

Dual genome-wide coding and lncRNA screens in neural induction of induced pluripotent stem cells

Wu, D. *et al.*, *Cell genomics*, 2, 100177, 2022

Presented by: Huang, Jen-Chun, Advised by: Leu, Yu-Wei, Date: 2023/3/10

一、簡述論文概要及重大發現

在本篇中，作者想要利用標的 CRISPR 結合長引導核糖核酸和 dCas9-KRAB 篩選出於誘導之多功能幹細胞 (Induced pluripotent stem cell) 進行神經分化過程中能同時影響其增長及分化的編碼基因 (coding RNA) 和長鏈非編碼核糖核酸 (long non-coding RNAs)，並對分析後選出之標的長鏈非編碼核糖核酸進行功能性檢定。過去的研究中得知許多的長鏈非編碼核糖核酸會在神經組織中表達，並且被認為會參與神經系統的發育，而為了有效對全基因體地抑制特定基因或不表達核糖核酸的轉錄以研究相應的功能，作者選擇了表達 dCas9-KRAB 的誘導性多功能幹細胞，並同時轉染了 18,905 針對基因和 10,678 針對非編碼核糖核酸之引導核糖核酸 (guiding RNA)，以干擾標的轉錄之進行。進行 dSMADi 神經誘導 (neural induction) 使其分化為表達 PAX6 之神經幹細胞 (neural stem cells)，並同時在誘導的過程中或之後執行流式細胞儀 (flow cytometry) 和 RNA-seq 分析，確認細胞轉變的情況以及 RNA 表達的變化，然後進行全基因體表達和帶分子條碼引導核糖核酸篩選 (genome-wide screen) 分析，終篩選出了 419 個編碼基因和 201 個長鏈非編碼核糖核酸能夠影響神經幹細胞的產生。

從全基因組篩選的結果發現這些會對神經幹細胞產生影響的長鏈非編碼核糖核酸大部分都會促進神經誘導，編碼基因則是沒有特別傾向於促進或是抑制神經誘導。接著使用全基因體篩選的數據並運用機器學習 (machine learning) 的方法進行運算，結果說明了這些被篩選出來對神經誘導有影響的長鏈非編碼核糖核酸在表觀基因體學上的特性如多和 H3K4me3 結合、而與其他長鏈非編碼核糖核酸有所不同。

接著作者使用 Perturb-seq 驗證篩選結果、並更仔細的分析編碼基因和長鏈非編碼核糖核酸所影響的表現型 (phenotype)，結果在神經誘導中所需要的編碼基因和長鏈非編碼核糖核酸被抑制後會導致明顯不同的表現型，並發現在抑制編碼基因或長鏈非編碼核糖核酸後兩者對於抑制神經誘導的方式也有所不同，最後作者再針對 SERTAD4-AS1 基因進行驗證，確認了如果其在神經誘導的過程中之缺失能夠促進分化，並可能會導致細胞產生出不同細胞譜系 (lineage) 的表現型，並抑制神經誘導作用。

二、對論文內容的提問

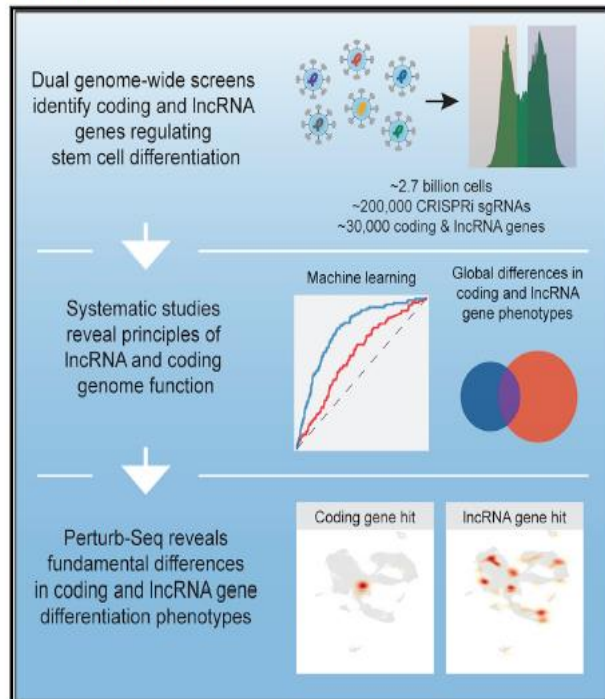
在進行流式細胞儀分選時可否加入更多神經分化標記，以針對不同細胞譜系形成進行分析追蹤，而其選在 PAX6 + vs. - 為 50:50 時分析、其中轉染效能可能影響選取標準，也就是其真偽非全關乎其功能。另外在對全基因組篩選的結果進行驗證時，是以甚麼條件去挑選要進行驗證時、作為目標的編碼基因和長鏈非編碼核糖核酸。

三、論文的缺點與評論

在本篇文獻中作者提供了一個網站，並將這篇文獻中的數據放置於網站上，能夠讓大家更方便的去檢索以及運用作者所收集到的資料。

Dual genome-wide coding and lncRNA screens in neural induction of induced pluripotent stem cells

Graphical abstract



Authors

David Wu, Aunoy Poddar, Elpiniki Ninou, ..., Yin Shen, Jonathan S. Weissman, Daniel A. Lim

Correspondence

daniel.lim@ucsf.edu

In brief

There is limited systematic understanding of coding and lncRNA genome function in processes such as differentiation. Wu et al. performed dual genome-wide coding and lncRNA CRISPRi screens and Perturb-seq in neural induction from pluripotent stem cells, finding fundamentally distinct roles of coding and noncoding genes in this complex biological process.

Highlights

- Dual genome-wide screens provide coding and lncRNA functional atlas in human iPSCs
- Compared with coding genes, lncRNA genes are enriched for roles in neural induction
- Perturb-seq reveals fundamental insights into regulation of neural induction
- Interactive resource allows data exploration: danlimlab.shinyapps.io/dualgenomewide



Wu et al., 2022, Cell Genomics 2, 100177
November 9, 2022
<https://doi.org/10.1016/j.xgen.2022.100177>