

单细胞转录组学揭示记忆B细胞活化和抗体选择

美国斯坦福大学的研究人员鉴定了经过流感疫苗激活并经历克隆扩增的B细胞的独特转录图谱。他们追踪随时间变化的免疫组库，鉴定出五个对疫苗有应答的克隆。在这些克隆产生的抗体中，不到一半是针对流感的，表明疫苗接种可能导致旁观者抗体的克隆扩增。F Horns, CL Dekker, SR Quake, *Cell Reports*.(2020).

研究快照

研究领域:疫苗和免疫疗法

物种:人类

样本类型:分离自血液的PBMC

研究问题:

免疫接种如何实现免疫保护？

转录反应、记忆B细胞的活化和克隆扩增之间有何关系？

10x Genomics的产品

Chromium单细胞免疫分析解决方案

- Chromium Single Cell 5' Library and Gel Bead Kit
- Chromium Single Cell V(D)J Enrichment Kit, Human B Cell
- Chromium Single Cell A Chip Kit
- Chromium i7 Multiplex Kit
- Cell Ranger分析流程

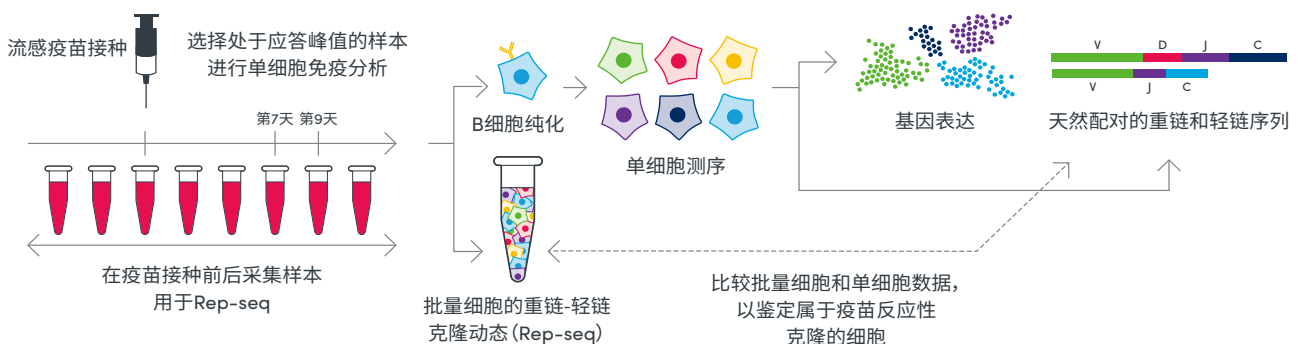
实验流程

追踪流感疫苗接种后不断变化的免疫组库应答

- 在流感疫苗接种前后的多个时间点，从一名健康成年人中抽取血液
- 在所有时间点对外周血抗体库进行批量 (bulk) 细胞测序 (Rep-seq)
- 对131,585个细胞进行全长配对的抗体测序，产生了94,259个带有重链和轻链的单细胞
- 采用2x150 bp试剂，在Illumina NextSeq 500上对单细胞V(D)J文库进行测序

免疫应答期间B细胞的转录谱分析

- 采用美天旎B细胞分离试剂盒II，通过磁性从PBMC中富集全部B细胞
- 采用Chromium单细胞免疫分析解决方案，对35,631个细胞进行单细胞RNA-seq
- 采用26x98 bp试剂，在Illumina NextSeq 500上对单细胞基因表达文库进行测序
- 将RNA-seq的聚类结果与通过免疫分析和Rep-seq鉴定出的克隆动态进行比较



为什么要进行单细胞分析?

适应性免疫系统通过基因重组、连接多样性以及重链-轻链配对,产生了巨大的多样性,能够针对数百万种外来微生物产生反应。免疫组库测序等技术失去了配对带来的分辨率,而这正是了解免疫应答机制所必需的。单细胞分析通过提供单个细胞内抗体受体的配对序列而解决了这个问题,并实现了大规模分析,能够高效处理成千上万个细胞。

计算分析

将单细胞映射到克隆动态

通过B细胞重链的批量细胞测序,研究人员根据V和J基因的使用以及HCDR3的长度和序列组成来鉴定克隆。在单细胞测序实验中,他们使用Cell Ranger来组装重链和轻链,并且只保留能生产重链和轻链序列的细胞。采用定制算法,他们将单细胞数据中的重链与批量细胞分析中的克隆进行匹配,并根据V和J基因的使用以及CDR3长度进行过滤。HCDR3区域内外核苷酸一致性达90%以上的序列被认为是匹配。最终有8,377个B细胞与批量细胞分析中鉴定出的克隆匹配。

结果

鉴定对疫苗有应答的克隆

对疫苗接种前后的克隆动态和配对的B细胞受体序列进行比较,揭示8%的细胞表达批量细胞分析时鉴定出的重链序列。其中5个克隆是对疫苗有应答的。对疫苗有应答的克隆中的细胞有着独特的转录组特征,并在更广泛的记忆B细胞簇中聚集在一起(图1)。这些细胞称为活化的记忆B细胞,表达与B细胞活化以及细胞迁移至炎症区域相关的基因。活化的记忆B细胞与年龄或自身免疫相关的B细胞(ABC)共享有一些标志物,而后者与病毒感染、自身免疫和衰老相关联。

参考文献

1. F Horns, CL Dekker, SR Quake, Memory B cell activation, broad anti-influenza antibodies, and bystander activation revealed by single-cell transcriptomics. *Cell Rep.* 30, 905-913e6 (2020).

对疫苗有应答的克隆并不总是疫苗特异性的

与批量细胞的方法不同,配对受体的测序带来了可操作的数据,让活化的记忆B细胞受体得以表达和功能检测。在对疫苗有应答的克隆所表达的21个抗体中,只有12个(57%)能够结合疫苗。他们也检测了其他常见的病毒和细菌抗原,但没有一种能够与这些抗体结合,表明非特异性的B细胞克隆的旁观者激活可能是常见的。

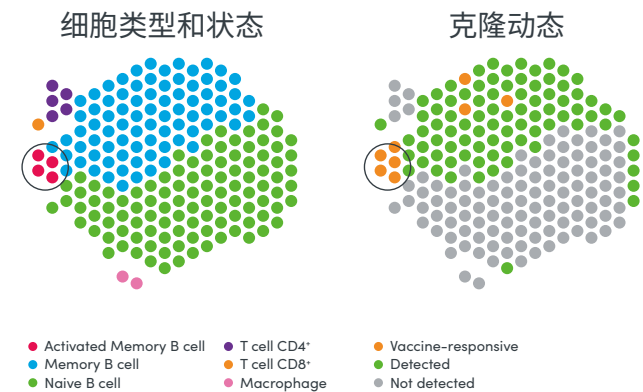


图1. 分选后的B细胞的tSNE图。根据全转录组数据按照细胞类型注释给左侧的细胞簇标上不同颜色;根据Rep-seq发现的克隆给右侧的细胞标上不同颜色。记忆和幼稚B细胞明显分开。活化的记忆B细胞位于较大的记忆B细胞簇中(圆圈所示),其中含有大多数对疫苗有应答的克隆。

如需查看完整的文献列表,请访问 10xgenomics.com/publications



获取最新资讯

请关注 10x Genomics 公众号

请访问 10xgenomics.com/cn 了解更多