workflow

November 24, 2021

1 00. Preparation

1.1 00.1 install necessary and optional Python packages

`conda install cytoolz seaborn scikit-learn statsmodels numba pytables`

`conda install -c conda-forge scanpy python-igraph leidenalg`

`conda install -c conda-forge louvain multicore-tsne`

`pip3 install pyscenic`

1.2 00.2 Download auxiliary files and expression matrix (PBMC 10k from 10x Genomics)

`wget https://raw.githubusercontent.com/aertslab/pySCENIC/master/resources/hs_hgnc_tfs.txt`

`wget https://resources.aertslab.org/cistarget/motif2tf/motifs-v9-nr.hgnc-m0.001-o0.0.tbl`

`wget https://resources.aertslab.org/cistarget/databases/homo_sapiens/hg38/refseq_r80/mc9nr/gen`

`wget http://cf.10xgenomics.com/samples/cell-exp/3.0.0/pbmc_10k_v3/pbmc_10k_v3_filtered_feature_`

`tar xvf pbmc_10k_v3_filtered_feature_bc_matrix.tar.gz`

2 01. Preprocessing

[ ]:
```
import numpy as np
import pandas as pd

import matplotlib.pyplot as plt
import scanpy as sc
import loompy as lp

from pyscenic.rss import regulon_specificity_scores
```

[ ]:
```
adata = sc.read_10x_mtx(path="./data/filtered_feature_bc_matrix/",␣
 ↪var_names="gene_symbols")
adata.var_names_make_unique()
```

[ ]:
```
mito_genes_index = adata.var_names.str.startswith('MT-')
adata.obs['percent_mito'] = np.ravel(np.sum(adata[:, mito_genes_index].X,␣
↪axis=1) / np.sum(adata.X, axis=1))
adata.obs['n_counts']     = np.ravel(adata.X.sum(axis=1))
adata.obs['n_genes']      = np.ravel( (adata.X > 0).sum(axis=1) )
```

[ ]:
```
sc.pp.filter_cells(adata, min_genes=200)
sc.pp.filter_genes(adata, min_cells=3)
adata = adata[adata.obs['n_genes']<4000, :]
adata = adata[adata.obs['percent_mito']<0.15, :]
```

[ ]:
```
import loompy as lp
row_attrs = {"Gene" : np.array(adata.var_names) }
col_attrs = {"CellID" : np.array(adata.obs_names),
             "nGene"  : np.array(adata.obs['n_genes']),
             "nUMI"   : np.array(adata.obs['n_counts'])
             }
lp.create("PBMC10k_filter.loom", adata.X.transpose(), row_attrs, col_attrs)
```

3 02. pySCENIC

docker run -it -v PWD :PWD aertslab/pyscenic:0.9.18 pyscenic grn –num_workers 10 –output $PWD/adj.tsv –method grnboost2 $PWD/PBMC10k_filter.loom $PWD/hs_hgnc_tfs.txt

docker run -it -v PWD :PWD aertslab/pyscenic:0.9.18 pyscenic ctx $PWD/adj.tsv $PWD/hg38___refseq-r80___10kb_up_and_down_tss.mc9nr.feather –annotations_fname $PWD/motifs-v9-nr.hgnc-m0.001-o0.0.tbl –expression_mtx_fname $PWD/PBMC10k_filter.loom –mode "dask_multiprocessing" –num_workers 10 –mask_dropouts -o $PWD/reg.csv

docker run -dit -v PWD :PWD aertslab/pyscenic:0.9.18 pyscenic aucell $PWD/PBMC10k_filter.loom $PWD/reg.csv –output $PWD/PBMC10k_SCENIC.loom –num_workers 10

4 03. dimension reduction

[ ]:
```
import loompy as lp
import umap
from MulticoreTSNE import MulticoreTSNE as TSNE
```

[ ]:
```
lf = lp.connect("./PBMC10k_SCENIC.loom", mode="r+", validate=False)
auc_mtx = pd.DataFrame(lf.ca.RegulonsAUC, index=lf.ca.CellID)
lf.close()
```

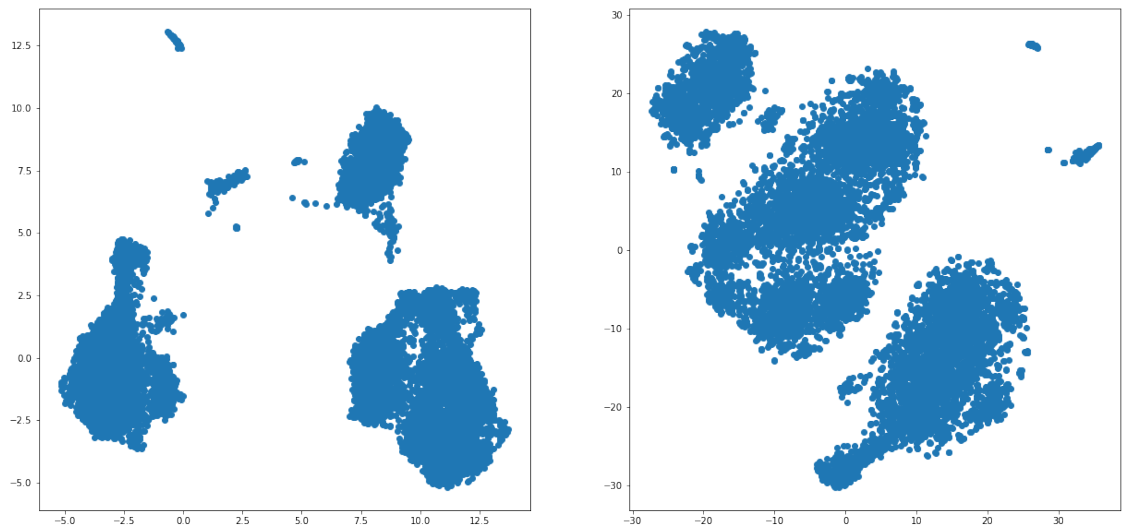
[ ]:
```
runUmap = umap.UMAP(n_neighbors=10, min_dist=0.4, metric="correlation")
dr_umap = runUmap.fit_transform(auc_mtx)
```

[ ]:
```
runTSNE = TSNE(n_jobs=8)
dr_tsne = runTSNE.fit_transform(auc_mtx)
```

[ ]:
```
plt.figure(figsize=(21, 10))
plt.subplot(1, 2, 1)
plt.scatter(dr_umap[:, 0], dr_umap[:, 1])

plt.subplot(1, 2, 2)
plt.scatter(dr_tsne[:, 0], dr_tsne[:, 1])

plt.show()
plt.close()
```



5 04. RSS

[ ]:
```
from pyscenic.rss import regulon_specificity_scores
from pyscenic.plotting import plot_rss
```

[ ]:
```
auc_mtx.shape
```

[ ]: (10280, 333)

[ ]:
```
n_type = 23
n_regulon = auc_mtx.shape[1]
cell_type_indicator = pd.Series(np.random.binomial(n=n_type, p=0.3,␣
↪size=auc_mtx.shape[0]), index=auc_mtx.index)
rss_mtx = regulon_specificity_scores(auc_mtx, cell_type_indicator)
```

[ ]:
```
rss_mtx
```

[ ]:
```
     AHR(+)   AIRE(+)  ARNTL2(+)  ASCL2(+)   ATF1(+)   ATF3(+)   ATF4(+)  \
7   0.319697  0.192502   0.317183  0.324250  0.336039  0.334142  0.300671
3   0.214863  0.180593   0.218054  0.216081  0.219648  0.218264  0.215274
12  0.188166  0.179206   0.189905  0.188744  0.189382  0.189585  0.188330
8   0.303437  0.195323   0.305181  0.305885  0.318031  0.315447  0.288626
5   0.285276  0.187816   0.286294  0.292170  0.300265  0.297287  0.271452
11  0.204086  0.187607   0.206731  0.207361  0.210958  0.209106  0.205291
4   0.251549  0.184212   0.250684  0.250820  0.257161  0.256339  0.240866
10  0.239909  0.175496   0.236763  0.240974  0.244720  0.246171  0.231238
6   0.310060  0.186338   0.308047  0.318886  0.326496  0.325484  0.296647
9   0.270170  0.189490   0.269178  0.271648  0.280304  0.279760  0.261035
13  0.176221  0.169033   0.175763  0.175326  0.175525  0.175812  0.173282
14  0.170155  0.170841   0.171084  0.170379  0.170124  0.169904  0.171198
1   0.172426  0.167445   0.172621  0.173225  0.172571  0.172707  0.171261
2   0.186485  0.169110   0.187731  0.186177  0.186609  0.186917  0.183646
16  0.167445  0.167445   0.168653  0.168036  0.167812  0.167923  0.168890
15  0.168938  0.168474   0.168668  0.168681  0.169062  0.168896  0.168552
0   0.167587  0.167445   0.167945  0.167601  0.167760  0.167694  0.167971

     ATF5(+)   ATF6(+)  ATF6B(+)  …  ZNF607(+)  ZNF674(+)  ZNF682(+)  \
7   0.325823  0.323806  0.326924  …   0.287797   0.228054   0.212250
3   0.217346  0.216365  0.218100  …   0.207976   0.190653   0.182284
12  0.189992  0.188915  0.188824  …   0.186098   0.183039   0.176299
8   0.304055  0.306635  0.311703  …   0.267196   0.214298   0.211966
5   0.291416  0.292098  0.294227  …   0.260689   0.220407   0.208261
11  0.208198  0.209408  0.208309  …   0.200381   0.188873   0.183708
4   0.251458  0.252543  0.252752  …   0.231997   0.212696   0.202648
10  0.241315  0.242975  0.240805  …   0.224362   0.202371   0.198052
6   0.313704  0.313344  0.317285  …   0.277953   0.223560   0.200689
9   0.273839  0.276591  0.277185  …   0.240546   0.207467   0.200641
13  0.175140  0.175529  0.174278  …   0.172937   0.172053   0.168695
14  0.168939  0.169765  0.170398  …   0.170948   0.167445   0.169202
1   0.171960  0.173006  0.172895  …   0.175340   0.170462   0.168159
2   0.187763  0.185593  0.186095  …   0.180833   0.180554   0.178572
16  0.167858  0.168145  0.167989  …   0.167445   0.167445   0.167445
15  0.168480  0.168335  0.168660  …   0.168709   0.167445   0.169150
0   0.167493  0.167487  0.167741  …   0.168257   0.167445   0.167445

    ZNF71(+)  ZNF76(+)  ZNF81(+)  ZNF821(+)  ZNF831(+)  ZNF91(+)  ZSCAN31(+)
7   0.221957  0.334696  0.311380   0.254340   0.314977  0.257028    0.228451
3   0.192815  0.218321  0.216589   0.201615   0.212801  0.204970    0.191190
12  0.180587  0.188719  0.186935   0.182115   0.189959  0.181375    0.187137
8   0.229972  0.317032  0.290349   0.258362   0.298569  0.249690    0.225295
5   0.223609  0.297745  0.278125   0.242020   0.280910  0.242077    0.220663
11  0.189355  0.209873  0.203986   0.194199   0.209214  0.195231    0.193979
```

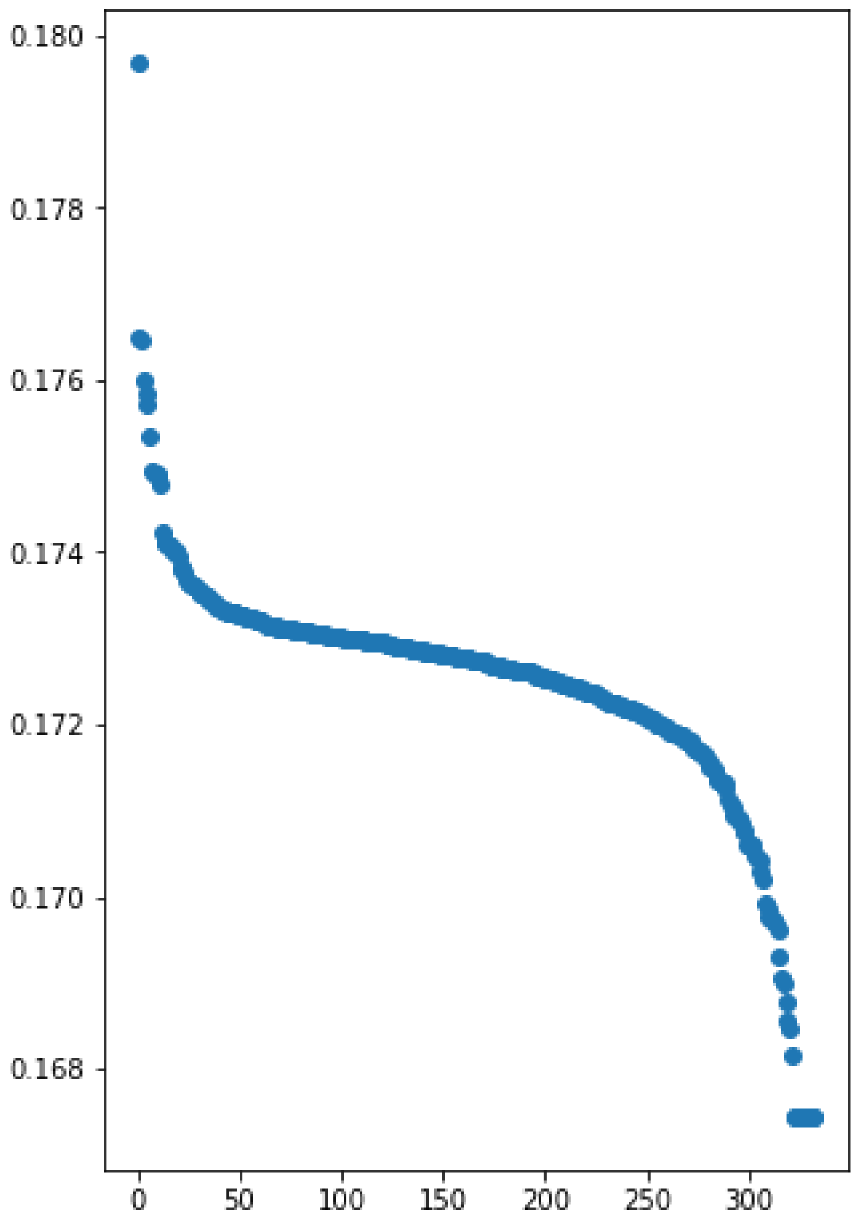
```
4   0.202345  0.255203  0.243518   0.218188   0.244610  0.218909    0.204976
10  0.209540  0.244118  0.235711   0.215156   0.233441  0.208498    0.198506
6   0.222110  0.321518  0.298980   0.253041   0.302189  0.244201    0.225785
9   0.218349  0.278483  0.261388   0.231976   0.263658  0.228494    0.216217
13  0.173701  0.175133  0.175136   0.171782   0.174720  0.171652    0.173945
14  0.168064  0.170441  0.171358   0.171565   0.170439  0.170766    0.170311
1   0.174777  0.172776  0.174023   0.170618   0.172879  0.171372    0.169611
2   0.182908  0.186980  0.185020   0.180872   0.185089  0.183359    0.181536
16  0.168709  0.168057  0.168679   0.167445   0.168169  0.167445    0.167445
15  0.167445  0.168999  0.168698   0.168956   0.168896  0.168403    0.167445
0   0.167445  0.167820  0.168054   0.167445   0.167872  0.167445    0.167445

[17 rows x 333 columns]
```

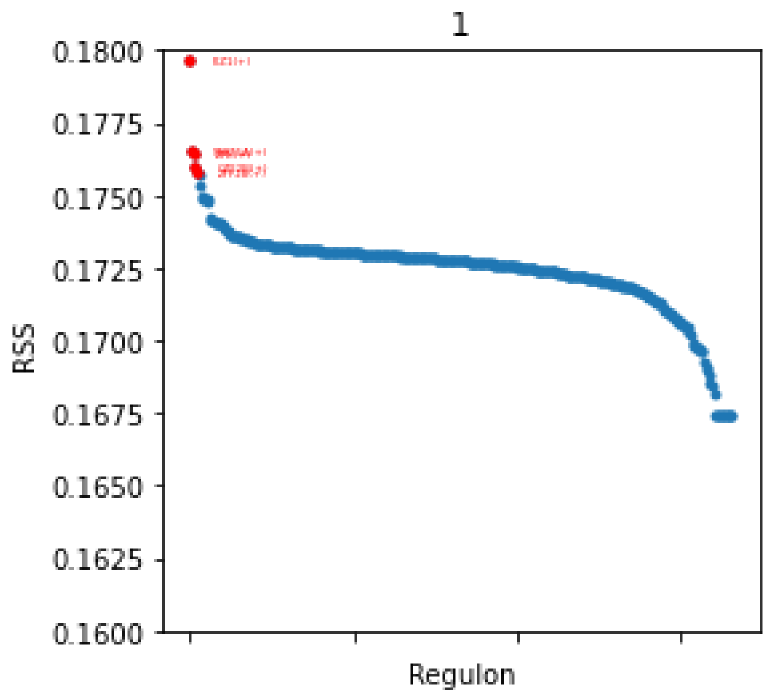
[ ]:
```
cell_type1_rss = rss_mtx.loc[1, :].sort_values(ascending=False)
```

[ ]:
```
x = np.arange(n_regulon)

plt.figure(figsize=(5, 8))
plt.scatter(x, cell_type1_rss.values)
plt.show()
plt.close()
```



[ ]:
```
plot_rss(rss_mtx, 1, top_n=5)
```



[ ]:
```
cell_type_indicator.unique().sort
```

[ ]:
```

```