#### 2.2 Seurat 集成单细胞数据分析 (Dataset: OS)

* Content: 单细胞数据
* Administrator Comment: scRNA-seq分析用的哪个数据集？

Reply: GSE152048。数据来源已在报告中补充。

## 3.1 Seurat 集成单细胞数据分析 (OS)

* Content: 小于 10%
* Administrator Comment: 质控后获得多少个细胞和基因用于后续分析？

Reply: 已补充。

* Content: **据分析**
* Administrator Comment: 最终是选择前20个PC用于后续分析吗

Reply: 方法和分析结果中都有写，1-10 个PC。

* Content: Marker
* Administrator Comment: 从热图里看，每个细胞群体的biomarker好像不具有特异性，理想的状态应该是每个细胞会有两三个独有的marker。例如下图： , 想问问目前的聚类方式是合理的吗？

Reply: 这个验证图没问题的，不是每个数据集都能特别“理想”，这个数据集的来源是 PMID:33303760，这篇文献的效果也是这样。

* Content: each sample
* Administrator Comment: 图中的这些样本全是肿瘤吗，还是说有肿瘤和对照样本。如果是包括肿瘤和正常样本的话，建议补充一个每类样本中不同细胞群体的比例。如：

Reply: 未补充。

## 3.3 scFEA 单细胞数据的代谢通量预测 (OS\_SAMPLE)

* Content: metabolic flux
* Administrator Comment: 这个图能呈现的信息不多，想问问每个细胞类型是根据代谢通量进行聚类的吗？能否展示一下每个细胞类型中主要富集哪些代谢通量？ , 例如**PMID: 37853415**

Reply: 后续有差异分析。和你给的文献方法不一样。

## 3.4 Seurat 细胞亚群分析 (OS\_CANCER)

* Content: 注释中
* Administrator Comment: 图中没有展示正常细胞。另外，上图已经展示了Proliferating\_osteoblastic\_OS, Chondroblastic\_OS, Osteoblastic\_OS 细胞的分布，这张图最好只展示恶性和正常细胞。

Reply: 这图没有问题，信息量比你要求的更大。

* Content: Benign cell BC
* Administrator Comment: 这个图好像导出的不全，最上面的点都不完整。 , 另外，图例里的a是什么？ , 麻烦再调整一下

Reply: 图是完整的，上面的点位于边界，可能是无限大，设置了截止值，否则无法呈现。图例的a只是文字标注。

## 3.6 COX 回归 (TCGA\_OS)

* Content: **基因集**
* Administrator Comment: 这个基因集具体是怎么获得的？ Malignant\_cell vs. Benign\_cell的差异基因吗？如何与代谢通量联系起来的？

Reply: 代谢通量有对应的基因，注释表格里有的。请你看看表格“OS-SAMPLE-annotation-of-metabolic-flux”

* Content: ts lambda min
* Administrator Comment: LASSO分析的结果图可不可以采用常见的展示方式，这个图不多见。例如：

Reply: 已补充。

* Content: TCGA OS
* Administrator Comment: 这是谁的ROC曲线图？

Reply: 请你看看图片的标题。

## 3.8 外部数据集验证

* Content: 生存分析
* Administrator Comment: 数据集GSE39057的样本量太少了，做生存分析和ROC分析不是很有意义。建议删除。 , 还有merged数据集的人群数量有点疑问，是怎么计算的？例如高风险，该数据中0月时只有15人，怎么这么少？

Reply: 对所有GEO带有生存数据的数据集都做了验证，体现分析的完整性，没必要删除。merged 是合并了所有数据集，然后根据cutoff分组。方法已经写在对应的部分了。

* Content: OC validation
* Administrator Comment: AUC值最好不要小于0.75，这样几乎没有什么临床应用价值了。验证集能不能再重新筛选一下，目前的结果不是很理想。

Reply: 你多看看癌症基因预后的文章，要求不可能这么高，0.75 是很多诊断模型的 AUC 才容易达到的。

## 3.9 ClusterProfiler 富集分析 (PROG)

* Content: **PROG-KEGG-**
* Administrator Comment: 富集KEGG通路和GO的结果是如何筛选出来的？根据p.adjust<0.05吗？图片里最好只展示显著富集的结果。

Reply: 展示 Top 10，是大多数文章的做法。都是显著的。

# 4 总结

* Content: 对应代谢模块
* Administrator Comment: 这里不是很明白，是对应哪个代谢模块的基因进行了重点研究？

Reply: 你看看代谢通路差异分析的部分，还有 COX 回归的部分。