

# 博奥晶典空间转录组测序平台



## 1 产品简介

博奥晶典空间转录组技术利用 10x Genomics Visium 平台，结合显微成像技术和高通量测序技术，从一片完整的冰冻组织切片中获取位于切片不同位置的细胞中的转录组数据，通过专用软件进行基因表达和形态学数据的可视化分析。

## 2 技术原理

空间转录组技术使用组织透化芯片和基因表达芯片两种芯片，先利用组织透化芯片（8 个点阵）摸索组织切片的目标区域透化条件，确定透化最佳条件后，利用基因表达芯片进行组织切片的 RNA 捕获建库。基因表达芯片有 4 个点阵区域（6.5 mm x 6.5 mm），每个点阵均含有 4,992 个 barcoded spot（直径为 55  $\mu\text{m}$ ），每个 spot 有一个独特条形码序列用于位置定位。将组织冷冻切片固定在基因表达芯片上，并用透化试剂处理使细胞膜上出现孔洞，从而释放出细胞所含的 RNA，spot 上对应的条形码引物捕获邻近的 mRNA，这些 RNA 则会被标记上 spot 相应的条形码序列，然后进行文库构建并进行测序。测序数据中空间条形码序列将转录信息映射回组织切片中的起始位置，从而还原转录本在组织中的位置分布，实现基因表达的空间可视化。

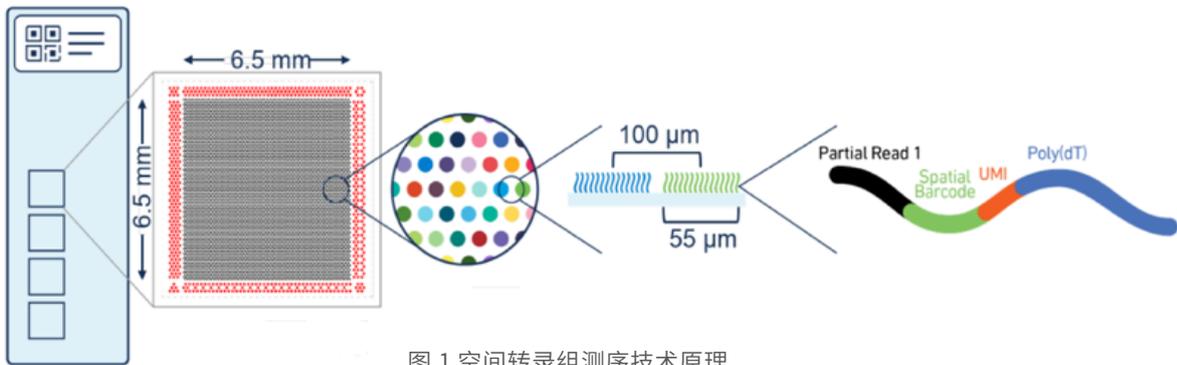


图 1 空间转录组测序技术原理

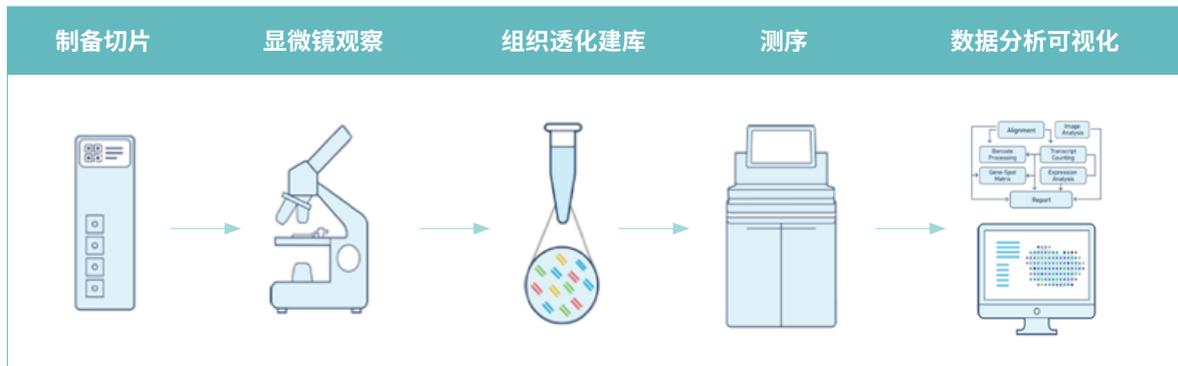


图 2 空间转录组测序实验流程

### 3 分析结果展示

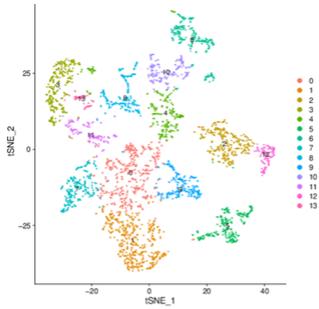


图 3 spots 分群结果

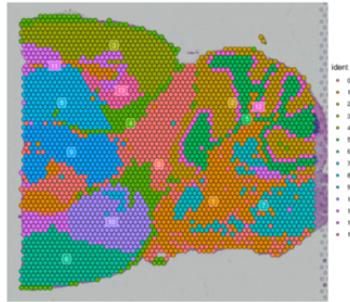


图 4 spots 分群可视化结果

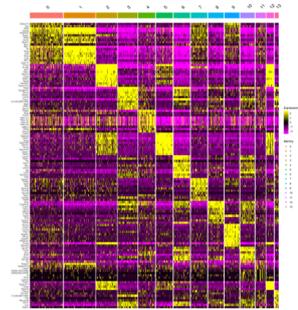


图 5 亚群聚类热图



图 6 差异基因蛋白网络互作图

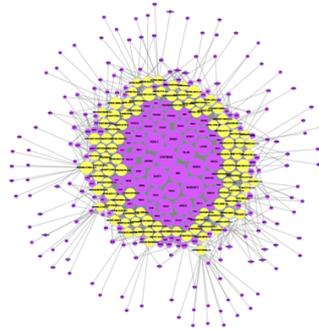


图 7 基因与转录因子网络图

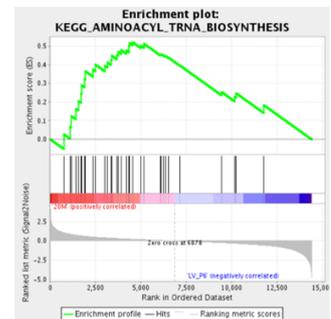


图 8 GSEA 分析

### 4 送样要求

样本处理方式说明	新鲜组织取样后立即进行 OCT 包埋处理后再冻存；如果无法立即进行包埋处理，则先将组织利用异戊烷速冻随后再进行 OCT 包埋
运输方式	干冰运输
质量要求	组织切片提取 RNA 无降解，RIN 值 $\geq 7$ 组织切片 HE 染色完整、无明显空隙

### 5 应用方向

肿瘤研究	肿瘤微环境，肿瘤异质性	免疫研究	免疫微环境
发育生物学	细胞类型的空间分布，时空变化	脑神经学	神经系统研究，脑图谱构建
病理学	病理切片的空间基因表达信息	细胞图谱	构建三维空间图谱

## 6 平台优势

完整的技术平台	具有 10x Genomics Visium、冷冻切片机、莱卡显微镜等服务平台
专业的技术团队	配备多名清华、中科院等名校博士、硕士，均具有多年实验操作经验
纯熟的切片技术	拥有丰富的组织切片、贴片及染色的经验，可达到后续实验的标准要求
高灵敏度、高分辨率	每张切片包含 4,992 个 spot，每个 spot 可检测上千个基因
实验结果无偏差	特殊 UMI 的设计，避免反转录偏好性造成的误差，降低偏倚性
一站式服务	提供从组织包埋、切片、贴片、透化、基因表达检测、文库构建到数据分析的全套服务

## 7 应用案例

### Spatiotemporal dynamics of molecular pathology in amyotrophic lateral sclerosis

#### 肌萎缩性侧索硬化症的分子病理时空动态研究

期刊: *Science* 发表时间: 2019 年 4 月 影响因子: 41.037

### • 研究背景

肌萎缩性侧索硬化症 (ALS) 是一种慢性的、进行性神经系统变性疾病，临床表现为进行性加重的骨骼肌无力、萎缩等，研究证明运动神经元和神经胶质之间的信号传导功能障碍是该疾病发生的关键原因。考虑到脊髓细胞结构和细胞间传导在肌萎缩性脊髓侧索硬化症进展中的影响，本研究从空间角度揭示了疾病发展各个阶段出现的细胞亚群，探究引发疾病的潜在分子机制。

### • 研究方法

1. 利用空间转录组测序技术对 67 只模型小鼠、7 名 ALS 患者脊髓组织切片进行检测

2. 检测到小鼠 76,000 个空间基因表达量 (SGEMs)，ALS 患者 60,000 个 SGEMs

3. 对空间转录组数据进行空间基因表达变化分析、共表达模块分析、通路富集分析

## • 研究结论

### 1. 空间基因分布定位与 HE 染色、免疫荧光检测结果具有一致性

空间转录组测序技术检测了与 ALS 疾病相关基因的变化，免疫荧光检测（IF）与空间表达变化具有明显的一致性；通过 ALS 不同发病时期的空间基因变化分析发现小胶质细胞功能障碍发生在症状出现之前，早于星形胶质细胞功能障碍，并且接近运动神经元。



图 9 小鼠脊髓 HE 染色、空间转录组及免疫荧光染色结果（左）图 10 *Fcrls* 基因时空表达动态变化（右）

### 2. 小胶质细胞激活的时空动态研究

TREM2 和 TYROBP 形成一种受体复合物，可以触发吞噬作用或调节细胞因子信号，空间转录组检测发现 TREM2 介导的机制具有时空顺序，表明 TREM2 和 TYROBP 介导的信号转导是小胶质细胞基因表达疾病相关变化的早期步骤，并揭示了这些变化的时空顺序。

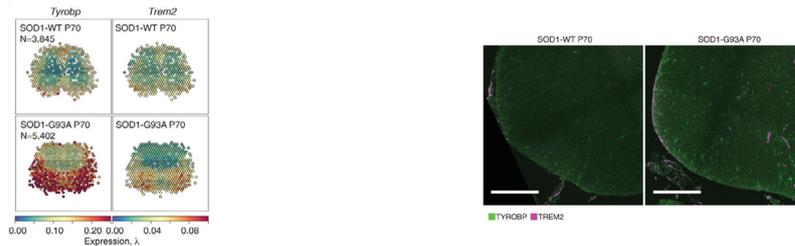


图 11 *Tyrobp*、*Trem2* 在小鼠对照组和模型组的空间转录组表达模式（左）及免疫荧光检测结果（右）

### 3. 空间转录组测序模块分析探究 ALS 疾病机制

利用无偏共表达分析方法对空间转录组数据分析得到 31 个模块，利用已发表的 scRNA-seq 数据，依据每个模块的细胞类型特异性表达模式对基因进行分组，得到可以显示不同时空表达模式的子模块，这些差异代表了该细胞类型中不同功能的细胞亚群。本研究确定了区域星形细胞群的基因表达程序特征，它们表现出明显的、与疾病相关的时空动态，并在不同程度上依赖于胆碱能自噬。通过模块分析发现模块 8 所包含的通路活动揭示了完整组织中神经胶质早期激活过程中细胞内和细胞间的信号通路，以及肌萎缩性脊髓侧索硬化症小鼠模型中维持和传播反应表型的机制。



图 12 小鼠空间基因共表达分析结果（左）及模块时空表达动态变化（右）

## • 研究意义

本研究提供了一个空间的基因表达数据集，同时通过小鼠模型中得出推论，并在临床样本中进行测试，同时本研究能够促进进一步绘制中枢神经系统及其功能障碍模式。

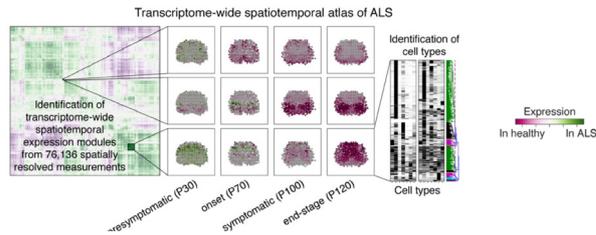


图 13 空间转录组分析流程图

## A spatiotemporal organ-wide gene expression and cell atlas of the developing human heart

空间转录组结合单细胞转录组测序构建人类心脏发育 3D 图谱  
期刊: *Cell* 发表时间: 2019 年 12 月 影响因子: 36.216

## • 研究背景

心脏是人类胚胎中第一个具有功能的实体器官，起源于中胚层，而心脏的发育较为复杂，心脏形态发生的过程尚不完全清楚。为了全面了解人类心脏发育的过程，需要建立一套能够同时分析心脏空间基因表达变化和细胞异质性的方法，本研究使用空间转录组测序技术、单细胞转录组测序技术及原位测序技术来进行人类胚胎心脏发育研究，构建心脏发育的 3D 图谱。

## • 研究方法

1. 利用人类心脏组织进行空间转录组、单细胞转录组及原位测序

2. 空间转录组测序得到 10 个 cluster、单细胞转录组测序得到 15 个 cluster; 原位测序检测 69 个基因表达变化

3. 进行空间亚群分析、细胞亚群分析，结合原位测序构建心脏发育 3D 图谱

## • 研究结论

### 1. 人类心脏发育期间时空基因表达动态变化

利用空间转录组测序分析聚类得到 10 个亚群，并发现胚胎发育过程中空间基因表达程序就已经建立，并贯穿于整个时期，心脏不同区域之间的基因表达差异比时间点之间的差异更为明显。

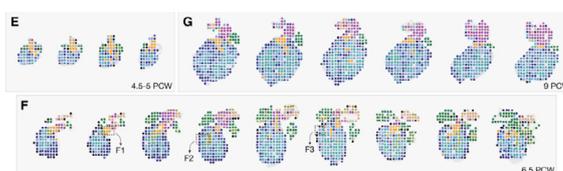


图 14 胚胎心脏三个发育时期空间基因表达分析

## 2. 人类胚胎心脏的单细胞表达分析

利用单细胞测序共获得 3,717 个高质量细胞，降维聚类分成 15 个亚群，鉴定到细胞类型：心肌细胞、心外膜细胞、内皮细胞、成纤维细胞等，心脏上部区域具有更高的细胞多样性。

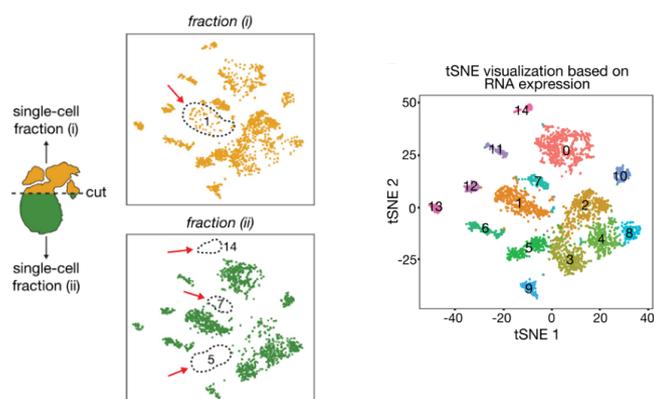


图 15 6.5-7 孕周人类胚胎心脏的单细胞分析

## 3. 构建心脏发育细胞基因表达图谱

基于空间转录组和单细胞转录组结果选取了 69 个基因进行原位测序（ISS），将三部分的结果利用算法构建了一个完整的 6.5 孕周胚胎心脏的空间细胞图谱。该空间图谱由 20,920 个单细胞组成，不仅验证了空间转录组（ST）结果中亚群（cluster）的分布，还解决了彼此紧密相邻的不同细胞类型形成的精细结构。

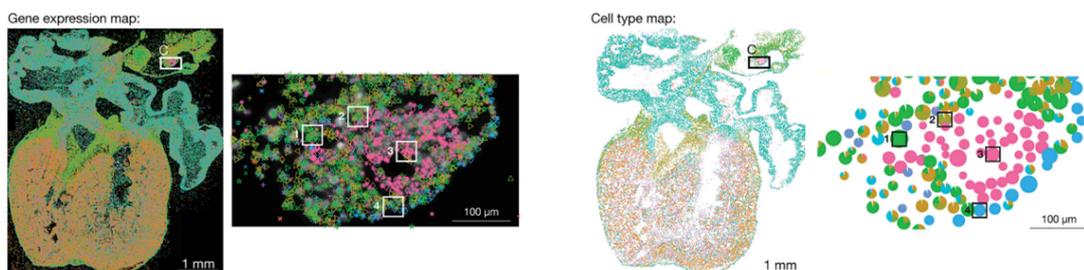


图 16 人类心脏发育的细胞图谱

## • 研究意义

心脏发育 3D 图谱的构建表明空间、时间信息与单细胞基因表达数据的整合对于识别细胞类型之间的关键差异、深入分析发育中的组织至关重要。作为第一个单细胞时空水平的人类器官发育图谱，为将来探索更丰富生物体组织的整体空间转录模式提供了一种视角。

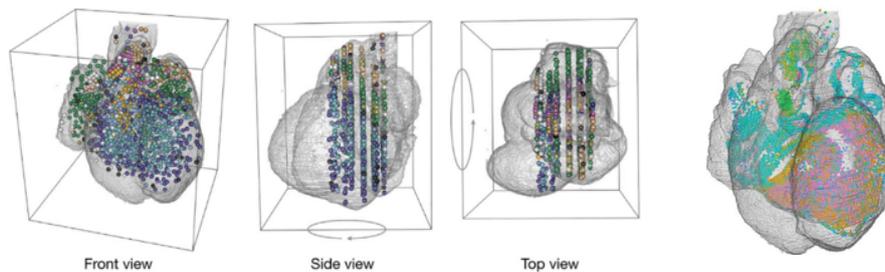


图 17 心脏 3D 图谱

## Spatial maps of prostate cancer transcriptomes reveal an unexplored landscape of heterogeneity

### 单细胞研究助攻前列腺癌诊断和治疗

期刊: *Nature Communication* 发表时间: 2018年6月 影响因子: 11.878

#### • 研究背景

前列腺癌 (PCa) 是全世界男性中最常见的癌症类型, PCa 在原发肿瘤和转移中均存在具有遗传变化的瘤内异质性, 同时肿瘤微环境在炎症和肿瘤转化过程中起着重要作用, 通过单细胞 RNA-Seq 已证实肿瘤内基因表达的异质性。本研究利用空间转录组测序技术 (ST) 对 PCa 的多病灶区域同时进行组织学和空间转录学研究, 探索在癌症和相关微环境中空间表达模式。

#### • 研究方法

1. 利用空间转录组测序研究整个多灶性前列腺癌的全组织表达异质性, 分析了12个区域的近6,750个组织区域的转录组, 并提取不同组织成分的表达谱

2. 区分健康和患病区域, 分析前列腺癌进展过程中的基因表达变化

3. 该研究在邻近肿瘤区域的基质中鉴定基因表达梯度, 以使肿瘤微环境重新分层

#### • 研究结论

##### 1. 癌症组织切片共有的空间表达模式

不同切片上的相同细胞类型比较结果发现因子分析与组织学的结果一致, 不同患者之间存在广泛的肿瘤异质性。

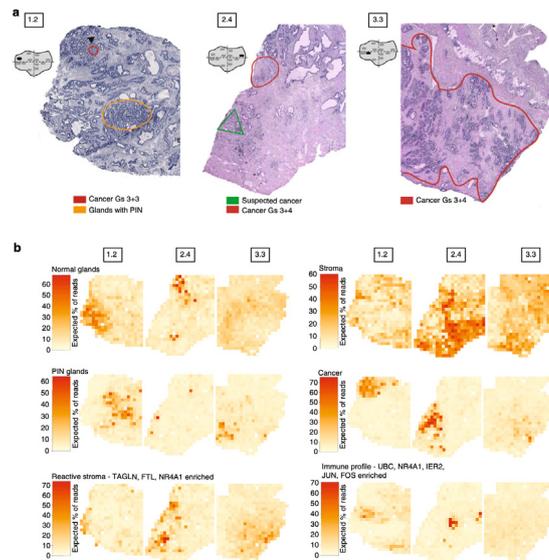


图 18 三张癌组织切片的组织学与共有基因表达因子

## 2. 癌症与炎症微环境的空间表达模式

分析结果发现炎症注释区域的两个样本的炎症因子是活跃的，且反应性基质比基质细胞更接近炎症和癌腺。同时发现正常基质与细胞运动、粘附、雄激素信号以及补体系统有关。

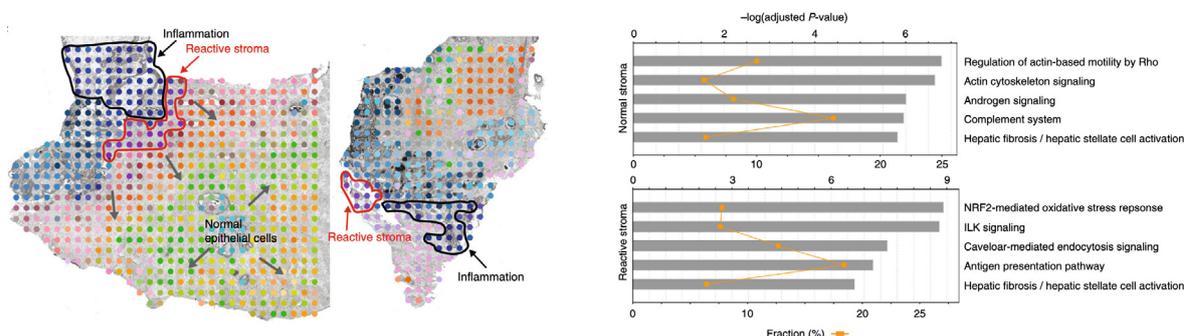


图 19 6.5-7 孕周人类胚胎心脏的单细胞分析

### • 研究意义

该研究在邻近肿瘤区域的基质中鉴定基因表达梯度，以使肿瘤微环境重新分层，为将来更加深入研究前列腺癌打下基础。

## Integrating microarray-based spatial transcriptomics and single-cell RNA-seq reveals tissue architecture in pancreatic ductal adenocarcinomas

### 基于微阵列的空间转录组学和单细胞转录组技术揭示胰腺导管腺癌的组织结构

期刊: *Nature Biotechnology* 发表时间: : 2020 年 1 月 影响因子: 31.864

### • 研究背景

最近的技术进步使人们能够以前所未有的分子分辨率观察癌症。单细胞转录组测序已经成为一种强大的工具，用于对给定组织中存在的细胞进行无偏倚和系统的描述。单细胞转录组测序在肿瘤患者中的应用已经揭示了多个细胞亚群，并突出了肿瘤微环境中细胞间的关联。虽然这些结果清楚地强调了 scRNA-seq 的优势，但测序前的组织分离导致空间信息的丢失，从而限制了我们对肿瘤微环境中细胞相互作用和组织的理解。

### • 研究方法

1. 将两例新鲜 PDAC-A 和 B 肿瘤组织同时进行 scRNA-seq 和 ST 微阵列分析。scRNA-seq 鉴定两个肿瘤组织样本中分别存在 15 和 11 个细胞群

2. 空间转录组研究鉴定到每个位点 20-70 个细胞，平均 1,000 个基因，发现表达基因的空间表达与注释的组织学区域相匹配

3. 通过研发的 MIA 分析整合两组数据推断特定组织区域中特定的细胞类型的富集并绘制了不同肿瘤样本微环境的特点，免疫环境状态，应激水平以及细胞之间相互作用的模式

## • 研究结论

### 1. 空间转录组技术和单细胞转录组技术整合模式

手术切除的 PDAC 肿瘤被分成单细胞转录组测序和空间转录组并行处理。聚类后，根据特定表达的基因推断每个聚类的细胞类型。其余组织低温切取用于 ST 分析，捕获组织中特定位置的转录组信息。应用多模态交叉分析（MIA）在两个数据集揭示细胞种群和亚种群的空间分布。

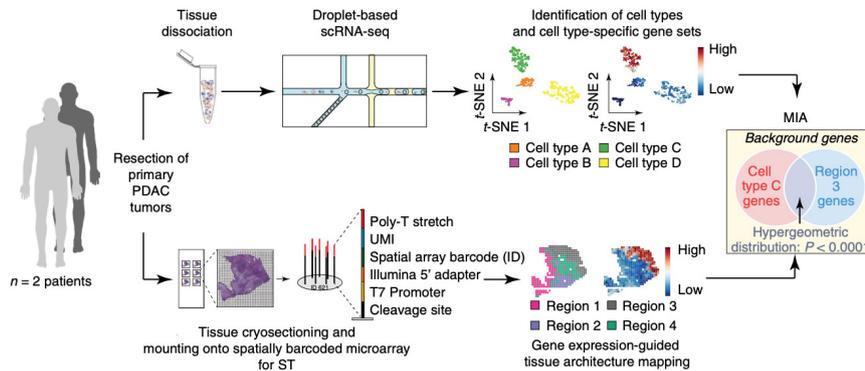


图 20 实验设计与分析原理图

2. PDAC-A 的成纤维细胞特异性基因与空间转录组分析结果中特定肿瘤区域的基因部分重叠，同时发现胰腺组织富含腺泡细胞、分泌细胞，导管上皮区域富含导管细胞。结果表明 MIA 能够实现单细胞转录组分析结果的空间定位，并能发现亚群的差异化定位使它们在组织中发挥独特的作用。

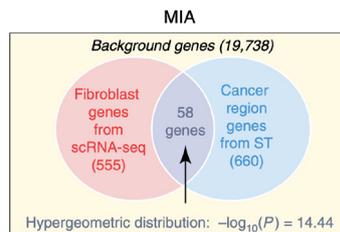


图 21 MIA 分析

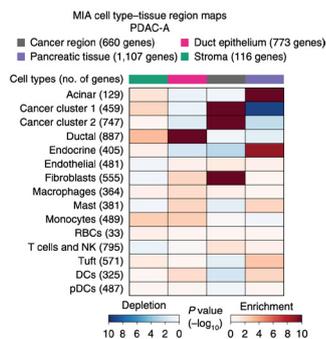


图 22 PDAC-A MIA 图 (scRNA-seq 识别细胞和 ST 识别区域)

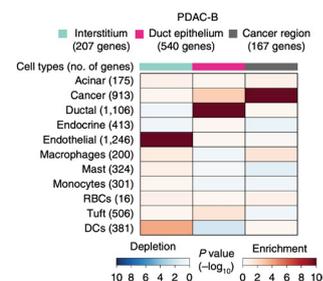


图 23 PDAC-B MIA 图 (ST 分析鉴定集群)

## • 研究意义

该研究将空间转录组测序和单细胞转录组测序两种技术相互补充，结合起来实现单细胞水平加空间的全面而无偏向性的组织分析。此研究思路可以扩展到任何结构复杂的组织，在临床应用方面，MIA 也为个性化治疗提供了更深层次的支持依据。

## Transcriptome-scale spatial gene expression in the human dorsolateral prefrontal cortex

### 成人大脑的六层背外侧前额叶皮层（DLPFC）基因表达的空间图谱

期刊: *bioRxiv* 发表时间: 2020 年 2 月

#### • 研究背景

大脑的空间组织结构与其功能密切相关，这种结构 - 功能关系在人类大脑皮层的层流组织中尤为明显，不同皮层中的细胞表现出不同的基因表达模式，并表现出不同的形态、生理和连接模式。就结构决定功能而言，理解正常的大脑发育以及中枢神经系统的紊乱将需要识别构成大脑的细胞类型，并最终将单个细胞类别的功能相关性与结构联系起来。10x Genomics Visium 空间基因表达解决方案为绘制详细的基因表达图谱提供了巨大的潜力，该技术克服了 sn / scRNA-seq 和基于显微镜的空间转录组学方法相关的局限性，可以捕获完整组织结构中的基因表达，保留了来自细胞质和神经元过程的信息。

#### • 研究方法

1. 从三个 neurotypical 成人供体的两对“空间重复”中，共 12 个样本做空间转录组测序，绘制人死后 DLPFC 组织切片中的空间基因表达图谱

2. 平均深度为 291.1M 个 reads，相当于平均 3,462 个 UMI 和每个 spot 平均产生 1,734 个基因

3. 将 12 个样本中的 47,681 个 spots 汇总到 76 个层汇总图谱的轮廓中，突出显示成人 DLPFC 不同层之间存在广泛的基因表达差异

4. 富集层表达谱和差异表达统计数据可用于空间“定位”snRNA-seq 数据集

#### • 研究结论

##### 1. DLPFC 跨皮层的基因表达存在差异

通过对 12 个样本中 47,681 个点进行汇总，得到 76 个分层聚合的图谱，消除了稀疏性和大大增加了基因的 UMI 覆盖率。这些分层丰富的表达谱的无监督聚类显示了与层流差异相关的数据的顶部变异成分，特别是在白质和灰质之间，这些分析突出显示了成人 DLPFC 不同层之间存在广泛的基因表达差异。

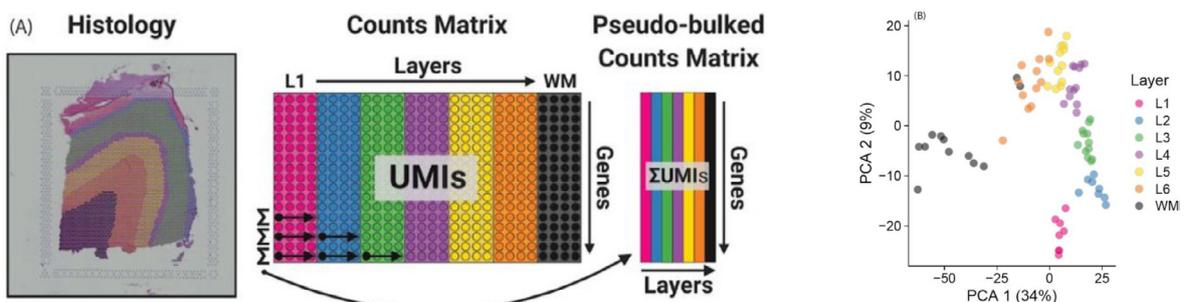


图 24 DLPFC 中的层富集基因的表达差异

## 2.snRNA-seq 数据空间定位

将人类脑组织生成的 snRNA-seq 数据集增加空间分辨率，有可能为分子定义的细胞类型的功能研究提供更深入的了解。从 Visium 数据的“富集模型”中获得的层次丰富的表达谱和差异表达统计数据可用于空间“定位” snRNA-seq 数据集，并向不包含固有解剖信息的数据驱动的表达簇添加层次丰富的信息。

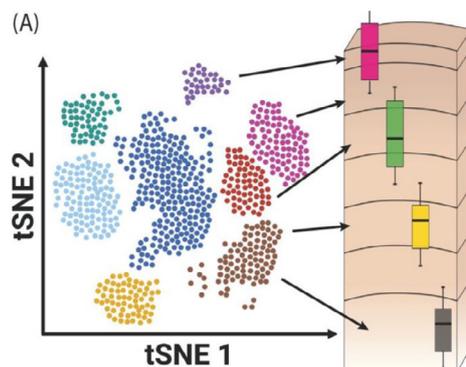


图 25 snRNA-seq 数据空间定位

### • 研究意义

综上所述，我们的研究表明，Visium 空间转录组学平台能够在现有人类 DLPFC 架构下，以高空间分辨率分析基因表达。本研究证明了将 Visium 与 snRNA-seq 数据集成以进行空间定位的能力，从而进一步提高了在正常和患有神经精神疾病的个体的大脑中空间确定的细胞群中发现基因表达模式的实用价值。空间转录组可以将分子细胞类型、形态、生理功能等相互联系，极有可能成为未来研究神经科学和精神病学的前沿技术。

### 参考文献

1. Maniatis S, Åijö T, Vickovic S, et al. Spatiotemporal dynamics of molecular pathology in amyotrophic lateral sclerosis. *Science*. 2019;364(6435):89–93. doi:10.1126/science.aav9776
2. Asp M, Giacomello S, Larsson L, et al. A Spatiotemporal Organ-Wide Gene Expression and Cell Atlas of the Developing Human Heart. *Cell*. 2019;179(7):1647–1660.e19. doi:10.1016/j.cell.2019.11.025
3. Berglund E, Maaskola J, Schultz N, et al. Spatial maps of prostate cancer transcriptomes reveal an unexplored landscape of heterogeneity. *Nat Commun*. 2018;9(1):2419. Published 2018 Jun 20. doi:10.1038/s41467-018-04724-5
4. Moncada R, Barkley D, Wagner F, et al. Integrating microarray-based spatial transcriptomics and single-cell RNA-seq reveals tissue architecture in pancreatic ductal adenocarcinomas. *Nat Biotechnol*. 2020;38(3):333–342. doi:10.1038/s41587-019-0392-8



博奥晶典控股成员



北京博奥晶典生物技术有限公司

地址：北京市经济技术开发区科创六街生物医药园 C 座 邮编：101111 电话：010-69002900 传真：010-69002988 客服：400-9968-999  
<http://www.capitalbiotech.com>

