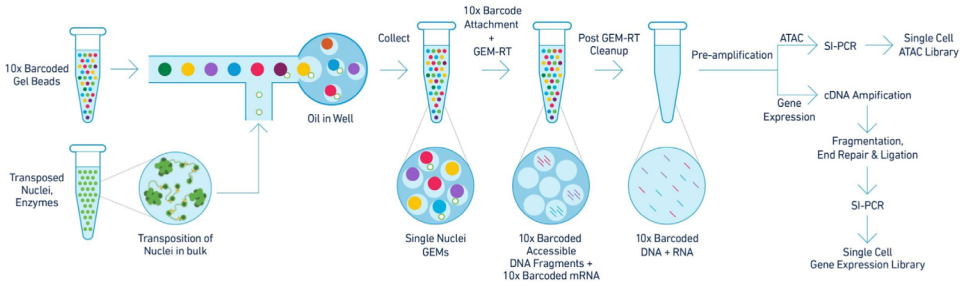


图 54. 单细胞核 ATAC+ 转录联合检测实验流程

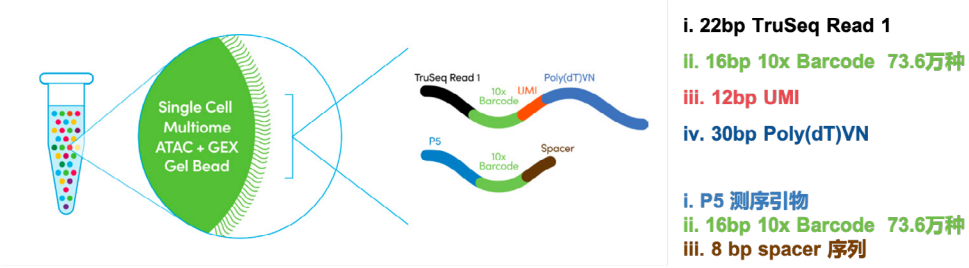


图 55. 单细胞核 ATAC+ 转录联合检测技术原理

平台优势

高通量	每个微流孔通道一次性可捕获 500-10000 个单细胞核
实验质量认证	博奥晶典单细胞 ATAC 测序已获得 10x Genomics 官方 CSP 认证证书
单细胞多组学	同一细胞中同时检测基因表达和染色质开放信息
多种样本类型	兼容细胞、新鲜组织以及冷冻组织样本
数据联合分析	转录和染色质开放信息联合深入分析细胞类型和关键基因表观调控机制
规避算法误差	直接进行数据联合分析，无需通过生信分析算法预测调控机制

分析展示

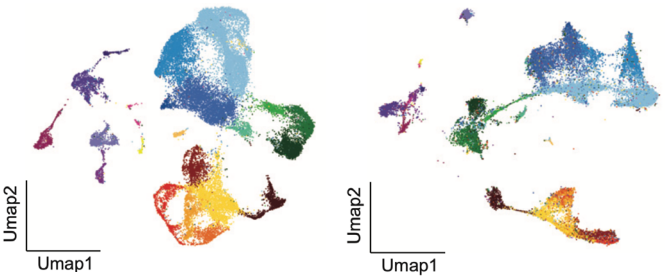


图 56. scRNA（左）与 scATAC（右）细胞分群图

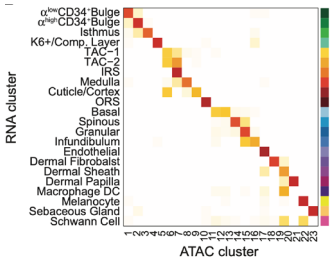


图 57. scRNA 与 scATAC 细胞类型相关性

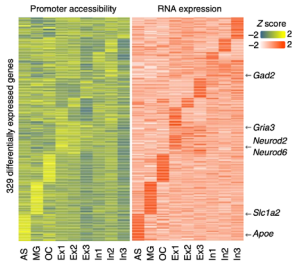


图 58. 启动子开放性
与基因表达差异热图

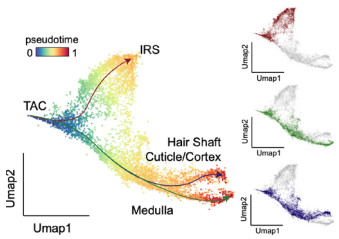


图 59. scRNA 与 scATAC
拟时间序列分析

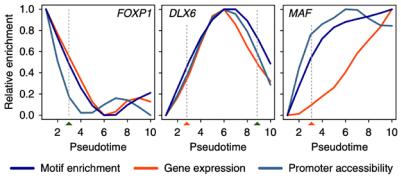


图 60. 拟时间轴上基因调控
元件与靶基因表达相关性图

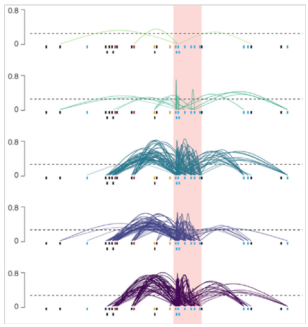


图 61. 染色质共可及性分析

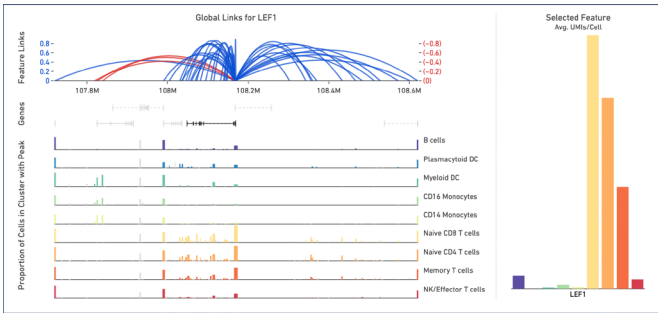


图 62. Peak-gene 及 peak-peak 关联分析

应用方向

1. 发育与分化
2. 肿瘤研究
3. 神经科学
4. 疾病机制

应用案例

神经科学研究方向

Single-cell epigenomic analyses implicate candidate causal variants at inherited risk loci for Alzheimer's and Parkinson's diseases

单细胞 ATAC 测序揭示神经退行性疾病风险 SNP

期刊： *Nature Genetics*　　影响因子： 27.605　　发表时间： 2020.10

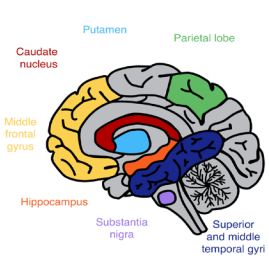
• 摘要

阿尔茨海默症 （AD）和帕金森病（PD）是两种最常见的神经退行性疾病。尽管全基因组关联研究（GWAS）已确定了多个潜在的基因风险位点， 但大多数风险位点都位于非编码区，因此尚不清楚这些基因如何与疾病功能相关。本研究中通过单细胞 ATAC 测序，绘制了大脑新脑皮层、纹状体、海马体和黑质四种不同区域的染色质可及性图谱。ATAC 数据将 7 万多个细胞分为了 24 个亚群，通过基序富集分析鉴定了细胞类型特异性调控元件。将 AD 和 PD 相关的 SNPs 与 ATAC-seq 的区域进行重叠分析，鉴定出可能直接影响转录因子结合的 SNPs，并应用机械学习来预测 AD 和 PD 的功能性 SNPs ，而且进一步研究了 AD 和 PD 中几个非编码 GWAS 位点的靶基因和细胞类型。这些数据和技术也为其他神经系统疾病中的应用提供了指导，使我们能够更全面地了解遗传性非编码变异在疾病中的作用。

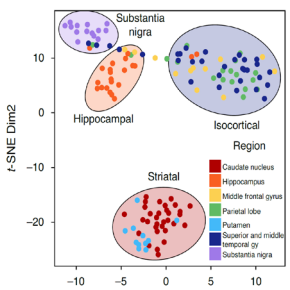
10 个个体的新皮层、海马体、黑质、纹状体 4 个不同解剖区域的样本 ▶ 单细胞 ATAC 测序，70,631 个细胞 ▷ 绘制各区域染色质开放性细胞图谱；亚群间差异可及性区域及差异 motif 分析 ▷ 单细胞 ATAC 结果与 GWAS 位点联合分析 ▷ 基于 sc-ATAC 数据建立神经退行性疾病风险 SNPs 预测模型

• 主要结论

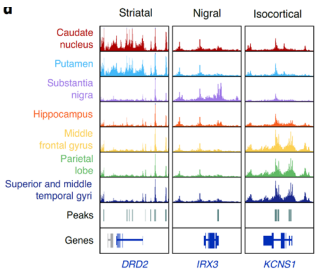
1. 构建大脑四个区域的染色质可及性细胞图谱，并比较了它们之间的差异。



大脑不同区域示意图



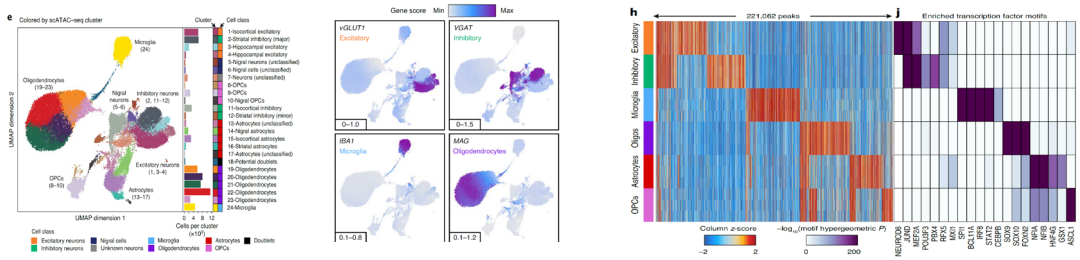
不同区域可及性降维分析



区域特异性 peak 差异分析

图 63. 大脑不同区域的染色质可及性差异分析

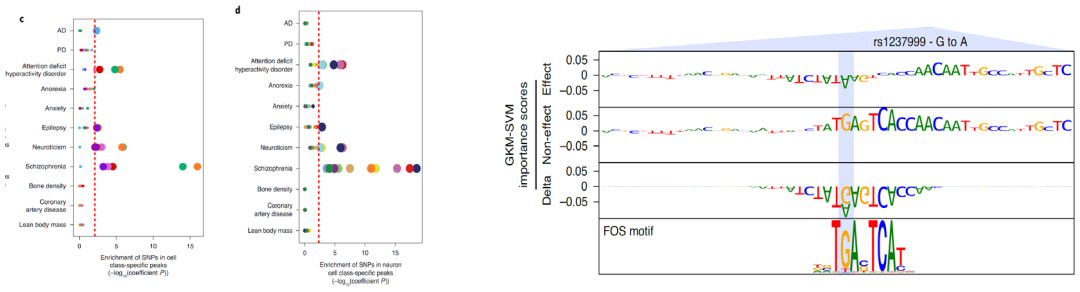
2. 利用 ATAC 数据进行细胞分群，对亚群之间进行差异 peak 和差异 motif 分析，并对神经细胞进一步分群。



细胞分群图　　marker 基因展示　　差异 peak（左）与差异转录因子 motif（右）分析

图 64. 构建大脑 ATAC 细胞图谱

3. 单细胞 ATAC 与 GWAS 联合分析鉴定细胞特异性染色质开放区域的神经退行性疾病相关 SNP，并用多组学数据构建机器学习预测模型。



单细胞 ATAC 与 GWAS 联合分析　　机器学习预测疾病相关 SNP

图 65. ATAC 与 GWAS 联合分析，利用机器学习构建预测模型

肿瘤研究方向
Single-cell multiomic analysis identifies regulatory programs in mixed-phenotype acute leukemia
单细胞 ATAC 与单细胞转录组联合揭示白血病致病新机制
期刊：*Nature Biotechnology*　影响因子：36.558　发表时间：2019.12

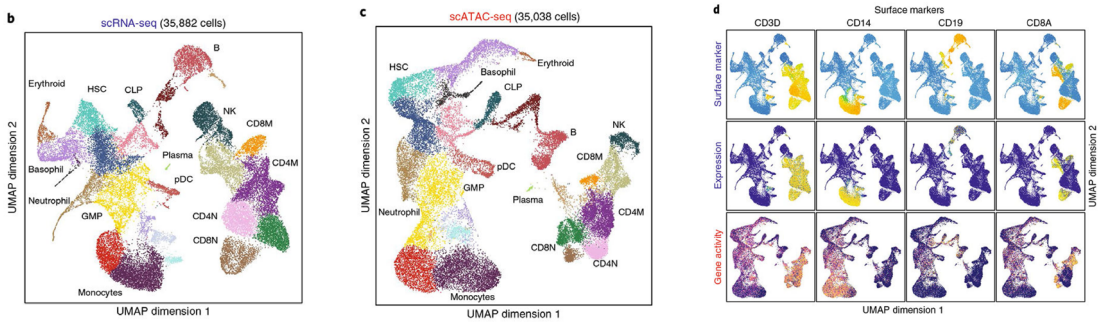
• 摘要

本研究利用单细胞多组学技术揭示了白血病致病的新机制。研究人员利用健康人和急性混合白血病（MPALs）患者的外周血和骨髓单个核细胞（PBMCs 和 BMMCs）构建造血发育的免疫表型、转录组和表观单细胞图谱，通过单细胞转录组和单细胞 ATAC 数据联合分析，发现转录因子 RUNX1 在调节 MPAL 中起到重要的作用。此项单细胞多组学研究为发育相关致病机理研究提供了研究方法和数据支持。

健康样本的骨髓和外周血单个核细胞的转录和表观图谱 ▶ MPALs 造血系统的单细胞转录和表观数据与健康人群数据进行差异比较 ▷ scATAC-seq 和 scRNA-seq 联合分析确定了调控白血病的转录因子 RUNX1 ▷ **结论：为致病机理研究提供了研究方法和数据支持。**

• 主要结论

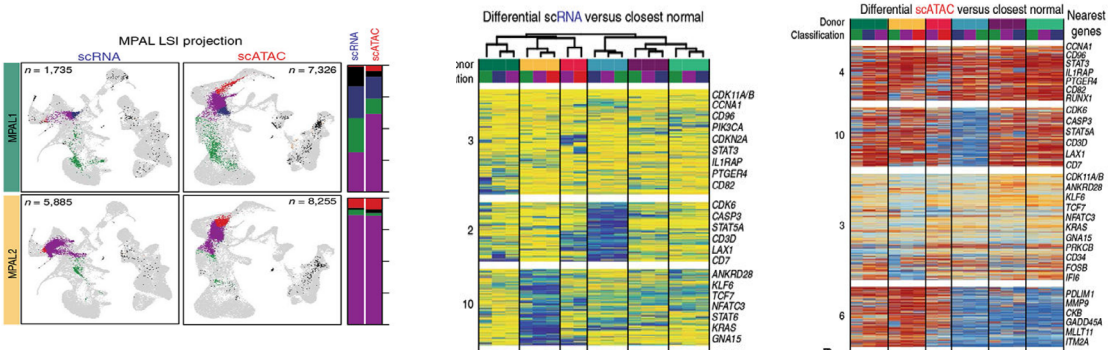
1. 对正常个体的 PBMCs 和 BMMCs 进行单细胞转录组测序和单细胞 ATAC 测序，构建正常造血系统的转录组、表观遗传单细胞图谱。



scRNA-seq 细胞分群　　scATAC-seq 细胞分群　　基因差异表达与差异可及性分析

图 66. 正常造血系统单细胞转录组、单细胞 ATAC 图谱

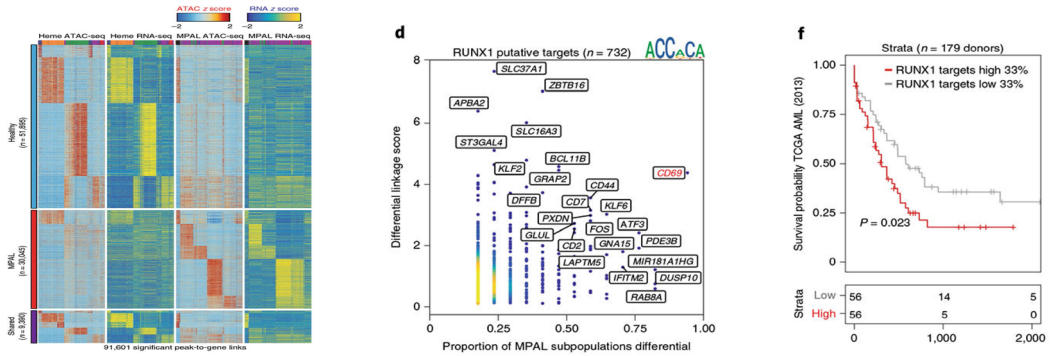
2. 将 MPALs 个体的单细胞转录组和表观组数据与正常样本进行差异比较。



MPALs 单细胞数据映射到正常数据中　　MPALs 与正常个体在转录组（左）、表观组（右）上的差异

图 67. MPALs 与正常个体的差异分析

3. scRNA-seq 和 scATAC-seq 联合分析，揭示白血病关键转录因子 RUNX1 的调控机制。



scRNA-seq 与 scATAC-seq 联合进行 peak-gene 关联分析　　利用 peak-gene 关联分析预测 RUNX1 靶基因　　TCGA 数据验证 RUNX1 与生存曲线关系

图 68. scRNA-seq 与 scATAC-seq 联合分析

疾病研究方向
A human circulating immune cell landscape in aging and COVID-19
单细胞 ATAC 与转录组测序分析老年人新冠高致病率的免疫学图谱
期刊：*Protein & Cell*　　影响因子：10.164　　发表时间：2020.8

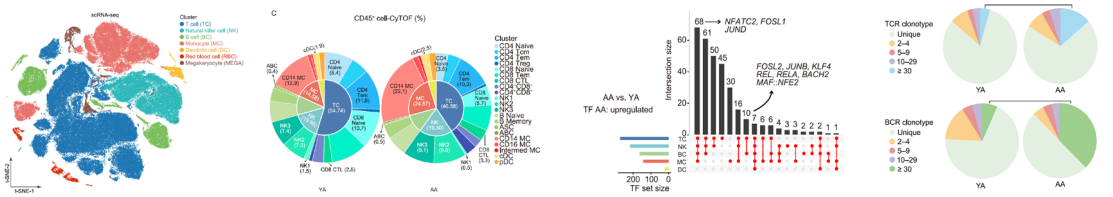
• 摘要

相比于年轻群体，老年群体中新型冠状肺炎（COVID-19）的发病率、危重症发生率以及死亡率显著增加，衰老引起的免疫系统失调如何使得 COVID-19 发病率和死亡率升高的发生机制尚不清楚。本研究应用 scRNA-seq 和 scATAC-seq 研究年轻、年老健康人群以及 COVID-19 患者 PBMC，首次建立人类衰老相关的外周血免疫细胞的高通量单细胞多组学图谱，并系统阐述了衰老引起的血液中免疫细胞的表型、转录水平与染色质可及性水平的变化，揭示了老年群体 COVID-19 发病率升高以及预后更差的免疫细胞状态变化机制，为理解 COVID-19 患者老年群体的危重症发生机制及发展新冠肺炎的新型治疗手段提供重要思路。

年轻，年老，新冠肺炎患者进行单细胞转录组，单细胞 ATAC，质谱流式检测 ▶ 细胞分群分析，免疫表性分析 ▷ 细胞谱系分析转录水平和染色质可及性的变化 ▷ 与年龄相关的树突状细胞的免疫学特征分析 ▷ 结论：老年群体免疫系统失调可能是造成老年 COVID-19 发病率和死亡率高居不下的重要机制之一

• 主要结论

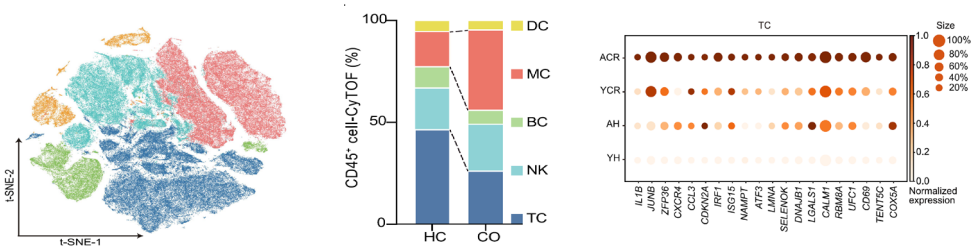
1. 利用 scRNA-seq、sc-ATAC-seq、scTCR/BCR-seq、CyTOF 构建年轻、年老、新冠患者的 PBMC 单细胞图谱，并进行了年轻与年老之间的差异比较。



scRNA-seq 细胞分群结果　CyTOF 比较年轻与年老之间的细胞组成差异　sc-ATAC 转录因子差异分析　scTCR/BCR-seq 比较免疫组库差异

图 69. 通过单细胞测序进行年轻与年老人群差异比较

2. 进行新冠病人与健康之间的差异比较，发现衰老增加了新冠易感基因的表达量，而且新冠病人中衰老相关的炎症基因表达上调。



细胞分群图　年轻 - 年老 - 新冠病人的细胞组成差异　基因表达差异

图 70. 新冠病人与年轻和年老个体的差异比较

发育与分化研究方向
Integrative Single-Cell RNA-Seq and ATAC-Seq Analysis of Human Developmental Hematopoiesis
单细胞 ATAC 与转录组测序分析人类发育过程中造血功能的调控
期刊：*Cell Stem Cell*　影响因子：20.860　发表时间：2020.12

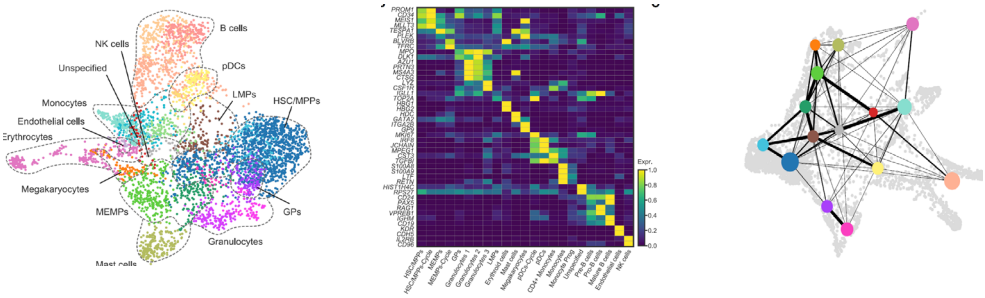
摘要

目前造血干祖细胞（HSPCs）及其分化后代的潜在命运决定机制目前仍尚不清楚。本研究应用 scRNA-seq 和 scATAC-seq 技术对来自胚胎肝脏和骨髓的 8,000 多个免疫表型 HSPCs 进行综合分析。推断这些血细胞的分化轨迹，并鉴定了造血干细胞（HSC）/ 多能祖细胞（MPP）下游的三个高度增殖的寡能祖细胞。发现染色质可及性和分化的相反模式，这与不同谱系特异性转录因子活性的动态变化相吻合。该研究提供了来自肝脏和骨髓的胚胎 HSPCs 的高分辨率转录和染色质可及性图谱，为今后在血液病理学和再生医学的背景下研究人类发育造血提供了重要参考。

胚胎肝脏、股骨和髓骨中的血液群体进行单细胞测序 ▶ 免疫表型定义的干细胞和祖细胞群体中存在大量的转录异质性 ▷ 细胞轨迹分析鉴定了三个高度增殖的寡能祖细胞群 ▷ scATAC-seq 检测人类胚胎 Lin-CD34+CD38- 细胞的染色质可及性 ▷ scATAC-seq 与 scRNA-seq 细胞高度一致，表明染色质可及性和转录组具有相关性 ▷ **结论：为今后在血液病理学和再生医学的背景下研究人类发育造血提供了重要参考**

• 主要结论

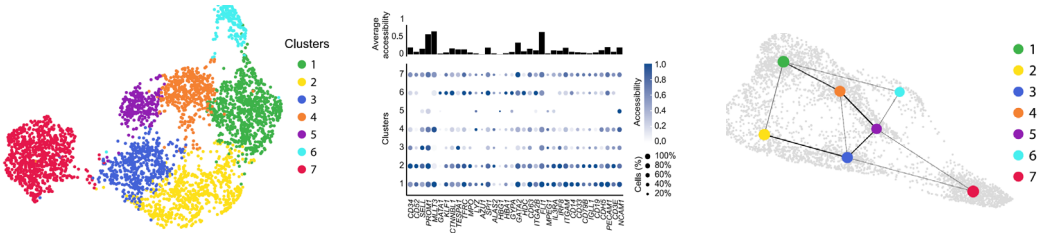
1. 利用单细胞转录组测序构建胚胎肝脏和骨髓中血细胞图谱，并对造血细胞进行轨迹分析鉴定造血细胞分化轨迹。



scRNA-seq 细胞分群图　　亚群差异基因分析　　造血细胞分化轨迹分析

图 71. 单细胞转录组测序构建胚胎肝脏和骨髓细胞图谱

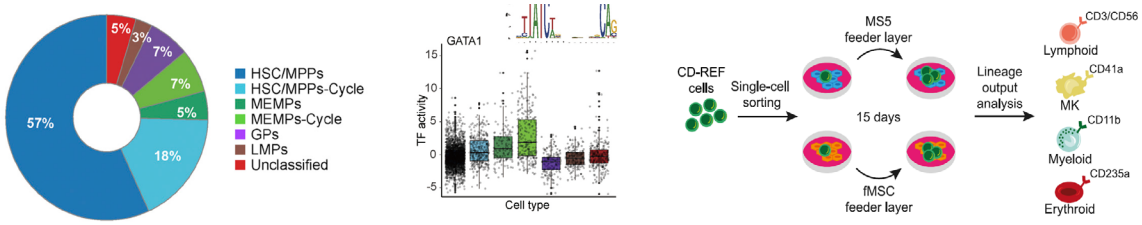
2. 单细胞 ATAC 测序分析造血细胞分化。



scATAC-seq 细胞分群图　　亚群差异可及性分析　　造血细胞分化轨迹分析

图 72. 单细胞 ATAC 测序构建造血细胞分化图谱

3. 单细胞 ATAC 数据与单细胞转录组数据联合分析，进行 ATAC 细胞亚群注释，发现两个数据细胞频率高度一致，并对从单细胞数据中得到的造血细胞分化过程进行了实验验证。



scATAC-seq 细胞亚群比例　　亚群中转录因子 motif 可及性分析　　实验验证细胞分化结果

图 73. 单细胞 ATAC 数据与单细胞转录组数据联合分析

4 单细胞表面蛋白检测

技术原理

单细胞转录组测序可以从单细胞水平实现基因表达的检测，然而因为转录后调控的存在，基因与蛋白的表达往往并不一致，因此了解基因调控和单细胞异质性往往同时需要 RNA 和蛋白表达的信息。10x Feature Barcode 技术，可同时完成对每个细胞的基因表达和细胞表面蛋白表达的检测，有利于更好的理解复杂的生物体系统。

10x Feature Barcode 技术的凝胶珠共有 3 种捕获序列。分别为：3' 表达捕获序列（poly(dT) 引物序列），表面蛋白文库捕获序列 Capture Seq 1（Feature Barcode 序列），CRISPR 筛选中使用的序列 Capture Seq 2。与抗体偶联的细胞与凝胶珠，通过 10x Genomics 平台形成油包水结构（GEMs）。接下来，凝胶珠溶解释放出 3 种引物序列，细胞裂解释放 mRNA，接着 3' 表达引物和 Capture Seq 1 引物分别捕获 mRNA 和蛋白标记序列，形成 cDNA， cDNA 后续进行文库构建。通过数据分析得到同一个细胞的基因表达和表面蛋白表达信息。

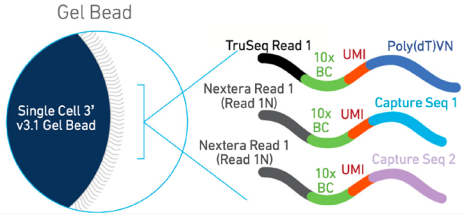


图 74. 10x Feature Barcode 技术原理

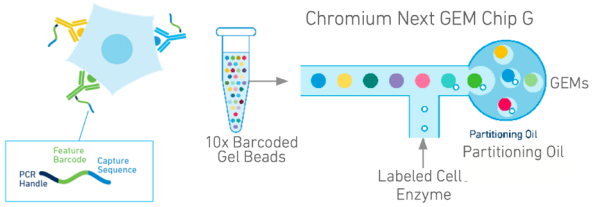


图 75. 10x Feature Barcode 实验流程

平台优势

高灵敏度	可以实现一个细胞表面的多种蛋白检测
快捷方便	提供不同的蛋白 panel 满足不同的检测需求
单细胞多组学	单细胞表面蛋白可以与单细胞转录组或免疫组库联合检测
提高细胞亚群分辨率	利用表面蛋白检测可以对细胞进行更准确的亚群分型

应用方向

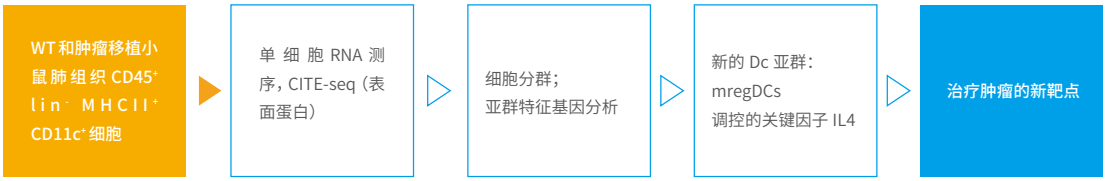
1. 肿瘤研究
2. 免疫研究
3. 疾病机制研究

应用案例

肿瘤研究方向
A conserved dendritic-cell regulatory program limits antitumour immunity
单细胞多组学研究保守 DC 调控限制抗肿瘤免疫力机制
期刊： *Nature*　影响因子： 49.963　发表时间： 2020.4

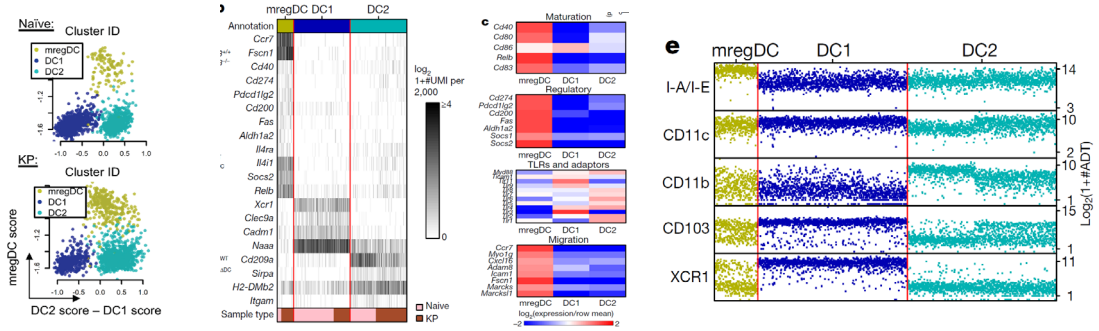
• 摘要

检查点阻断疗法改善了癌症的治疗，但这种免疫疗法在很大一部分患者中失败了。传统的 1 型树突状细胞（DC1）在临床前模型中控制对检查点阻断的反应，并与癌症患者更好的总体生存率相关，然而，在抵抗检查点阻断的肿瘤中也可以发现 DC1，这表明这些细胞的功能在某些病变中可能发生改变。研究人员通过对人类和小鼠非小细胞肺癌进行单细胞 RNA 测序，鉴定了一组树突状细胞（DC），称之为“富含免疫调节分子的成熟 DC”（MREGDC），因为它们共表达免疫调节基因（Cd274、Pdcd1lg2 和 Cd200）和成熟基因（Cd40、Ccr7 和 Il12b）。进一步研究发现 MREGDC 中 IL-12 的上调严格依赖于干扰素 -γ，并由 IL-4 信号负向调控。阻断 IL-4 可促进携带肿瘤抗原的 mregDC1s 中 IL-12 的表达，扩大肿瘤浸润的效应 T 细胞库并减少肿瘤负荷。



• 主要结论

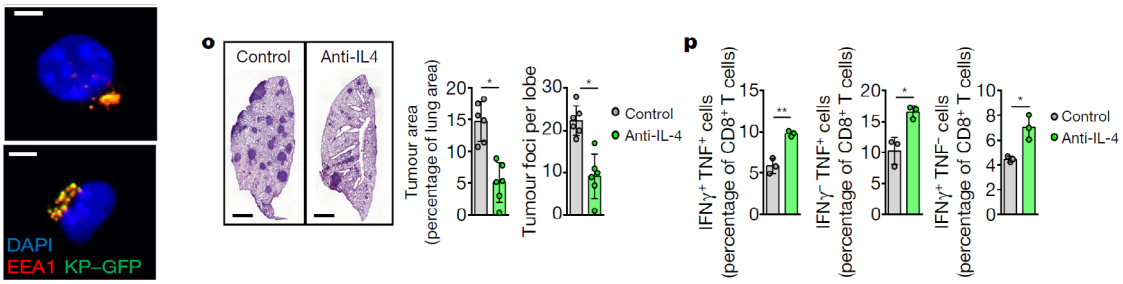
1. 对正常及荷瘤小鼠肺组织中的 DC 进行分选、单细胞 RNA 测序和 CITE-seq，发现了一类与非小细胞肺癌相关的特殊的 DC 细胞亚群，命名为 mregDCs；在其他数据中也发现了同样的亚群类型。



DC 细胞分群　　亚群特征基因表达情况　　各亚群细胞表面蛋白表达情况

图 76. 单细胞转录组测序和表面蛋白检测鉴定三种 DC 亚群

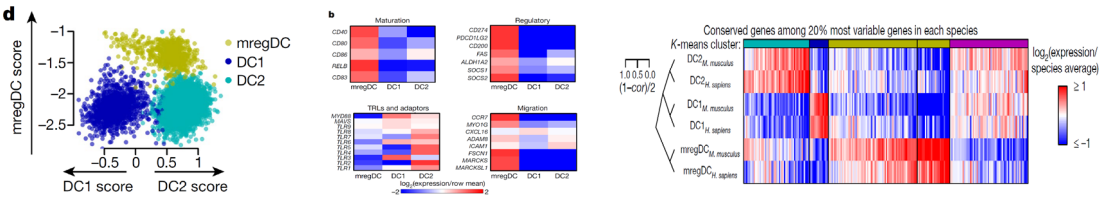
2. 利用荧光成像及转录组测序发现， DC1 中启动 mregDC 程序与肿瘤抗原的摄取有关； 而且阻断 IL-4 信号可以增强 DC1 的功能和抗肿瘤免疫能力。



DC1 与肿瘤抗原共定位　　阻断 IL-4 可以降低肿瘤区域面积及引起 T 细胞扩增

图 77. MregDC 的功能及信号通路研究

3. 在人的样本中同样发现了 mregDCs，并且细胞集中在损伤区。



细胞分群　　各亚群基因 set 表达情况　　人与小鼠中 mregDC 特征基因表达比较

图 78. 在人的样本中进行单细胞测序验证

免疫研究方向
Multi-Omics Resolves a Sharp Disease-State Shift between Mild and Moderate COVID-19
多组学研究解析轻度和中度 COVID-19 之间的急剧变化
期刊： *Cell*　　影响因子： 41.583　　发表时间： 2020.12

• 摘要

大多数关于 COVID-19 患者免疫功能障碍的报道都集中在严重疾病上。但了解升高的炎症信号与血浆代谢物成分之间的耦合以及免疫细胞功能障碍等，需要对大量不同感染程度 COVID-19 患者的血浆和 PBMCs 进行全面的表征。本研究利用多组学的方法分析了 139 名不同程度的新冠病人与 268 名健康个体之间血浆代谢物以及单细胞多组学（转录组、蛋白组、免疫组库）之间的差异，解析了轻度和中度 COVID-19 之间的急剧变化状态。研究表明，中度 COVID-19 可能为治疗干预提供最有效的环境。

265 病人血样（139 新冠病人刚确诊以及确诊一段时间后各抽取一次）+268 健康人血样

血浆蛋白组代谢组；分选免疫细胞单细胞多组学（转录组、蛋白组、免疫组库）检测

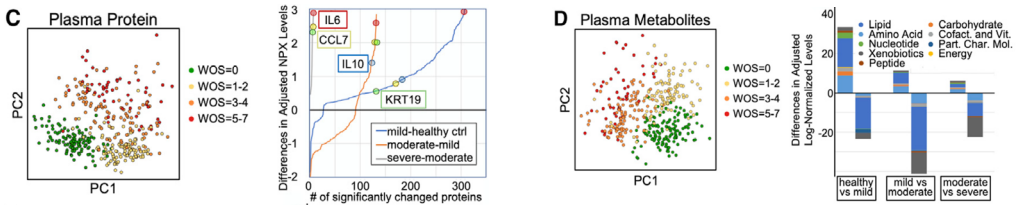
蛋白组、代谢组与新冠严重程度相关性分析，单细胞多组学联合分析

血浆代谢物、免疫细胞亚群、TCR/BCR、单核细胞亚群、NK 细胞等与新冠严重程度相关

利用多组学对新冠患者的血浆代谢和 PBMC 进行了全面的描绘，发现中度疾病状态下进行临床干预可能是最有效的

• 主要结论

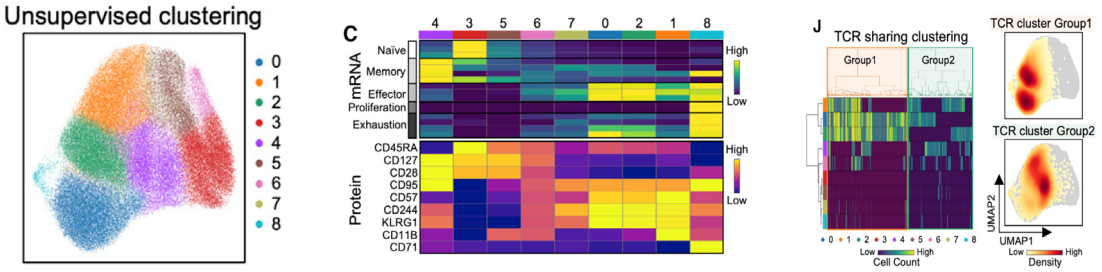
1. 将不同程度新冠病人及正常人的血样分离出 PBMC 和血浆分别进行多组学检测： 血浆进行蛋白组和代谢组检测，发现其与疾病程度密切相关。



血浆蛋白组检测　　血浆代谢组检测

图 79. 血浆多组学检测

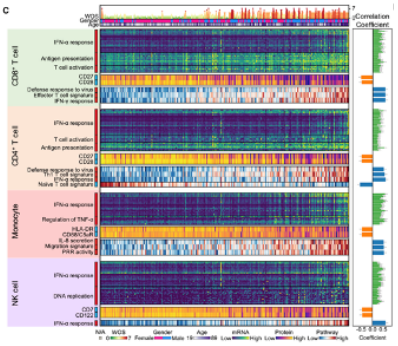
2. 对 PBMC 进行单细胞转录组、免疫组库和蛋白测序，将 $CD8^+$ T 细胞重新进行聚类分群，揭示 $CD8^+$ T 细胞呈现出异质性（包括初始 T 细胞、记忆 T 细胞、效应 T 细胞、衰竭样 T 细胞、增值型 T 细胞），并且与疾病严重程度呈现非单调变化； 单细胞免疫组库测序发现 $CD8^+$ T 细胞中两组表型特异的 TCR 与疾病严重程度有关；对 $CD4^+$ T 细胞进行了同样的分析，发现两种不同的 $CD4^+$ T 细胞亚群与 COVID-19 严重程度有关。。



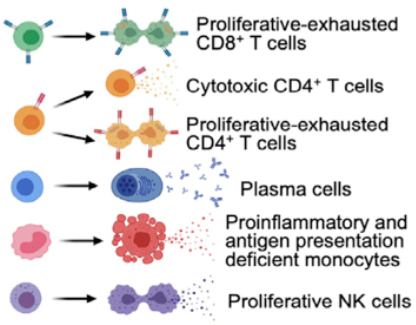
细胞分群　　亚群特征表达基因和蛋白　　免疫组库数据进行 TCR 聚类分析

图 80. PBMC 进行多组学检测，对 T 细胞进行分析

3. 对 B 细胞、单核细胞、NK 细胞亚群进一步分析，发现 S100highHLA-Dlow 单核细胞亚群受到血浆中炎症蛋白组和代谢组改变的影响，并且与 COVID-19 严重性有关； NK 细胞中 DNA 复制以及毒性增加、NFKB 信号通路抑制减弱与 COVID-19 患者恢复有关； 最终构建多细胞类型的整合分析模型，揭示出特定基因表达与临床症状有关，对新冠感染的不同状态进行了多组学层面的完整描绘。



与疾病严重程度相关的 mRNA、表面蛋白和富集通路



模型展示的新冠感染后免疫反应示意图

图 81. 多细胞类型的整合分析

博奥晶典单细胞空间平台部分支持发表文献回顾

题目	杂志	影响因子	关键词	发表年份
Lung cancer scRNA-seq and lipidomics reveal aberrant lipid metabolism for early-stage diagnosis	***Science Translational Medicine***	17.993	单细胞测序，肺癌	2022
Aorta Regulatory T Cells with a Tissue-Specific Phenotype and Function Promote Tissue Repair through Tff1 in Abdominal Aortic Aneurysms	***Advanced Science***	16.807	单细胞免疫组库，主动脉瘤	2022
Single-cell transcriptomics reveals pathogenic dysregulation of previously unrecognised chondral stem/progenitor cells in children with microtia	***Clinical and Translational Medicine***	11.493	单细胞测序，小耳畸形	2022
Anatomically distinct fibroblast subsets determine skin autoimmune patterns	***Nature***	49.962	单细胞测序，自身免疫病	2021
MET amplification attenuates lung tumor response to immunotherapy by inhibiting STING	***Cancer Discovery***	39.394	单细胞测序，肺癌	2021
Single-cell analysis reveals transcriptomic remodellings in distinct cell types that contribute to human prostate cancer progression	***Nature Cell Biology***	28.820	单细胞测序，前列腺癌，肿瘤微环境	2021
Establishment of intestinal organoid cultures modeling injury-associated epithelial regeneration	***Cell Research***	25.610	单细胞测序，类器官，损伤再生	2021
Identification of HSC/MPP expansion units in fetal liver by single-cell spatiotemporal transcriptomics	***Cell Research***	25.610	单细胞测序，空间转录组，造血发育	2021
Cascade diversification directs generation of neuronal diversity in the hypothalamus	***Cell Stem Cell***	24.630	单细胞测序，下丘脑	2021
Azvudine is a thymus-homing anti-SARS-CoV-2 drug effective in treating COVID-19 patients	***Signal Transduction and Targeted Therapy***	18.182	单细胞测序，新冠	2021
The olfactory route is a potential way for SARS-CoV-2 to invade the central nervous system of rhesus monkeys	***Signal Transduction and Targeted Therapy***	18.181	单细胞测序，新冠肺炎，恒河猴，神经	2021
IDH Mutation Subgroup Status Associates with Intratumor Heterogeneity and the Tumor Microenvironment in Intrahepatic Cholangiocarcinoma	***Advanced Science***	16.802	单细胞测序，肝内胆管癌	2021
"Hypothalamic Rax+ tanycytes contribute to tissue repair and tumorigenesis upon oncogene activation in mice"	***Nature Communications***	14.912	单细胞测序，下丘脑	2021
A pig BodyMap transcriptome reveals diverse tissue physiologies and evolutionary dynamics of transcription	***Nature Communications***	14.912	空间转录组，猪，肌肉	2021
Single-cell analysis of diverse immune phenotypes in malignant pleural effusion	***Nature Communications***	14.912	单细胞免疫组库，胸腔积液	2021
Suppressing the DSCAM/PAK1 pathway reverses neurogenesis deficits in Down Syndrome patient iPSC-derived cerebral organoids	***J Clin Invest***	14.802	单细胞测序，唐氏综合征，脑类器官，神经	2021
"Decoding the multicellular ecosystem of lung adenocarcinoma manifested as pulmonary subsolid nodules by single-cell RNA sequencing"	***Science Advances***	14.133	单细胞测序，肺腺癌，免疫微环境	2021
Stochastic gene expression drives mesophyll protoplast regeneration	***Science Advances***	14.133	单细胞转录组，植物	2021
Neoantigen vaccination induces clinical and immunologic responses in non-small cell lung cancer patients harboring EGFR mutations	***Journal for ImmunoTherapy of Cancer***	13.750	单细胞免疫组库，肿瘤疫苗	2021
De novo generation of macrophage from placenta-derived hemogenic endothelium	***Dev Cell***	12.270	单细胞测序，巨噬细胞	2021
Single-cell analysis reveals the origins and intrahepatic development of liver-resident IFN-γ-producing γδ T cells	***Cellular & Molecular Immunology***	11.531	单细胞测序，γδ T cells，肝脏，胸腺	2021

题目	杂志	影响因子	关键词	发表年份
A single-cell resolution developmental atlas of hematopoietic stem and progenitor cell expansion in zebrafish	***PNAS***	11.200	单细胞测序，斑马鱼造血组织	2021
Generation of human blastocyst-like structures from pluripotent stem cells	***Cell Discovery***	10.481	单细胞转录组，干细胞	2021
Distinct BCR repertoires elicited by SARS-CoV-2 RBD and S vaccinations in mice	***Cell Discovery***	10.481	单细胞免疫组库，新冠疫苗	2021
A unique population of regulatory T cells in heart potentiates cardiac protection from myocardial infarction	***Circulation***	29.692	单细胞免疫组库，心肌梗死，心血管	2020
Transdifferentiation of tumor infiltrating innate lymphoid cells during progression of colorectal cancer	***Cell Research***	25.610	单细胞测序，结直肠癌，ILCs	2020
The Msi1-mTOR pathway drives the pathogenesis of mammary and extramammary Paget's disease	***Cell Research***	25.610	单细胞测序，派杰氏病	2020
Single-cell landscape of immunological responses in patients with COVID-19	***Nature Immunology***	25.604	单细胞免疫组库，新冠肺炎	2020
Single cell transcriptomic architecture and intercellular crosstalk of human intrahepatic cholangiocarcinoma	***Journal of Hepatology***	25.084	单细胞测序，肝内胆管癌	2020
Dissecting transcriptional heterogeneity in primary gastric adenocarcinoma by single cell RNA sequencing	***GUT***	23.054	单细胞测序，胃癌，图谱	2020
Adaptive immune responses to SARS-CoV-2 infection in severe versus mild individuals	***Signal Transduction and Targeted Therapy***	18.181	单细胞免疫组库，新冠肺炎	2020
Aortic heterogeneity across segments and under high fat/salt/glucose conditions at the single-cell level	***National Science Review***	17.273	单细胞测序，主动脉	2020
A single-cell transcriptomic landscape of primate arterial aging	***Nature Communications***	14.910	单细胞测序，动脉，衰老	2020
"Tissue engineered corneal epithelium derived from clinical-grade human embryonic stem cells"	***The Ocular Surface***	12.336	单细胞测序，角膜上皮	2020
Single-cell RNA sequencing reveals regulation of fetal ovary development in the monkey (Macaca fascicularis)	***Cell Discovery***	10.842	单细胞测序，猴子，卵巢发育	2020
Single cell RNA and immune repertoire profiling of COVID-19 patients reveal novel neutralizing antibody	***Protein & Cell***	10.164	单细胞免疫组库，新冠肺炎	2020
Generation of Blastocyst-like Structures from Mouse Embryonic and Adult Cell Cultures	***Cell***	41.583	单细胞测序，类囊胚	2019
Tracing the first hematopoietic stem cell generation in human embryo by single-cell RNA sequencing	***Cell Research***	25.610	单细胞测序，造血干细胞	2019
Single-cell RNA sequencing reveals compartmental remodeling of tumor-infiltrating immune cells induced by anti-CD47 targeting in pancreatic cancer	***Journal of Hematology & Oncology***	17.380	单细胞测序，胰腺癌，免疫治疗	2019
Macrophage ABHD5 suppresses NF-κB-dependent matrix metalloproteinase expression and cancer metastasis	***Cancer Research***	12.704	单细胞测序，肿瘤转移	2019
Single-Cell RNA-Seq Reveals Dynamic Early Embryonic-like Programs during Chemical Reprogramming	***Cell Stem Cell***	24.630	单细胞测序，体细胞化学重编程，干细胞	2018
Pulmonary alveolar type I cell population consists of two distinct subtypes that differ in cell fate	***PNAS***	11.200	单细胞测序，肺泡发育	2018