

空间转录组 Loupe Browser v4.0.0 操作手册





部门: 研究合作中心-单细胞研究板块

日期: 2020年2月4日

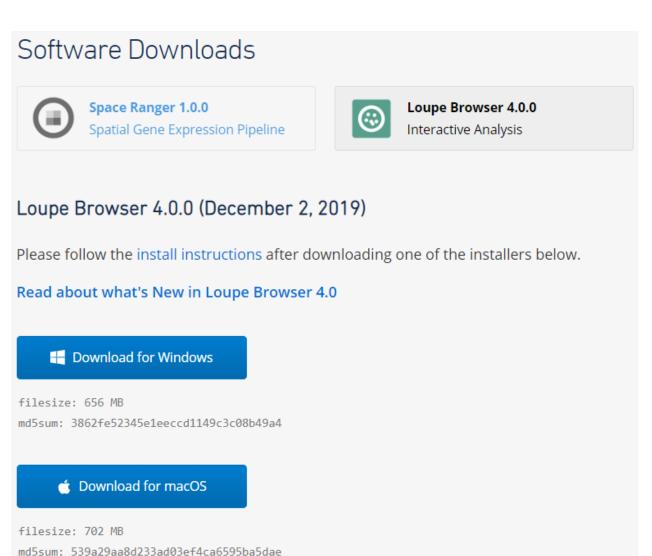


目录

- ·1 Loupe Browser 下载和安装
- ·2 Loupe Browser 视图
- ·3 分析内容
 - 3.1 评估已知的marker基因
 - 3.2 在空间视图上探索分群
 - 3.3 鉴定分群的子结构
- ·4 数据保存和导出

1. Loupe Browser 下载和安装





在10X Genomics 官网下载Loupe Browser 4.0.0 2019年12月2号发布的版本

下载链接:

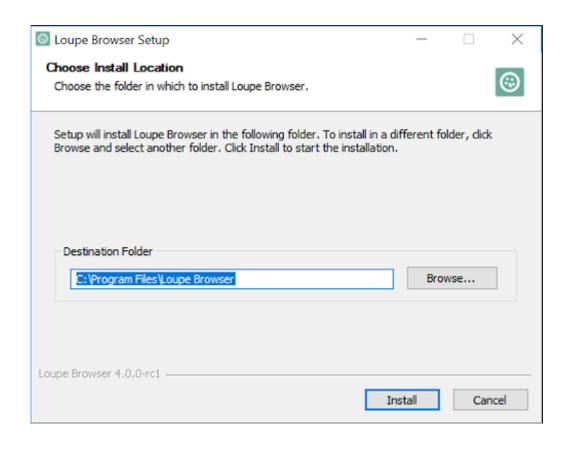
https://support.10xgenomics.com/spatial-gene-expression/software/downloads/latest#loupe

1. Loupe Browser 下载和安装



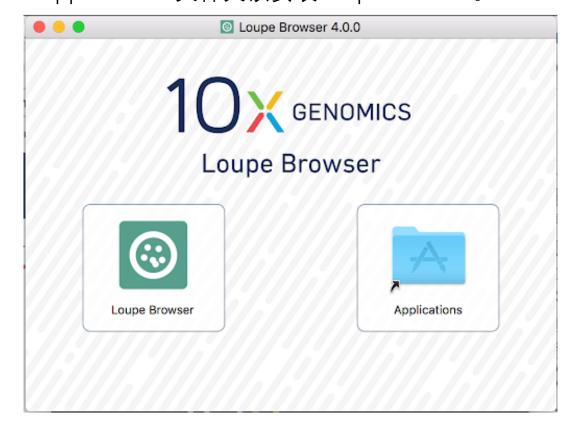
Windows 版安装:

下载.exe文件,双击运行安装程序。



macOS 版安装:

下载.dmg文件,双击打开文件,将图标拖拽到应用 "Applications"文件夹以安装Loupe Browser。

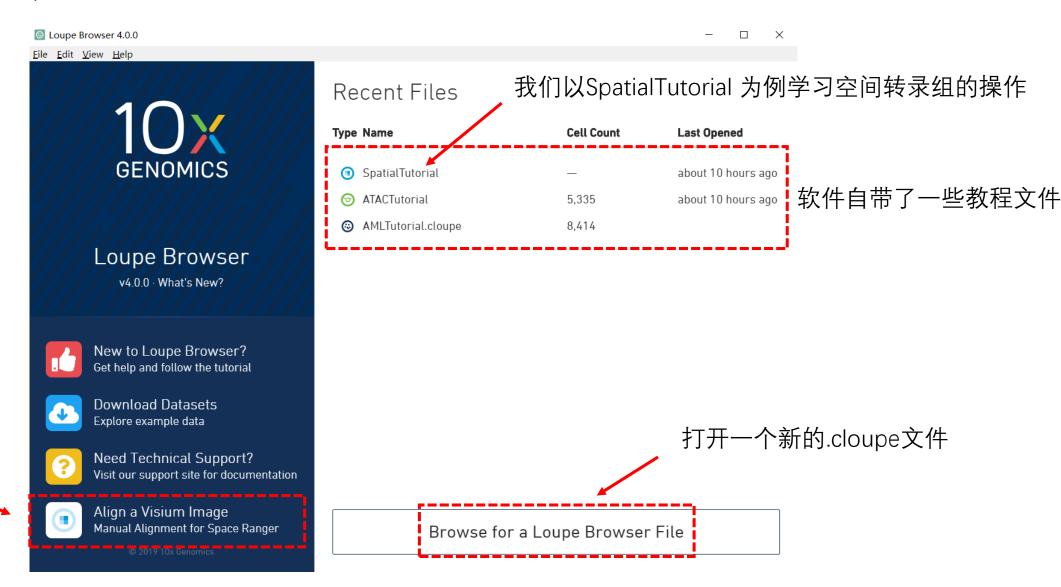


官网安装说明: https://support.10xgenomics.com/spatial-gene-expression/software/visualization/latest/installation

1. Loupe Browser 下载和安装



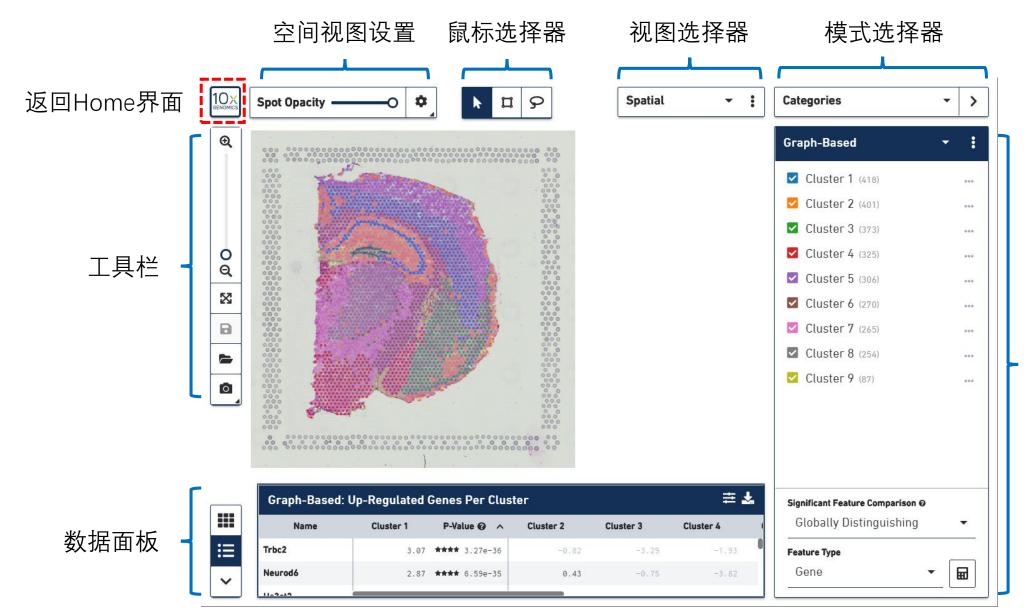
双击运行Loupe Browser, 出现如下视图:



图像手动比对

2. Loupe Browser 空间转录组视图 (以小鼠大脑为例)





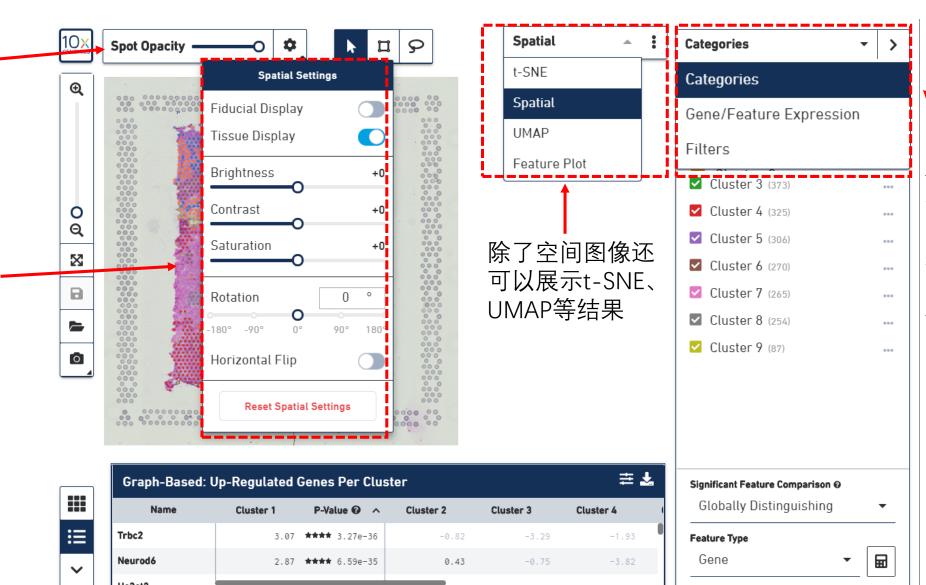
模式面板

2. Loupe Browser 空间转录组视图 (以小鼠大脑为例)



滑动改变spot透明度,调到最左侧时显示组织切片的H&E染色图片。

可以选择展示基 准框、组织切 片,调节图像和 克度、对比度 饱和度,旋转 的 者水平翻转图 像。



模式选择中有"分类"、 "基因/特征 表达"以及 "过滤器"三 个选项。

3.空间转录组Loupe Browser 分析内容

(以小鼠大脑为例)

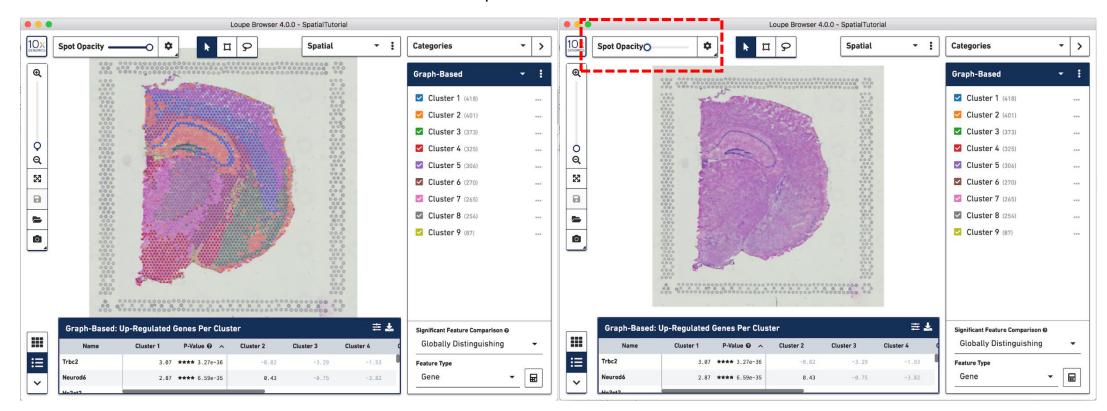


参考链接: https://support.10xgenomics.com/spatial-gene-expression/software/visualization/latest/analysis

3.1 评估已知的marker基因

目的: 在组织形态学背景下评估感兴趣的已知marker基因的表达谱。

滑动改变spot透明度,调到最左侧时显示组织切片的H&E染色图片。



3.1 评估已知的marker基因 (以小鼠大脑为例)

Nevogene

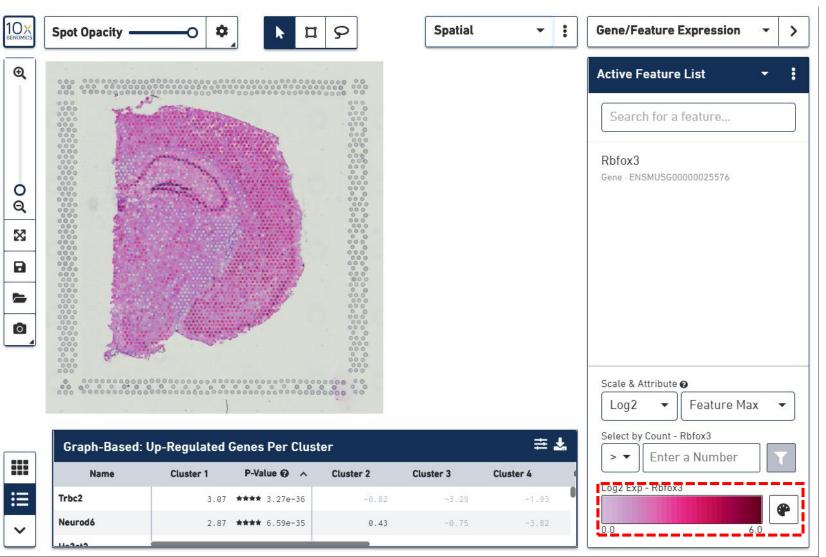
目的:在组织形态学背景下评估感兴趣的已知marker基因的表达谱。

查看单个基因

步骤:

- (1) 选择gene/feature expression模式
- (2) 输入感兴趣基因名

颜色越深代表此位点基因表达越高,浅灰色的位点代表检测不到目的基因的表达。



3.1 评估已知的marker基因 (以小鼠大脑为例)

Nevogene

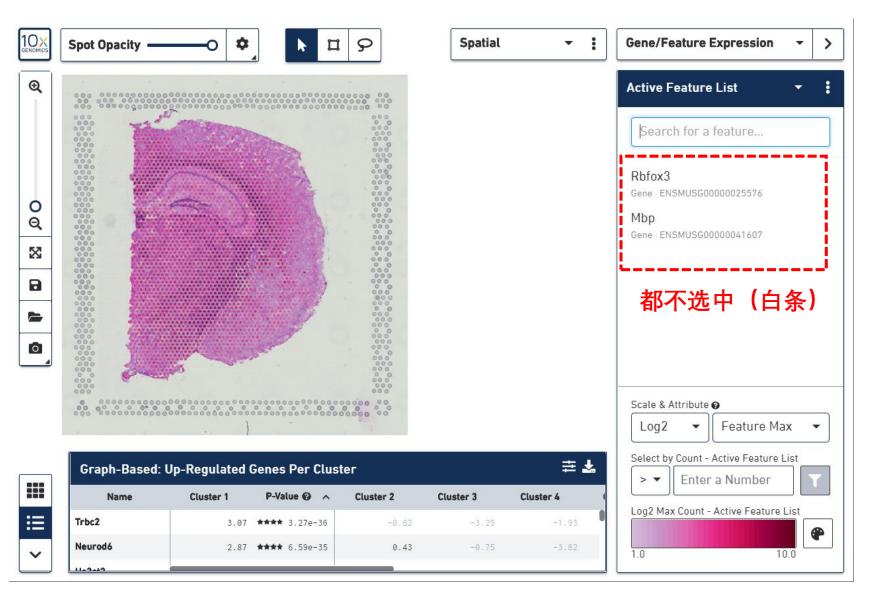
目的:在组织形态学背景下评估感兴趣的已知marker基因的表达谱。

查看多个基因

步骤:

- (1) 选择gene/feature expression模式
- (2) 输入感兴趣基因名

当list中的基因都没有被选中时, 左侧图像展示的是多个基因综合的 结果(按照下方的规则)。



3.1 评估已知的marker基因 (以小鼠大脑为例)

Nevogene

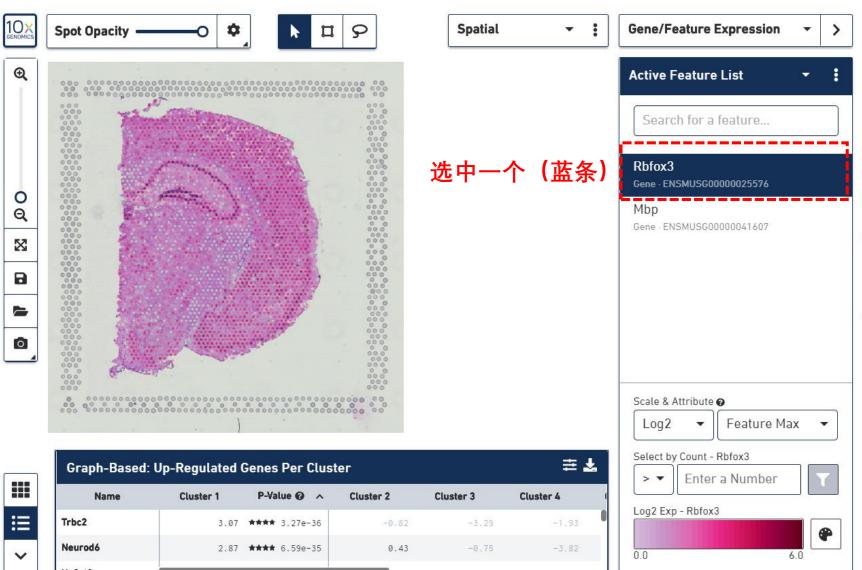
目的:在组织形态学背景下评估感兴趣的已知marker基因的表达谱。

查看多个基因

步骤:

- (1) 选择gene/feature expression模式
- (2) 输入感兴趣基因名

当list中有多个基因,但是选中一个时,左图展示的是单个基因的结果。

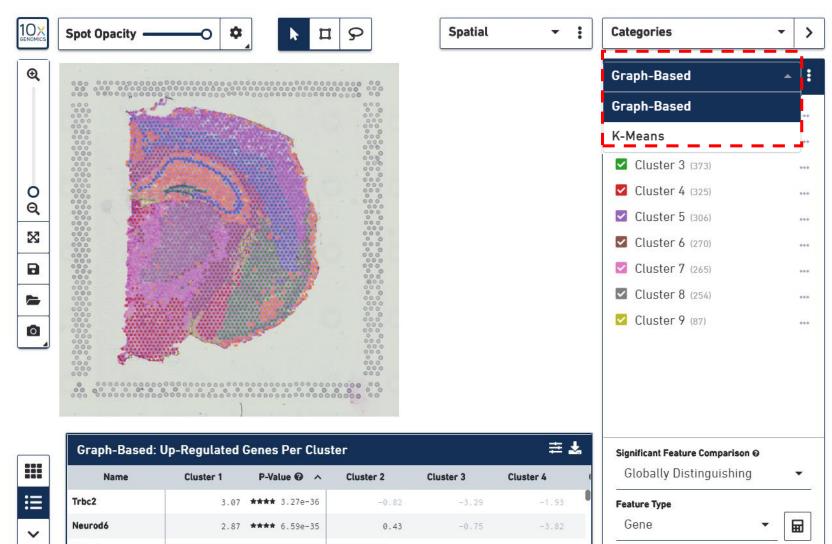


3.2 在空间视图上探索分群

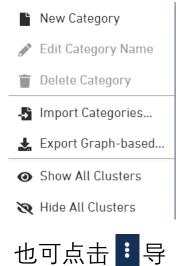
Nevogene

目的: 在组织形态学背景下评估图像数据和聚类结果。

在"Categories"模式 下,我们可以查看 "space ranger"利用 Graph-based或者 K-Means算法对 spots聚类的结果。



点击下拉菜单, 选择一种聚类结 果。

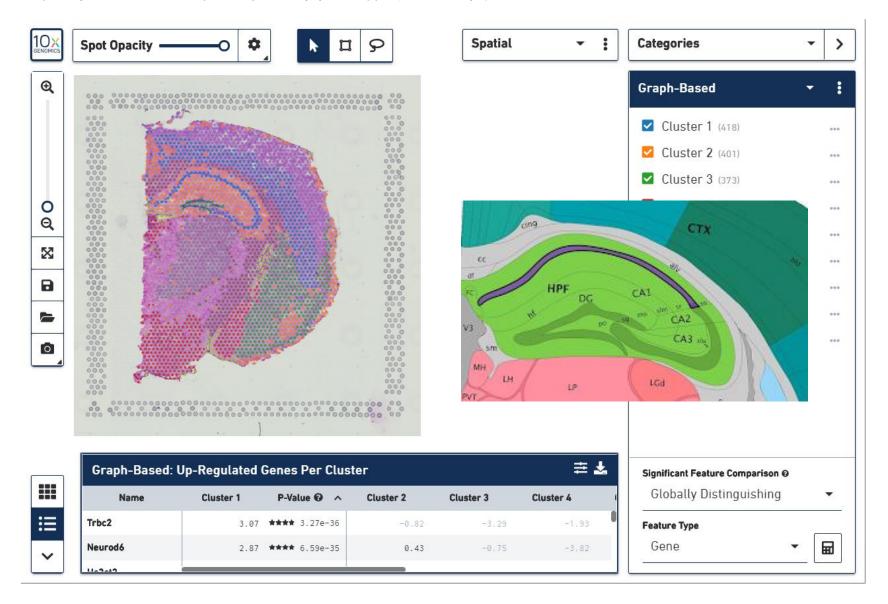


入分类结果。

3.2 在空间视图上探索分群

Nevogene

目的: 在组织形态学背景下评估图像数据和聚类结果。



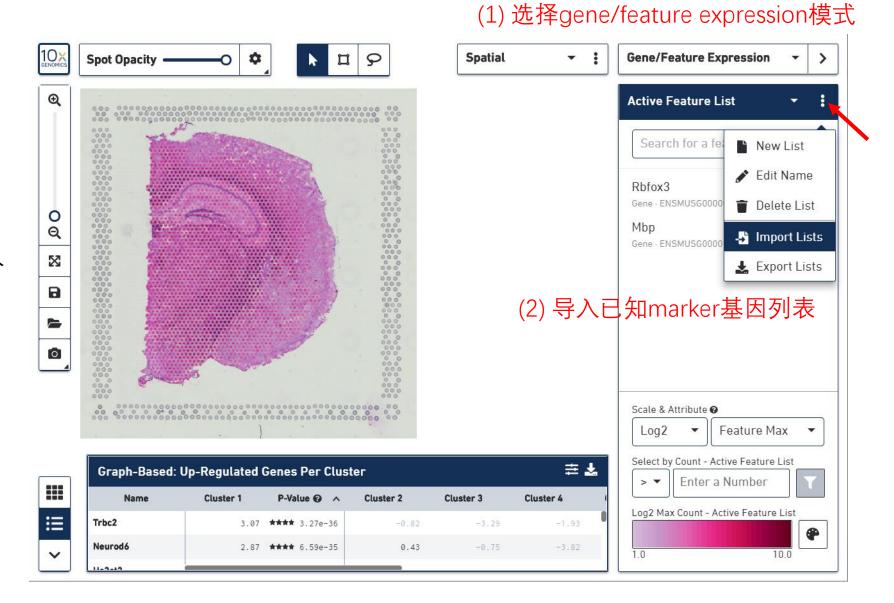
以Cluster 1为例,从左侧的聚类结果中可以看到,cluster 1 (蓝色)分别位于解刨学上的海马区和部分同形皮质区域。

接下来我们利用一些已知的marker 基因对其进一步鉴定。



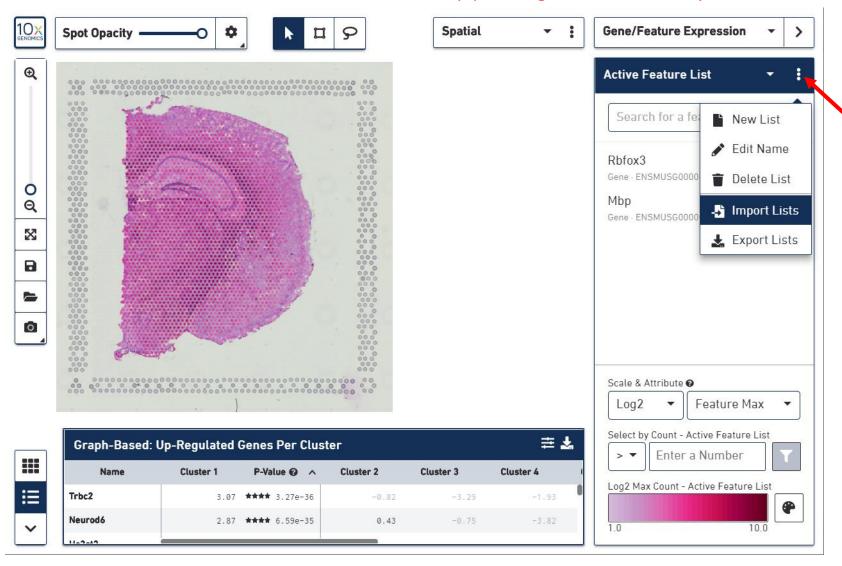
步骤:

- (1) 选择gene/feature expression模式;
- (2) 输入/导入已知marker基 因列表;
- (3) 根据marker基因的表达分 布定义分类。





(1) 选择gene/feature expression模式



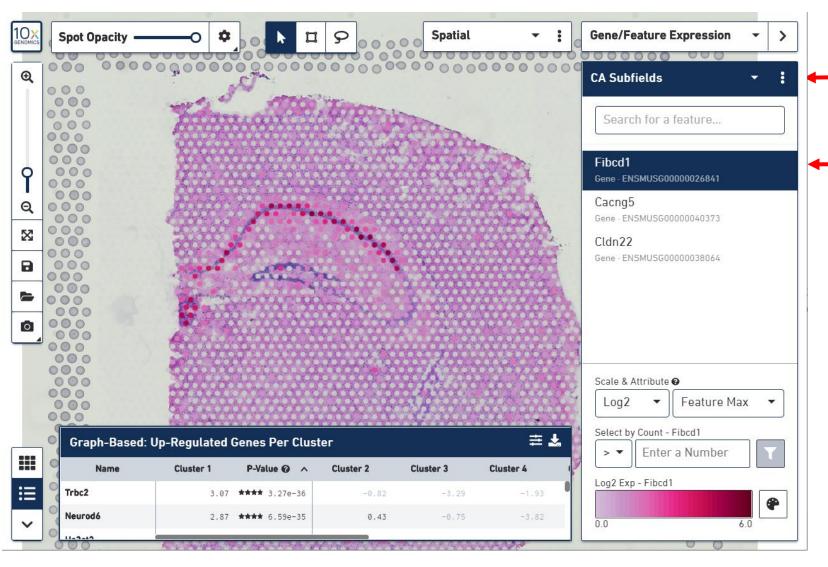
(2) 导入已知marker基因列表

Marker genes list 格式:

	Α	В
1	List	Name
2	CA Subfields	Fibcd1
3	CA Subfields	Cacng5
4	CA Subfields	Cldn22
5		



(1) 选择gene/feature expression模式

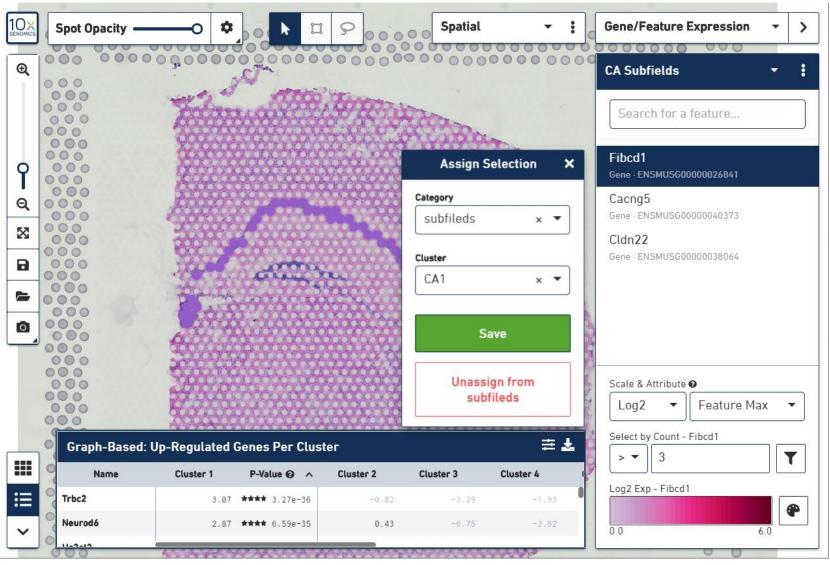


← (2) 导入已知marker基因列表

← (3) 根据marker基因的表达 分布定义分类

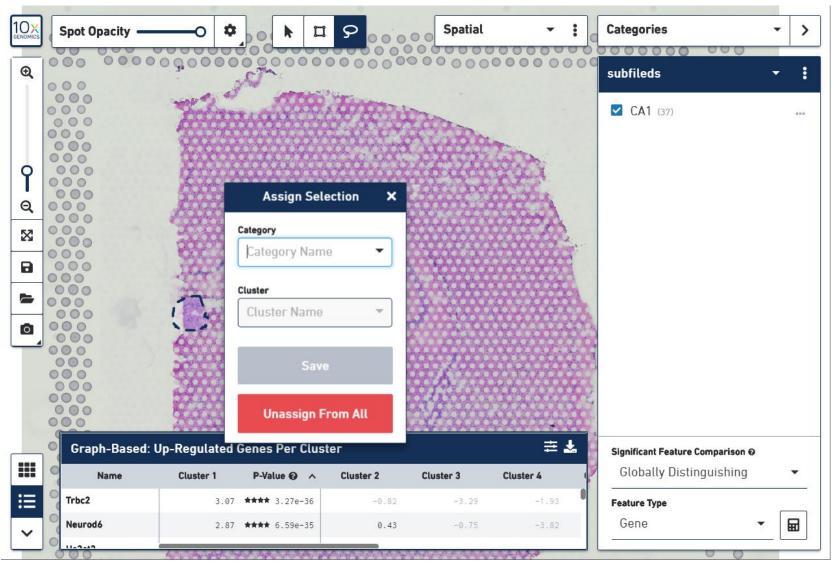
Fibcd1是CA1的marker基因,选中Fibcd1,左图展示高表达的spots位于CA1区域和部分缰核。





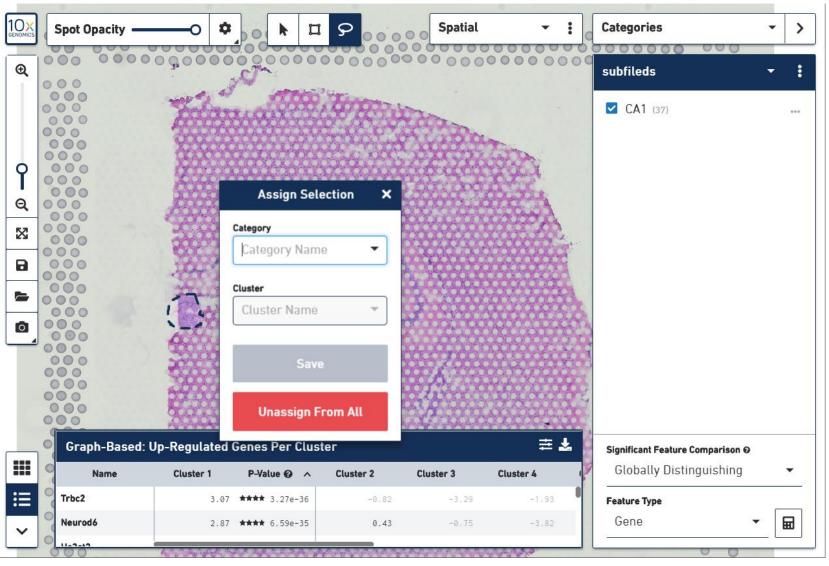
- a. 选定marker 基因;
- b. 设定筛选值: Log2、 Feature Max、count>3, 点击filter按钮;
- c. 指定选择: category输入 subfileds, Cluster输入 CA1, 点击"Save";





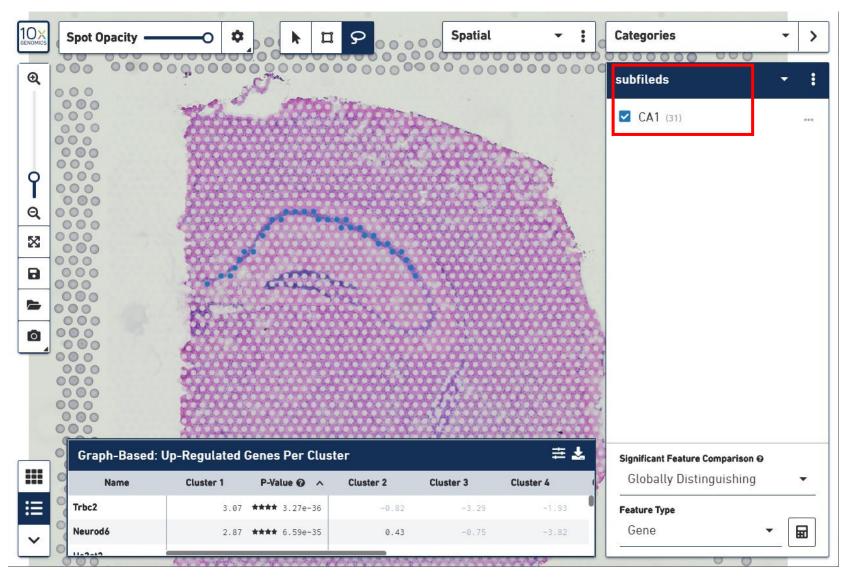
- a. 选定marker 基因;
- b. 设定筛选值: Log2、 Feature Max、count>3, 点击filter按钮;
- c. 指定选择: category输入 subfileds, Cluster输入 CA1, 点击"Save";
- d. 页面自动跳转至
 "Categories"模式。将鼠标调为套索模式,圈出位于
 缰核的spots;
- e. 自动弹出"Assign Selection" 选项卡,点击"Unassign From All",将这些spot从 CA1中去除。





- a. 选定marker 基因;
- b. 设定筛选值: Log2、 Feature Max、count>3, 点击filter按钮;
- c. 指定选择: category输入 subfileds, Cluster输入 CA1, 点击"Save";
- d. 页面自动跳转至
 "Categories"模式。将鼠标
 调为套索模式,圈出位于
 缰核的spots;
- e. 自动弹出"Assign Selection" 选项卡,点击"Unassign From All",将这些spot从 CA1中去除;



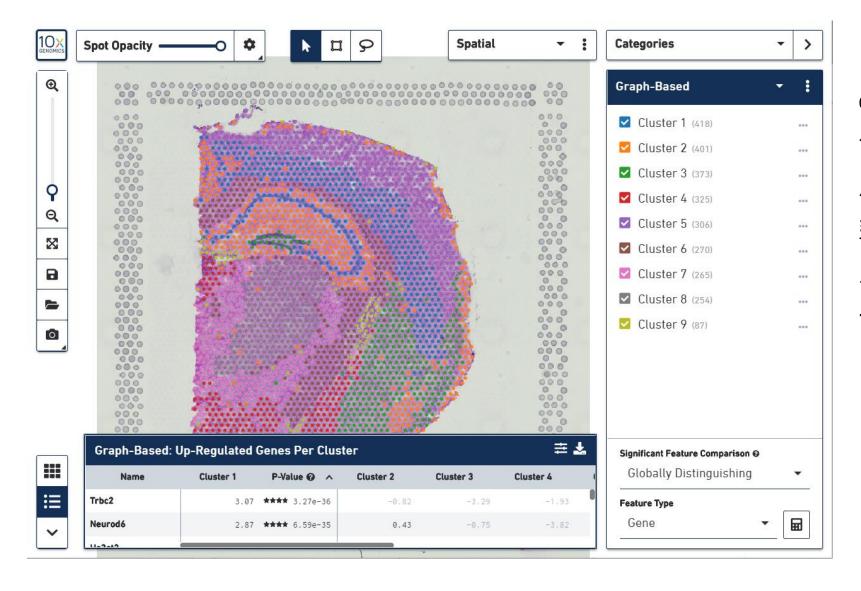


- a. 选定marker 基因;
- b. 设定筛选值: Log2、 Feature Max、count>3, 点击filter按钮;
- c. 指定选择: category输入 subfileds, Cluster输入 CA1, 点击"Save";
- d. 页面自动跳转至
 "Categories"模式。将鼠标调为套索模式,圈出位于
 缰核的spots;
- e. 自动弹出"Assign Selection" 选项卡,点击"Unassign From All",将这些spot从 CA1中去除;
- f. 最终得到较为准确的CA1区 域(spot数目从37变为 31)。

3.3 鉴定分群的子结构

Nevogene

目的: 在聚类中寻找子群并进行基因差异表达分析



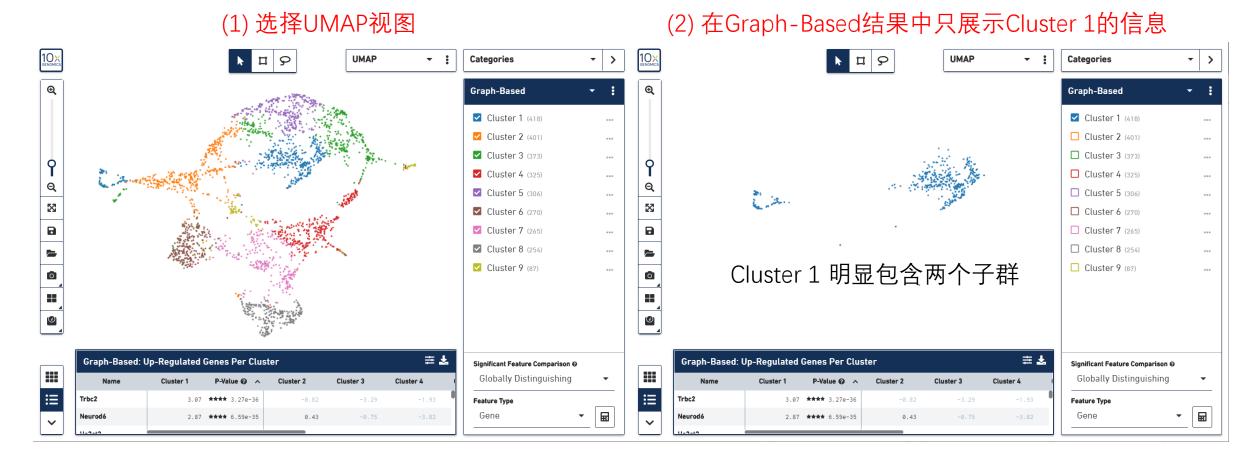
cluster 1 (蓝色) 分别位于解创学上的海马区和部分同形皮质区域。

那么是否可以将Cluster 1按 照组织空间结构划分成两个 子群呢?

Nevogene

目的: 在聚类中寻找子群并进行基因差异表达分析

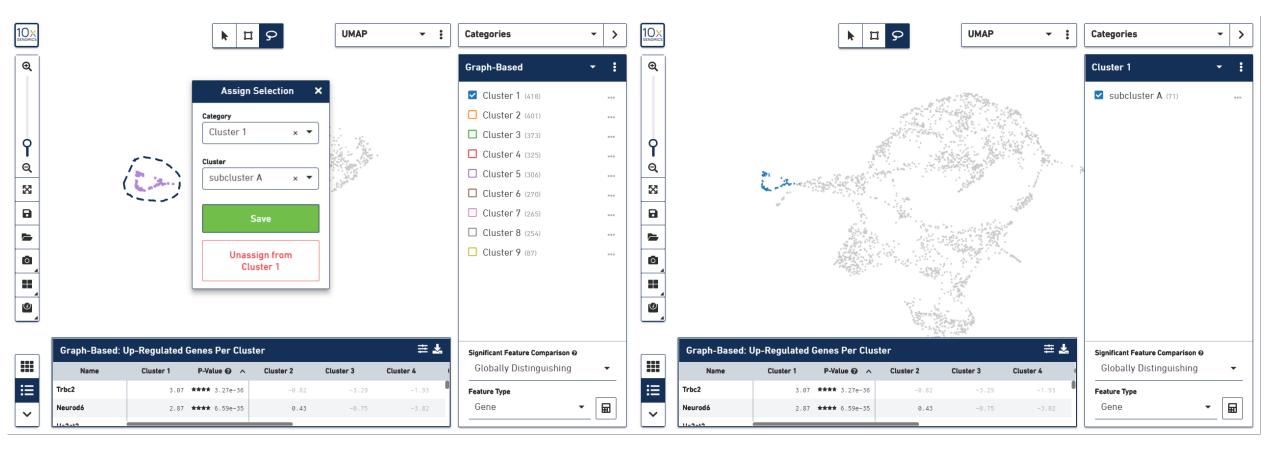
步骤: (1) 选择UMAP视图; (2) 在Graph-Based结果中只展示Cluster 1的信息; (3) 用套索工具圈出其中一个子群, 指定分类为Cluster 1, subcluster A, 点击Save; (4) 在Categories模式下,选择Graph-Based,用套索工具圈出另一个子群,指定分类为Cluster 1, subcluster B,点击Save; (5) 计算subcluster A和subcluster B的差异表达基因; (6) 在空间视图上评估子群鉴定结果。



Nevogene

目的: 在聚类中寻找子群并进行基因差异表达分析

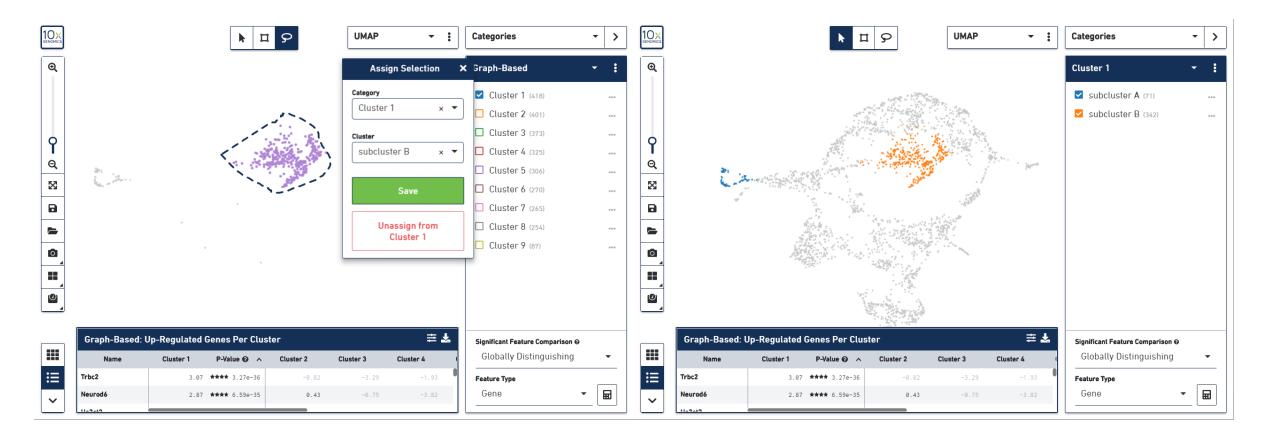
(3) 用套索工具圈出其中一个子群,指定分类为Cluster 1, subcluster A,点击Save



Nevogene

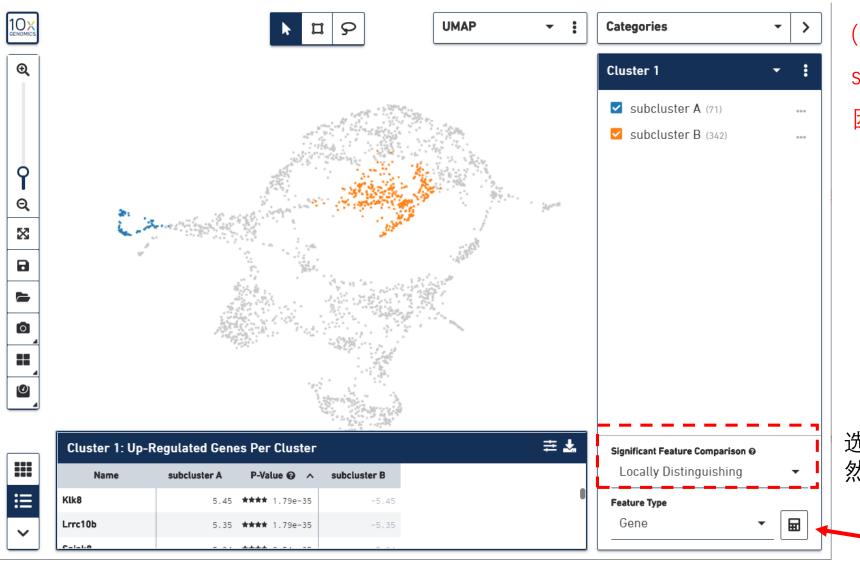
目的: 在聚类中寻找子群并进行基因差异表达分析

(4) 在Categories模式下,选择Graph-Based,用套索工具圈出另一个子群,指定分类为Cluster 1, subcluster B, 点击Save;



Nevogene

目的: 在聚类中寻找子群并进行基因差异表达分析

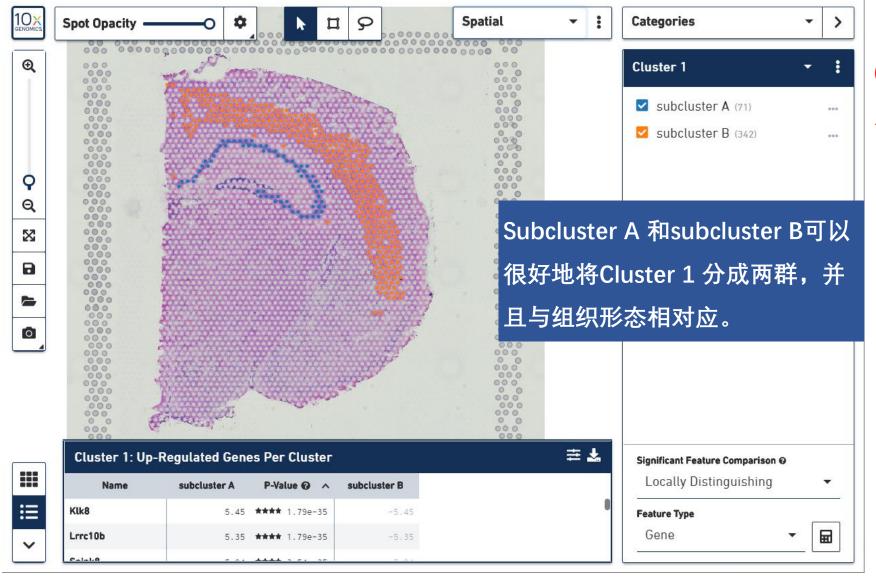


(5) 计算subcluster A和 subcluster B的差异表达基因。

选择"Locally Distinguishing", 然后点击计算按钮。



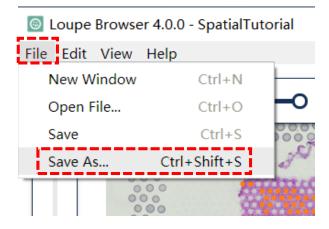
目的: 在聚类中寻找子群并进行基因差异表达分析



(6) 在空间视图上评估子群鉴定结果。

4 数据保存和导出

➤ 保存.cloupe文件

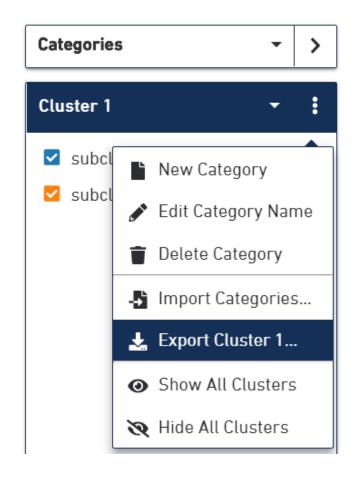


▶ 导出数据或图形

- 重要基因的表格(to CSV)
- 重要基因的热图(to PNG)
- 当前屏幕上的图(to PNG/ SVG)



➤ 导入或导出类 (Categories)



Thank You!

www.novogene.com

