

(環境構築)

1. R 及び Rstudio を以下のリンクよりインストールする

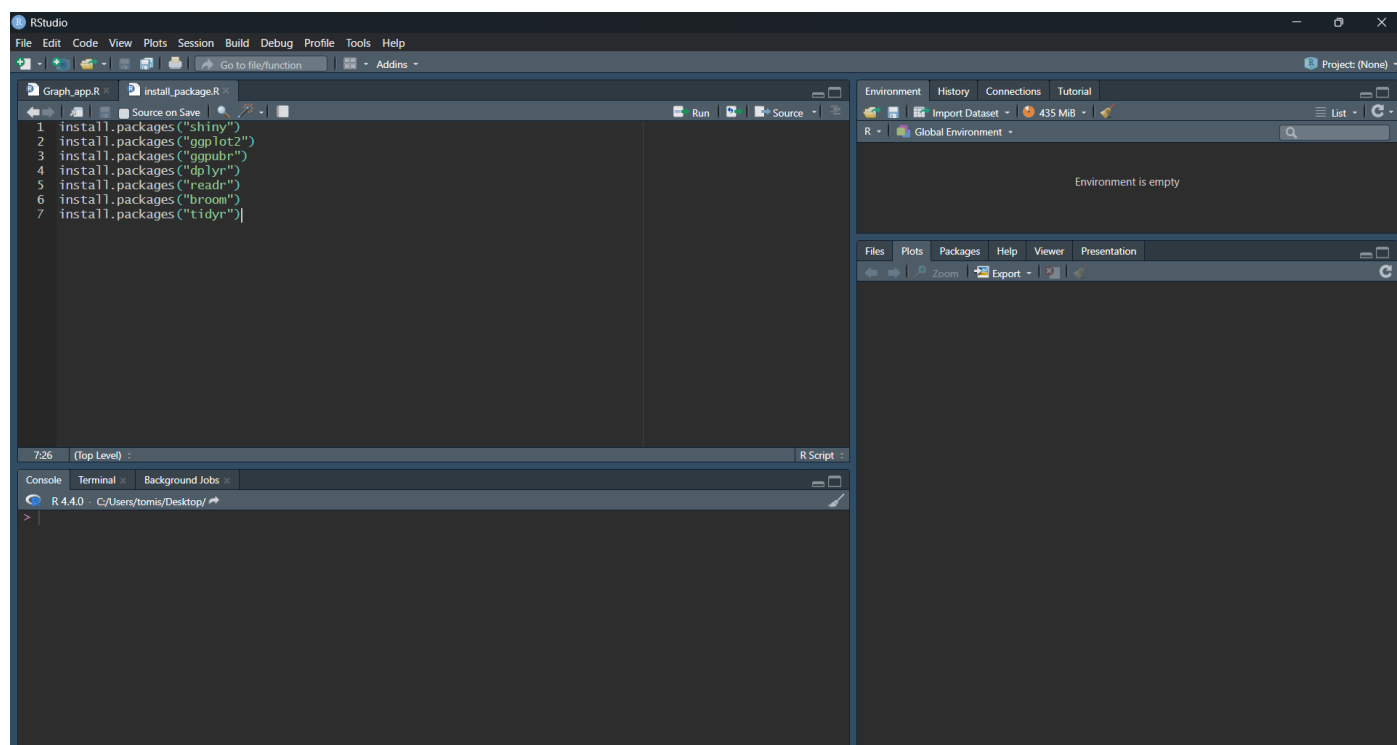
[R install](#)

[Rstudio install](#)

また、install に際して下記の Web が参考になるので適宜参照して下さい

[R および R studio インストールについて](#)

2. Download folder 内にある **"install_package.R"** を Rstudio 上で展開する



上記のような画面が出てくるはず

左上の window に表示されるすべての行を選択した状態で「ctrl+enter」を同時押しする

install が完了すると「～～は〇〇に展開されました」てきなメッセージが左下の画面に出てくるはず

ここまで来たらとりあえずの環境構築は完了

(データの準備)

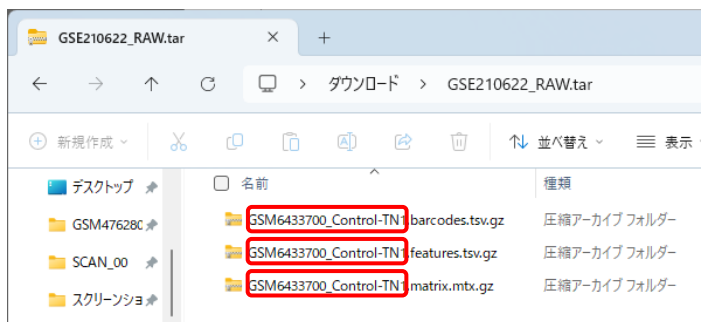
1. [GEO accession viewer](#) より解析したい single cell RNA sequence データを download する



Download family		Format	
SOFT formatted family file(s)		SOFT ?	
MINIML formatted family file(s)		MINIML ?	
Series Matrix File(s)		TXT ?	
Supplementary file	Size	Download	File type/resource
GSE210622_RAW.tar	1.9 Gb	(http)(custom)	TAR (of MTX, TSV)
GSE210622_metadata.txt.gz	2.2 Mb	(ftp)(http)	TXT
Processed data provided as supplementary file			
Processed data are available on Series record			
Raw data not provided for this record			
Custom GSE210622_RAW archive:			
Supplementary file	File size		
<input type="checkbox"/> GSM6433700_Control-TN1.barcodes.tsv.gz	20.0 Mb		
<input type="checkbox"/> GSM6433700_Control-TN1.features.tsv.gz	297.8 Kb		
<input type="checkbox"/> GSM6433700_Control-TN1.matrix.mtx.gz	109.0 Mb		
<input type="checkbox"/> GSM6433701_Control-TN2.barcodes.tsv.gz	20.0 Mb		
<input type="checkbox"/> GSM6433701_Control-TN2.features.tsv.gz	297.8 Kb		
<input type="checkbox"/> GSM6433701_Control-TN2.matrix.mtx.gz	99.5 Mb		

解析には「barcodes.tsv.gz」、「features.tsv.gz」、「matrix.mtx.gz」の3つのファイルが必要なのでこれらを DL。

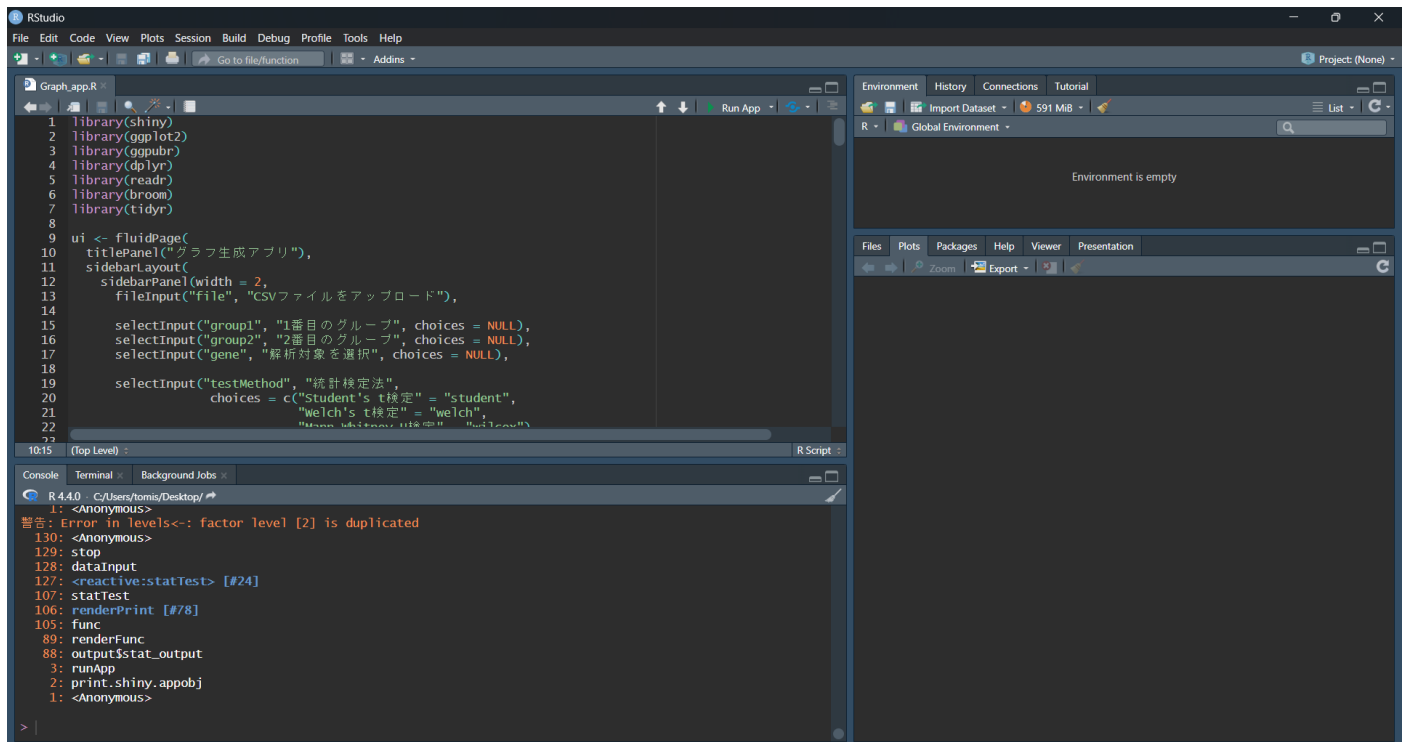
2. 新たにフォルダを作成し、先ほど DL した3つのファイルを格納する。
その際、各ファイル名が上記の3つ以外だと error が出るので忘れずにファイル名を変更する。



3. 準備したファイルを.zip ファイルに圧縮する

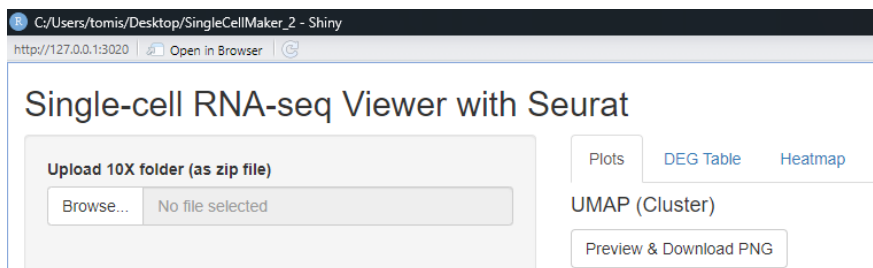
(アプリの立ち上げ)

1. Download folder 内にある **"ui.R"** および **"server.R"** を Rstudio 上で展開する



上記のような画面が出てくるはず

2. 画面上部中央の「▶Run App」をクリックする



上記のような画面がポップアップするはず

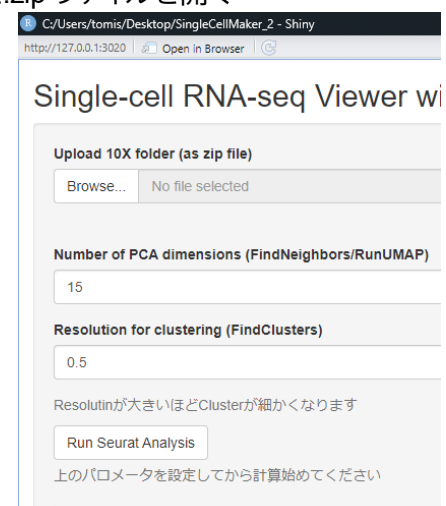
(Optional) Open in Browser を選択すると、Browser 上で操作できるようになる

3. 「Up load 10X folder (as .zip file)」の欄の Browse をクリックし、準備しておいた .zip ファイルを開く

4. 採用する PCA および resolution を box 内に入力後、「Run Seurat Analysis」を選択する

(Number of PCA および Resolution については元の論文に準拠するのがいいと思われます。また、特に記載のない場合は、Number of PCA → 10~15, Resolution → 0.3~1.5 ぐらいで調整すればいいと思います。)

5. 画面右下に「Generating UMAP...」のメッセージが表示された後に、画面中央に UMAP が表示される。処理速度は、データの大きさ及び PC のスペックに依存するので少し時間がかかる場合があります。



6. 全ての処理が終わると、左の side panel に「Select Gene」の列が出現します。ここで自分の興味のある遺伝子名を入力すると、それぞれの Cluster における発現量が Feature Plot, Dot Plot, Violin Plot で表示されます。
7. 画面中央に表示されているそれぞれの図は、「Preview & Download PNG」をクリックすることで保存できます。
8. Side panel の「Calculate Marker Genes」をクリックすると、各 Cluster における DEG を算出します。計算結果は、「DEG Table」のタブを選択することで閲覧可能。また、「Download CSV」を選択することで計算結果を.csv ファイル形式で保存できる。
(注)たいいていの場合 Marker の算出にはかなりの時間を要します。時間に余裕をもって処理を開始してください
9. 「Heatmap」タブでは、算出された DEG をもとに Heatmap を描出することができる。「Top N marker genes per cluster」に入力された数だけ各 Cluster での DEG が Heatmap 上で表示される(例:N=5と入力 出力:各 Cluster Top5 の遺伝子が Heatmap に使用される)。

(あとがき)

low quality cell の除去のステップを飛ばしているので厳密には正しくない結果です。

なんとなく「この遺伝子発現してるかな～」と確認する際に使ってくれたら作成者冥利に尽きます。

また、single cell RNA sequence についてこのアプリをきっかけに 1 人でも多くの Dry 解析仲間が増えることを期待しています。

より高度な下流解析(Pathway 解析、TF activity 解析、疑似時間解析)については、汎用性のある script を作成して遺す(予定)ので、そちらを使ってください。

ぜひ一度使ってみて、使用感や付け加えてほしい機能があれば[こちら](#)からどうぞ！