

# 植物单细胞测序技术手册

SINGLE CELL SEQUENCING TECHNOLOGY IN PLANTS



- 研究进展
- 样本要求

- 技术原理
- 结果展示

- 技术优势
- 应用案例



## 目录

## CONTENTS

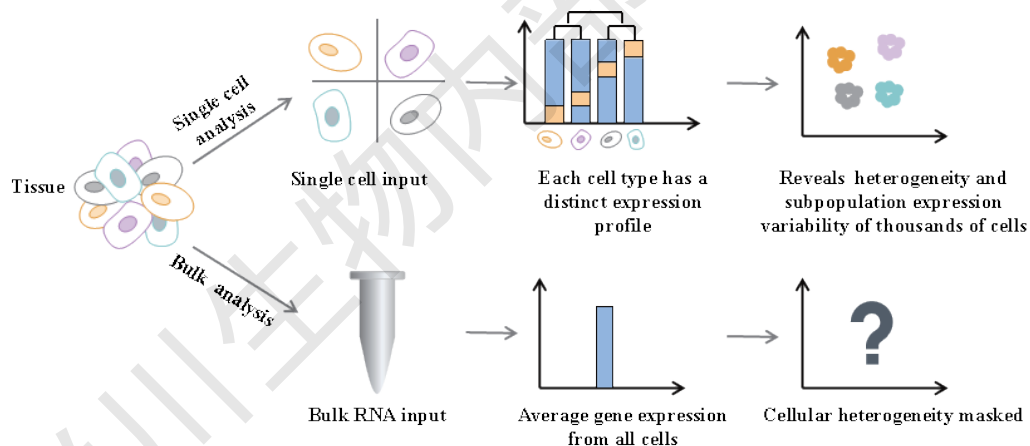
一、	<b>植物单细胞转录组测序的研究进展</b> .....	1
二、	<b>技术原理</b> .....	4
	1、单细胞悬液制备.....	4
	2、GEM 形成.....	4
	3、反转录.....	5
	4、破油 PCR 扩增.....	5
	5、cDNA 文库构建.....	5
	6、文库结构.....	5
三、	<b>联川植物单细胞核测序技术优势</b> .....	6
	1、超高的细胞通量和捕获效率，可实现细胞快速高效标记.....	6
	2、植物抽核解决了原生质体难制备的问题.....	6
	3、引入流式细胞仪，呈现最真实的植物单细胞测序的数据.....	6
	4、互动式单细胞数据挖掘，全面解析其生物学故事.....	6
四、	<b>样本要求，储存及运输</b> .....	7

<b>五、</b>	<b>植物单细胞测序分析</b> .....	9
	1、植物单细胞测序的数据分析流程.....	9
	2、植物单细胞测序的数据分析内容.....	9
<b>六、</b>	<b>植物单细胞测序分析结果展示</b> .....	11
	1. 测序数据质控 .....	11
	2. 细胞聚类及可视化.....	11
	3.Marker 基因展示.....	12
	4. 拟时序分析.....	14
	5. 功能分析 .....	16
<b>七、</b>	<b>植物单细胞测序应用案例</b> .....	19
	1. 细胞图谱构建 .....	19
	2. 胁迫响应机制 .....	22
	3. 生长发育研究 .....	24
	4. 保守性研究.....	27
	5. 植物单细胞核转录组测序 .....	28
	6. 非模式植物单细胞测序.....	29
	7. 多组学联合分析 .....	33
<b>八、</b>	<b>植物单细胞测序国自然总览</b> .....	36
<b>九、</b>	<b>植物单细胞测序发表期刊总览</b> .....	39

# 一、植物单细胞转录组测序的研究进展

## RESEARCH PROGRESS

高通量测序技术 (NGS, Next Generation Sequencing) 的发展和应用为医学、植物学、动物学、微生物学等学科的研究带来了极大便利和突破, 批量转录组 (Bulk RNA-seq) 是其代表性技术之一, Bulk RNA-seq 被广泛应用于研究不同组织/品种/处理/时间点等样本, 例如不同拟南芥根尖的基因表达差异分析, 在科学研究中发挥了巨大作用。但这种方法反映的是特定组织/细胞集合的基因表达平均水平或者代表性信息, 而同一组织往往是由多种细胞类型构成, 且单个细胞间存在异质性, 因此常规 Bulk 测序中单个细胞特异性的信息往往被掩盖, 导致错失很多重要信息。



植物组织由许多不同的细胞类型组成, 每一种细胞类型在组织或有机体的环境中具有特定的功能。因此, 每种细胞类型在应对外界挑战时会表现出不同的分子行为。传统的 Bulk-seq 测序基于所给的样本具有同质性的假设, 得到的是平均化整体性的结果。因此, 单个细胞层面的转录组学的发展为揭示植物样本细胞异质性奠定了基础, 有助于揭示植物发育和胁迫适应过程中所涉及的基本细胞活动, 为植物生物学探究过程中一系列关键问题打开了一个全新的视角。目前植物在进行单细胞测序时仍面临一些难点, 主要体现在以下几个方面:

## 在实验操作方面

- 1、细胞壁去除的酶组合方案和消化时间有待进一步优化,实验的复杂度高
- 2、酶消化作为一种胁迫源,容易刺激植物出现应激反应,诱导压力应答基因的表达,人为引入转录偏差
- 3、不同组织的原生质体制备个性化程度高,很难标准化,不适合大范围应用
- 4、制备的原生质体很脆弱,活性波动大,容易受到渗透压影响导致其胀大或者破裂,对于单细胞测序时效性的挑战很大

## 在数据分析方面

- 1、大部分植物参考基因组注释并不完善
- 2、植物组织或发育阶段特异的标记基因数据库并不健全;
- 3、大部分植物基因功能并不明晰
- 4、由于后续验证的植物模型和商业化验证方法并不多。

然而,为了最大限度的发挥该技术的潜力,需要调整/改善一系列单细胞测序(scRNA-seq)的实验流程,其中对scRNA-Seq数据质量影响最大的是细胞的制备。由于植物样本含有细胞壁,首先必须用酶去除细胞壁,产生原生质体。除此之外,细胞密度、细胞壁厚度、细胞壁组成、角质层、木质素等因素的存在,均会影响酶消化效果以及酶和消化时间的选择,因此优化原生质体制备的过程至关重要,也导致了针对不同的植物样本需要个性化的制定原生质体制备的方法,大大降低实验效率。此外制备好的原生质体极易受到渗透压的影响,从而影响原生质体的活力。拟南芥根部制备原生质体的技术比较成熟,但在其他物种或组织中仍存在较大的技术难点。此外,考虑到植物组织的复杂性,从所有细胞中均一地产生原生质体同样具有挑战性。原生质体分离过程中的酶消化和随后的清除过程可能会对细胞造成胁迫从而会影响转录组的保真性。这些影响因素都决定了单细胞测序的成功与否。总结原生质体制备做单细胞测序的难点主要体现在:

- (1)消化时间过长--对细胞施加了刺激,诱导压力相关应答,人为造成转录本差异;
- (2)制备的原生质体很脆弱,活性波动大;
- (3)原生质体极易受到渗透压影响导致胀大或者破裂;
- (4)制备标准不统一,不适合大范围应用。

那么除了制备原生质体之外,在植物生物学研究中还有其他样本制备方式吗?植物是否也可以通过采用抽核的方式进行单细胞测序呢?答案是肯定的。而且近年来越来越多的研究人员采用抽取细胞核的方式进行单细胞测序。相较于原生质体制备过程的复杂性,采用抽

核的方式进行单细胞测序的优势就比较明显了,包括且不限于以下方面:

- (1)能够减少酶消化导致的应激反应,无需酶消化,实验周期更快;
- (2)转录组变异系数更低;
- (3)降低细胞类型偏好性;
- (4)提高细胞类型的全面性;
- (5)适用样本类型丰富,应用范围广,操作步骤相对简单。

但在抽核过程中,存在着细胞的破碎和细胞质中RNA的外流以及大量的含有丰富RNA的细胞器,因此会对数据质量产生较大的影响,并为后期数据挖掘造成困难。那么,通过引入流式细胞仪,采用7-AAD或者PI对细胞核悬液进行染色,细胞核悬液理论上会分成3个部分:

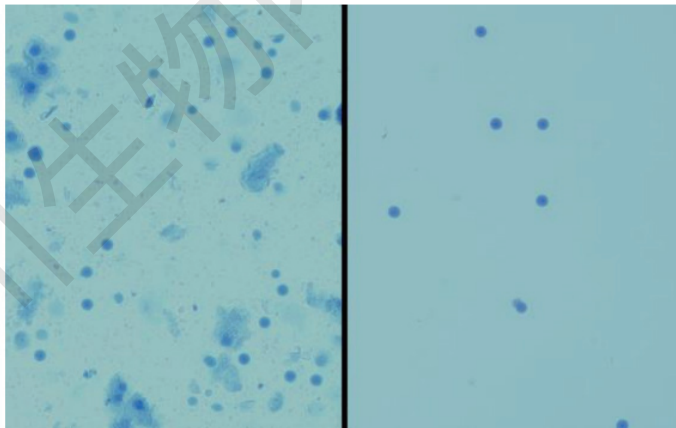
无荧光: 细胞

弱荧光: 细胞碎片

强荧光: 细胞核

通过将细胞直径和内容物的可视化把细胞碎片和外源RNA去除,实现植物单细胞测序更低的背景数据和平台期以及更高的数据利用率。在采用抽核的基础上再次引入流式细胞仪可以完美解决目前植物在进行单细胞测序时所遇到的问题。

### 植物抽核+流式细胞仪=植物单细胞的完美解决方案



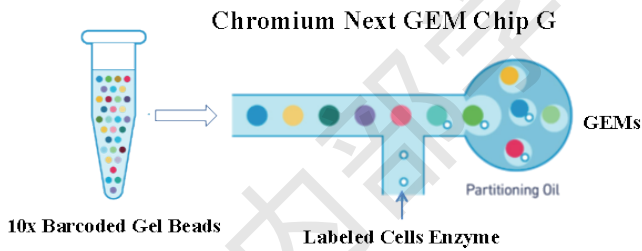
图片说明:未过流式的抽核样本(左图),含有大量的碎片和抽核破碎不完全的仍然残留细胞;过完流式分选后的样本(右图)背景干净无杂质,且颗粒大小均一,不存在破碎不完全的问题

## 二、技术原理

### TECHNICAL PRINCIPLES

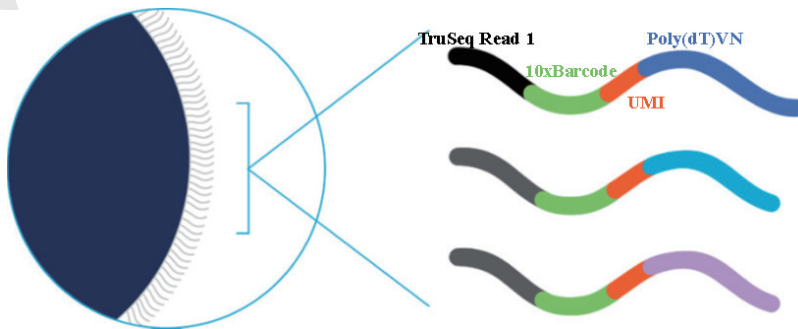
#### 1、单细胞悬液制备

制备好的细胞悬液、10x barcode凝胶磁珠和油滴分别加入到Chromium Chip 的不同小室,经由微流体结构系统形成GEM单细胞反应体系 (Gel Beads-in-emulsion),一般上机的细胞悬液浓度控制在700-1200 cells /ul。



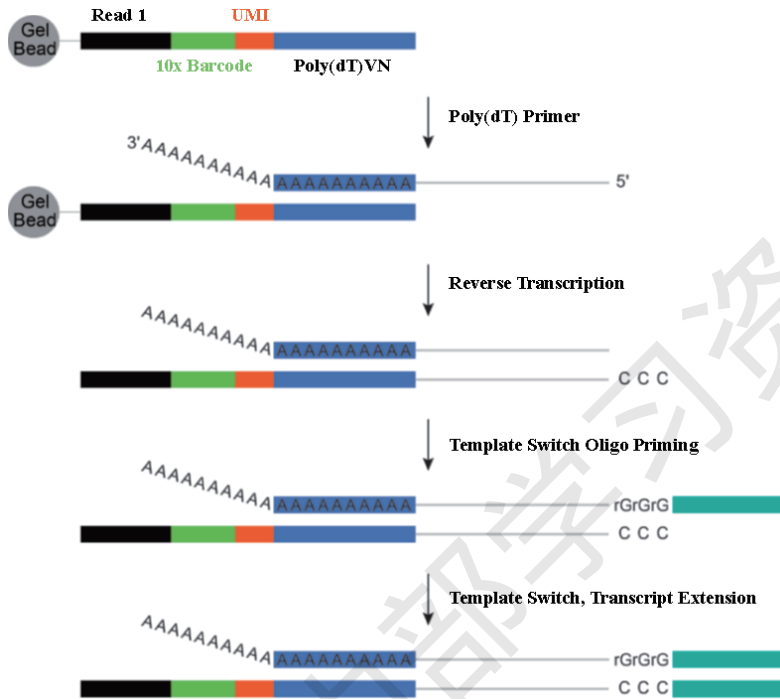
#### 2、GEM 形成

GEM 形成后混合, 细胞裂解, Gel beads 自动溶解释放大量引物序列。Gel beads 由凝胶珠和磁珠上的一段引物, 引物构成依次为全长 Illumina TruSeq Read 1 测序引物、16nt 10x Barcode 序列 (每个 Gel bead 的 10x Barcode 均不相同, 形成 GEM 后用于区分细胞)、12 nt unique molecular identifier (UMI) (区分同一细胞的不同转录本并去除 PCR Duplications)、30 nt poly dT 反转录引物。



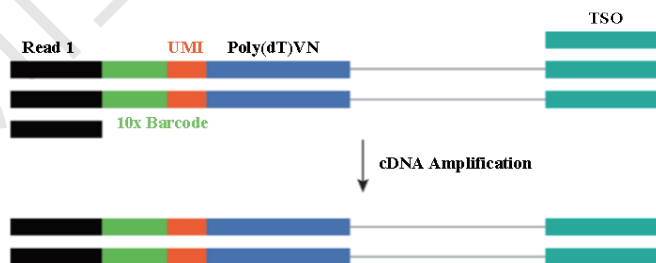
### 3、反转录

带有polyA的RNA反转录产生带有10x Barcode和UMI信息的cDNA：



### 4、破油 PCR 扩增

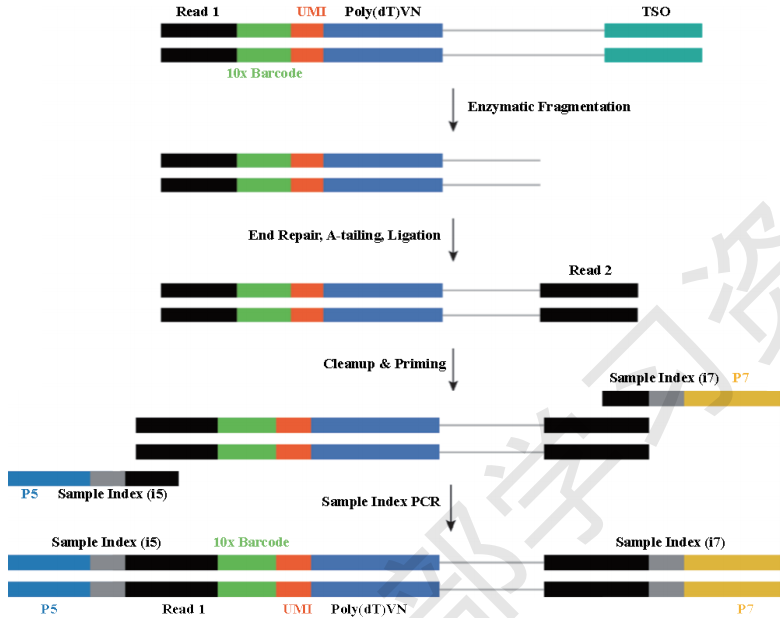
油滴破碎,磁珠纯化一链cDNA,然后进行PCR扩增:



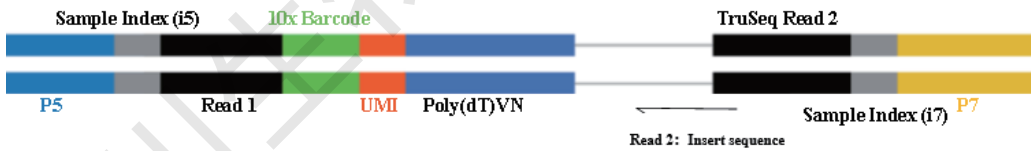


## 5、cDNA 文库构建

cDNA 扩增完成后酶切片段化并筛选合适片段，通过末端修复、加A、接头连接Read2测序引物，PCR 构建含有P5和P7接头的cDNA文库：



## 6、文库结构





## 三、联川植物单细胞核测序技术优势

### TECHNICAL ADVANTAGES

#### 1、超高的细胞通量和捕获效率，可实现细胞快速高效标记

植物单细胞核测序基于10x Genomics单细胞平台的微流体系统分选单个细胞，实现真正意义上的单细胞测序，且单个细胞捕获效率高达65%，可准确鉴别稀有细胞类型，利于稀有样本或小细胞量类型样本研究。

#### 2、植物抽核解决了原生质体难制备的问题

采用抽取细胞核的方式进行单细胞测序避免了酶消化导致的应激反应，无需酶消化，实验周期更快，此外适用的样本类型也更加丰富，提高细胞类型全面性的同时也降低了操作的难度。



【联川影业】植物抽核+流式实验大揭秘！见证植物单细胞的完美解决方案！

#### 3、引入流式细胞仪，呈现最真实的植物单细胞测序的数据

国内最早实现单细胞平台+流式细胞仪组合应用，通过将细胞直径及内容物的可视化把细胞碎片和外源RNA去除掉，在实现植物单细胞测序更低的背景数据和平台期的同时也提高了数据利用的率，呈现最真实的植物单细胞测序结果。



为什么联川单细胞数据质量那么高？答案在这里

#### 4、互动式单细胞数据挖掘，全面解析其生物学故事

拥有丰富的样本处理经验,提供严谨的数据质控过程;自建marker基因数据库,提供最精准的细胞注释结果(也收录了Plant Single Cell Hub数据库中细胞marker信息:<http://jinlab.hzau.edu.cn/PsctH/>);深入探究客户的课题,从客户的研究角度出发,阅读大量文献,提供CNS级别的数据挖掘体验。



联川细胞Marker基因和细胞类型鉴定数据库上线啦!

联川生物内部学习资料

## 四、样本要求，储存及运输

### SAMPLE REQUIREMENTS

组织量要求:湿重达到1g或以上

植物抽核样本准备如下两种方式均可:

条件允许的情况下,我们建议用原始的植物培养条件来寄送活体材料,如盆栽或组培苗形式寄送(优先推荐的方式)。

如果条件不允许的情况下,可以寄送冻存样本。从植物体上取新鲜幼嫩、生长旺盛的根部/叶片等研究目标组织,液氮速冻,然后干冰寄送。

Tips:目前文献中已报到的植物单细胞主要还是集中在拟南芥、水稻、玉米、番茄、花生、烟草、杨树、藻类等物种,组织类型主要集中在根、茎、叶、花等,其中研究最多的是根、茎、叶,而且主要是发育3-7日龄的幼嫩组织。取新鲜幼嫩的部位开展实验,老组织细胞壁坚硬,难以酶解。新鲜幼嫩部位实验成功率高。



### 风险提示

以下任何一种情况出现,样本将判定为不合格,相关影响及风险说明如下:

1.新鲜组织样本储存或运输时间过长(>72小时)

不合格的样本储存与运输条件将影响细胞活率,可能导致细胞基因表达特征变化,数据失真。

## 2.植物样本中含有夹带损伤坏死样本

植物样本存在坏死或影响样本解离效果与细胞活率,导致数据失真。

## 3.细胞直径过小( $< 7\mu\text{m}$ )

细胞直径过小将会导致细胞计数仪 (Countess™ II Automated Cell Counter ,检测范围  $7\sim 60\mu\text{m}$ ) 计数不准,影响最终获得的有效细胞数。

## 4.经细胞筛过滤,细胞悬液中仍然有明显的细胞结团、碎片或杂质( $>25\%$ )

细胞结团、碎片或杂质的存在,可能堵塞微流控通道,导致获取的有效细胞数偏离预期。细胞悬液中游离mRNA可能附着在细胞碎片和杂质中,导致有效细胞数降低。

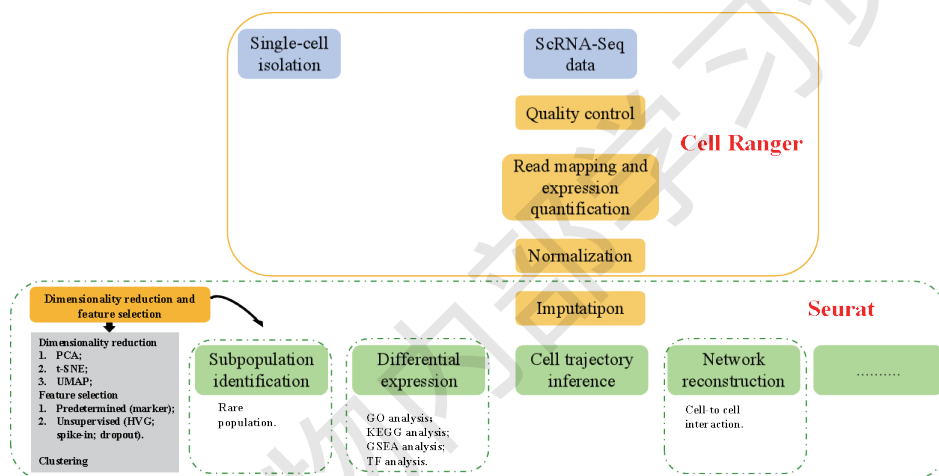
## 5.过流式之后,细胞核悬液浓度低于所需浓度( $<700\text{ cells /ul}$ )

导致获取的有效细胞核数可能低于预期。

# 五、植物单细胞测序分析

## SEQUENCING ANALYSIS

### 1、植物单细胞测序的数据分析流程



### 2、植物单细胞测序的数据分析内容

分析类别	分析内容
数据质控	整体质控
	细胞基因数、UMI 数、线粒体基因表达分布（过滤前、后）
	UMI 数量与基因数量相关性分析
	Top 基因分布
细胞聚类及可视化	t-SNE 聚类及可视化
	UMAP 聚类及可视化
样本 /Cluster 差异分析	细胞聚类差异分析
	样本 /Cluster 间基因特异性分析

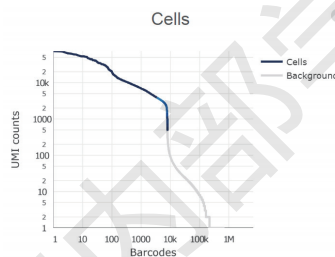
批次效应去除	去除因不同时间取样、上机等引入到干扰
细胞聚类定义	SingleR 定义细胞类型
	t-SNE 聚类可视化细胞类型
	UMAP 聚类可视化细胞类型
Marker 基因展示	Heatmap
	Column graph 图
	RidgePlot 图
	Dot plot 图
	Feature_plot 图
	violin 图
拟时序分析	拟时序状态轨迹分析
	细胞 cluster 状态轨迹分布分析
	拟时序轨迹分布相关 TOP100 基因分析及可视化
	拟时序轨迹分布特定基因分析及可视化
RNA 速率 (RNA velocity)	估算 RNA 随时间变化的速率, 作为预测因子预测细胞命运
细胞周期分析	不同细胞 Cluster 细胞周期分布
	细胞周期分布 Feature_plot 图
发育、分化阶段基因数量分布	拟合分析不同分化、发育阶段基因表达数量
单细胞 -Bulk 相关性分析	与 Bulk RNA-seq 联合分析
基因差异分析	差异基因火山图
	样本基因表达 MA 图
功能富集分析	GO 富集
	KEGG 富集
	GSVA
	GSEA
	基因功能网络富集
基因互作	基因 - 基因互作图

# 六、植物单细胞测序分析结果展示

## SEQUENCING ANALYSIS

### 1. 测序数据质控

10x Genomics官方分析软件Cell Ranger对原始数据进行数据质量统计，并比对参考基因组，统计细胞捕获数、细胞基因检测中位数、有效数据率、测序饱和度、基因组mapping率等信息。



部分核由于核膜不完整造成RNA外渗，并且体系中存在细胞碎片或者游离的RNA，在捕获过程中均会进入到GEM系统中进行标记，Cell Ranger会过滤掉一部分这种情况的数据，视为非细胞数据/背景数据 (Background)。后续还会通过其他方式进一步质控拿到高质量的细胞核数据，如单个barcode标记的细胞核基因数量/转录本数量，采用设置阈值进行数据过滤，低于该阈值的细胞核数据将被丢弃。

### 2. 细胞聚类及可视化

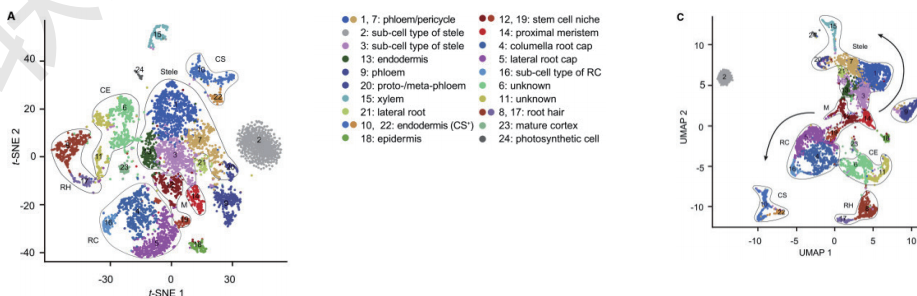


图 拟南芥根细胞聚类图谱 (A Single-Cell RNA Sequencing Profiles the Developmental Landscape of Arabidopsis Root)



高通量单细胞测序数据的一个显著特点就是数据量较大，一次能反映的细胞数量多。因此，通过降维和可视化去展示细胞数据特征是一个非常重要的工作。单细胞降维的方式一般常用的是t-SNE和UMAP。上图左是聚类分析后的tSNE分群展示，其中每一种颜色代表了cluster后鉴定到的一种细胞群，散点代表每一个细胞，图中的数字代表了该群的cluster编号。同理，上图右也给出单细胞分析降维展示的UMAP图，各颜色和散点代表的含义与上图的tsne图一致。

### 3.Marker 基因展示

#### Violin plot

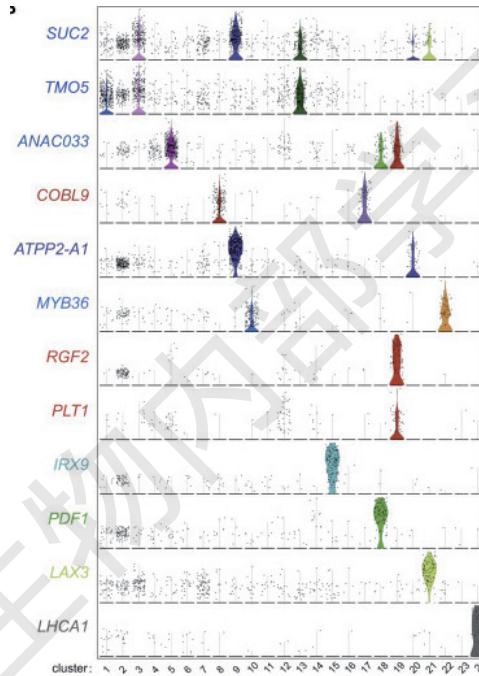


图 拟南芥根细胞marker基因可视化(A Single-Cell RNA Sequencing Profiles the Developmental Landscape of Arabidopsis Root)

小提琴图可以反映亚群中各个细胞的标记基因表达量分布，也可以来衡量该基因作为某一个子群的marker基因的特异性。一般来说，比较好的marker基因的特异性都是比较好的，常用于细胞类型的验证。理论上最终挑选的marker基因要在其所属的细胞类型中的绝大多数细胞中都有较高的表达，而在其他细胞类群中只有少部分细胞有表达。X轴是不同cluster；Y轴是基因的表达水平。

## 气泡图

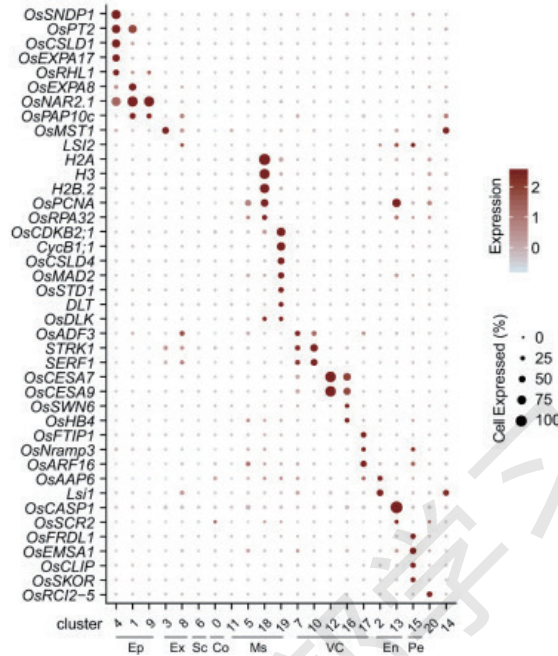
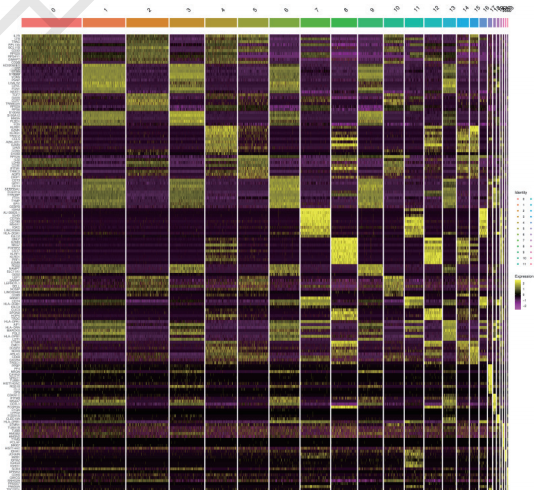


图 水稻根细胞marker基因可视化(Single-cell transcriptome atlas and chromatin accessibility landscape reveal differentiation trajectories in the rice root)

X轴是标记基因名称;Y轴是细胞cluster名称;气泡大小代表在某个cluster中表达标记基因的细胞数目占该cluster中所有细胞数目的比例,气泡越大则代表比例越高;气泡颜色代表标记基因在细胞亚群中的表达丰度均值,气泡颜色越深代表标记基因在该亚群中的平均表达量越高。



细胞基因表达热图

热图综合反映基因表达水平、表达标记基因的细胞亚群的分布及细胞亚群中表达标记基因的细胞数量，是进行标记基因呈现的主要方式。上图展示了对细胞聚类分析后鉴定到的每一个分群进行差异基因鉴定，每个群选择特异的差异基因做的热图。X轴代表了标记基因或者差异基因，Y轴代表了每一个细胞，并且按照cluster的特定编号来排序的。热图中的颜色代表了基因的表达水平，从紫色到黄色代表基因表达水平从低到高，顶部渐变色代表不同细胞。

## Feature plot

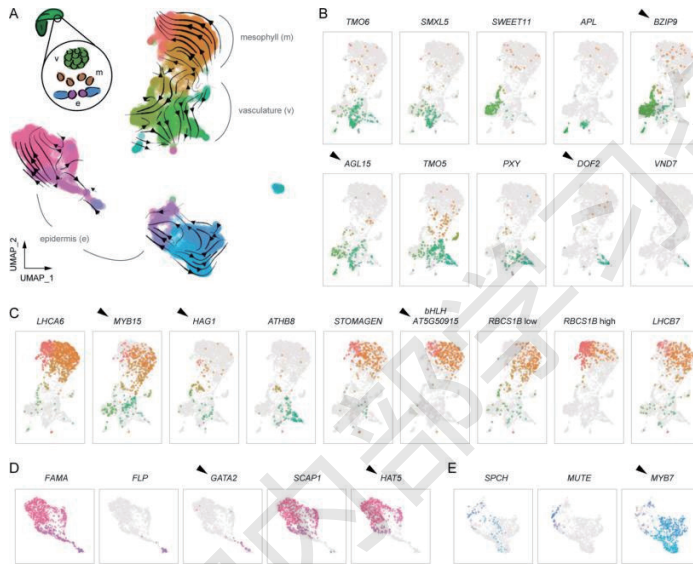


图 水稻叶片细胞marker基因可视化 (Single-Cell Resolution of Lineage Trajectories in the Arabidopsis Stomatal Lineage and Developing Leaf)

Feature plot展示特定基因在细胞聚类图 (t-SNE或UMAP) 中的分布，颜色深浅表示基因在细胞内的表达量高低。可通过marker基因在某类cluster中的表达情况，进而判断对应的细胞类型。并且，还可以查看基因在不同样本中的表达情况。

## 4. 拟时序分析

拟时间序列 (Pseudotime) 简称拟时序，它是一种测量细胞在一个生物学过程如细胞分化中进展程度的方法，它是对一个生物学过程的抽象，描述了一个细胞当前状态和时间轨迹的起始状态之间的最短路径的距离。

## 拟时序轨迹分析

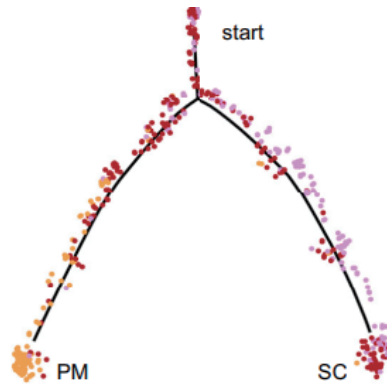


图 拟南芥根细胞分化图谱 (A Single-Cell RNA Sequencing Profiles the Developmental Landscape of Arabidopsis Root)

图中的每个点代表一个细胞，横纵坐标代表降维后的成分，具有相似细胞状态的细胞被聚到一起，每个分支点代表着一个可能的细胞生物学过程决策点(图中分支点)。不同的颜色代表了不同的细胞分化状态，可以结合各个区段的分化状态进而找到它们的共性，比如，共表达的特异性基因等。

## 细胞亚型状态轨迹分布分析

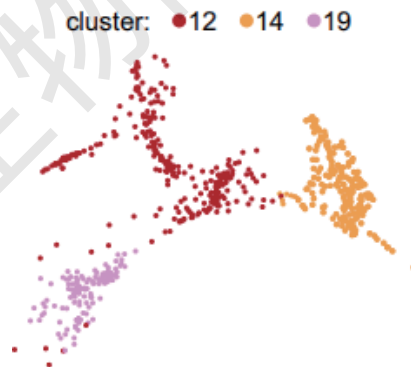


图 拟南芥根细胞分化图谱 (A Single-Cell RNA Sequencing Profiles the Developmental Landscape of Arabidopsis Root)

该图为按照细胞聚类信息进行颜色标注，通过这样的方式，我们可以查看不同细胞亚型在轨迹结构上所处的分支位置，从而对各个细胞亚型的功能差异等有一个推断。

## 拟时序轨迹分布相关基因分析及可视化

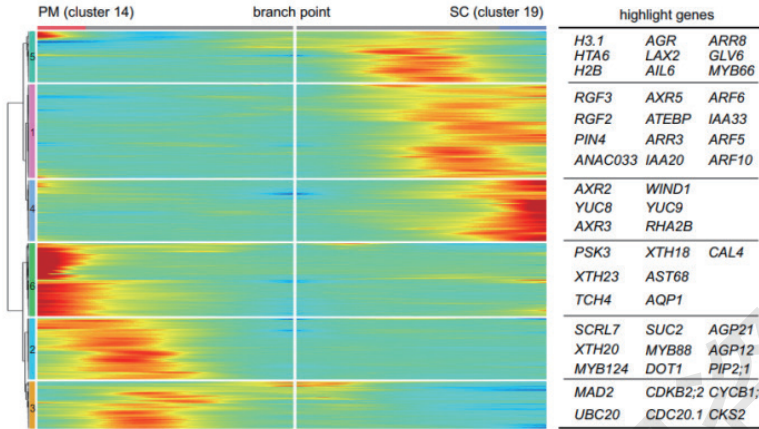
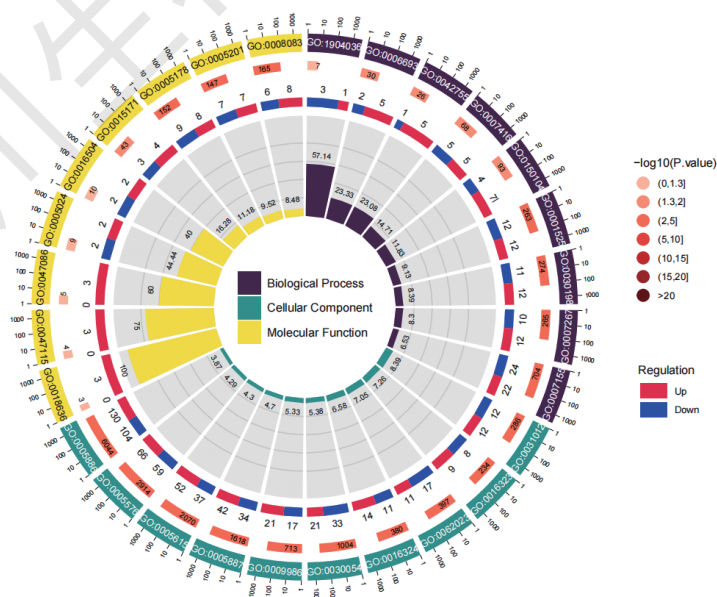


图 拟南芥根细胞拟时序分析 (A Single-Cell RNA Sequencing Profiles the Developmental Landscape of Arabidopsis Root)

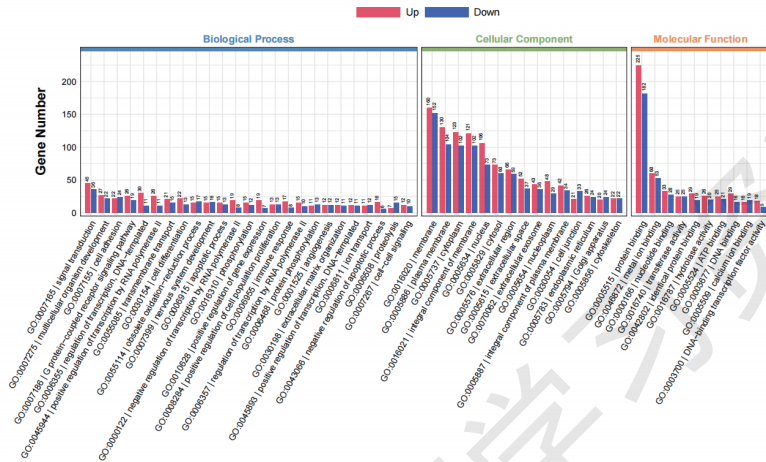
确定了分化起点之后，拟时序分析软件可以模拟出每个细胞所处的分化时间，并以热图形式构建随着分化时间表达逐渐升高或降低的基因，该图展示了细胞状态分化相关的命运决定基因的表达情况，从蓝色到红色表示表达量从低到高。

## 5. 功能分析

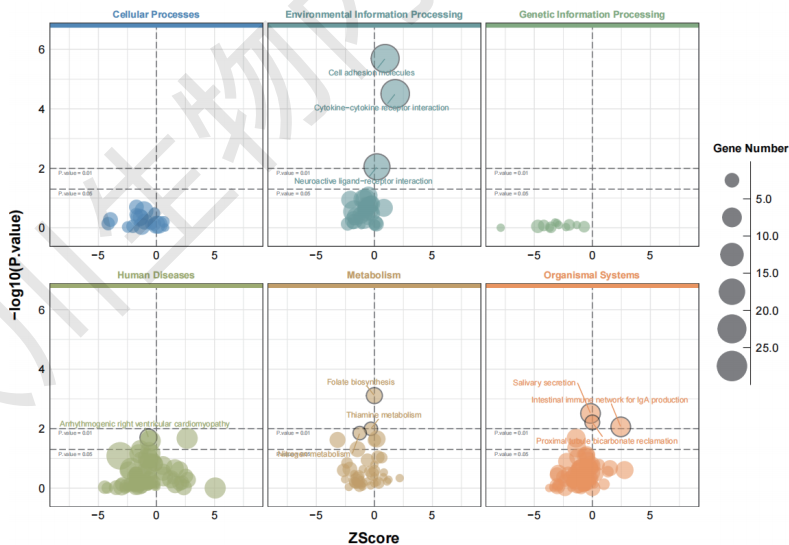
### GO 富集圈图

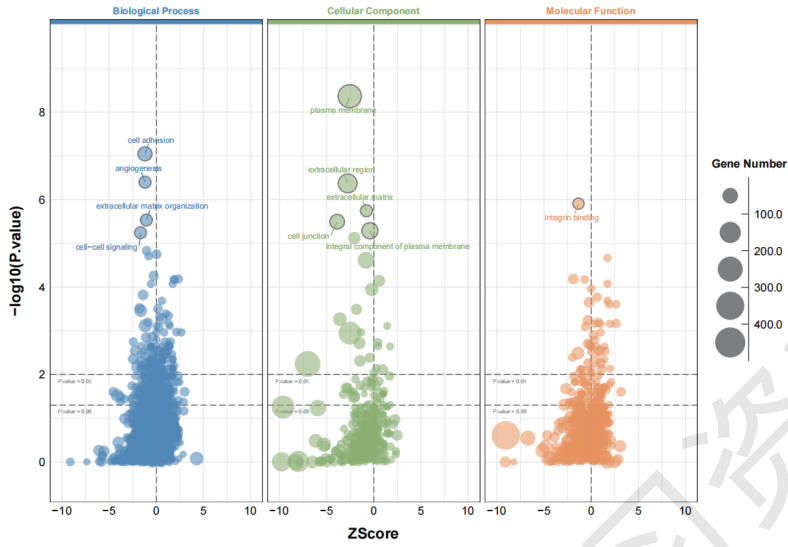


第一圈 (从外到内) 为富集Top(P值最小或Q值最小)的GO条目, 圈外为基因数目的坐标尺, 不同颜色表示GO三大类的分类; 第二圈代表注释到GO条目的基因数目 (B), 颜色表示富集分析P值或Q值的 $-\log_{10}$ 值; 第三圈是GO中差异上调基因和下调基因的数目统计情况, 红色代表上调, 蓝色代表下调, 数字表示数目; 第四圈表示富集因子的百分数 (Rich.Factor)。



横坐标表示富集到GO条目的差异基因数, 上下调基因数目分别为红蓝表示, 纵坐标表示GO条目。





横坐标的 ZScore 表示上下调基因数目的差异程度，纵坐标表示 GO 条目富集分析的 p-value 的  $-\log_{10}$  值，气泡颜色表示 GO 的分类，右侧列为显著富集的气泡信息。

## KEGG 功能分析



横坐标的 Rich factor 表示位于特定 KEGG 的差异基因个数/位于特定 KEGG 的总基因数，Rich factor 越大，KEGG 富集程度越高。圆圈大小表示 KEGG 对应的差异基因数目，圆圈颜色表示 KEGG 富集程度的 p 值大小。



## 七、植物单细胞测序应用案例

APPLICATION CASE



扫一扫,了解植物单细胞发表了哪些文章

### 1. 细胞图谱构建

10x Genomics官方分析软件Cell Ranger对原始数据进行数据质量统计,并比对参考基因组,统计细胞捕获数、细胞基因检测中位数、有效数据率、测序饱和度、基因组mapping率等信息。

#### 【案例解析】植物根尖单细胞图谱

Single-cell RNA sequencing resolves molecular relationships among individual plant cells

研究单位:Department of MCDB, University of Michigan

影响因子:8.005

研究手段:单细胞转录组测序

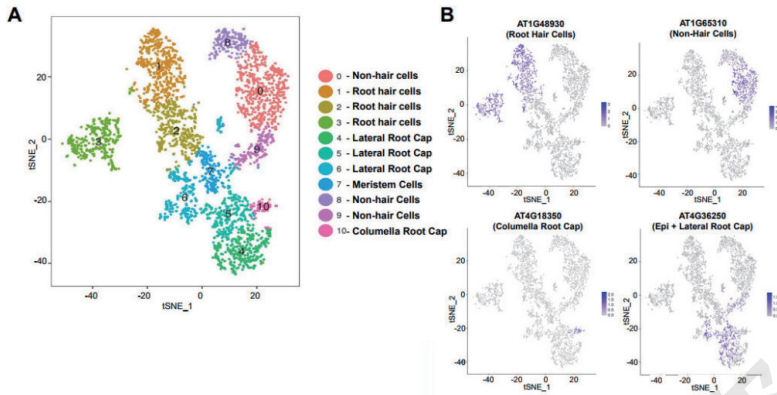
发表期刊:Plant Physiology



扫一扫,获取全文

作者对200个拟南芥(Col-0)幼苗根尖组织进行解离并制备了约1万个原生质体,利用10X Genomics Chromium单细胞测序平台,获得了共7552个单细胞的转录组数据(包含3个生物学重复)。平均每个细胞测序数据量是75,000 reads,平均每个细胞检测到约24,000个转录本(UMIs)和5000个基因,所有细胞群体中共检测到超过22000个基因。作者划分了单细胞类群,发现不同亚群细胞表达组织特异性基因,相应的细胞群体分为:根毛(生毛细胞)表皮细胞、中柱细胞、非根毛表皮细胞、皮层、内皮层、分生组织内皮层和根冠。





### 【案例解析】拟南芥营养枝茎尖的单细胞转录组图谱

#### A single-cell analysis of the Arabidopsis vegetative shoot apex

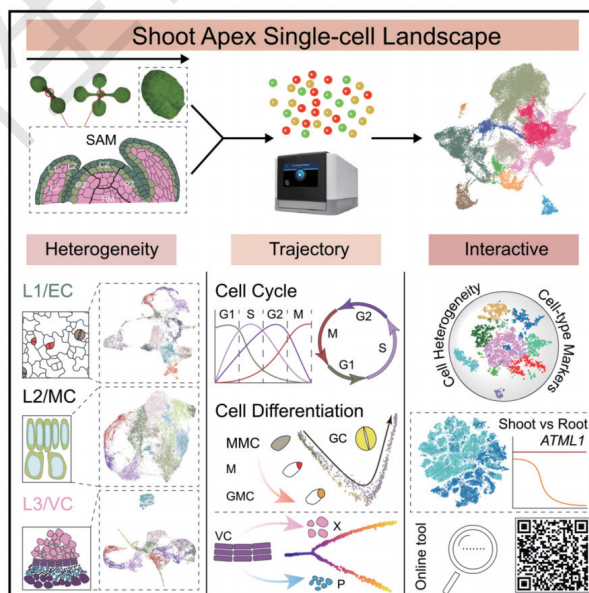
研究单位:中科院植物生理生态研究所

影响因子:13.417

研究手段:单细胞核转录组测序

发表期刊:Developmental Cell

茎尖分生组织在植物的整个生命周期中会形成新的气生结构。作者使用单细胞转录组测序构建了拟南芥营养茎尖细胞水平转录组表达情况。作者发现茎尖由高度异质的细胞组成,可分为7个大群,23个细胞簇。作者描绘了表皮细胞、维管组织和叶肉细胞的细胞周期连续体和发育轨迹,并推断出与细胞命运决定相关的转录因子和基因表达特征。对茎尖和根尖细胞群的综合分析进一步揭示了表皮和维管组织的共同和独特特征。本文的研究结果为以单细胞分辨率研究植物细胞分裂和分化的基本原理提供了参考。



## 【案例解析】水稻根组织单细胞图谱构建

### Global Dynamic Molecular Profiling of Stomatal Lineage Cell Development by Single-Cell RNA Sequencing

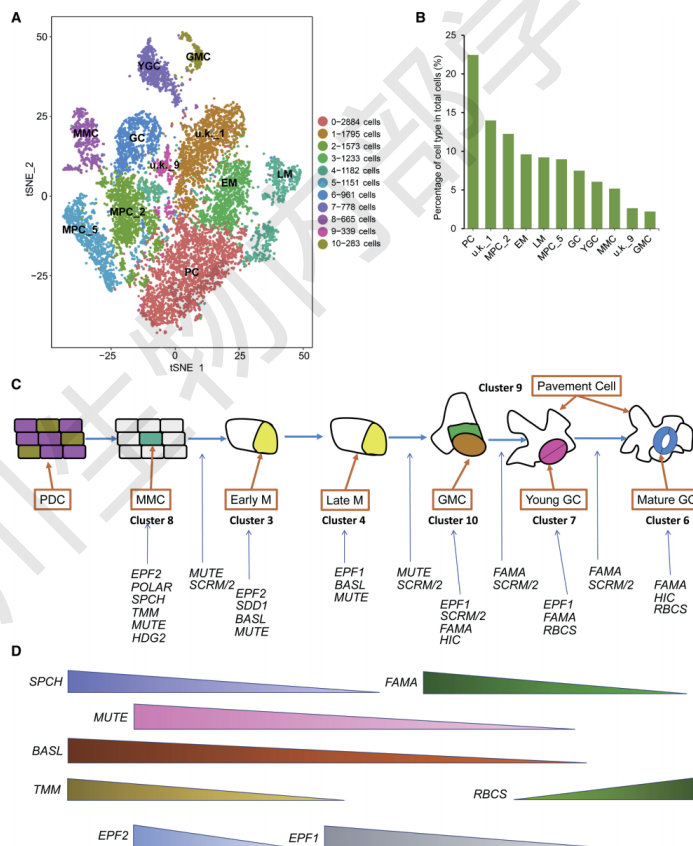
研究单位:河南大学等

影响因子:21.949

研究手段:单细胞转录组测序

发表期刊:Molecular Plant

在这项研究中,作者对5天拟南芥子叶的12844个细胞进行了RNA测序。作者一共鉴定到11个细胞簇,这些簇主要对应于特定气孔发育阶段的细胞。为了分析气孔细胞早期发育阶段的基因表达调控机制,构建了气孔分生母细胞中基因表达的转录因子调控网络。进一步通过分析所鉴定的标记基因和转录因子的拟南芥突变体的气孔发育表型,确定了这些基因在调控气孔发育中所扮演的重要角色。拟时序分析揭示了这些基因之间的潜在相互作用。总体而言,作者的研究为了解已识别的新标记基因如何参与气孔谱系细胞发育的调控奠定了基础。



## 【案例解析】根瘤单细胞图谱揭示共生固氮新机制

### Differentiation trajectories and biofunctions of symbiotic and un-symbiotic fate cells in root nodules of *Medicago truncatula*

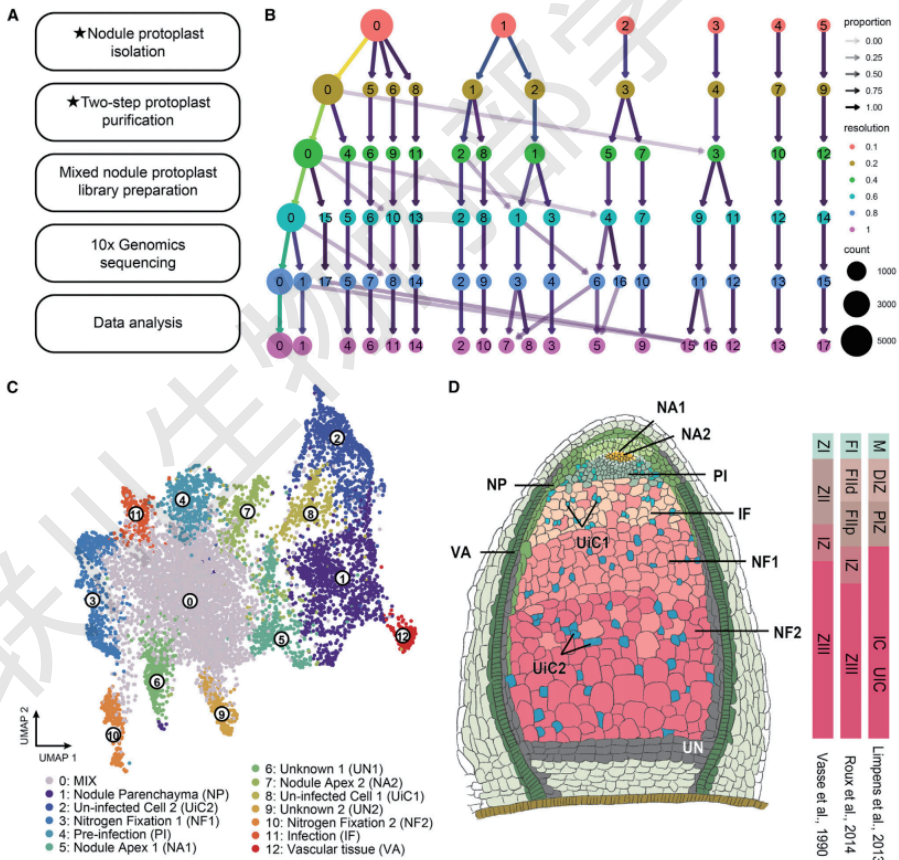
研究单位: 中国农业大学

影响因子: 21.949

研究手段: 单细胞转录组测序

发表期刊: Molecular Plant

单细胞转录组测序共鉴定到13个根瘤细胞类群, 包括2类顶端分生细胞, 侵染前细胞, 侵染细胞, 2类固氮细胞, 根瘤薄壁细胞, 2类非侵染细胞, 维管相关细胞, 2类未知功能细胞, 以及混合无定义细胞。拟时序分析发现, 共生类型细胞和非共生类型细胞从顶端分生细胞出发有不同的分化轨迹。根瘤细胞具有高度异质性, 不同细胞类群承担着不同的生物学功能。在氨基酸生物合成途径中, 谷氨酰胺主要在固氮细胞中合成, 而植物主要以天冬酰胺形式储存和转运在利用氮素时, 天冬酰胺则主要在非侵染细胞中合成; 因此, 非侵染细胞在根瘤氮同化中起着关键作用。



## 2. 胁迫响应机制

### 【案例解析】单细胞转录组在根细胞发育和逆境响应中的动态变化

#### Dynamics of Gene Expression in Single Root Cells of *A. thaliana*

研究单位: 华盛顿大学

影响因子: 12.085

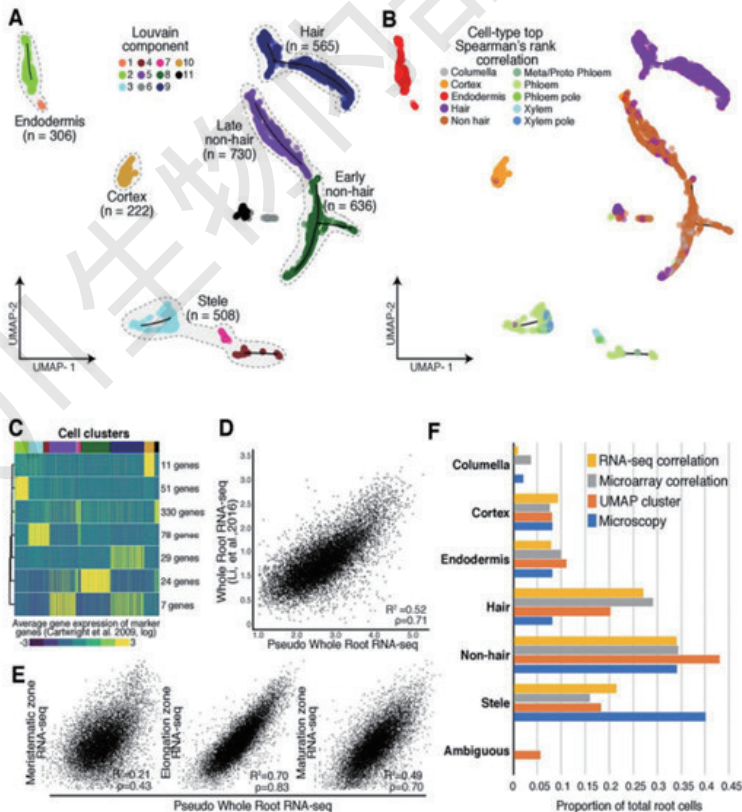


扫一扫, 获取全文

研究手段: 单细胞转录组测序

发表期刊: Plant Cell

作者捕获了3121个拟南芥根(全根)细胞进行单细胞转录组测序。利用Monocle 3对所获得的单细胞转录组进行无监督聚类, 拟时序分析构建了单细胞发育轨迹, 鉴定了数百个具有细胞类型特异性表达的基因, 同时对几个细胞谱系的拟时分析揭示了沿着发育轨迹表达的已知基因和新基因。作者还鉴定了不同发育阶段富集的转录因子 motif, 以及参与驱动基因表达模式的建成、与这些 motif 对应的转录因子。作者评估并解释了随着发育轨迹变化, 细胞整体RNA表达的变化, 并显示发育轨迹的分支点标志着细胞的发育决策。最后通过对幼苗进行热胁迫处理, 作者解答了植物响应非生物胁迫时不同细胞类型是否存在异质性这一长期存在的疑问。尽管响应高温的热激基因在不同细胞类型中存在优势表达, 但仍有一些其它的基因在不同细胞类型中存在显著差异。



## 【案例解析】非生物胁迫下水稻茎细胞类型的动态变化

Single-cell transcriptome analyses recapitulate the cellular and developmental responses to abiotic stresses in rice

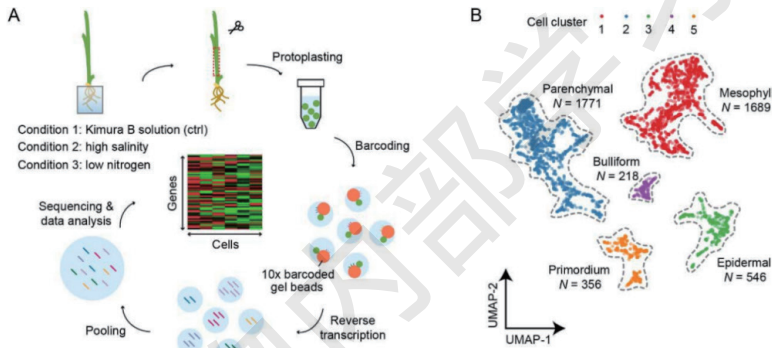
研究手段:单细胞转录组测序

发表期刊:bioRxiv



扫一扫,获取全文

利用单细胞转录组分析水稻细胞及其发育对非生物胁迫的响应,可以帮助我们更好的了解在各种环境中生长的水稻幼苗的地上部分的细胞类型的变化,为推动植物生物学发现提供有利资源支撑。中科院遗传所将单细胞 RNA 测序应用于野生型水稻和高盐胁迫下的水稻幼苗(地上部分),捕获了数千个细胞的转录组,野生型和对组中鉴定出五种细胞类型,并重建了它们的发育轨迹。进一步分析发现,非生物胁迫不仅以细胞类型特异性的方式影响基因表达,而且还影响细胞的物理大小和细胞群的组成。该研究不仅促进了在单细胞水平上对植物细胞和发育生物学的理解,而且有助于将来培育出更好的农作物以适应环境胁迫。



## 【案例解析】维管转录因子引导植物表皮对限制性磷酸盐条件的反应性

Vascular transcription factors guide plant epidermal responses to limiting phosphate conditions

研究单位:根特大学

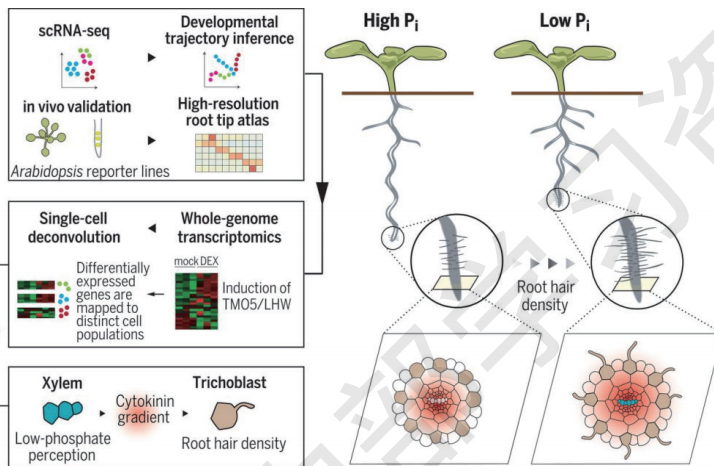
影响因子:63.714

研究手段:单细胞转录组测序

发表期刊:Science

LOG4和LOG3编码细胞分裂素(cytokinin)合成通路上的限速酶,在最后一步将细胞分裂素转化为活性形式,TMO5/LHW同源二聚体能够直接靶向并诱导LOG4和LOG3的表达,从而控制细胞的增殖,在植物根的维管细胞增殖过程中发挥调控作用。TMO5/LHW主要在木质部细胞表达,木质部细胞是细胞分裂素的合成位点,但其本身对于细胞分裂素不敏感。木质部合成的细胞分裂素会扩散到邻近的原形成层细胞中,在这里细胞分裂素通过诱导DOF类转录因子促进细胞增殖。TMO5/LHW诱导产生的细胞分裂素作为在邻近细胞中发

挥作用的可移动的中间产物,因此该激素信号级联下游的靶基因很有可能在木质部周边的多种类型细胞,甚至在维管束之外的细胞中表达。土壤中植物必需的常量营养素磷酸盐缺乏会妨碍植物的生长,但是在磷酸盐缺乏时植物根可以增加其根毛密度,从而有效地从土壤中吸收磷酸盐。本研究中,研究人员通过单细胞RNA测序技术,测定了拟南芥根分生组织中组织特异性的TMO5/LHW信号转导的输出,发现该维管同源二聚体对于植物对磷缺乏条件的根毛响应是必需的,全面揭示了细胞分裂素信号途径是如何将磷缺乏后的维管感知与表皮根毛响应相互关联,即维管TMO5/LHW二聚体通过改变表皮细胞长度和命运来控制根毛密度,从而使得植物能够有效地从土壤中吸收这种常量营养元素。



### 3. 生长发育研究

#### 【案例解析】单细胞转录组图谱揭示茶叶中酯型儿茶素发育轨迹和新代谢途径

Single-cell transcriptome atlas reveals developmental trajectories and a novel metabolic pathway of catechin esters in tea leaves

研究单位:安徽农业大学茶树生物学与资源利用国家重点实验

影响因子:13.263

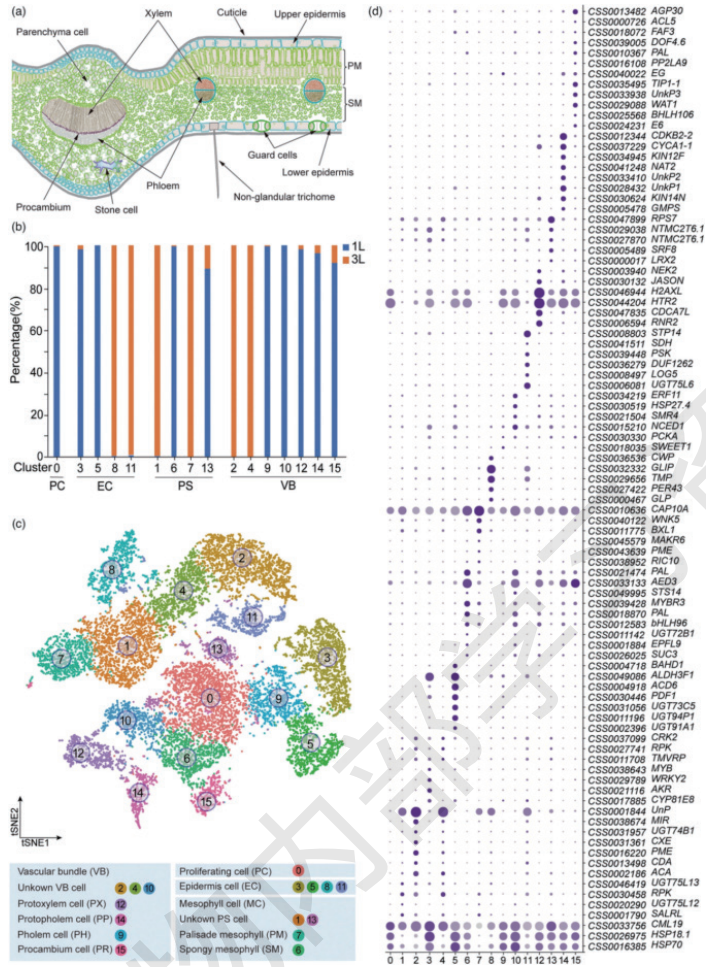
研究手段:单细胞转录组测序,联川星云

发表期刊:Plant Biotechnology Journal



扫一扫,获取全文

本研究采用多种方法对细胞标记基因进行了验证,并绘制了茶叶叶片发育轨迹,为木本植物叶片细胞图谱绘制提供了重要的参考信息。通过筛选特定细胞类型,构建特异表达矩阵,发现了一种新的酯型儿茶素糖基转移酶,提供了茶树酯型儿茶素糖苷化证据。



## 【案例解析】单细胞转录组测序揭示水稻花序分生组织的发育轨迹

**A rice single cell transcriptomic atlas defines the developmental trajectories of rice floret and inflorescence meristems**

研究单位:上海交通大学

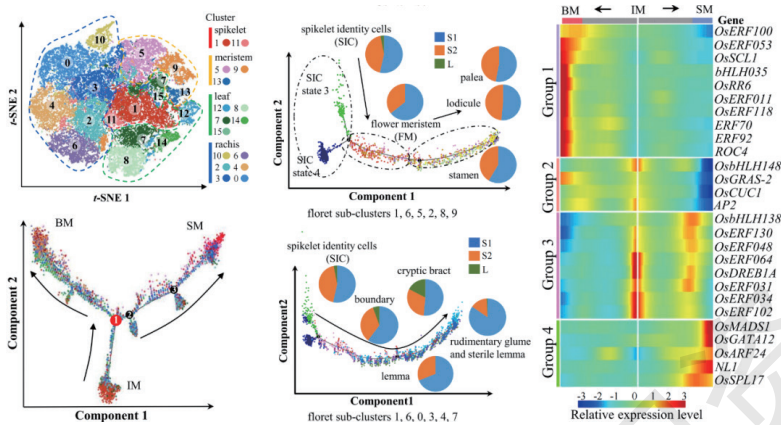
影响因子:10.323

研究手段:单细胞转录组测序

发表期刊:New Phytologist

水稻花序发育决定产量,并依赖于腋生分生组织(AMs)的活动;然而,目前缺乏对其早期发展的高分辨率分析。该研究中,作者通过scRNA-seq对37571个水稻花序细胞进行了分析,并构建了一个覆盖早期生殖发育过程中花序到小花转变过程的基因组规模的基因表达资源。通过拟时序分析构建了小花和AMs的分化轨迹,鉴定了高度异质的幼嫩花序中离散的调节因子细胞类型和群体,并通过原位杂交和荧光标记进行验证。数据表明,一个WOX转录因子DWARF TILLER1调节花分生组织活性,并通过探究OsAUX1的表达和生物学

作用，为生长素在水稻花序分枝中的作用提供了证据。本文对早期水稻花序发育的综合转录组图谱得到遗传学证据的支持，为AM分化和小花发育提供了单细胞水平的见解。



## 【案例解析】单细胞转录组测序解析纤维起始时空调控网络

Single-cell RNA-seq reveals fate determination control of an individual fiber cell initiation in cotton (*Gossypium hirsutum*)

研究单位:华中农业大学

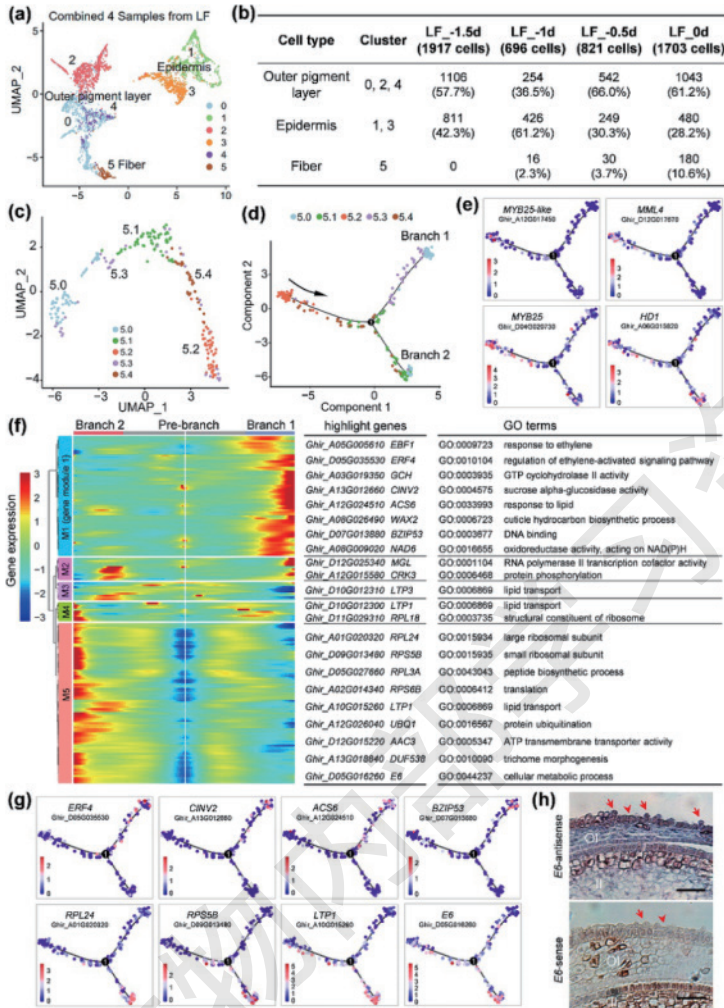
影响因子:13.236

研究手段:单细胞转录组测序

发表期刊:Plant Biotechnology Journal

本研究借助 scRNA-seq 技术和多阶段精细采样策略，描绘出了纤维起始过程中的长绒纤维细胞分化、扩散生长和极性生长各个阶段。通过基因调控网络分析和基于 CRISPR-Cas9 的转基因功能验证，MYB25-like 基因被新定义为作用于纤维细胞分化的指挥官。此外，HOX3 基因被证明为控制纤维细胞转向极性生长的另一个指挥官。重新分析整合前期拟南芥叶片毛状体相关文献，发现其与棉花纤维细胞分化和极性生长的调控时空模式整体相似，关键调控因子相似但不相同。本研究的结果不仅定义了更精细和详尽的纤维起始阶段，还提供了胚珠单细胞表达图谱资源，这将有助于进一步探索纤维发育、植物毛状体分化和单细胞命运决定的机制，可为棉花产量遗传改良提供理论依据，从而有利于提升植棉的经济效益。





## 4. 保守性研究

### 【案例解析】单细胞分辨率下水稻根系转录图谱的研究

#### Transcriptional Landscape of Rice Roots at the Single Cell Resolution

研究单位: 中国农业科学院生物技术研究所等

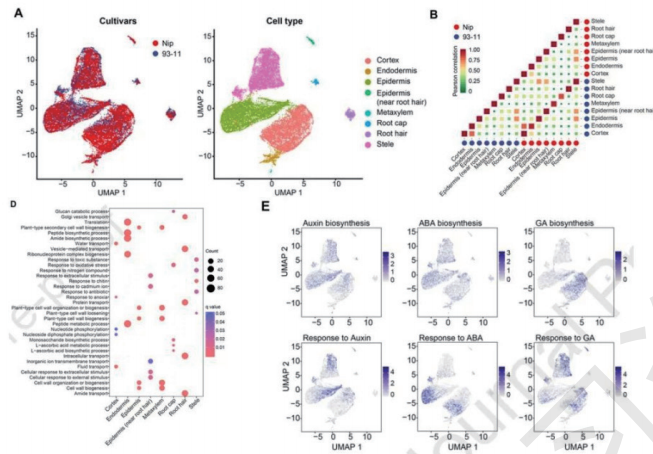
影响因子: 21.949

研究手段: 单细胞转录组测序

发表期刊: Molecular Plant

本研究首次对单子叶植物水稻根进行了单细胞转录组研究, 弥补了单细胞研究中单子叶植物根的空缺, 揭示了水稻不同品种间的保守性; 同时结合拟南芥的数据集, 揭示了单子叶植物和双子叶植物根的保守性和差异性, 强调了分析包括水稻在内的不同模式物种的组

织的重要性。同物种不同品种及不同品种间的单细胞转录组比较，值得我们在后续研究中借鉴。



## 5. 植物单细胞核转录组测序

### 【案例解析】单细胞核测序VS原生质体制备

#### FlsnRNA-seq: protoplasting-free full-length single-nucleus RNA profiling in plants

研究单位:南方科技大学生命科学学院生物系

影响因子:17.906

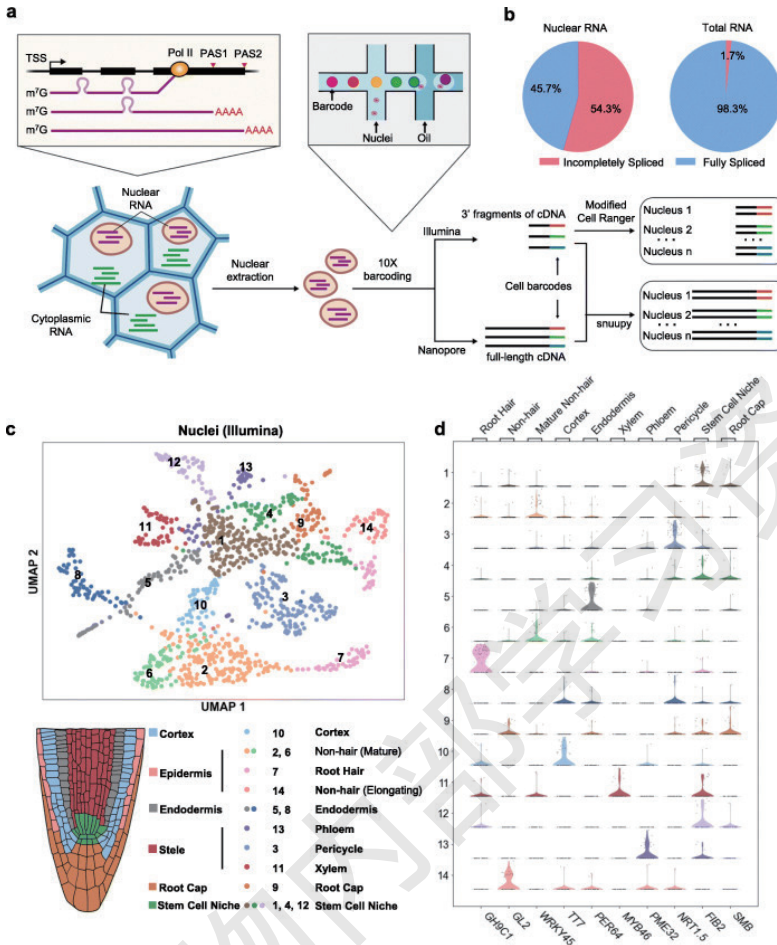


扫一扫,获取全文

研究手段:单细胞核转录组测序

发表期刊:Genome Biology

翟继先团队提出了基于细胞核测序的全长单细胞转录组测序方法FlsnRNA-seq, 通过结合 10x Genomics 单细胞测序技术和三代全长 Nanopore 测序方法实现了单细胞核全长转录组测序。同时利用 Illumina 测序技术捕获表达丰度信息, 并以 Nanopore 测序技术捕获同源异构体信息, 从而最大限度地保留单个细胞核的转录状态。团队在拟南芥的根尖(通过原生质体得到单细胞数据较丰富)和胚乳(较难制备原生质体)中分别测试对比了抽核与制备原生质体得到的单细胞测序数据结果。很好地证明了无原生质体的大规模单核测序足以用于拟南芥的细胞类型分类和标记基因鉴定。为了获取植物细胞核中大量含有内含子的RNA, 构建了一个基于nanopore的长阅读文库, 并开发了一种名为“snuupy”的生物信息学方法来表征每个细胞核中的mRNA异构体。结果证明了长读测序的单核策略将使植物生物学家能够绕过原生质体, 在单细胞水平上研究来自选择性剪接和选择性多腺苷酸(APA)的RNA异构体, 并提供额外的转录组复杂性维度, 这可能进一步改善不同细胞类型的聚集或特征。



## 6. 非模式植物单细胞测序

### 【案例解析】杨树茎干组织的单细胞转录组图谱绘制

#### Transcriptional landscape of highly lignified poplar stems at single-cell resolution

研究单位:四川大学

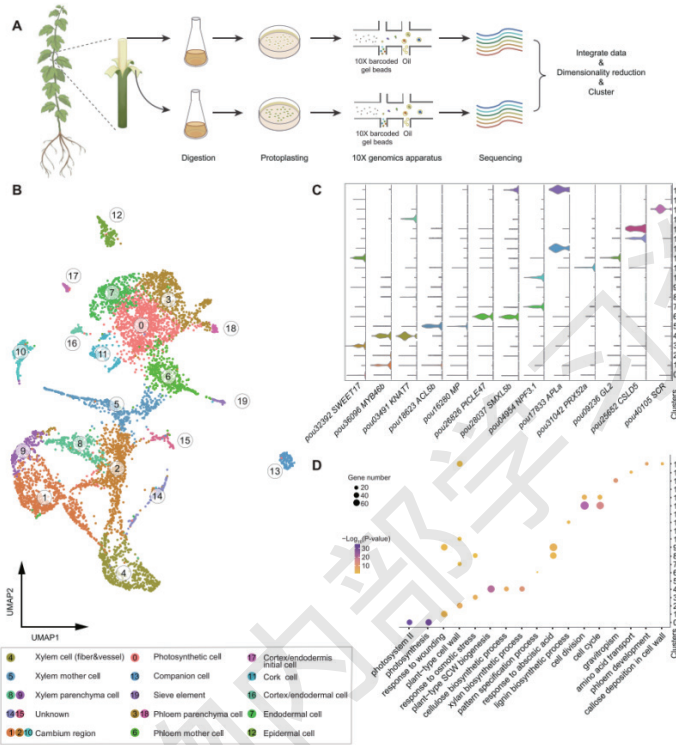
影响因子:17.906

研究手段:单细胞转录组测序

发表期刊:Genome Biology

本该研究以5月龄银腺杨木质部为材料进行单细胞测序,共获得了9789个细胞,聚类为12个细胞群。通过对每一个细胞群中差异基因的分析,鉴定到了导管细胞、纤维细胞、射线薄壁细胞和木质部前体细胞。拟时分析探究了导管细胞、纤维细胞和射线薄壁细胞的分化

轨迹，揭示了导管细胞和纤维细胞之间的不同的细胞分化进程，以及纤维细胞和射线薄壁细胞之间相似的细胞分化进程。此外，还鉴定了木质部细胞分化过程中不同发育阶段所有细胞类型的 marker 基因和关键调控基因。本研究从单细胞层面上揭示了木材形成的高分辨率表达谱，为木材形成的研究提供了宝贵的信息。



**【案例解析】单细胞转录组揭示异源四倍体花生叶片的转录图谱和关键转录因子**

Single-cell RNA-seq describes the transcriptome landscape and identifies critical transcription factors in the leaf blade of the allotetraploid peanut (*Arachis hypogaea* L.)

研究单位:广东省农业科学院

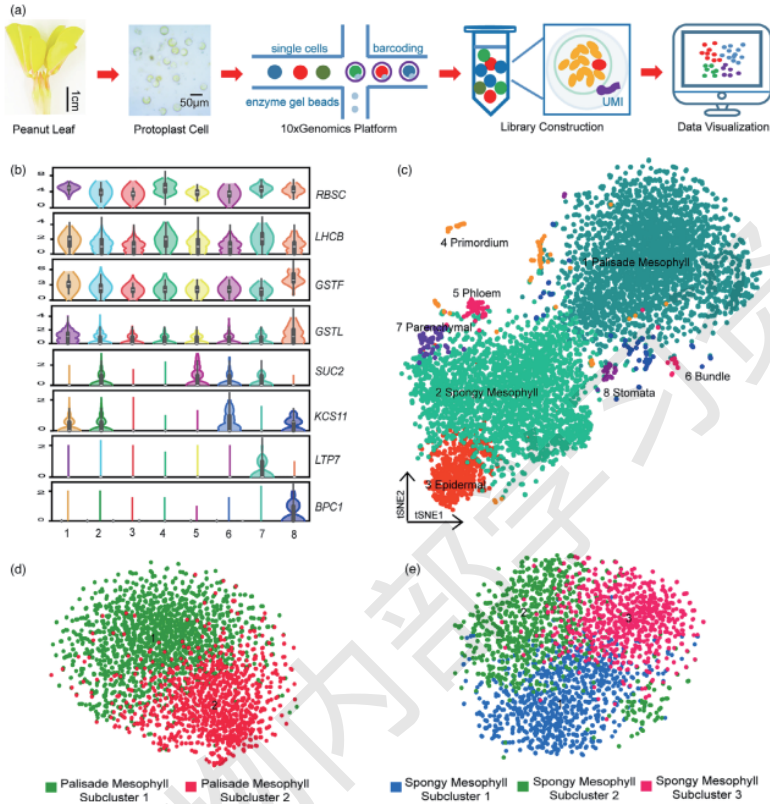
影响因子:13.263

研究手段:单细胞转录组测序

发表期刊:Plant Biotechnology Journal

该研究以7日龄花生叶片为材料进行单细胞测序，共获得6815个细胞，聚类为8个细胞群，分别为栅栏叶肉细胞、海绵叶肉细胞、表皮细胞、原基细胞、韧皮部细胞、束鞘细胞、薄壁细胞和气孔保卫细胞。利用拟时序分析构建了花生叶片细胞分化轨迹，表明花生叶片分化发育过程存在明显的时间异质性，揭示了叶肉细胞的形成机制:由叶原基首先发育为实质细胞，然后发育为栅栏层叶肉细胞。通过拟时序分析还推断了表皮细胞的形成机制:一

是茎尖分生组织驱动原始表皮细胞形成表皮细胞，二是原叶原基细胞直接进化为表皮细胞。该研究表明应用 sc RNA-seq 可以探究花生叶片的细胞分化,sc RNA-seq 将使异源四倍体花生和其他植物的叶片细胞功能研究取得重大进展。



### 【案例解析】单细胞RNA测序揭示莱茵衣藻的昼夜节律的异质性

#### Single-cell RNA sequencing of batch *Chlamydomonas* cultures reveals heterogeneity in their diurnal cycle phase

研究单位:加利福尼亚大学

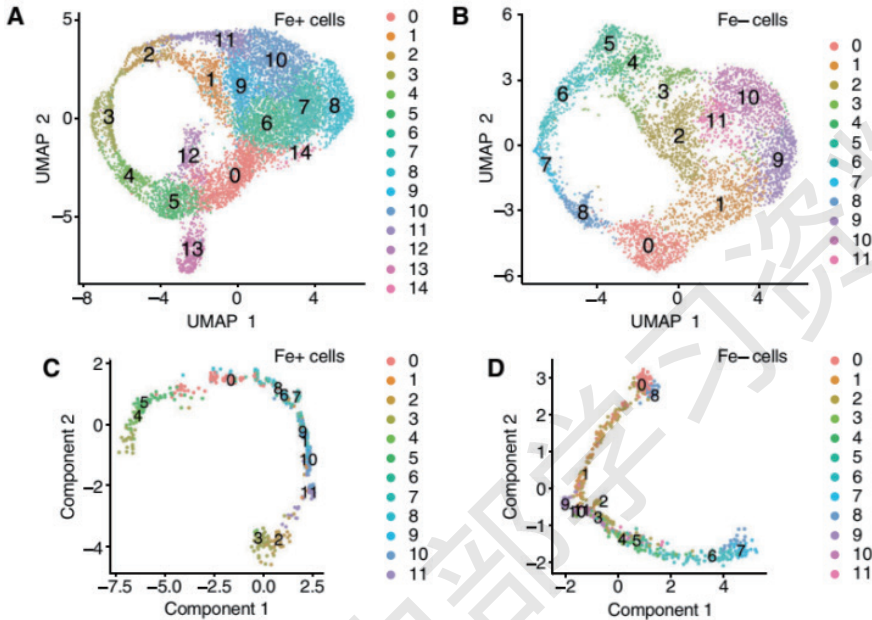
影响因子:12.085

研究手段:单细胞转录组测序

发表期刊:Plant Cell

光合单细胞藻类莱茵衣藻易于在实验室中培养，是藻类生物学的模式物种。基因组和系统生物学方法的大量数据已经描述了转录组对环境变化的响应，这些响应是大量细胞的平均行为。本研究利用单细胞 RNA 测序 (scRNA-seq) 来检测衣藻细胞群在三种环境和两种基因型下的异质性，这些基因型因细胞壁的存在而异。首先，该研究从有壁或无壁的单藻细胞中提取 RNA，提供了对天然藻类群落采样的可能性。其次，scRNA-seq 根据生长条件成功地将单个细胞分离成不重叠的细胞簇。尽管铁或氮缺乏的藻细胞具有抑制光合

作用及细胞分裂以节约资源的共同趋势，但scRNA测序很容易区分二者。值得注意的是，这些细胞分群不仅涵盖了之前已经用大量RNA-seq观察到的模式，此外还具有固有的异质性。尽管培养的衣藻是在长期光照下生长的，但细胞间变异的一个重要来源是它们的内源性昼夜节律。本研究也发现铁应答的昼夜节律从藻类到陆地植物可能是保守的。



### 【案例解析】番茄茎尖的时空发育轨迹

Single-nucleus RNA-seq resolves spatiotemporal developmental trajectories in the tomato shoot apex

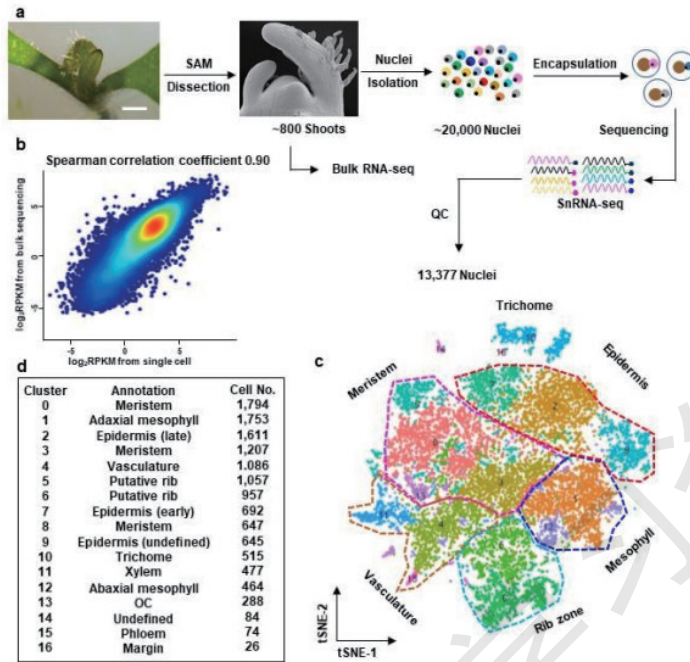
研究手段:单细胞核转录组测序

发表期刊:BioRxiv



扫一扫,获取全文

制备原生质体的需要长时间的酶消化，在这一过程中会发生异位激活和随机基因的表达。为了评估原生质体对基因表达的影响，本文检测拟南芥叶片和叶肉原生质体中的基因表达，并观察到频繁的异位激活。例如，WOX2未在叶子中表达。追踪了10000多个原生质体，观察到超过21%的原生质体表达了WOX2。该观察结果强烈暗示通过原生质体化存在基因表达的异位随机激活。本文采用了高通量单核RNA测序(snRNA-Seq)的方法，获得的高分辨率表达图谱鉴定了主要的茎尖组织和发育阶段的不同细胞类型。图谱描绘了叶肉细胞,脉管系统细胞,表皮细胞和毛状体细胞的发育轨迹,解密番茄茎尖的发育轨迹。



## 7. 多组学联合分析

### 【案例解析】单细胞测序揭示拟南芥离体叶片根从头再生机制

Transcriptional landscapes of de novo root regeneration from detached *Arabidopsis* leaves revealed by time-lapse and single-cell RNA sequencing analyses



扫一扫,获取全文

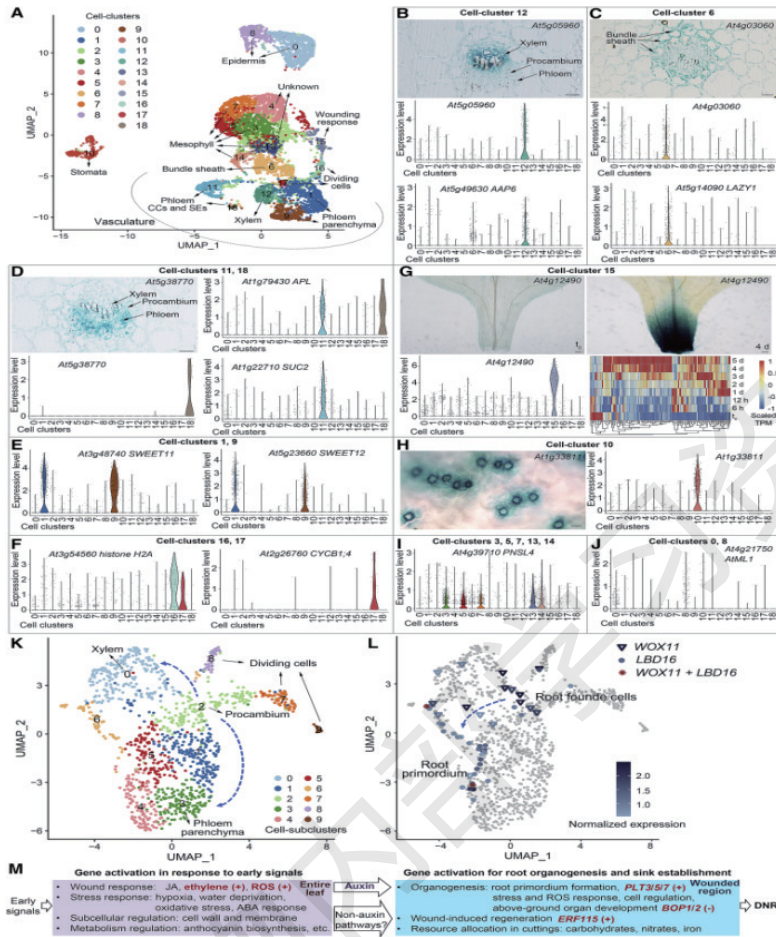
研究单位:中国科学院植物生理生态研究所(上海)

影响因子:8.625

研究手段:单细胞转录组测序和RNA测序

发表期刊:Plant Communications

本文提供了新根再生 (DNRR) 中从创伤反应到根器官再生全过程中转录组重编程的高分辨率图谱,展示了 DNRR 中涉及的关键因素。在叶片离体后 12 小时内对叶片进行延时 RNA 测序 (RNA-seq), 结果显示茉莉酸、乙烯和活性氧 (ROS) 通路在受伤后迅速被激活。研究证明乙烯和活性氧可作为创口信号以促进 DNRR 发生。再对叶片离体 5 天内进行延时 RNA 测序, 结果显示不定生根过程中脱离叶片受伤区域的器官发生、伤口诱导再生和资源分配相关基因的激活。此外,单细胞 RNA 转录组数据揭示了不定生根期间离叶受伤区域的基因表达模式。总体而言,本研究不仅提供了转录组相关信息,还揭示了拟南芥离体叶片中 DNRR 发生的关键因素。



## 【案例解析】拟南芥根系抽核单细胞研究优势

Single-nucleus RNA and ATAC sequencing reveals the impact of chromatin accessibility on gene expression in Arabidopsis roots at the single-cell level



扫一扫,获取全文

研究单位:美国国家基因资源中心,内布拉斯加大学林肯分校等

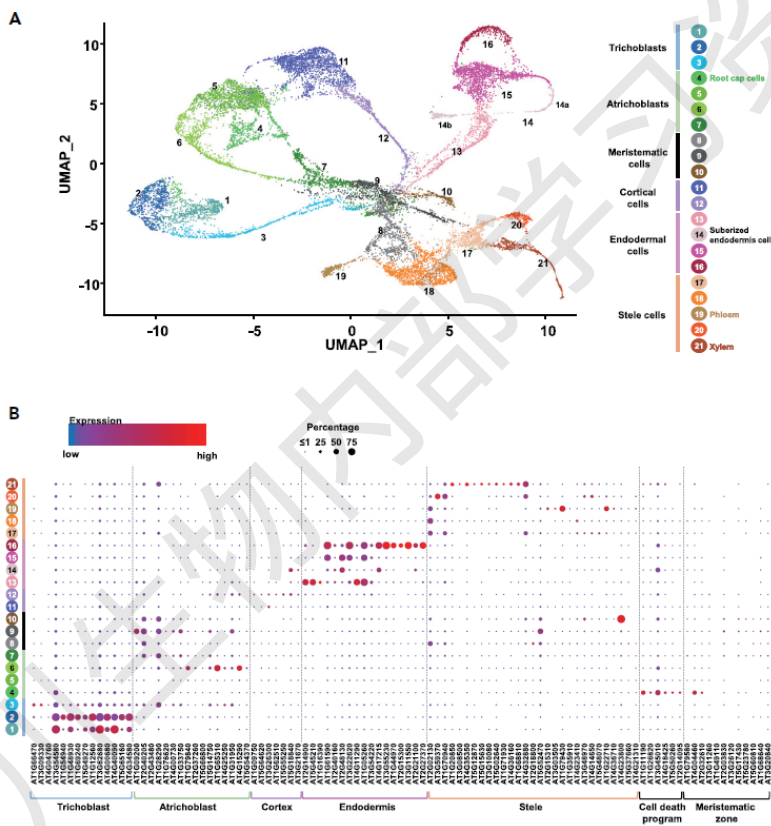
影响因子:21.949

研究手段:单细胞核转录组测序和单细胞核ATAC测序

发表期刊:Molecular Plant



本文中报道了拟南芥根组织中单细胞核RNA测序 (sNucRNA-seq) 和单个核的ATAC测序 (sNucATAC-seq)。通过与已发表的原生质体转录组比较, 验证了本文单细胞核转录组测序中利用细胞核进行植物细胞类型特异性转录组建立的可靠性。此外, sNucRNA-seq 的结果揭示了之前单细胞 RNA-seq 并未鉴定到的新的细胞类型。与 sNucRNA-seq 的结果类似, sNucATAC-seq 的结果将拟南芥的细胞核分布到不同的簇中, 这表明染色质在不同的细胞群之间根据其细胞类型的不同, 染色质可及性也是明显不同。为了揭示染色质可及性对基因转录的影响, 作者整合了 sNucRNA-seq 和 sNucATAC-seq 数据, 发现细胞类型特异性标记基因显示出细胞类型特异性的染色质可及性模式。本文的数据表明, 差异染色质可及性是细胞类型水平上调节基因活性的关键机制。





## 八、植物单细胞测序国自然总览

### OVERVIEW

植物单细胞测序在单个细胞层面对转录组和表观组等进行高通量测序。弥补了传统高通量测序的局限性，揭示植物样本中单个细胞的基因表达状态，充分揭示了植物细胞的异质性问题。

植物保护涉及到多个方向的交融，包括植物发育，农药，胁迫等，针对其研究手段也越来越多。但基于传统的技术手段来探究很难有突破性的进展，随着单细胞测序的发展，其在植物方面的应用也越来越广泛，单细胞测序在植物方向的应用爆发出惊人的潜力。从近几年国自然项目申请上来看，研究重点主要聚焦在细胞图谱构建及机制探讨方向的项目，资助的金额也越来越高。未来必定会有更多植物单细胞测序项目。

题目	资助金额万元	单位	时间	总金额万元
植物单细胞的微流控芯片捕获技术及硅量子点导入外源基因机理研究	20	南京林业大学	2010	20
利用单细胞测序技术解析玉米和水稻的非重组交换发生模式	25	华中农业大学	2019	49
通过棉花胚珠单细胞转录组测序解析纤维起始调控网络	24	华中农业大学	2019	
应用三维重构和单细胞测序技术解析南方水稻黑条矮缩病毒初侵染过程	24	浙江省农业科学院	2020	591
基于单细胞-空间转录组技术的镉胁迫下水稻凯氏带发育分子机制解析	24	中国科学院植物研究所	2020	
调控拟南芥体细胞再生关键基因的鉴定	24	中国科学院遗传与发育生物学研究所	2020	
基于靶点垂钓策略及多组学技术揭示海洋中药魁蚶新多肽诱导细胞周期阻滞抗肠癌的作用机制	24	暨南大学	2020	
拟南芥精细胞特异表达基因 CBS1 调控雄配子发生的分子机制	24	河南农业大学	2020	
异源细胞质调控香菇转色发育表现变化及基因表达机制	24	上海市农业科学院	2020	

高粱赤霉素氧化酶基因 SbGA20ox1 调控芒草细胞壁组成的作用与机制研究	24	江苏大学	2020	1315
假俭草两类不同耐铝性基因型种质对高铝毒的根系细胞应答及耐性差异机制	24	江苏省中国科学院植物研究所	2020	
杏仁核单细胞转录组图谱绘制及调控不同情绪效价的神经元亚群鉴定	24	浙江大学	2020	
基于全基因组数据的燕麦细胞学图谱构建	59	四川农业大学	2020	
大豆细胞核雄性不育基因 GmMS6 的鉴定及分子机理研究	24	西北大学	2020	
水稻类病斑新基因 LMM21 的克隆及其影响细胞程序性死亡的机制	24	西南科技大学	2020	
毛果杨干旱胁迫响应基因 PtrNAC006 介导的木质部导管细胞形成的转录调控网络	24	东北林业大学	2020	
马铃薯块茎发育过程中细胞分裂素调控的髓部和皮层组织蛋白质组研究	35	甘肃农业大学	2020	
扎冲十三味丸通过 PTEN 基因调控 PI3K/Akt 通路在氧化应激介导的血管内皮细胞损伤中的保护机制研究	34	内蒙古民族大学	2020	
基于无细胞体外体系和活性蛋白质谱技术的天然产物 $\epsilon$ -聚赖氨酸抑制烟草花叶病毒的作用靶点研究	58	沈阳农业大学	2020	
水稻新质源细胞质雄性不育系小野 A 主效恢复基因的克隆和功能分析	35	井冈山大学	2020	
拟南芥 AtRKDs 基因调控卵细胞命运决定的分子机制研究	58	临沂大学	2020	
小麦 ATG6 基因参与细胞自噬应答干旱胁迫的分子机理研究	24	山东省农业科学院	2020	
利用微流控平台在单细胞水平上研究植物初生细胞壁的形态建成与分子调控	58	天津大学	2021	
植物花粉营养细胞线粒体基因组遗传信息的维护和使用机制	61	北京大学	2021	
LecRK VI.2 胞吞调控植物免疫反应的分子细胞学机理研究	58	北京林业大学	2021	
杨树调控细胞壁合成转录因子 MYB156 调控根蘖苗发生的分子机制研究	58	北京市农林科学院	2021	
植物生长素调控器官发生的细胞学新机制	296	福建农林大学	2021	
叶绿体状态转换协调细胞核基因组稳定性的机制探究	30	广州中医药大学	2021	

细胞色素 P450 基因 CYP81Q32 介导稗草抗五氟磺草胺的转录调控机制	276	湖南省农业科学院	2021
水稻恢复基因 Rf3 以 lncRNA 调控细胞质雄性不育性恢复的分子机制	30	华南农业大学	2021
基于根尖单细胞测序研究生菜吸收转运 PFOA 的细胞与分子机理	30	暨南大学	2021
生物碱 cyanogranamide 生物合成中细胞色素 P450 酶 CyaGHI 酶学机制研究	60	中国科学院南海海洋研究所	2021
拟南芥花粉转录因子 ARID1 协调精细胞成熟与异染色质沉默机制研究	30	复旦大学	2021
棉属体细胞杂种亚基因组表达不对称性及其形成机制研究	58	浙江理工大学	2021
萱草茎尖干细胞决定基因 WUS 介导的抗病机制探究	30	东北农业大学	2021
生长素介导细胞壁重塑基因 GmXTH91 调控大豆耐阴抗倒伏的分子机制	58	东北农业大学	2021
二倍体苜蓿种间杂交新种质创制及其分子细胞遗传学特征	36	内蒙古农业大学	2021
植物自噬基因 ATG1 启动细胞自噬的调控网络	30	江西省、中国科学院庐山植物园	2021
蒺藜苜蓿 CLE 家族基因 AJL1 调控胚胎干细胞维持与幼年叶发育的分子机制研究	58	山东大学	2021
梨 PbrNSC 基因响应生长素信号调控果实石细胞木质化的机制研究	58	山东农业大学	2021

## 九、植物单细胞测序发表期刊总览

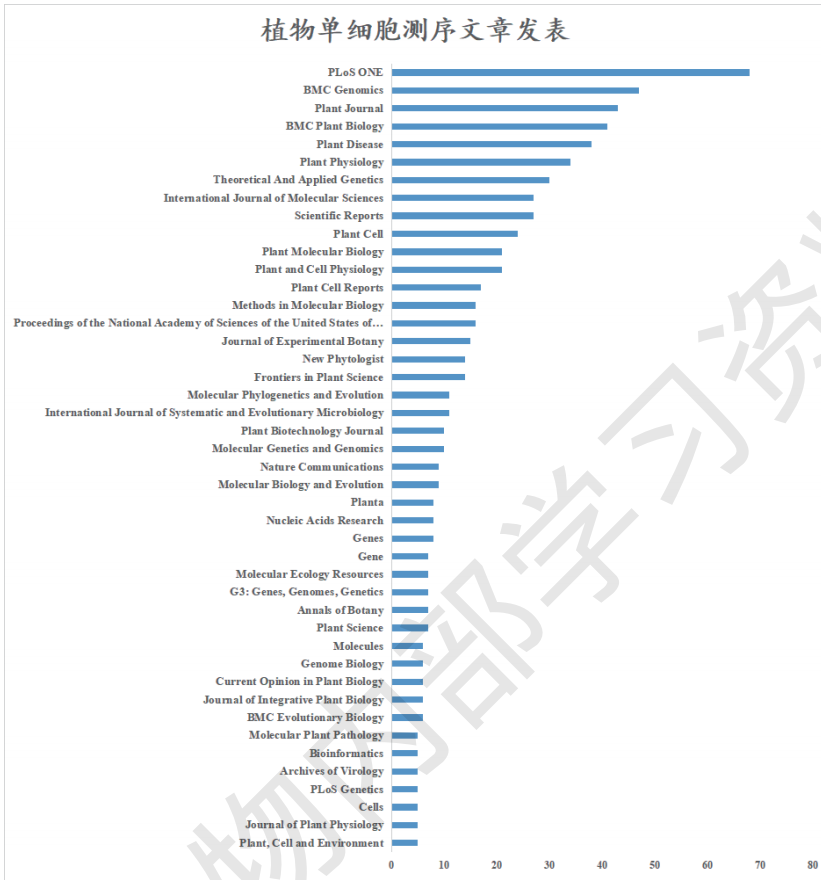
### OVERVIEW

#### 植物单细胞测序已发表文献总结

文章名称	研究方向	发表杂志	物种
Vascular transcription factors guide plant epidermal responses to limiting phosphate conditions	低磷酸盐胁迫	Science	拟南芥根毛
Defining the developmental program leading to meiosis in maize	配子发育	Science	玉米花药
Root Regeneration Triggers an Embryo-like Sequence Guided by Hormonal Interactions	再生	Cell	拟南芥根
Pluripotency acquisition in the middle cell layer of callus is required for organ regeneration	再生	Nature Plants	拟南芥愈伤组织
Single-cell transcriptome atlas and chromatin accessibility landscape reveal differentiation trajectories in the rice root	分化	Nature Communication	水稻根
Stochastic gene expression drives mesophyll protoplast regeneration	再生	Science Advances	拟南芥叶肉
Quantification of cell identity from single-cell gene expression profiles	图谱	Genome Biology	拟南芥根
FlsnRNA-seq: protoplasting-free full-length single-nucleus RNA profiling in plants	图谱	Genome biology	拟南芥根尖、胚乳
Single-cell RNA-seq analysis reveals ploidy-dependent and cell-specific transcriptome changes in Arabidopsis female gametophytes	图谱	Genome Biology	拟南芥雌蕊胚珠
Transcriptional landscape of highly lignified poplar stems at single-cell resolution	图谱	Genome Biology	杨树茎
A Single-Cell RNA Sequencing Profiles the Developmental Landscape of Arabidopsis Root	分化	Molecular Plant	拟南芥根尖

Single-nucleus RNA and ATAC sequencing reveals the impact of chromatin accessibility on gene expression in <i>Arabidopsis</i> roots at the single-cell level	图谱	Molecular Plant	拟南芥根
Global Dynamic Molecular Profiling of Stomatal Lineage Cell Development by Single-Cell RNA Sequencing	发育	Molecular Plant	拟南芥子叶
Transcriptional Landscape of Rice Roots at the Single-Cell Resolution	图谱	Molecular Plant	水稻根
A single-cell <i>Arabidopsis</i> root atlas reveals developmental trajectories in wild-type and cell identity mutants	发育	Developmental Cell	拟南芥根尖
Spatiotemporal Developmental Trajectories in the <i>Arabidopsis</i> Root Revealed Using High-Throughput Single-Cell RNA Sequencing	根细胞分化	Developmental Cell	拟南芥根
Single-Cell Resolution of Lineage Trajectories in the <i>Arabidopsis</i> Stomatal Lineage and Developing Leaf	叶片发育	Developmental Cell	拟南芥叶片
A single-cell analysis of the <i>Arabidopsis</i> vegetative shoot apex	图谱	Developmental Cell	拟南芥茎尖
Single-cell RNA sequencing of developing maize ears facilitates functional analysis and trait candidate gene discovery	图谱	Developmental Cell	玉米穗
Dynamics of Gene Expression in Single Root Cells of <i>Arabidopsis thaliana</i>	图谱	Plant Cell	拟南芥根
A single-cell view of the transcriptome during lateral root initiation in <i>Arabidopsis thaliana</i>	图谱	Plant Cell	拟南芥侧根
Distinct identities of leaf phloem cells revealed by single cell transcriptomics	图谱	The Plant Cell	拟南芥叶片
Evidence for phloem loading via the abaxial bundle sheath cells in maize leaves	叶片发育	Plant Cell	玉米叶片
Single-cell RNA sequencing of batch <i>Chlamydomonas</i> cultures reveals heterogeneity in their diurnal cycle phase	图谱	Plant Cell	衣藻单细胞
Plant stem-cell organization and differentiation at single-cell resolution	分化	PNAS	玉米茎尖
A rice single cell transcriptomic atlas defines the developmental trajectories of rice floret and inflorescence meristems	发育	New Phytologist	水稻花序
Single-cell RNA-sequencing of <i>Nicotiana attenuata</i> corolla cells reveals the biosynthetic pathway of a floral scent	图谱	New Phytologist	烟草花冠

## 植物单细胞测序发表期刊总览



植物单细胞应用-已发表文章



杭州联川生物技术股份有限公司

LC-Bio Technologies (HangZhou) Co.,Ltd

电话: 0571-87662413 网址: [www.lc-bio.com](http://www.lc-bio.com)

地址: 杭州经济技术开发区6号大街260号中自科技园16幢4层