

空间转录组

生信帮

云南农业大学

云南省生物大数据重点实验室

2023年8月13日

目录



雲南農業大學
Yunnan Agricultural University

云南省生物大数据重点实验室



生信帮

第一章

10X空间转录组技术简介

第二章

10X空间转录组数据基础分析

第三章

10X空间转录组数据注释

第四章

10X空间转录组多样本分析

目录



雲南農業大學
Yunnan Agricultural University

云南省生物大数据重点实验室



生信帮

第一章

10X空间转录组技术简介

第二章

10X空间转录组数据基础分析

第三章

10X空间转录组数据注释

第四章

10X空间转录组多样本分析

一、10X空间转录组技术简介



雲南農業大學
Yunnan Agricultural University

云南省生物大数据重点实验室



生信帮

- 1.空间转录组与单细胞转录组有何异同？
- 2.空间转录组技术可以解决什么科学问题？

一、10X空间转录组技术简介

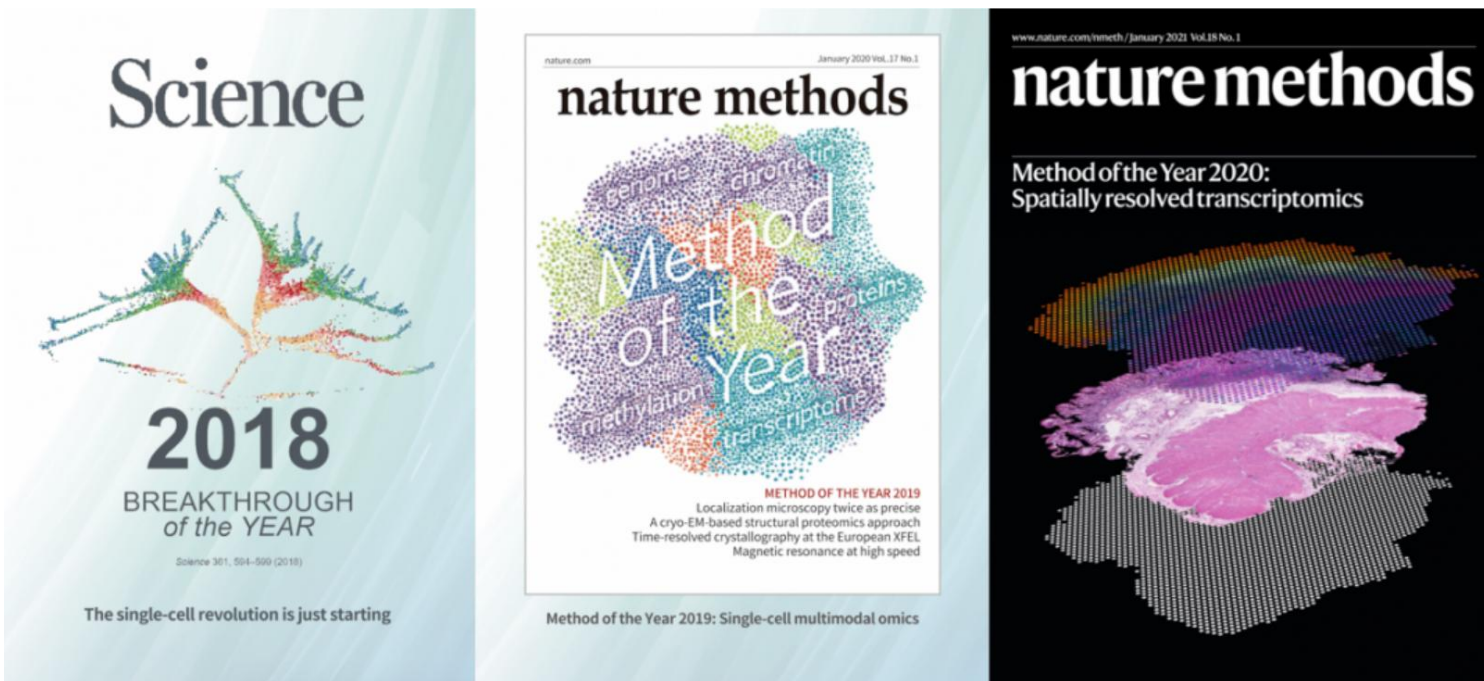


雲南農業大學
Yunnan Agricultural University

云南省生物大数据重点实验室



生信帮



Method of the Year: spatially resolved transcriptomics

Our choice for the 2020 Method of the Year is spatially resolved transcriptomics. The cover depicts an example of data generated by spatially resolved transcriptomics technology. Middle layer: H&E-stained small intestine section. Bottom layer: mRNA capture platform (for example, barcoded microarray or beads). Top layer: RNA-seq data from the small intestine section

- “单细胞转录组技术”被Science评为2018年年度突破技术
- “单细胞多组学技术”被Nature Methods评为2019年年度技术方法
- “空间转录组技术”被评为2020年年度技术方法
- “空间多组学（Spatial multi-omics）”技术在2022年上榜Nature的年度关注七大榜单技术
- “空间组学（Spatial omics）”入选《2023年十大新兴技术报告》

<https://www accuramed.com/newsinfo/1095254.html>

<https://www.nature.com/articles/s41592-020-01033-y>

<https://www.10xgenomics.com/blog/spatially-resolved-transcriptomics-a-bright-future-ahead>

https://mp.weixin.qq.com/s/cWp21CzNF4_VBXTGtrPXNA

一、10X空间转录组技术简介

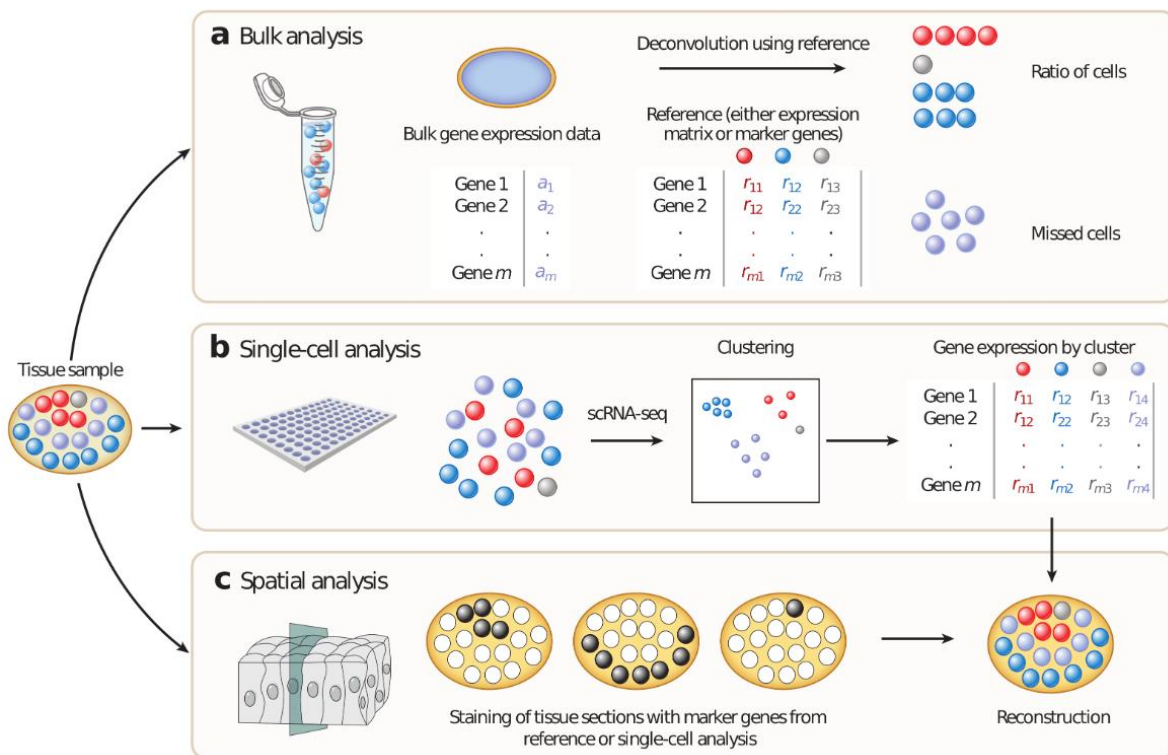


雲南農業大學
Yunnan Agricultural University



生信帮

云南省生物大数据重点实验室



冰沙

Bulk RNA Sequence

对大量混合细胞进行转录组测序



水果沙拉

scRNA Sequence

对单细胞进行转录组测序，对细胞基因表达的认识推进到单细胞的层面



水果馅饼

spatial transcriptome

转录组研究开始进入空间转录组。

该技术可以同时获得细胞的空间位置信息和基因表达数据

扩展精度：由多细胞到单细胞

扩展空间：由无序到有序

<https://www.nature.com/articles/s41368-021-00146-0>
<https://urszulaczerwinska.github.io/UCzPhDThesis/intro.html>

一、10X空间转录组技术简介



雲南農業大學
Yunnan Agricultural University



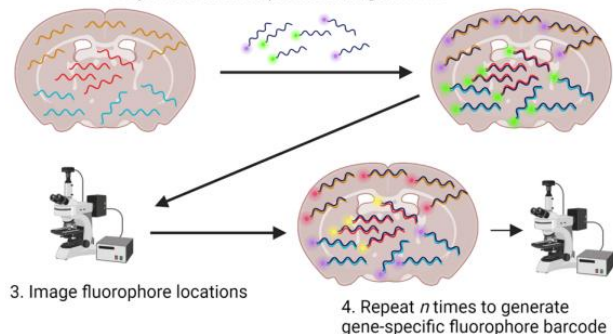
生信帮

云南省生物大数据重点实验室

Imaging methods

ISH

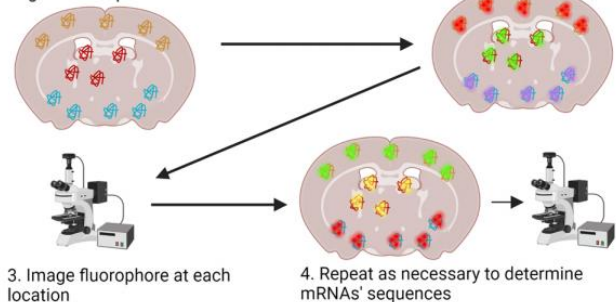
1. Hybridise labelled probes to target mRNA



ISS

1. Rolling circle amplification of target transcripts

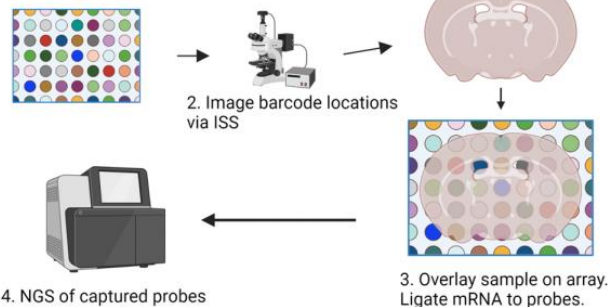
2. Hybridise short, labelled probes to determine 1-2nt of transcript's sequence



Sequencing methods

Arrays

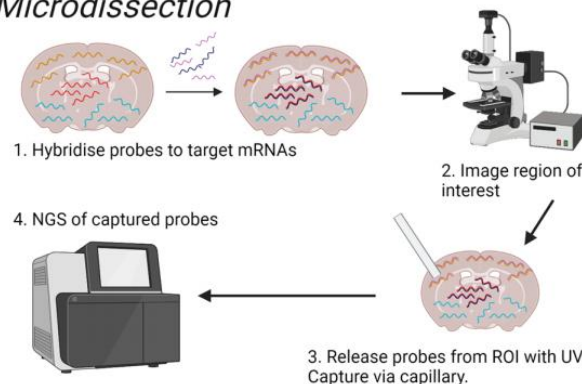
1. Array of spatially barcoded probes



Microdissection

1. Hybridise probes to target mRNAs

4. NGS of captured probes



空间转录组技术分类

基于成像的空间转录组学技术

通过显微镜对mRNAs进行原位成像，对mRNAs进行原位成像时，还必须有区分不同mRNA种类的方法，即原位杂交（ISH）或原位测序（ISS）

基于测序的空间转录组学技术的基础

从组织中提取mRNAs，同时保留空间信息，随后通过高通量测序（NGS）技术对mRNA种类进行分析。

保存空间信息的常见方法是：（1）通过直接捕获和记录位置，如通过显微切割和微流体技术，以及（2）通过将mRNAs与芯片中的空间编码探针连接。

空间转录组学：统计组织中不同**空间位置**的**基因转录本数量**

一、10X空间转录组技术简介



空间转录组技术	Read-out	分辨率	覆盖度	靶标数量	组织类型
NGS based	10X Visium	55 μm		>10,000	FFPE, FF
	Slide-seq	10 μm		>10,000	FF
	Slide-seq	10 μm		>10,000	FF
	XYZseq	500 μm 微孔中的单细胞		10,000	FFPE, FF
	HDST	2 μm		>10,000	FF
	Stereo-seq	芯片上0.22 μm		>10,000	FF
	ZipSeq	单细胞		>10,000	活细胞
	Pick-seq	5-20细胞		>10,000	FFPE, FF
	DBiT-seq	10 μm		>10,000	FF
	Seq-Scope	芯片上~0.6 μm		>10,000	FF
In situ sequencing based	FISSEQ	亚细胞		16,000	FFPE, FF
	STARmap	单细胞		1020	FF
In situ hybridization based	MERFISH	循环成像	亚细胞	>10,000	FF
	Seq-FISH+	循环成像	亚细胞	>10,000	FF
	DSP	测序	200 μm	1600	FFPE

空间转录组技术分类，不同类别的技术特点

- 测序深度：测多少数据量
- 分辨率：spot大小
- 覆盖度：能够检测到的基因个数
- 组织类型：FF新鲜冷冻，FFPE石蜡包埋，活细胞

一、10X空间转录组技术简介



雲南農業大學
Yunnan Agricultural University

云南省生物大数据重点实验室

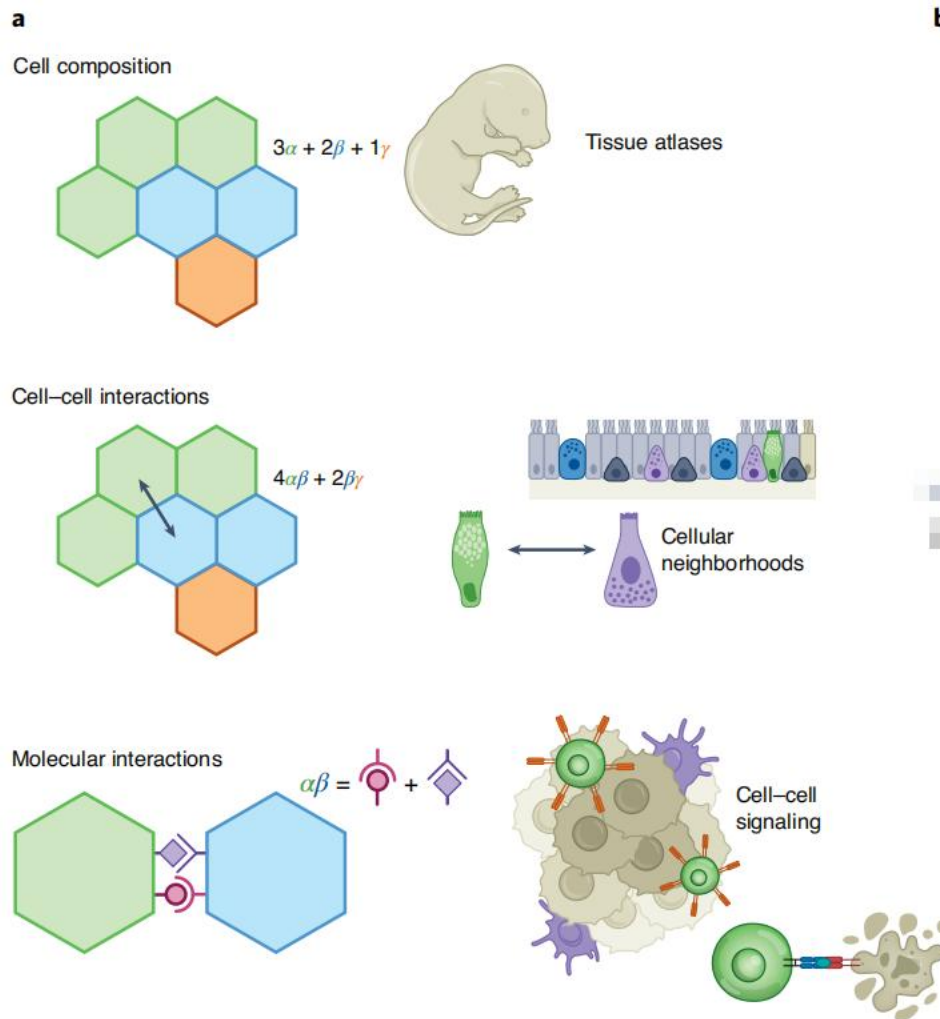


生信帮

应用方向

ST技术能够对完整组织切片中转录组的RNA进行量化。广义而言，ST最适合回答三种生物问题：

- 一、可以阐明组织的细胞类型组成；
- 二、第二类问题与细胞相互作用有关；
- 三、最后可以帮助阐明组织成分之间的分子相互作用。



一、10X空间转录组技术简介



雲南農業大學
Yunnan Agricultural University

云南省生物大数据重点实验室



生信帮

5号（柱原基出现）和6号
花苞（花粉块形成）

7号花苞（唇瓣、蕊柱足形成）

8号花苞（花器官成熟）

冷冻OCT包埋组织

10x Visium空间转录组

时空图谱

空间基因表达特征
空间聚类分群
MADS-box基因空间表达分布
拟时序分析
功能富集分析
clusters PCA分析

案例1：10x Visium植物空间转录组国内首秀：兰花器官发生的时空图谱

标题：A spatiotemporal atlas of organogenesis in the development of orchid flowers

DOI: 10.1093/nar/gkac773

杂志：Nucleic acids research (IF=19.160) 2022-12-22

作者：复旦大学戚继研究员团队和江西农业大学国春策教授团队

本研究应用10x Visium空间转录组技术对兰科植物蝴蝶兰（*Phalaenopsis Big Chili*）的花器官的发育过程进行了研究。通过分析数千个与花发育相关基因的空间表达分布，高分辨率地识别了兰花早期发育的多种细胞类型。

一、10X空间转录组技术简介

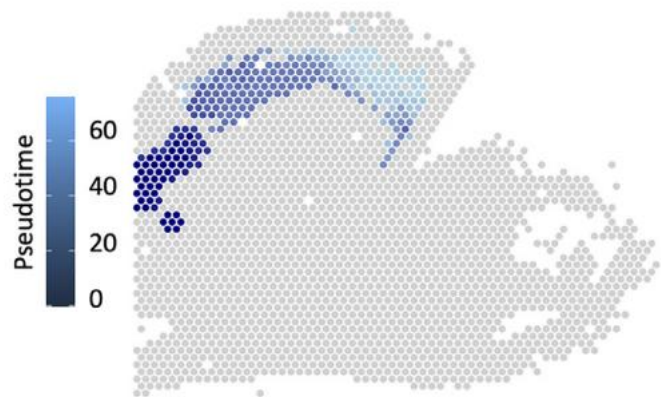
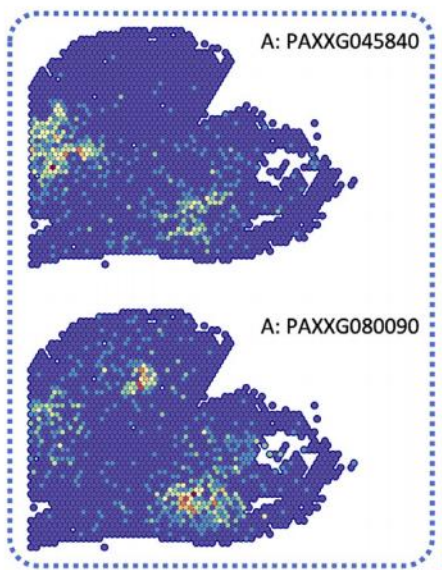
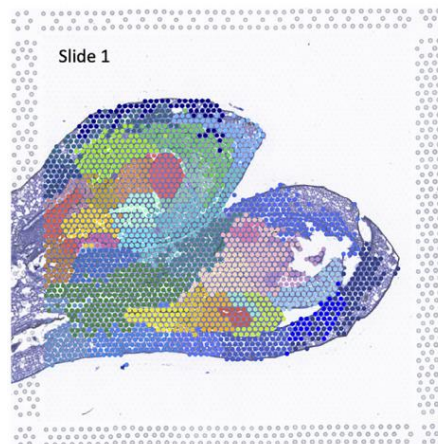
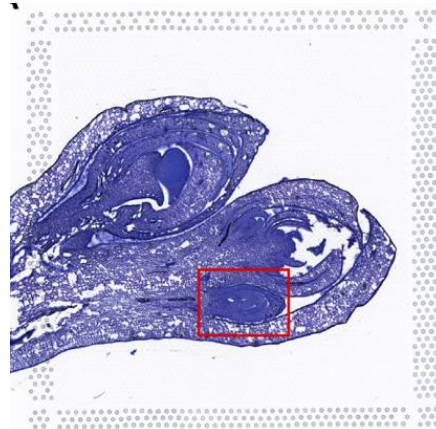


雲南農業大學
Yunnan Agricultural University

云南省生物大数据重点实验室



生信帮



案例1：10x Visium植物空间转录组国内首秀：兰花器官发生的时空图谱

- 切片组织形态学：花被片、唇瓣和花柱组织中的beads聚类性较好，且与相应的组织形态学检测的观察结果高度一致。
- 特定基因的空间模式分布：蝴蝶兰中的21个ABCDEG类MADS-box基因中，有15个基因在空间转录组数据集上检测到表达信号，且在不同组织部位呈现出优先或特异的表达模式
- 空间拟时序分析：持续激活的分生组织细胞群参与花被片的形成

一、10X空间转录组技术简介

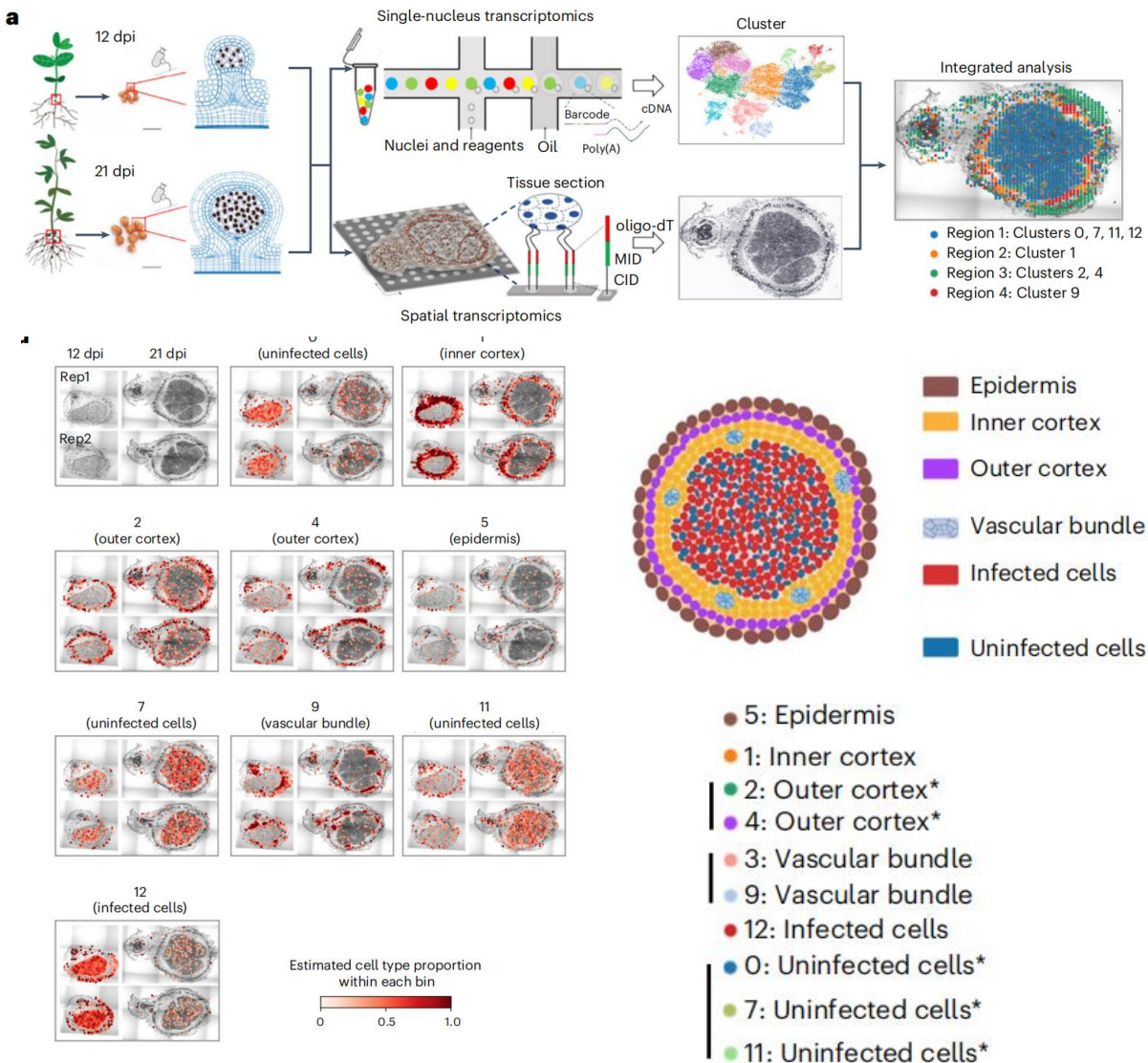


雲南農業大學
Yunnan Agricultural University



生信帮

云南省生物大数据重点实验室



案例2：单细胞核与空间转录组学联合揭示大豆根瘤成熟过程中的动态特征

标题：Integrated Single-Nucleus and Spatial Transcriptomics Captures Transitional States in Soybean Nodule Maturation

DOI: 10.1038/s41477-023-01387-z

杂志：Nature Plants (IF=17.352) 2023年4月13日

作者：中国农业科学院作物科学研究所邱丽娟课题组阎哲研究员与南方科技大学翟继先课题组

本研究联合scRNA-seq、**Stereo-seq**、RNA原位杂交等技术对大豆根瘤成熟过程中细胞类型特异性的动态基因表达进行全面研究，构建了大豆根瘤的细胞图谱，并确定了稀有细胞亚型及其对根瘤成熟和功能的重要作用。

分析点：空间细胞类型注释、细胞在空间上的位置分布

一、10X空间转录组技术简介



雲南農業大學
Yunnan Agricultural University



生信帮

云南省生物大数据重点实验室

案例3：单细胞和空间测序确定角质形成细胞和成纤维细胞放大银屑病炎症反应的过程

标题：Single cell and spatial sequencing define processes by which keratinocytes and fibroblasts amplify inflammatory responses in psoriasis

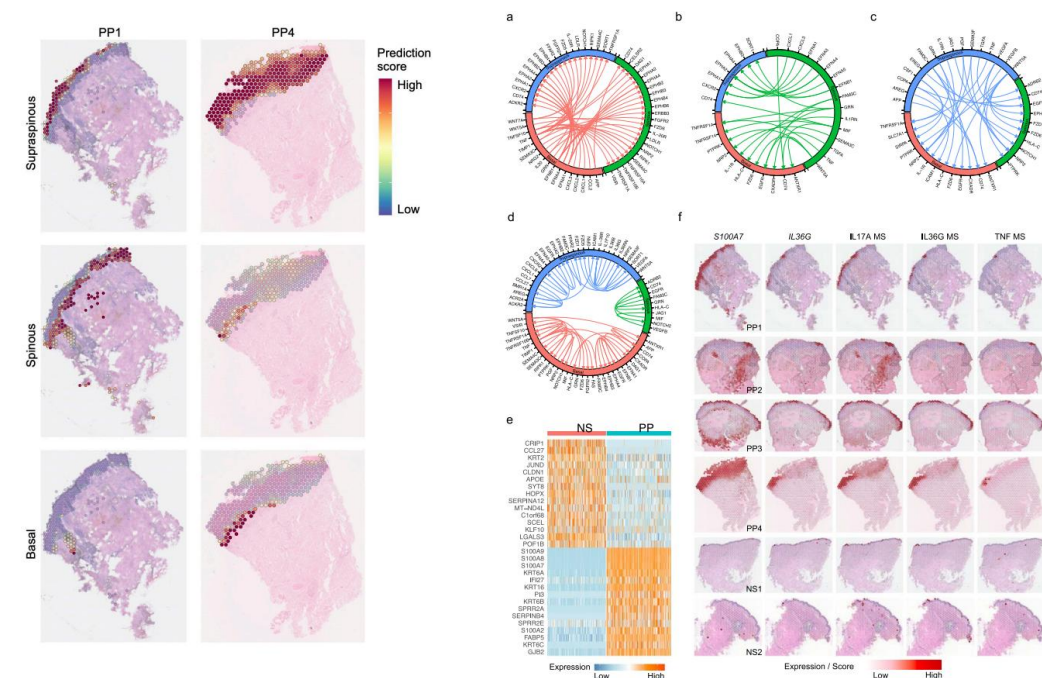
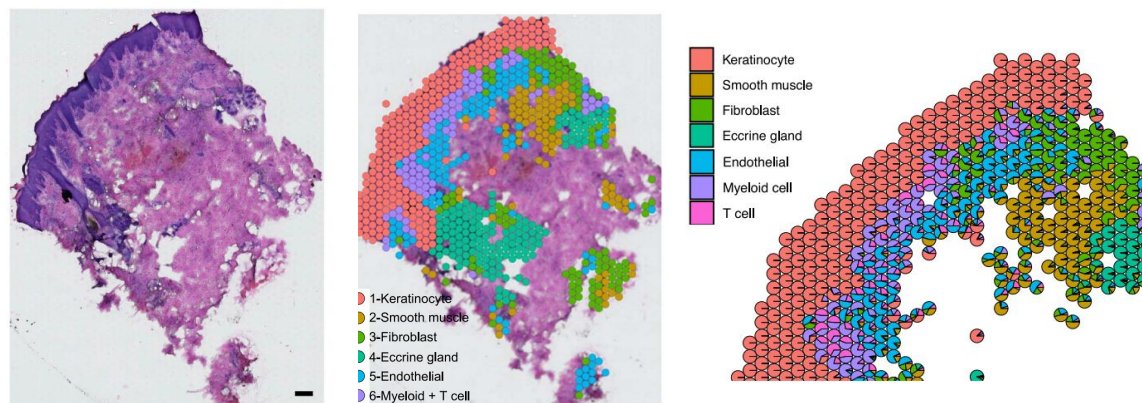
DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-023-39020-4>

杂志：nature communications (IF=16.6) 2023年6月12日

作者：密歇根大学Johann E. Gudjonsson团队

本研究通过使用来自病变、非病变和健康对照皮肤的 33 个样本的 scRNA-seq 全面揭示了银屑病的免疫发病机制。使用空间测序提供了有关细胞类型和亚定位以及银屑病皮肤中特定免疫反应的其他深入信息。

分析点：空间细胞类型注释、特定细胞keratinocytes的亚群空间分布、空间细胞通讯



一、10X空间转录组技术简介

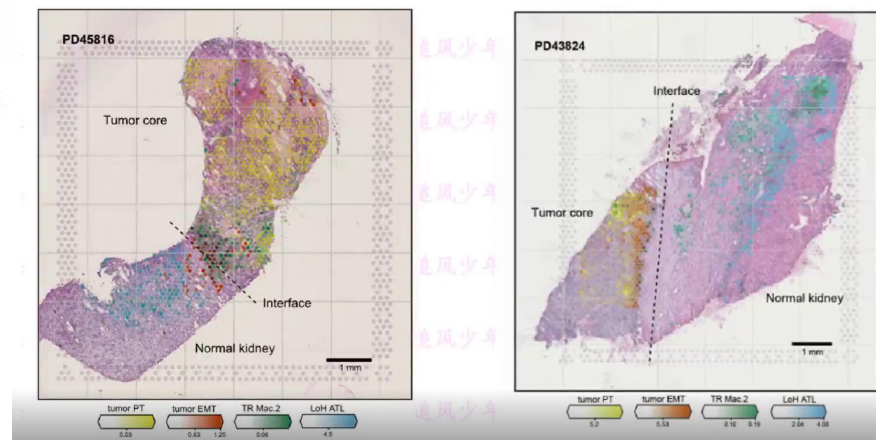
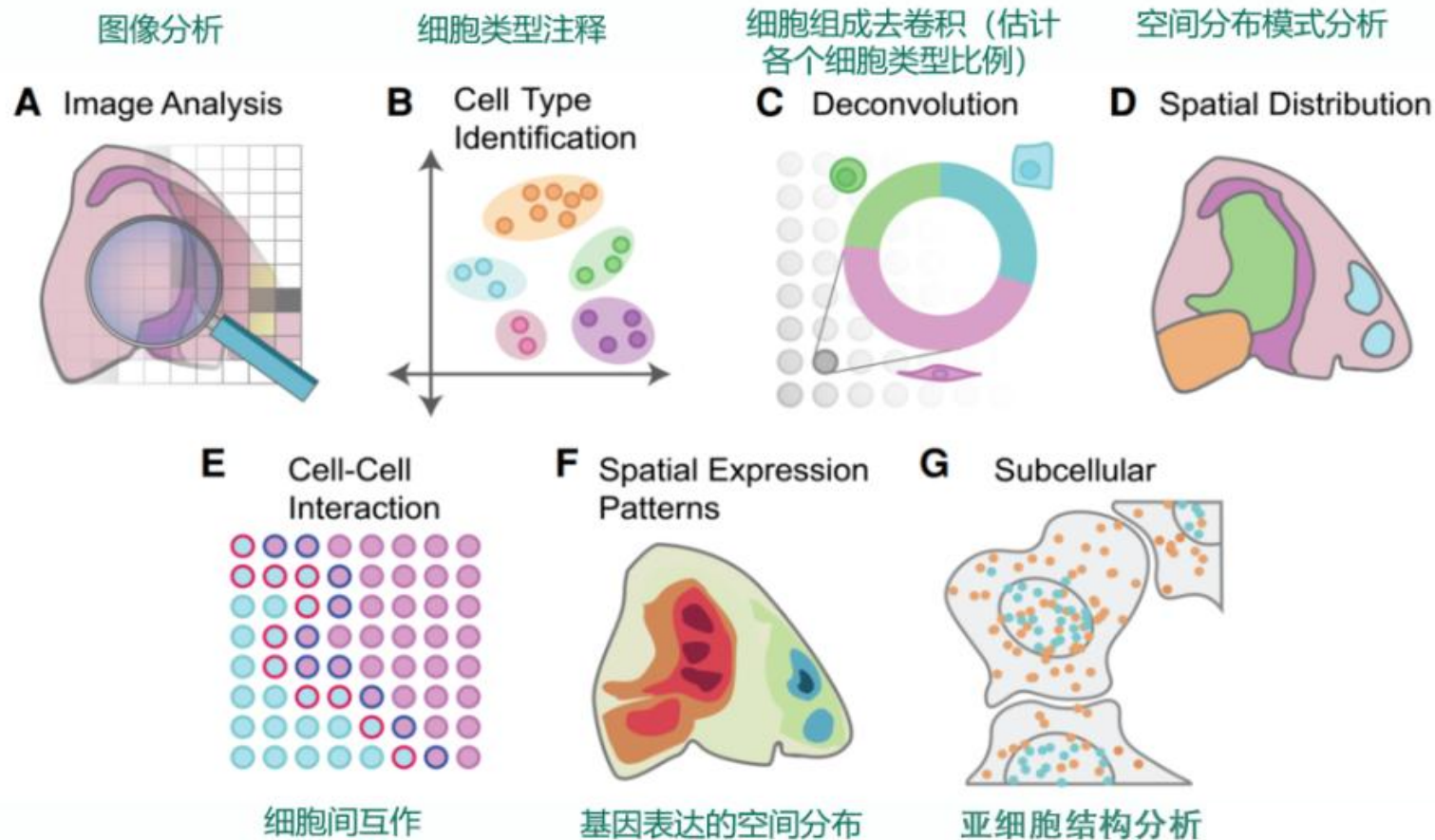


雲南農業大學
Yunnan Agricultural University



生信帮

云南省生物大数据重点实验室



肾癌-空间的边界问题，不同区域的一个微环境存在巨大差异

空间转录组分析的主要内容

目录



雲南農業大學
Yunnan Agricultural University

云南省生物大数据重点实验室



生信帮

第一章

10X空间转录组技术简介

第二章

10X空间转录组数据基础分析

第三章

10X空间转录组数据注释

第四章

10X空间转录组多样本分析

二、10X空间转录组数据基础分析

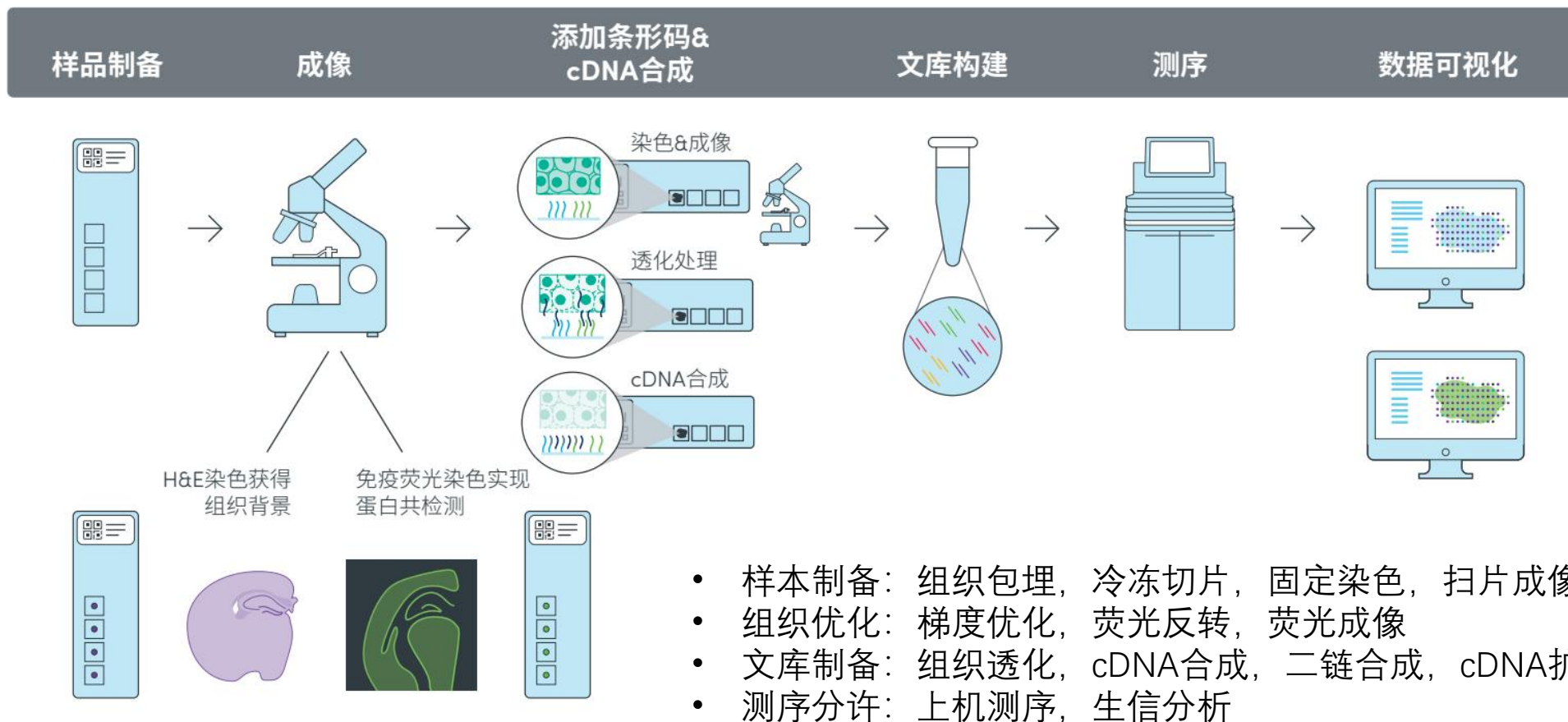


雲南農業大學
Yunnan Agricultural University

云南省生物大数据重点实验室



生信帮



10X空间转录组实验原理

二、10X空间转录组数据基础分析

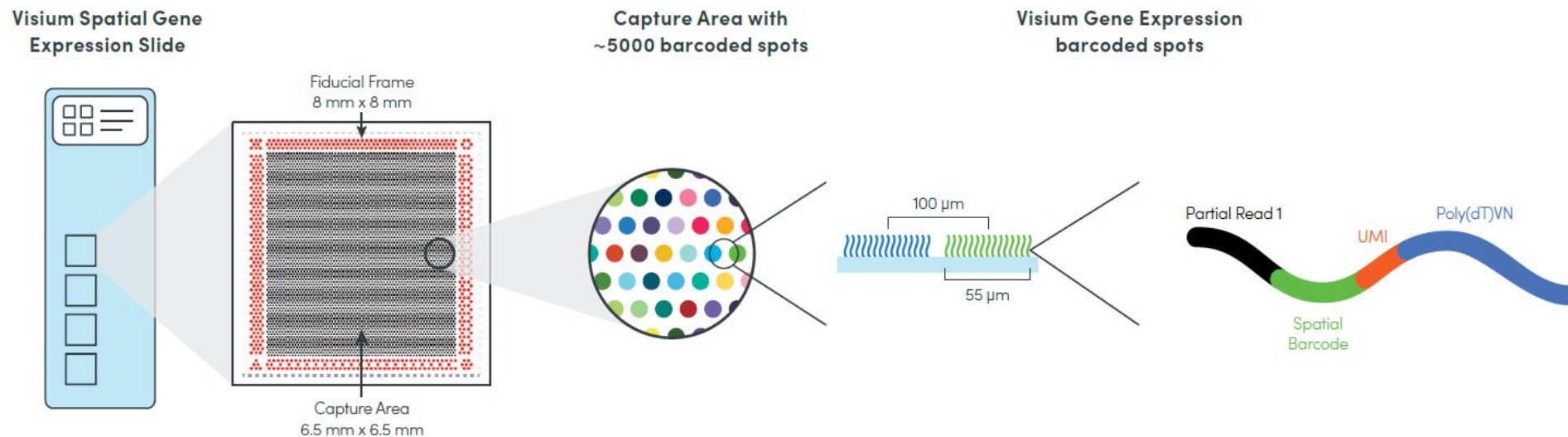


雲南農業大學
Yunnan Agricultural University

云南省生物大数据重点实验室



生信帮



- 一张玻片包含四个捕获区域，可以容纳四张单独的组织切片，制备4个文库；
- 每张玻片有6.5mmX6.5mm的捕获区域，具有5000个带有barcode标记的ST位点，即spots点；
- 每个spot直径55um，点与点之间中心距离为100um；
- 每个spot点可捕获1-10个细胞；
- 每个spots中包含数百万个含有聚（dT）的寡核苷酸链，可捕获带polyA的转录本；
- 文库类型：FFPE，新鲜冷冻

10X空间转录组实验原理：文库结构

二、10X空间转录组数据基础分析

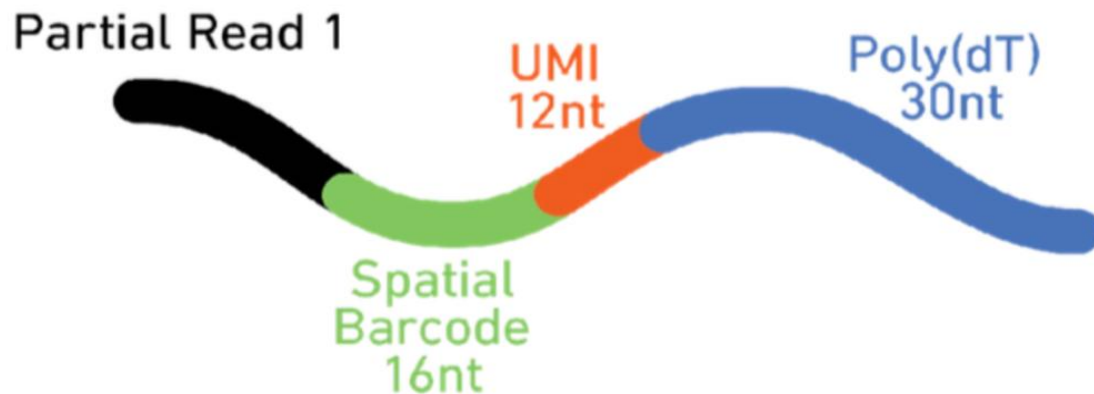


云南农业大学
Yunnan Agricultural University

云南省生物大数据重点实验室



生信帮



- **Partial Read1**: 与 illumina 的 TruSeq 测序文库的 Read 1 的部分序列相一致的，它的用途是将来可以方便地用 PCR 引物对原始文库进行 PCR 扩增
- **Spatial Barcode**: 16 个碱基的空间条形码。Visium 载玻片上的每一个捕获 spot 都分别有一个特定的空间条形码，5000 个捕获 spot 就对应到 5000 个空间条形码。
- **UMI**: “Unique molecular identifier”的首字母缩写，意思是“唯一分子标识符”，一段12nt的随机序列，区分转录本
- **30-bp Poly(dT)随机引物**: 捕获带有PolyA尾的转录本

每一种barcode标记一个spot，每一种UMI标记一个转录本

二、10X空间转录组数据基础分析



雲南農業大學
Yunnan Agricultural University

云南省生物大数据重点实验室



生信帮

实操1：新鲜冷冻的小鼠脑部切片

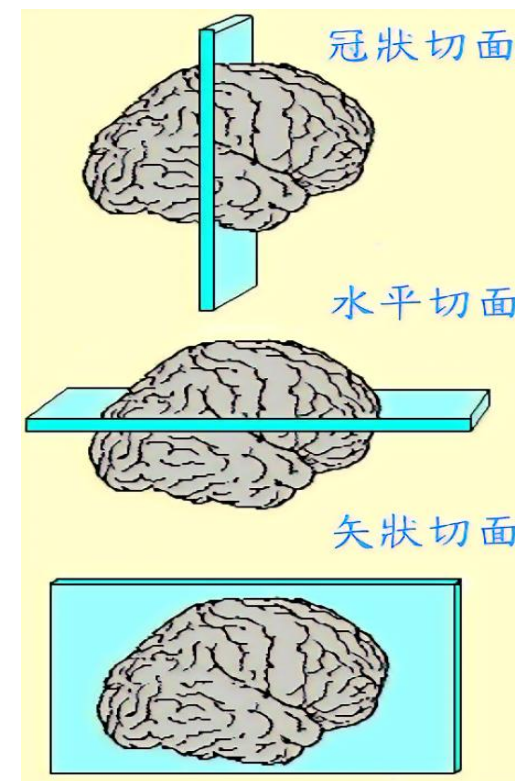
数据下载：<https://www.10xgenomics.com/resources/datasets/mouse-brain-serial-section-1-sagittal-anterior-1-standard-1-0-0>

数据：矢状鼠脑切片 Visium v1 chemistry
two serial anterior sections 两个连续的前切片
two (matched) serial posterior 两个(匹配的)连续的后部切片

基本分析教程：

https://satijalab.org/seurat/articles/seurat5_spatial_vignette#x-visium

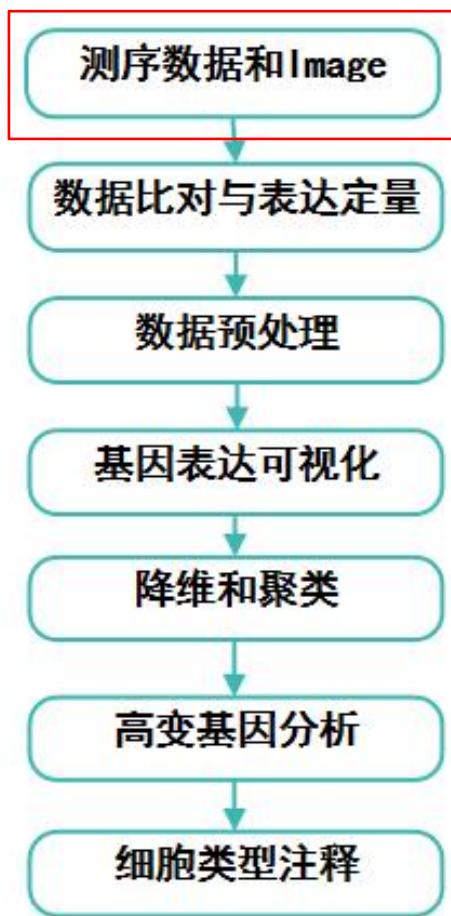
<https://www.10xgenomics.com/>



二、10X空间转录组数据基础分析



- 空间转录组基础分析流程



实验完成后，会得到以下两个重要数据：是后续所有分析的基础

- 文库构建完后，进行上机测序得到原始FASTQ文件

Input Files	Size
FASTQs	31 GB
Image (TIFF)	405 MB

FASTQ格式文件示意图如下：

```
@K00167:28:H3JYKBBXX:5:1102:21513:28636 1:N:0:CAGATT
GGGGAATGTTTTACTTTGAGGATGATAGTACTTTTCAGTGGGAA
+
,< A < < G < < , 7 , , , < , , 7 , < , , , , 7 < , 7 , , T 7 , 7 7 , 7 F , , , , ,
```

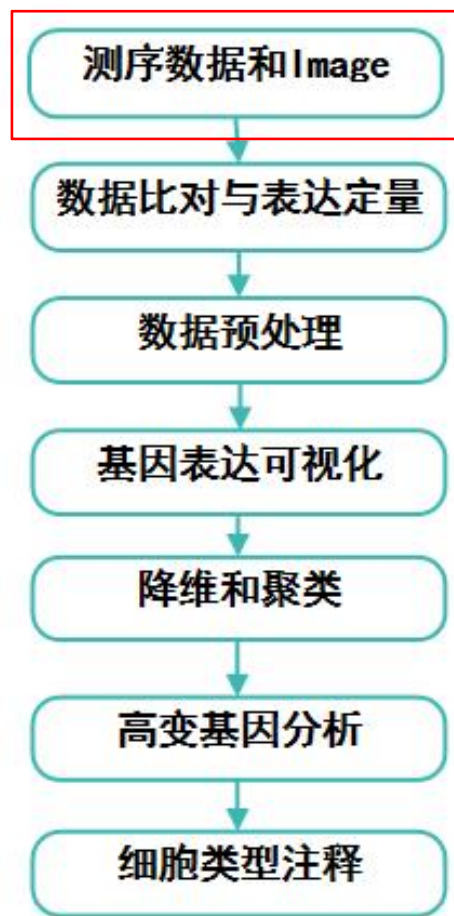
图1. FASTQ格式文件示意图

注：FASTQ格式文件中每个Read由四行描述，其中第一行以“@”开头，随后为Illumina测序识别符（Sequence Identifiers）和描述文字（选择性部分）；第二行是碱基序列；第三行以“+”开头，随后为Illumina测序识别符（选择性部分）；第四行是对应序列的测序质量。

二、10X空间转录组数据基础分析



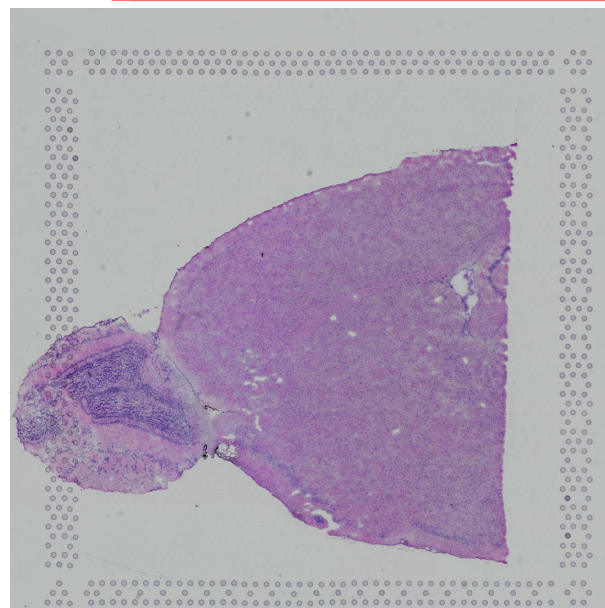
- 空间转录组基础分析流程



实验完成后，会得到以下两个重要数据：是后续所有分析的基础

- Image：组织切片H&E染色图片

Input Files	Size
FASTQs	31 GB
Image (TIFF)	405 MB



芯片上四周会做许多个小点，这些点是用来在空间上给切片定位用的

二、10X空间转录组数据基础分析



雲南農業大學
Yunnan Agricultural University

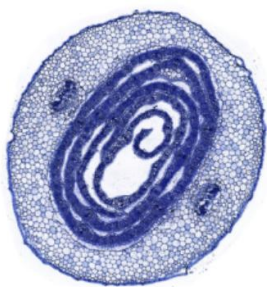


生信帮

云南省生物大数据重点实验室



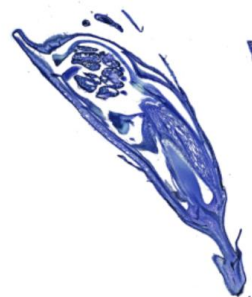
草本植物芽 (1)



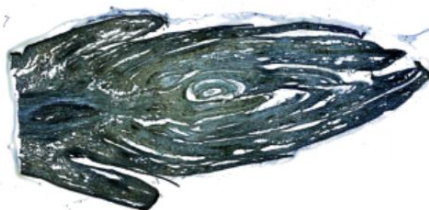
草本植物茎 (2)



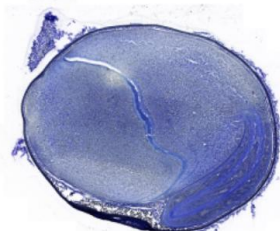
豆科植物花 (3)



草本植物花 (4)

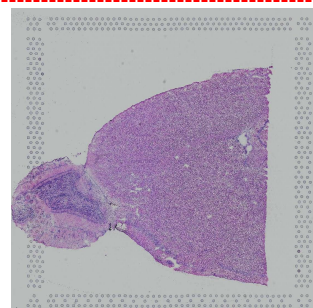


蔷薇科植物芽 (5)



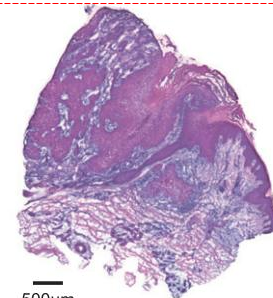
豆科植物胚 (6)

图片来源: https://mp.weixin.qq.com/s/URH_3oefqCSpLMnzfIIN8g



小鼠脑

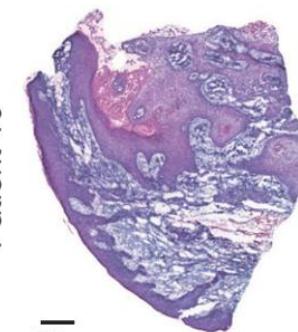
Patient 2



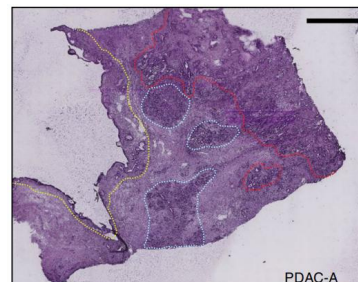
500µm

人皮肤鳞状细胞癌

Patient 10



500µm

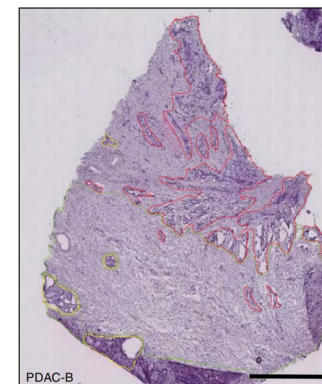


PDAC-A

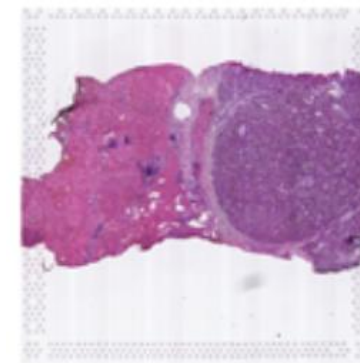
Histological
annotation
key

— Cancer cells and desmoplasia
— Duct epithelium
— Normal pancreatic tissue
— Interstitium

胰腺导管腺癌



PDAC-B



肝癌样本

- 空间数据组织切片：动物一般使用H&E苏木精和伊红染色，植物使用甲苯胺蓝
- 切片可以看出：切片具有形态学上的区域划分，这个区域分布与空间数据聚类模块大体分布一致

二、10X空间转录组数据基础分析



雲南農業大學
Yunnan Agricultural University

云南省生物大数据重点实验室



生信帮

- 空间转录组基础分析流程



Space Ranger定量

```
spaceranger count --id=sample345 \  
--fastqs=/home/jdoe/runs/HAWT7ADXX/outs/fastq_path \  
--transcriptome=/opt/refdata-gex-GRCh38-2020-A \  
--image=/home/jdoe/runs/image.tif \  
--slide=V19J01-123 \  
--area=B1
```

--fastqs: 原始fq数据路径
--transcriptome: 参考基因组序列, 可以从10X官网下载
--image: H&E切片染色图片
--slide: 芯片信息, 一般公司会随原始测序fq数据一起给到
--area: 芯片上对应的区域

芯片信息: PN:2000233;SN:V10M17-096

对应位置: A1: 200046A_GDPPH_1 B1: 200046A_GDPPH_16 C1: 200046A_GDPPH_17you D:
200046A_GDPPH_25

芯片信息地址: <https://support.10xgenomics.com/spatial-geneexpression/software/pipelines/latest/using/slide-info>

二、10X空间转录组数据基础分析



雲南農業大學
Yunnan Agricultural University

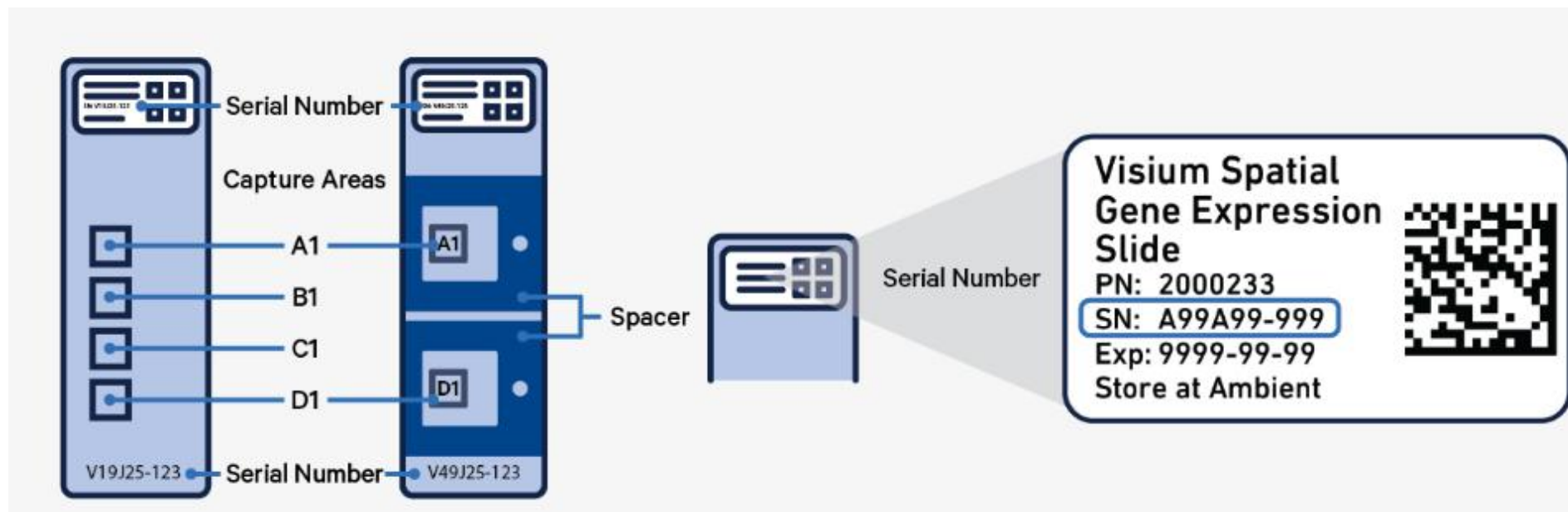
云南省生物大数据重点实验室



生信帮

- 芯片信息地址

<https://support.10xgenomics.com/spatial-geneexpression/software/pipelines/latest/using/slide-info>



二、10X空间转录组数据基础分析



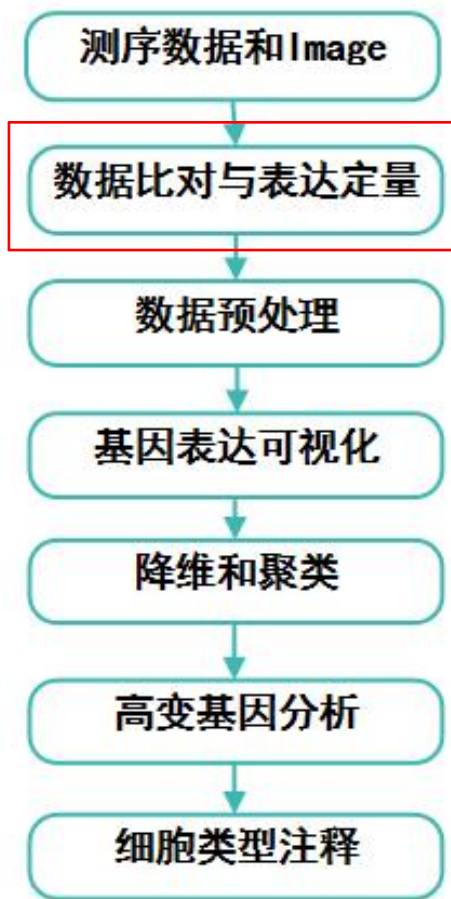
云南农业大学
Yunnan Agricultural University

云南省生物大数据重点实验室



生信帮

• 空间转录组基础分析流程



Space Ranger定量输出结果

Output Files	Format details	Size
Genome-aligned BAM	比对生成的BAM文件	42.6 GB
Genome-aligned BAM index		5.32 MB
Per-molecule read information		325 MB
Feature / barcode matrix HDF5 (filtered)		19.8 MB
Feature / barcode matrix (filtered)	重要!!!	55.6 MB
Feature / barcode matrix HDF5 (raw)	表达矩阵: 分为原始的与过滤后的	23.7 MB
Feature / barcode matrix (raw)	下游分析使用filtered的	65.2 MB
Clustering analysis		28.3 MB
Spatial imaging data	重要!!!	101 MB
Summary CSV	H&E染色图片, 下游分析输入数据	966 B
Summary HTML	重要!!!	8.68 MB
Loupe Browser file	数据质量评估指标, 判定原始数据好坏	350 MB

二、10X空间转录组数据基础分析



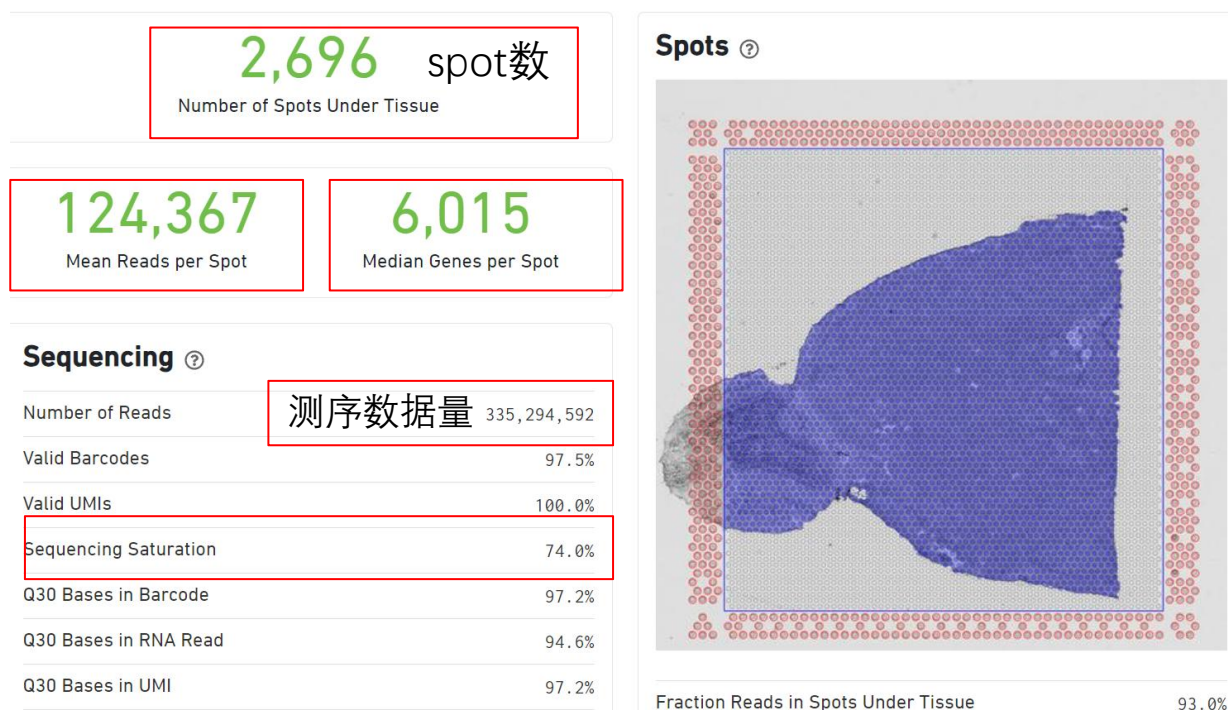
雲南農業大學
Yunnan Agricultural University

云南省生物大数据重点实验室



生信帮

- Space Ranger定量输出结果-**web_summary.html**报告



测序数据量：指的碱基个数或者read 片段数

- 1 bp
- 1k bp = 10³ bp
- 1 M = 10⁶ bp
- 1 G = 10⁹ bp

注意：注意与数据文件大小进行区分！

- **Number of Spots Under Tissue**: 有基因表达的spot数
- **Mean Reads per Spot**: 每个spot上平均检测到的reads数
- **Median Genes per Spot**: 每个spot上检测到的基因中位数
- **Sequencing Saturation**: 测序数据饱和度，反映文库复杂度的指标 >70%

二、10X空间转录组数据基础分析



- Space Ranger定量输出结果-基因表达矩阵

Feature / barcode matrix HDF5 (filtered)	19.8 MB
Feature / barcode matrix (filtered)	55.6 MB
Feature / barcode matrix HDF5 (raw)	23.7 MB
Feature / barcode matrix (raw)	65.2 MB

重要!!!

表达矩阵：分为原始的与过滤后的
下游分析使用filtered的

V1_Mouse_Brain_Sagittal_Anterior_filtered_feature_bc_matrix.h5

```
$tree filtered_feature_bc_matrix
filtered_feature_bc_matrix
├── barcodes.tsv.gz
├── features.tsv.gz
└── matrix.mtx.gz
```

两种格式：存储基因的表达矩阵

- HDF5格式：可以使用Load10X_Spatial()函数进行读取
- 文件夹格式：包括三个文件
 - barcodes.tsv.gz：spot的barcode信息
 - features.tsv.gz：基因信息
 - matrix.mtx.gz：基因xspot表达信息

Spatially barcoded spots

	TTGATACTACAT	GTAGATCTAGTA	CAGATGATCACC	GATGATACTATA	AGAATGTTAGAT
Gene-1	0	6	2	0	0
Gene-2	12	1	0	0	0
Gene-3	0	2	4	0	0
Gene-4	0	0	2	0	5
Gene-5	0	1	0	4	2
Gene-6	6	0	0	3	7
Gene-7	0	0	0	0	0
Gene-8	5	2	0	0	0
Gene-9	0	0	4	2	0

二、10X空间转录组数据基础分析



- Space Ranger定量输出结果-组织切片H&E染色图片



```
$tree spatial
spatial
├── aligned_fiducials.jpg
├── detected_tissue_image.jpg
├── scalefactors_json.json
├── tissue_hires_image.png
├── tissue_lowres_image.png
└── tissue_positions_list.csv
```

空间位置信息与组织切片染色图片

- tissue_positions_list.csv: 存储了每个spot在切片上的空间位置信息
- aligned_fiducials.jpg: 比对的基准图像文件
- detected_tissue_image.jpg: 用于检测组织的图像文件
- tissue_hires_image.png: 组织切片染色图片600像素
- tissue_lowres_image.png: 组织切片染色图片2000像素
- scalefactors_json.json: 组织切片染色图片缩放因子

二、10X空间转录组数据基础分析



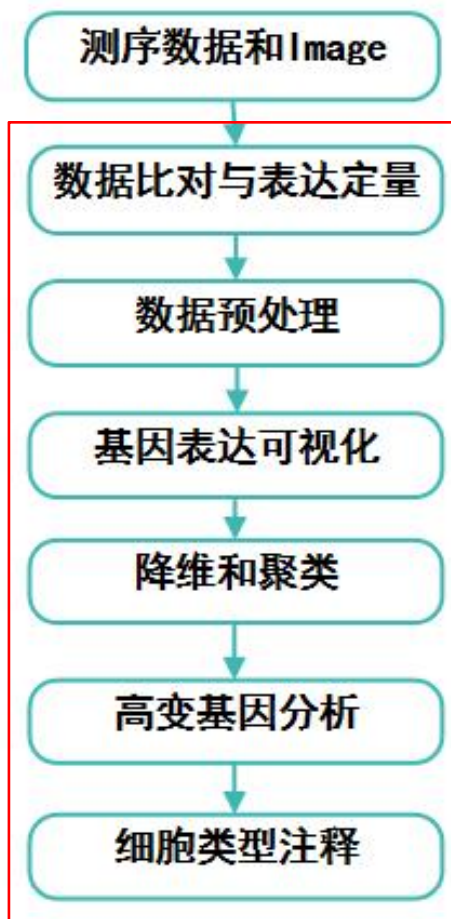
雲南農業大學
Yunnan Agricultural University

云南省生物大数据重点实验室



生信帮

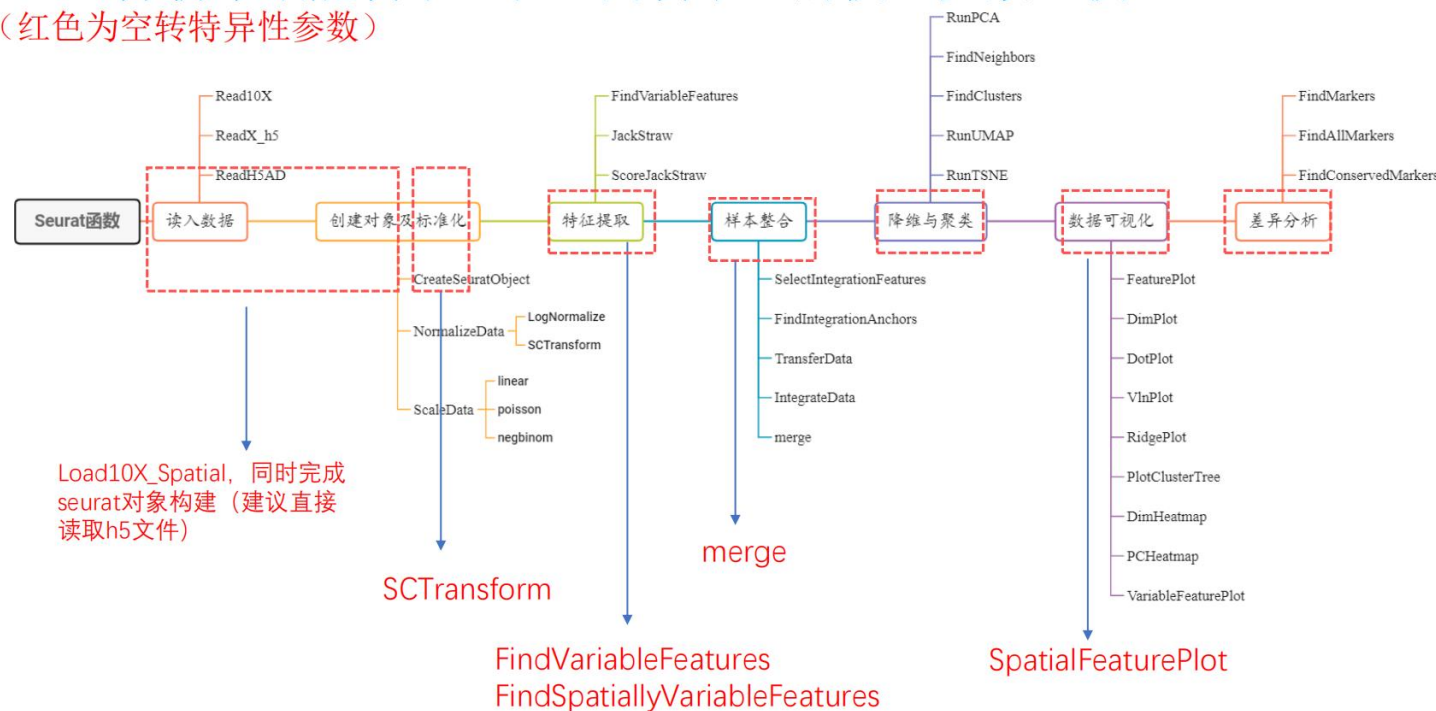
- 空间转录组基础分析流程



Seurat软件

Seurat分析单细胞转录组和空间转录组的核心参数比较

(红色为空转特异性参数)



二、10X空间转录组数据基础分析



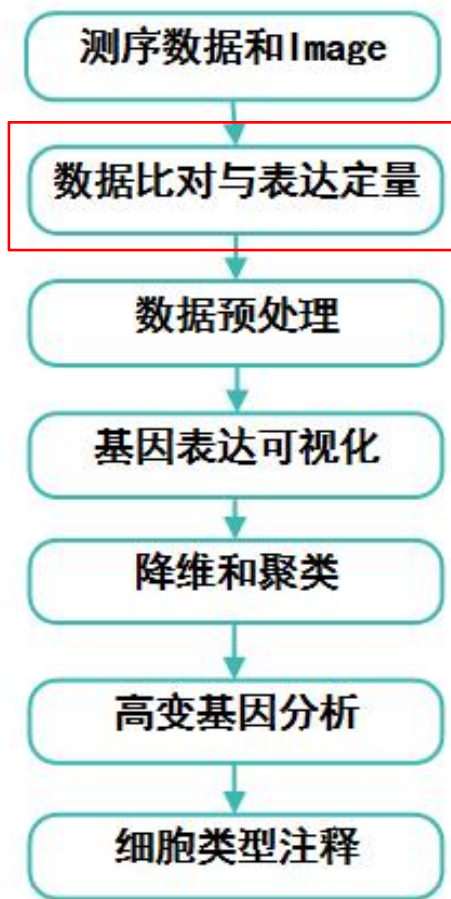
雲南農業大學
Yunnan Agricultural University

云南省生物大数据重点实验室



生信帮

- 空间转录组基础分析流程



Space Ranger定量输出结果

数据读取，认识空间数据：

打开S01.Load_Data.r脚本步骤：

1. 双击Spatial.Rproj，出现Rstudio界面
2. 在Rstudio界面打开S01.Load_Data.r

空间转录组得到的是spots-genes的表达矩阵，因为每个spots包含有1-10个细胞，因此空间转录组得不到单细胞的信息

二、10X空间转录组数据基础分析



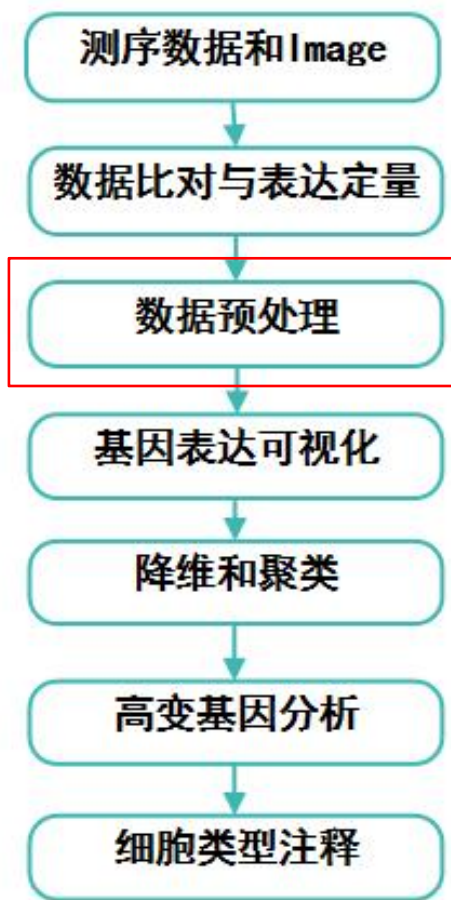
雲南農業大學
Yunnan Agricultural University

云南省生物大数据重点实验室



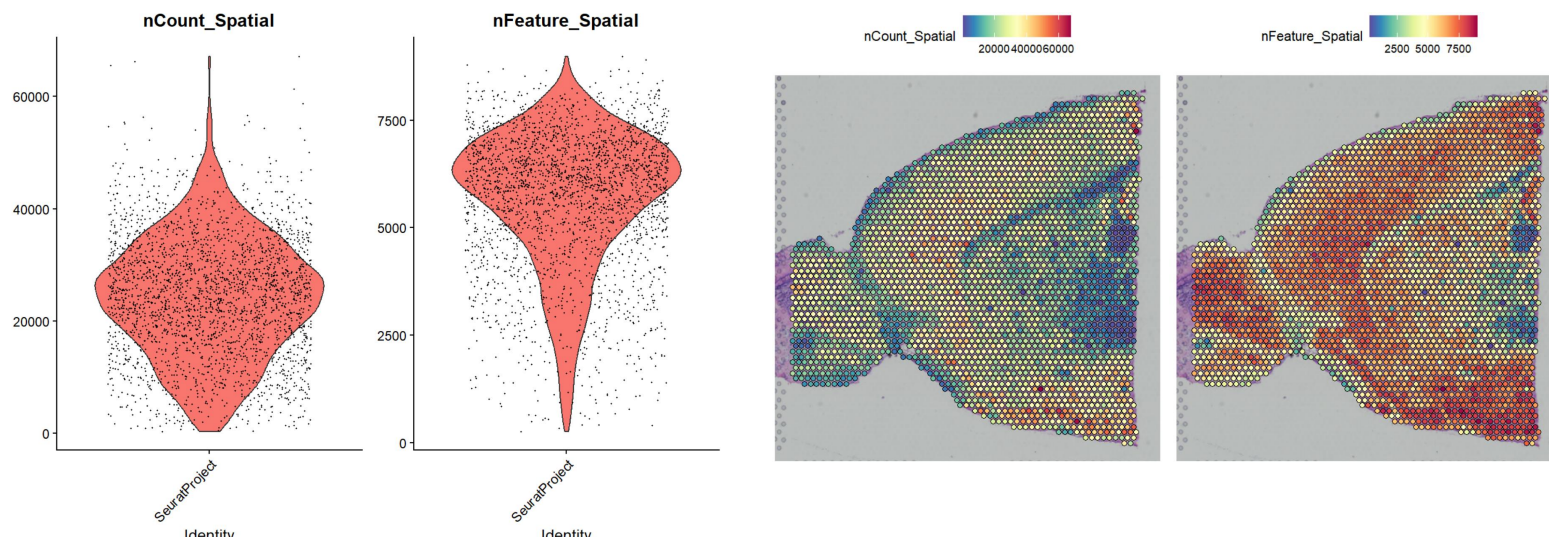
生信帮

- 空间转录组基础分析流程



数据预处理: sctransform标准化

每个spot位于的空间位置分布不同, 不同的位置细胞分布也有差异, 因此每个spot的mRNA含量实际上是不相同的, 而LogNormalize()强制把每个spot校正到同样的水平, 实际上是有问题的;



- 左图: 小提琴图, 每一个点代表一个spot, 横轴为样本, 纵轴为每个样本中每个spot表达的count值与nFeature基因数
- 右图: 空间特征分布图, 展示每个spot中count值与nFeature基因数的空间位置分布

二、10X空间转录组数据基础分析



雲南農業大學
Yunnan Agricultural University

云南省生物大数据重点实验室

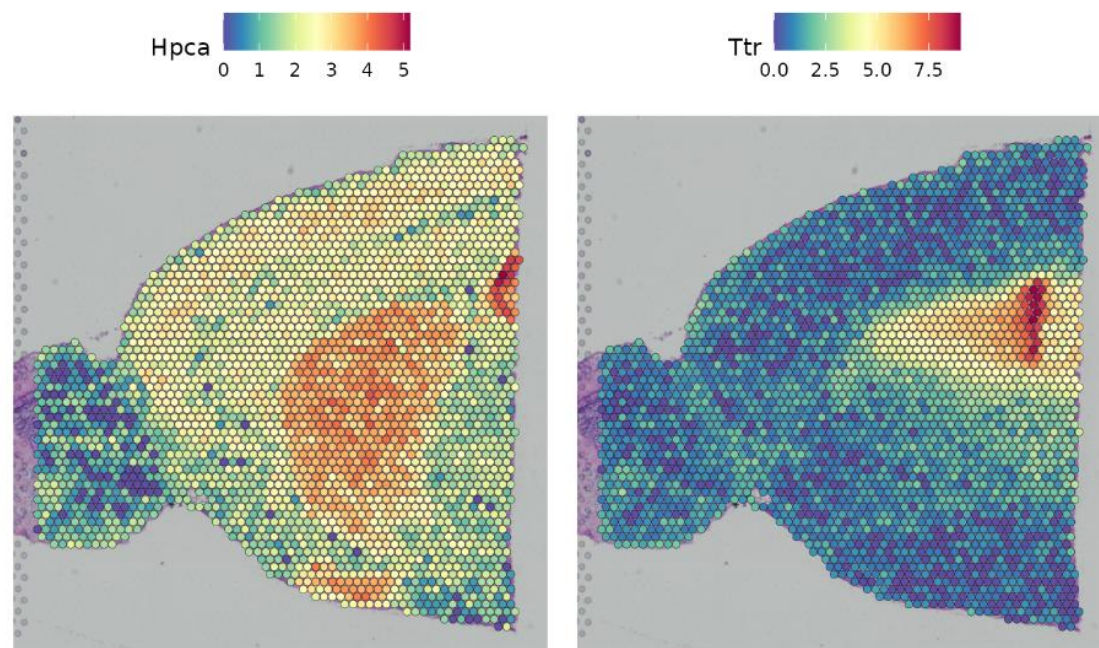


生信帮

- 空间转录组基础分析流程



基因表达可视化：挑选已知特征Marker基因，查看其在切片上的表达分布模式



- Hpc** is a strong hippocampus marker 小鼠脑部海马体区域特征基因
- Ttr** is a marker of the choroid plexus 脉络丛区域特征基因

二、10X空间转录组数据基础分析



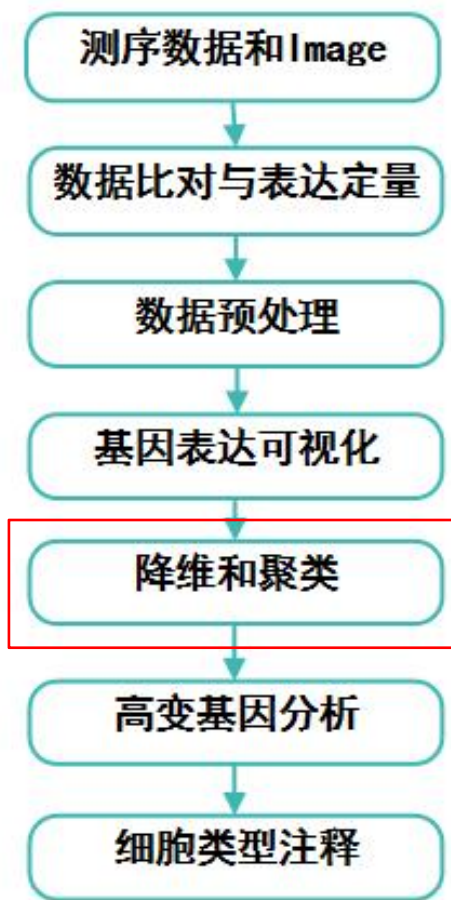
雲南農業大學
Yunnan Agricultural University

云南省生物大数据重点实验室

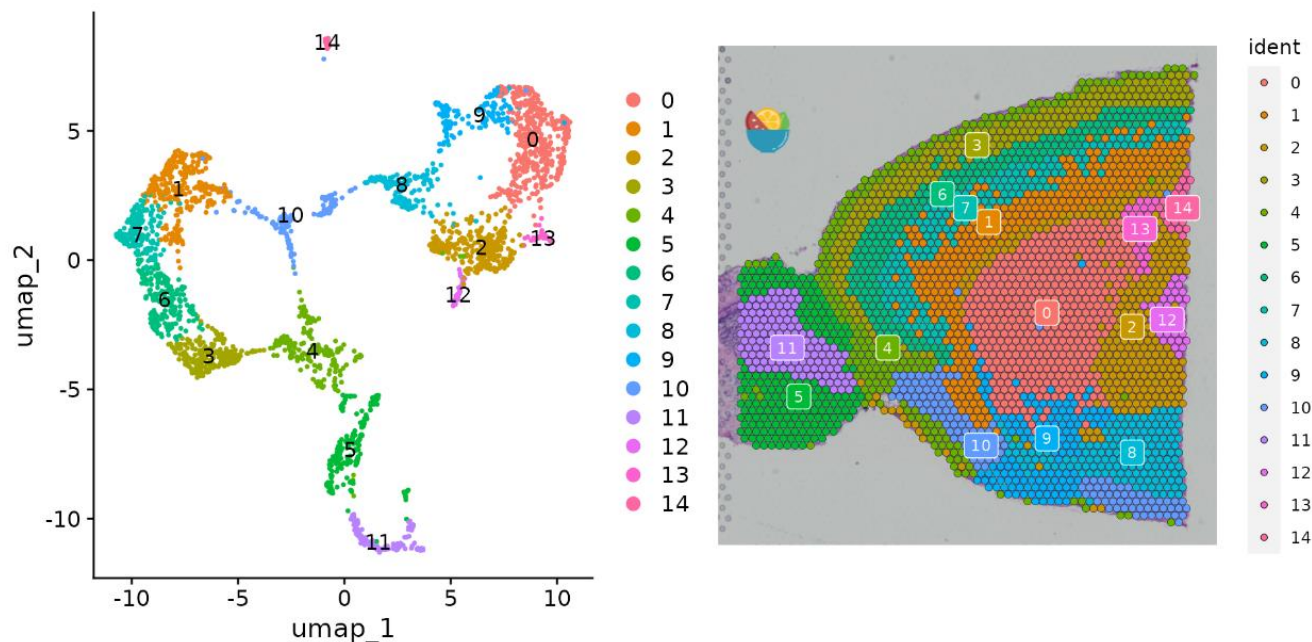


生信帮

- 空间转录组基础分析流程



降维聚类：对spot的RNA表达数据进行降维和聚类，使用与用于scRNA-seq分析相同的工作流程



- 左图：空间数据基因表达模式的UMAP聚类散点图
- 右图：聚类结果在空间上的位置分布

二、10X空间转录组数据基础分析



雲南農業大學
Yunnan Agricultural University

云南省生物大数据重点实验室

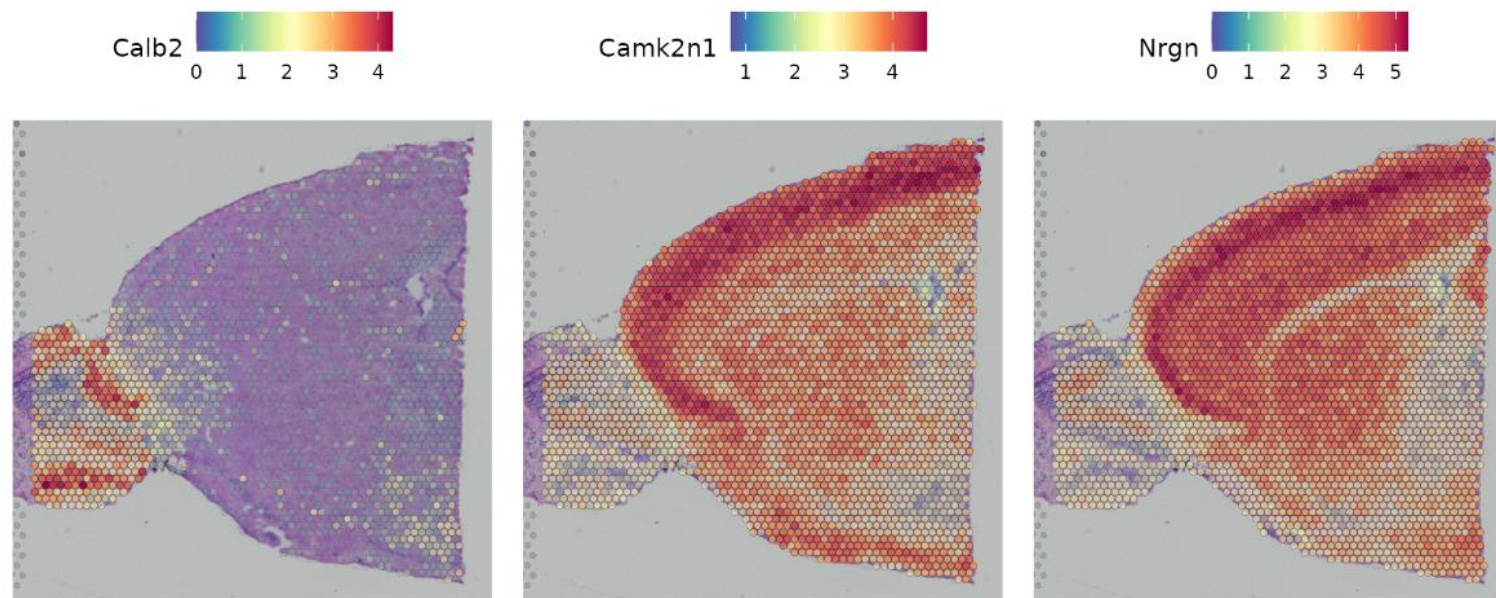


生信帮

- 空间转录组基础分析流程



空间高变基因分析：Seurat提供了2中方法识别与组织内空间位置相关的分子特征



方法一：

基于组织内预注释的解剖区域进行差异表达，这可以通过无监督聚类或先前的知识来确定。

二、10X空间转录组数据基础分析



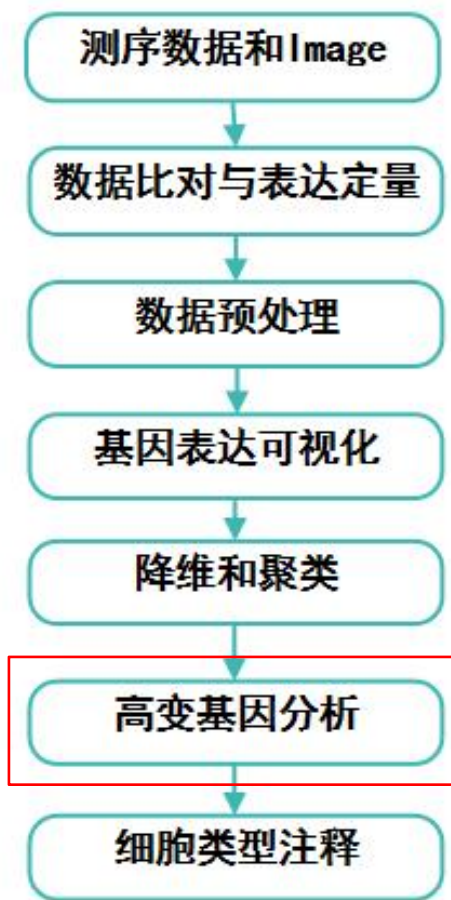
雲南農業大學
Yunnan Agricultural University

云南省生物大数据重点实验室

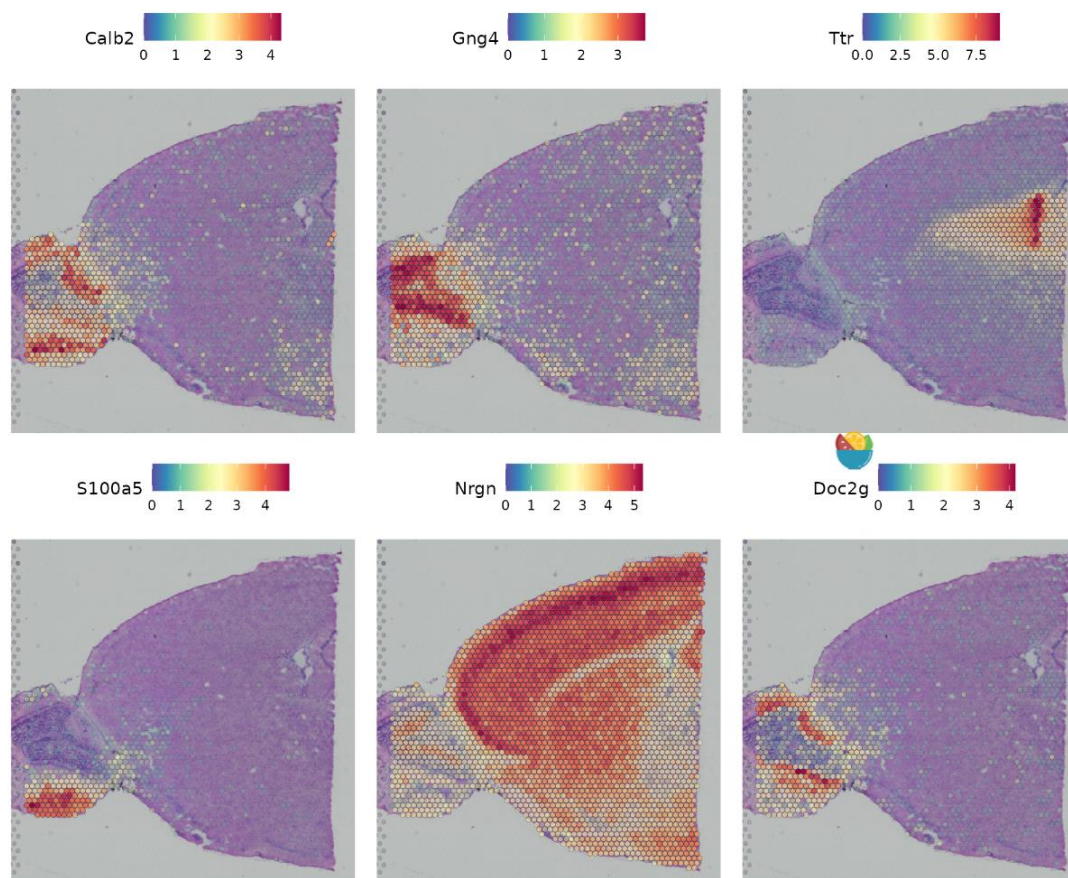


生信帮

- 空间转录组基础分析流程



空间高变基因分析: Seurat提供了2中方法识别与组织内空间位置相关的分子特征



方法二:

实现的另一种方法是在没有预注释的情况下搜索显示空间模式的特征, 使用 `FindSpatiallyVariable()` 函数

目录



雲南農業大學
Yunnan Agricultural University

云南省生物大数据重点实验室



生信帮

第一章

10X空间转录组技术简介

第二章

10X空间转录组数据基础分析

第三章

10X空间转录组数据注释

第四章

10X空间转录组多样本分析

三、10X空间转录组数据注释



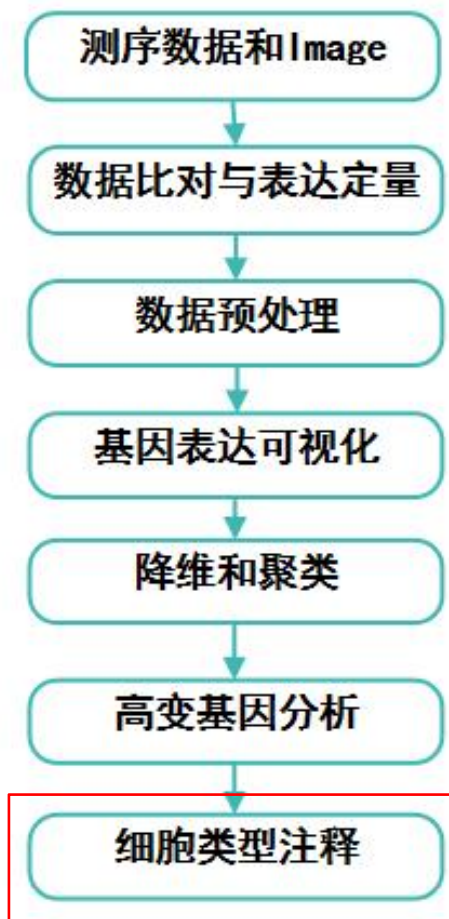
雲南農業大學
Yunnan Agricultural University

云南省生物大数据重点实验室



生信帮

- 空间转录组基础分析流程



空间转录组得到的是spots-genes的表达矩阵，因为每个spots约~50um，包含有1-10个细胞，因此空间转录组得不到单细胞的信息

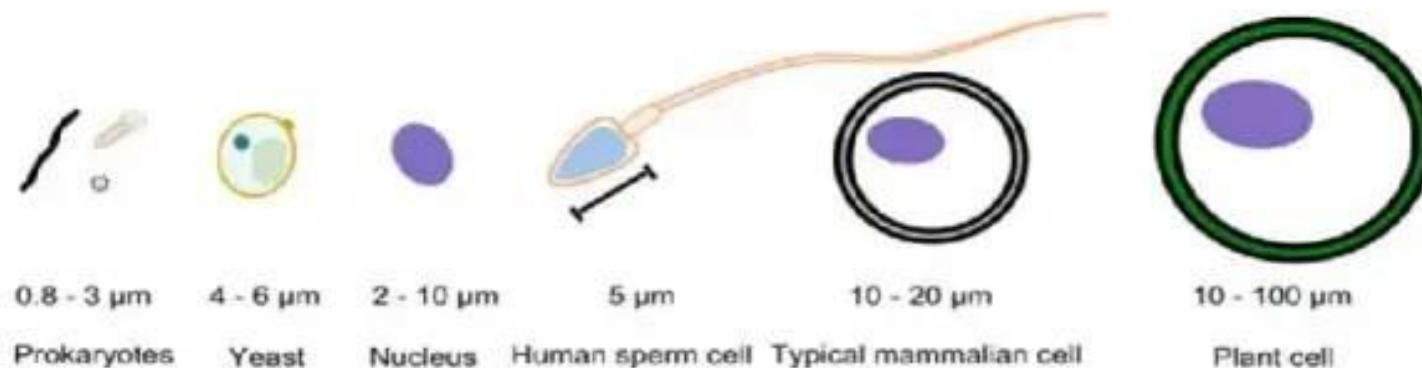


Fig. 2 Illustration of common cell types and their typical shapes and size ranges in suspension

空间数据注释思想：

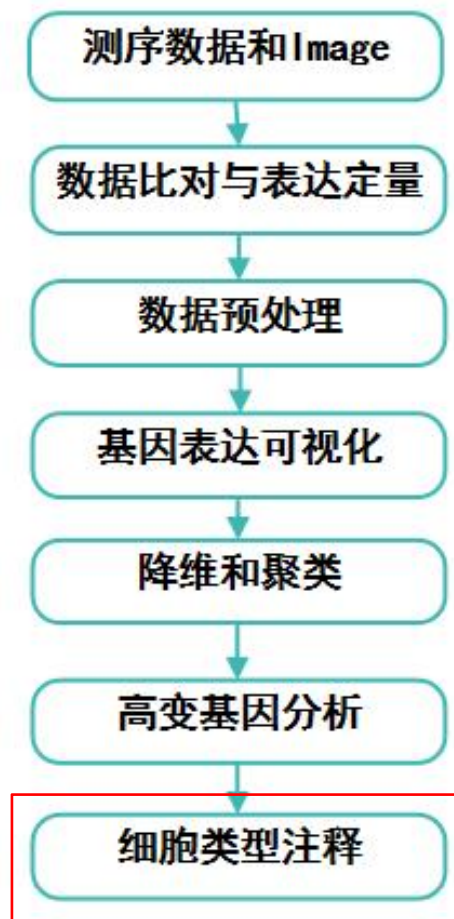
单细胞测序技术可以得到具体的细胞类型，因此可以借助单细胞数据来对空间转录组数据进行反卷积“**deconvolute**”。

此外，Seurat有个整合方法：**‘anchor’-based integration workflow**

三、10X空间转录组数据注释



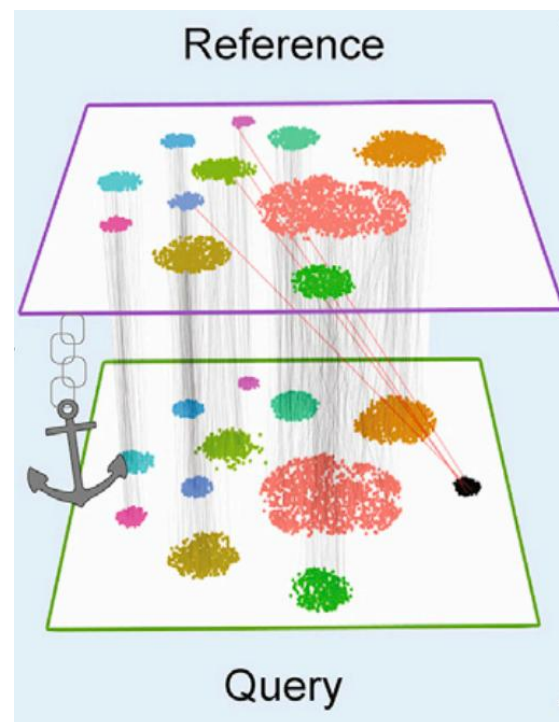
- 空间转录组基础分析流程



Seurat整合方法: ‘anchor’-based integration workflow

单细胞数据介绍:

~14,000 adult mouse cortical cell taxonomy from the Allen Institute



降维之后细胞在低维空间有了可以度量的“距离”，MNN(mutual nearest neighbor)算法以此找到两个数据集之间互相“距离”最近的细胞，Seurat将这些相互最近邻细胞称为“锚点细胞”

目录



雲南農業大學
Yunnan Agricultural University

云南省生物大数据重点实验室



生信帮

第一章

10X空间转录组技术简介

第二章

10X空间转录组数据基础分析

第三章

10X空间转录组数据注释

第四章

10X空间转录组多样本分析

四、10X空间转录组多样本分析



雲南農業大學
Yunnan Agricultural University

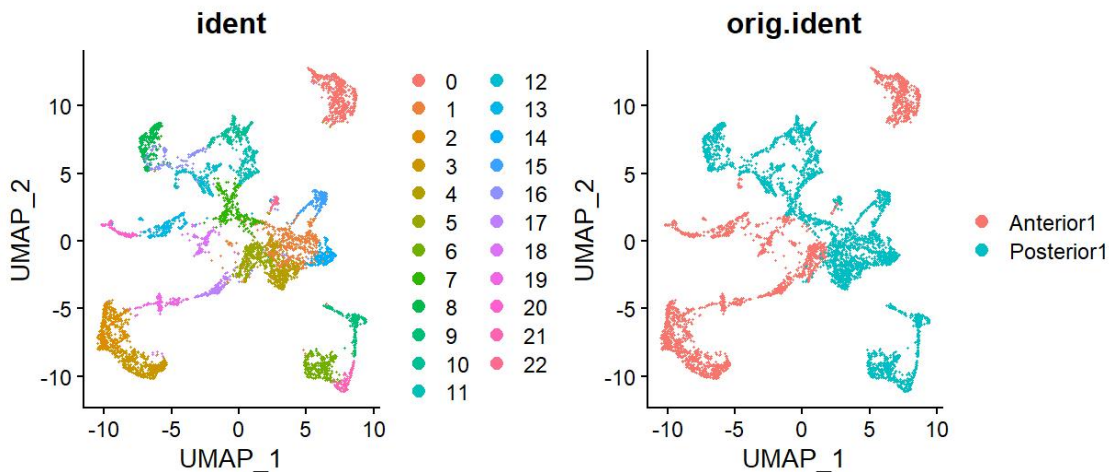
云南省生物大数据重点实验室



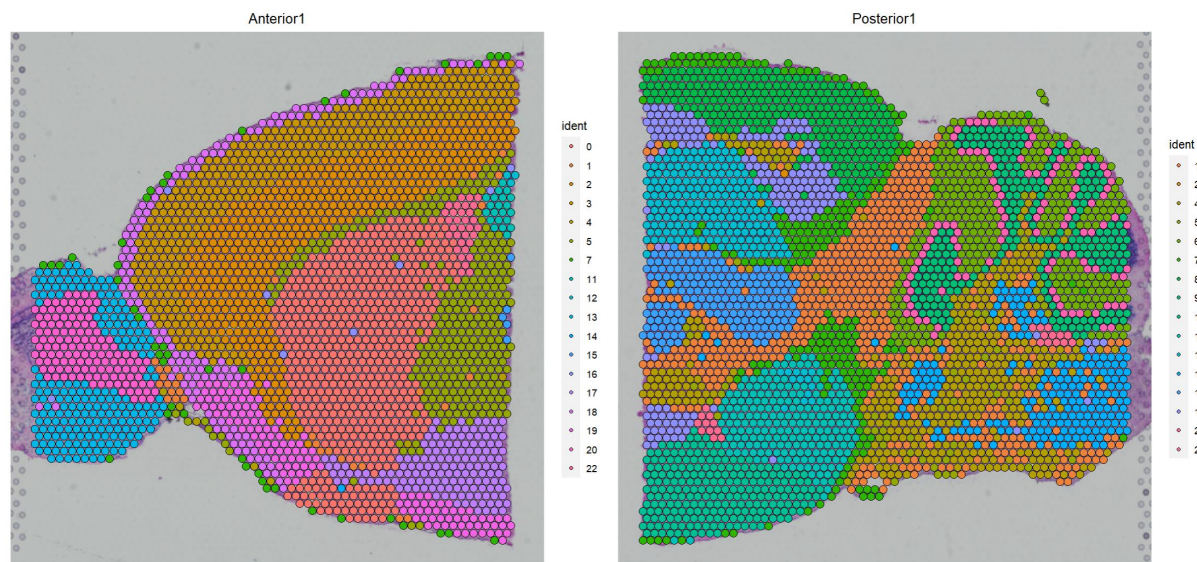
生信帮

10X空间转录组多样本分析

使用merge函数进行多样本整合分析



细胞聚类UMAP图



Spots聚类图的切片图像空间分布

Note: 多样本整合, 更多的是从单个样本单个分析看, 样本的组织间差异比较大, 不宜进行去批次矫正。



雲南農業大學
Yunnan Agricultural University

云南省生物大数据重点实验室

生信帮，答你所问