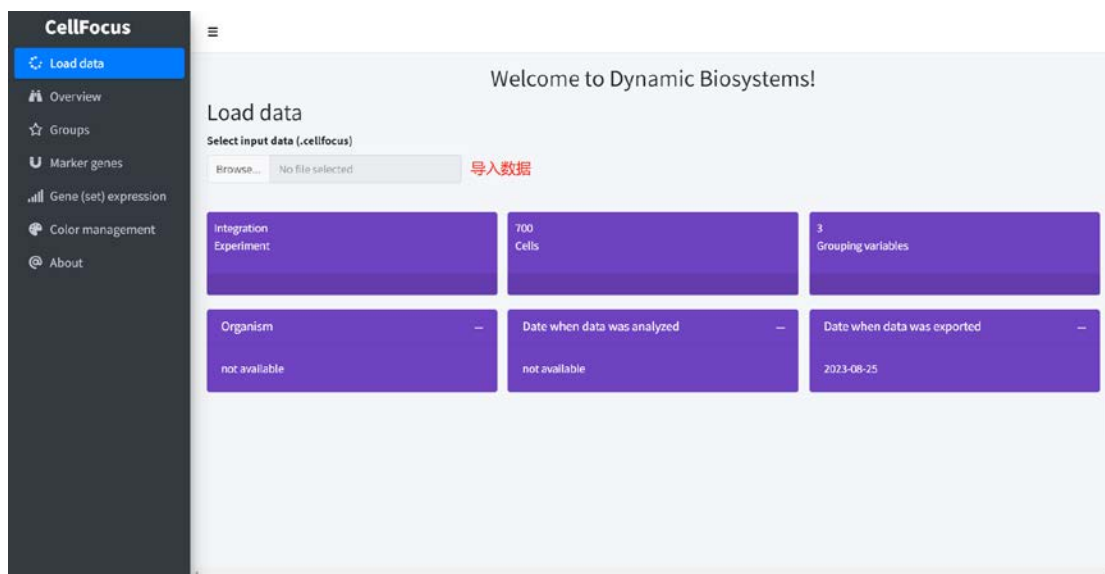


# CellFocus 人工注释使用说明

## 1 导入项目数据：

每个项目都会生成 cellfocus 后缀文件，可导入 CellFocus 软件进行可视化展示。

选择 Load data 组件，点击上方的 Browse 按键，导入已经准备好的.cellfocus 文件，导入成功，会显示文件样本信息、细胞数信息等。

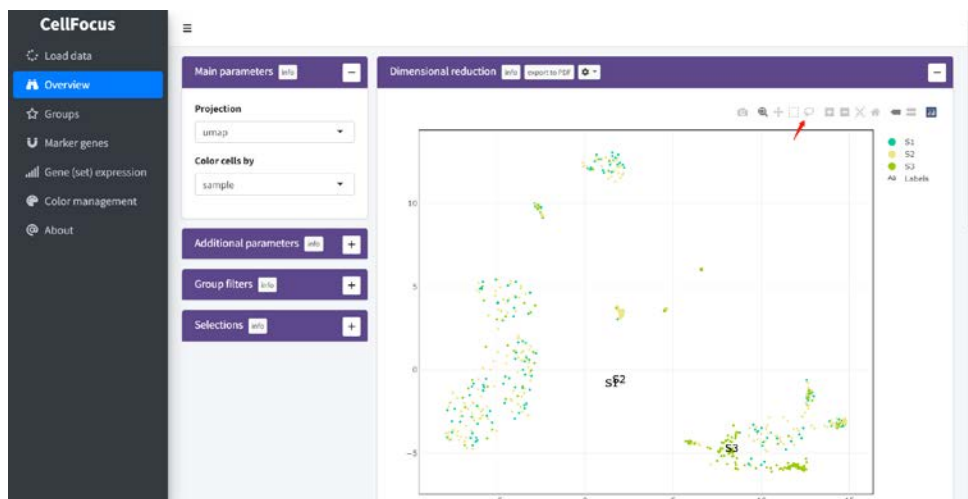


## 2 交互式降维结果展示：

点击 Overview 组件，用户可以在 Main parameter -> Projection 组件中通过下拉框选择性展示降维图类型，也可以在 Color cells by 下拉框中选择不同的细胞属性进行展示，当鼠标停留在图中某个点时，也可以看到该点所代表的 cell Barcode id、转录本数目、该细胞表达基因数目、所属样本名、以及分组信息；用户也可以通过 export to PDF 导出为 PDF 图。

在 Additional parameters 组件中，用户可以修改图中点的大小，透明度，以及展示细胞数目，在 Group filters 组件中，用户可以选择展示哪些样本、以及分组。在 Selections 组件中，可以对圈选的细胞进行命名和修改。

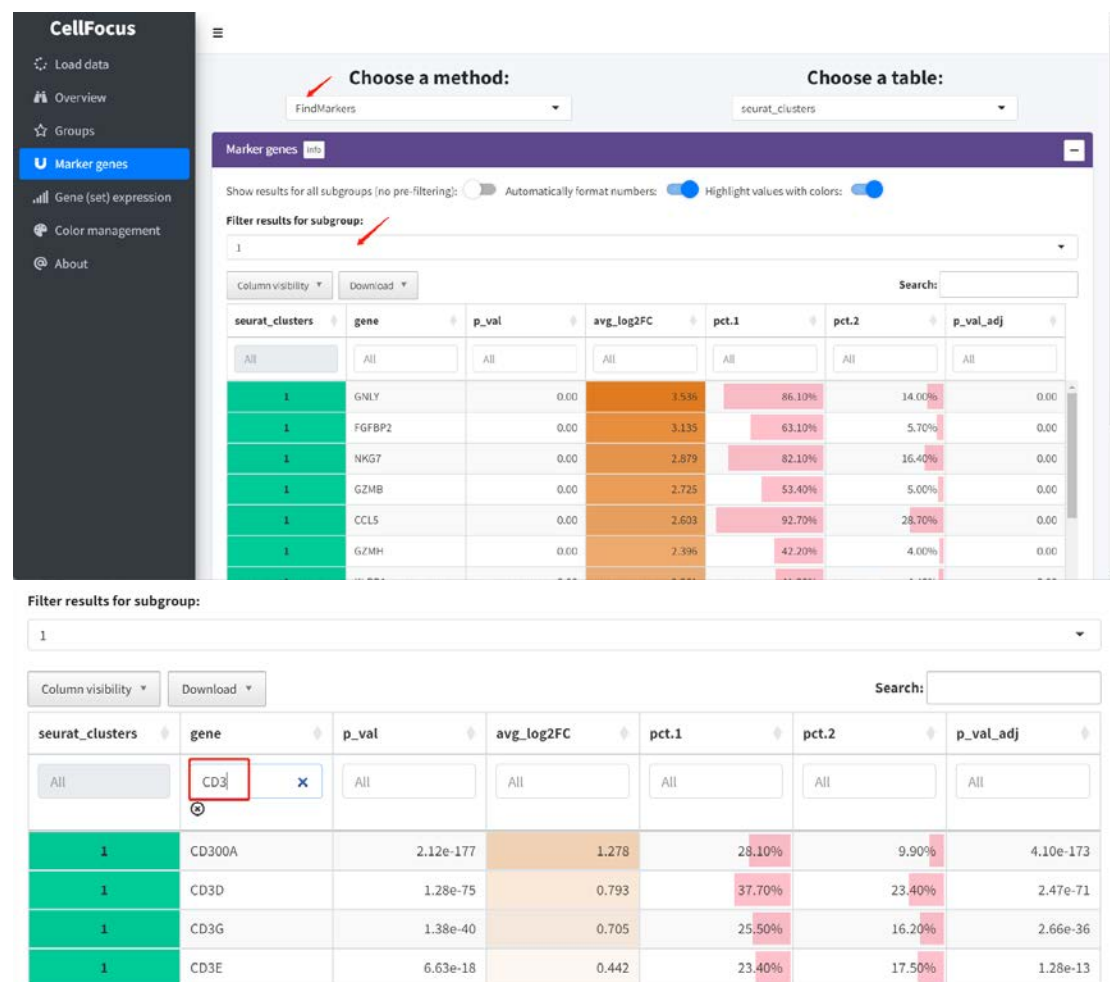
选择 umap 降维结果进行展示，选择 seurat\_clusters 分群结果进行展示。一般每个 cluster 都属于一种细胞类型，可以通过选择 nUMI 和 nGene 来查看每个 cluster 中细胞的质量。如 cluster 质量偏低，有可能没有特异性细胞类型 marker 表达。根据 marker 表达比例和表达水平高低，定义 cluster 所属的细胞类型。



### 3 差异基因展示:

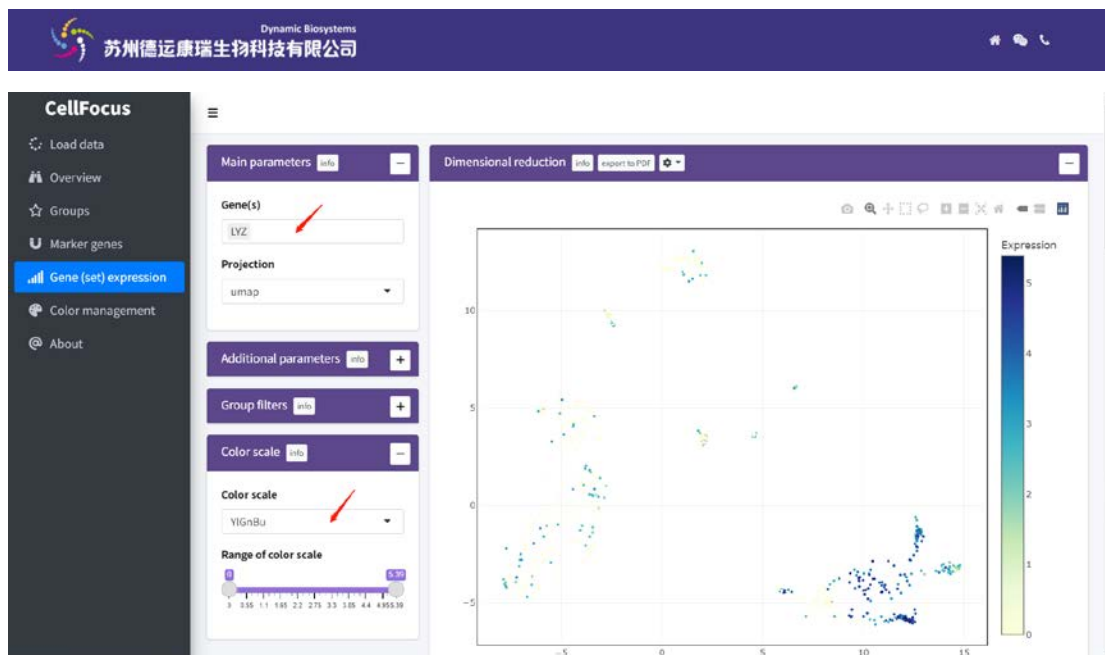
在 **Marker genes** 组件中，用户可以选择不同的分组，查看该分组相对于其他分组差异表达的基因，在 **Filter results for subgroup** 下拉框中指定分组，结果以表格形式展示，用户可以在 **search** 框中输入感兴趣基因，查看其差异表达情况；表格数据可以通过 **download** 下载。

通过查看每个 cluster 上调的差异基因，判断所属细胞类型，比如 cluster1 高表达 NK 细胞 marker，再搜索其是否表达 T 细胞 marker CD3D，确认其属于 NK 细胞还是 T 细胞，且在基因表达 tab 中查看 marker 基因表达。

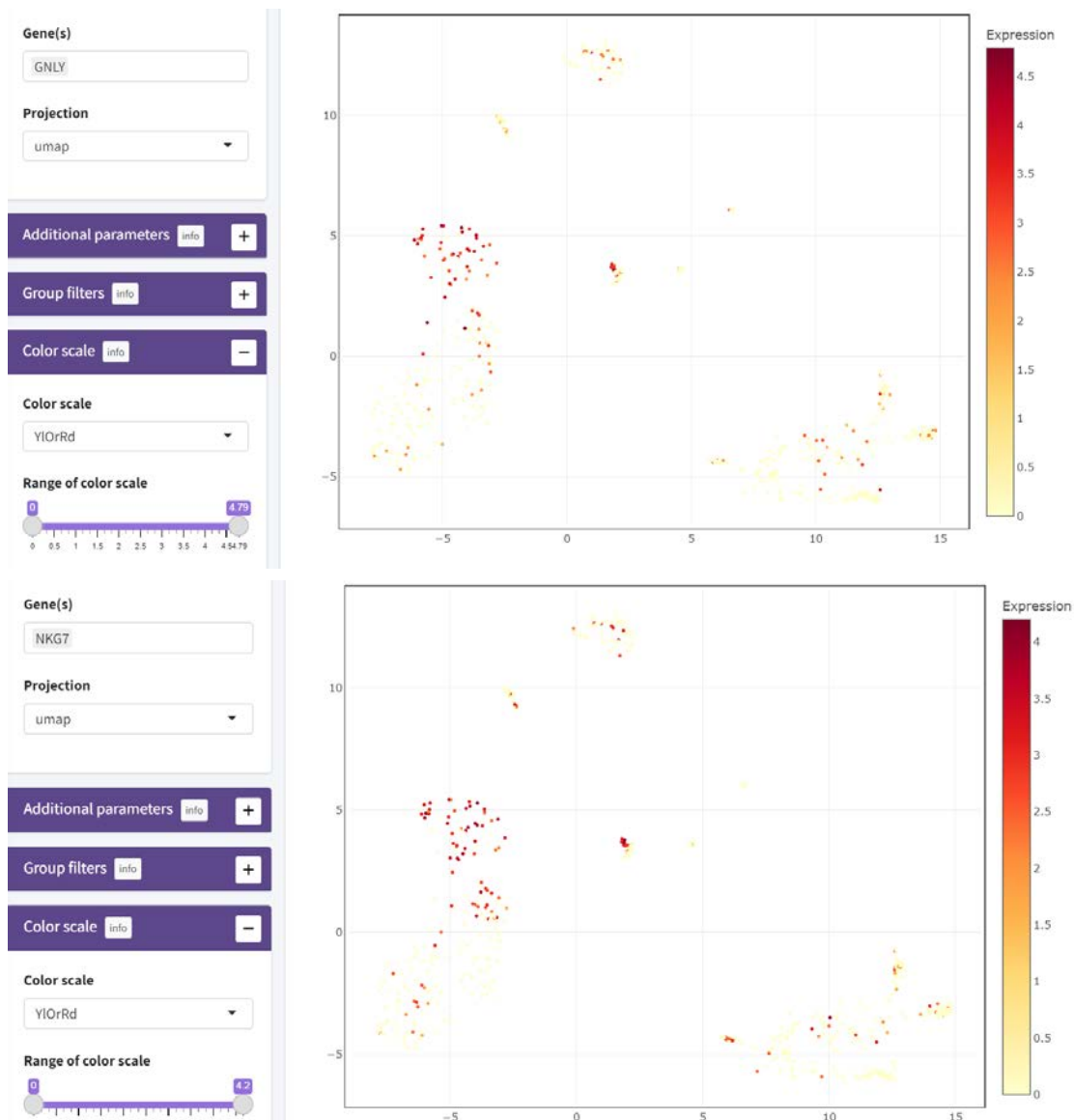


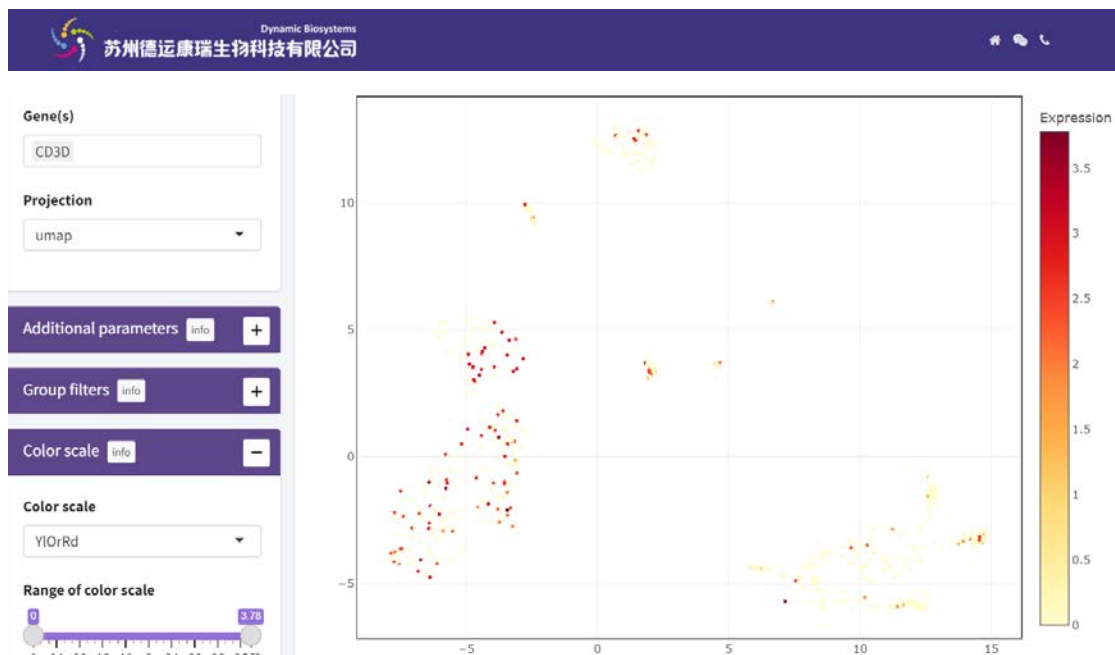
### 4 基因表达展示:

在 **Gene(set) expression** 组件中，通过输入感兴趣的基因进行投影展示，图像可以导出为 pdf，在 **Additional parameters** 组件中，用户可以修改图中点的大小，透明度，以及展示细胞数目，在 **Group filters** 组件中，用户可以选择展示哪些样本、以及分组；在 **Color scale** 中进行颜色修改，推荐使用 **YlOrRd**。



展示 cluster1 marker 基因：表达 NK 细胞 marker，以及 T 细胞 marker，可能属于效应 T 细胞。



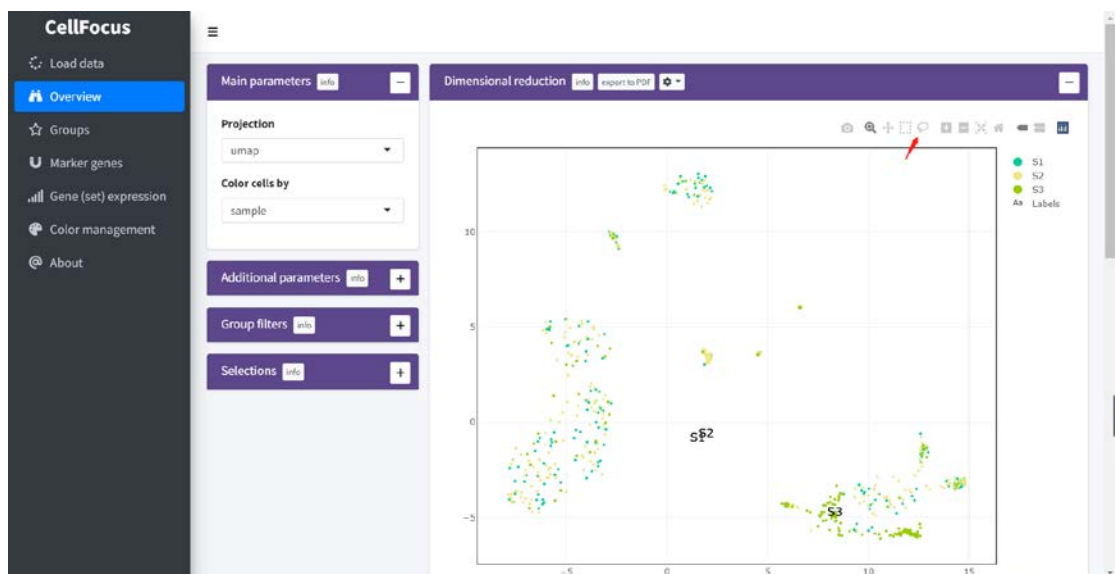


## 5 细胞圈选:

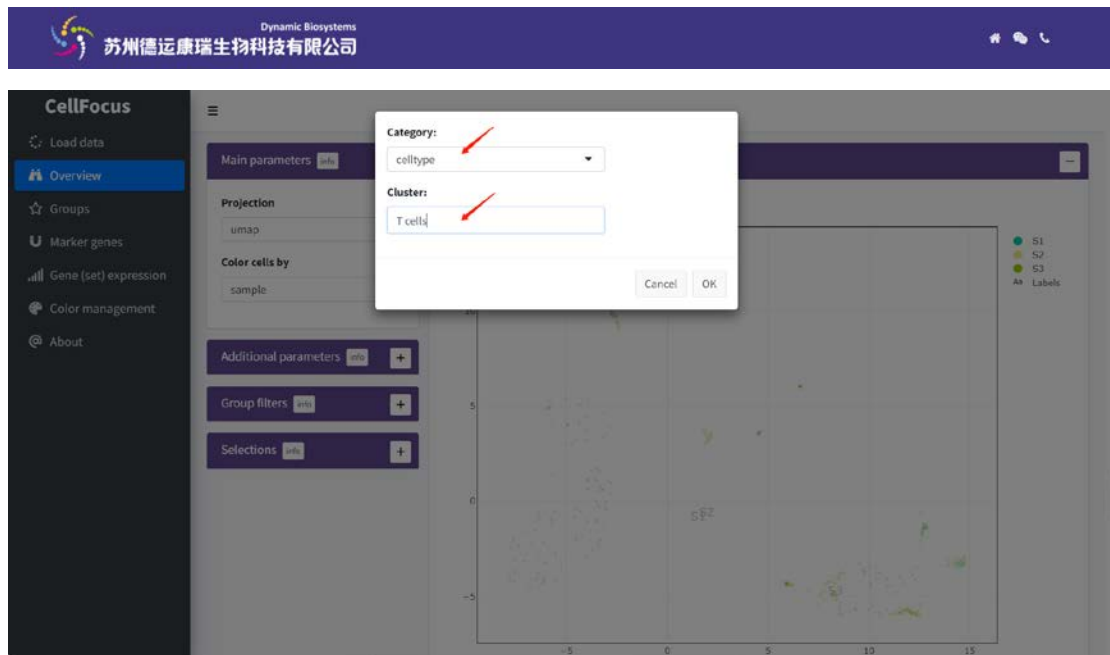
在 **Gene(set) expression** 组件中，通过输入感兴趣的基因进行投影展示，如果某 **cluster** 表达两种细胞类型的 **marker** 基因，可以通过圈选的方式分割。

细胞选择步骤如下：

1. 使用矩形选框或者曲线选框，在降维图中圈选一部分区域



2. 定义圈选细胞所属的列名，以及所属的细胞类型，最后点击 **OK**。降维图会展示圈选后的结果。切换英文输入法，输入列名并点击 **Add** 添加。



**Category:**

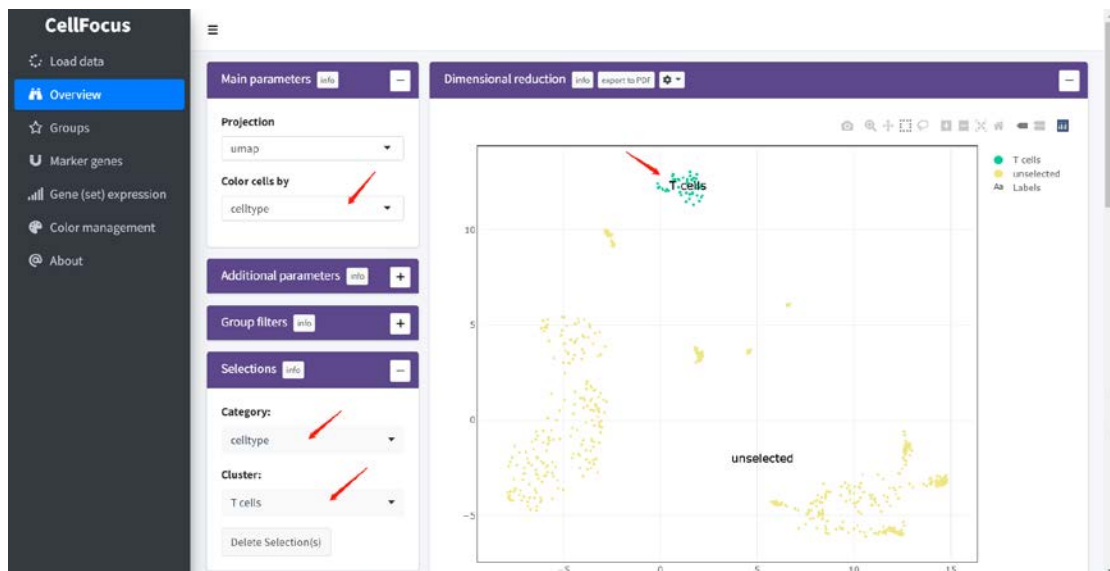
celltype

Add celltype...

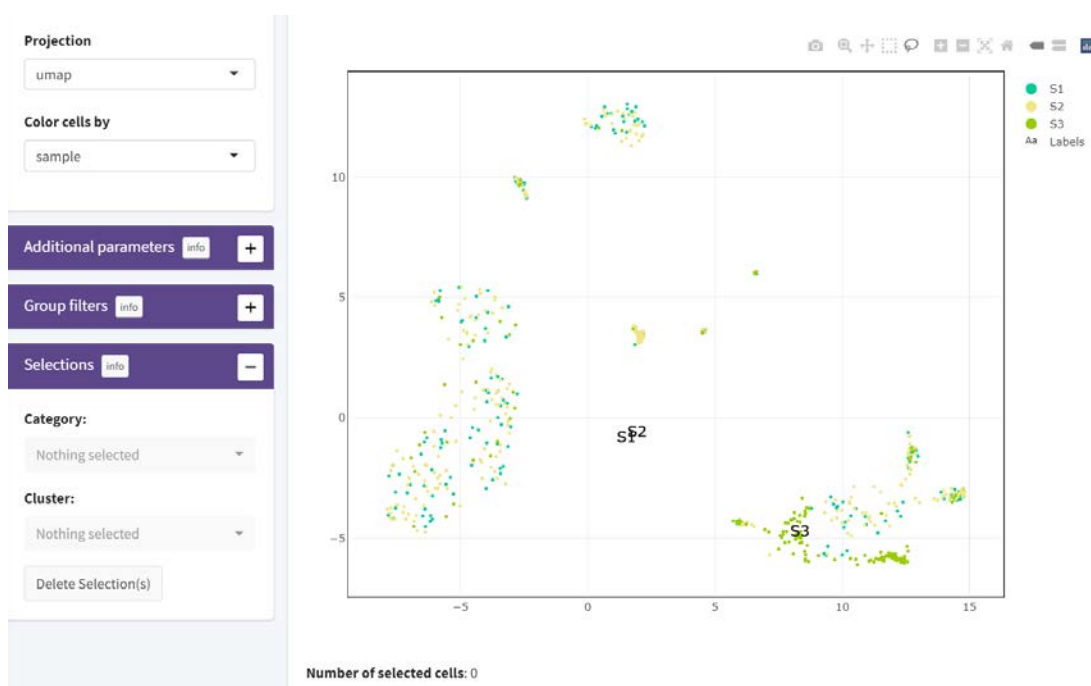
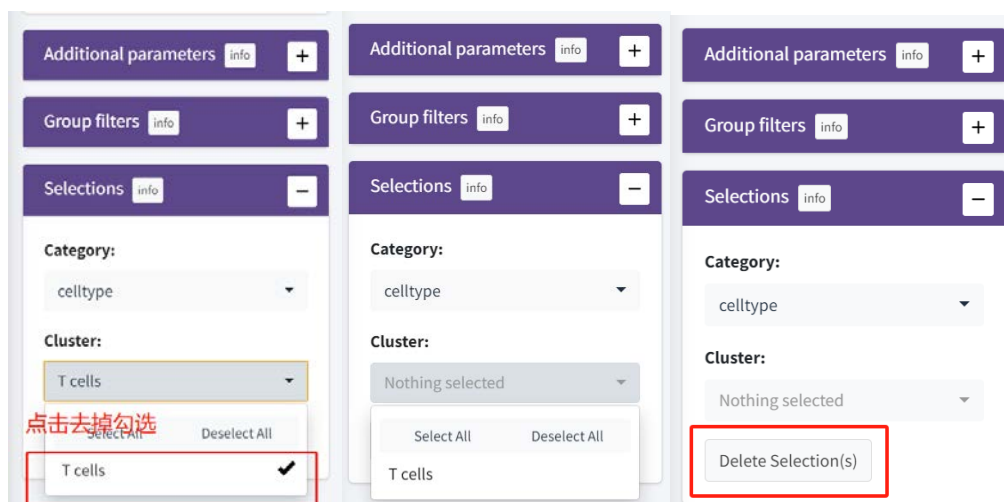
Cluster Name

Cancel OK

3. Selections 组件中 Category 控制选择某列信息，如存在自定义的多个列时，在此选择。Cluster 控制哪些细胞类型在下方表格和图中展示。



4. Selections 组件中 Delete 按钮用于删除不想要的 Cluster 或者 Category。取消 Cluster 中某个细胞类型的选择后，点击 Delete 按钮即可删除。



5. 选择的细胞会展示在下方 Table of selected cells 中，默认每页展示 15 行，要下载表格时，必须先选择最大的行数进行展示，然后点击 Download 才能下载全部选中的细胞信息，导出 csv 表格。

Table of selected cells info

Automatically format numbers: ☒ Highlight values with colors: ☒

Column visibility

cell_barcode	sample	seurat_clusters	cluster.type	nUMI	nGene	RNA_snn_res.0.6	prediction_signif	cell.type	percent_mt	celltype
All	All	All	All	All	All	All	All	All	All	All
S1_AAATCCTGTGGC	S1	7	B cells	1,733	1,032	6	B cells	B cells	2.65%	T cells
S1_AACACTTCTTAA	S1	7	B cells	921	584	6	B cells	B cells	1.19%	T cells
S1_ACACTGCTCTTA	S1	7	B cells	1,073	610	6	B cells	B cells	1.86%	T cells
S1_ACAGGGTCTGGG	S1	7	B cells	830	591	6	NK	NK	3.49%	T cells
S1_ACCGTGCCACCA	S1	7	B cells	1,084	652	6	B cells	B cells	3.04%	T cells
S1_AGCTTTTACTGA	S1	7	B cells	1,090	650	6	T cells	T cells	1.74%	T cells
S1_ATGAGGAGACGA	S1	7	B cells	1,225	670	6	T cells	T cells	3.35%	T cells
S1_CAAAGTTACCCA	S1	7	B cells	2,130	1,110	6	B cells	B cells	1.36%	T cells
S1_CAATACGATTGT	S1	7	B cells	2,486	1,272	6	B cells	B cells	2.45%	T cells

Show 15 entries

Showing 1 to 15 of 50 entries

Previous 1 2 3 4 Next

Column visibility

cell_barcode	sample	seurat_clusters	cluster.type	nUMI	nGene	RNA_snn_res.0.6	prediction_signif	cell.type	percent_
All	All	All	All	All	All	All	All	All	All
S1_ATGAGGAGACGA	S1	7	B cells	1,225	670	6	T cells	T cells	
S1_CAAAGTTACCCA	S1	7	B cells	2,130	1,110	6	B cells	B cells	
S1_CAATACGATTGT	S1	7	B cells	2,486	1,272	6	B cells	B cells	
S1_CTCTAGCTGCCG	S1	7	B cells	953	595	6	B cells	B cells	
S1_CTTATATGCGGT	S1	7	B cells	755	502	6	B cells	B cells	
S1_CTTGGGAATCCC	S1	7	B cells	524	398	6	B cells	B cells	
S1_GCGCTAGACGCA	S1	7	B cells	1,639	1,030	6	B cells	B cells	
S1_GCTCCGGTCCTG	S1	7	B cells	889	607	6	B cells	B cells	
S1_GTAGCCGTGAGA	S1	7	B cells	1,857	995	6	NK	NK	

Show 15 entries

Show 15 30 50 15 of 50 entries

Previous 1 2 3 4 Next