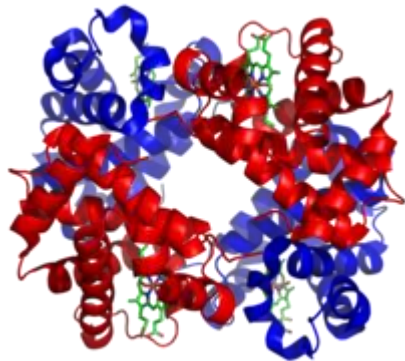
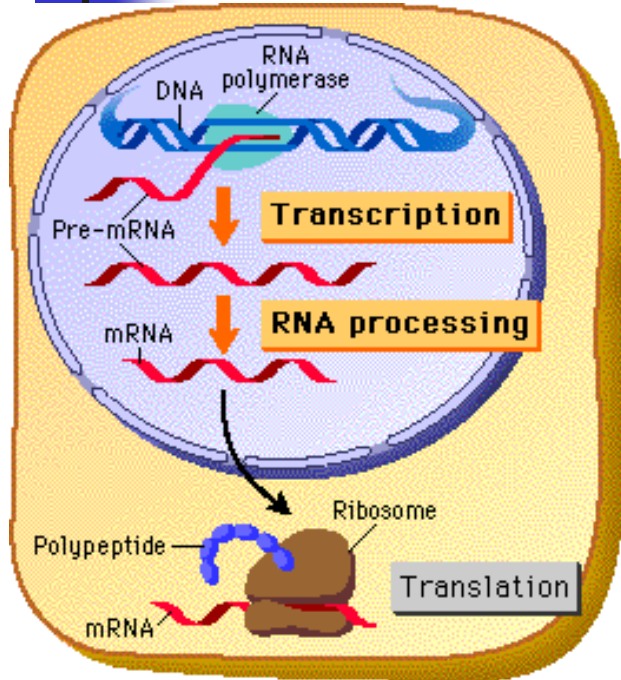


Công nghệ giải trình tự đơn tế bào

TS. Nguyễn Hồng Quang
Khoa Kỹ thuật máy tính

Trưởng nhóm Tin sinh học, Trung tâm BK.AI
Trưởng Công nghệ thông tin và Truyền thông
Trường Đại học Bách Khoa Hà Nội

Học thuyết trung tâm



Example: Hemoglobin (red blood cells)

proteins provide many essential functions in the body:



digestive enzymes help facilitate chemical reactions



support the regulation and expression of DNA and RNA



antibodies support immune function



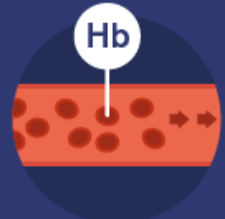
support muscle contraction & movement



provide support to the body



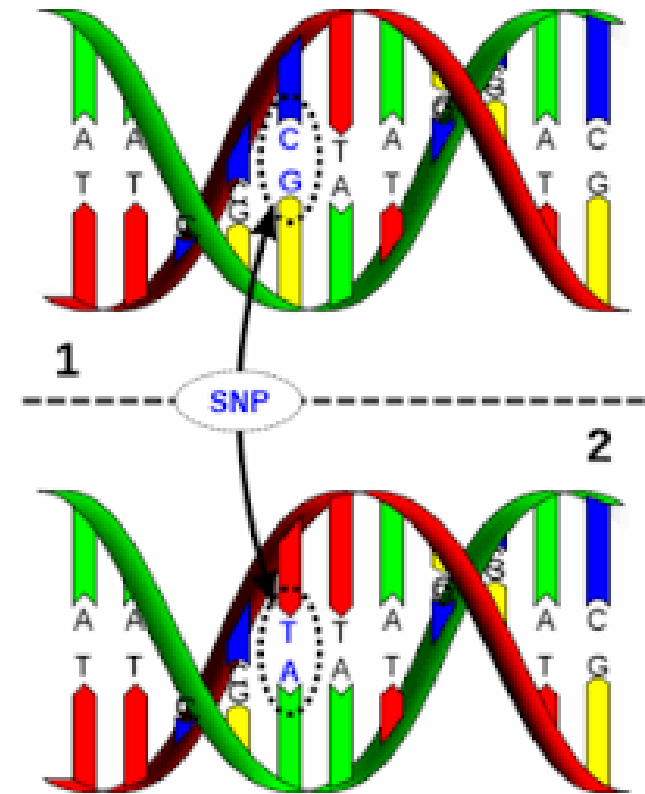
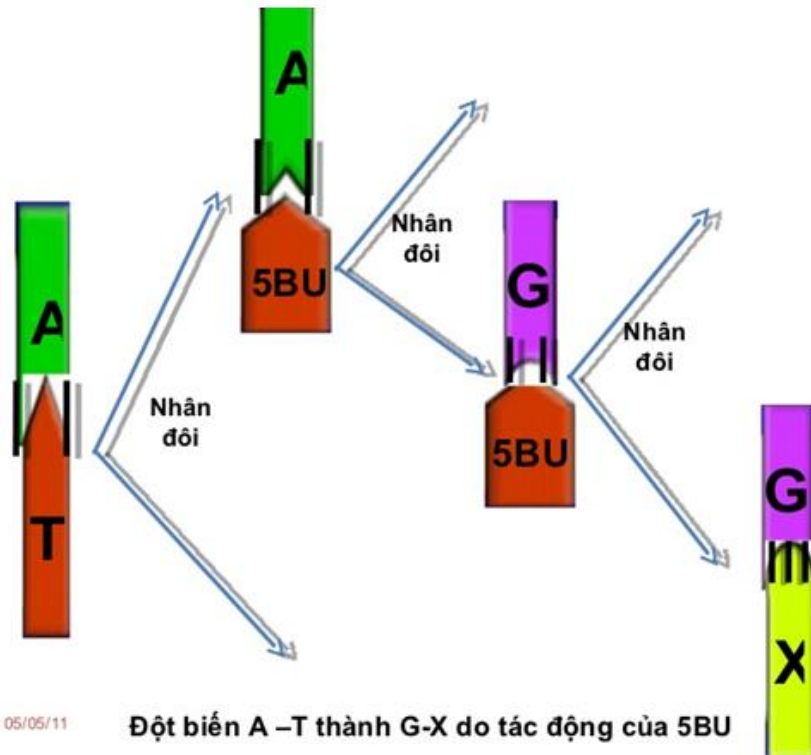
hormones help coordinate bodily function



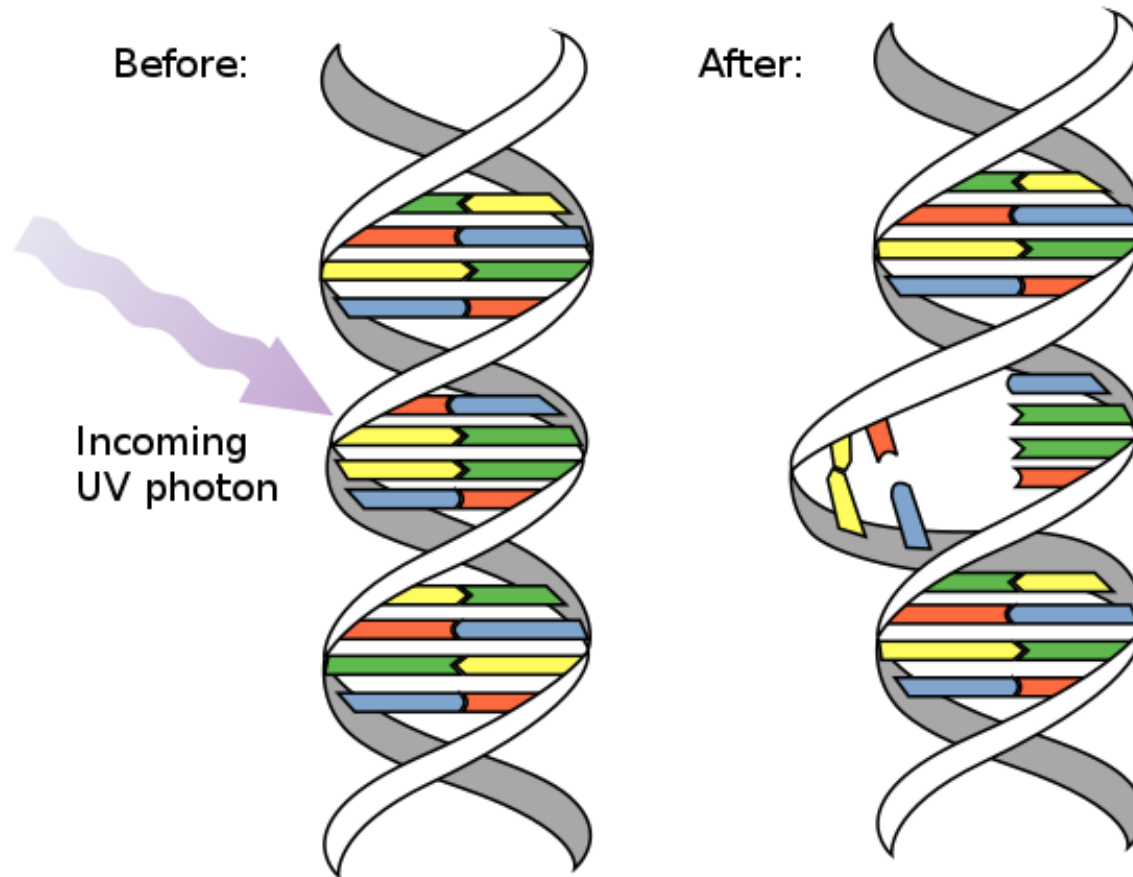
move essential molecules around the body

Đột biến gen

- Tác động của các tác nhân hóa học: 5-Brôm Uraxin là đồng đẳng của Timin gây thay thế A-T \rightarrow G-X.

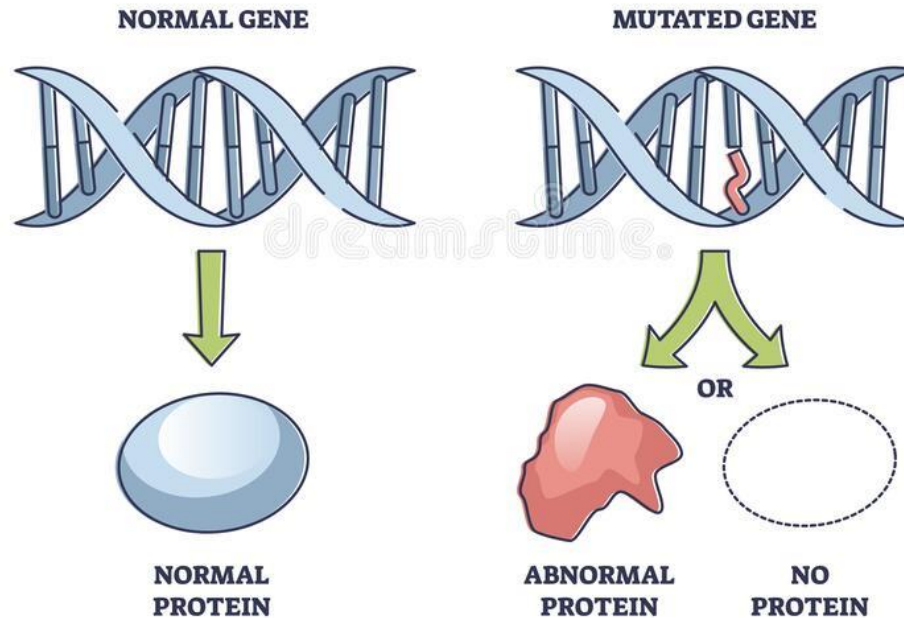


Tác động bởi tia tử ngoại



Ảnh hưởng của đột biến gen

GENE MUTATION





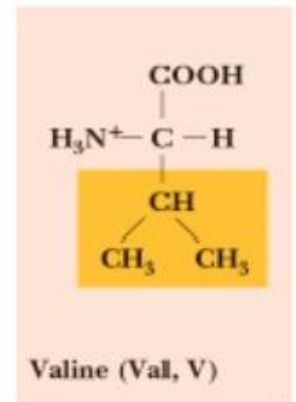
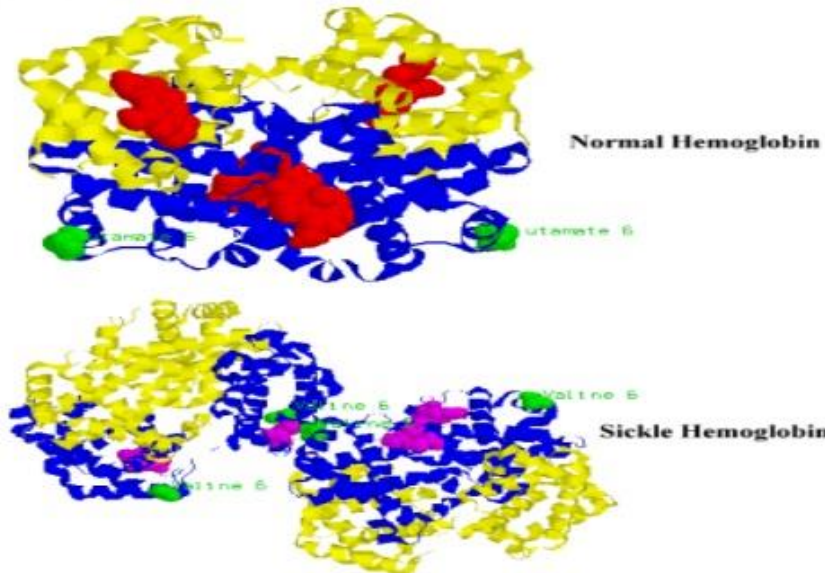
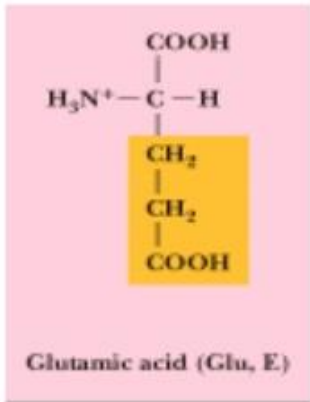
Val His Leu Thr Pro **Glu** Glu
1 2 3 4 5 6 7... 146

(a) Normal red blood cells and normal hemoglobin

Copyright © Pearson Education, Inc., publish

Val His Leu Thr Pro **Val** Glu
1 2 3 4 5 6 7... 146

(b) Sickled red blood cells and sickle-cell hemoglobin

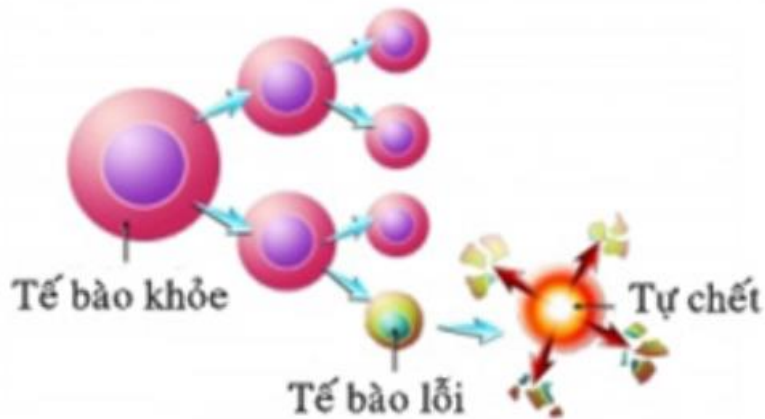


Note: The Sickle hemoglobin image is drawn at 50% of the size of the Normal hemoglobin

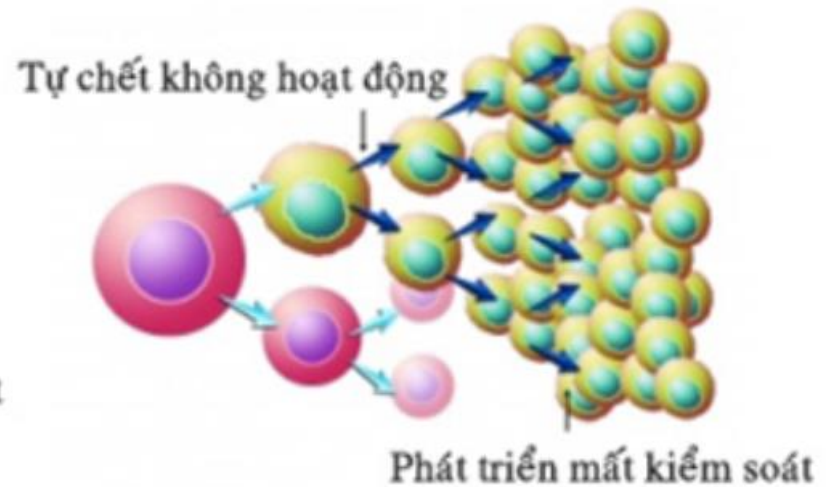
PHÂN CHIA TẾ BÀO

Phân chia tế bào bình thường

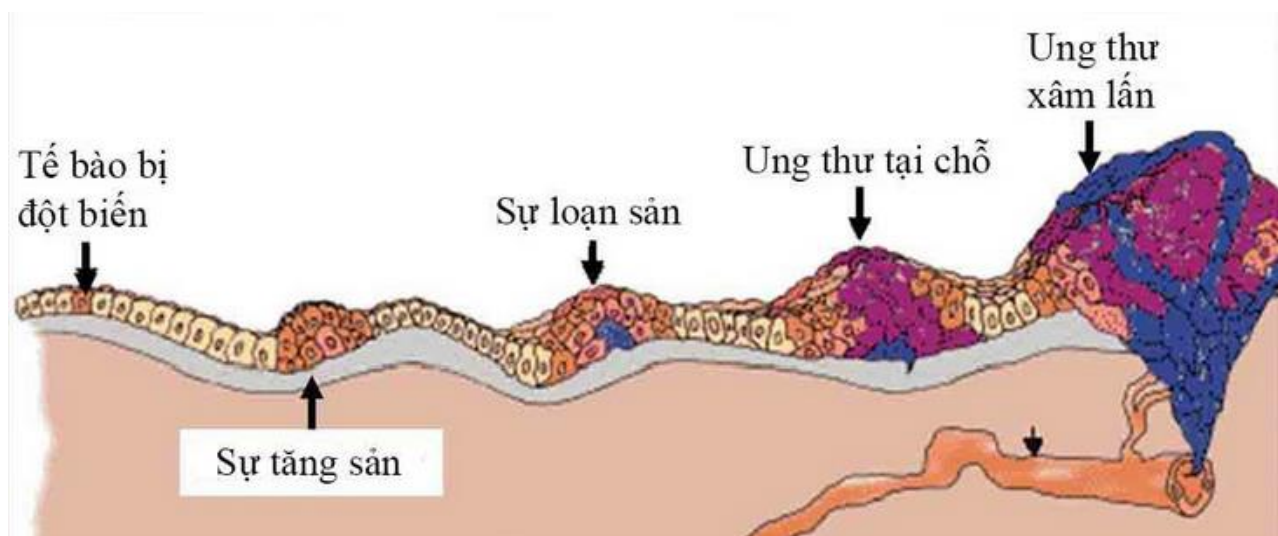
@bacdaibung



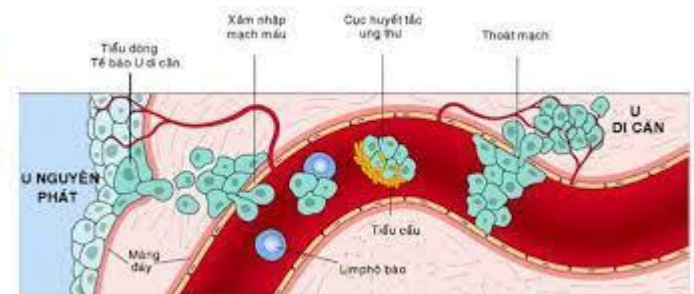
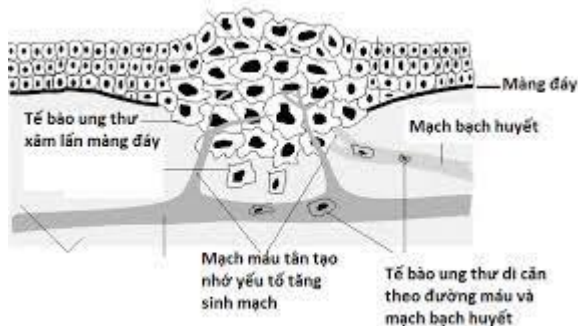
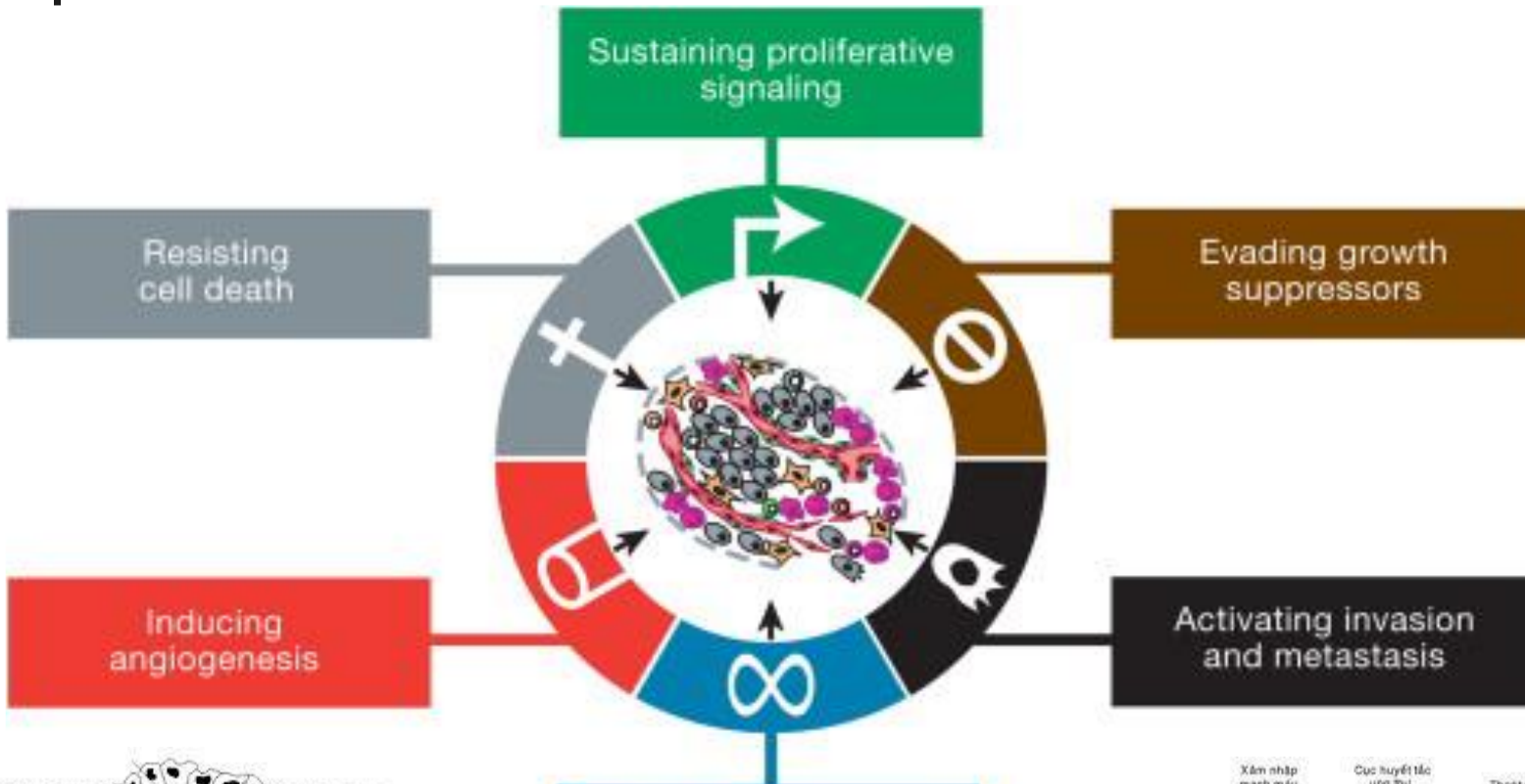
Phân chia tế bào Ung thư



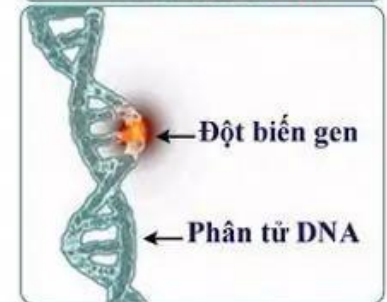
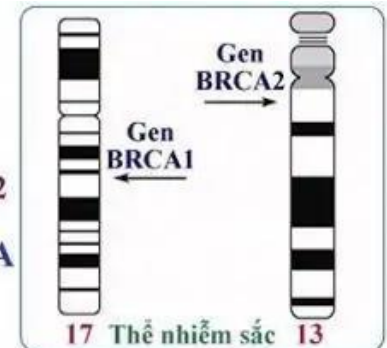
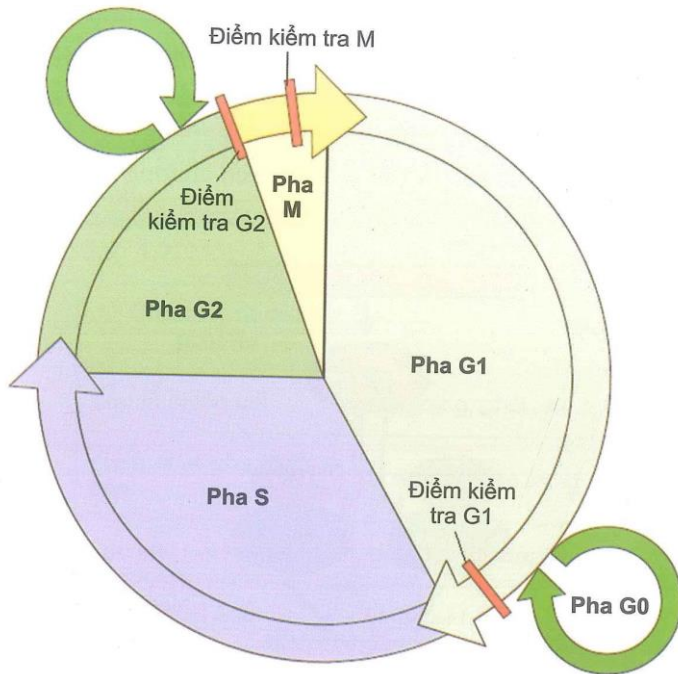
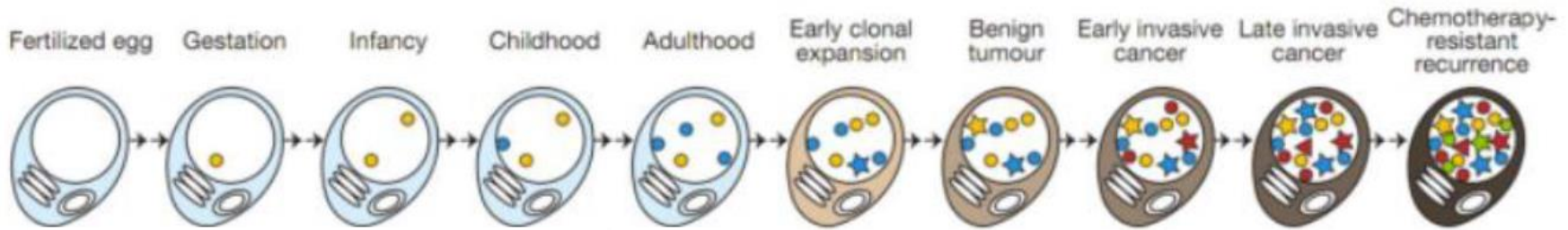
Bệnh
ung
thư



Một số đặc tính bệnh sinh ung thư



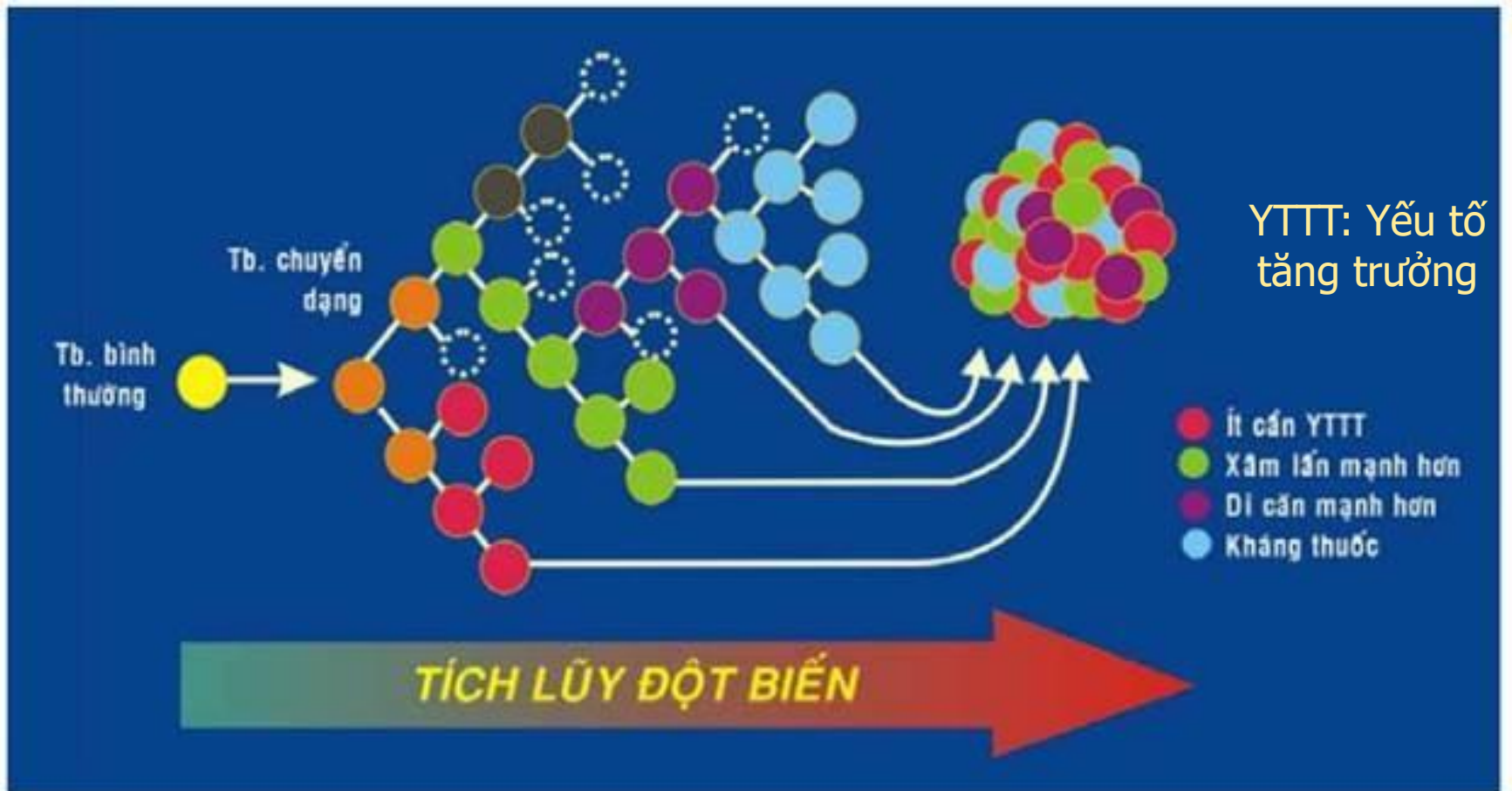
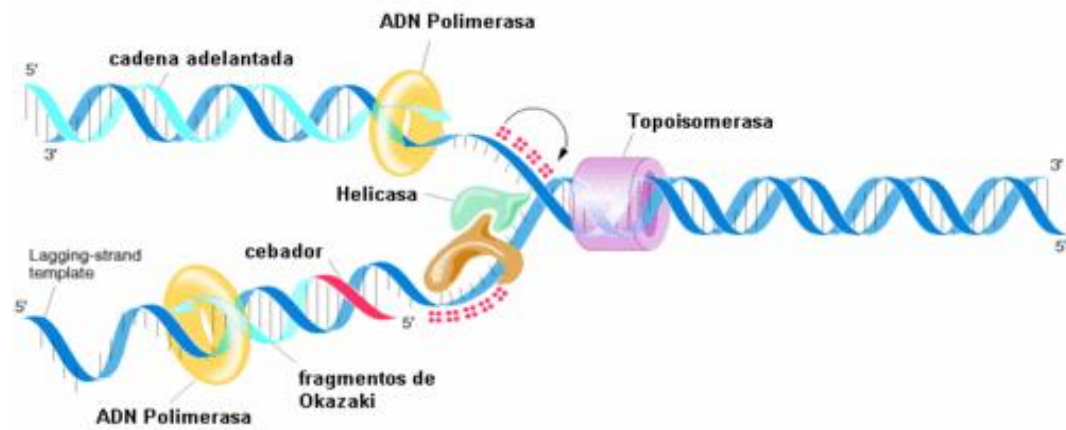
Cơ chế tế bào : đột biến gen



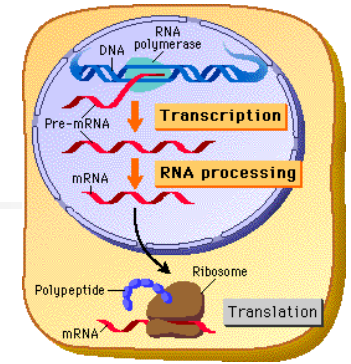
Đột biến gen TP53 làm tế bào mất khả năng kiểm soát sự tăng trưởng của tế bào

BReast CAncer gene

Sự đa dạng của các tế bào trong khối u

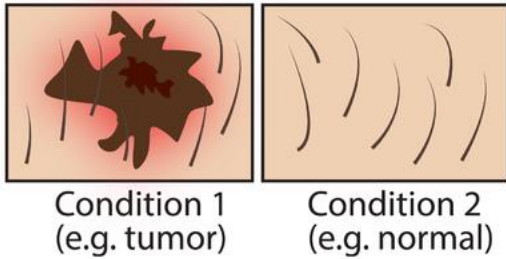


Công nghệ RNA-seq

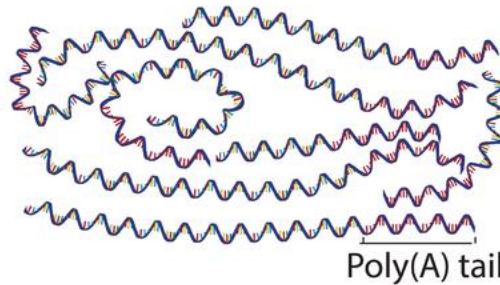


Reverse Transcriptase

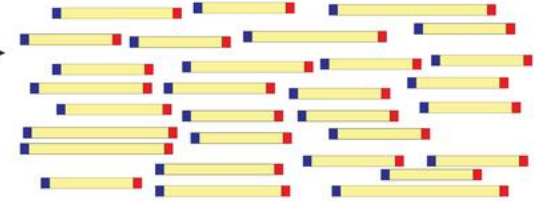
Samples of interest



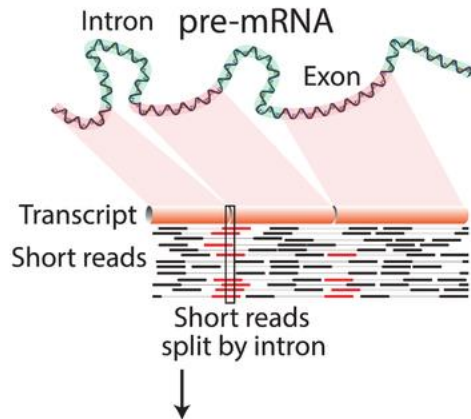
Isolate RNAs



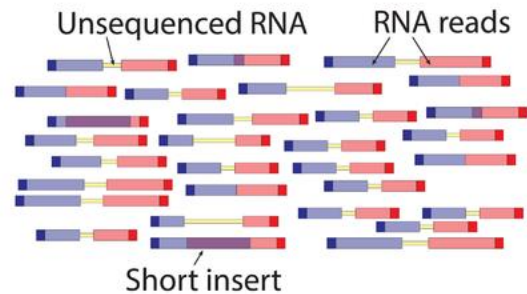
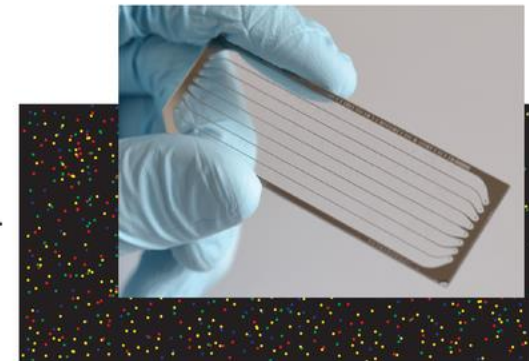
Generate cDNA, fragment, size select, add linkers



Map to genome, transcriptome, and predicted exon junctions



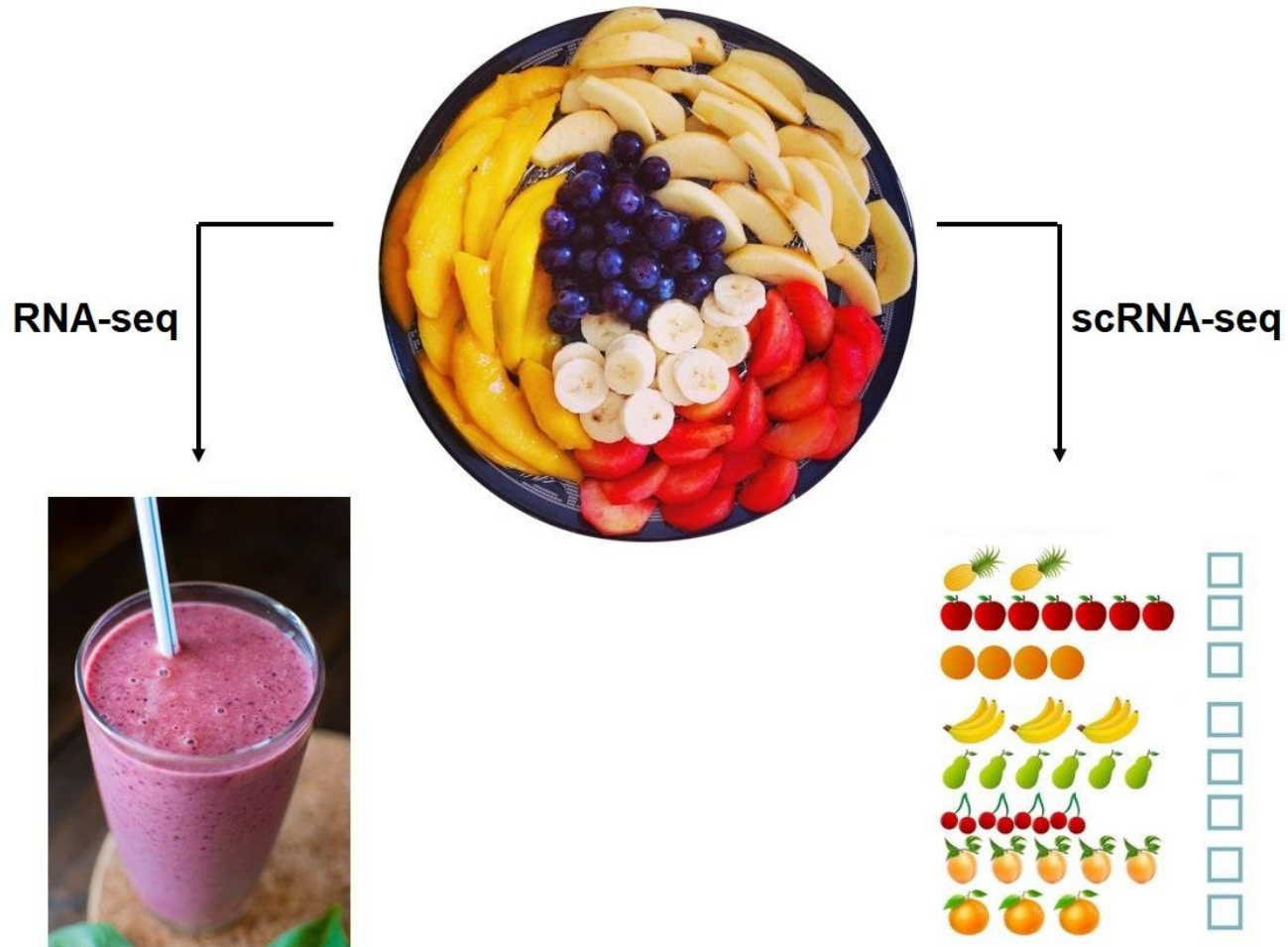
Sequence ends



100s of millions of paired reads
10s of billions bases of sequence

Downstream analysis

Sự khác biệt giữa scRNA-seq và RNA-seq thông thường





Nền tảng Chromium của 10X Genomics



a) Chromium Controller



b) Chromium Connect

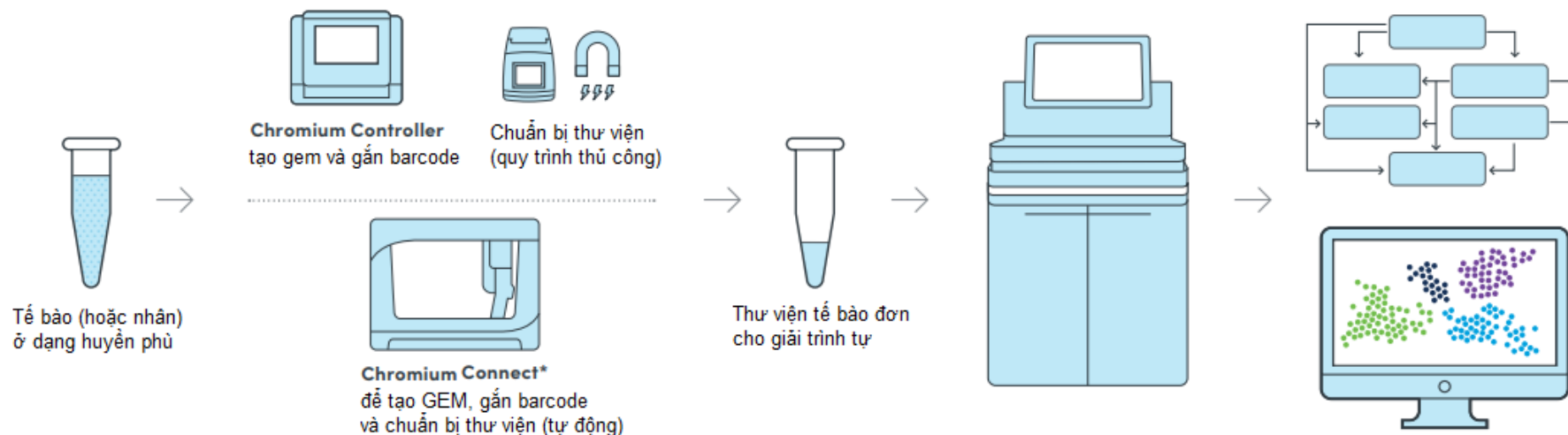
Sơ đồ quy trình thực hiện giải trình tự tế bào đơn sử dụng hệ thống Chromium (10X Genomics)

Chuẩn bị mẫu

Tạo thư viện tế bào đơn

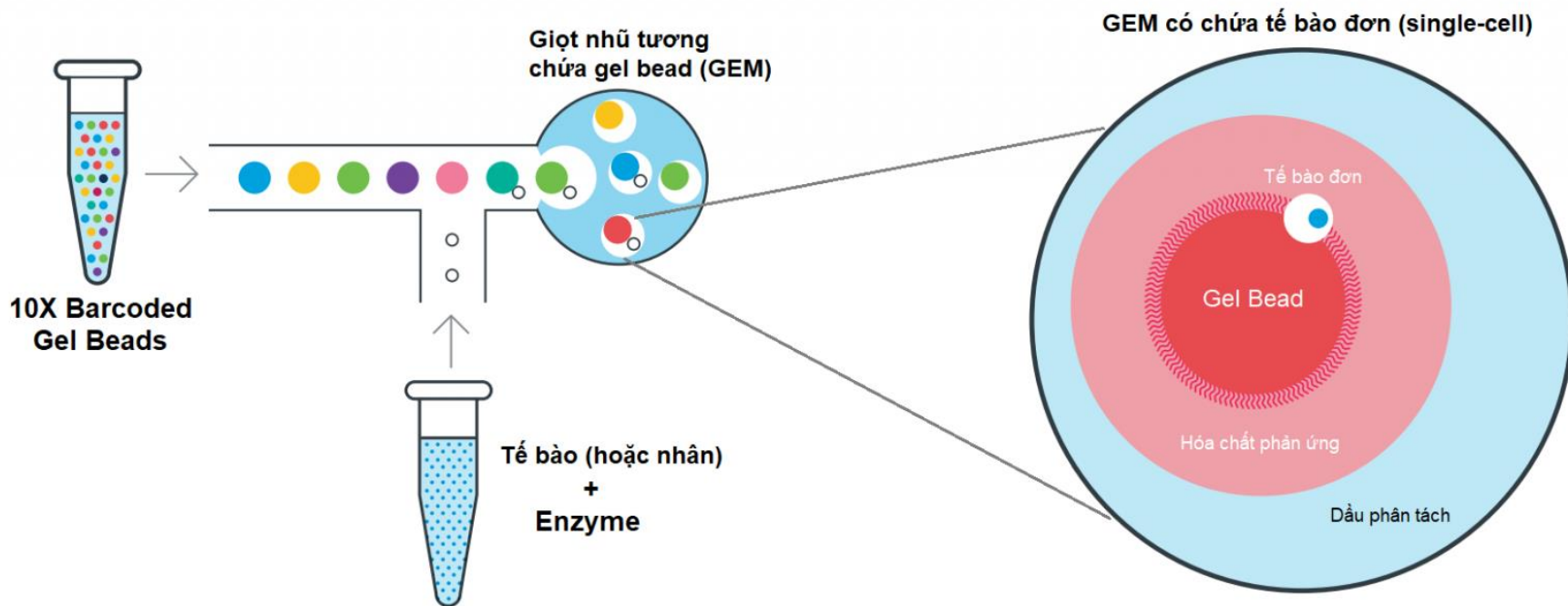
Giải trình tự

Phân tích dữ liệu
Hiển thị dữ liệu

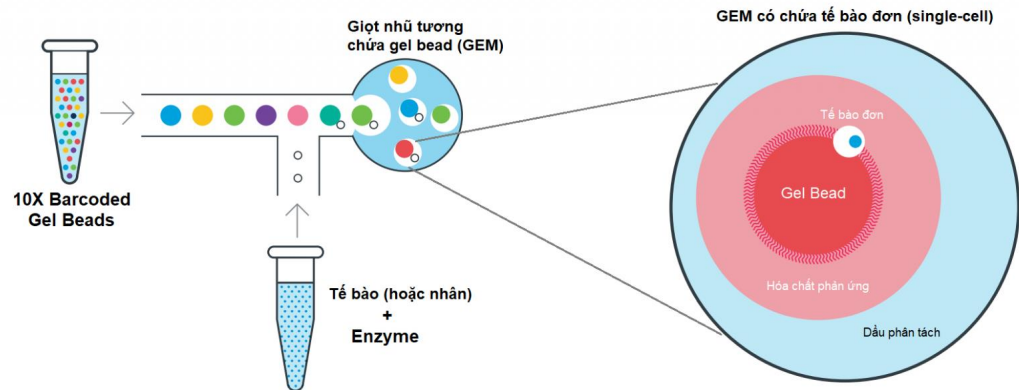


* Tương thích với Chromium Single Cell Gene Expression

Cách thức nền tảng Chromium tạo ra vi giọt và cấu trúc của 01 GEM có chứa tế bào đơn

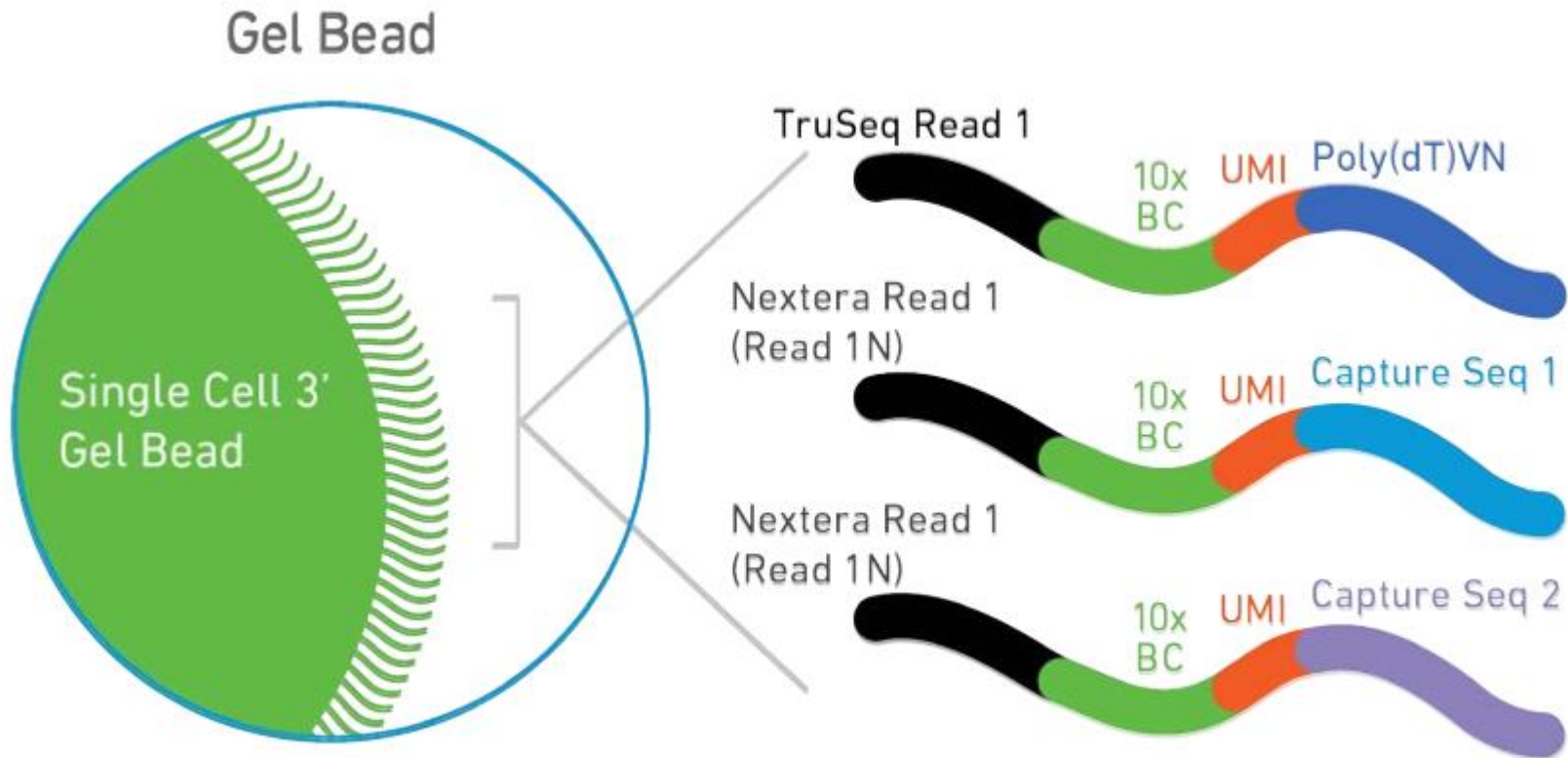


Các thông số cơ bản



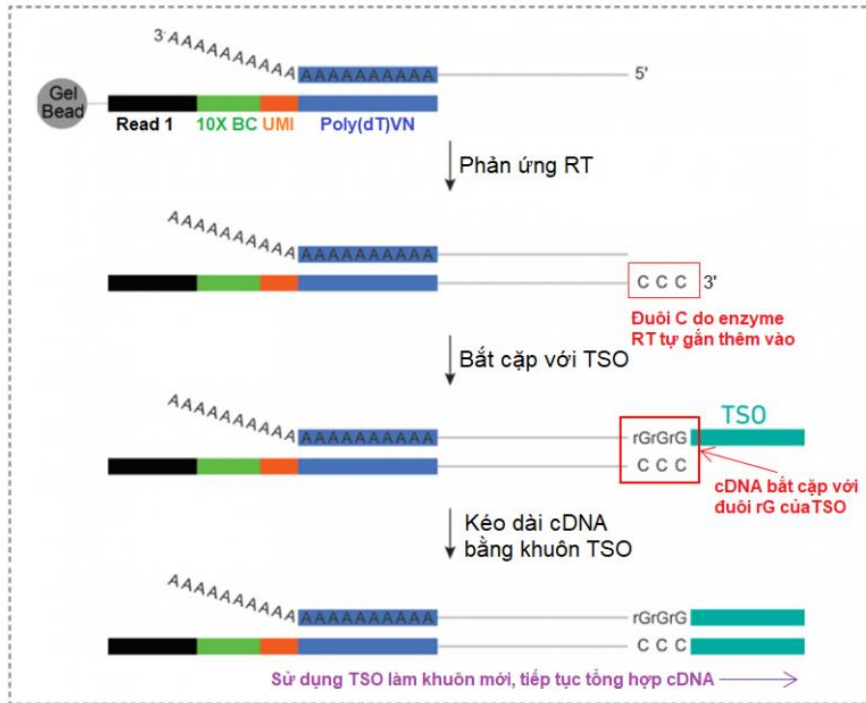
STT	Thông số kỹ thuật	
1	Thông lượng (Throughput)	1 ~ 8 mẫu
2	Lượng tế bào đầu vào (Cell input)	100 ~ 17,000 tế bào
3	Kích thước tế bào (Cell size)	Lên đến 50 μm
4	Hiệu quả bắt giữ (Capture efficiency)	Lên đến 65 %
5	Tỷ lệ doublet (Doublet rate)	0.9 % (mỗi 1,000 tế bào)
6	Độ đa dạng của gel bead (Gel bead diversity)	$\sim 3.6 \times 10^6$
7	Thời gian xử lý (Processing time)	~ 18 phút

Cấu tạo Gel Bead của 10X Genomics

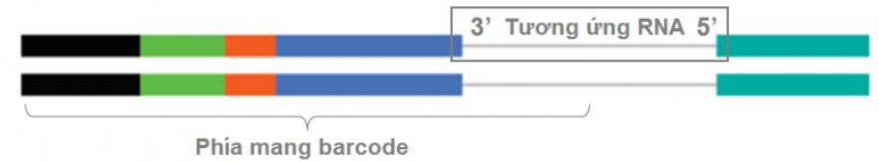


Quy trình tạo cDNA mang barcode

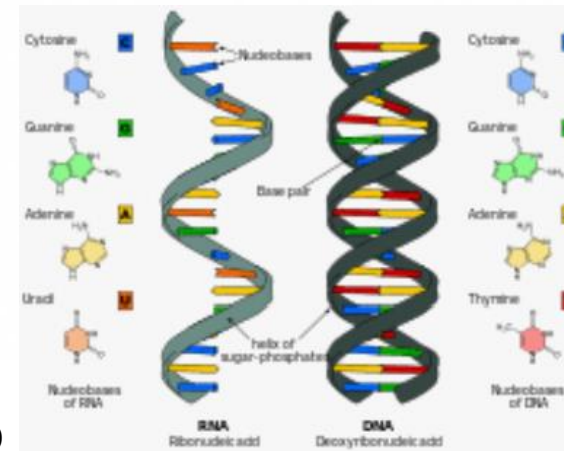
Quy trình tạo cDNA mang barcode



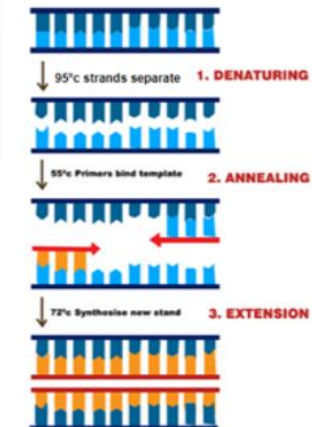
Cấu tạo cDNA mang barcode



TruSeq Read 1	10X BC	UMI	Poly (dT)VN	Insert sequence	TSO
22	16	12	30	Full-length of mRNA	27



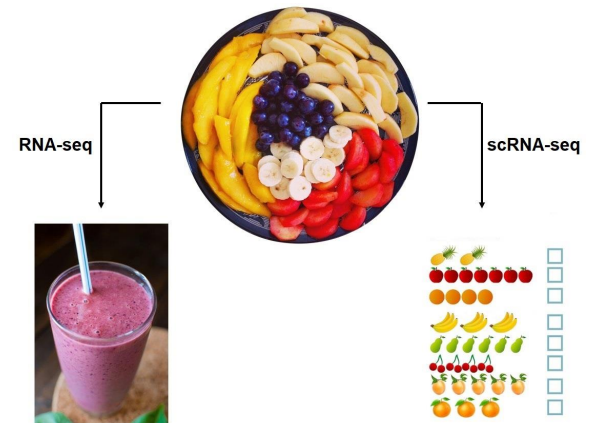
PCR Process (ONE Cycle)



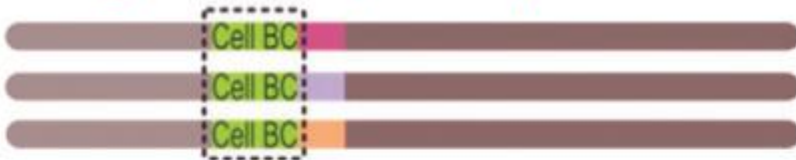
- **TrueSeq Read 1:** mỗi PCR thứ 1 bám vào
- **10X Barcode:** 3.6 triệu trình tự 10X Barcode khác nhau
- **UMI:** **U**nique**M**olecular**I**dentifier
- **TSO:** **T**emplate **S**witch **O**ligo, mỗi PCR thứ 2 bám vào

PCR: polymerase chain reaction

Phương pháp phân tích dữ liệu

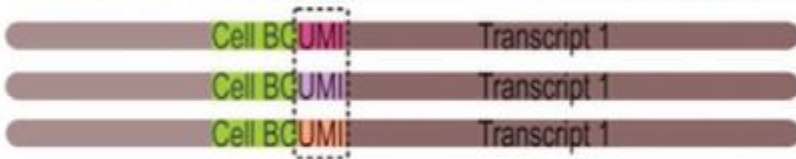


Cùng barcode (cell BC)



→ Các trình tự đến từ cùng 01 tế bào

Cùng barcode, transcript giống nhau, khác UMI

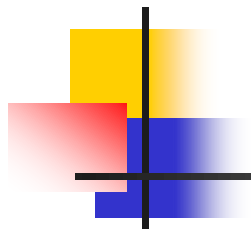


→ Một gene phiên mã tạo 03 transcript

Cùng barcode, transcript giống nhau, cùng UMI



→ Một gene phiên mã tạo 01 transcript (bị trùng lặp do PCR)



Thank you!