

Workshop Introductório de Scrna-Seq para Biólogos

Ementa:

Data Período Topic 30/11/2026 dia 1 Teoria scRNAseq Início prática com QC manhã — tarde Apresentação pessoal MentiMeter sobre background de conhecimento dos alunos Introdução teórica transcriptômica: bulk, single-cell e spatial RNAseq Teoria Seurat Matriz de gene por célula Conceitos chave: UMI, sparsity, Layers, barcodes + matrix + features Nomear etapas clássicas em um workflow Referências — Pratica Seurat Seurat - QC of cells: Carregar dados 10X genomics - barcodes, Explorar obj, número de céls, ver metadata e suas colunas de info Mencionar demultiplex HTO, remover doublets/multiplets and negatives based on HTO Unir replicatas Renomear colunas de metadata Adicionar % mitocondrial na metadata Cell cycle score Selecionar singlets Gráficos Violino sobre a distribuição dos dados Discutir como setar o limiar de filtragem para cada métrica Comparar antes e depois Recap do dia 01/12/2026 dia 2 De normalizar até Clusterizar manhã — tarde Normalizar Find Variable Features Scale data (básico e com regressão vars to regret), mencionar SCTransform PCA e determinar dimensionalidade. Examinar PCAs, Elbow plot, DimPlot, DimHeatmap — Clustering UMAP e tSNE Find All Markers ViolinPlot FeaturePlot DoHeatmap 02/12/2026 dia 3 Anotação de populações manhã — tarde UMAPs bons e ruins SC customize colors Diferentes resoluções de clustering Integração dos dados V5 — Atribuir identidade nas populações Estratégias de anotação Manualmente vs Celldex Module Scores DotPlots Heatmaps por label e cluster Iterar over anotações 03/12/2026 dia 4 Expressão diferencial manhã — tarde Recap Clustering Subset cell populations Expressão diferencial Diferenças com bulk RNAseq FindAllMarkers Pseudobulk Comparar entre condições — Analisar resultados Heatmap Dotplots Volcano plots - Enhanced volcano 04/12/2026 Dia 5 Projeto prático com outro dataset manhã — tarde Mini projeto com dataset público Mouse T cells ou Human disease - QC - Normalização - PCA - Clustering - Anotação com celldex - Markers por cluster - Markers por condição — Teórico: Aplicações não abordadas no workshop: integração multiômica (ATAC), CITE-seq hashtags, TF activity, RNA velocity, trajectory, Recursos adicionais Tira dúvidas

Referência Bibliográfica:

1. Paper reviews on best practices in RNAseq and scRNAseq analysis. a. RNA-seq: i. Conesa, A., Madrigal, P., Tarazona, S. et al. A survey of best practices for RNA-seq data analysis. *Genome Biol* 17, 13 (2016). <https://doi.org/10.1186/s13059-016-0881-8> b. scRNA-seq: i. Stark, R., Grzelak, M. & Hadfield, J. RNA sequencing: the teenage years. *Nat Rev Genet* 20, 631–656 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41576-019-0150-2> ii. Li, X., Wang, CY. From bulk, single-cell to spatial RNA sequencing. *Int J Oral Sci* 13, 36 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41368-021-00146-0> iii. Luecken, Malte D., and Fabian J. Theis. Current best practices in single-cell RNA-seq analysis: a tutorial. *Molecular systems biology* 15, 6 (2019). <https://doi.org/10.15252/msb.20188746> iv. Heumos, L., Schaar, A.C., Lance, C. et al. Best practices for single-cell analysis across modalities. *Nat Rev Genet* (2023). <https://doi.org/10.1038/s41576-023-00586-w> v.

Kharchenko, P.V. The triumphs and limitations of computational methods for scRNA-seq. Nat Methods 18, 723–732 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41592-021-01171-x> vi. Andrews, T.S., Kiselev, V.Y., McCarthy, D. et al. Tutorial: guidelines for the computational analysis of single-cell RNA sequencing data. Nat Protoc 16, 1–9 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41596-020-00409-w> vii. EMBL scRNAseq with galaxy <https://www.ebi.ac.uk/training/materials/single-cell-rna-seq-analysis-using-galaxy-materials/>

Público-Alvo:

Estudantes de mestrado e doutorado

Observação:

Recomendado: (a equipe participante brindará o apoio necessário) ? Instalar R e Rstudio + rTools para Windows ? Introdução a R e R Markdown ? <<https://app.datacamp.com/learn/courses/free-introduction-to-r>> ? <<https://app.datacamp.com/learn/courses/reporting-with-rmarkdown>> ? Diferença de objetos no ambiente ? Manipulação de dataframes ? Inspeção de objetos ? Instalar pacotes CRAN e Bioconductor e Github ? Vignette e documentação de pacotes ? Ler e exportar objetos ? Inserir code chunk ? Executar linha ? Executar code chunk inteiro ? Render report ? Instalar pacotes necessários: ? rmarkdown ? biocmanager ? tidyverse ? DESeq2 ? enhancedvolcano ? ggplot2 ? seurat + dependências <https://satijalab.org/seurat/articles/install_v5> ? SeuratObject ? Remotes ? SeuratData ? scCustomize