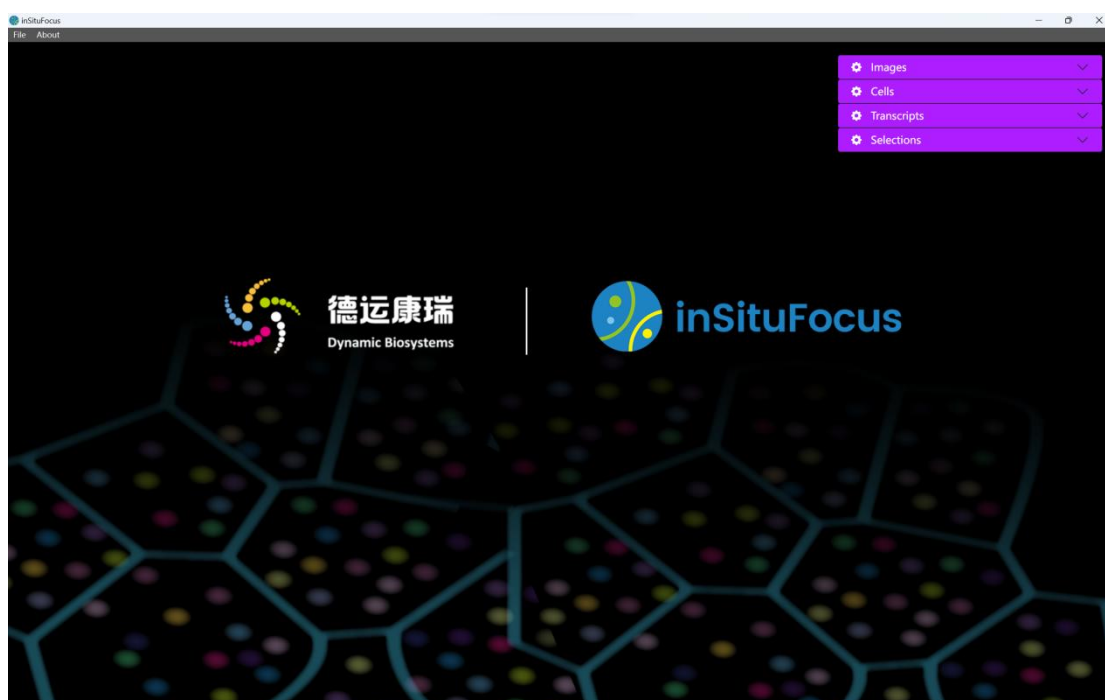


inSituFocus 使用说明

1. 软件安装和项目启动

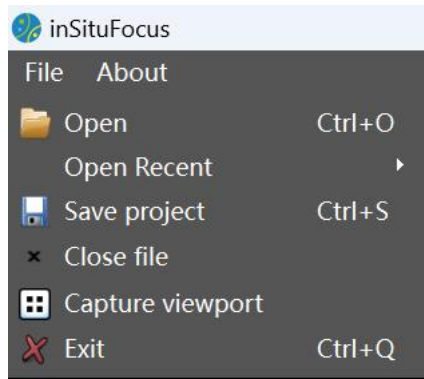
双击运行“inSituFocus Installer.exe”文件即可安装软件，需要设置软件安装路径和选择是否创建桌面快捷方式。

安装完成后，双击快捷方式启动 inSituFocus，启动后的界面如下：

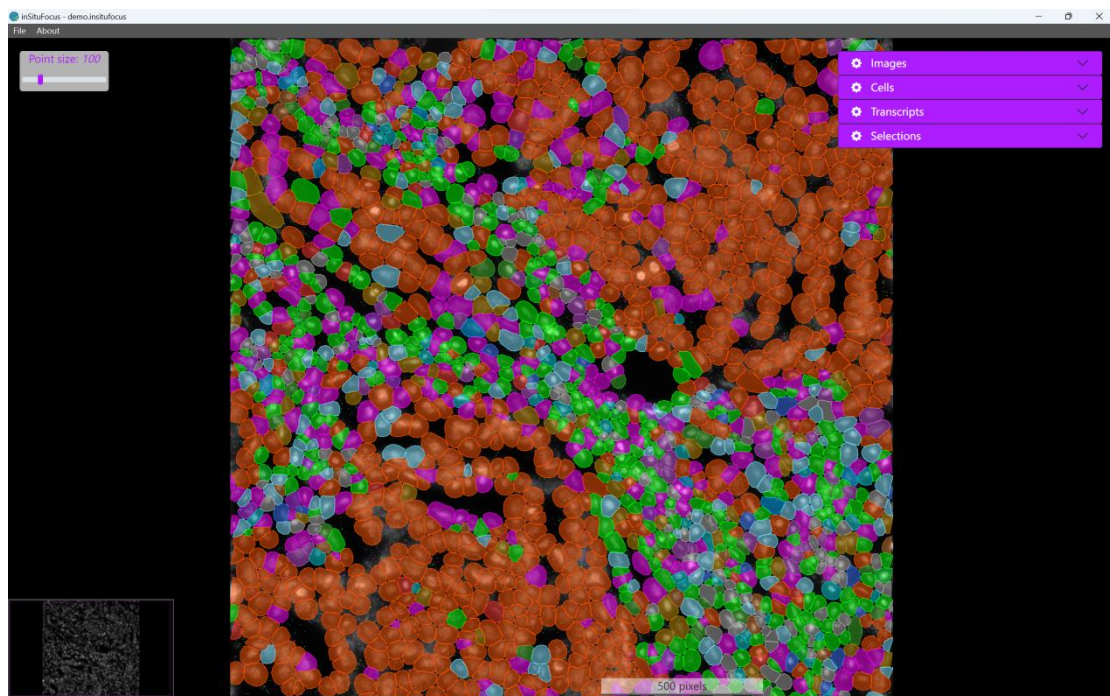


以我们提供的“inSituFocus demo data”为例，一个 inSituFocus 的项目由以下文件组成：项目配置文件“demo.insitufocus”、图片“DAPI.tif”、“insitufocus”文件夹（里面是转换后的 DAPI.tif，可以使用我们的工具“ImageConvert.py”实现转换）、细胞文件“Cells.geojson”、细胞降维文件“CellUMAP.csv”、基因的转录本信号点文件“GeneCoord.csv”。以上项目文件必须位于同一文件夹内，由 Dynamic Biosystems 的原位测序数据分析流程生成。

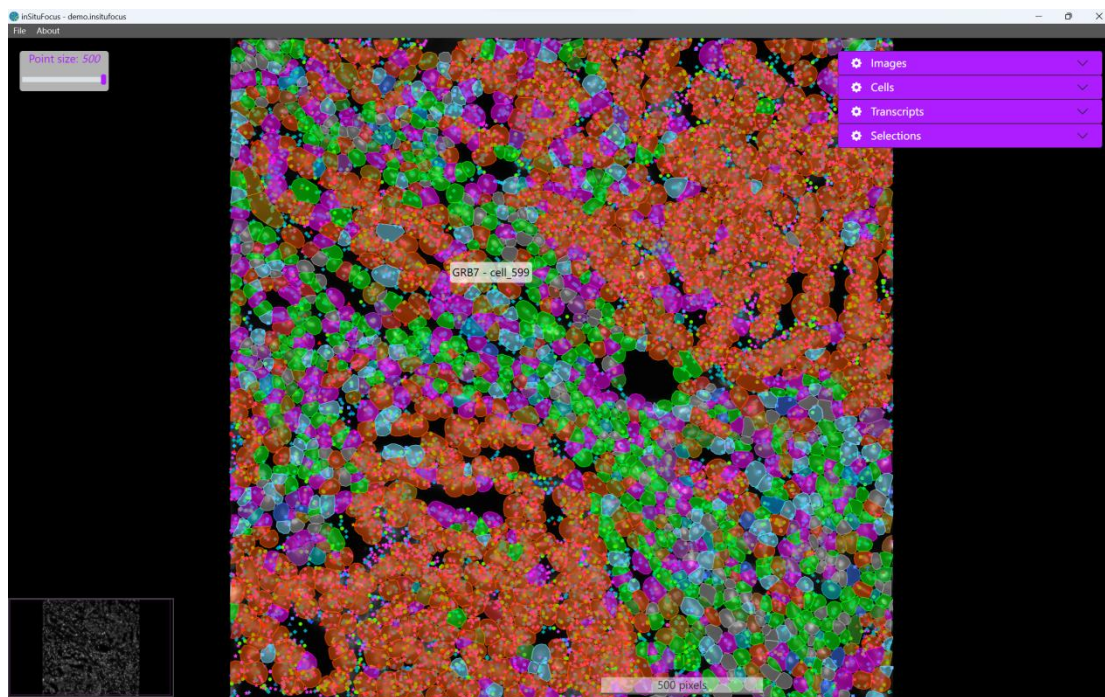
导入项目的方式有两种：一种是在菜单栏点击“File >> Open”



，然后选择项目文件中的“demo.insitufocus”。第二种是直接双击“demo.insitufocus”文件。项目启动后，细胞和信号点显示在 DAPI 图之上。



鼠标可以拖动图片和放大缩小，可在“Point size”滑动条改变基因的转录本信号点大小，单击转录本信号点可以显示信号点所属的基因和细胞名称。




2. Images 模块

在 Images 模块可以调节背景 DAPI 图的可见(Visible)、透明度(Opacity)、饱和度 (Saturation)、亮度 (Brightness)、对比度 (Contrast)。点击 “Add image layer” 按钮可以增加背景图层。

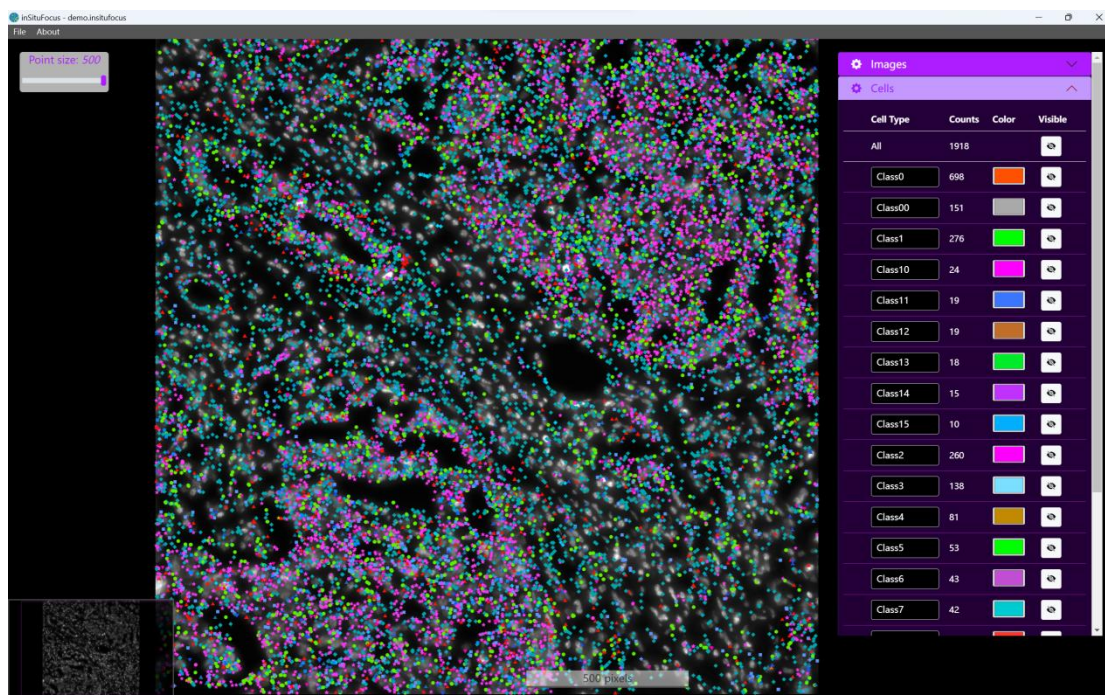


3. Cells 模块

Cells 模块展示的是细胞类型 (Cell Type) 和细胞数量 (Counts)，可以调节细胞类型的颜色 (Color) 和可见 (Visible)。

Cells			
Cell Type	Counts	Color	Visible
All	1918		<input checked="" type="checkbox"/>
Class0	698		<input checked="" type="checkbox"/>
Class00	151		<input checked="" type="checkbox"/>
Class1	276		<input checked="" type="checkbox"/>
Class10	24		<input checked="" type="checkbox"/>

所有细胞都不显示的效果如下：

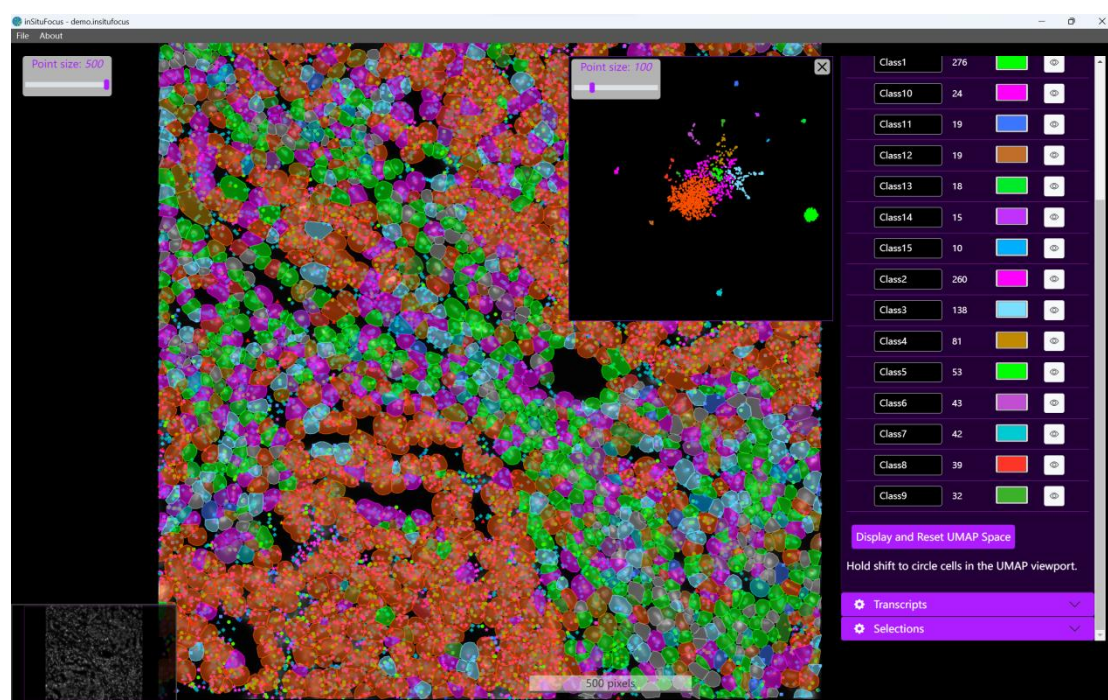


Cells 模块的最下方的按钮可以控制细胞降维图的展示：

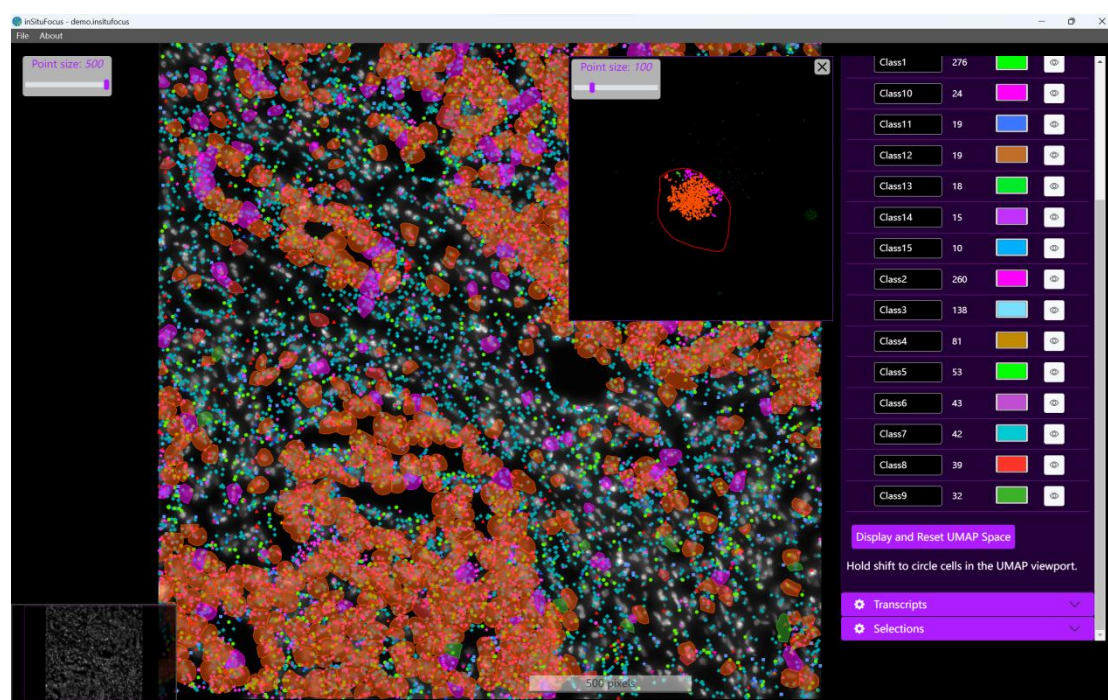


点击“Display and Reset UMAP Space”按钮，显示降维图，鼠标可以

拖动图片和放大缩小，可在“Point size”滑动条改变细胞点大小，在降维图中单击细胞点可以显示细胞点所属的细胞类型和细胞名称。



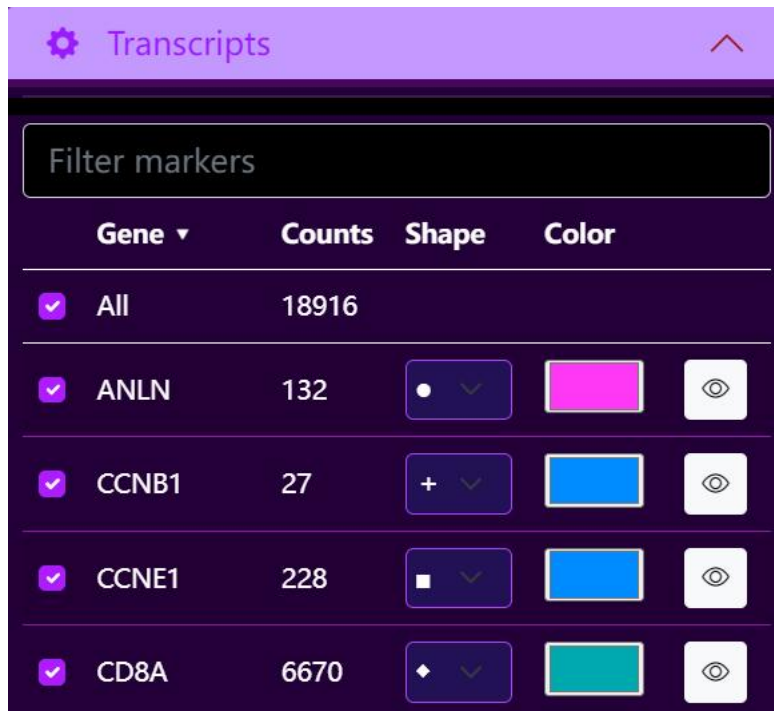
按住 **Shift** 键可以在细胞降维图中圈选细胞，圈选后在主视图中显示对应的细胞，之后点击“Display and Reset UMAP Space”按钮和 Cells 模块可见按钮进行还原。



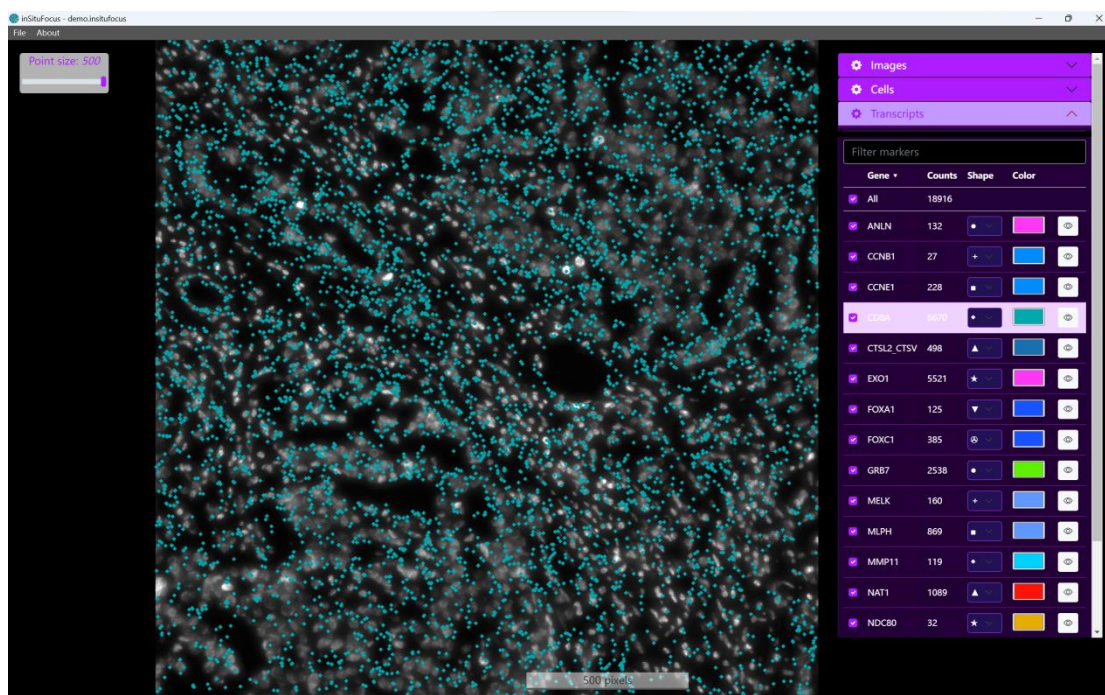
4. Transcripts 模块

Transcripts 模块展示的是转录本信号点的基因名称（Gene）和信号点数量（Counts），可以调节信号点形状（Shape）和信号点颜色（Color）。

在“Filter markers”文本框输入基因名称可以检索基因。



将鼠标悬停在基因的可见按钮  可以显示对应的转录本信号点。

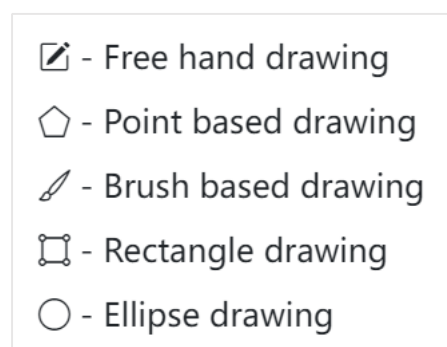


5. Selections 模块

Selections 模块实现 3 个功能：圈选区域、区域分析、spot 聚类。

点击 Selections 模块后，在“Point size”滑动条的下放会出现区域圈选

工具选择按钮 ，有 5 种区域圈选工具



可以选择：自由圈选（Free hand drawing）、

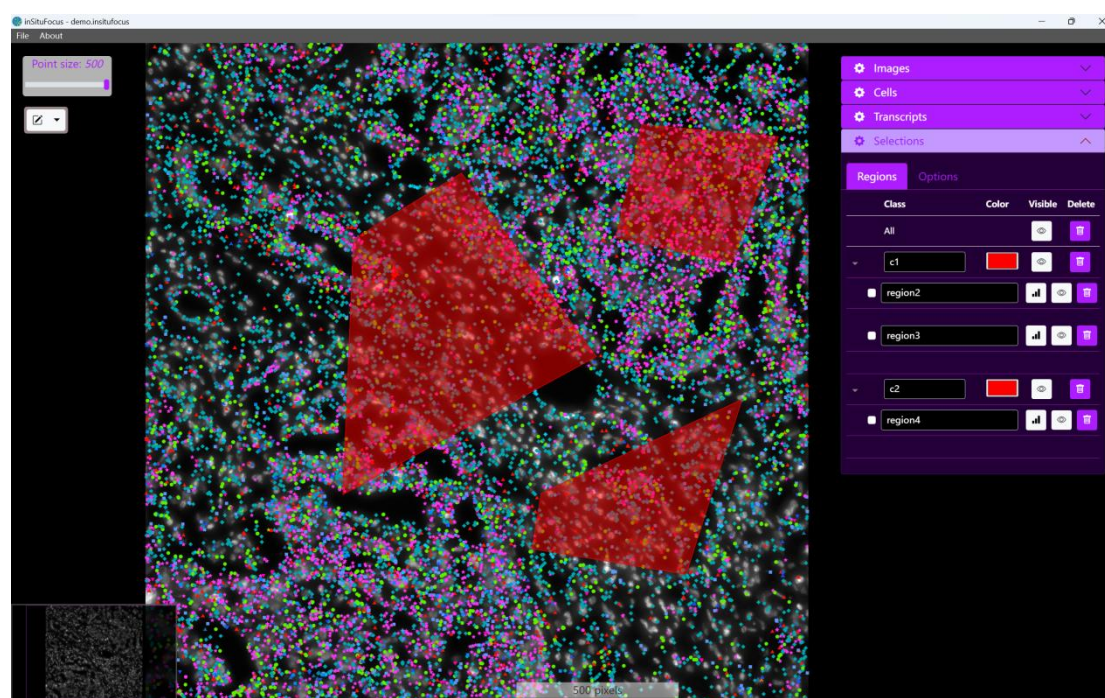
点连线式圈选（Point based drawing）、笔刷式圈选（Brush based


drawing）、矩形圈选（Rectangle drawing）、椭圆圈选（Ellipse drawing）。

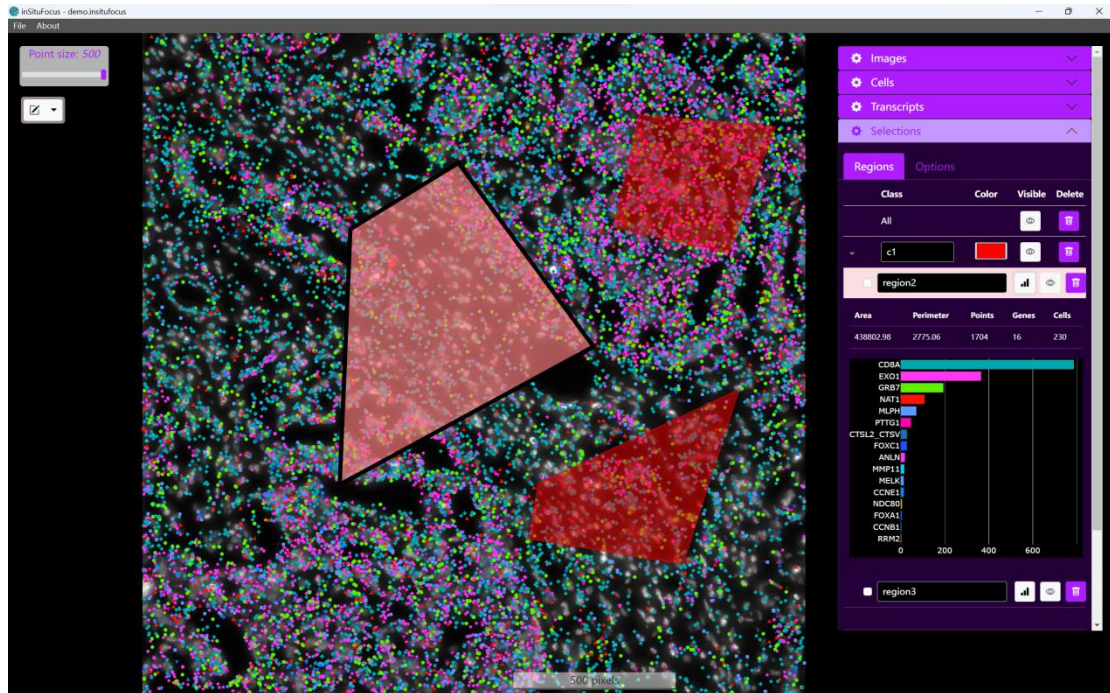
圈选区域后，会在 Regions 栏目生成区域，需要在区域的“class”文

本框为区域命名类别，所有的区域按照类别进行展示，可以修改区域

类别名称、区域名称，可以调节区域的颜色（Color）和可见（Visible）。



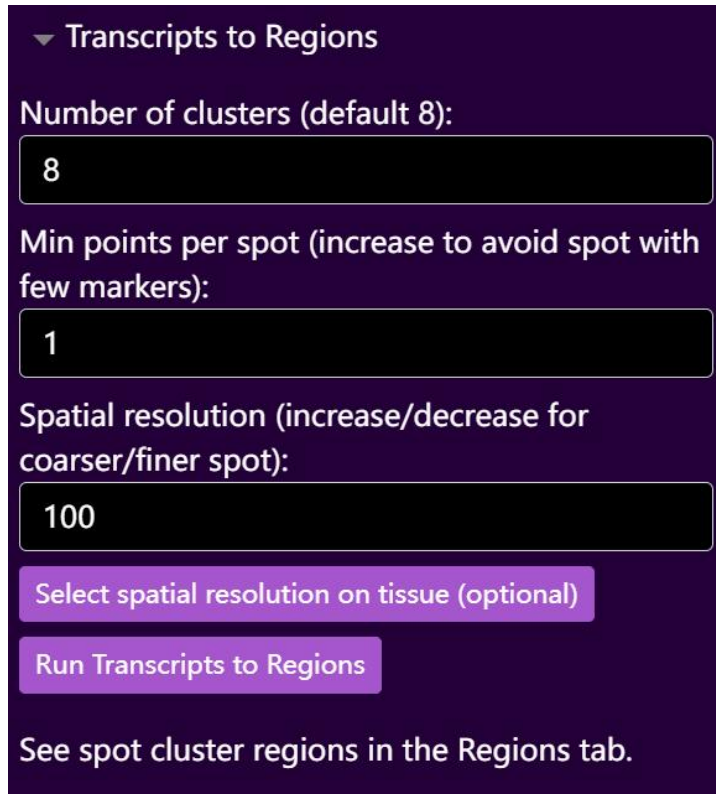
点击区域的分析按钮  会生成区域分析结果，包括：面积（Area）、周长（Perimeter）、转录本信号点数量（Points）、基因数量（Genes）、细胞数量（Cells）、基因表达柱状图。



在 Options 栏目可以将区域导出为 json 文件或者基因表达 csv 文件，保存的区域 json 文件可以再次导入（demo data 的“select_regions.json”文件）。



在 Options 栏目可以进行 spot 聚类，需要设置三个参数：聚类数量（Number of clusters，默认 8）、spot 至少要包含的信号点数量（Min points per spot，默认 1）、空间分辨率（Spatial resolution，默认 100）。



▼ Transcripts to Regions

Number of clusters (default 8):

8

Min points per spot (increase to avoid spot with few markers):

1

Spatial resolution (increase/decrease for coarser/finer spot):

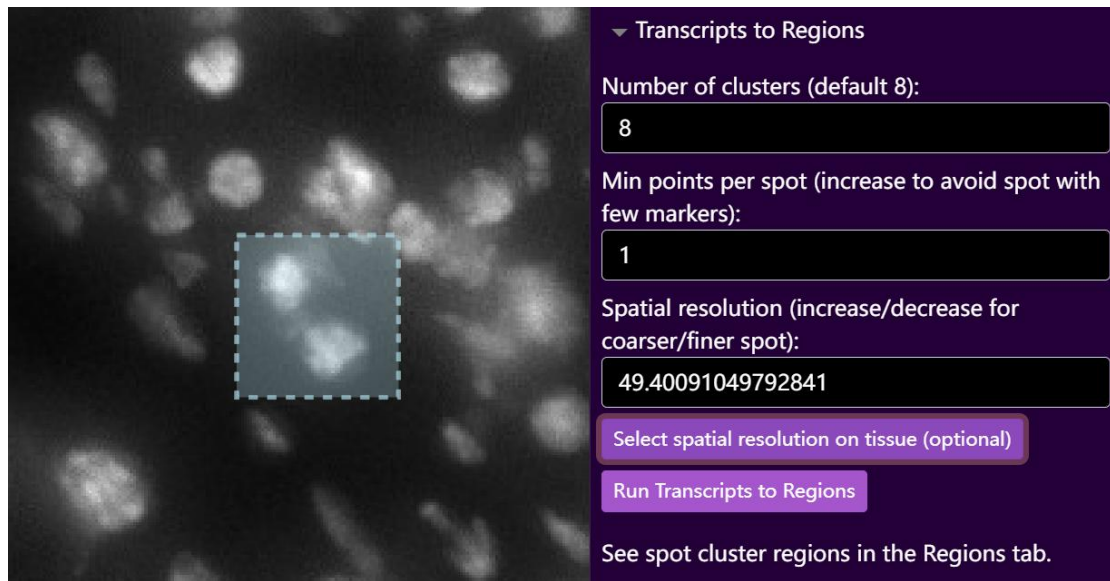
100

Select spatial resolution on tissue (optional)

Run Transcripts to Regions

See spot cluster regions in the Regions tab.

空间分辨率指 spot 的像素尺寸，可以先点击“Select spatial resolution on tissue (optional)”按钮，再用鼠标在图中框选合适的尺寸，输入框中的数值会实时变化。



参数设置完后，点击“Run Transcripts to Regions”按钮，即可进行 spot 聚类。注意，在项目启动后系统会自动载入 Python 解释器，载入完之前“Run Transcripts to Regions”按钮不可用，载入时间可能与计算机性能有关。算法会根据 spot 基因表达的转录本信号点计数将 spot 聚类成指定数量的区域，区域类别名称带有“Spot Cluster”前缀。

