

单细胞组学

Single-Cell Omics

课程教学团队：

樊龙江教授，浙江大学农业与生物技术学院

王永成研究员，浙江大学医学院/良渚实验室

褚琴洁研究员，浙江大学农业与生物技术学院

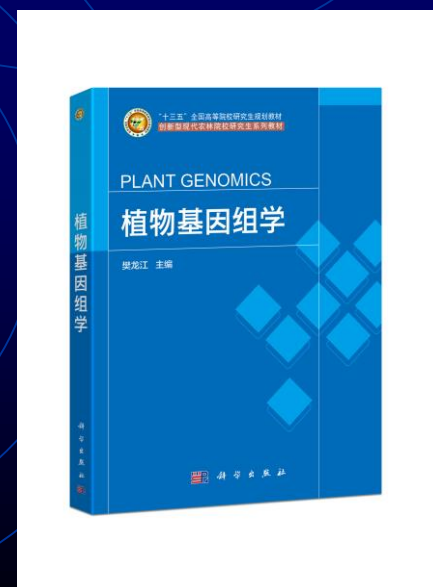
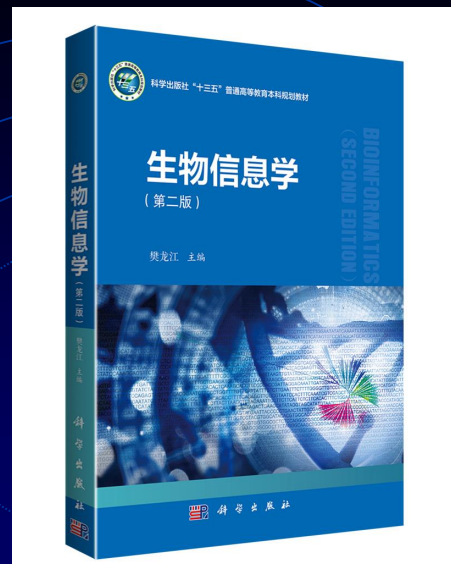
樊龙江

浙江大学二级教授

生物信息学/作物遗传育种专业博导

- ✓ 浙江大学生物信息学研究所 执行所长
- ✓ 浙江大学IBM生物计算实验室，主任
- ✓ 浙江大学汇聚计划生物信息与大数据技术中心，负责人
- ✓ 浙大中美作物分子育种联合实验室 主任

- ✓ 浙江省“万人计划”杰出人才
- ✓ 教育部新世纪人才
- ✓ 宝钢优秀教师奖获得者



#	LECTURE	DETAILS	PLATFORM/TOOL	PROF.
1	绪论	什么是单细胞组学；单细胞组学历史；单细胞组学技术优势及其应用；学科展望	单细胞组学数据库 HCA/scRNA-tools等	樊龙江
2	单细胞（核）分选与测定技术	单细胞和单细胞核提取、分选、RNA等扩增与测序技术原理	M20 Genomics; 10X Genomics; 华大DNBelab C4	王永成
3	空间组学成像与测定技术	空间转录组等技术类型；目前主要单细胞时空组技术原理	华大时空组学技术：Stereo-seq; 10X Genomics	王永成
4	单细胞转录组数据基础分析	数据质控；批次效应去除；降维聚类；细胞类型注释	CellRange; Seurat; Scanpy	褚琴洁/王永成
5	单细胞转录组数据高级分析	拟时序分析；细胞通讯分析等	Seurat; Scanpy; Monocle	褚琴洁/王永成
6	空间转录组数据分析	数据质控与解套；细胞类型注释；多组学联合分析	Squidpy等	褚琴洁
7	单细胞其他组学数据分析	单细胞基因组测序与分析；单细胞蛋白质组分析等	MissionBio等	褚琴洁
8	实践	单细胞组学技术在农业和医学健康领域应用课题设计；实例分析；报告与交流		樊龙江/王永成

考试与成绩：课程论文

- 单细胞组学技术在农业和医学健康领域应用课题设计与撰写
 - 课题意义（为什么做这个课题？）
 - 目前研究现状（课题的新颖性或前沿性？）
 - 技术路线（为什么要用单细胞组学技术？具体如何做？）
 - 预期结果
 - 文献清单

- 挑选部分设计进行口头报告(最后堂课)
- 课程论文 (PDF版本, 考试周11月12日前)
): 褚琴洁: qinjiechu@zju.edu.cn

Readings

- 《生物信息学》（第二版），樊龙江主编，科学出版社，2021（第12章：新类型组学数据分析与利用）
- 《植物基因组学》，樊龙江主编，科学出版社，2020（第10章：植物单细胞组）
- 联川、欧易等公司编写的单细胞分析小册子
- 《单细胞组学基础》，2024年，科学出版社

Bioinplant团队主页

(Bioinformatics and Plant Genomics Group)

<http://ibi.zju.edu.cn/bioinplant/>



Bioinplant Group of Zhejiang University

生物信息与植物基因组学 (bioinformatics and plant genomics) 团队 (Bioinplant) 为浙江大学作物科学研究所、生物信息学研究所、IBM 组成部分。利用生物信息学和基因组等组学技术优势, 我们主要开展 (1) 植物基因组及其演化和育种利用技术; (2) 组学大数据分析、数据挖掘、细胞组学》和《组学数据分析》等课程教学任务, 本网站提供了有关教学相关资源。[简介] [全家福] [公众号]

团队研究组 (PI) : 樊龙江教授; 叶楚玉教授; 褚基注研究员; 陈鑫研究员

The Bioinplant (bioinformatics and plant genomics) group is a part of Institute of Crop Sciences, Institute of Bioinformatics, IBM Biocomputing Laboratory. Our purpose is to further knowledge of genomes for crop breeding and complex traits/diseases, particularly through approaches of bioinformatics and crop improvement, such as genome-based breeding techniques; (2) Algorithms, databases, bioinformatic tools and analysis of multiple omic data, including "Bioinformatics," "Plant Genomics," "Single-cell Omics," and "Genomic Data Analysis." This website provides teaching-related resources.

最新消息 (News)

- > 吴东亚博士 Plant Communications 论文获得该刊 2022 年度最佳论文 (2023-08-24)
- > 博士生谢玲娟赴第二十二届全国植物基因组学大会作报告 (2023-08-23)
- > Crop Design | 植物单细胞转录组学研究进展 (2023-08-15)
- > Genome Biology | 樊龙江、钱前团队联合构建基于共线基因的水稻泛基因组 (2023-08-04)
- > Bioinplant 团队成立, 建立四个独立研究组 (2023-07-13)
- > 樊龙江教授带队访问云南省烟草农业科学研究院 (2023-07-04)
- > 祝贺本实验室 3 位学生顺利完成论文答辩 (2023-06-08)

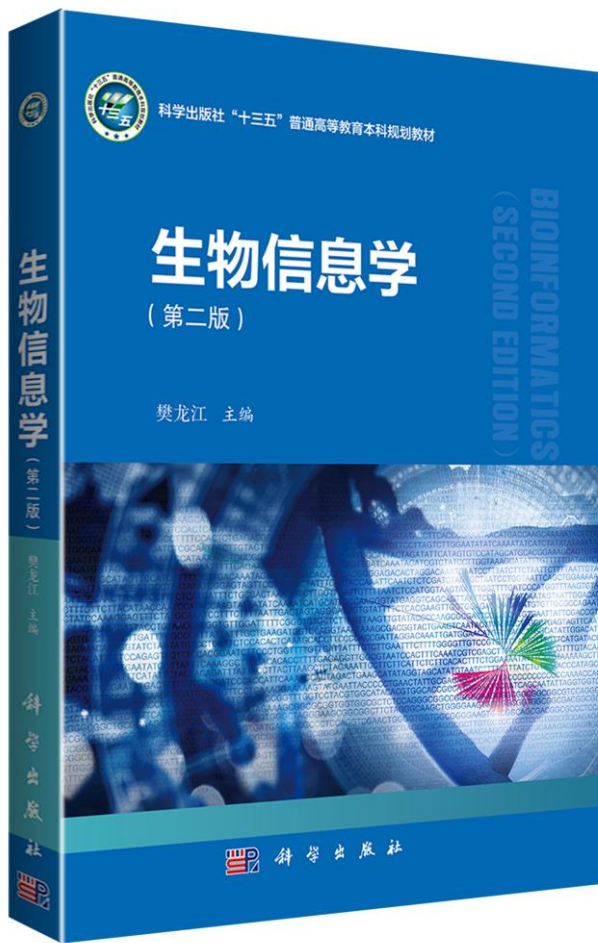
>> [more](#)

生信大講堂
BIOINPLANT @ ZJU



教学材料 (Courses)

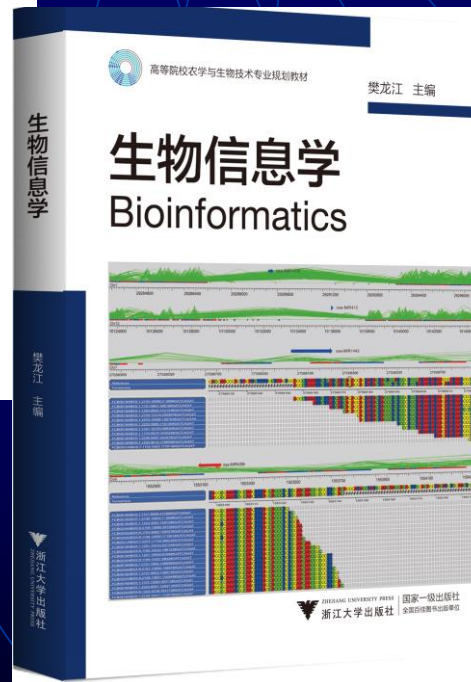
- > 《生物信息学》(第二版), 樊龙江主编, 2021; 致敬经典: 《生物信息学》(第二版) 出版! [后记——纪念郝柏林院士]
- > 《生物信息学实验指导》, 樊龙江、叶楚玉主编, 2022
- > 《植物基因组学》, 樊龙江主编, 2020; 图片下载; 重磅! 《植物基因组学》出版: [韩斌院士序]; [后记]; [植物基因组组]



2021

2017

团队主讲其他相关课程：
 全校性研究生核心课程：《生物信息学》
 本科生必修课：《生物信息学》
 研究生选修课程：《多组学与数据分析》
 本科生必修课：²⁰《植物基因组学》



(网络版备课笔记)

2001, 2005, 2010

生物信息学札记¹¹

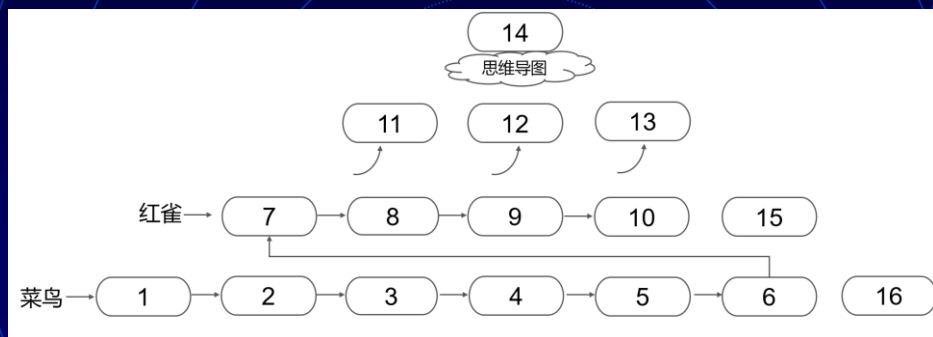
樊龙江

浙江大学生物信息学研究所/作物科学研究所
 Bioinplant 实验室 (Bioinplant Lab), 华家池校区, 杭州 310029
fanlj@zju.edu.cn

2001年6月

¹¹这份材料是我学习和讲授《生物信息学》课程时的备课笔记，材料大多是根据当时收集的一些外文资料翻译编辑而成。学生在学习过程中经常要求我给他们提供一些中文的讲义或材料，这促使我把我的这份笔记整理并放到网上，供大家参考。要提醒使用者的是，这份材料仅是根据我对生物信息学的一些浮浅的认识整理而成，其中的错误和偏颇只能请读者自签了。

本材料可通过 Bioinplant Lab 网址获得：
www.cab.zju.edu.cn/cab/xueyuanxiashubumen/nx/bioinplant.htm



《生物信息学》（第二版） 目录

第1章	绪论
第2章	生物信息类型及其产生途径
第3章	分子数据库
第4章	两条序列联配及其算法
第5章	多条序列联配及功能域分析
第6章	系统发生树构建
第7章	基因组调查、拼装与分析
第8章	基因预测及其功能和结构注释
第9章	非编码RNA鉴定与功能预测
第10章	基因转录与调控分析
第11章	宏基因组分析
第12章	新类型组学数据分析与利用
第13章	群体遗传分析
第14章	生物信息学统计与算法基础
第15章	生物信息学计算机基础
第16章	生物信息学实践
附录1	生物信息学常用代码和关键词
附录2	生物信息学主要数据库与分析工具
附录3	生物信息学常用英文术语及释义
参考文献	
索引	

第一讲：绪论

Lecture #1: Historical Introduction and Overview

一、单细胞组学概述

单细胞组学概念与特征

单细胞组学发展历史

单细胞组学数据资源

二、细胞组学技术优势及其应用

技术优势及其覆盖领域

医学领域应用

动植物微生物领域应用

三、单细胞组学展望

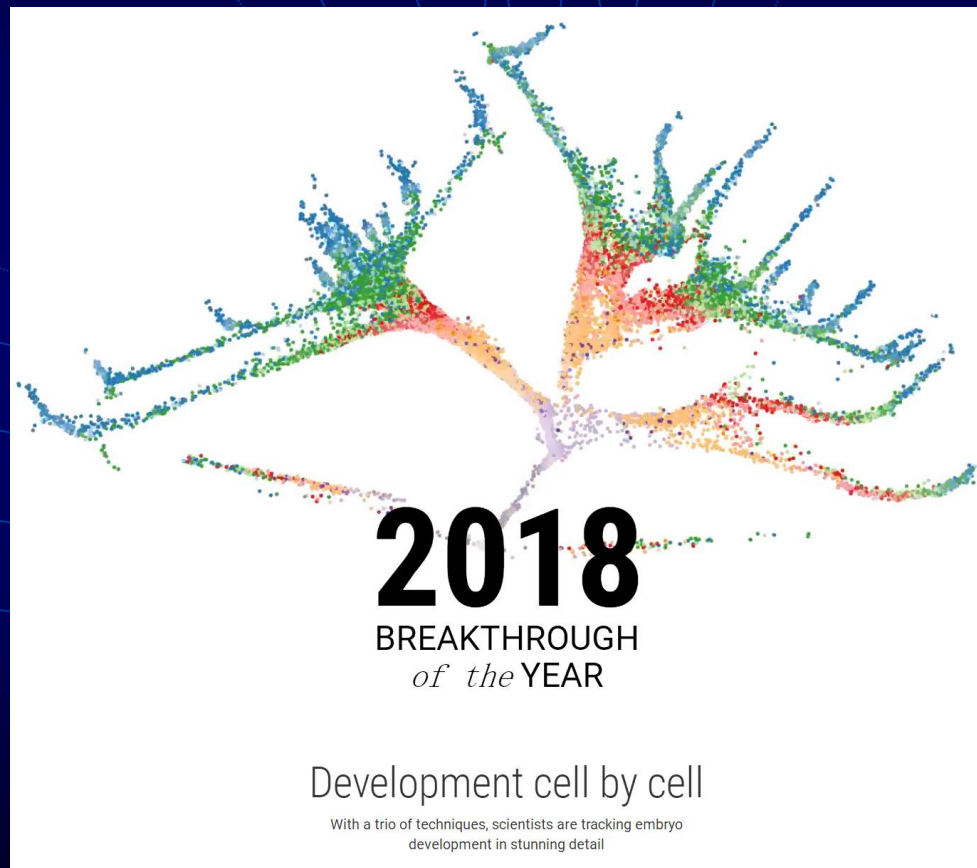
发展趋势

主要挑战

一、单细胞组学概述

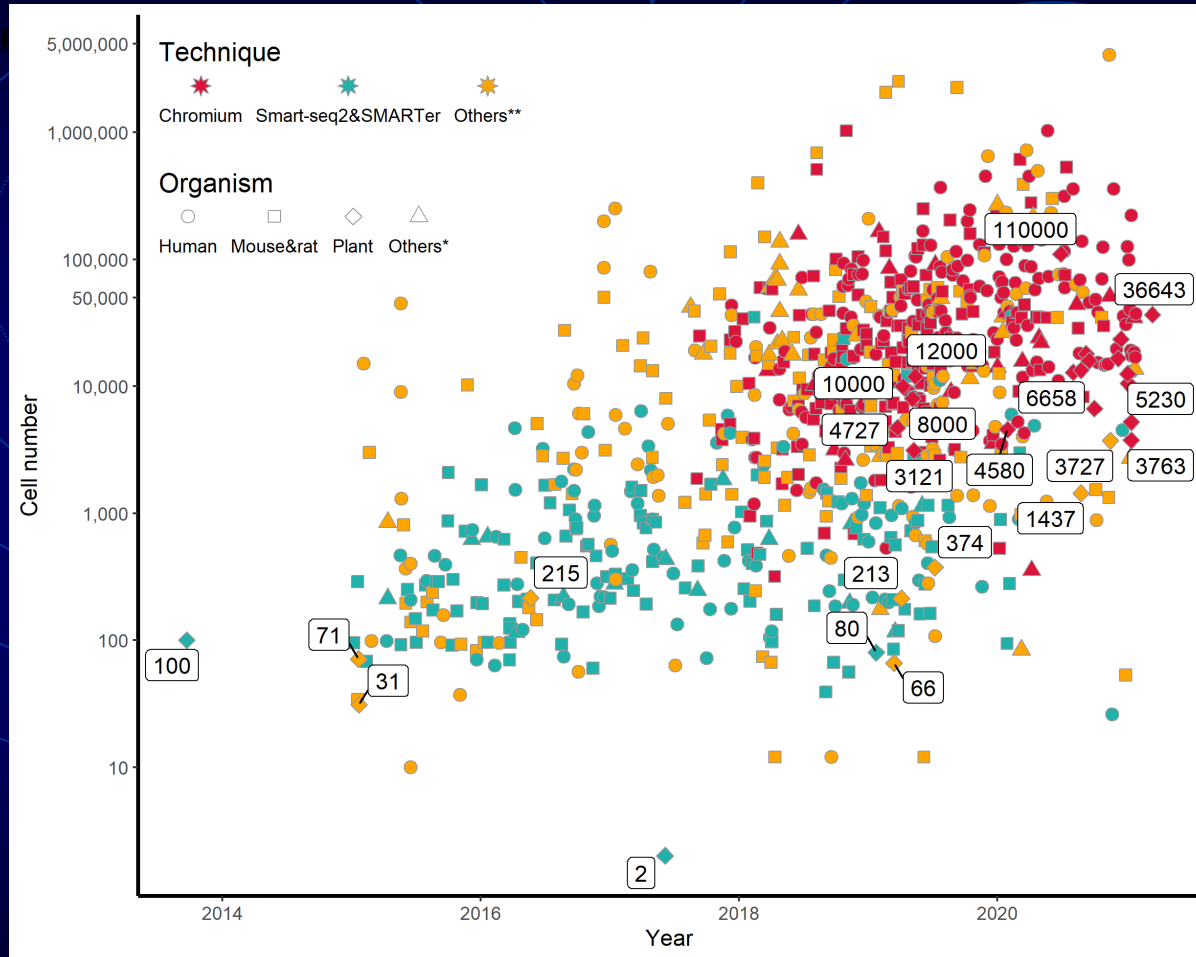
- 1、细胞及其生物学基础
- 2、单细胞组学概念
- 3、单细胞数据科学
- 4、单细胞组学发展历史
- 5、单细胞组学数据资源和分析工具

SCIENCE十大科学发现之首

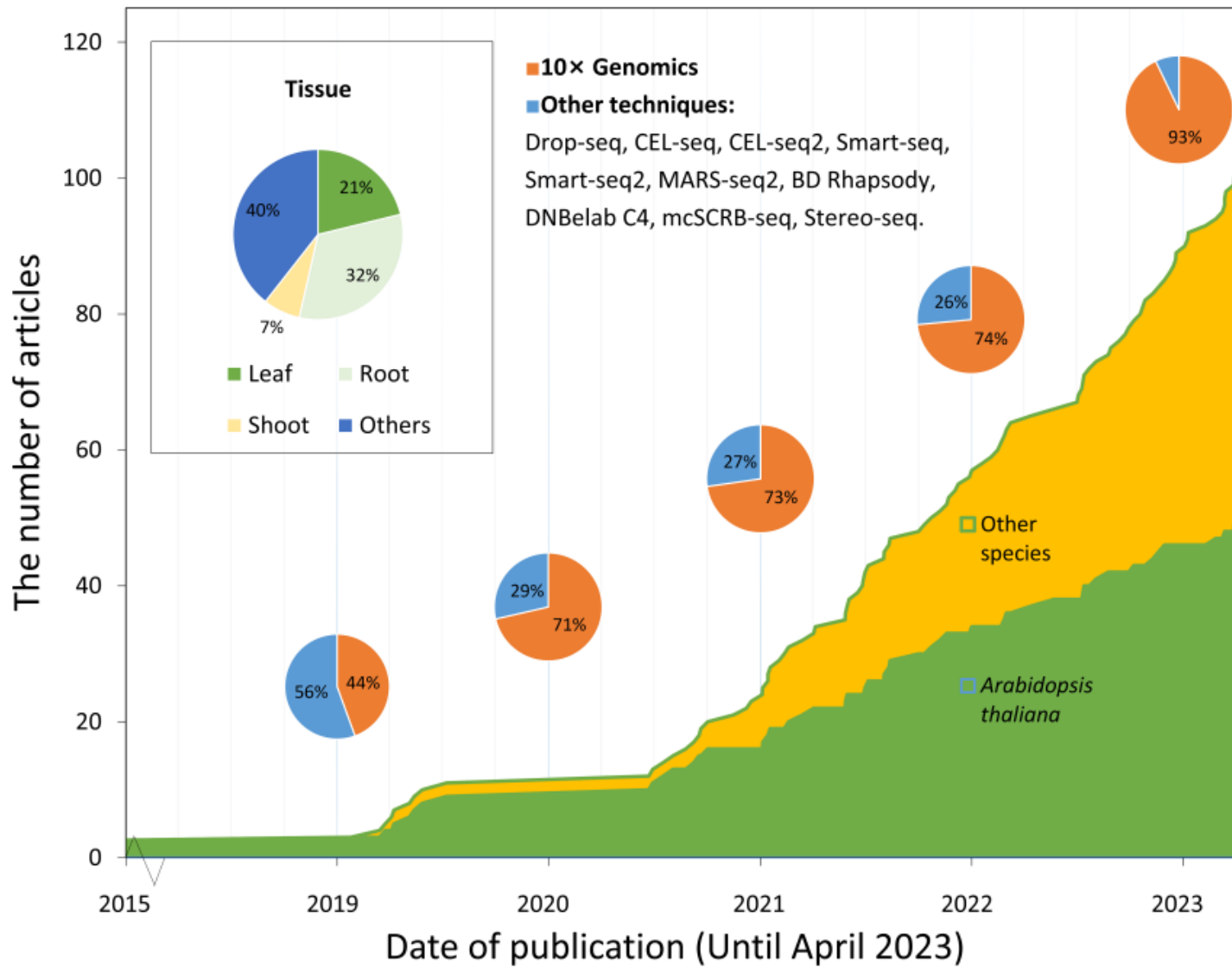


单细胞RNA分析发展趋势（发表文章情况）

Our studies on sc



Cell numbers used in 1,244 single-cell transcriptome studies
(Cell numbers of 30 studies on plants are boxed)



植物学单细胞转录组研究 (104篇)

(Zheng et al., 2023)

1、细胞及其生物学基础

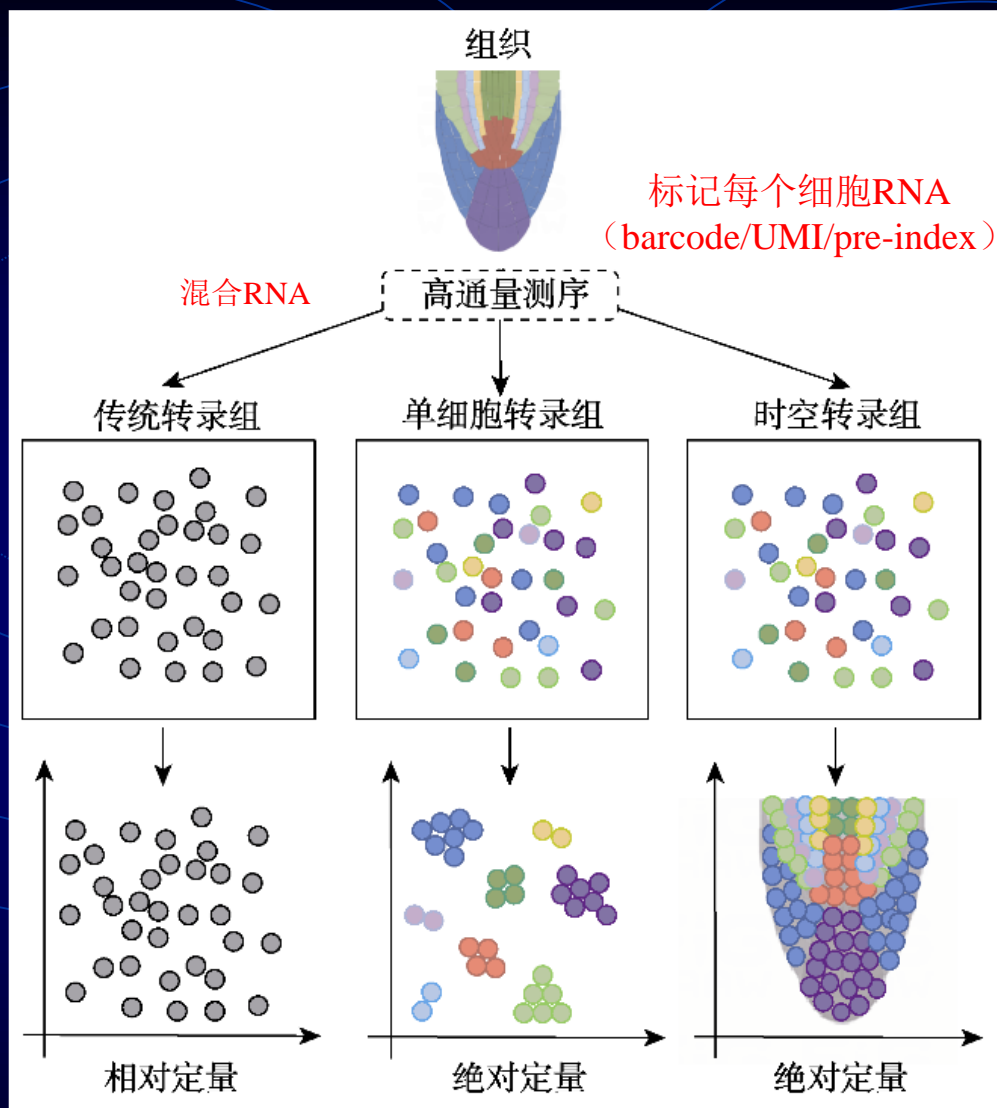
- 人类由约 3×10^{13} 个细胞构成，这些细胞组成不同的组织和器官
- 每个细胞由细胞核和细胞质构成，包含几乎相同的DNA，但表达的RNA和蛋白质等分子千差万别。同一细胞类型细胞存在明显的异质性。



世界上没有任何两个相同的细胞，每个单细胞都有自己的遗传“指纹”

2、单细胞组学概念

- 单细胞组：单细胞基因组、单细胞转录组、单细胞蛋白质组等
 - 单细胞组学利用单细胞分离与分选技术、单细胞组测序技术及其生物信息学分析算法，开展高通量、多维度和大群体细胞学研究。它是一门对单个细胞中各类生物学分子（DNA/RNA/蛋白质等）进行分析与量化，进而在结构、功能和发育发生提供重要信息和推断的学科。
 - 单细胞组学可以纳入细胞空间距离和方位，形成了所谓空间转录组等单细胞空间组学技术
- 单细胞组学属于新兴交叉学科，总体上属于细胞生物学学科范畴，与基因组学、生物信息学学科密切。



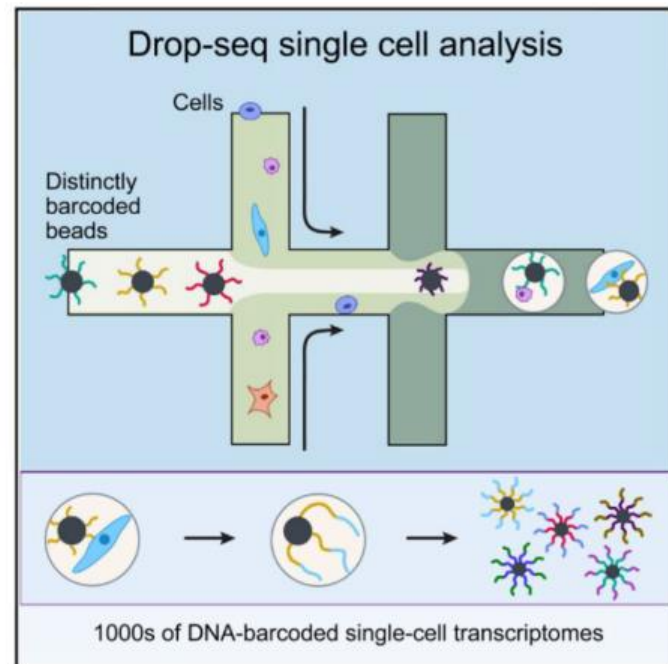
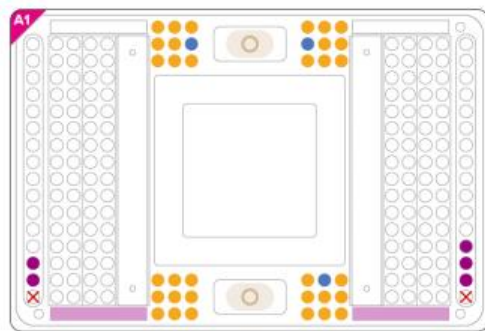
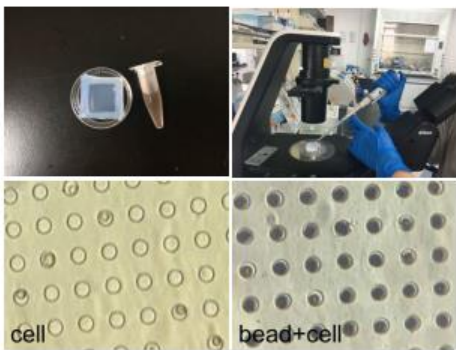
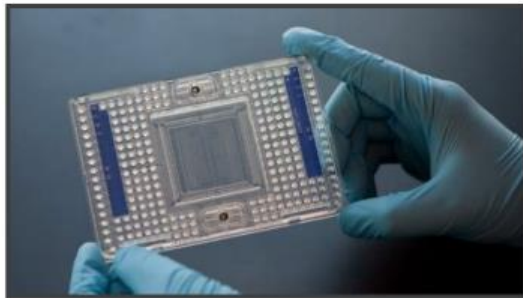
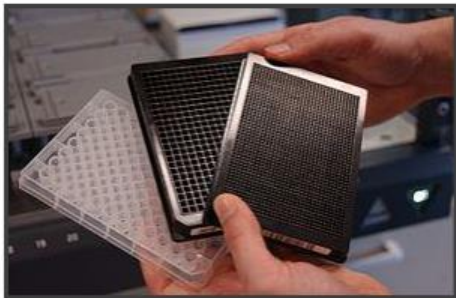
(肖宇彬等, 2023)



单细胞测序技术的普遍原理

单细胞测序的技术原理因平台不同而千差万别，但其中最为关键的两个步骤即**细胞捕获**与**分子定量**；

- 细胞捕获 (**capture**) 的技术不仅决定了细胞的筛选方式以及实验的通量，同时也间接反应了测序外的其他信息；目前三种最常用的方法是基于微孔**microwell-**，微流**microfluidic-** 以及微滴**droplet-** 的捕获平台；
- 针对RNA分子定量 (**quantification**)，目前主要基于全长 (**full-length**) 以及标签 (**tag-based**) 两种不同的方法进行；前者试图获取每个转录本覆盖度一致且独特的全长片段，而后者则是通过标签探针，捕获RNA的5' 或3' 端序列；



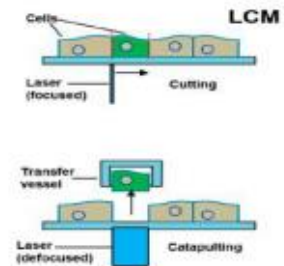
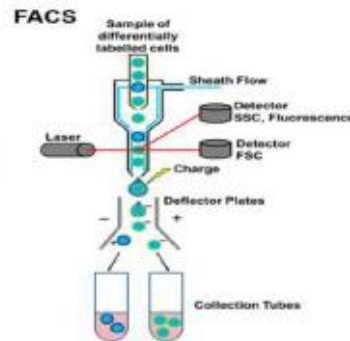
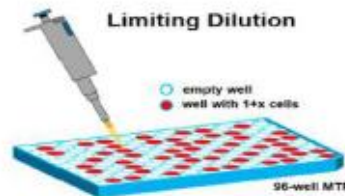
(详见技术原理将在第2-3次课讲解)

低通量单细胞获取技术

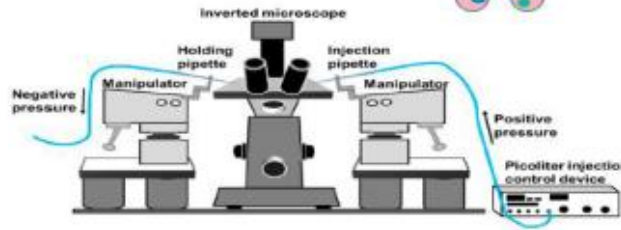
- 有限稀释法
- 流式细胞分选
- 激光显微切割
- 显微操作法



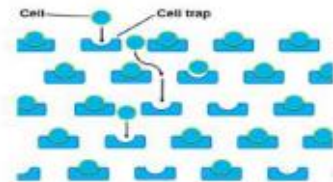
- 操作复杂
- 测序费用昂贵
- 整体分选细胞通量较小



Micromanipulator



Microfluidics



单细胞测序技术的主要分选方法

Andre, G. et al. *Int. J. Mol. Sci.* 2015

(详见技术原理将在第2-3次课介绍)

高通量单细胞获取技术

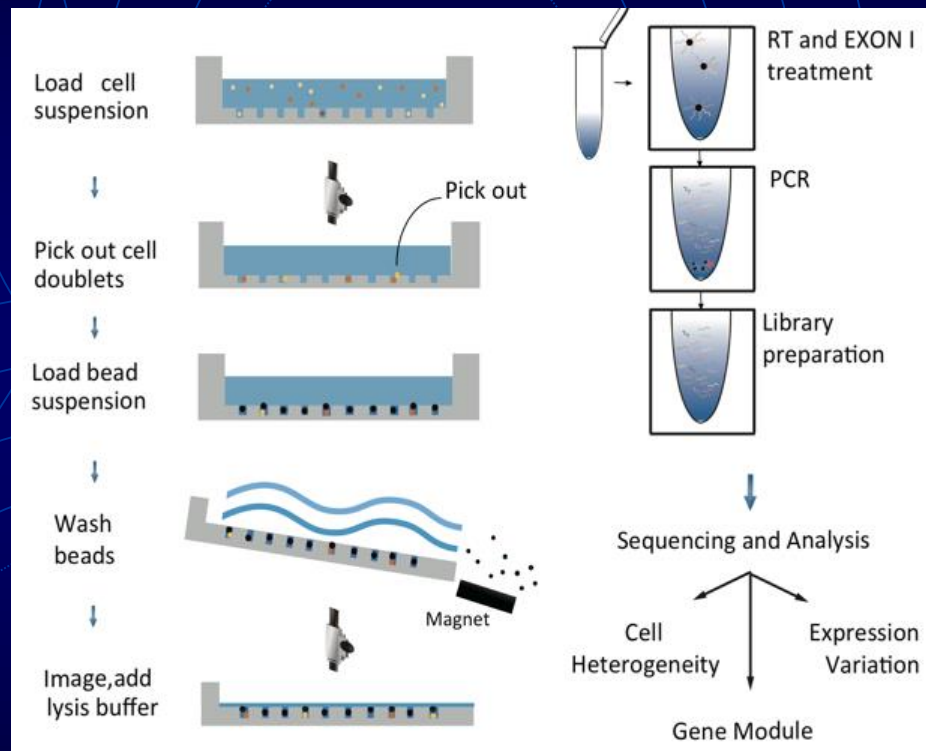
微流控交叉（十字）系统



Barcode技术



微流控系统



Microwell-seq

UMI: Unique Molecular Identifiers

(详见技术原理将在第2-3次课介绍)

3、单细胞数据科学

- 数据特征
- 数据分析流程或挖掘途径

普通转录组实验设计和数据结构（RNA-SEQ）

	处理#1			处理#2			处理#3		
\重复	样品#1	样品#2	样品#3	样品#1	样品#2	样品#3	样品#1	样品#2	样品#3
基因#1									
基因#2									
。 。 。									
基因# n									

* n = 基因组注释基因数量（一般包括几万个基因）

单细胞转录组数据结构

基因\单细胞	细胞#1	细胞#2	...	细胞# m
基因#1				
基因#2				
...				
基因# n				

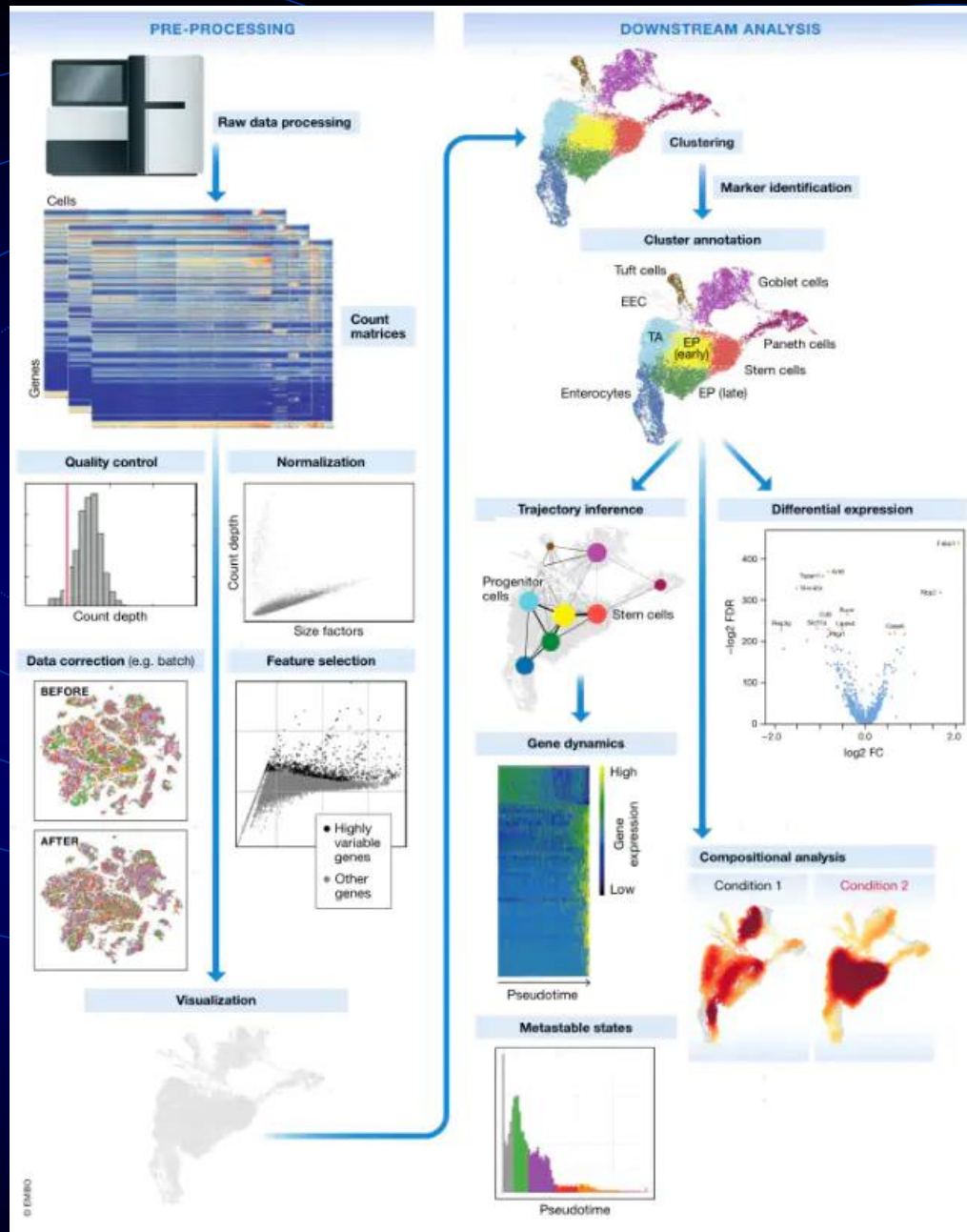
* n = 基因组注释基因数量（一般包括几万个基因）； m = 1000~几万个细胞（几十万个）

- 高维数据（特征基因选择、**聚类**、**降维**、可视化... ..）
- 稀疏性（存在较为严重的“Dropout”现象）

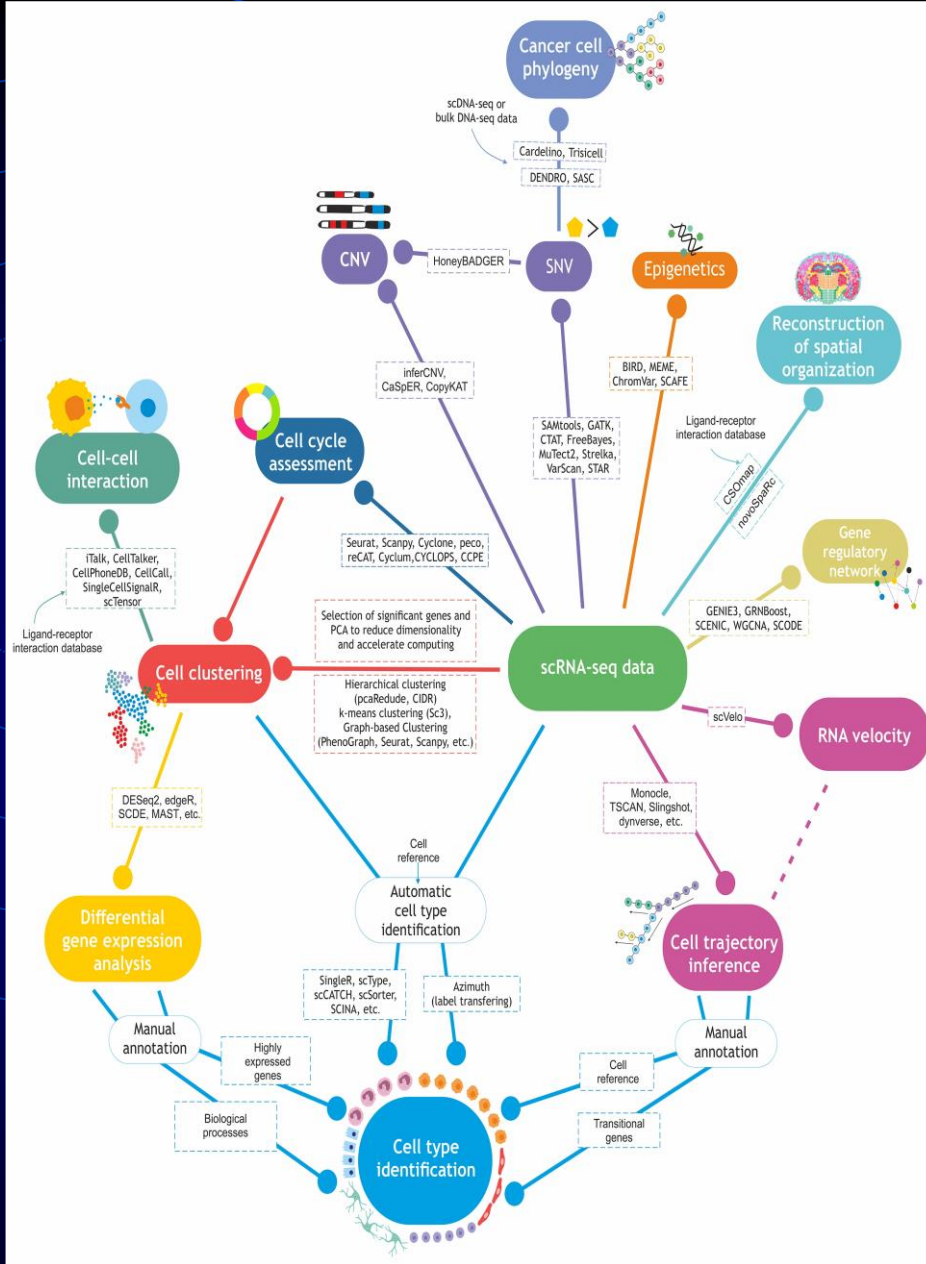
Gene

	A1BG	A1BGAS	A1CF	A2BP1	A2LD1	A2M	A2ML1	A4GALT	A4GNT	AAA1
0	1.404616	1.757044	0.000000	0.000000	2.307636	0.000000	0.000000	2.370025	0.000000	0.000000
1	1.927680	2.288482	0.197929	0.000000	4.201412	0.000000	0.066143	4.025129	0.000000	0.023890
2	2.274438	0.637149	1.717926	0.000000	4.561651	0.000000	0.142233	3.114005	0.000000	0.092719
3	1.538771	1.474944	0.187155	0.000000	2.640166	0.000000	0.000000	1.800865	0.000000	0.000000
4	2.437088	3.674402	0.101381	0.024059	2.531369	0.024685	0.000000	0.468862	0.000000	0.000000
5	1.619967	2.759249	1.540268	0.000000	2.788901	0.000000	0.056481	3.080599	0.000000	0.000000
6	2.390071	0.638948	2.021838	0.000000	3.862575	0.000000	0.000000	0.432018	0.000000	0.000000
7	1.798858	2.571043	2.320211	0.876816	3.592684	0.000000	0.000000	2.286957	0.000000	0.209902
8	0.349417	0.000000	4.407571	1.650986	6.862476	0.000000	2.596210	2.474495	0.000000	0.020369
9	3.229663	1.613466	3.592402	1.584856	6.605950	0.000000	0.956878	2.963343	0.000000	0.621838
10	1.806970	0.000000	3.811961	0.522018	6.566639	0.074005	2.152969	2.350321	0.000000	0.138615
11	2.339468	1.933793	2.688015	2.307222	6.800992	2.113804	1.856219	2.676042	0.000000	0.452849
12	3.625971	2.662882	0.499015	0.818577	5.483361	0.000000	1.237776	3.051841	0.000000	0.000000
13	3.286611	4.108935	1.585425	0.090460	5.744220	0.000000	0.048301	3.837878	0.000000	0.000000
14	2.494667	0.000000	0.000000	0.043461	5.254121	0.000000	1.407083	4.001333	0.000000	0.000000
15	2.422673	1.976069	2.683376	0.112772	5.024625	0.000000	0.009785	3.451741	0.000000	0.000000

Cell



早期经典数据框架 (Luecken and Theis, 2019)



最新分析框架之一 (Khozyainova et al., 2023)



单细胞测序技术汇总

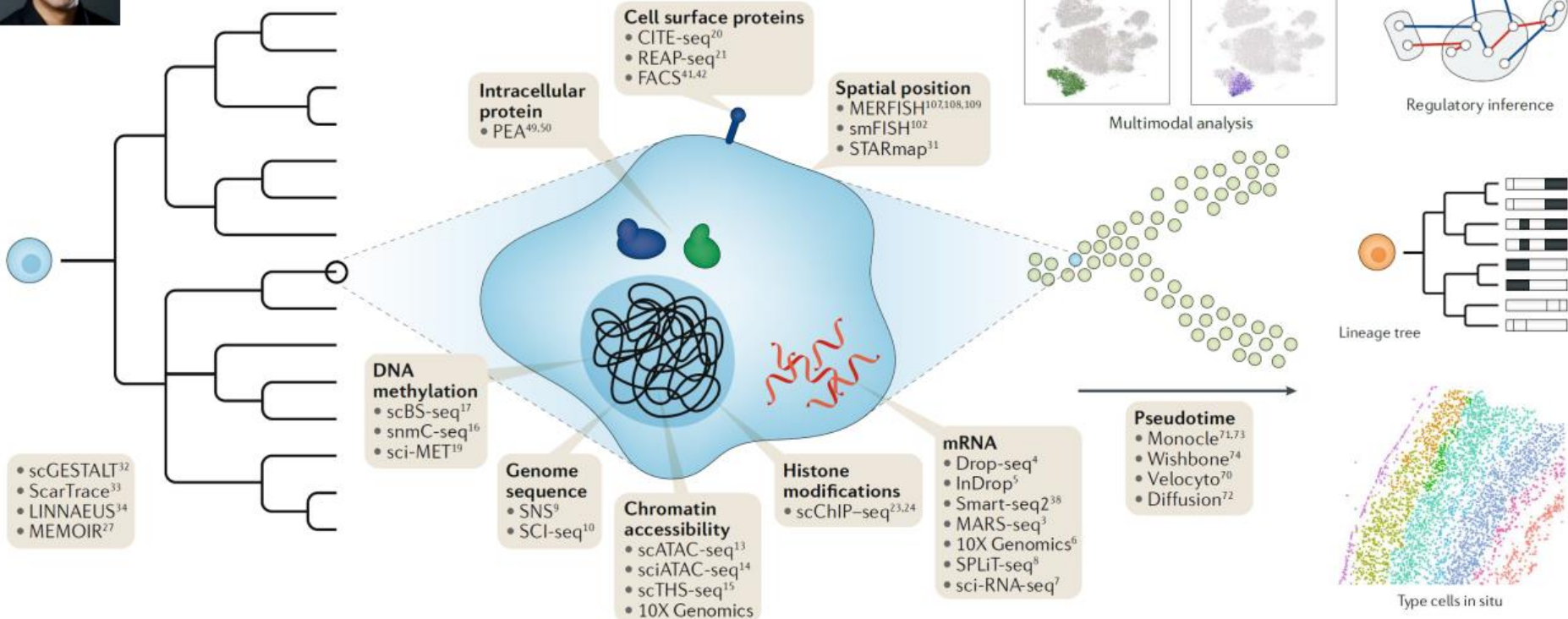
nature Integrative single-cell analysis



Rahul Satija

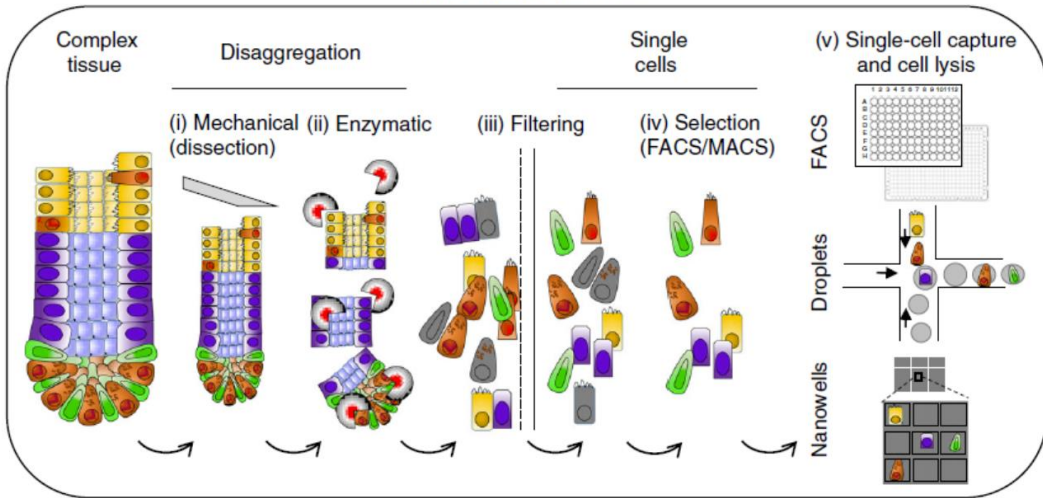
New York Genome Center

Seurat

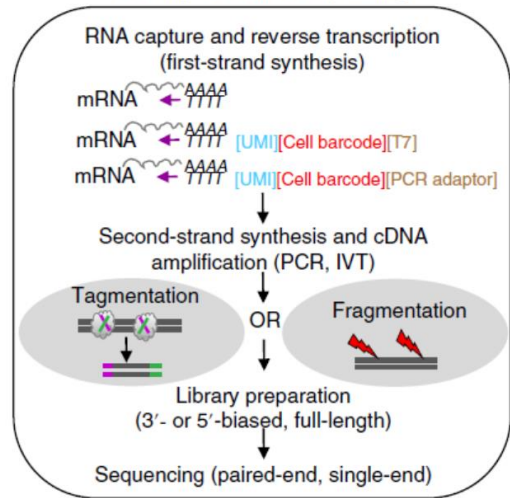


scRNA-seq 经典流程

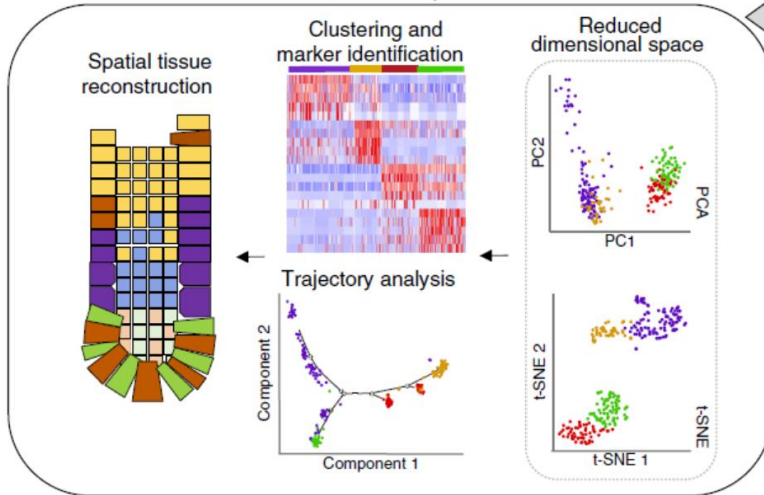
(1) Sample preparation



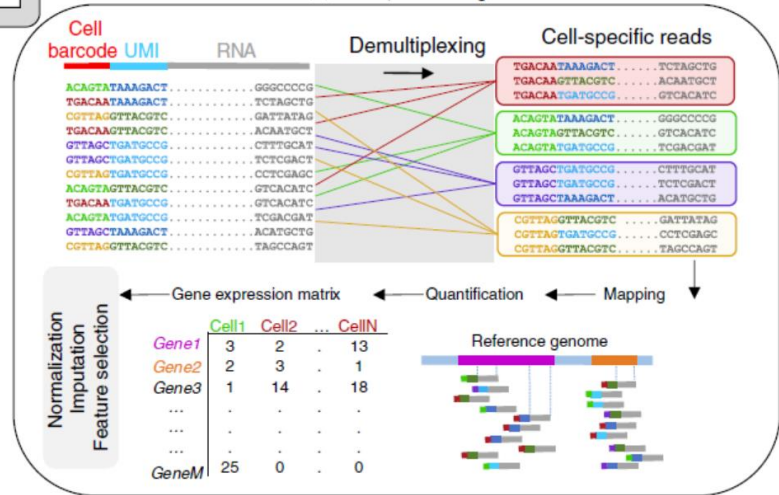
(2) Single-cell RNA sequencing



(4) Data analysis



(3) Data processing

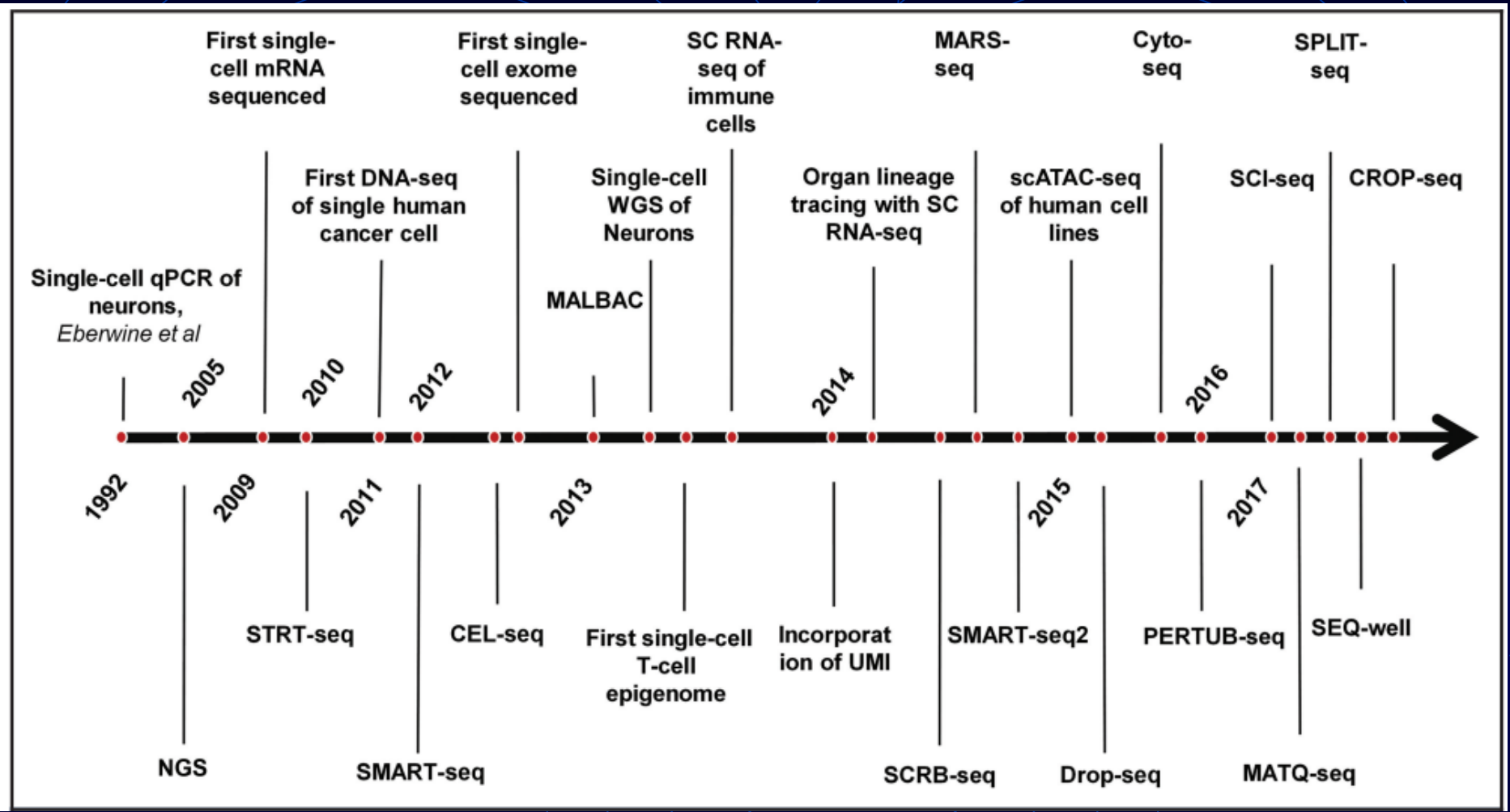


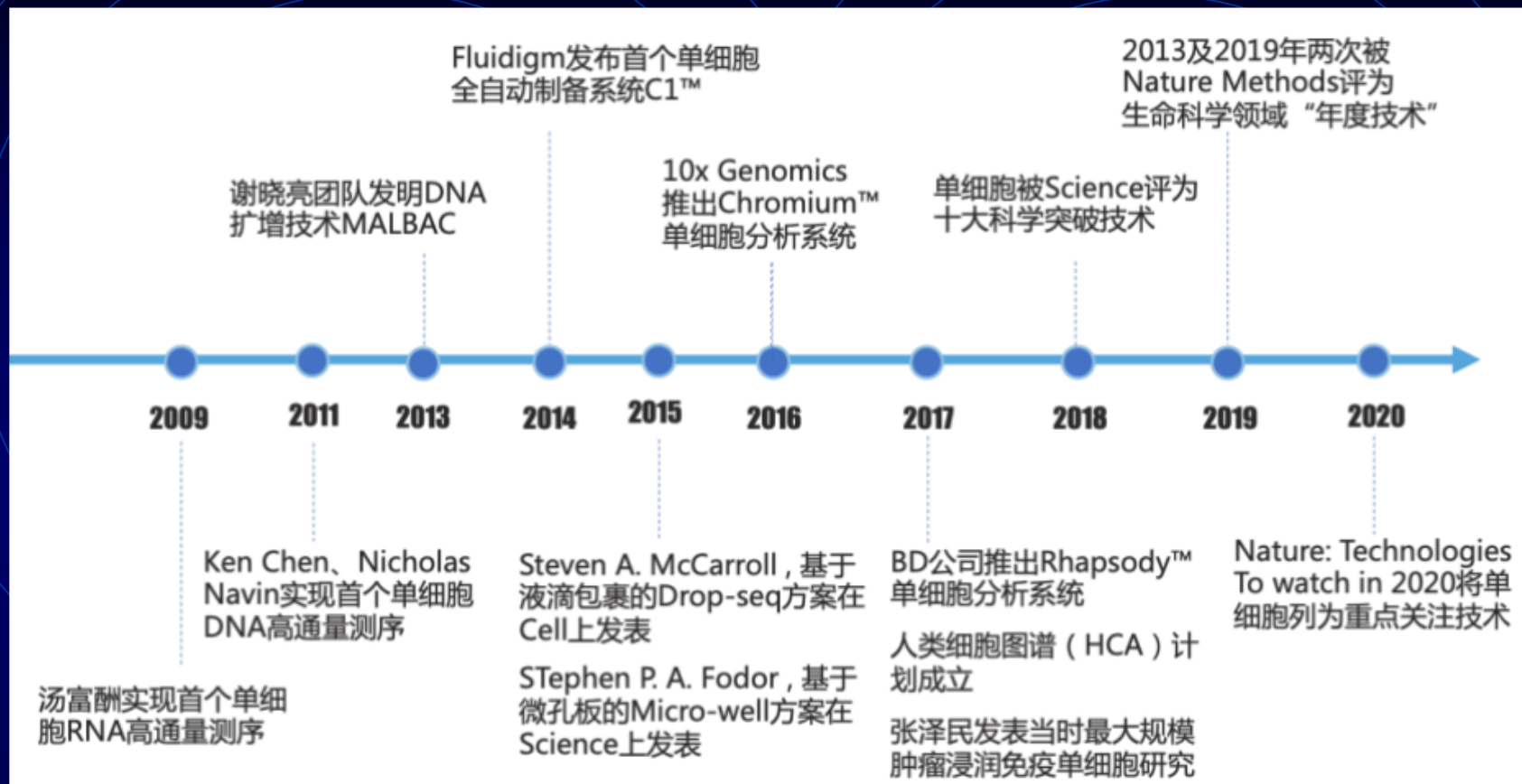
单细胞数据分析主要包括四个主要过程：

- 产生矩阵
 - 通过细胞解离、分离、细胞标记、核酸捕获、高通量测序和序列联配，就可以获得高通量的单细胞表达矩阵。
- 探索数据
 - 获得单细胞矩阵之后，接下来是简要探索数据的基本特征。从不同侧面观察数据，选取不同特征表现数据，不同分组间差异基因等分析（基础分析）
- 推断分析
 - 与数据探索不同，推断分析需要分析者具备一定的生物学背景，这样的推断才是有方向的，也才是有意义的。推断过程包括细胞层次的细胞发育轨迹推断，基因层次的调控与通路等（高级分析）
- 多方验证
 - 单细胞数据往往需要与其他实验验证或组学技术相互结合与验证

4、单细胞组学发展历史

- 学科发展历史：华人科学家成为焦点
- 单细胞组学的历史一般以2009年汤富酬等人发明单细胞转录组测序技术为起点
- 单细胞组学是一门实验技术驱动的学科





(汪亮, 张宇, 2020)

历史与人物

- 大卫·韦茨 (David A. Weitz)：美国国家科学院院士，美国艺术与科学院院士，美国国家工程院院士，中国工程院外籍院士，哈佛大学物理系、工程和应用科学学院教授
- 谢晓亮：中国科学院院士，生物物理化学家，曾任哈佛大学化学与化学生物系终身教授、Mallinckrodt讲席教授，北京大学李兆基讲席教授 [2]，北京大学理学部主任，北京昌平实验室主任
- 汤富酬：北京大学生命科学学院生物医学前沿创新中心 (BIOPIC) 研究员、清华大学-北京大学生命科学联合中心研究员、北京未来基因诊断高精尖创新中心研究员，北京大学生命科学学院BIOPIC中心教授。2021年9月13日，获第三届“科学探索奖”
- 邱肖杰：美国斯坦福大学助理教授，单细胞算法开发领域的知名研究者，在单细胞基因组领域做出了重要贡献。他开发了单细胞组学领域重要的算法工具并被广泛使用，其中就包括重建单细胞发育拟时轨迹的软件 Monocle2/3、单细胞RNA速率推断工具Dynamo。

(《单细胞组学》入选人物)

单细胞组学技术的发展经历了三个发展阶段

(1) 单细胞组学技术初创期 (2009-2015)

低细胞通量组学测序阶段 (单次测定细胞数量个位数到百位数)

(2) 单细胞高通量测序技术阶段 (2016-)


随着高通量 (每个反应测定细胞通量超过1000个细胞) 单细胞测序技术 Drop-seq的发明, 特别是10× Genomics公司Chromium技术平台的出现, 单细胞组学研究呈现爆炸式发展。

(3) 单细胞水平空间转录组阶段 (2022-)

2020年空间转录组技术被列为Nature Methods年度技术。2022年华大推出了时空组测序技术Stereo-seq。

人类细胞图谱计划及其他

- 人类细胞图谱计划（Human Cell Atlas, HCA）

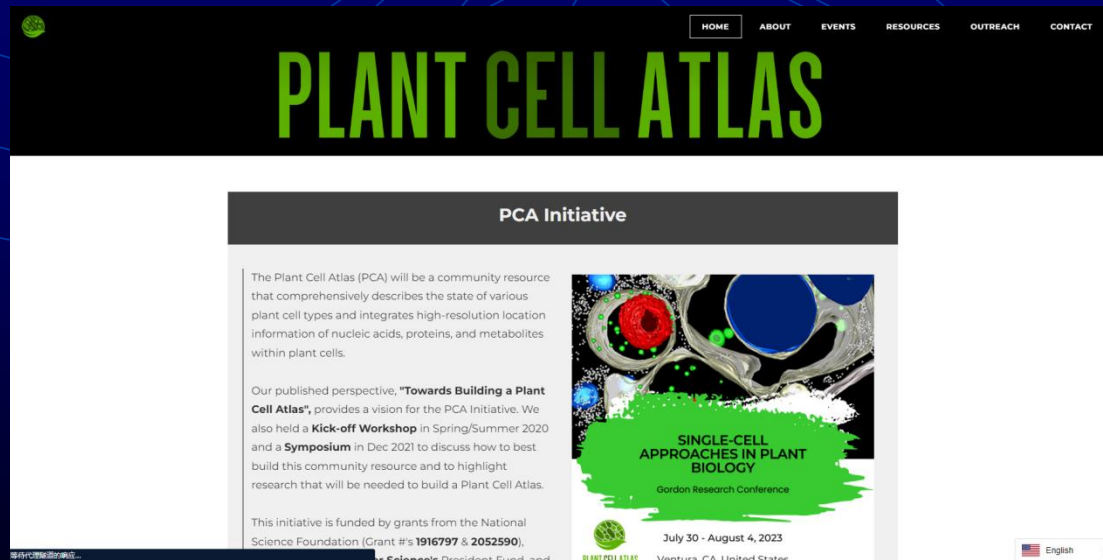


The image shows a screenshot of the Human Cell Atlas website. The header includes the logo (a blue circle with a cellular pattern) and the text "HUMAN CELL ATLAS". The navigation menu contains: Home, About HCA, COVID-19, Research, News, Publications, Data/DCP, and Resources. The main content area features the word "MISSION" in large white letters on a blue background, followed by the text: "To create comprehensive reference maps of all human cells—the fundamental units of life—as a basis for both understanding human health and diagnosing, monitoring, and treating disease."

(www.humancellatlas.org)

- HCA计划得到脸谱扎克伯格夫妇成立的基金会“Chan Zuckerberg Initiative”资助 (<https://data.humancellatlas.org/>)

- 植物细胞图谱（Plant Cell Atlas, PCA）
 - 国内队伍目前都没有参与PCA计划（www.plantcellatlas.org/，该主页国内访问不了，需翻墙进入），很封闭。



5、单细胞组学数据资源与分析工具

- 单细胞组学数据已成为目前增长最迅猛的生物分子数据：
 - 目前主要是转录组数据
- 综合性数据库
- 专业性数据库

Search NCBI

Search

Literature	Genes
Bookshelf 1,723	Gene 571
MeSH 17	GEO DataSets 353,358
NLM Catalog 387	GEO Profiles 44,928
PubMed 74,957	HomoloGene 0
PubMed Central 388,265	PopSet 116
Genomes	Clinical
Assembly 100	ClinicalTrials.gov 446
BioCollections 1	ClinVar 8
BioProject 18,734	dbGaP 32
BioSample 466,372	dbSNP 0
Genome 0	dbVar 4
Nucleotide 489,105	GTR 0
SRA 2,349,915	MedGen 6
Taxonomy 3	OMIM 203

2023-09-15



Single Cell Expression Atlas

Single cell gene expression across species

Home

Browse experiments

Download

Release notes

Help

Support

Search across 21 species, 355 studies, 10,505,726 cells

Search

拟南芥、水稻、番茄和玉米

Show experiments of all species

- EBI/EMBL, Single Cell Expression Atlas)
<https://www.ebi.ac.uk/gxa/sc/home>

专业数据库

- 见附件1

HCA



HUMAN CELL ATLAS
DATA PORTAL

[Explore](#)

[Guides](#)

[Metadata](#)

[Pipelines](#)

[Analysis Tools](#)

[Contribute](#)

[APIs](#)

[Updates](#)



Mapping the Human Body at the Cellular Level

Community generated, multi-omic, open data



48.8M
CELLS



7.6k
DONORS



391
PROJECTS



650
LABS

PlantscRNAdb: A database for plant single-cell RNA analysis *Chen et al., Mol. Plant, 2021*

PlantscRNAdb

Home

Statistic

Search

BLAST

JBrowse

References

Download

Help

PlantscRNAdb

A Database for Plant Single-cell RNA Analysis

Learn More

Release Info

第1版 (2021-4): 4个物种, 约2.5万个标记基因; 第2版 (2022-5): 8个物种, 约3.5万个标记基因;
第3版 (2023-8): 15个物种, 11.5万个标记基因



A. thaliana



O. sativa



S. lycopersicum



Z. mays



F. vesca



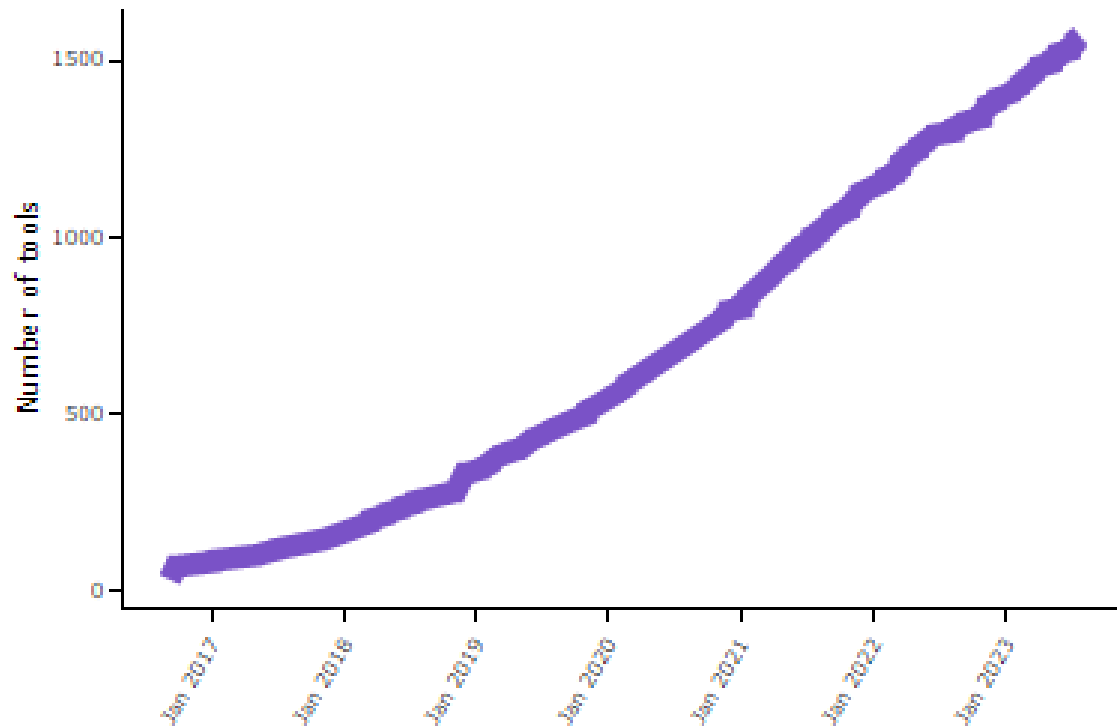
Populus



N. attenuata



L. minuta



We currently track **1567** tools...

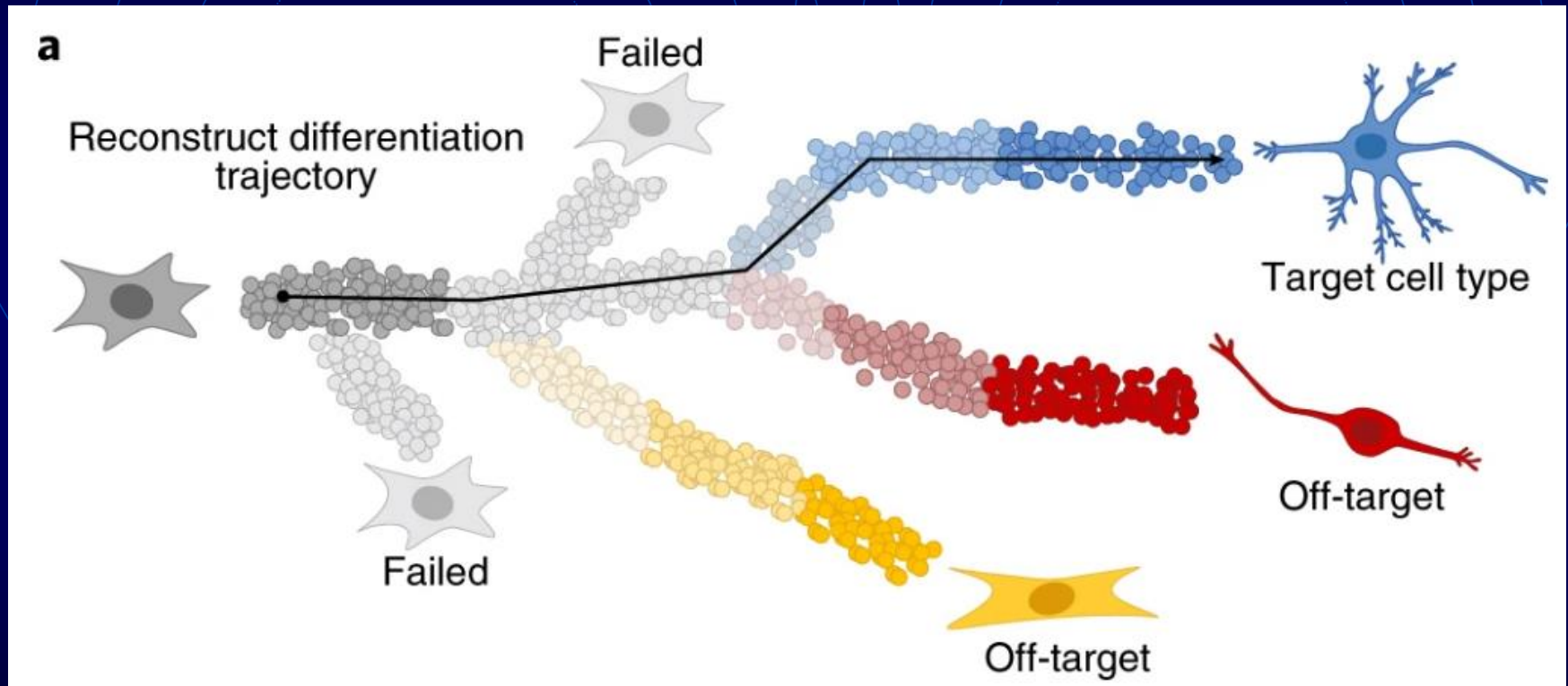
单细胞组学软件工具“scRNA-tools”数据库目前已收录1500多个工具
(<https://www.scrna-tools.org/>, 截止2023年8月)

二、单细胞组学技术优势及其应用

- 1、技术优势及其覆盖领域
- 2、医学领域应用
- 3、动植物微生物领域应用

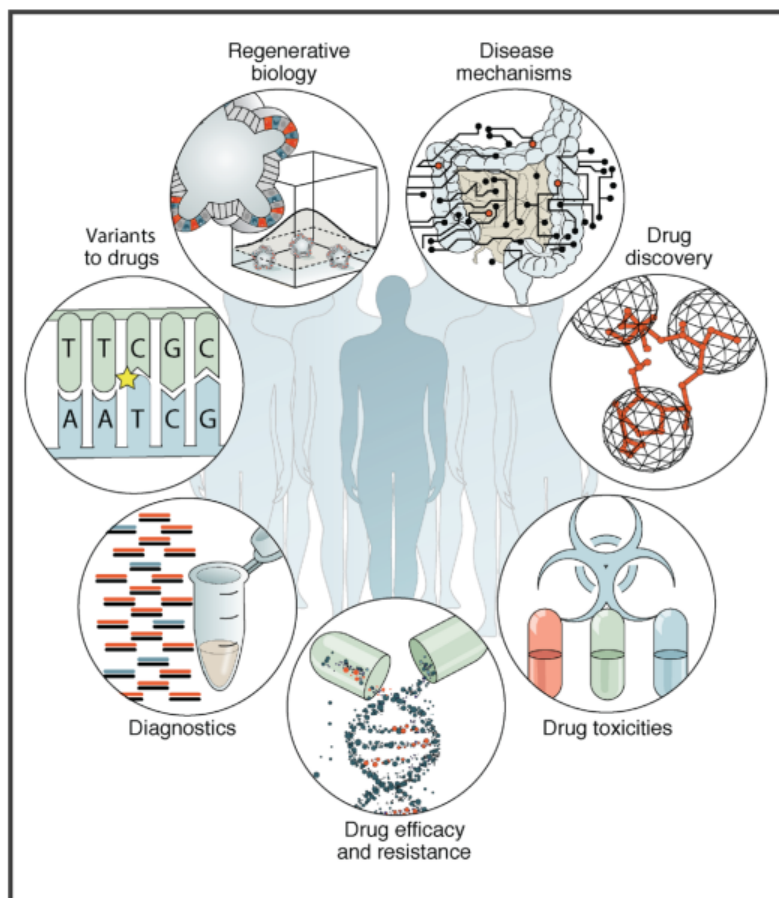
有哪些功能或内容是原来技术无法实现的？有什么发现？
通过应用案例进行介绍

单细胞分析的优势/意义：拟时序分析为例



(Camp et al., 2018)

2、单细胞组学技术医学领域应用



肿瘤异质性研究

研究肿瘤细胞异质性、肿瘤细胞分群以及新类型细胞的发现，寻找新的致病途径与分子机制；

干细胞分化以及组织器官发育研究

全面剖析干细胞异质性，鉴定不同表型的细胞，寻找不同类型干细胞的特异性标记，解析干细胞分化和发育的分子机理；

神经系统发育研究

研究神经细胞的异质性以及神经细胞的分群情况，有助于我们对神经系统的发育以及神经疾病的早期表现进行更加深入的理解；

免疫方向研究

分析并展示病原体导致的免疫细胞高度异质性，从而理解机体复杂的免疫机制；并且可以发现新的标记基因，结合特定膜蛋白抗体进行验证，便于更深层次地挖掘免疫反应的分子机理；

疾病分型

结合传统病理学特征，用于发现异常状态下产生变化的细胞类型，辅助疾病分型；

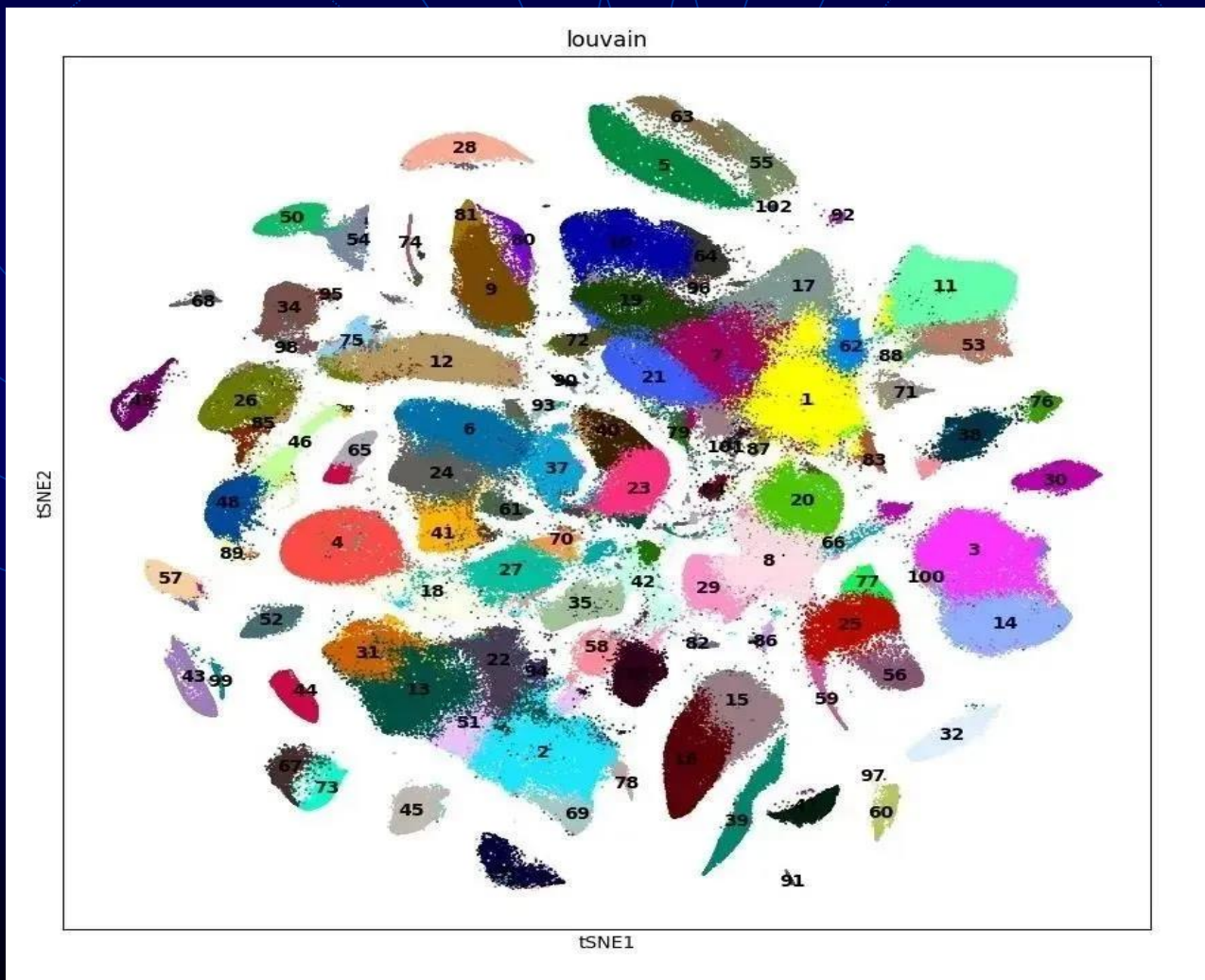
药物机制以及用药指导

分别从转录组和蛋白组的水平，验证靶点药物的有效性，以及不同个体耐药性的差异，从而辅助相关药物的开发与应用；

应用案例

- 细胞图谱——泛癌细胞图谱
- 免疫微环境——张泽民
- 团队开展的研究
 - FFPE样本（常规和穿刺样本）

人类细胞图谱



免疫微环境

Science

Current Issue

First release papers

Archive

About ▾

Submit ma

HOME > SCIENCE > VOL. 374, NO. 6574 > PAN-CANCER SINGLE-CELL LANDSCAPE OF TUMOR-INFILTRATING T CELLS

RESEARCH ARTICLE | CANCER IMMUNOLOGY



Pan-cancer single-cell landscape of tumor-infiltrating T cells

[LIANGTAO ZHENG](#) , [SHISHANG QIN](#) , [WEN SI](#) , [ANQIANG WANG](#) , [BAOCAI XING](#), [RANRAN GAO](#) , [XIANWEN REN](#) ,

[LI WANG](#), [XIAOJIANG WU](#), [...] [ZEMIN ZHANG](#) 

+10 authors

[Authors Info & Affiliations](#)

SCIENCE • 17 Dec 2021 • Vol 374, Issue 6574 • DOI: 10.1126/science.abe6474

FFPE样本（常规和穿刺样本）

- 见另外文件（论文）

nature communications



Article

<https://doi.org/10.1038/s41467-023-38409-5>

High-throughput single nucleus total RNA sequencing of formalin-fixed paraffin-embedded tissues by snRandom-seq

Received: 10 November 2022

Accepted: 27 April 2023

Published online: 12 May 2023

Check for updates

Ziye Xu^{1,2,14}, Tianyu Zhang^{3,14}, Hongyu Chen^{4,5,6,14}, Yuyi Zhu², Yuexiao Lv²,
Shunji Zhang⁷, Jiaye Chen⁸, Haide Chen², Lili Yang⁹, Weiqin Jiang¹⁰,
Shengyu Ni³, Fangru Lu³, Zhaolun Wang³, Hao Yang³, Ling Dong³, Feng Chen⁹,
Hong Zhang^{7,11}, Yu Chen¹, Jiong Liu³, Dandan Zhang^{12,13}, Longjiang Fan^{4,5,6},
Guoji Guo² & Yongcheng Wang^{1,2,7}

植物领域应用

- 已有研究：根、叶、生殖细胞等
- 团队开展的研究：
 - 烟草叶片长短柄腺毛细胞的鉴定
 - 种胚萌发单细胞时空组分析

2019年，玉米144个生殖细胞

题目：Defining the developmental program leading to meiosis in maize

杂志：Science

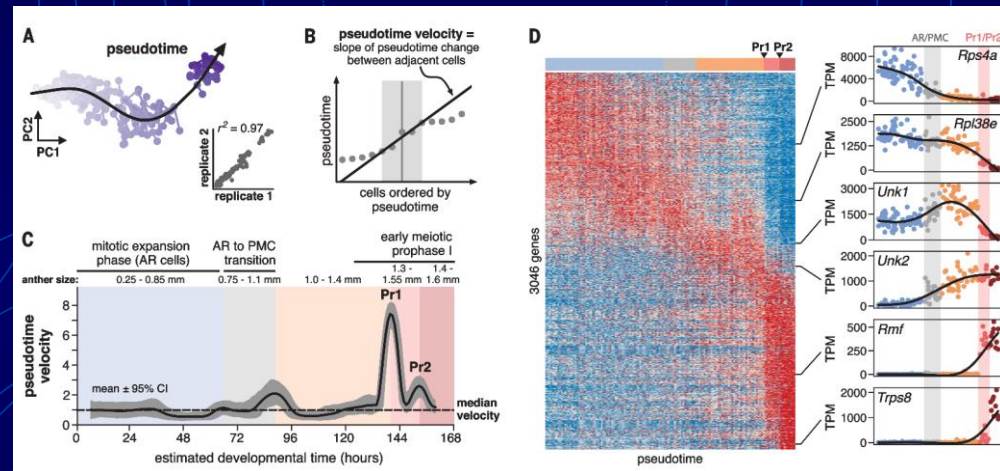
作者：Brad Nelms, Virginia Walbot

单位：斯坦福大学

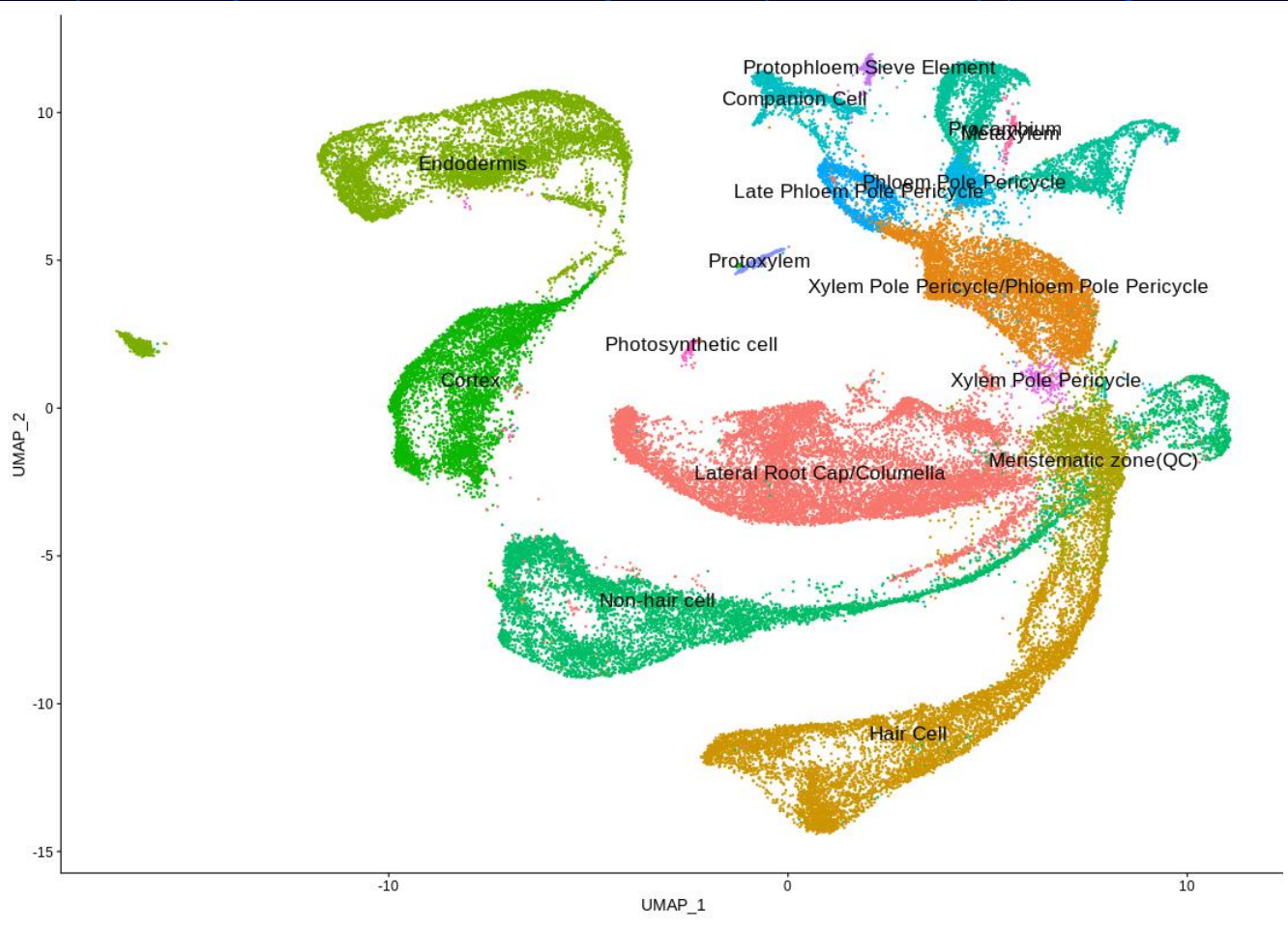
材料：maize floret

技术：10X magnification, Nikon Diaphot 手动解离; CEL-seq2

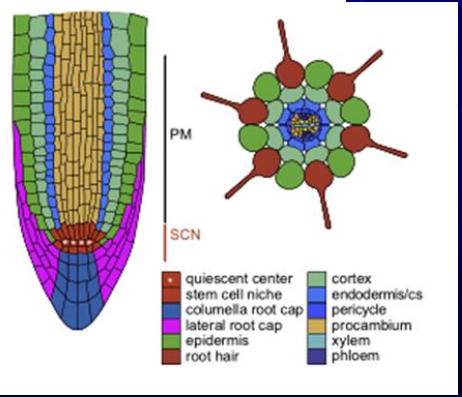
概述：发现减数分裂前基因表达平稳，细线期后出现两步转录组重构，其中26.7%的转录本发生了两倍或更多的丰富变化。对细胞周期基因表达的分析表明，几乎所有的胚前细胞都会增殖，从而消除了产生减数分裂细胞的干细胞模型。



(Nelms et al, 2019)



- Lateral Root Cap/Columella
- Xylem Pole Pericycle/Phloem Pole Pericycle
- Hair Cell
- Meristematic zone(QC)
- Endodermis
- Cortex
- Non-hair cell
- Procambium
- Companion Cell
- Phloem Pole Pericycle
- Late Phloem Pole Pericycle
- Protoxylem
- Protophloem Sieve Element
- Xylem Pole Pericycle
- Photosynthetic cell
- Metaxylem



植物单细胞文献

2020年，拟南芥子叶细胞(气孔细胞系)

题目: Global Dynamic Molecular Profiles of Stomatal Lineage Cell Development by Single-Cell RNA Sequencing

杂志: Molecular Plant

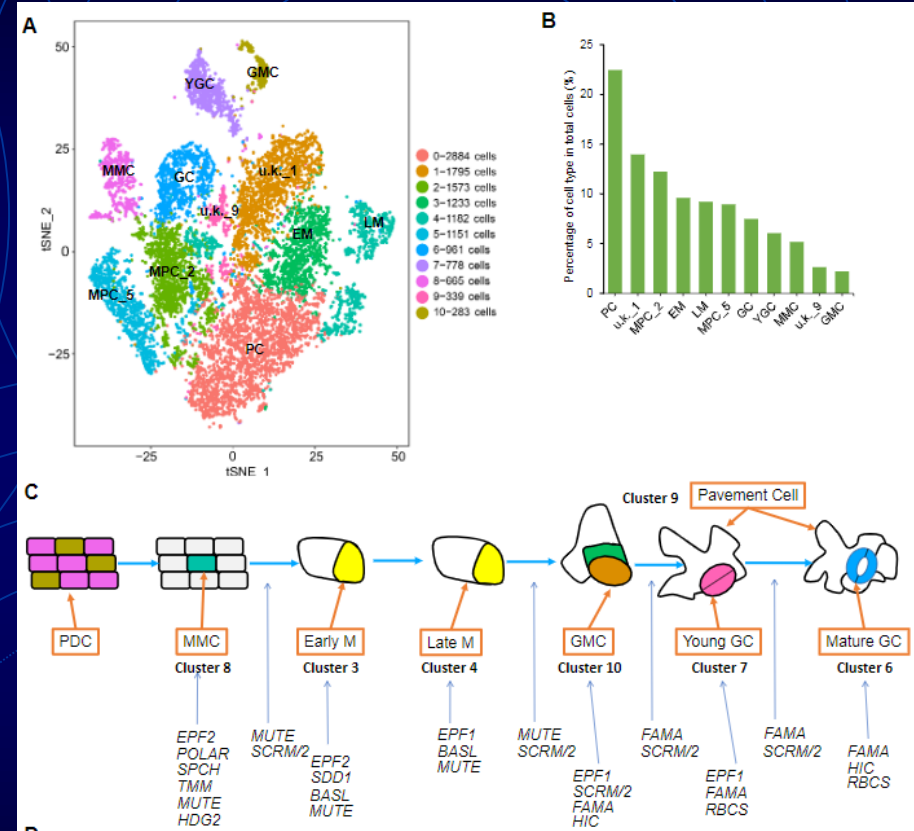
作者: Zhixin Liu, Yaping Zhou

单位: 河南大学

材料: 拟南芥幼苗子叶

技术: 10x Genomics

概述: 对五天大拟南芥幼苗的子叶中的12844个单个细胞进行了RNA测序。鉴定得到11个细胞簇, 这些簇主要对应于特定气孔发育阶段的细胞。在这些细胞簇中具有最高可变表达的基因的比较分析揭示了转录网络, 该网络调节从间质母细胞到保护母细胞的发育。通过伪时间分析检查标记基因的发育动力学揭示了它们之间的潜在相互作用。



(Liu et al., 2020)

微生物组

- 基因组 (Science)
- 团队开展的研究：
 - 转录组 (snRandom-seq)

微生物组基因组分析

- Zheng, W., Zhao, S., Yin, Y., Zhang, H., Needham, D.M., Evans, E.D., Dai, C.L., Lu, P.J., Alm, E.J., and Weitz, D.A. (2022). High-throughput, single-microbe genomics with strain resolution, applied to a human gut microbiome. *Science* 376, eabm1483.



bioRxiv

THE PREPRINT SERVER FOR BIOLOGY

New Results

[Follow this preprint](#)

Microbe-seq: high-throughput, single-microbe genomics with strain resolution, applied to a human gut microbiome

Wenshan Zheng, Shijie Zhao, Yehang Yin, Huidan Zhang, David M. Needham, Ethan D. Evans, Chengzhen L. Dai, Peter J. Lu, Eric J. Alm, David A. Weitz

doi: <https://doi.org/10.1101/2020.12.14.422699>

This article is a preprint and has not been certified by peer review [what does this mean?].



Abstract

Full Text

Info/History

Metrics

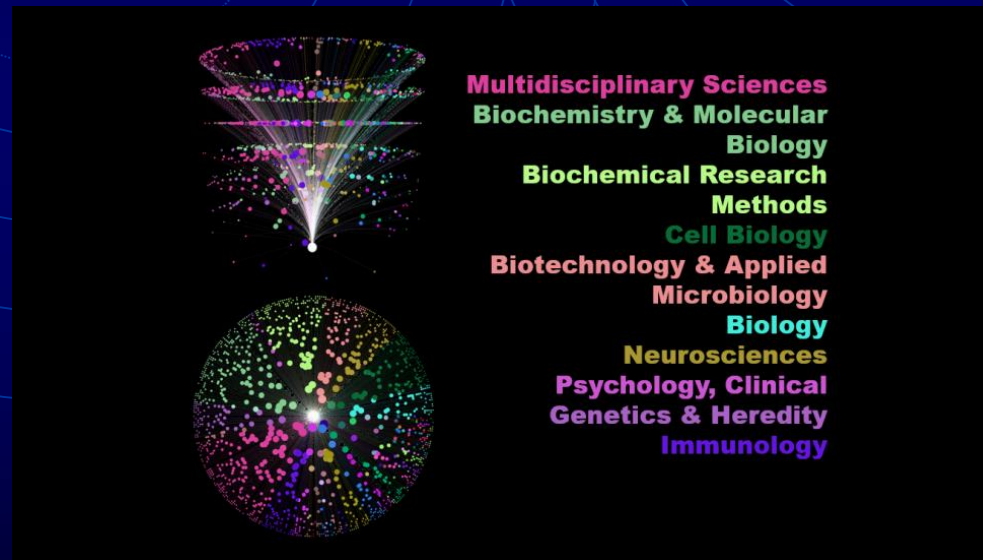
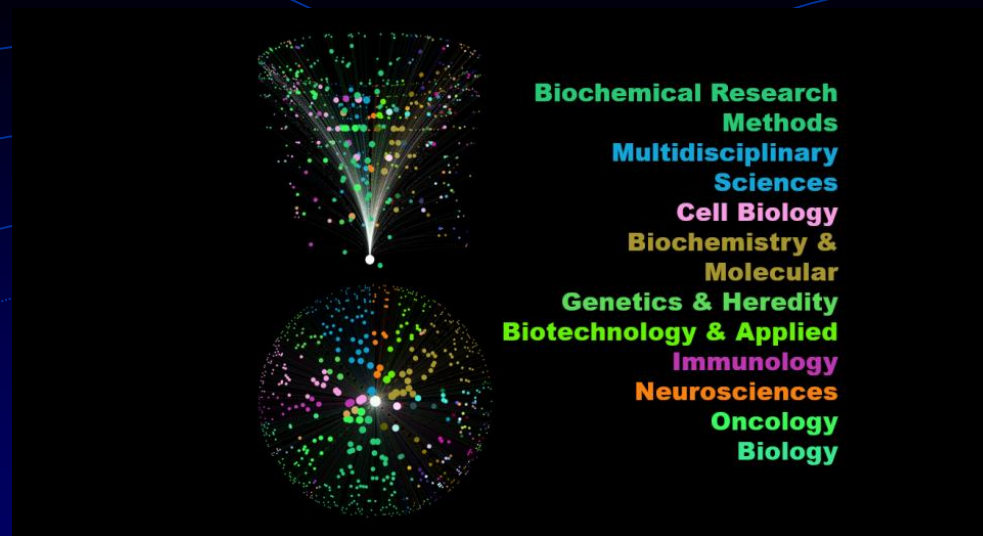
Preview PDF

Abstract

We present *Microbe-seq*, a high-throughput single-microbe method that yields strain-resolved genomes from complex microbial communities. We encapsulate individual microbes into droplets with microfluidics and liberate their DNA, which we amplify, tag with droplet-specific barcodes, and sequence. We use *Microbe-seq* to explore the human gut microbiome; we collect stool samples from a single individual, sequence over 20,000 microbes, and reconstruct nearly-complete genomes of almost 100 bacterial species, including several with multiple subspecies strains. We use these genomes to probe genomic signatures of microbial interactions: we reconstruct the horizontal gene transfer (HGT) network within the individual and observe far greater exchange within the same bacterial phylum than between different phyla. We probe

三、单细胞组学展望

- 1、单细胞组学发展趋势
- 2、面临的挑战



单细胞组学经典论文引用树。图中列出了两篇文章的引用树，分别是单细胞组学开篇之作（Tang et al., 2009）（A）和Drop-seq技术发明文章（Macosko et al., 2015）（B）。

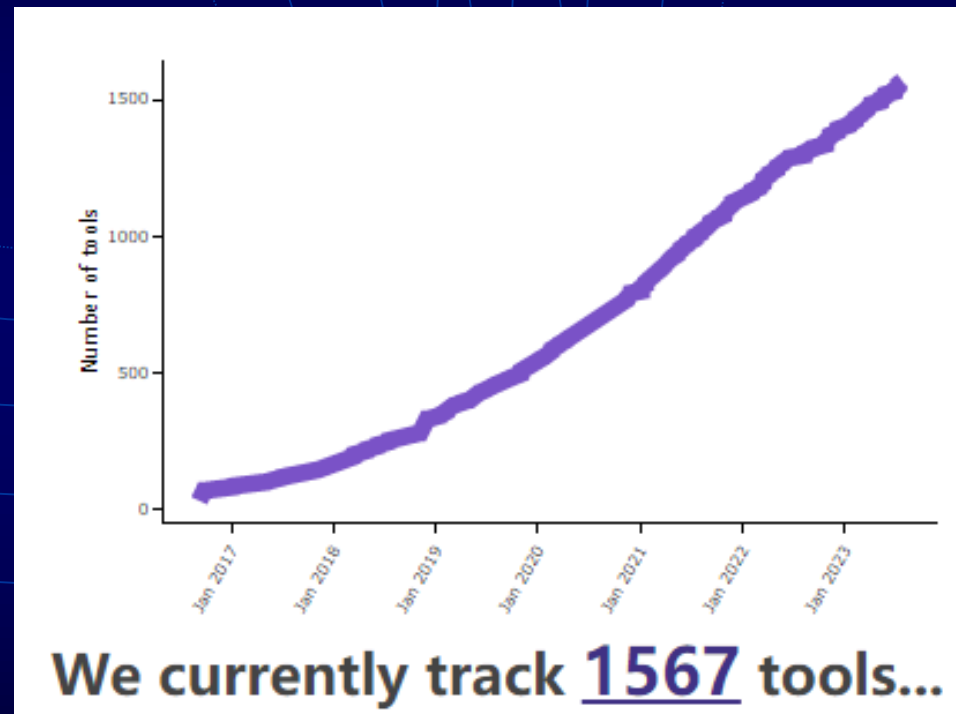
1、单细胞组学发展趋势

- ✓ 单细胞或单核测序技术研发热点持续
- ✓ 从单组学向多组学技术快速发展
- ✓ 单细胞空间组学技术成为新增长点
- ✓ 新算法新软件依然单细胞组学研究焦点

单细胞或单核测序技术研发热点持续

- 现有技术的优化和提升
 - 目前主流10X Genomics: PolyA抓取
 - 基于随机引物抓取: snRandom-seq (Xu et al., 2023, NC)
- 应用场景复杂
 - FFPE样本
 - 微生物和微生物组样本
 - 植物样本

新算法新软件依然单细胞组学 研究焦点



单细胞组学软件工具“scRNA-tools”数据库目前已收录1500多个工具
(<https://www.scrna-tools.org/>, 截止2023年8月)

2、面临的挑战

- ✓ 应用场景复杂，单细胞测序技术难点多
- ✓ 单细胞空间组学数据分析面临挑战
- ✓ 单细胞组学需要数据科学创新
- ✓ 单细胞测序通量与功能覆盖矛盾

应用场景复杂，单细胞测序技术难点多

- FFPE样本
- 微生物和微生物组样本
- 植物样本

单细胞组学需要数据科学创新

- 降维可视化方法 (tSNE\UMAP)
- 拟时分析算法
- RNA速率算法
- ?

本讲小结

- 单细胞组学概念
- 单细胞组学技术优势及其应用场景
- 单细胞组学技术及其应用的难点