

# Visium空间基因表达基金申请参考资料

## 概要

10x Genomics的Visium空间基因表达是一种新颖的分析方法，它将组织学与空间分辨的全转录组基因表达谱分析相结合，可在组织背景下对基因表达进行定位和定量。这种分析基于空间转录组学方法(1)。如今已被广泛采用，并被近40篇同行评审文献和50多篇预印本引用。目前，Visium空间基因表达分析与任何物种的新鲜冷冻组织切片均兼容。它在文库制备过程中采用poly A捕获和独特的空间条形码技术。10x Genomics还提供了一种与人和小鼠的福尔马林固定石蜡包埋 (FFPE) 组织切片兼容的Visium空间基因表达分析。该方法利用靶向基因的探针对的RNA模板连接，对全转录组进行高度特异且灵敏的检测。这两种分析都采用相同的分析工具和流程（如Space Ranger和Loupe Browser），对Visium空间数据进行处理和可视化。此外，研究人员可联系10x Genomics的技术专家，专家会就科学和技术咨询、流程优化和故障排查提供支持。

## 概览

通过RNA测序 (RNA-seq) 来检测和计数转录本的能力显著提升了我们对生物学的认识(2)以及临床应用的开发。然而，传统RNA-seq的缺点在于丢失了空间信息。研究人员通常从组织中大规模提取RNA并对其进行测序。至于表达特定转录本的细胞类型、这些细胞在组织中的位置，以及转录本在组织区域内的共表达，这些数据都因RNA的大规模制备而丢失了。研究人员也可以使用解离的细胞来研究基因表达，但这种方法同样丢失了单个细胞在组织结构中的位置。

10x Genomics开发出一种工作流程，能够在测序mRNA的同时不丢失空间信息。Visium空间基因表达解决方案采用高通量测序对mRNA进行分析，随后通过高分辨率显微镜成像来绘制整张组织切片中的基因表达模式。这个流程分析了组织切片中的空间基因表达，让研究人员能够分析全转录组，或通过靶向基因组合分析一组预定义的转录本。

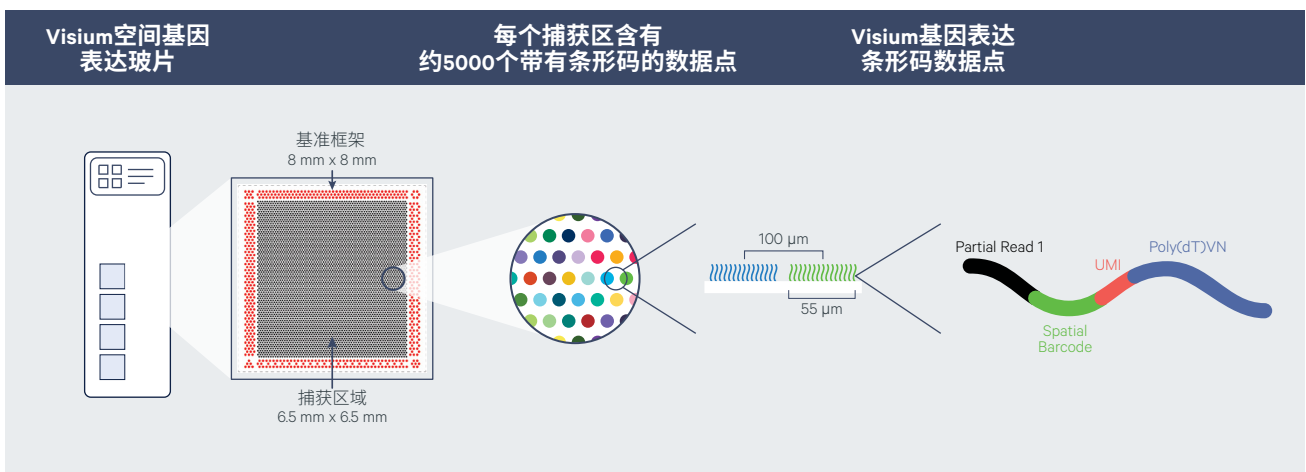
Visium空间基因表达解决方案在2019年实现商业化，是基于早期的空间转录组学技术(1)，目前已应用多篇开创性论文中。这些论文展示了该技术的应用范围之广，包括癌症(3,4)、神经科学(5)、免疫学(6)和发育生物学(7)。

## Visium空间基因表达解决方案

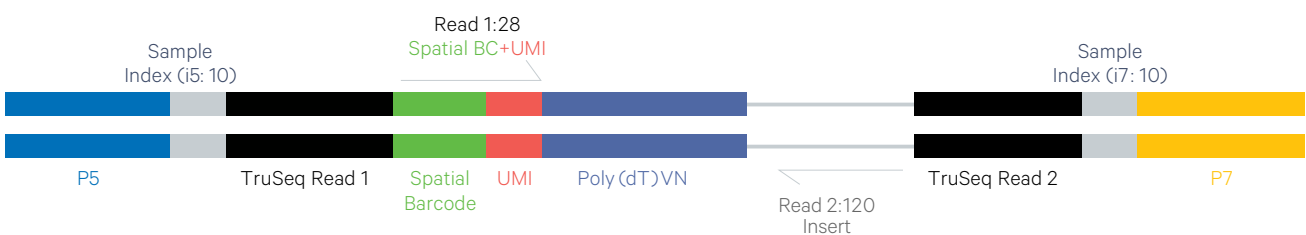
Visium空间基因表达流程实现了全转录组分析（新鲜冷冻组织和FFPE组织）和靶向分析（新鲜冷冻组织），同时保留了空间信息。它在组织结构、组织微环境和细胞群体的背景下提供了基因表达数据。

### 空间捕获技术

Visium空间基因表达分析使用Visium玻片，每块玻片有二到四个捕获区域。每个捕获区域含有约5,000个捕获数据点，而每个数据点又包含数百万条带有以下特征的寡核苷酸：一段30个核苷酸的poly dT序列，可捕获聚腺苷化的mRNA分子；一段12个核苷酸的特异性分子标签（UMI），可识别在文库制备和测序过程中出现的重复分子；一段16个核苷酸的空间条形码，由单个基因表达数据点中的所有寡核苷酸共享；以及一段部分的TruSeq Read 1序列，用于流程中的文库制备和测序。



### Visium空间基因表达文库



**Visium空间基因表达。** Visium空间基因表达文库包含以P5开头和以P7结尾的标准Illumina双端构建体。Visium空间基因表达玻片包含二到四个捕获区域，每个区域由基准框定义。每个捕获区域含有约5,000个基因表达数据点，而每个数据点又包含数百万条寡核苷酸，其中包含TruSeq Read 1序列、空间条形码、UMI和poly dT序列。

### 适用于新鲜冷冻组织的Visium

将新鲜冷冻切片的组织放在玻片上的每个捕获区域内，在此进行固定并使用苏木精和伊红 (H&E) 或荧光标记抗体对其进行染色。然后采用适当的显微镜技术对每张切片进行成像，并将其成像结果与基因表达模式相叠加。之后对组织切片进行透化处理，并通过玻片表面的poly dT序列捕获细胞内的mRNA分子。通过延伸与玻片表面结合的寡核苷酸，对捕获的分子进行逆转录，从而产生带有空间条形码序列和UMI的cDNA分子，此分子与玻片共价连接。对捕获的mRNA分子进行变性和清除，以便合成第二条链。对新合成的第二条链进行变性处理，并通过共同序列进行PCR扩增。通过酶切片段化、末端修复、连接测序接头，以及通过靶向接头末端的带条形码引物来富集可测序分子，将cDNA进一步加工成测序文库。对最终的文库进行测序，建议深度为每个被组织覆盖的捕获数据点产生5万对读数。

### 适用于FFPE组织的Visium

将FFPE切片的组织放在玻片上的每个捕获区域内，在此进行脱蜡处理并使用H&E或荧光标记抗体进行染色。然后采用适当的显微镜技术对每张切片进行成像，并将其成像结果与基因表达模式相叠加。对染色的组织进行解交联处理，以释放出因福尔马林固定而隔离的RNA。然后在组织上加入人或小鼠的全转录组探针组合，捕获游离的mRNA目标，这个组合针对转录组中的每个目标基因提供一对特异性探针。探针对与目标RNA中的一段序列互补，并与互补的目标RNA杂交。在杂交后添加连接酶，封闭与RNA杂交的探针对之间的缺口，形成连接产物。通过RNase处理和透化，将单链的连接产物从组织中释放出来，随后被Visium玻片捕获。在捕获连接产物后，通过聚合酶延伸引物，从而形成了带有空间条形码序列和UMI的连接探针产物。从玻片上释放出带有空间条形码的连接探针产物，并通过样本索引的共同引物进行PCR扩增。对最终的文库进行测序，大多数FFPE样本的建议深度为每个被组织覆盖的捕获数据点产生2.5万对读数。不过，对于某些样本，较少的读数就足够了，而比较复杂的样本可能需要较多的读数。

Visium空间基因表达流程概览。

#### FFPE组织



#### 新鲜冷冻组织

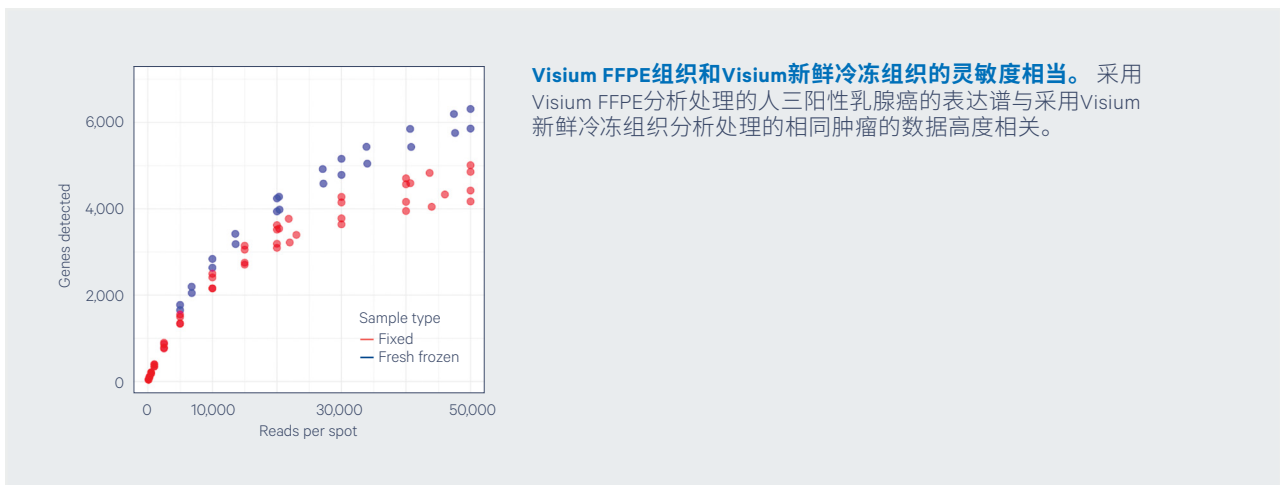


## 数据分析

Visium流程主要捕获了两种类型的数据：组织图像和测序数据。10x Genomics提供两种软件工具来分析这些Visium数据类型：Space Ranger和Loupe Browser。Space Ranger处理输入文件，将Visium测序数据映射到图像。每个带有Visium流程中捕获的相关UMI的空间条形码被分配到组织图像中的某个空间位置。Space Ranger生成多种输出文件，可用于Loupe Browser或第三方工具。

## 数据基准测试

Visium基于的空间转录组学分析已采用激光捕获显微切割以及单分子荧光原位杂交 (ISH) 进行验证(2)。与Allen Brain Atlas项目使用ISH产生的数据相比，空间转录组学能够检测到多达两倍的转录本 (参考文献2的图S5)。空间转录组学研究在分析组织重复间的基因表达时，具有非常高的重复性 ( $r=0.97$ ; 参考文献2的图S3)。与溶液中的RNA比较时，也观察到高的重复性 ( $r=0.94$ ; 参考文献2的图S3D)。



## 应用

Visium空间基因表达分析与组织和物种无关，因此在健康和疾病组织中均有着广泛的应用。在这些应用中，当前版本和早期版本的技术均已用于研究：

- 人前列腺癌的肿瘤异质性(3)
- 人鳞状细胞癌的空间结构(4)
- 人背外侧前额叶皮层的空间地形，此区域涉及到多种神经精神疾病(5)
- 应答流感的成纤维细胞的解剖结构(6)
- 人肠道发育的时空分析(7)

## 在您的研究中使用Visium空间基因表达的理由

Visium空间基因表达分析具有多个优势,使其成为空间转录组学的最佳产品。具体优势包括:

- **空间分辨率的全转录组检测** – Visium新鲜冷冻组织空间基因表达分析捕获聚腺苷化的mRNA分子,减少因靶向扩增子测序或序列特异性的杂交技术引入的偏好性。Visium FFPE组织空间基因表达分析则采用靶向基因的探针对的RNA模板连接,对人和小鼠FFPE组织切片中的全转录组进行高度特异且灵敏的检测。
- **久经考验的技术** – Visium空间基因表达解决方案作为一种基本技术,被多篇同行评审的论文所引用,出现在高质量的期刊上,包括《Science》、《Cell》、《Nature Neuroscience》、《Nature Communications》和《Nature Protocols》。
- **无需特殊的设备** – Visium空间基因表达不需要任何特殊的设备,可在拥有标准的切片设备、带有图像捕获功能的显微镜以及测序仪器的任何实验室或中心实验室中采用。
- **完整的数据分析解决方案** – Visium空间基因表达包含数据分析流程以及先进的数据可视化软件。后者与大多数台式计算机兼容,且包含差异基因表达分析的工具。
- **高重复性和高灵敏度** – 使用Visium核心技术的文献已证明,相邻组织切片之间的数据重复性 $r = 0.97$  (2)。将采用Visium流程测序的mRNA与通过传统RNA测序的mRNA进行比较后发现,95%的转录本在两种检测方法中都能发现,突出了该流程的检测灵敏度。
- **高空间分辨率** – Visium玻片上的每个捕获区域含有约5,000个带有条形码的mRNA基因表达数据点,而每个数据点平均可捕获1-10个细胞,具体取决于组织类型。Visium玻片上的每个捕获区域大小为6.5 x 6.5 mm,为研究许多不同的生物和组织类型带来了灵活性。
- **适用于几十种组织的优化条件** – Visium新鲜冷冻组织空间基因表达流程已针对多个物种的健康和疾病组织进行了优化,包括人、小鼠、大鼠和斑马鱼。关于针对Visium分析优化的新鲜冷冻组织的最新列表,请访问我们的[支持网页](#)。Visium FFPE空间基因表达流程不需要单独的组织优化,已在多种人和小鼠的健康和疾病组织中进行了检验。
- **广泛的支持资源** – 10x Genomics提供了广泛的支持资源,从经过Visium空间基因表达培训的技术专家,到免费提供的视频和文档,这些视频和文档可指导新用户完成Visium流程。
- **认证服务供应商** – 通过认证服务供应商更加轻松地实现完整的Visium空间基因表达流程,这些第三方机构经过10x Genomics的专门培训和认证,可支持空间基因表达分析的研究项目。
- **产品质量经过认证** – 10x Genomics的产品开发和制造工艺已通过ISO 9001:2015认证。
- **灵活的选择,适合大型数据集或概念验证研究** – 10x Genomics提供入门级的Gateway玻片,让您能够在两个组织样本上体验空间转录组学带来的丰富数据,以便了解这项技术如何让您的研究受益。这让研究人员能够灵活开展他们的概念验证研究,而无需浪费资源。对于较大的数据集,我们提供单张和四张玻片的试剂盒,分别可以运行4个和16个样本。

## 参考资料

1. Ståhl, PL et al. Visualization and analysis of gene expression in tissue sections by Spatial Transcriptomics. *Science* 353: 78–82 (2016). doi: [10.1126/science.aaf2403](https://doi.org/10.1126/science.aaf2403)
2. Stark R, Grzelak M and Hadfield J. RNA sequencing: The teenage years. *Nat Rev Genet* 20: 631–656, 2019. doi: [10.1038/s41576-019-0150-2](https://doi.org/10.1038/s41576-019-0150-2)
3. Berglund E, et al. Spatial maps of prostate cancer transcriptomes reveal an unexplored landscape of heterogeneity. *Nat Commun* 9: 2419, 2018. doi: [10.1038/s41467-018-04724-5](https://doi.org/10.1038/s41467-018-04724-5)
4. Ji AL, et al. Multimodal analysis of composition and spatial architecture in human squamous cell carcinoma. *Cell* 182: 497–514.e22, 2020. doi: [10.1016/j.cell.2020.05.039](https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.05.039)
5. Maynard KR, et al. Transcriptome-scale spatial gene expression in the human dorsolateral prefrontal cortex. *Nat Neurosci* 24: 425–436, 2021. doi: [10.1038/s41593-020-00787-0](https://doi.org/10.1038/s41593-020-00787-0)
6. Boyd DF, et al. Exuberant fibroblast activity compromises lung function via ADAMTS4. *Nature* 587: 466–471, 2020. doi: [10.1038/s41586-020-2877-5](https://doi.org/10.1038/s41586-020-2877-5)
7. Fawkner-Corbett D, et al. Spatiotemporal analysis of human intestinal development at single-cell resolution. *Cell* 184: 810–826.e23, 2021. doi: [10.1016/j.cell.2020.12.016](https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.12.016)

## 联系我们

10x Genomics  
6230 Stoneridge Mall Road +1 925 401 7300  
Pleasanton, CA 94588-3260 +1 800 709 1208

[info@10xgenomics.com](mailto:info@10xgenomics.com) [10xgenomics.com/cn](https://10xgenomics.com/cn)

了解美国、欧洲和亚洲的更多办事处, 请访问:

[10xgenomics.com/cn/company/#locations](https://10xgenomics.com/cn/company/#locations)



获取最新资讯

请关注 10x Genomics 公众号

请访问[10xgenomics.com/cn](https://10xgenomics.com/cn)了解更多

© 2021 10x Genomics, Inc. FOR RESEARCH USE ONLY. NOT FOR USE IN DIAGNOSTIC PROCEDURES.  
LIT000086 - CN Rev B - Grant Application Resources for Visium Spatial Gene Expression

## 文献

Visium空间基因表达的实用性已在多篇同行评审的文献中得到了证明, 其中许多文献发表在顶级期刊上。欢迎访问[10xgenomics.com/publications](https://10xgenomics.com/publications), 查看Visium文献的最新列表。

## 资源

产品信息

[10xgenomics.com/cn/spatial-gene-expression](https://10xgenomics.com/cn/spatial-gene-expression)

技术概览

[10xgenomics.com/cn/spatial-transcriptomics](https://10xgenomics.com/cn/spatial-transcriptomics)

空间基因表达支持

[support.10xgenomics.com/spatial-gene-expression](https://support.10xgenomics.com/spatial-gene-expression)