

# 実習

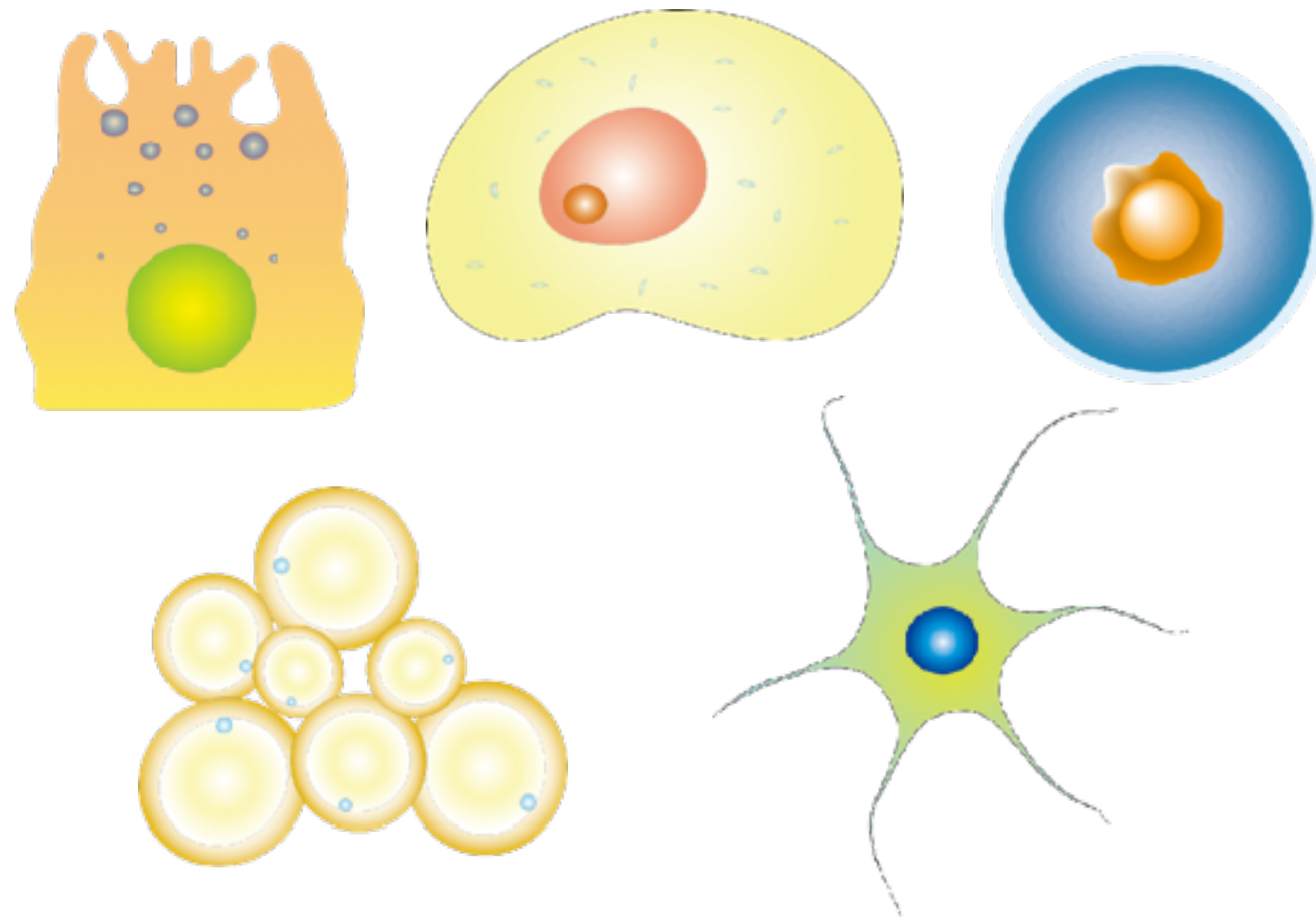
Webページの「午後の実習」

# シングルセルRNA-seq解析

# 細胞集団の多様性 ~ 細胞の多様性

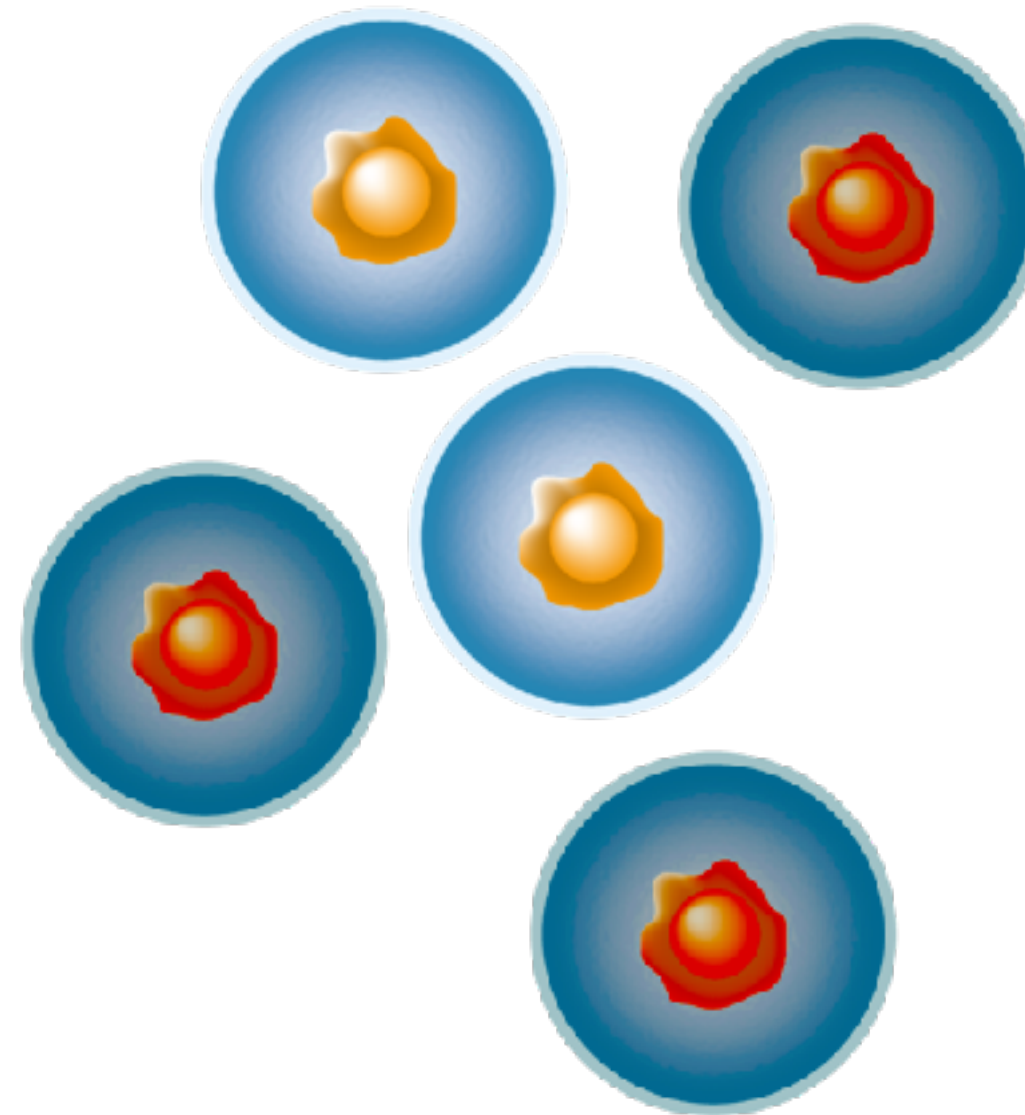
## 細胞型

Cell type



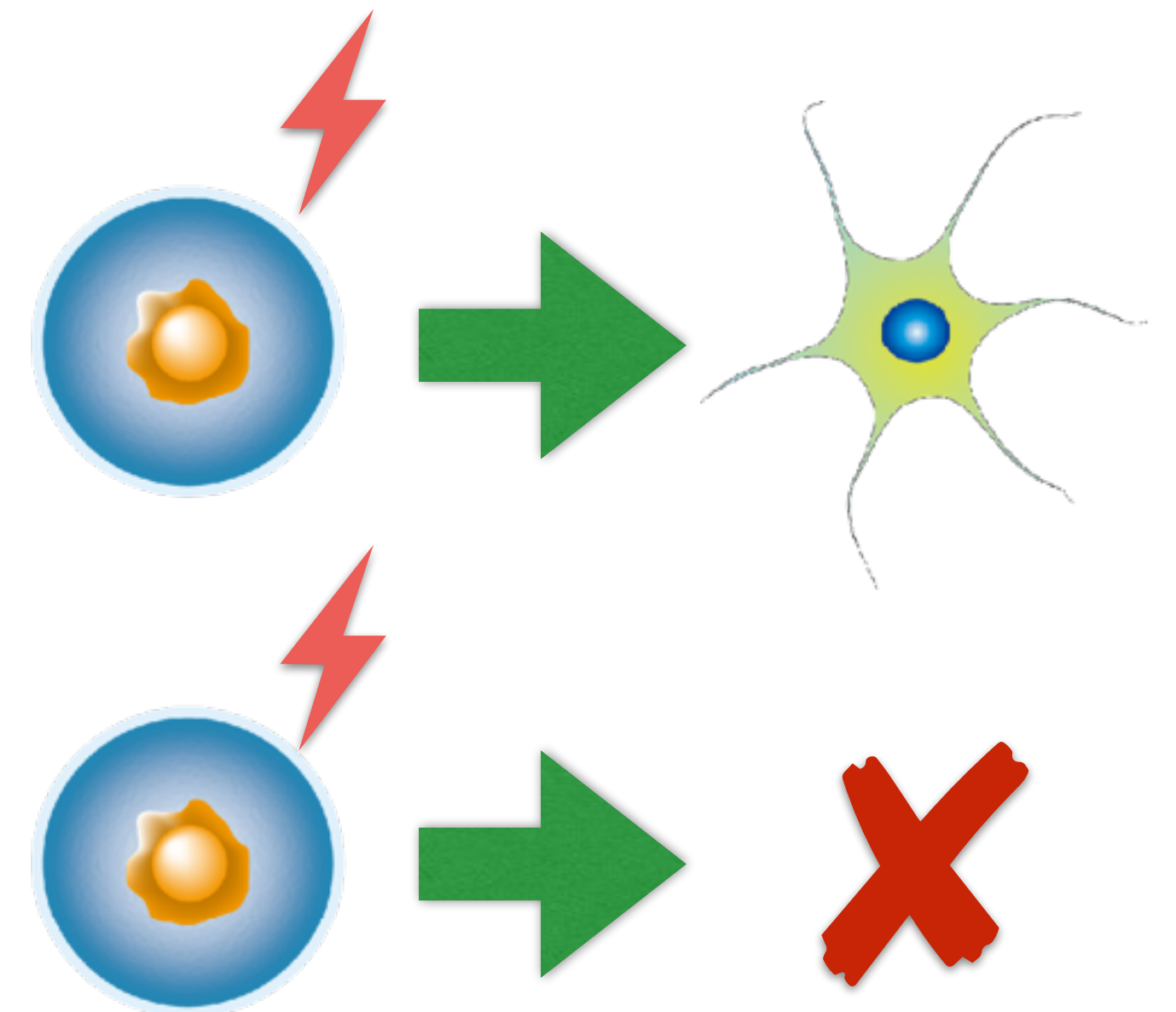
## 細胞状態

Cell state



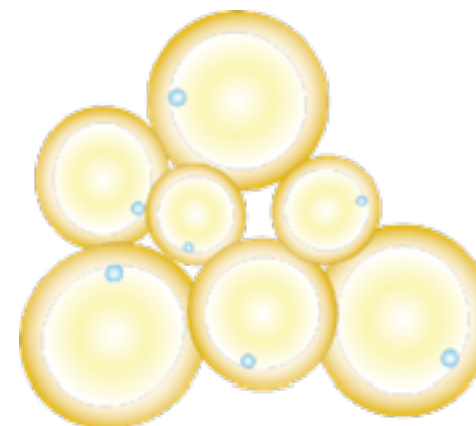
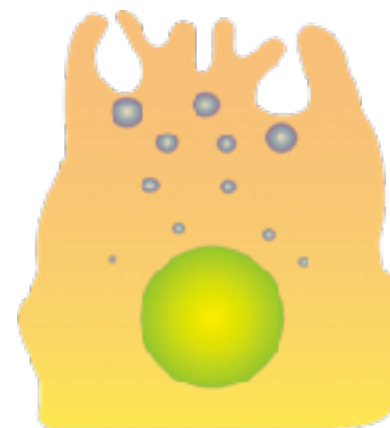
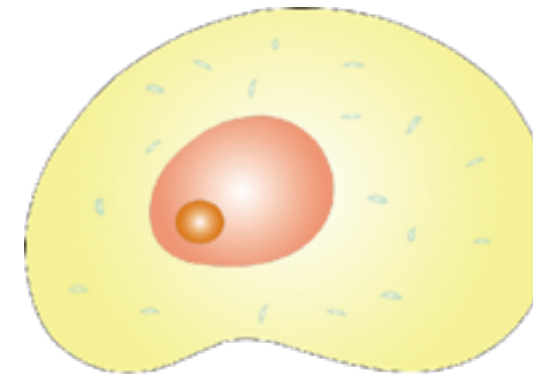
## 分化ポテンシャル

Differentiation potential

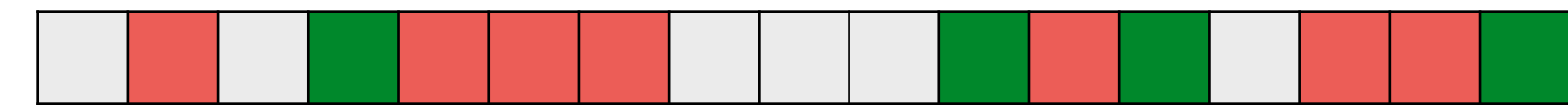
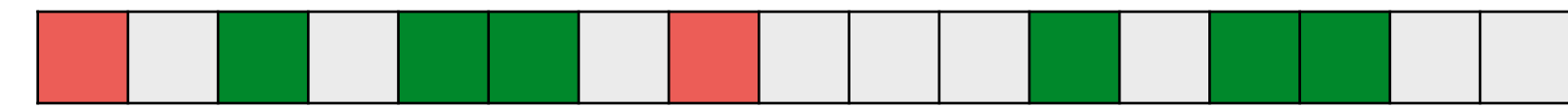


# 細胞の性質は遺伝子発現に反映される

ゲノムは同じ（はず）



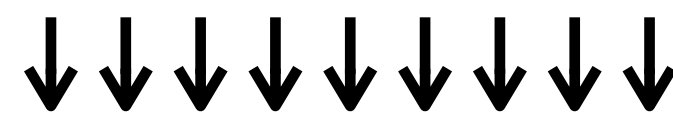
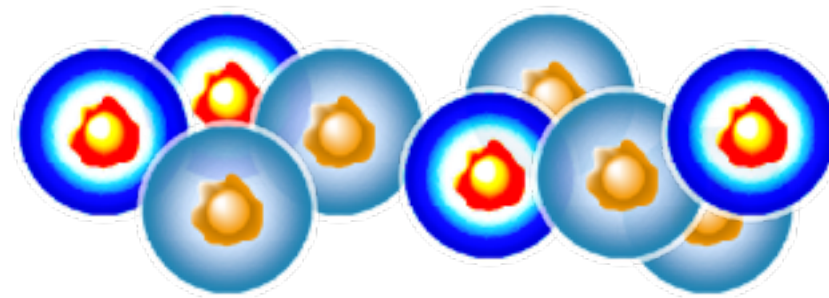
遺伝子発現量は異なる





# RNA-seq: 網羅的に遺伝子発現を計測

## "バルク" RNA-seq



個々の細胞を区別しない

NGSなど

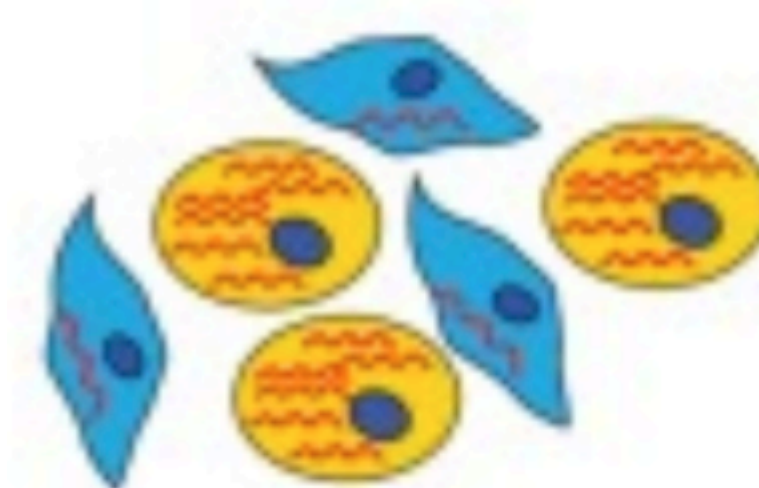
細胞集団の平均の  
遺伝子発現量

細胞集団の平均の遺伝子発現量を  
計測できる

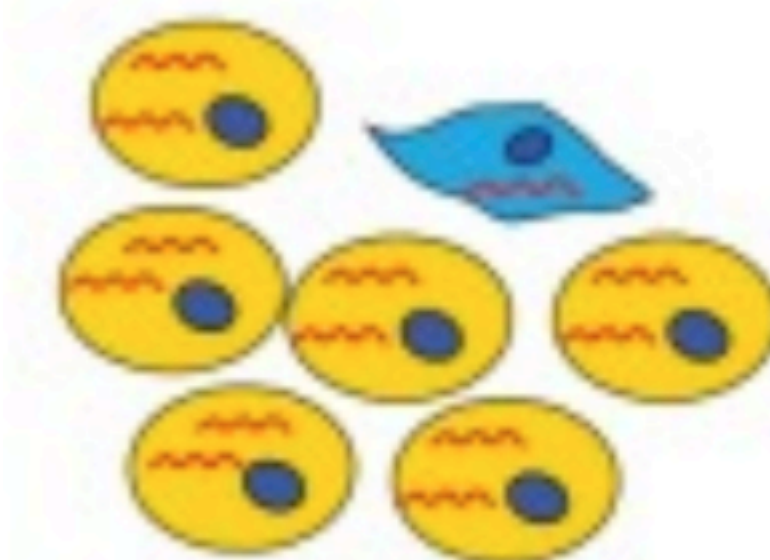
どの細胞由来のRNA (cDNA) なのかわからない

問題点: シンプソンのパラドックス

細胞集団には性質の異なる細胞型 (亜集団) が  
混在する場合、現象を反映しない



Change in  
regulation

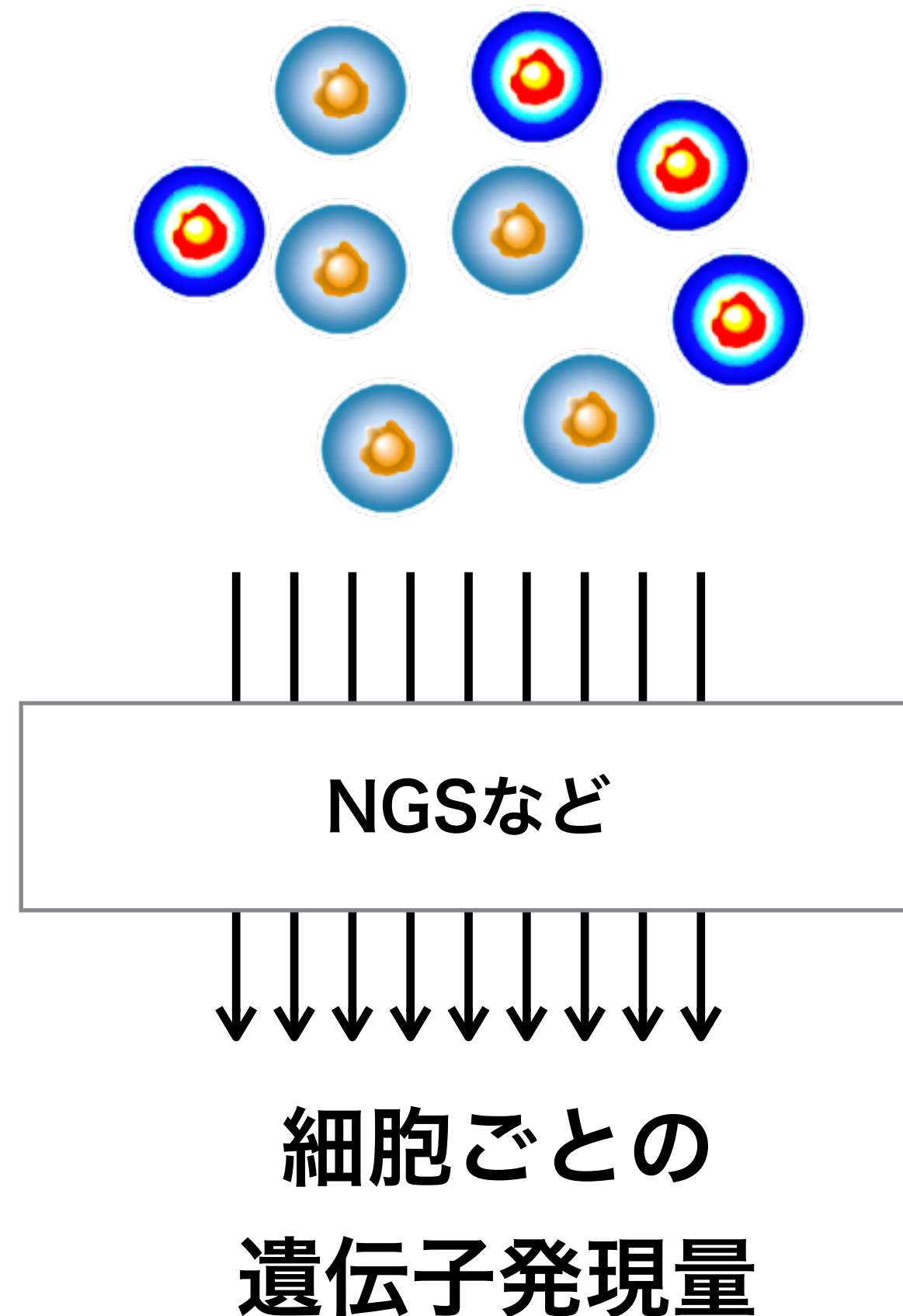


Change in  
composition

# scRNA-seq: 細胞ごとに遺伝子発現を計測

## scRNA-seq

single-cell RNA sequencing



細胞ごとの遺伝子発現量を計測  
できる

どの細胞由来のRNA (cDNA) なのかわかる

→ **細胞集団の構造**（細胞の種類・組成）を明らかにできる

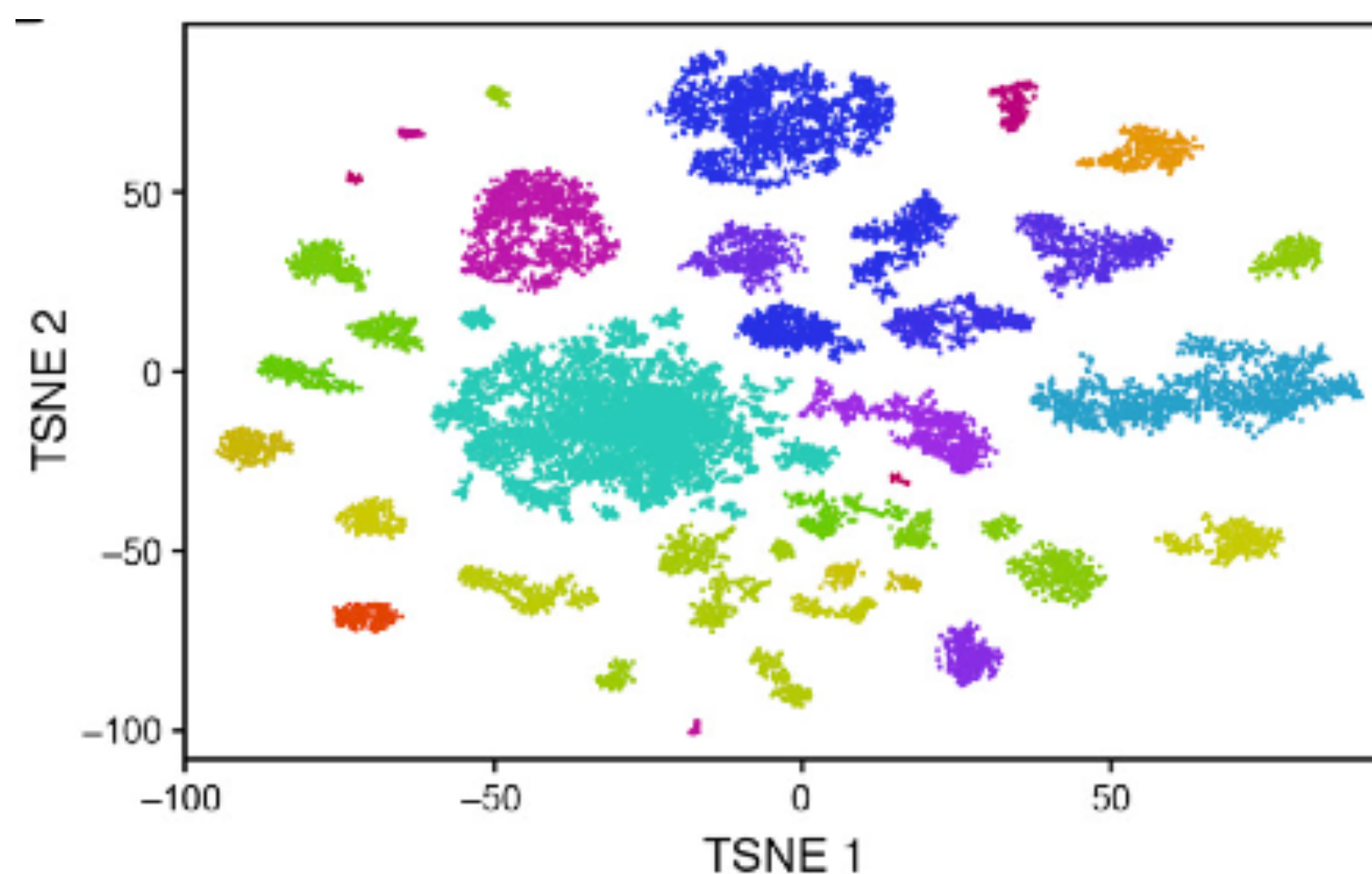


# 不均一な細胞集団構成の理解

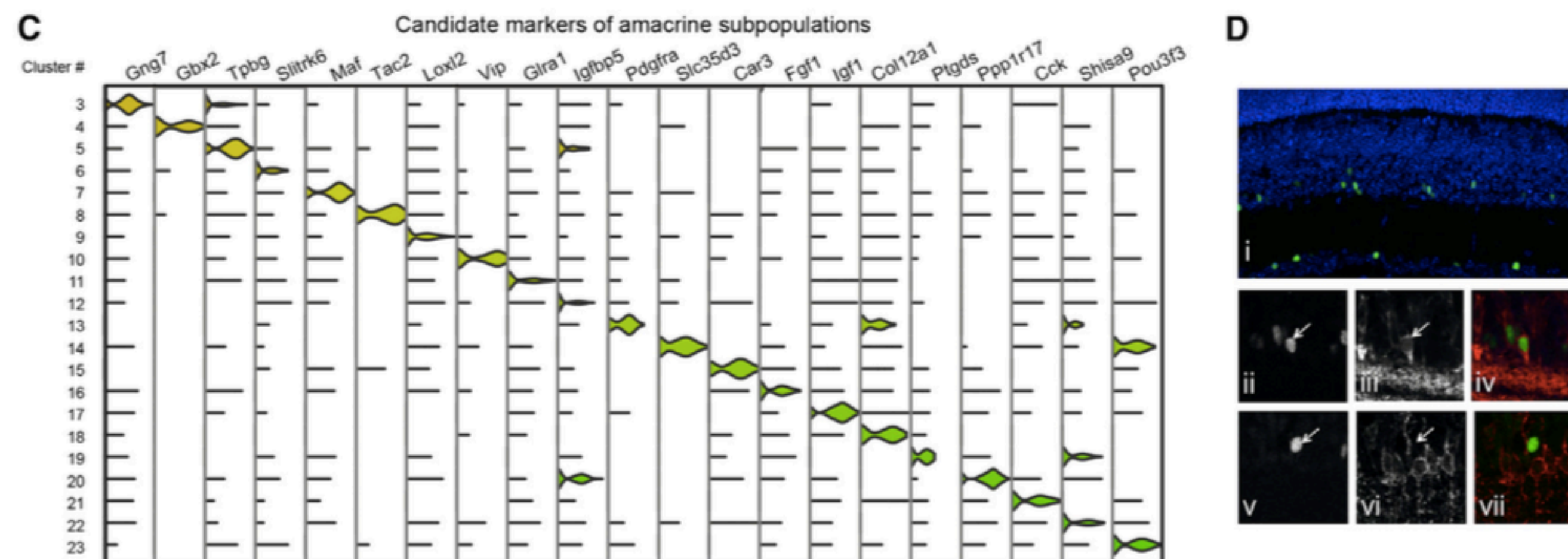
事前知識・マーカーがなくても細胞集団の組成（細胞型・サブタイプ）を明らかにできる

e.g., 不均一な細胞が混合した組織、オルガノイド

## マウス網膜の細胞群



## 新規サブタイプの発見・マーカーの同定

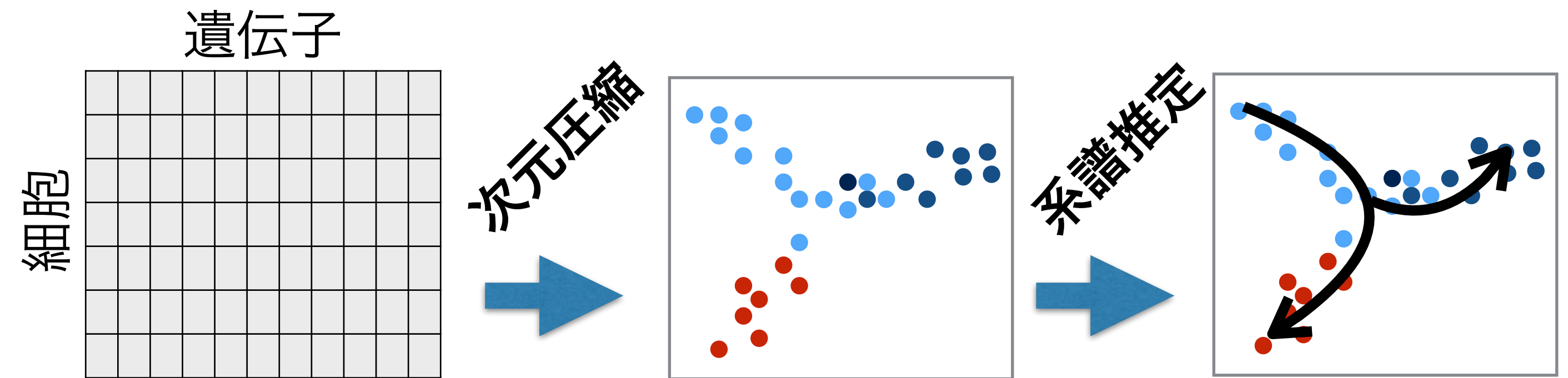


# 主観的時間・系譜を推定する

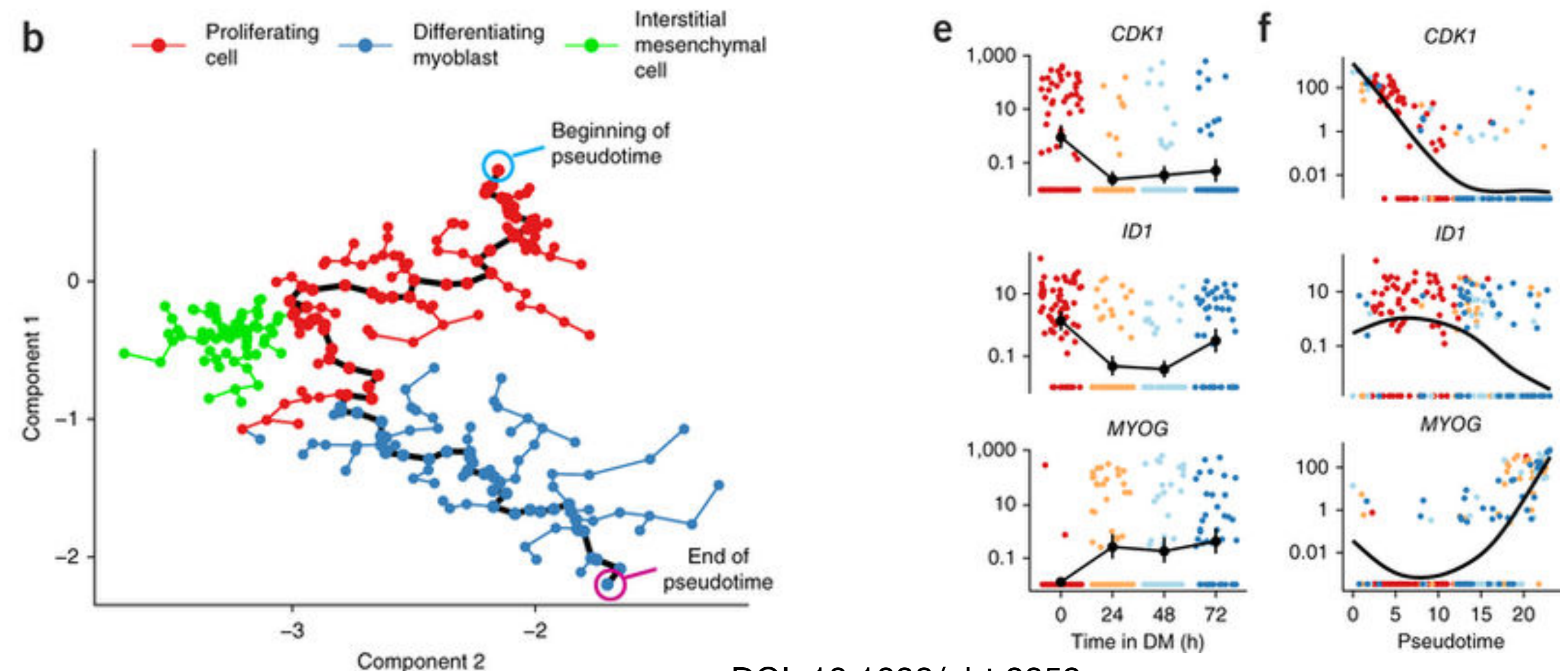
細胞の主観的時間（擬時間）や系譜を、時間の情報なしに再構築する

不均一な細胞が混在する系で細胞状態の時間発展を再現できる

e.g. 細胞分化、刺激応答



細胞を分化進行度に応じて並べ替える  
(線維芽細胞から筋芽細胞への分化誘導)



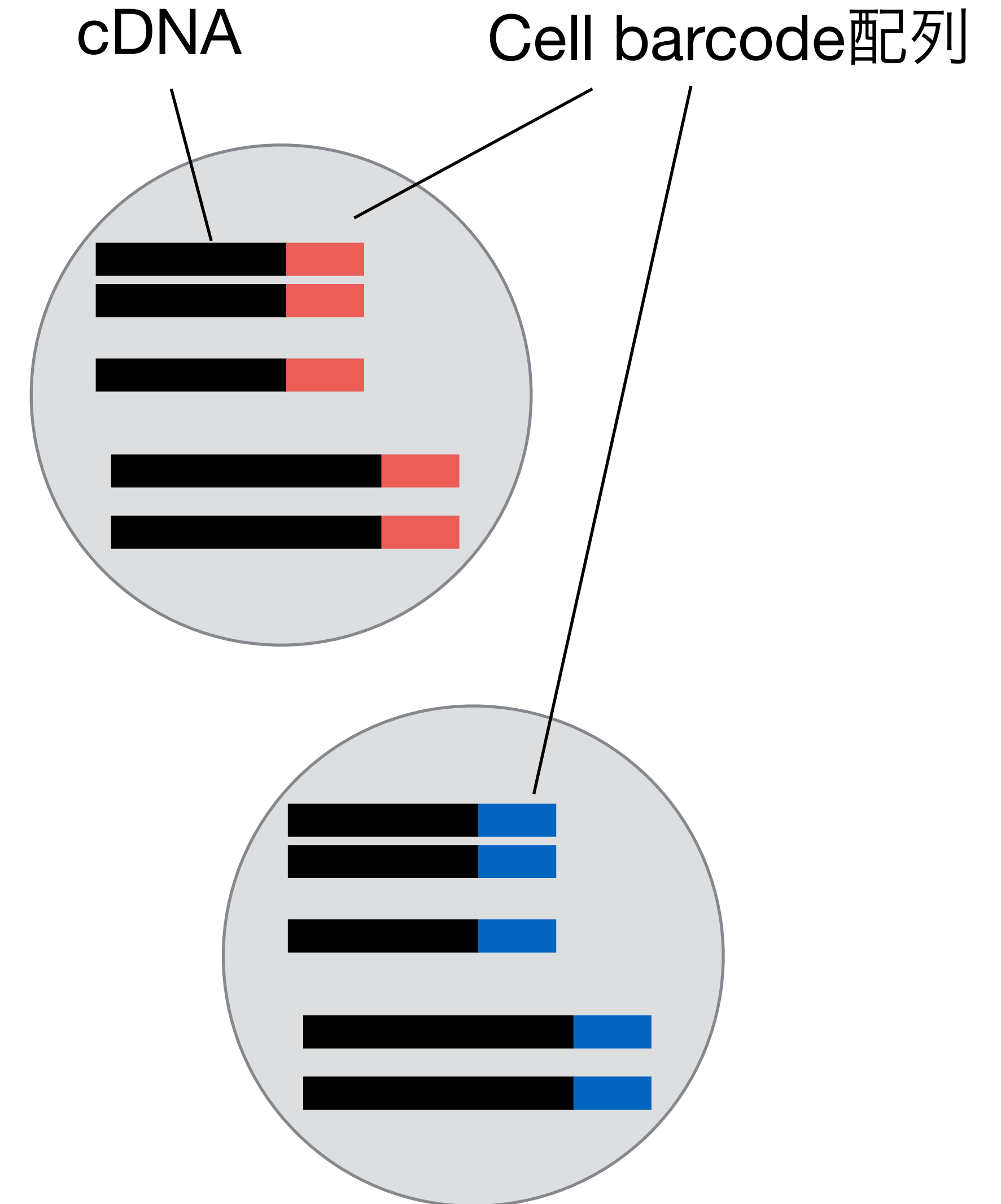


# scRNA-seqの仕組み (Cell barcode)

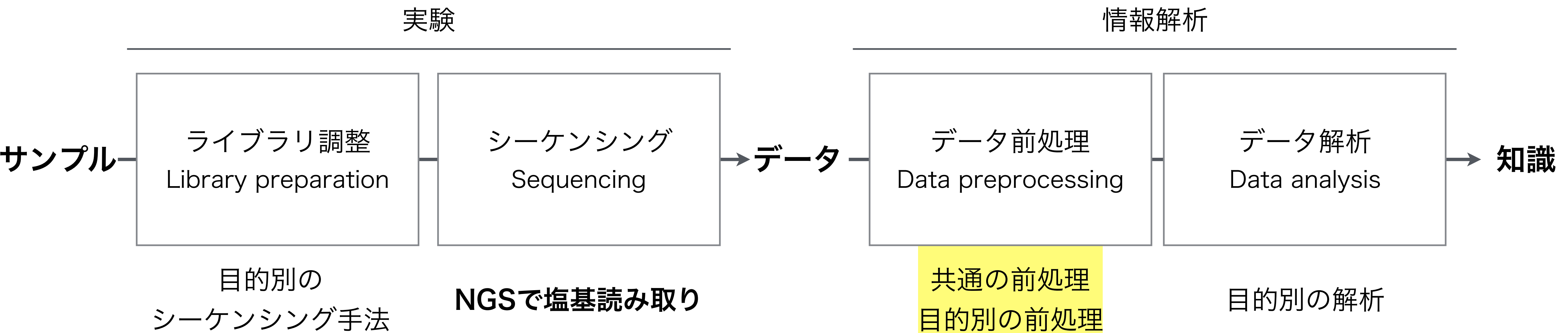
## 細胞単位での超マルチプレックス化

実験: マルチプレックスの前に細胞ごとに異なる目印 (Cell barcode配列) が付与

データ解析: Cell barcode配列に基づいてNGSのリードを細胞に振り分ける

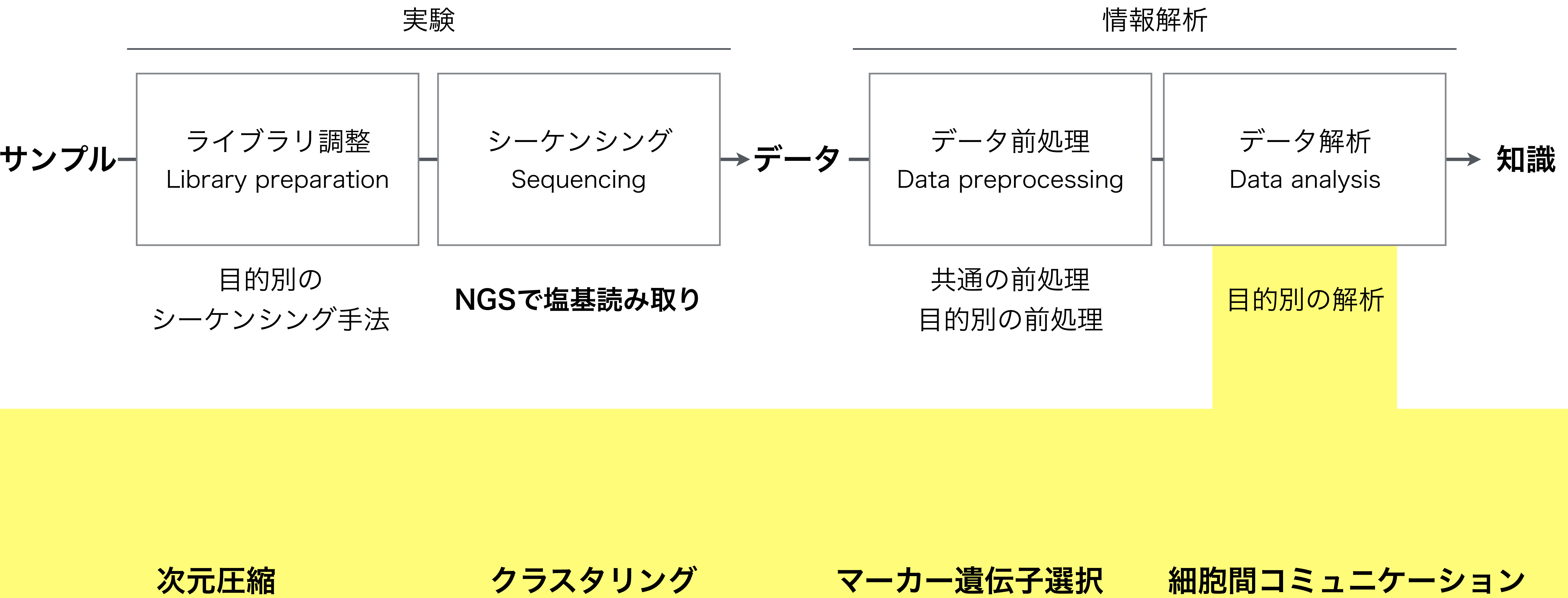


# シングルセル解析の流れ



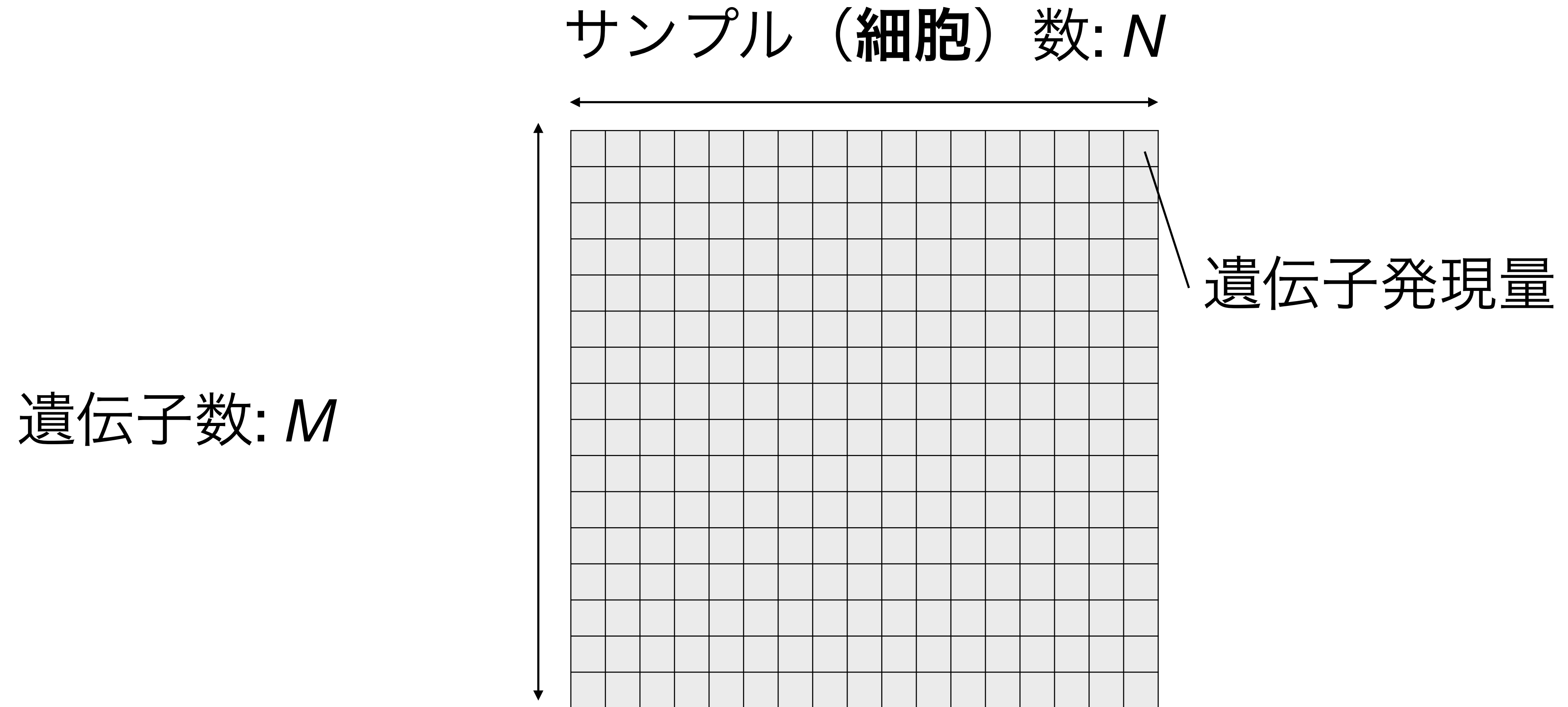
不要な細胞の除去	正規化	スケーリング	遺伝子の選択
低品質・empty (検出遺伝子数が低い)	細胞間でのリード数・ UMI数の差を補正する (細胞ごとに合計値で割 る、log変換するなど)	遺伝子間での発現量の値 の範囲を揃える (次元圧縮、クラスタリ ング、ヒートマップなど で高発現遺伝子の影響を 抑える)	後の解析に都合の良い遺 伝子を選びたい (高変動遺伝子、高Gini 係数遺伝子など)
ダブレット (検出遺伝子数が高い)			

# シングルセル解析の流れ





# 行列としてのscRNA-seq

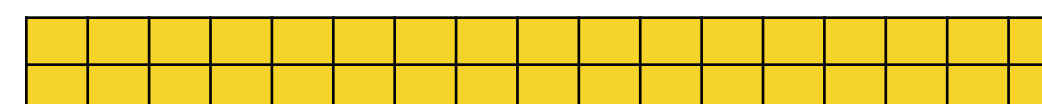


※ 普通のRNA-seqはレプリケート（繰り返し実験）

# メタデータ

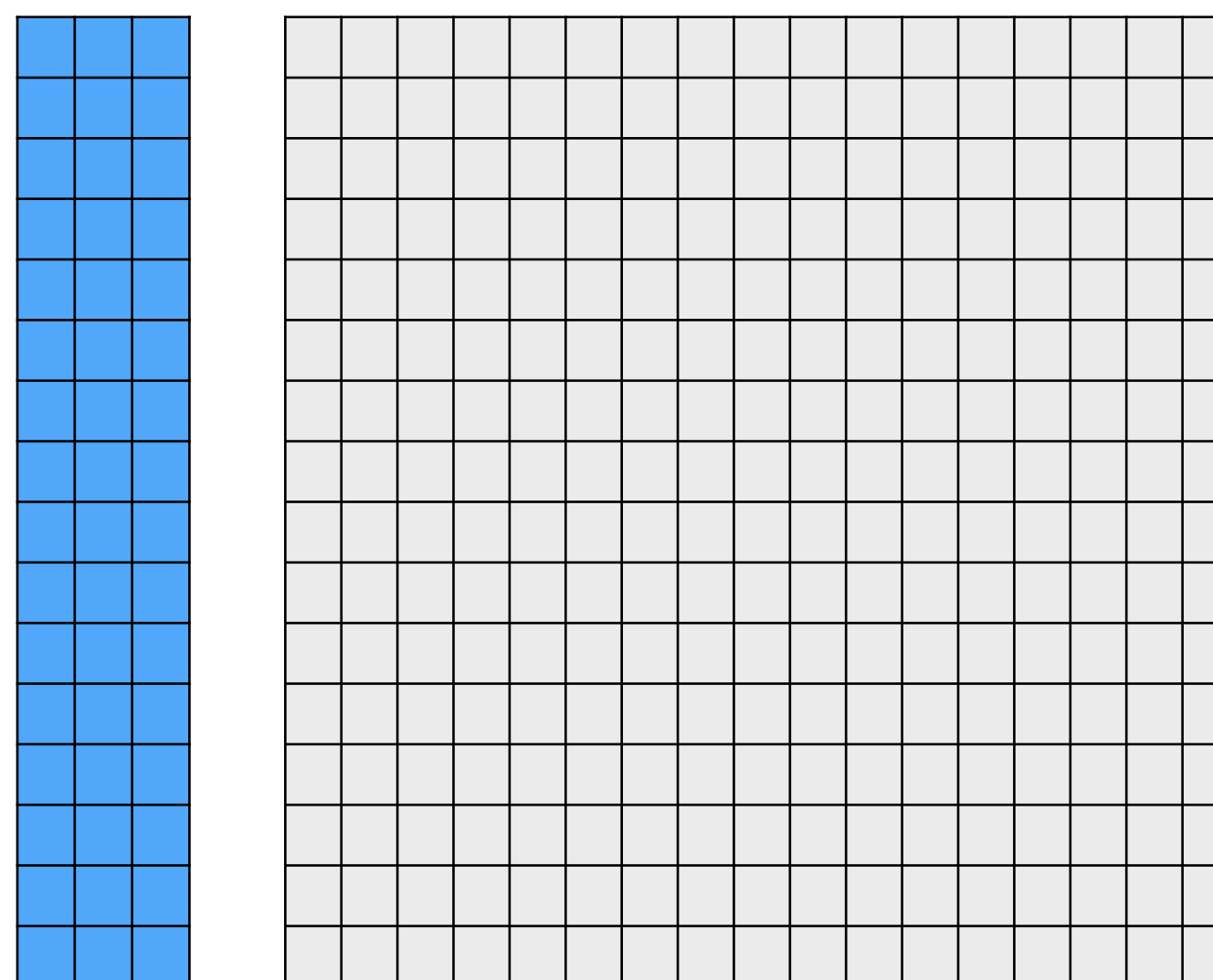
## 細胞側のメタデータ

(例：検出遺伝子数、ミトコンドリアのリードの割合、  
細胞のラベル、FACSの計測値)



## 遺伝子側のメタデータ

(例：遺伝子オントロジー、パスウェイ)



メタデータを前処理や解析に利用することが可能

# 課題

いずれのうち少なくとも一方を行い、manabaで提出せよ。提出期限は2/3 17:00とする。両方提出することも可能であるが、評価はより良い方でつける。

**(1) 発展課題を提出せよ。**

**(2) 一般課題を提出せよ。**



# 一般課題

次元圧縮やクラスタリングの際のパラメータ（オプション）の値を変えた時、結果がどう変わるかを述べよ。

また、Jupyterの結果も提出せよ

上のメニューから "File" > "Download as" > "HTML (.html)" を選び、HTMLファイルを提出せよ

# 発展課題

各クラスターに特徴的な遺伝子から、各クラスターの細胞の機能を類推せよ

joinを使うとよい

また、Jupyterの結果も提出せよ

上のメニューから "File" > "Download as" > "HTML (.html)" を選び、HTMLファイルを提出せよ