

生物学背景:

针对样本的全免疫微环境的画像刻画往往都是比较复杂的过程,在以往的常规方式中,我们通过对一个样本进行多组不同荧光染色的方案来分别完成各个细胞亚群的比例监测和蛋白表达评估的工作。但是伴随着流式细胞术的发展,尤其是多色流式细胞术的可检测通道量大幅度提升,在同一个样本中进行单组多荧光抗体标记的方法已经逐渐成熟。本方案即是使用全光谱流式细胞仪对人外周血/PBMC 中的淋巴 (T,B,NK,NKT,ILCs) 单核,粒细胞进行全面的评估,并且发现一些既往的 biomarker 会在一些细胞群中呈现不同的新分群。

实验信息:

样本类型: 人全血 (肝素钠抗凝保存) 人 PBMC (经过梯度密度离心)

方案类型: 多色流式

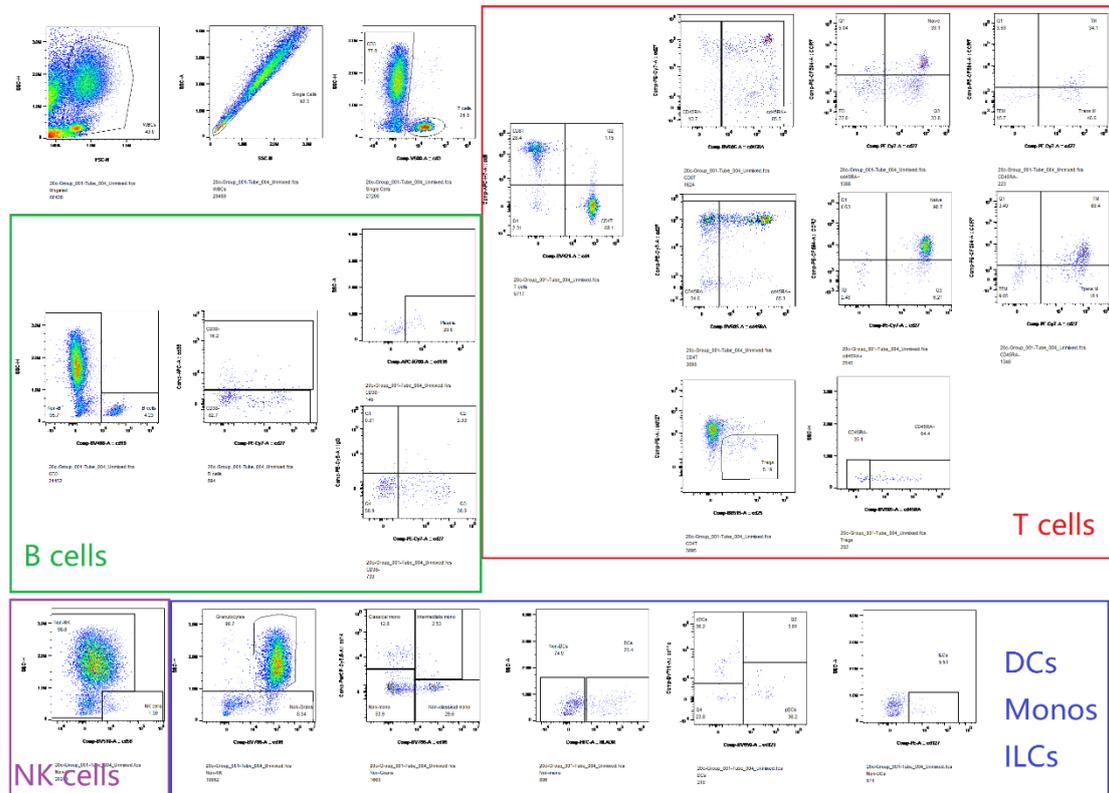
使用仪器: cytek 全光谱流式细胞仪

试剂信息:

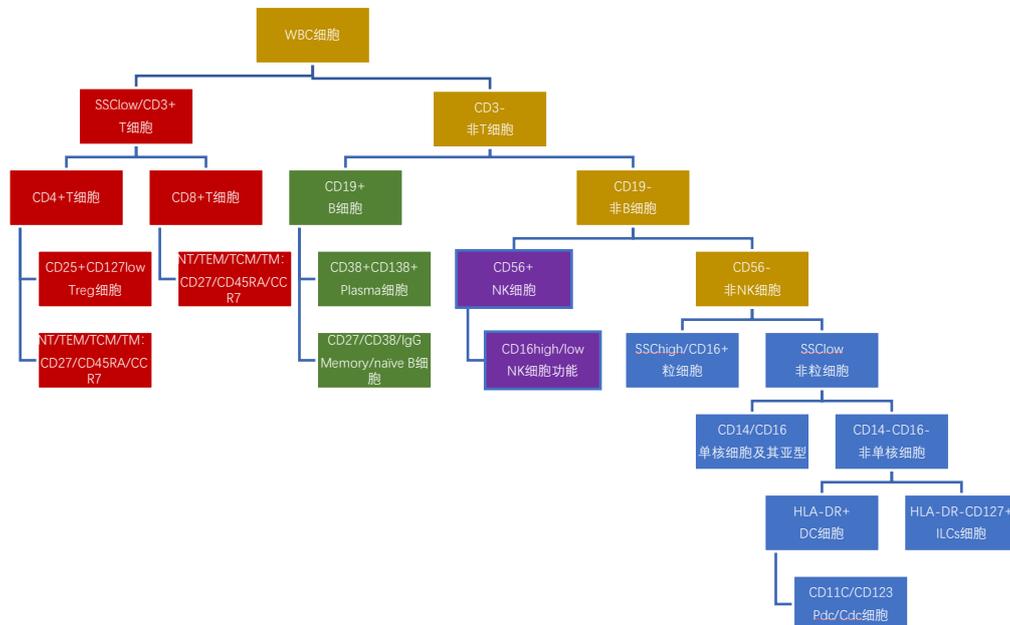
品牌	货号	具体品相信息	备注
BD	557938	Hu CD127 PE hIL-7R-M21 100ug	CD127
BD	566103	BV480 Mouse Anti-Human CD19(SJ25C1)	CD19
BD	562842	BV421 Mouse Anti-Human CD4(L200)	CD4
BD	555462	APC Mouse Anti-Human CD38(HIT2)	CD38
BD	564468	Hu CD25 BB515 2A3 25Tst	CD25
BD	562886	BV605 Mouse Anti-Human CD45RA(HI100)	CD45RA
BD	563690	BV786 Mouse Anti-Human CD16(3G8)	CD16
BD	563130	BV711 Mouse Anti-Human CD11c(B-ly6)	CD11C
BD	550787	PerCP-Cy5.5 Mouse Anti-Human CD14(M5E2)	CD14
BD	752156	R718 Mouse Anti-Human CD49d(L25)	CD49D
BD	551497	PE-Cy5 Mouse Anti-Human IgG(G18-145)	IgG
BD	562381	PE-CF594 Mouse Anti-Human CD197 (CCR7)(150503)	CD197
BD	566050	APC-R700 Mouse Anti-Human CD138(MI15)	CD138
BD	562111	Alexa Fluor 647 Mouse Anti-Human CD68(Y1/82A)	CD68
BD	560770	V500 Mouse Anti-Human CD3(SP34-2)	CD3
BD	563041	BV510 Mouse Anti-Human CD56(NCAM16.2)	CD56
BD	563405	BV650 Mouse Anti-Human CD123(7G3)	CD123
BD	560609	PE-Cy7 Mouse Anti-Human CD27(M-T271)	CD27
BD	307604	FITC Mouse Anti Human HLA-DR	HLA-DR
BD	557834	APC-CY7 Mouse Anti Human CD8	CD8

逻辑设门图&数据结果说明:

1. 常规多色数据分析:

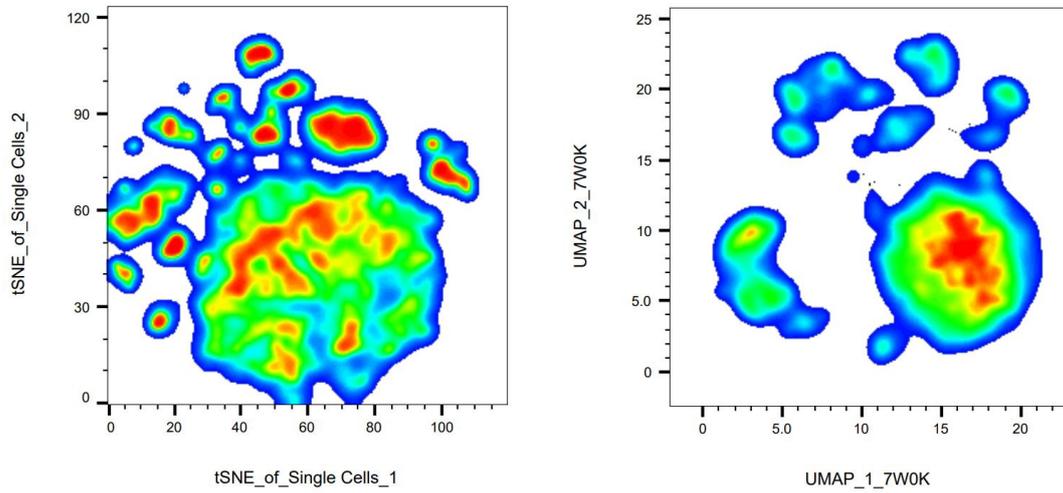


分析逻辑如下:

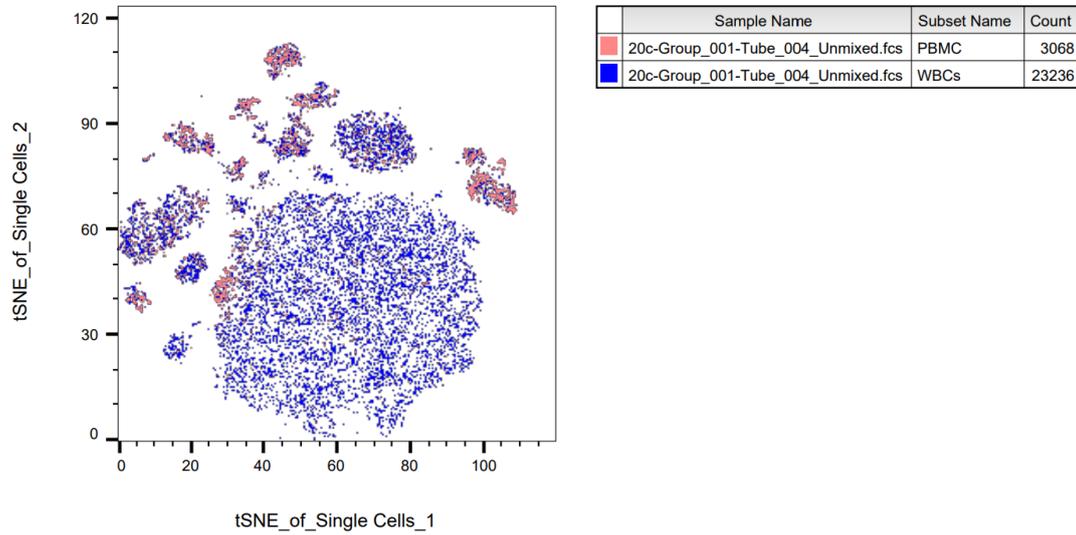


2.使用两种降维分析方式（T-sne&Umap）对样本信息进行降维，生成降维图后将常规多色数据分析代入观察整体亚群关系：

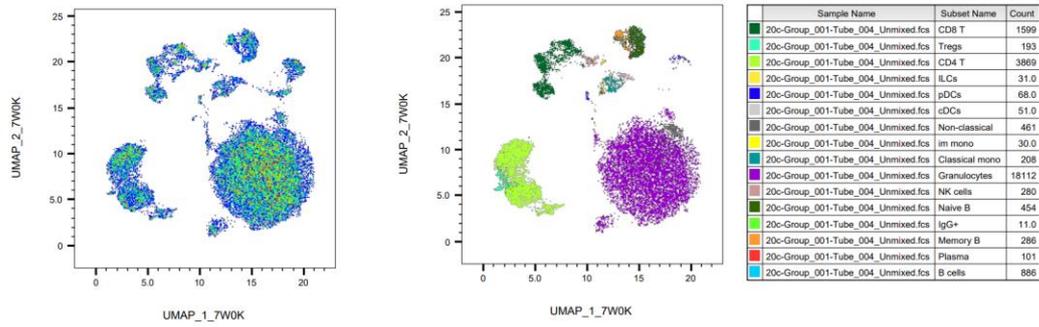
样本经过 T-sne 和 Umap 降维后结果如下：



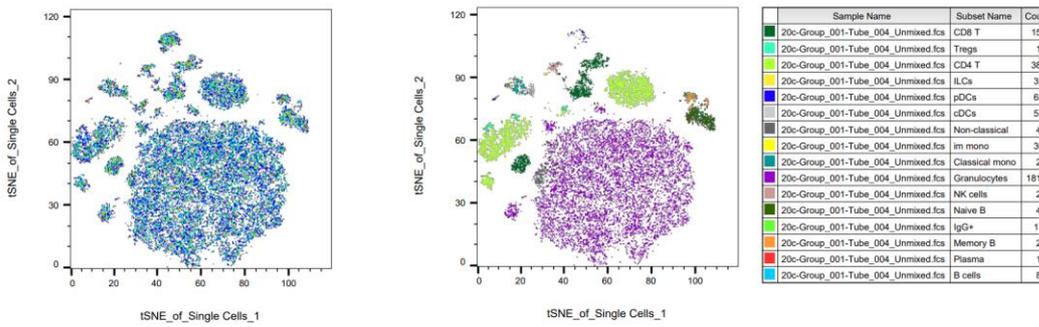
对 PBMC 和 WBC 样本进行对比：



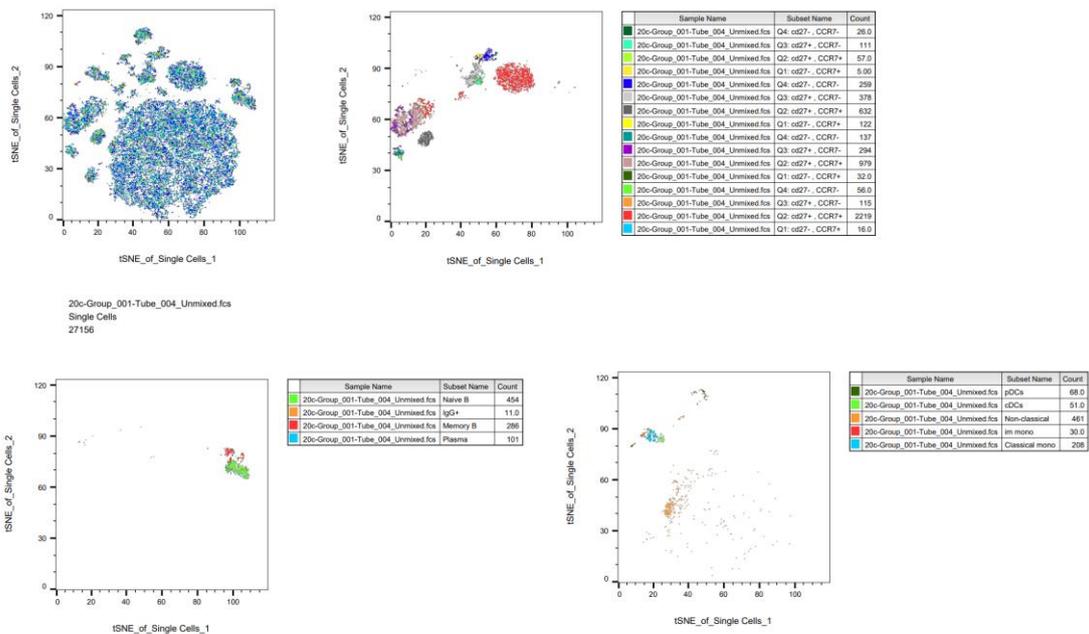
将常规多色数据分析分别代入 Umap 和 T-sne，观察整体亚群关系：



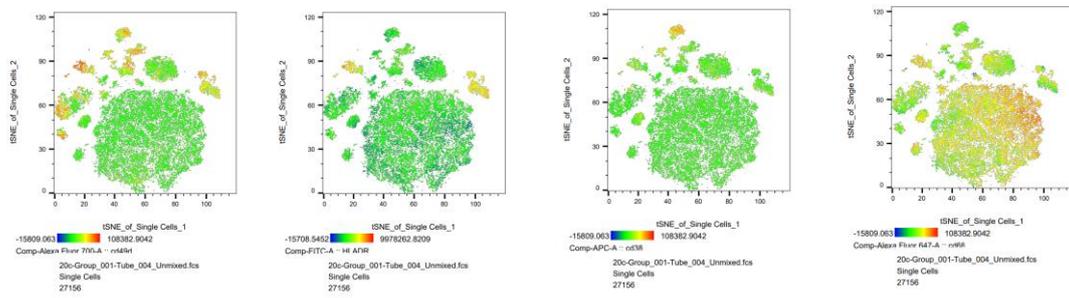
20c-Group_001-Tube_004_Unmixed fcs
Single Cells
27156



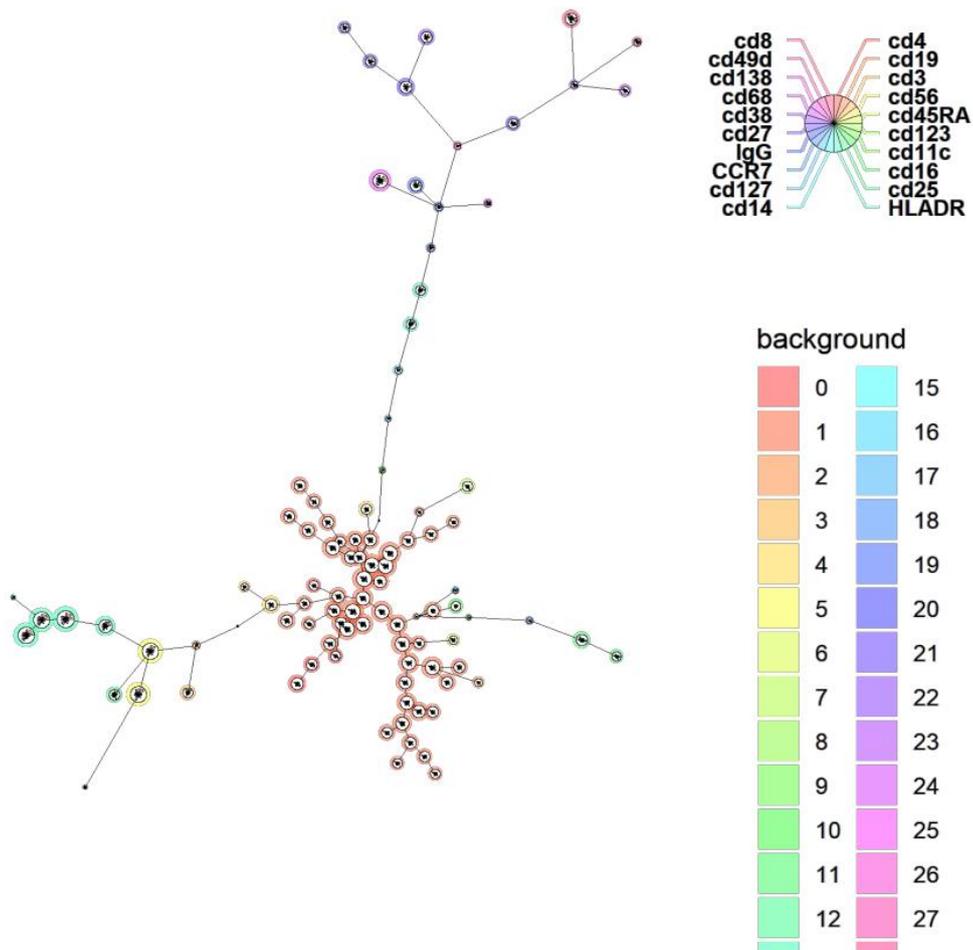
考虑到 T-sne 对样本细节的展示更好，进一步代入深度亚群探究其关系：



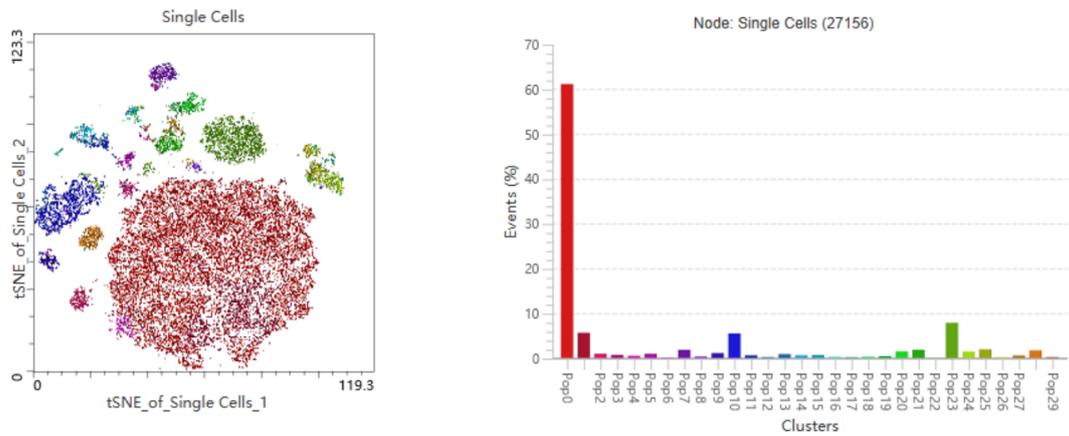
观察关键蛋白在整体细胞亚群上的表达情况：



3.为了进一步探究细胞亚群的相互关系，使用 FlowSOM 进行全自动聚类分析：



分析后代入 T-sne 可以看到最终生成 29 个亚群:



29 个亚群的蛋白表达情况:



