# 样本质检

## 为什么要做

辰睿：看到了一些样本有问题的地方，主要是出现了一种同时表达T 细胞、巨噬细胞以及其他细胞类型marker的“细胞”，占总PBMC的14.2%

钱博：提出样本运输过程中用了干冰，1小时运输，可能导致样本冻上

高国日（贝瑞）：口述了全血样本检查结果，说细胞成团率，细胞量、细胞破损率等指标正常

## 具体决策

高国日（贝瑞）：提供从全血样本到上机之间的全部操作细节

钱君岩：和协和团队联系，确保后续收样、测序过程受到严格控制，特别是样本的4度保护策略（不能太热或干冰冻上）

夏辰睿，丁阳：根据贝瑞返还结果+钱博发的上机后read质检结果判定样本是否有artifact（具体怎么做还没定，可能会近期去协和讨论）

# SLE病人全细胞类型分析结果讨论

只列举昨晚讨论中报告中没有的新内容

## 新出现的问题和想法

1. 尚不确定TLB plasma abnormal是否真的不能产生抗体（UMI，gene低，且不表达plasma marker：PRDM1和SLAMF7），要查一下PRDM1和SLAMF7具体负责的功能，因为目前的文献中说PRDM1是抗体产生细胞必须的，但是TLB plasma abnormal不表达
2. 除T细胞外，各种细胞类型均出现“混合marker”细胞现象（UMI gene数量低，同时表达原有细胞类型以及T 和/或 巨噬细胞的marker），暂不确定来源，主要提出了以下猜测
   1. 其中UMI、gene数低的可能是以下现象的产物，并非完整细胞
      1. secondary necrosis（见报告正文的文献）
      2. 巨噬细胞因某原因把B、T吞了太多撑爆了自己的结果
         1. 丁阳认为，如果这个是真的，那么应该可以通过Monocle 2的伪时间序列看到连续的吞噬过程。
            1. B细胞中TLB plasma带巨噬细胞marker = 巨噬细胞吞完后自己基本上消散干净了只留下类似于B细胞转录组的残渣
            2. 巨噬细胞中有部分缝合细胞有T细胞marker=巨噬细胞刚开始吞T
         2. 辰睿认为吞噬速度极快，单次测序中绝大部分细胞很难看到吞噬中的过程。在单细胞捕获的瞬间，可能只有很少的细胞正在经历吞噬这个过程，绝大多数细胞是吞噬前或者吞噬后的状态
   2. 此外，TLB mem和其他B细胞的UMI、gene数相当，说明TLB mem可能是正常生理条件下就存在的细胞类型
3. 细胞类型比例异常可能还有一个原因：大量细胞被吸到自免疫严重的部位，但是辰睿认为这可能影响其他正常细胞的比例，但不是“混合marker细胞”出现的原因，因为14.2%的比例太高了，在正常人外周血中未观察到这种迹象（哪怕很轻微）
   1. 钱博提出
      1. 狼肾和SLE-PAH中，有大量免疫细胞被分别吸附到肾、肺等受累器官，所以在PBMC中看到的细胞类型不一定非常全面
      2. 这个SLE-PAH病人的IgG蛋白含量很高（这是血液化验的结果）而IgA和IgM等指标未见异常，但是辰睿做的单细胞转录组里IgG细胞几乎没有，反而全是IgA plasma，初步猜测IgG细胞全都被吸走了
         1. 丁阳基于此提出此时PBMC里各种细胞比例可能不能正常体现个体的免疫特征，理论上需要结合受累器官的单细胞图谱一起看才行（但是现在没有数据）
4. 丁阳这边
   1. WES先安排上CNV分析，看病人是否有系统性的基因缺失（之前看了一个病人发现大量CNV，其中某基因缺失可能直接导致动脉粥样硬化）
   2. 暂不处理钱博那边测得大量MHC基因型（和WES病人有大量交叠但不完全对应，没有对照组），待WES处理完了再搞MHC
   3. 如果ＷＥＳ和ＭＨＣ发现非常普遍的、且能够和免疫系统直接挂钩影响ＴＬＢ等分析的结果，就对这个单细胞病人重测ＷＥＳ和ＭＨＣ再分析
   4. 申请Nat Imm SLE原始数据
5. 辰睿这边

分析Nat Imm SLE 数据，与我们的数据做对比，争取在下周一前完成

**未解决问题**：SLE病人收集慢，可能要再讨论一下