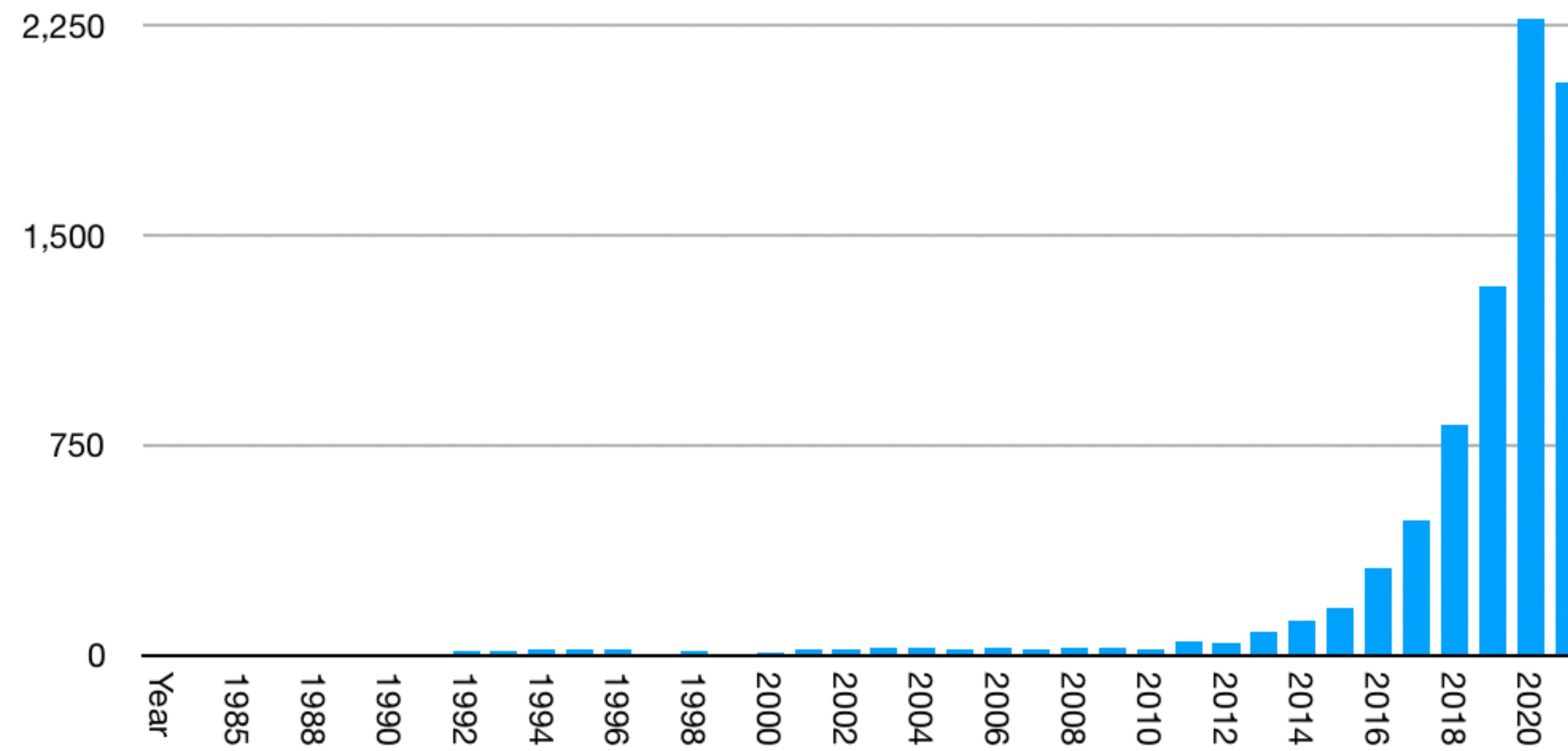


# シングルセルRNA-seq解析

# 「シングルセルRNAシークエンシング」

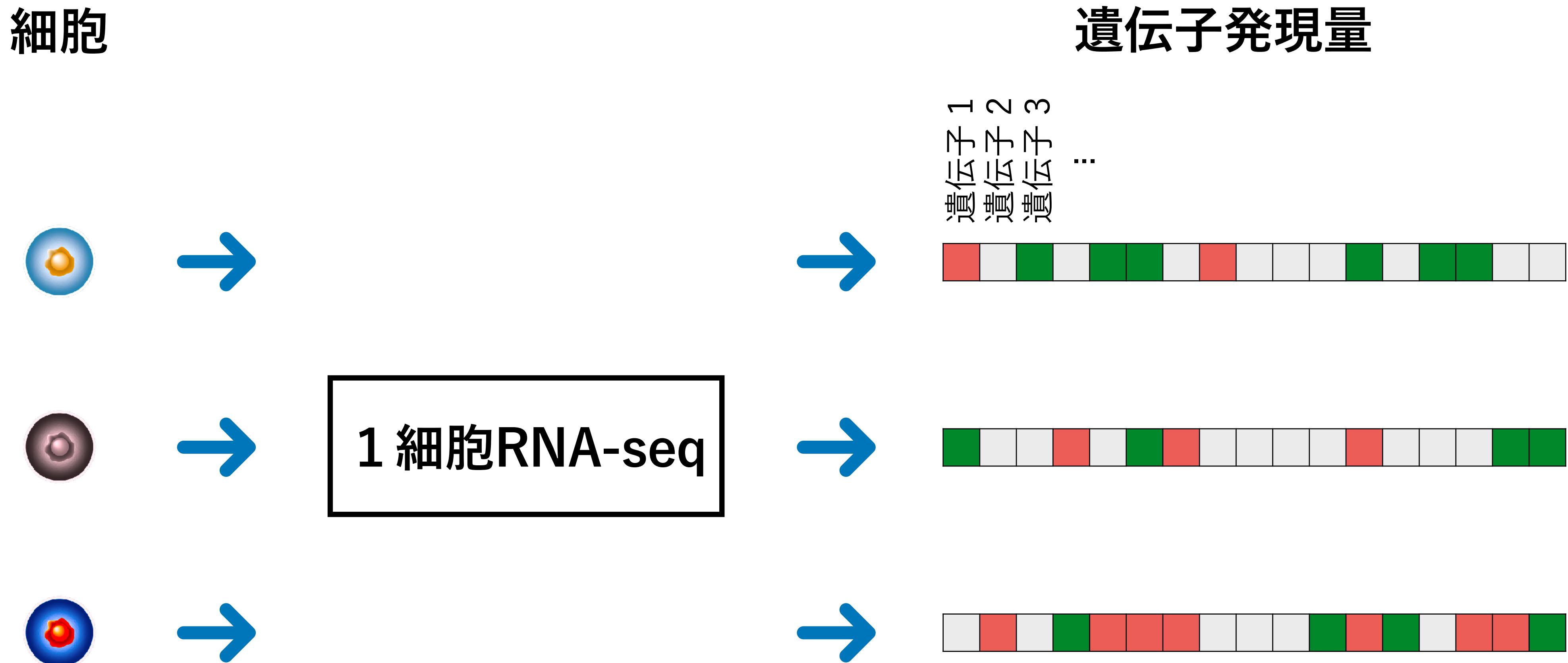
- 1 細胞RNA-seq
- シングルセルRNA-seq
  - アールエヌエーセック (アールエヌエーシーク)
- Single-cell RNA sequencing
- Single-cell RNA-seq
- scRNA-seq

# 1 細胞RNA-seqを用いた論文が急増している



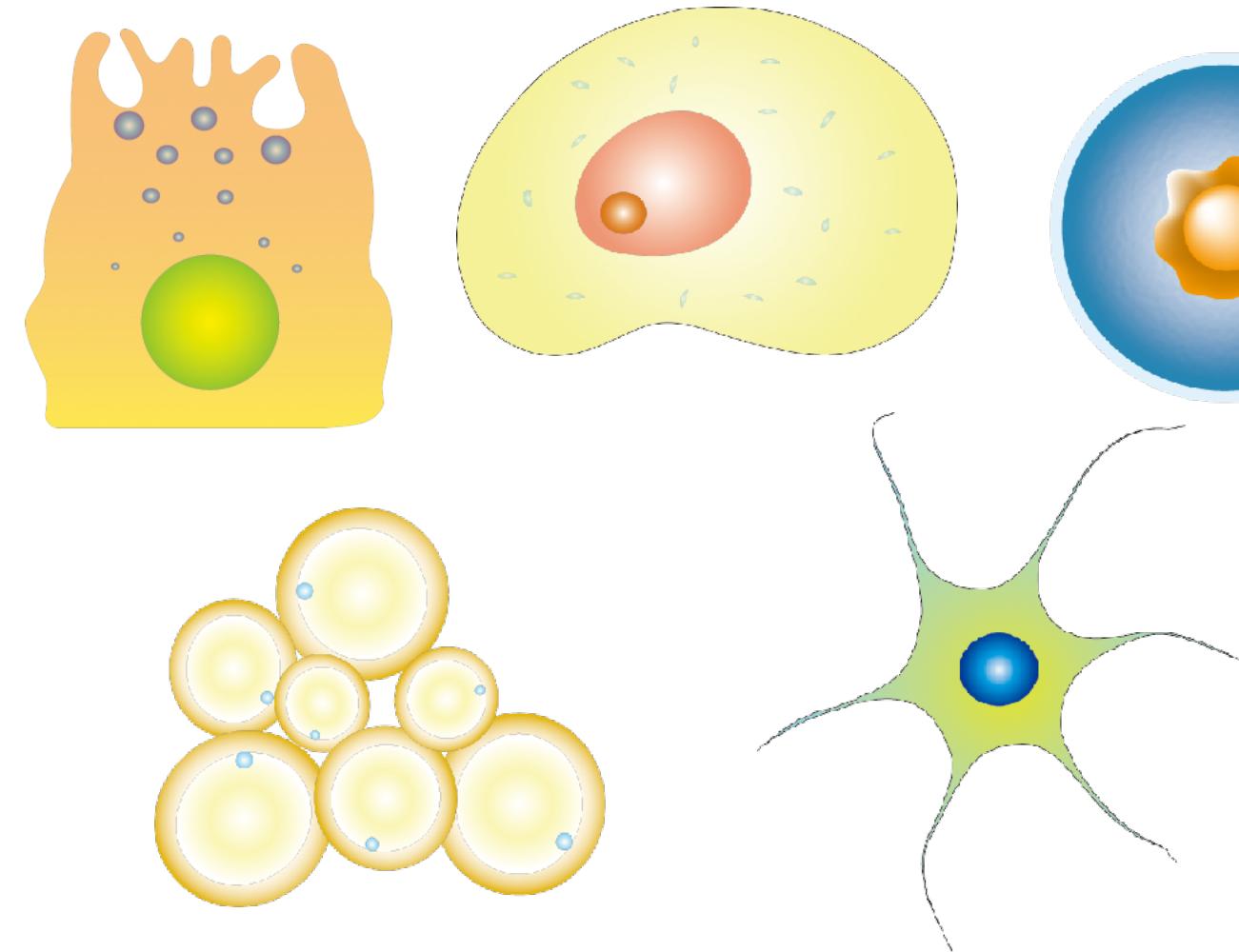
PubMed search on 2021/07/27

# 単一細胞の遺伝子発現量を計測する技術

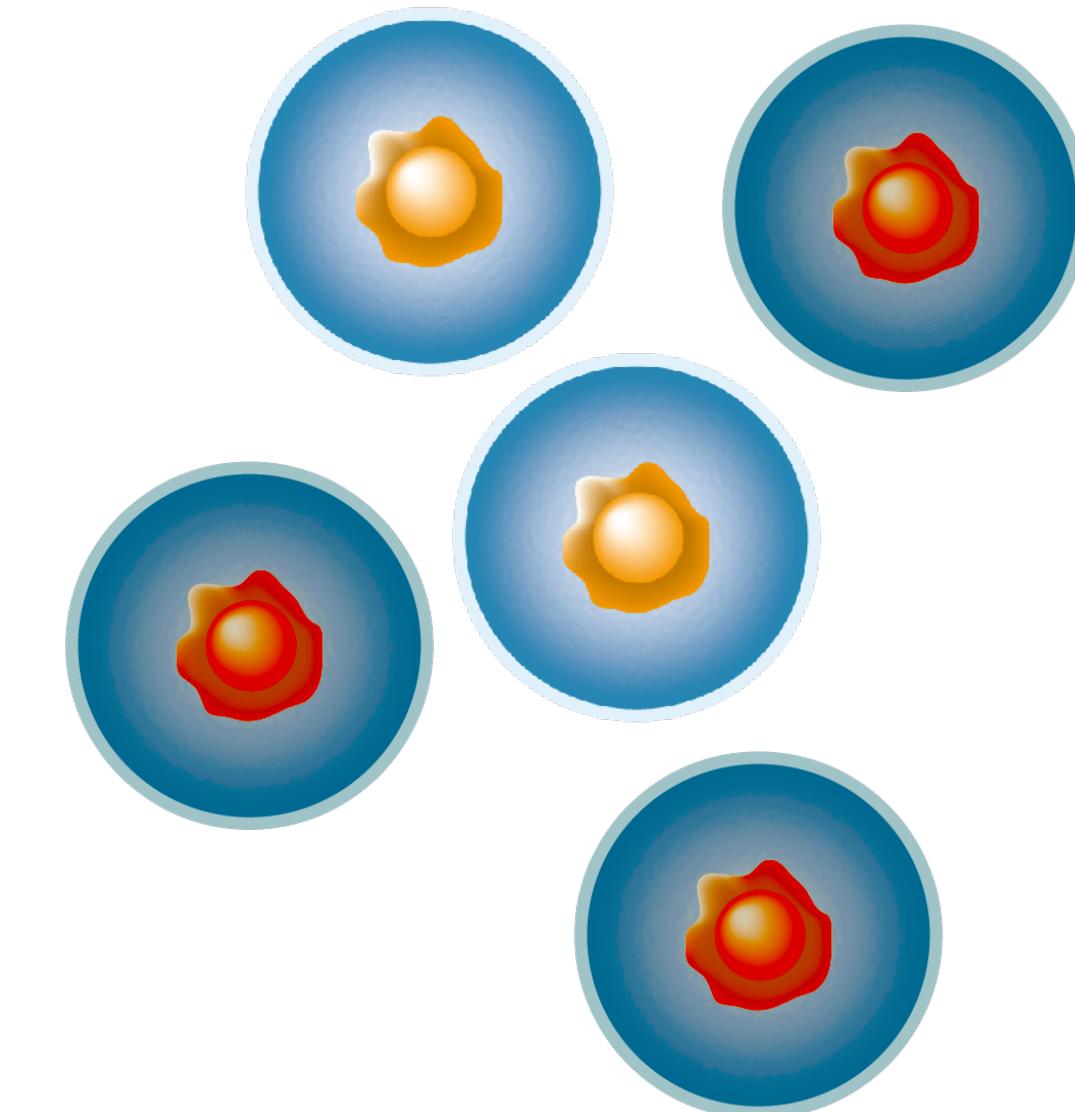


# 細胞は多様な形態や機能をもつ

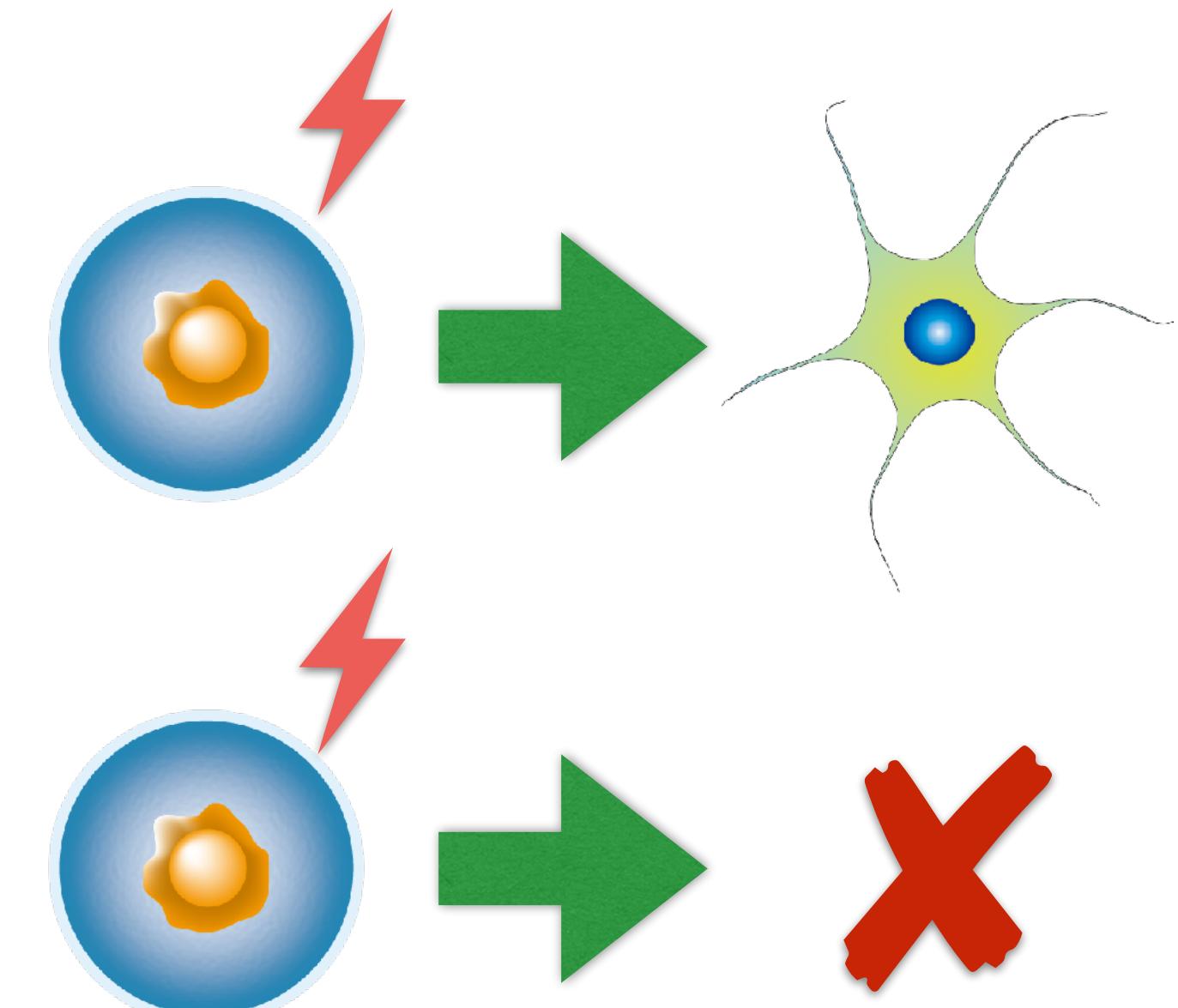
細胞型  
Cell type



細胞状態  
Cell state

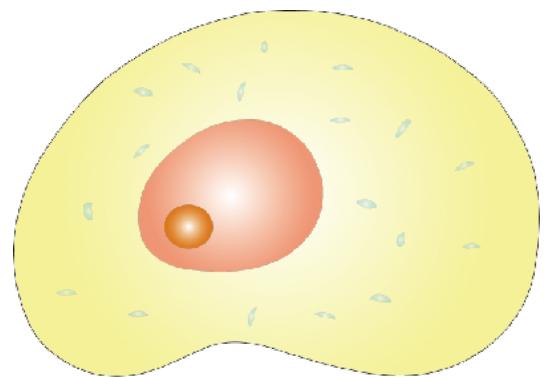


分化ポテンシャル  
Differentiation potential

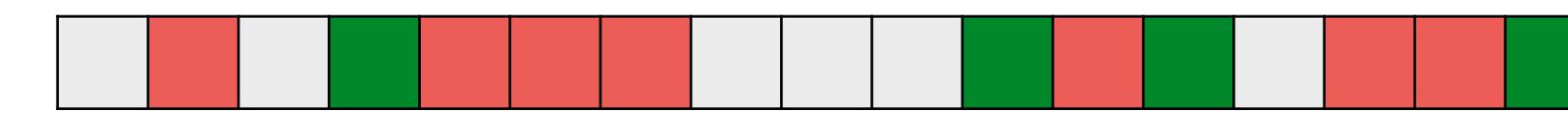
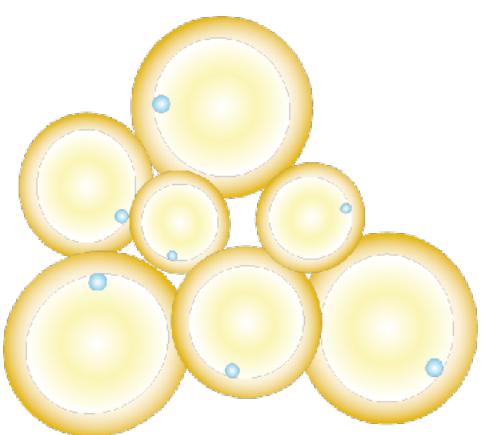
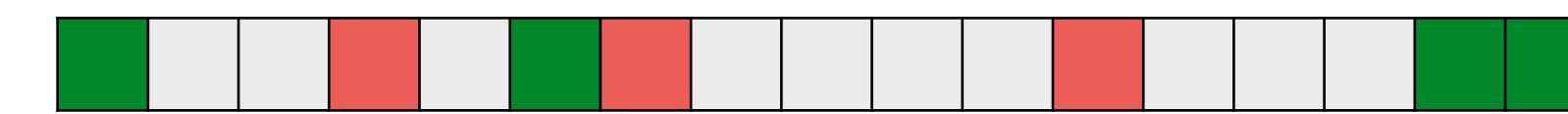
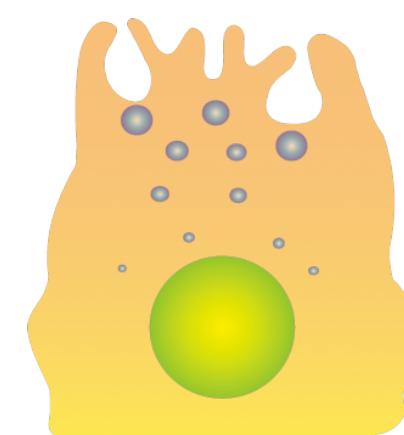
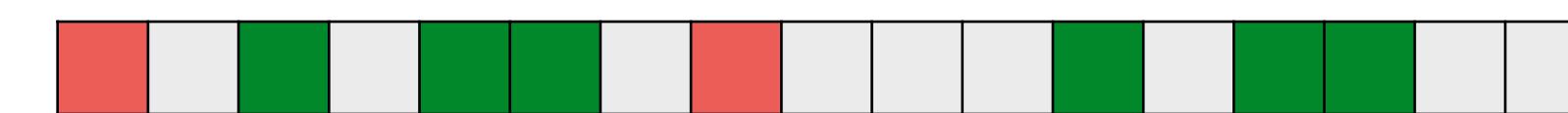


# 細胞の性質は遺伝子発現に反映されるはず

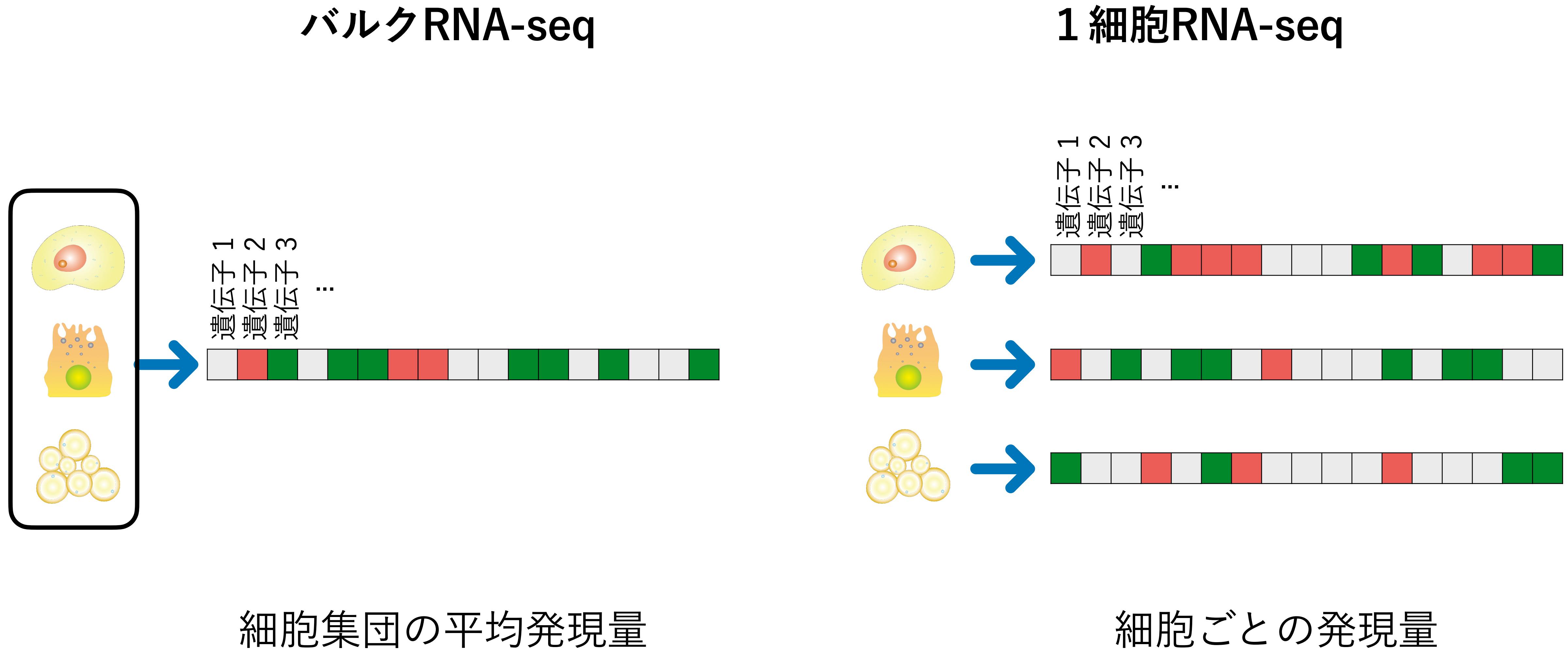
ゲノムは同じ



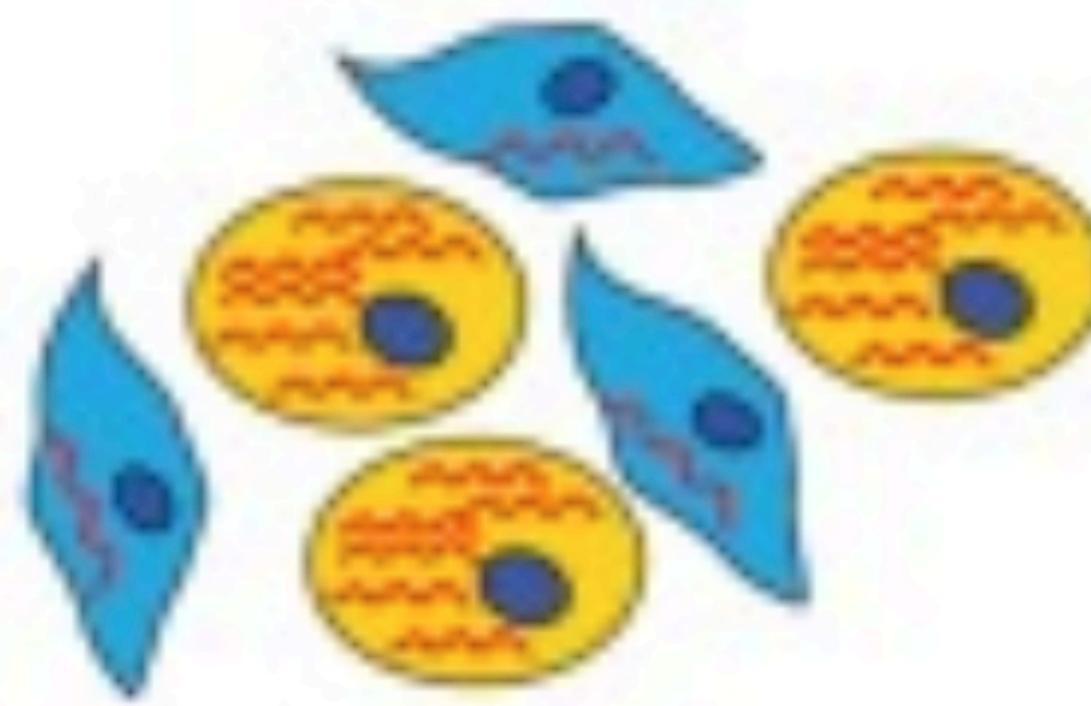
遺伝子発現量は異なる



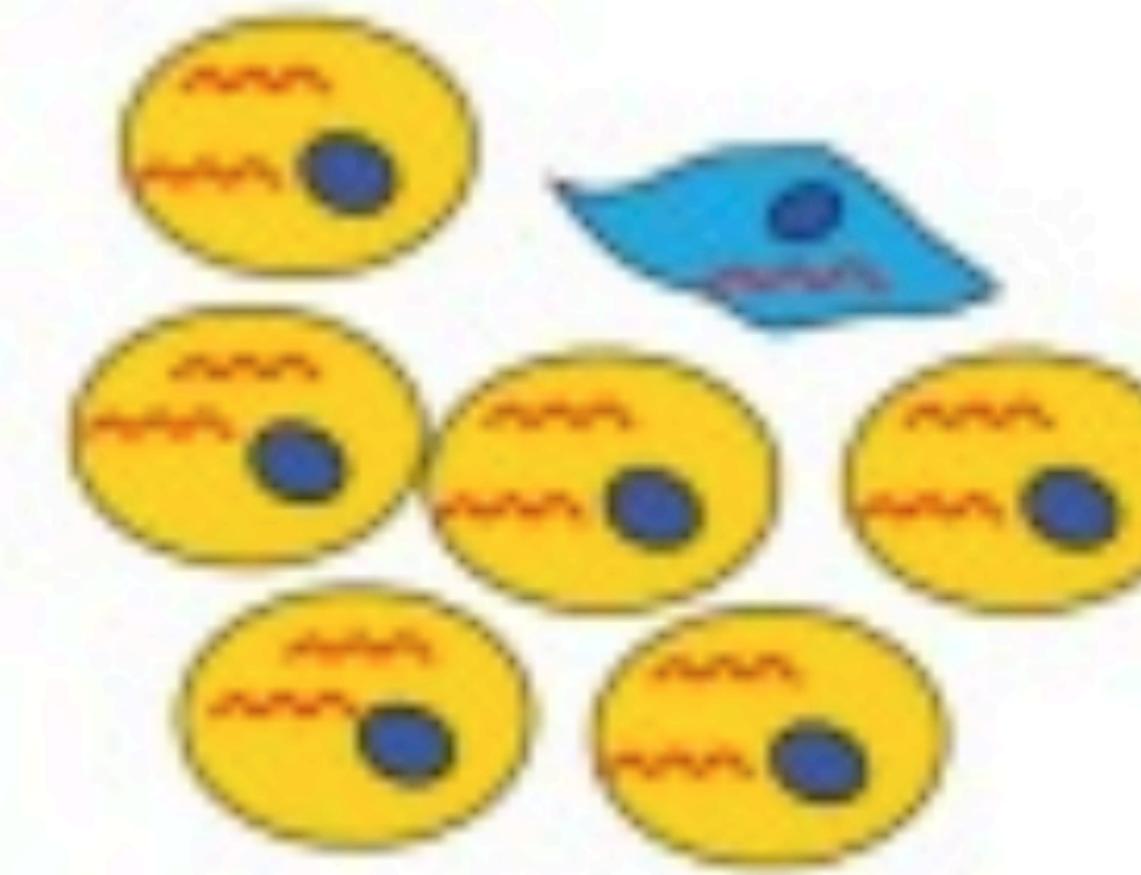
# 1 細胞解像度 Single-cell resolution



# 細胞集団は不均一な集団

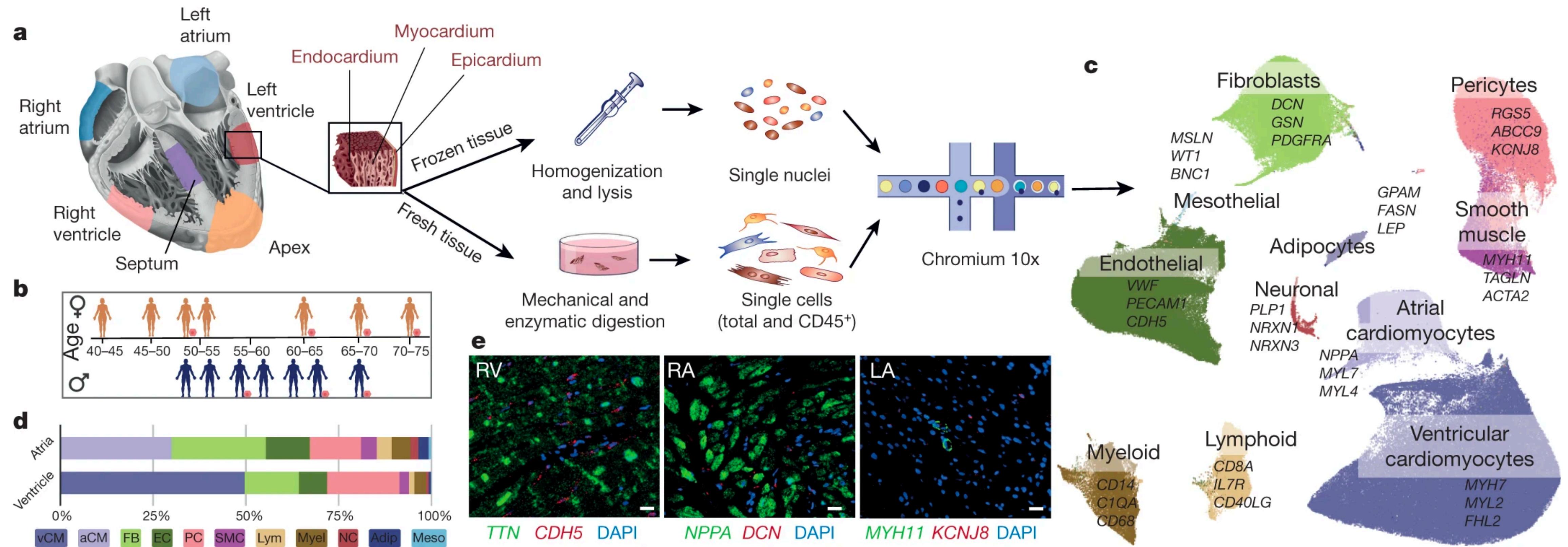


Change in  
regulation



Change in  
composition

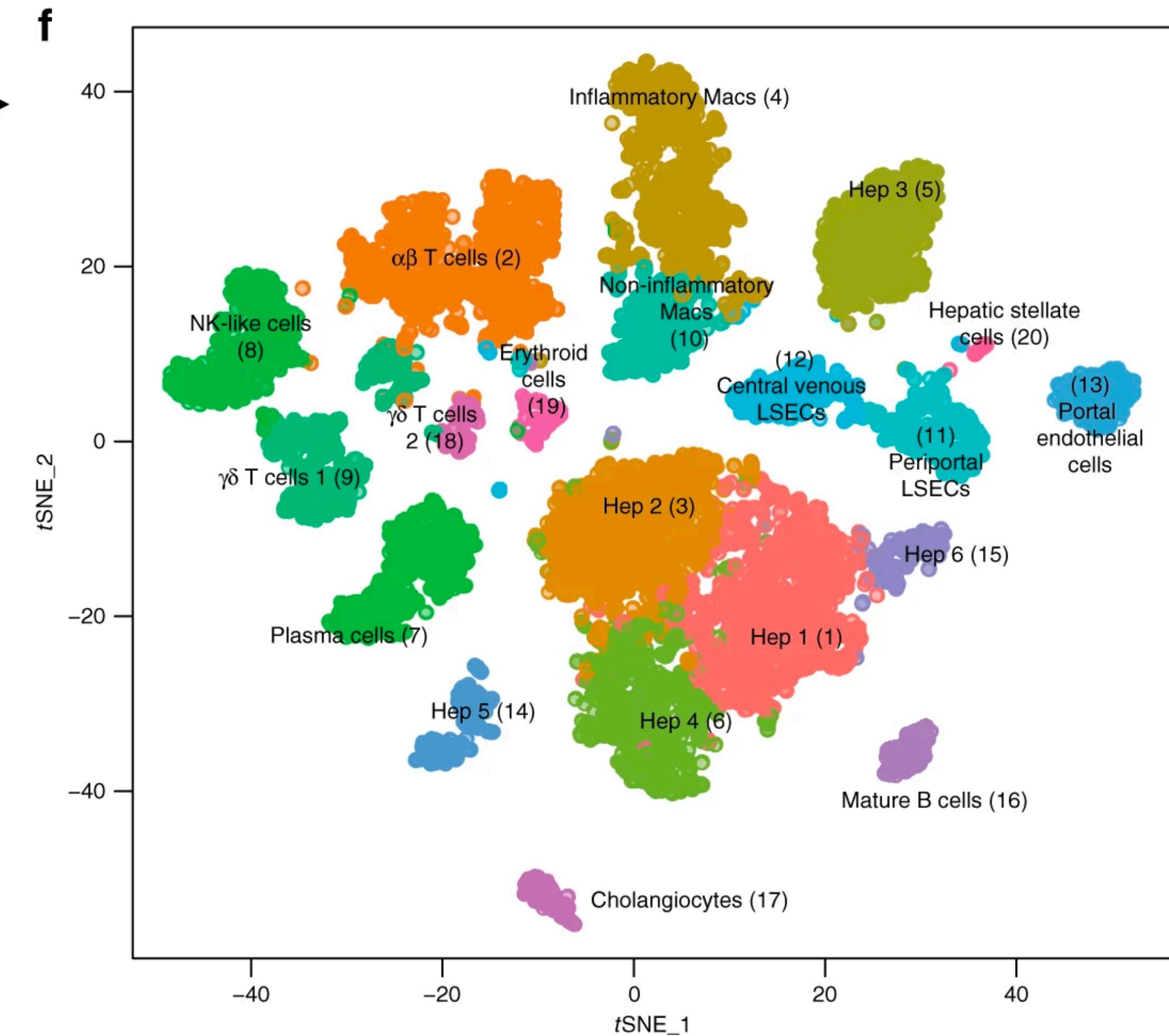
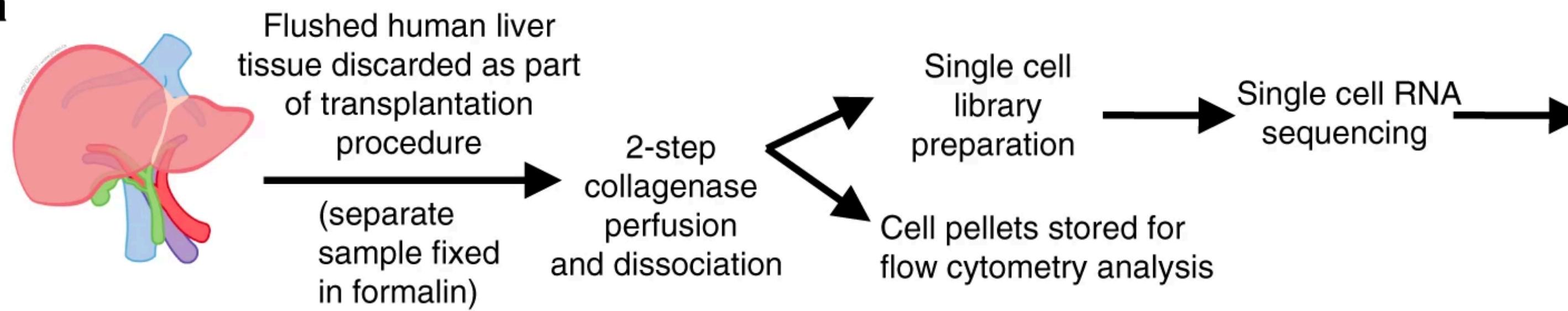
# 臓器は不均一な細胞からできている（心臓）



"Cells of the adult human heart"

DOI: 10.1038/s41586-020-2797-4

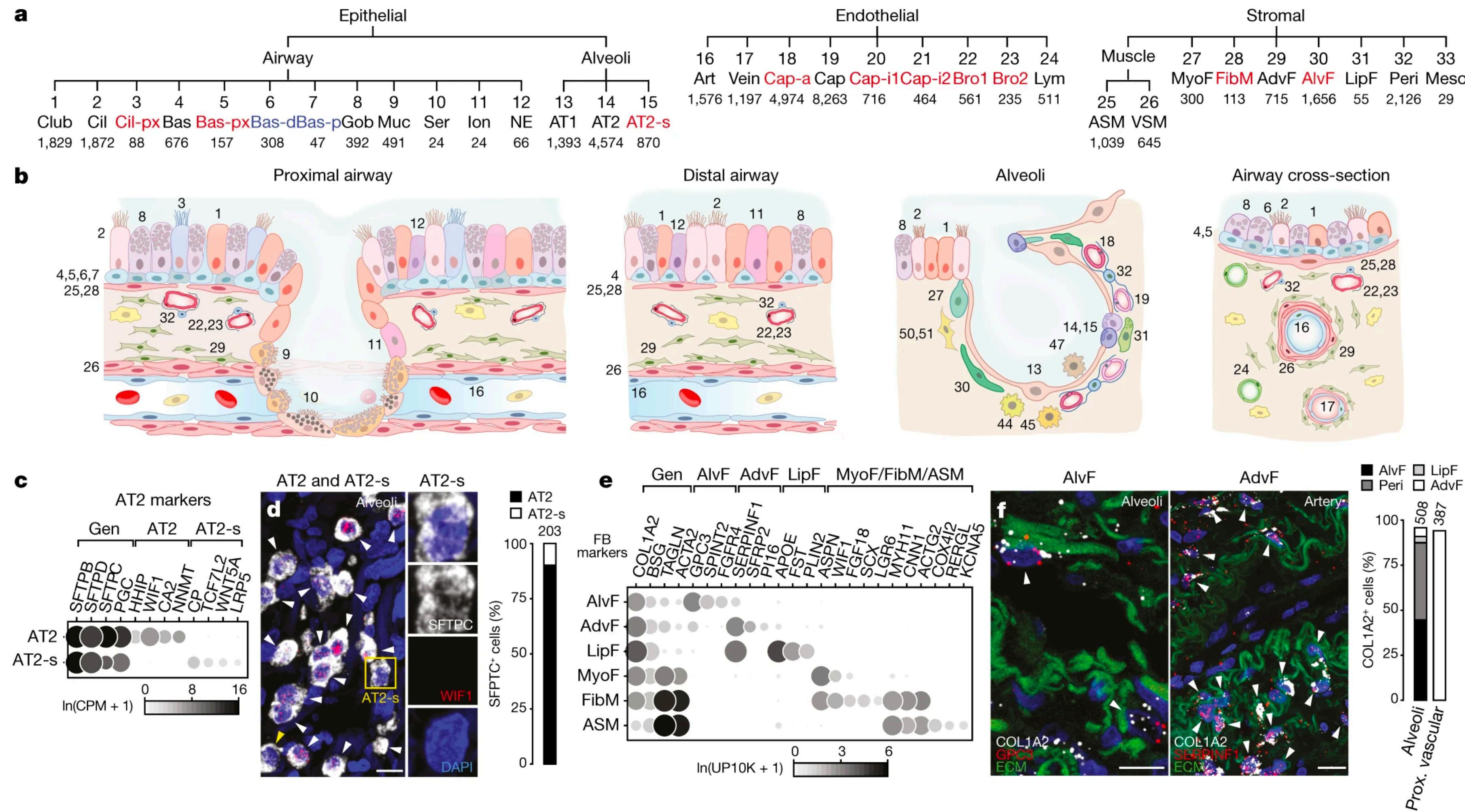
臓器は不均一な細胞からできている（肝臓）



# "Single cell RNA sequencing of human liver reveals distinct intrahepatic macrophage populations"

DOI: 10.1038/s41467-018-06318-7

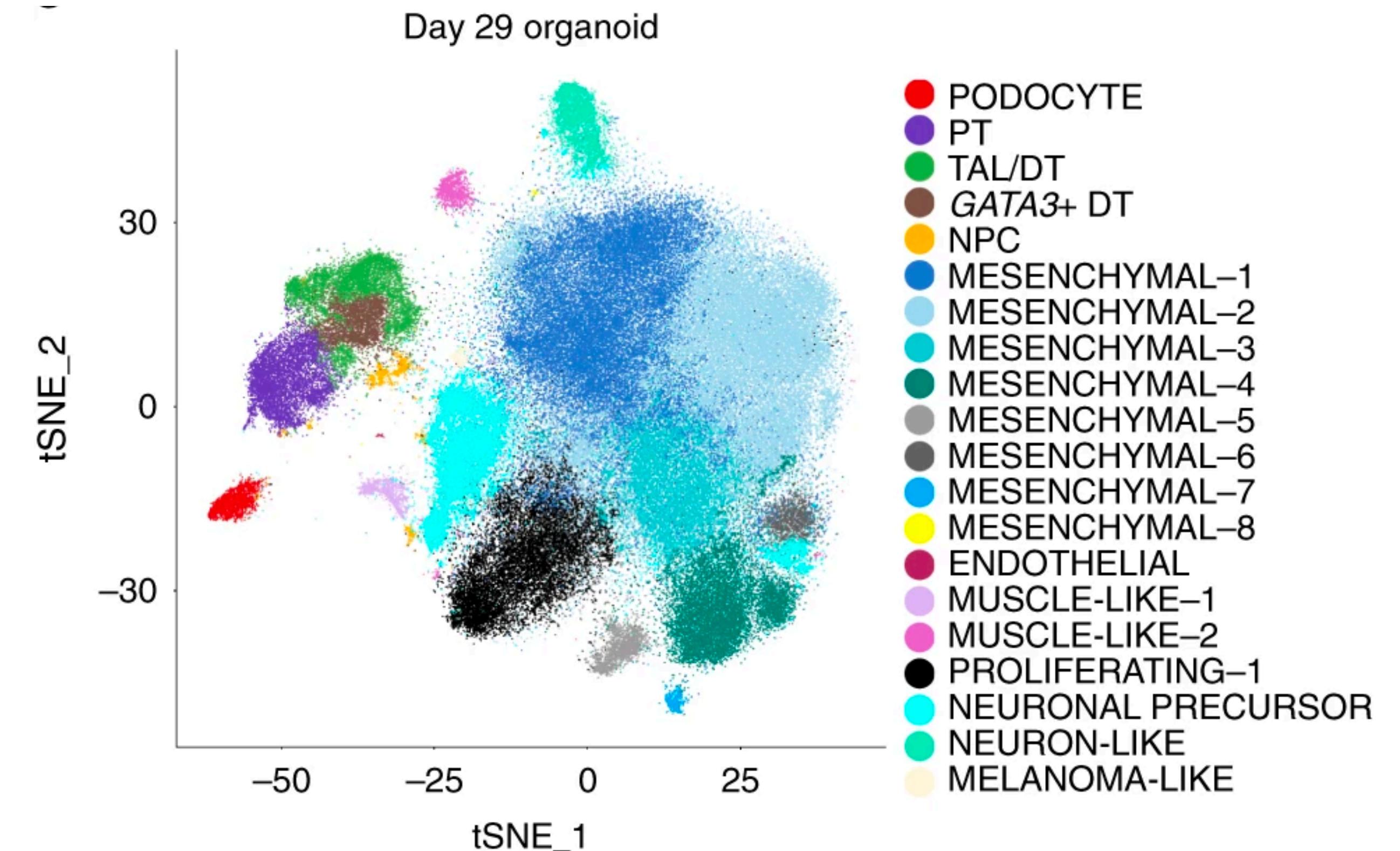
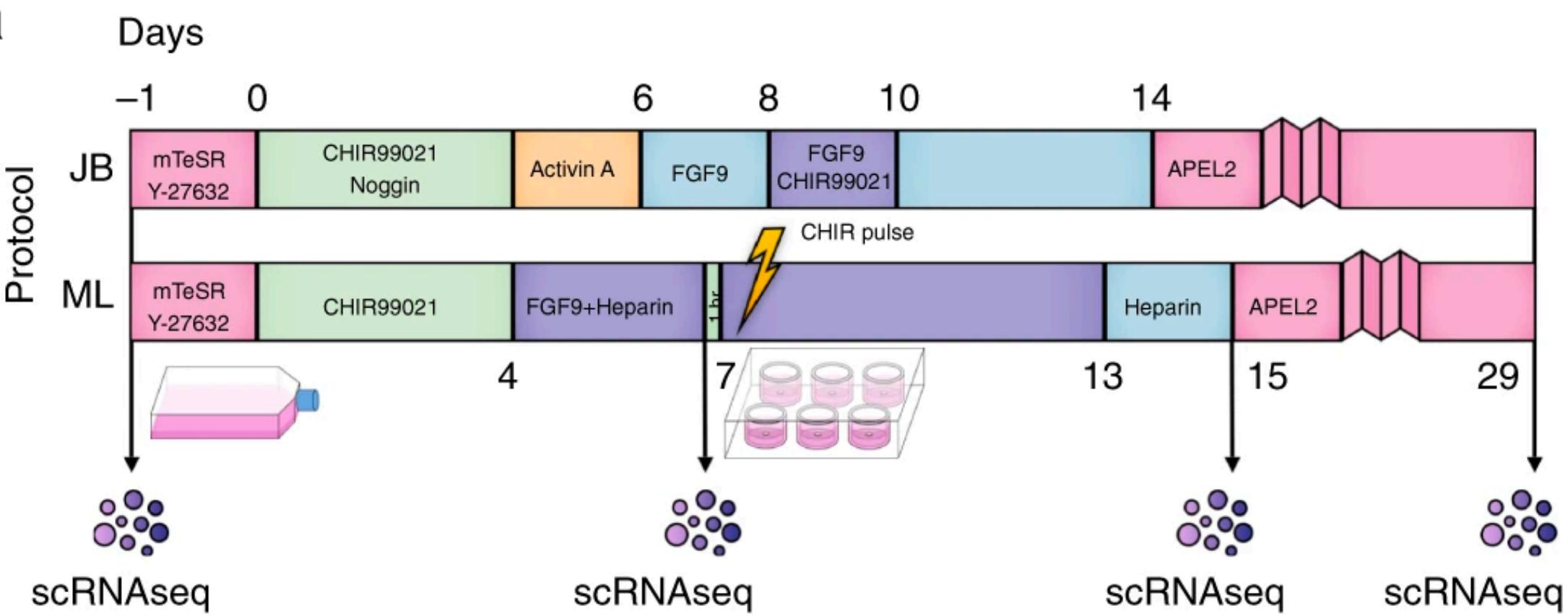
# 組織幹細胞も見つかる（肺）



# "A molecular cell atlas of the human lung from single-cell RNA sequencing"

DOI: 10.1038/s41586-020-2922-4

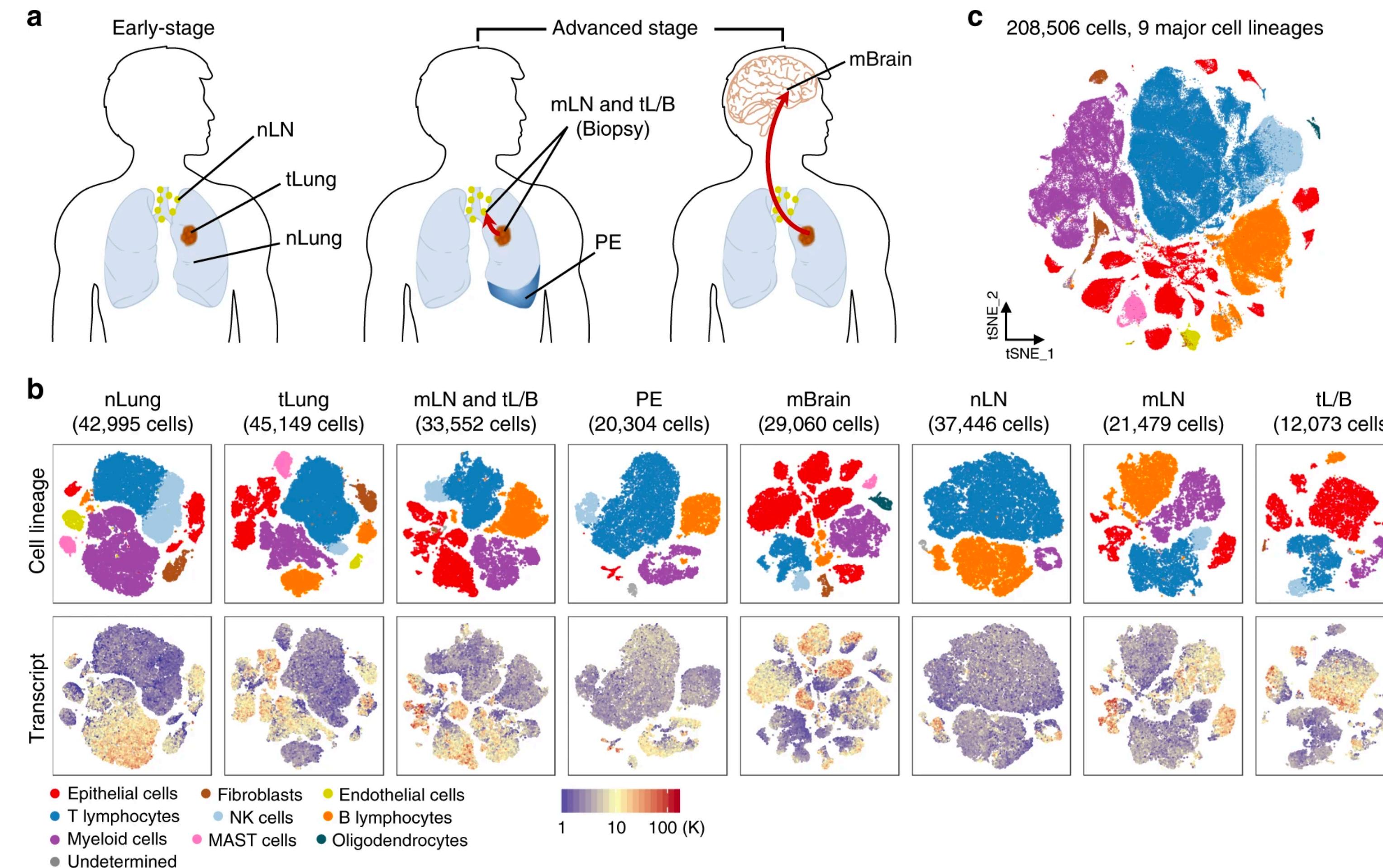
# オルガノイド（ミニ臓器）

**a**

"Single cell census of human kidney organoids shows reproducibility and diminished off-target cells after transplantation"

DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13382-0>

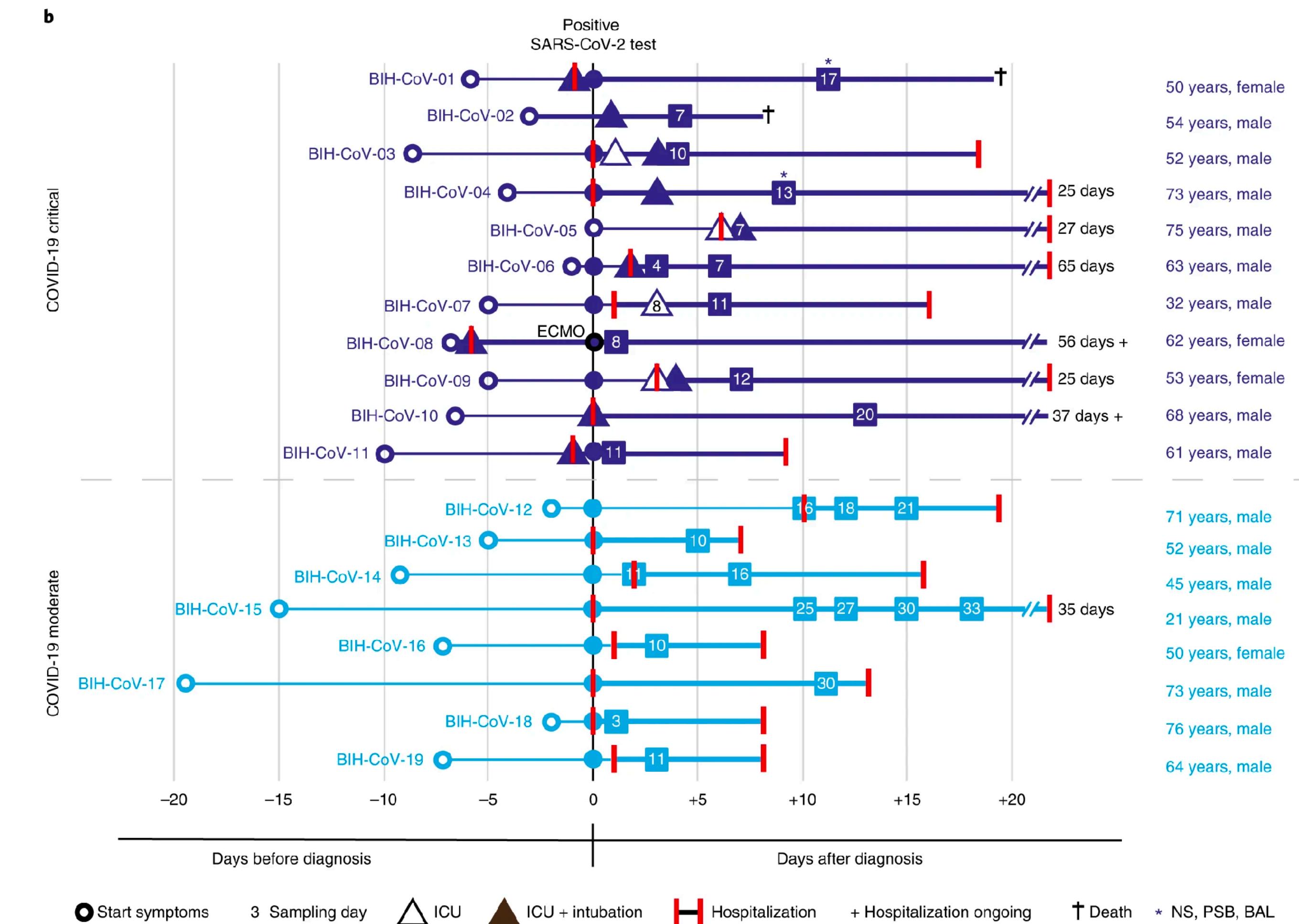
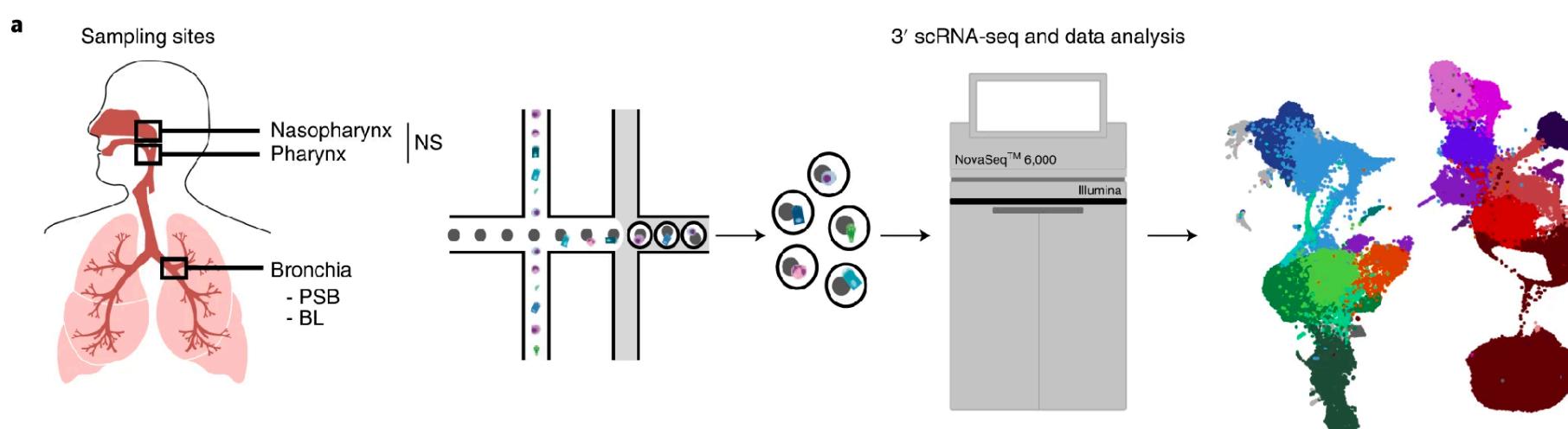
# がん組織



"Single-cell RNA sequencing demonstrates the molecular and cellular reprogramming of metastatic lung adenocarcinoma"

DOI: 10.1038/s41467-020-16164-1

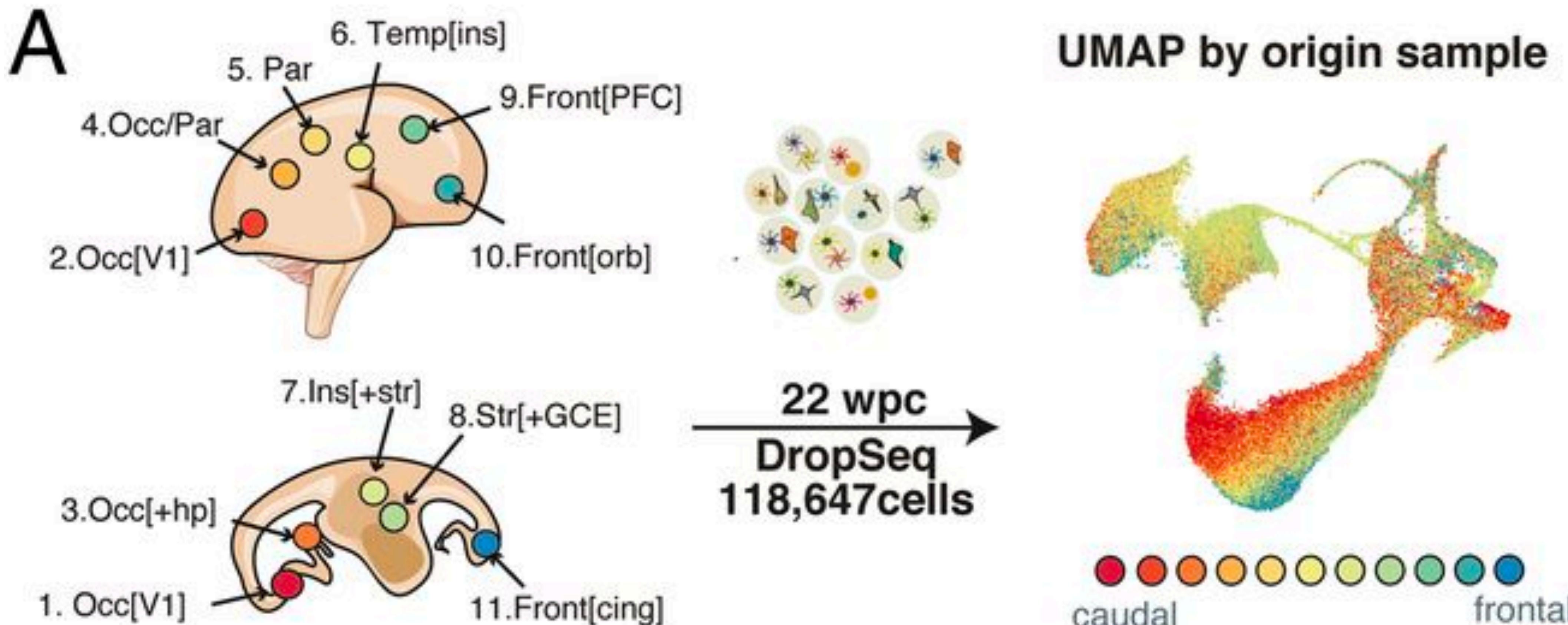
# COVID-19重症度と鼻咽頭・気管支の細胞集団



"COVID-19 severity correlates with airway epithelium-immune cell interactions identified by single-cell analysis"

DOI: 10.1038/s41467-020-16164-1

# 脳領域の細胞



# "Early role for a Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase (ATP1A3) in brain development"

DOI: 10.1073/pnas.2023333118

# 国際コンソーシアムでも1細胞RNA-seqを活用

Human Cell Atlas  
(HCA)

Human Tumor Atlas Network  
(HTAN)

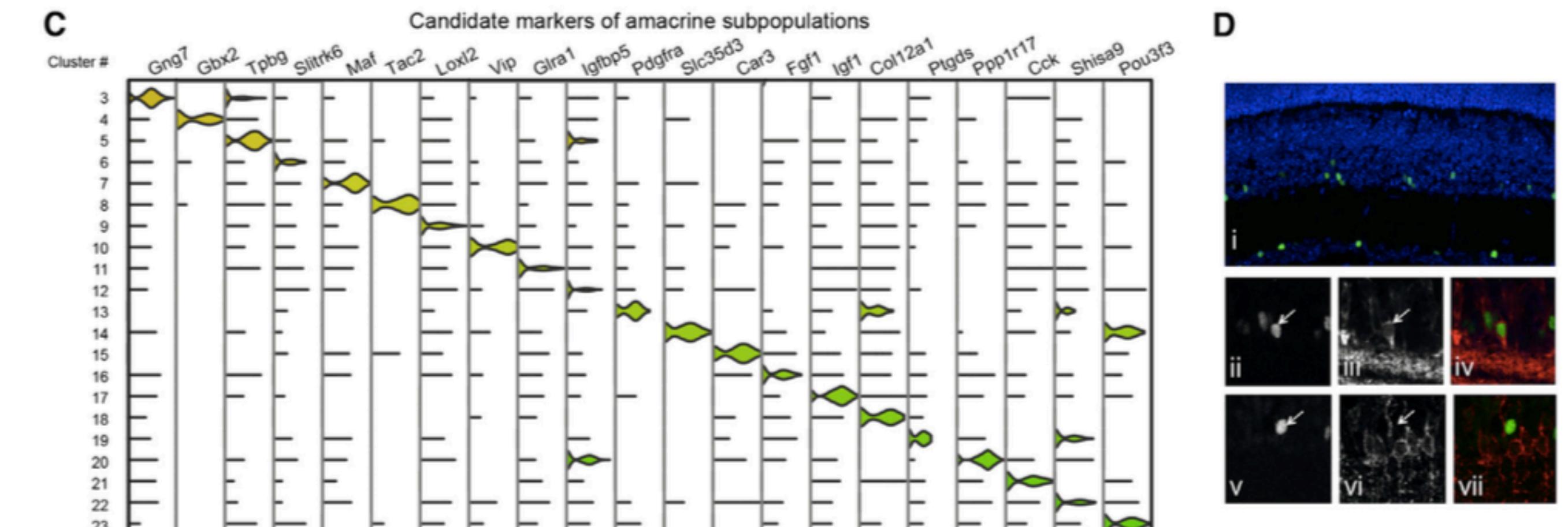
sc-eQTLGen consortium

# 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

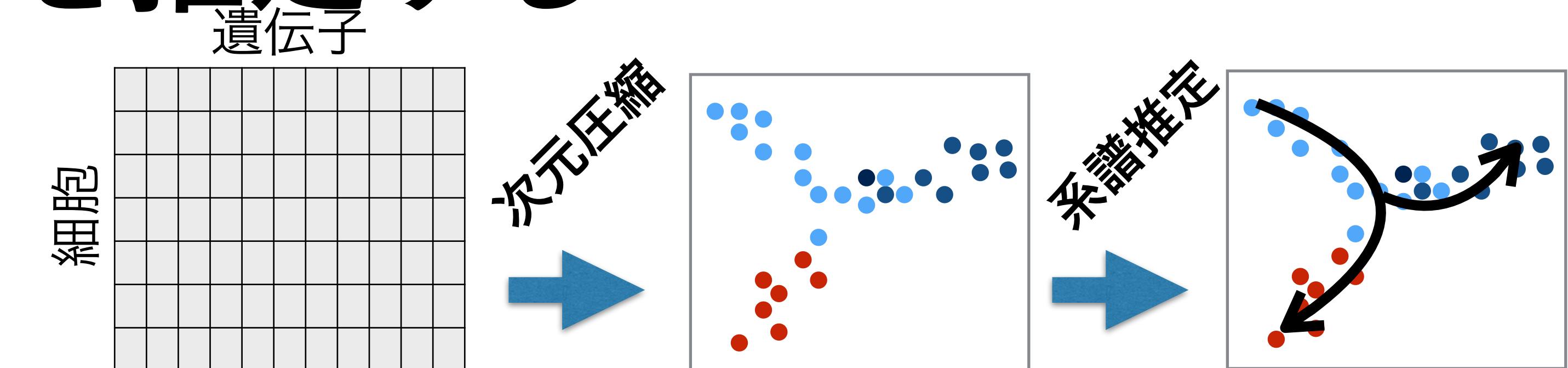


新規サブタイプの発見・マーカーの同定

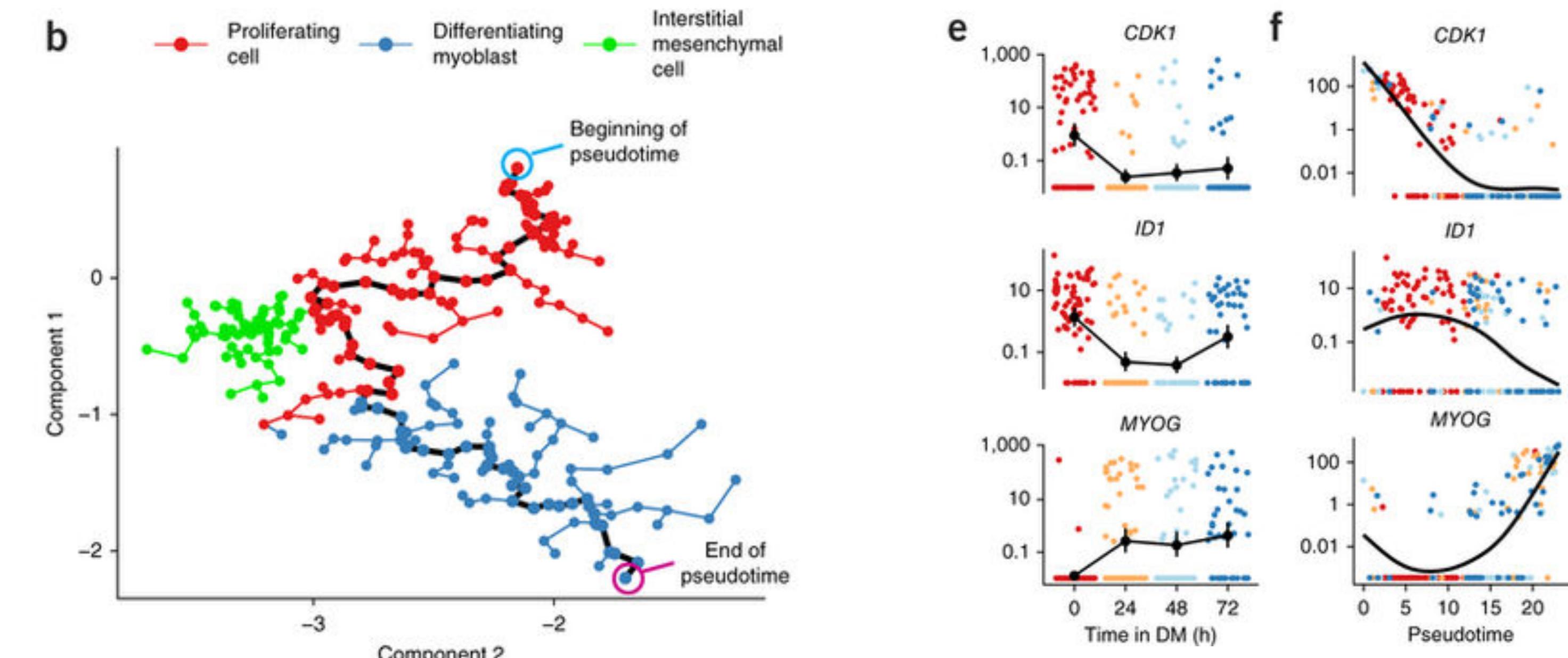


# 主観的時間・系譜を推定する

- 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

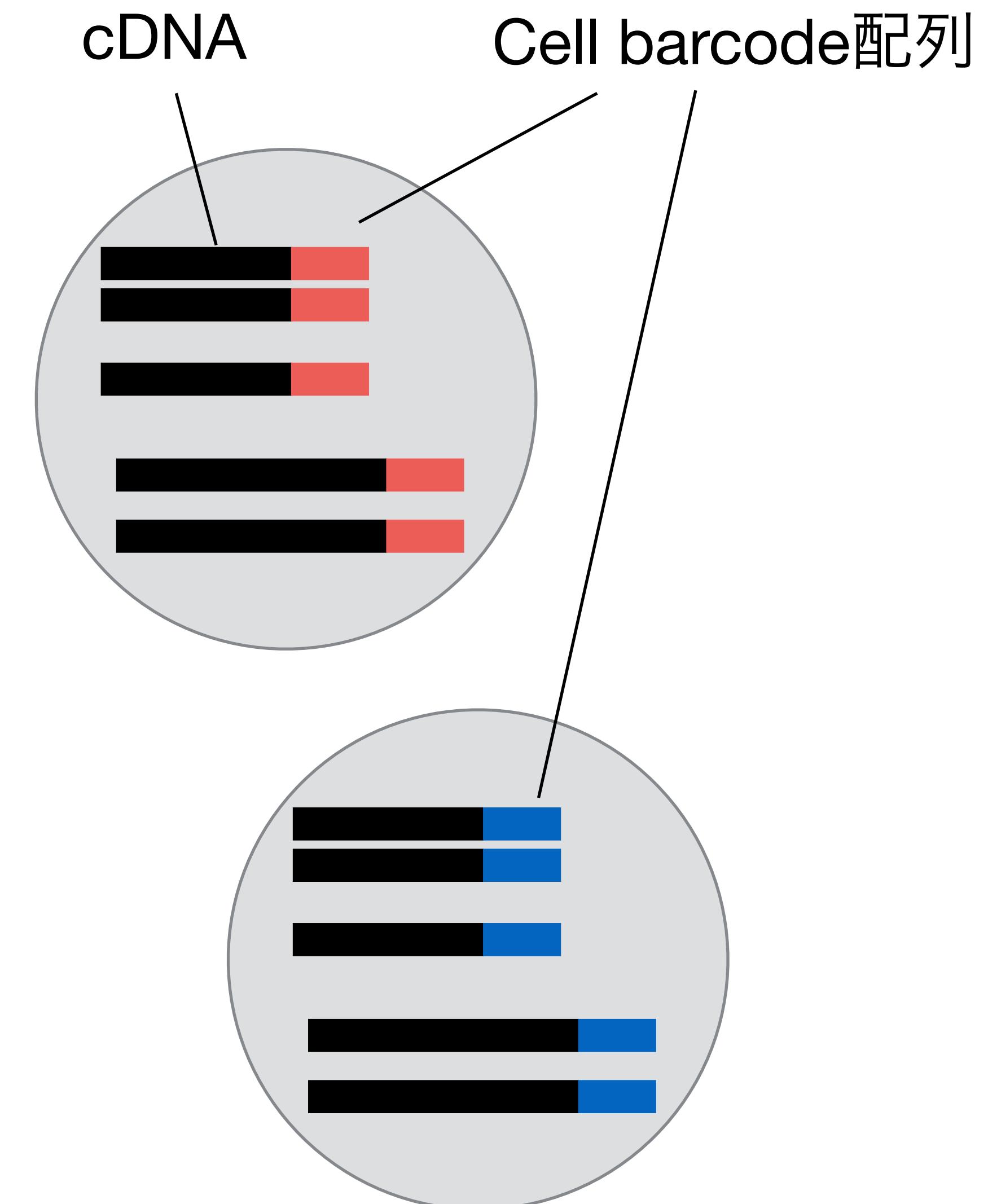


細胞を分化進行度に応じて並べ替える  
(線維芽細胞から筋芽細胞への分化誘導)

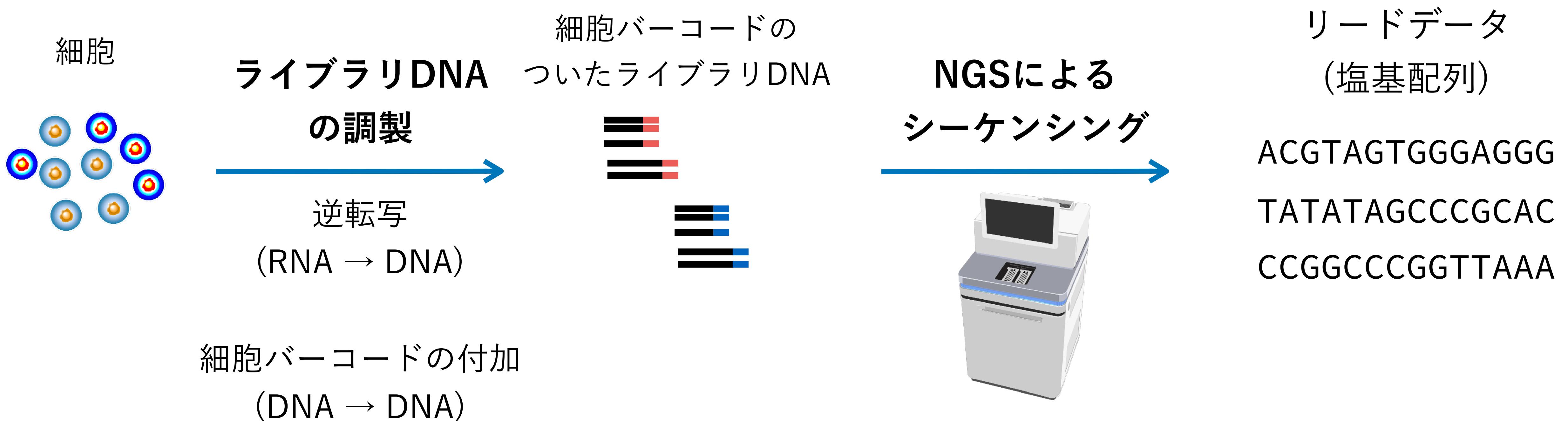


# scRNA-seqの仕組み (Cell barcode)

- 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

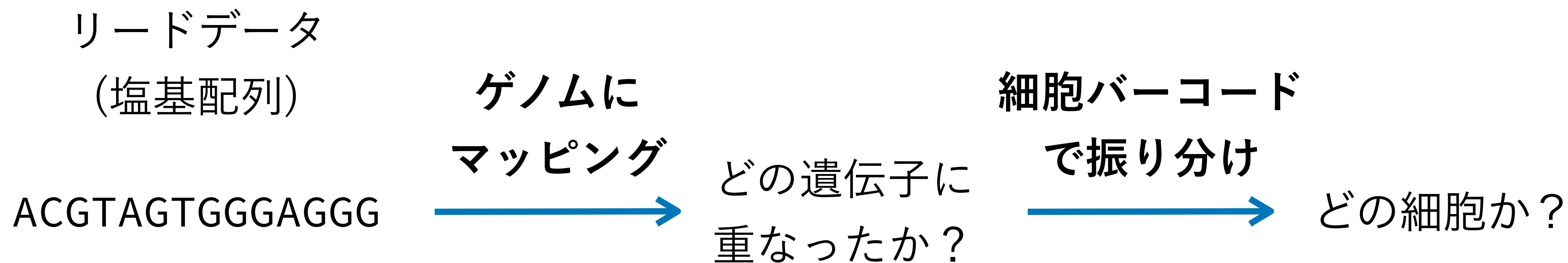


# 細胞内のRNAが塩基配列データになるまで

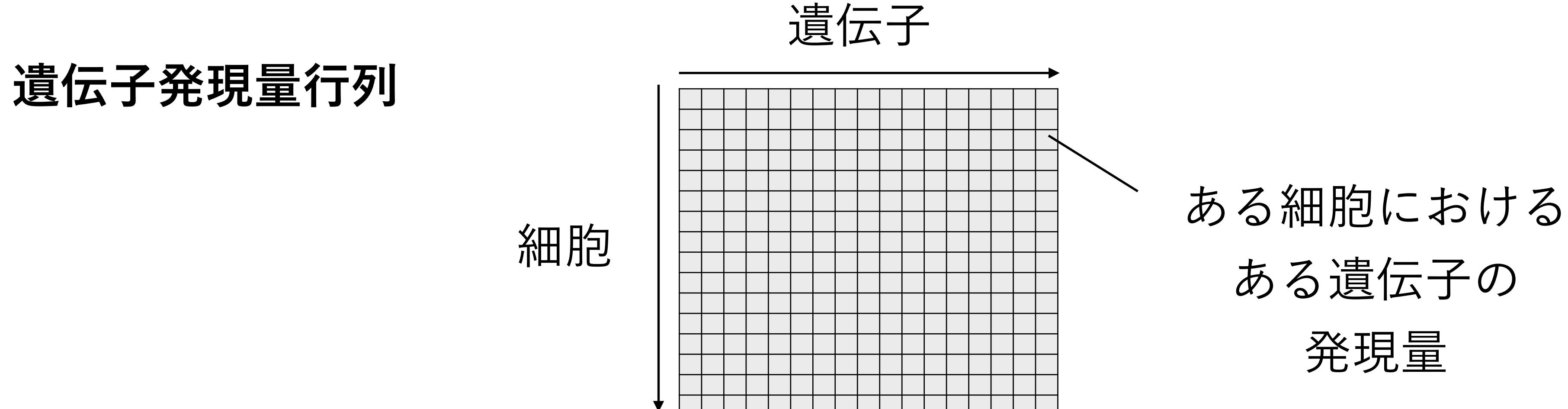


# 塩基配列データが遺伝子発現量行列になるまで

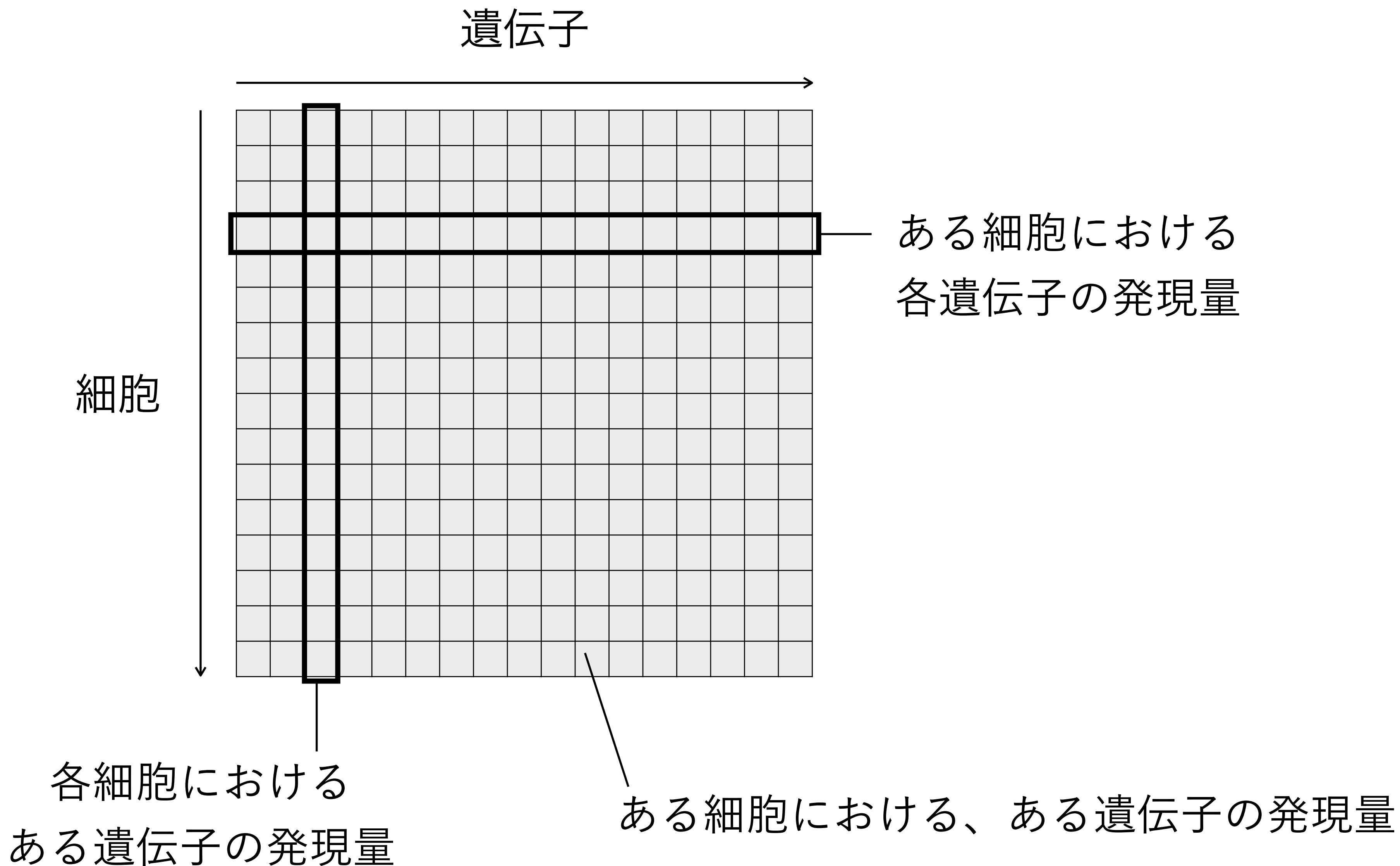
- 個々のリードがどの細胞・どの遺伝子の由来かを当てる



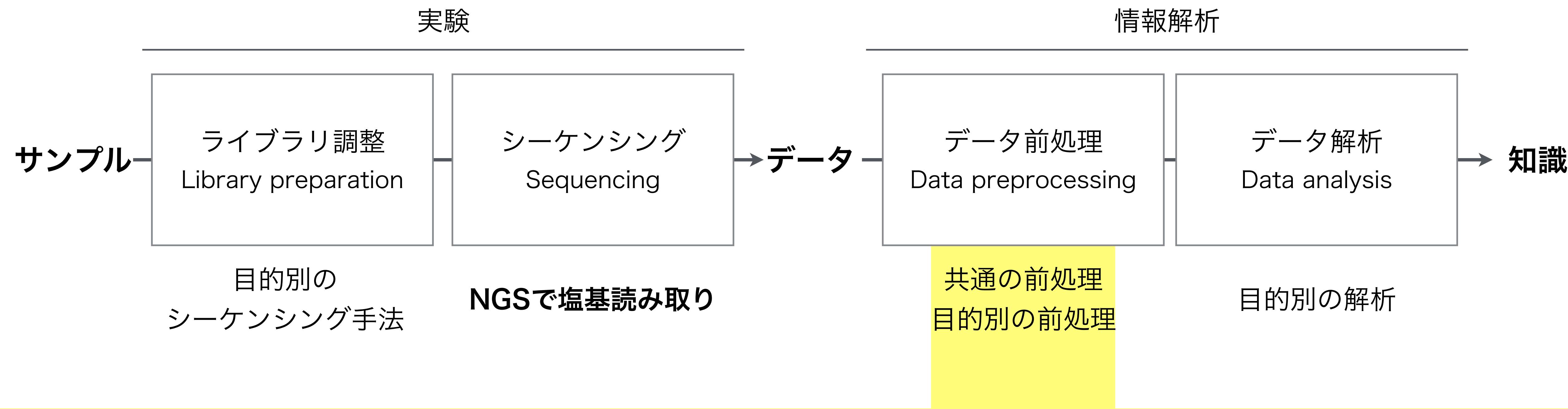
- 細胞ごとに各遺伝子に割り当てられたリードの数をカウントする



# 1 細胞RNA-seqのデータは遺伝子発現量行列



# シングルセル解析の流れ



# 不要な細胞の除去

# 低品質・empty (検出遺伝子数が低い)

# ダブルレット (検出遺伝子数が高い)

# 正規化

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)

# スケーリング

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

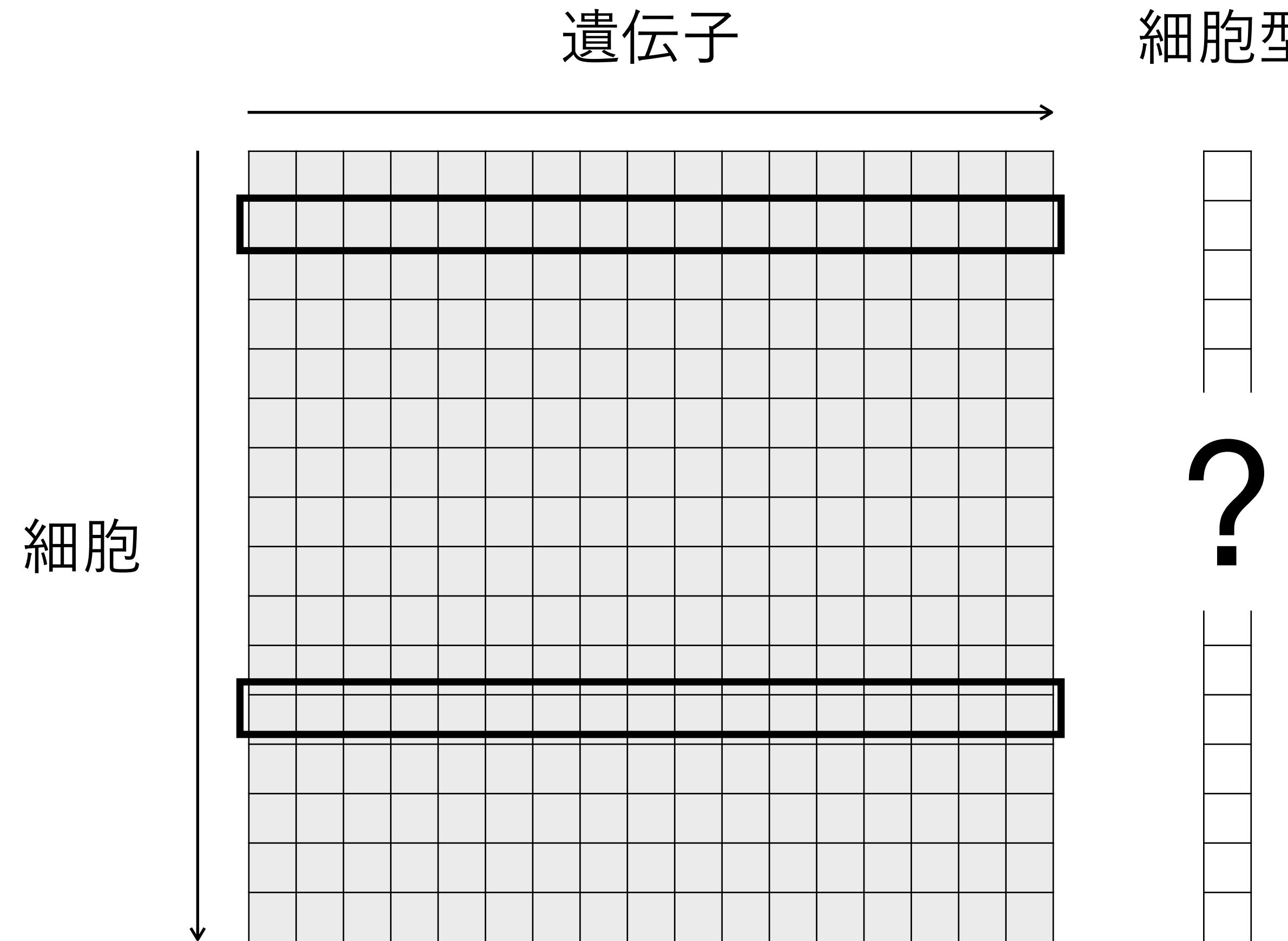
# 遺伝子の選択

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)

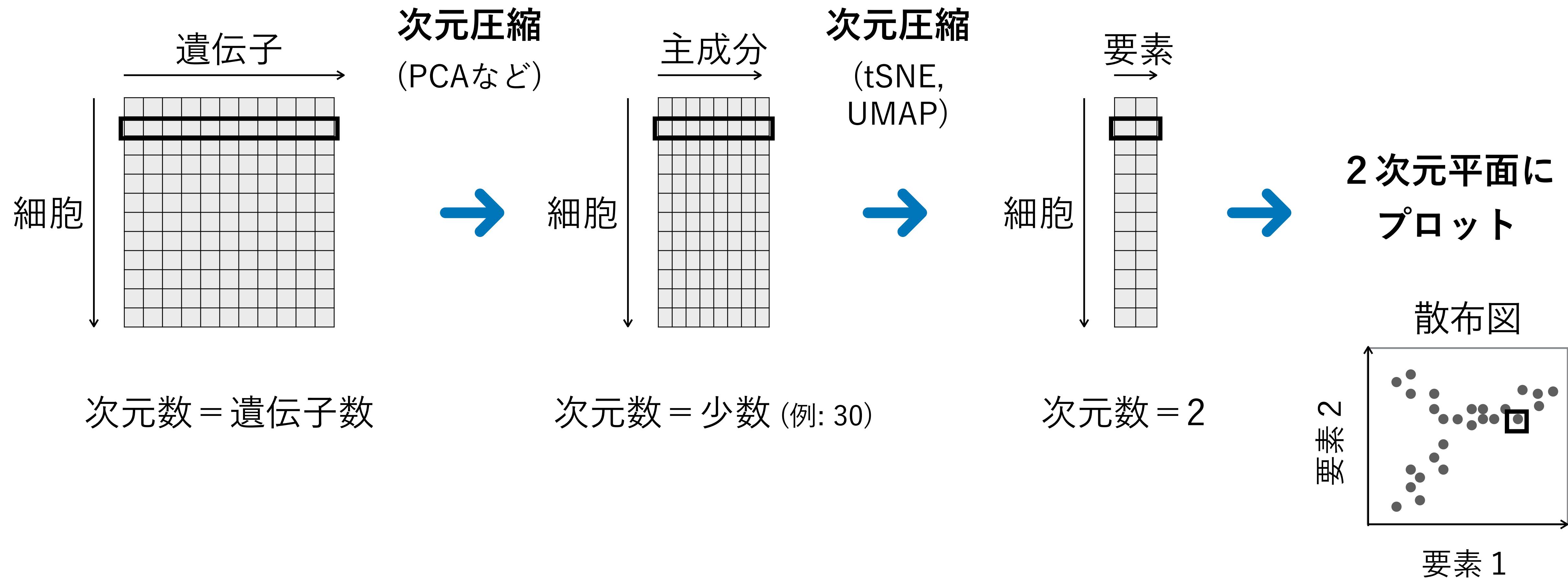
# シングルセル解析の流れ



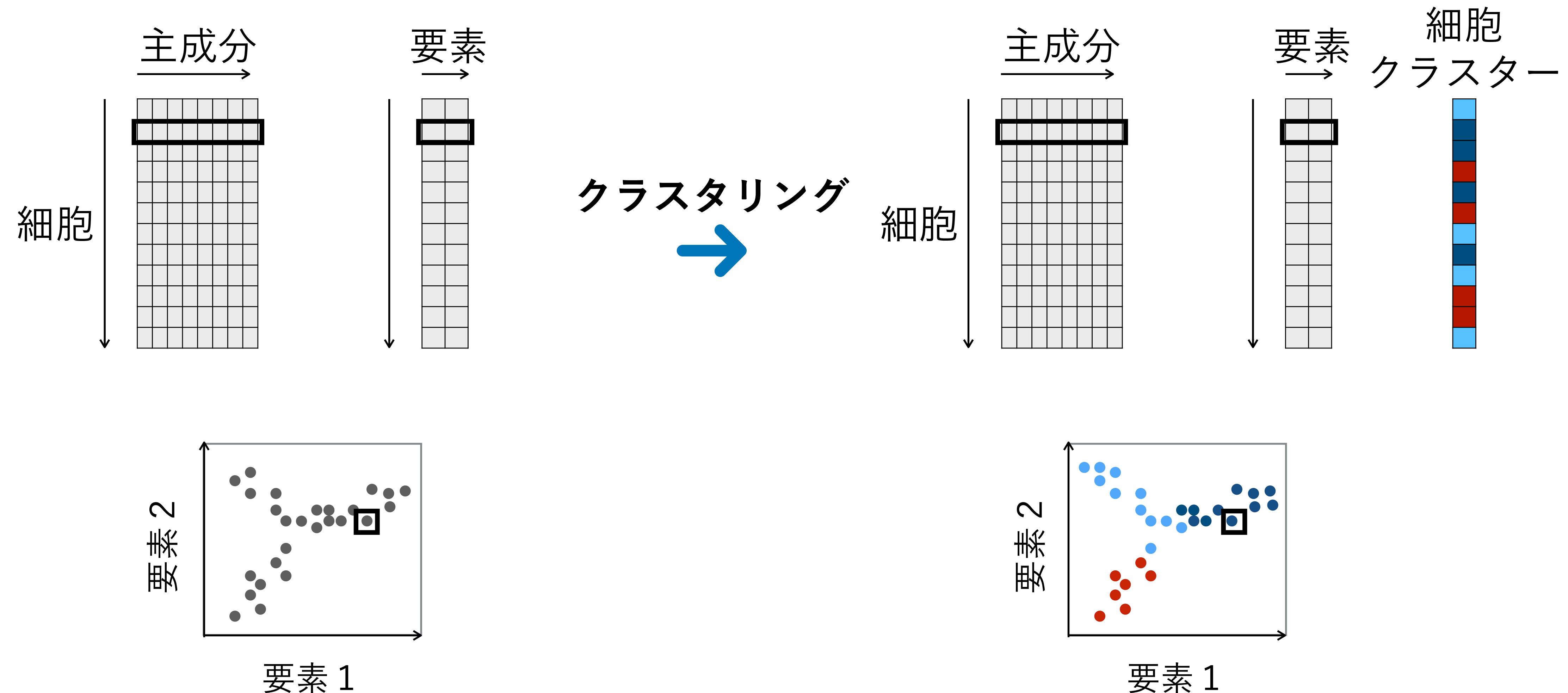
# 細胞型がわからない



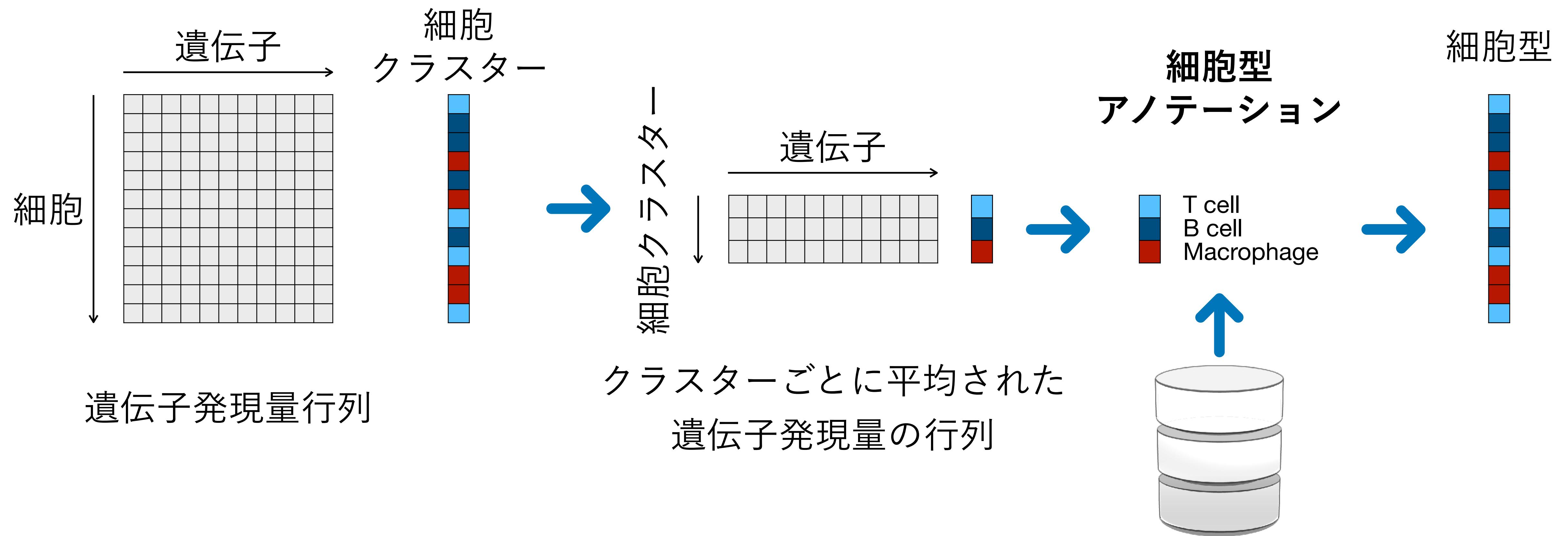
# 細胞の次元圧縮：細胞の類似関係がわかる



# 細胞のクラスタリング：細胞をグループ分け



# 細胞型アノテーション：クラスターに細胞型をラベリング



クラスターごとに平均された  
遺伝子発現量の行列

既知の細胞型における  
遺伝子発現のデータベース