

# Stereo-Seq

---

## 1. Introduction

### 1.1. Paper

1.1.1. Spatiotemporal transcriptomic atlas of mouse organogenesis using DNA nanoball-patterned a...

## 2. Technology

### 2.1. 时空转录组

#### 2.1.1. Workflow

#### 2.1.2. Instruments & Reagents

2.1.2.1. STOmics显微镜评估参考手册

2.1.2.2. 时空实验样本准备使用说明书

2.1.2.3. Stereo-seq 芯片载体及配件使用说明书

2.1.2.4. Stereo-seq 芯片保存操作指南

2.1.2.5. Stereo-seq定制化芯片保存操作指南

2.1.2.6. Stereo-seq定制化芯片透化试剂套装 ( $\leq 2 \text{ cm} \times 3 \text{ cm}$ ) 使用说明书

2.1.2.7. Stereo-seq定制化芯片转录组试剂套装 ( $\leq 2 \text{ cm} \times 3 \text{ cm}$ ) 使用说明书

2.1.2.8. 时空组学产品方案手册

2.1.2.9. Stereo-seq 建库试剂盒使用说明书

2.1.2.10. Stereo-seq 透化试剂套装 (载体版) 使用说明书

2.1.2.11. Stereo-seq 转录组试剂套装 (载体版) 使用说明书

#### 2.1.3. Cases

2.1.3.1. Spatiotemporal transcriptomic atlas of mouse organogenesis using DNA nanoball-pattern...

2.1.3.2. Single-cell Stereo-seq reveals induced progenitor cells involved in axolotl brain regenerati...

2.1.3.3.

#### 2.1.4. Q&A

### 2.2. 时空蛋白转录组Stereo-CITE

#### 2.2.1. Workflow

#### 2.2.2. Instruments & Reagents

2.2.2.1. 时空蛋白转录组Stereo-CITE产品折页

2.2.2.2. Stereo-CITE 蛋白转录组试剂套装使用说明书

2.2.2.3. Stereo-seq透化试剂套装（载体版兼容蛋白组）使用说明书

2.2.2.4. 抗体滴定和IF预实验使用说明书

2.2.3. Cases

2.3. 时空转录组+H&E染色

2.3.1. Workflow

2.3.2. Instruments & Reagents

2.3.2.1. 时空组学产品方案手册

2.3.2.2. 时空透化试剂套装（载体版兼容 H&E）使用说明书

2.3.2.3. 时空转录组试剂套装（载体版兼容 H&E）使用说明书

2.3.3. Cases

2.4. 时空转录组+多重免疫荧光

2.4.1. Workflow

2.4.2. Instruments & Reagents

2.4.2.1. 时空组学产品方案手册

2.4.2.2. 时空转录组与多重免疫荧光（mIF）共检测技术操作指南

2.4.3. Cases

2.4.4. Q&A

3. Workflow

3.1. STOmics Cloud

3.2. ImageStudio

3.3. SAW

3.4. StereoMap

3.5. Stereopy

4. Databases

4.1. STOmics DB

5. Papers

5.1. 华大时空组学发文列表

# 1. Introduction

<https://www.stomics.tech>

<https://www.stomics.tech/AboutUs/AboutSTOmics>

华大作为时空组学领域的重要推动者，在2020年发布了自主研发的时空组学技术Stereo-seq，华大时空组学STOmics应运而生，助力生老病死、意识起源、万物生长、生命起源等重大科学问题的研究与应用，推动生命科学领域第三次科技革命。凭借全球领先且能同时实现“纳米级分辨率”和“厘米级全景视场”的Stereo-seq技术，华大时空助力研究人员陆续在Cell、Nature 和Science三大顶级学术期刊发表胚胎发育、疾病、器官再生、脑科学等领域的重要成果，并入选2022年度“中国生命科学十大进展”和“中国生物信息学十大进展”，以及2023年度“中国神经科学重大进展”。

Date	Events
2019	华大时空组学项目正式启航。
2019	华大生命科学研究院自主研发的时空组学系列工具实现全面突破，并在ICG-15上正式发布。
2021-10	华大时空组学Stereo-seq技术文章正式预印发表。
2021-10	全球首个时空组学国际合作中心——时空组学国际合作中心（青岛）落成。
2022-05	时空组学联盟（STOC）成立，并以Cell
2022-06	全球首个时空多组学病理研究中心——金凤·华大时空组学中心落地重庆。
2022-09	华大研究院联合多家机构构建全球首个脑再生时空图谱，以背靠背封面文章的形式发表于Science。
2022-09	小鼠黑色素瘤单细胞空间图谱发表于Nature，Stereo-seq技术实现CNS大满。
2023-01	“人类时空组学”大科学计划重磅推出。
2023-01	华大时空组学成果入选2022年度“中国生命科学十大进展”。
2023-03	华大时空组学成果入选2022年度“中国生物信息学十大进展”。
2023-07	华大联合其他机构构建全球迄今最完整的灵长类脑细胞图谱，发表于Cell，并入选2023年度“中国神经科学重大进展”。
2023-09	北京大学联合其他机构利用Stereo-seq等技术，绘制小鼠妊娠早期着床位点的时空图谱，发表于Cell。
2023-12	中国科学院动物研究所联合其他机构利用Stereo-seq等技术，构建人脑多区域时空发育转录组图谱，相关成果发表于Cell。
2024-03	华大时空组学2024年度新品集中亮相，聚焦多组学、多样本、技术性能提升三个方面。
2024-04	华大时空组学技术Stereo-seq成果“构建单细胞分辨率的食蟹猴大脑皮层细胞空间分布图谱”入选《中国2023年度重要医学进展》（基础医学与生物学领域）

## 1.1. Paper

### 1.1.1. Spatiotemporal transcriptomic atlas of mouse organogenesis using DNA nanoball–patterned arrays

Ao Chen, Sha Liao, Viengnan Oneng, Longqi Liu, Xun Xu, Jian Wang. Spatiotemporal transcriptomic atlas of mouse organogenesis using DNA nanoball–patterned arrays. *Cell*, 2022, doi: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.04.003>

**Abstract:** Spatially resolved transcriptomic technologies are promising tools to study complex biological processes such as mammalian embryogenesis. However, the imbalance between resolution, gene capture, and field of view of current methodologies precludes their systematic application to analyze relatively large and three-dimensional mid- and late-gestation embryos. Here, we combined DNA nanoball (DNB)–patterned arrays and *in situ* RNA capture to create spatial enhanced resolution omics–sequencing (Stereo-seq). We applied Stereo-seq to generate the mouse organogenesis spatiotemporal transcriptomic atlas (MOSTA), which maps with single-cell resolution and high sensitivity the kinetics and directionality of transcriptional variation during mouse organogenesis. We used this information to gain insight into the molecular basis of spatial cell heterogeneity and cell fate specification in developing tissues such as the dorsal midbrain. Our panoramic atlas will facilitate in-depth investigation of longstanding questions concerning normal and abnormal mammalian development.

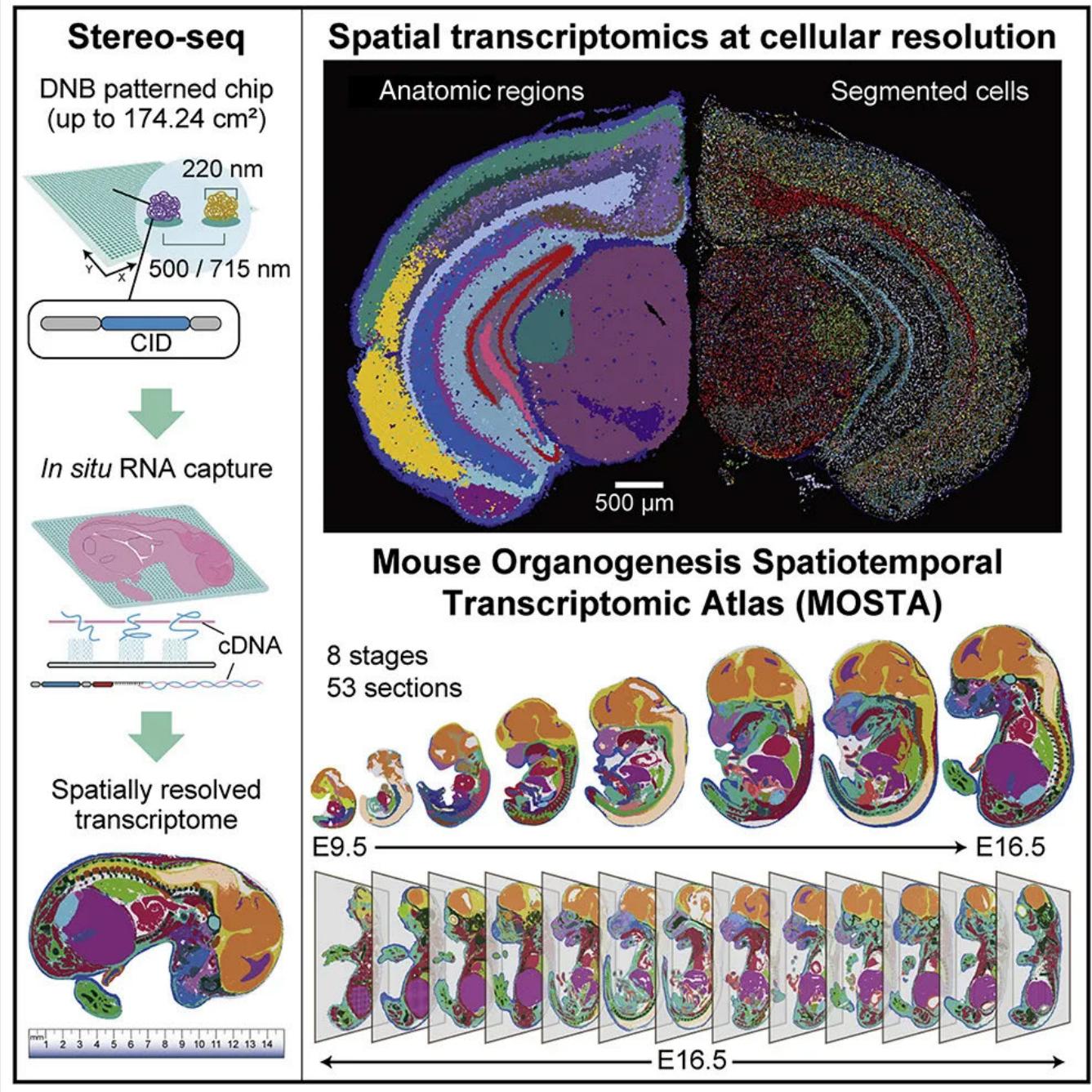
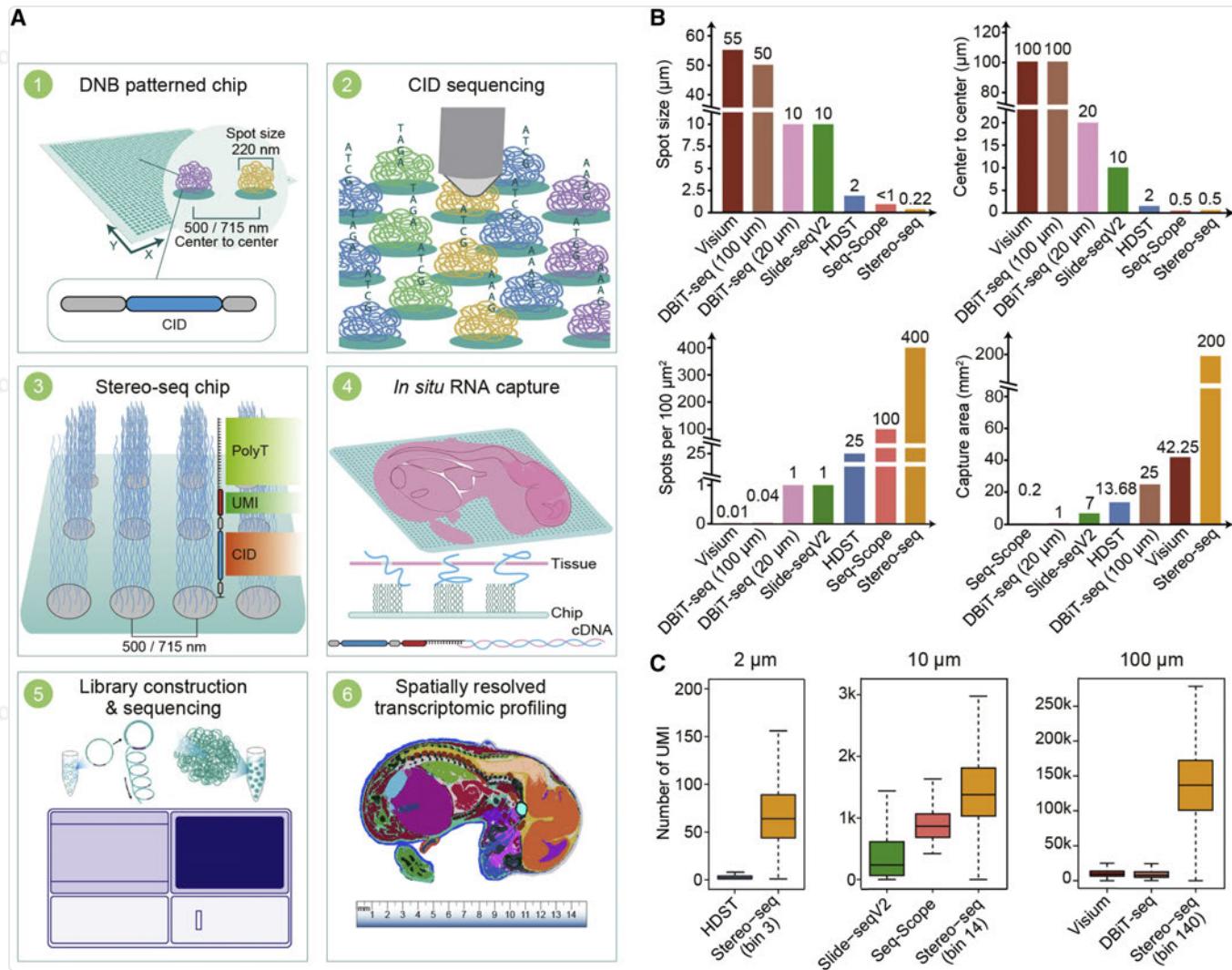


Figure: Graphical abstract



**Figure 1:** Stereo-seq enables high-definition spatially resolved transcriptomics with large field of view.

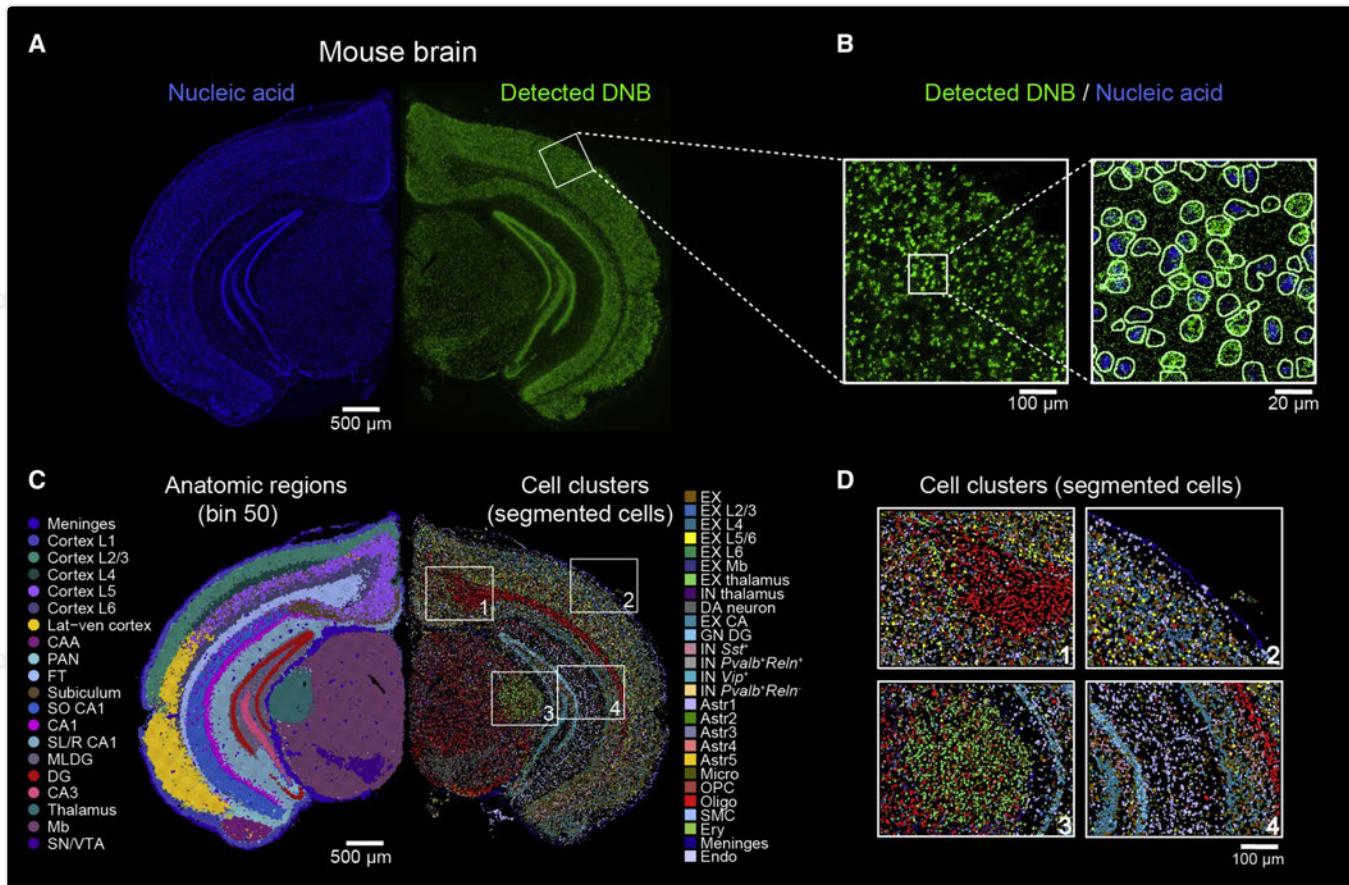
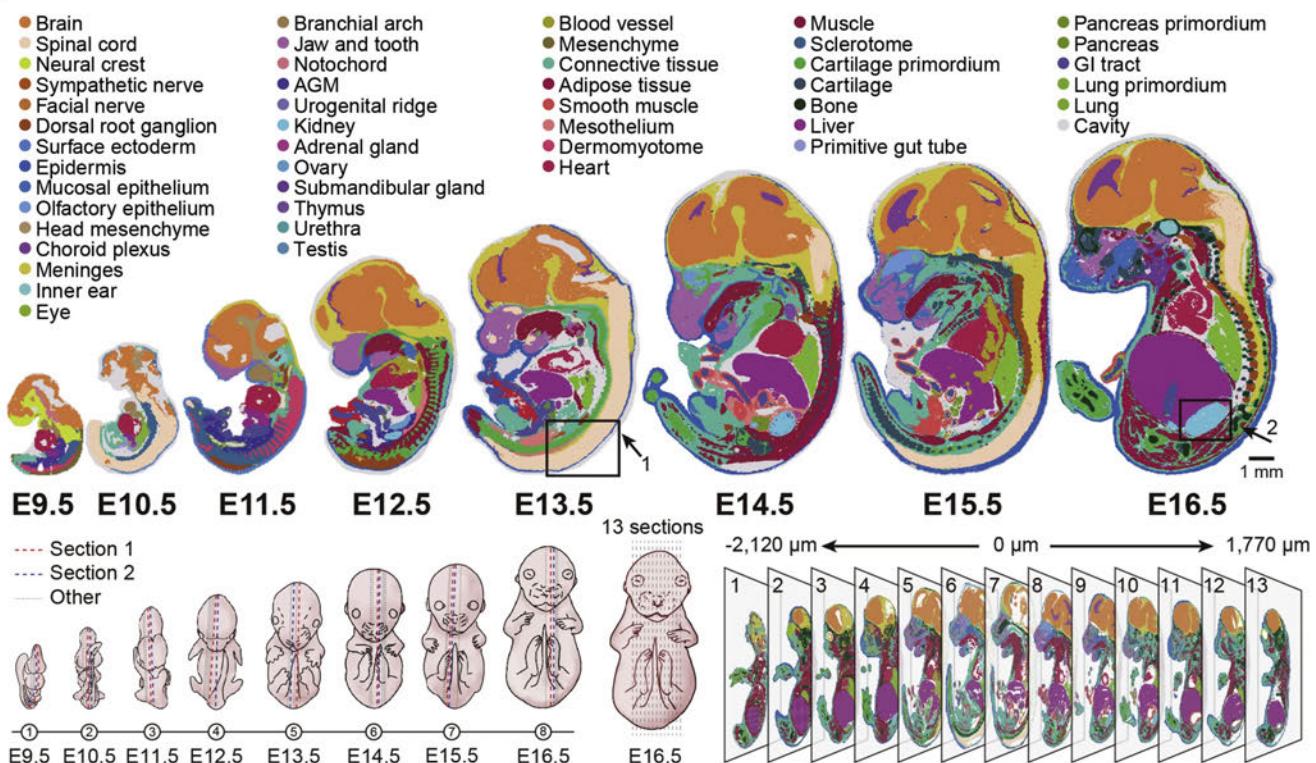
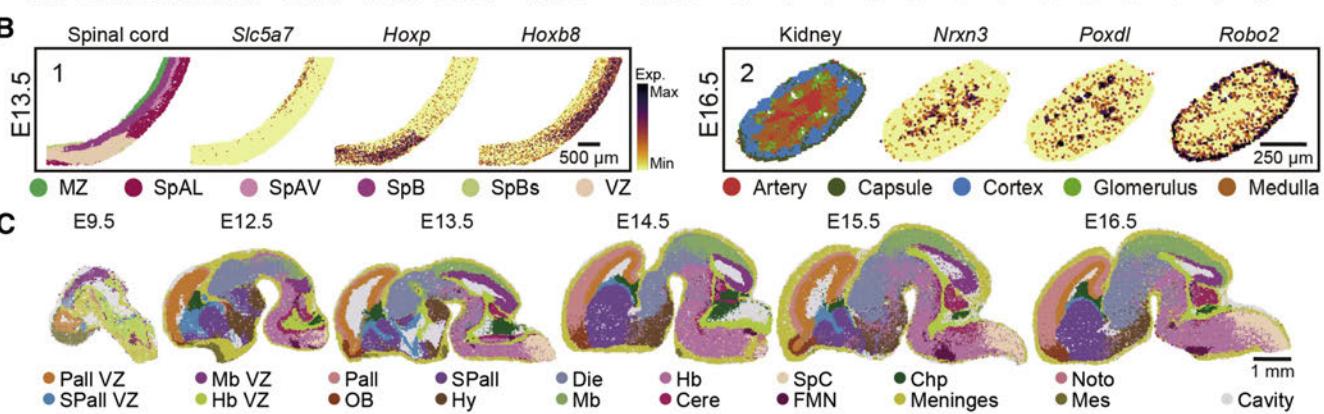
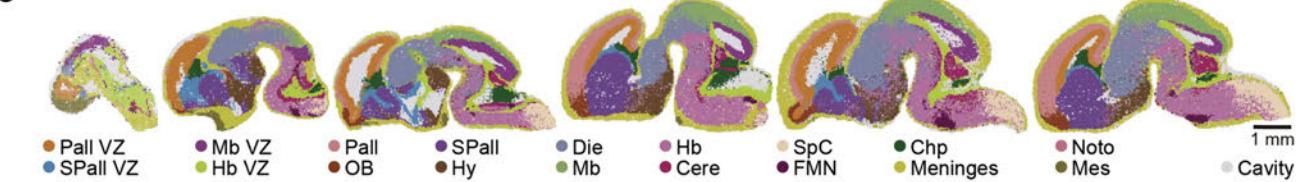
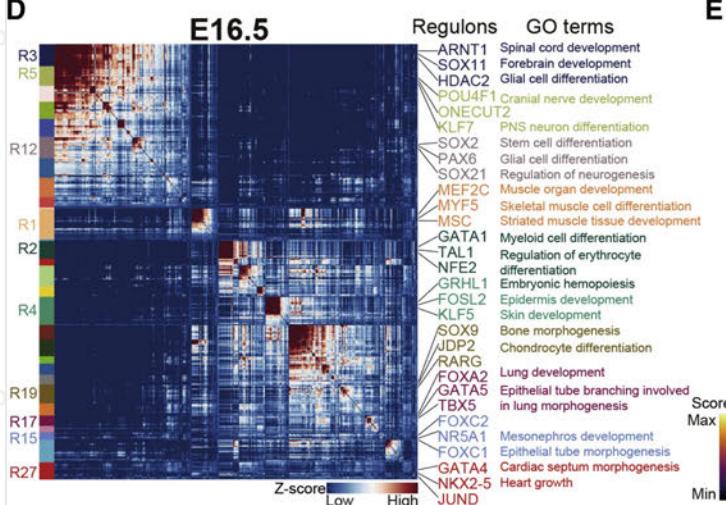
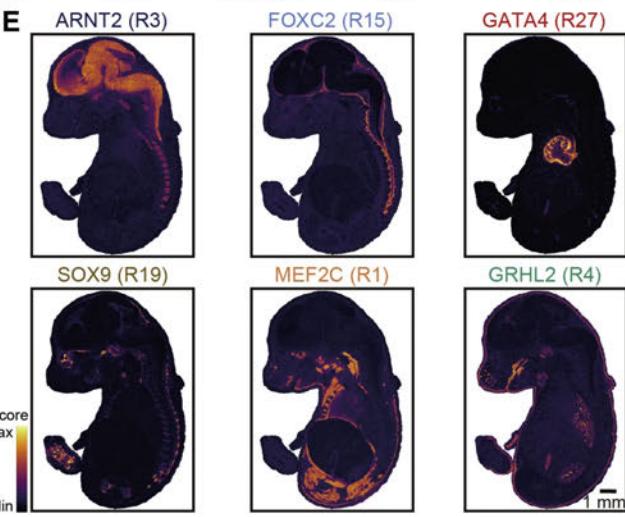
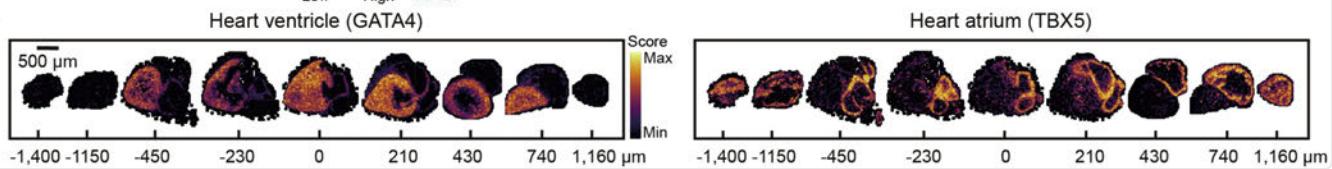
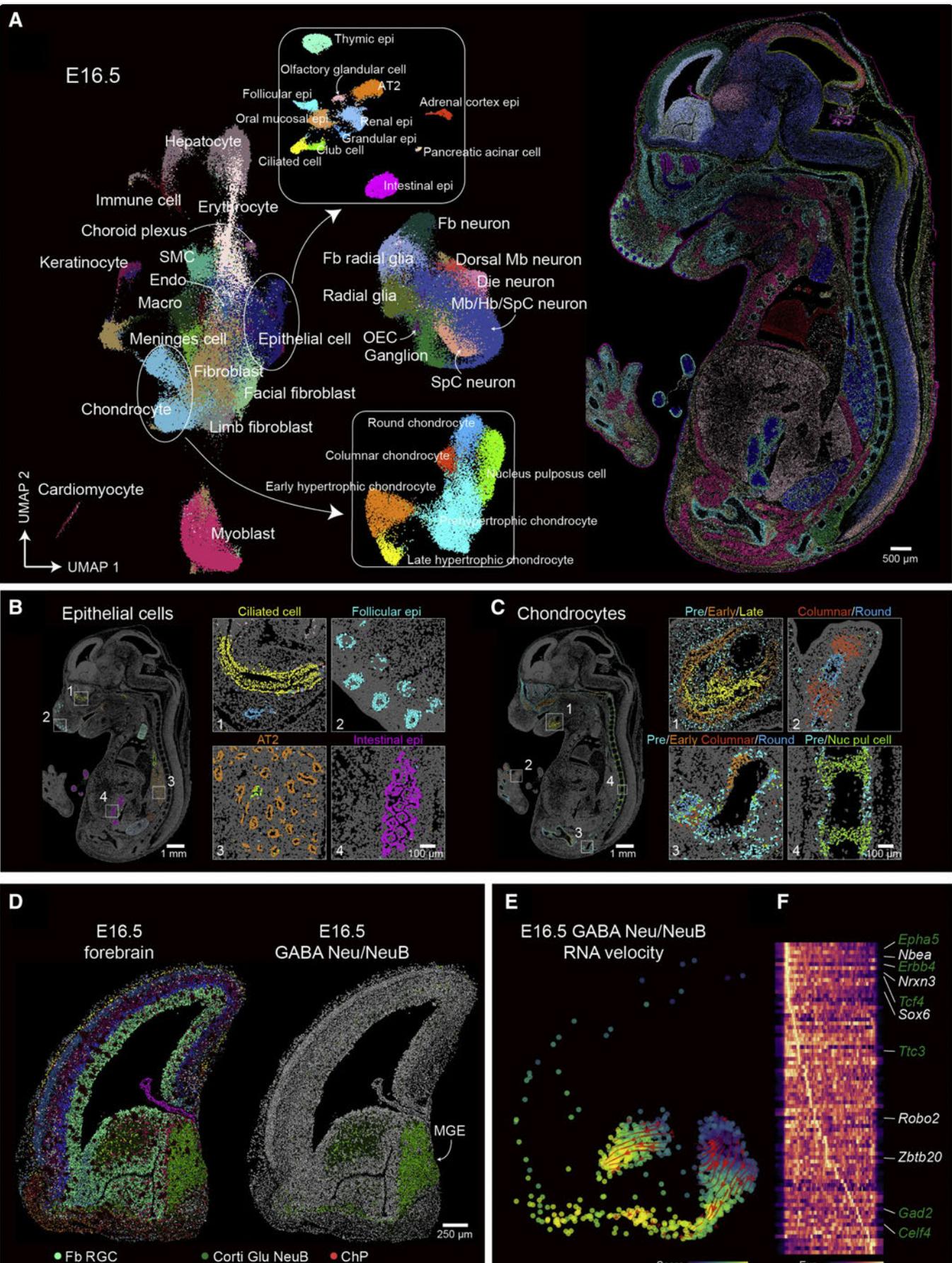
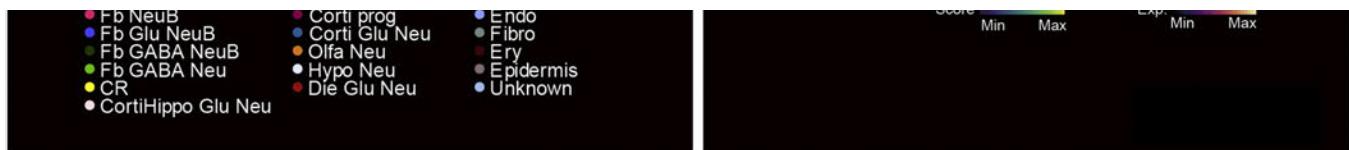


Figure 2: Stereo-seq dissects the adult mouse brain with cellular resolution.

**A****B****C****D****E****F**

**Figure 3: Spatiotemporal transcriptomic atlas of mouse organogenesis.**





**Figure 4 Spatial diversification of cell types at whole embryo scale.**

#### Data and Code:

All raw data generated by Stereo-seq have been deposited to CNGB Nucleotide Sequence Archive (accession code: CNP0001543 (<https://ab.cngb.org/search/project/CNP0001543>)). All data were analyzed with standard programs and packages, as detailed above. Custom code supporting the current study is available at <https://github.com/BGIResearch/SAW>. Additional information required to reanalyze the data reported in this paper is available from the lead contact upon request.

## 2. Technology

<https://www.stomics.tech/WhyStereo-seq>

<https://www.stomics.tech/products/Stereo-seqChipsandReagentKits>

<https://www.stomics.tech/resources/Documents>

华大自主研发的时空组学技术Stereo-seq，基于DNA纳米球（DNA Nano Ball, DNB）开发，是具有高通量、超高分辨率、大视场的原位全景式技术，可以实现同一样本在组织、细胞、亚细胞、分子“四尺度”同时进行空间转录组分析。该技术通过时空芯片捕获组织中的mRNA，并通过时空条形码（Coordinate ID, CID）还原回空间位置，实现组织中基因空间表达检测，深入了解细胞的基因表达及形态与局部环境之间的关系建立强大的研究基础。





### 病理学染色与时空组学技术相结合

利用创新的单片组织切片染色方法，实现在同一切片上进行病理学和时空组学的研究。



### 大视场和高分辨率

实现500 nm分辨率，捕获面积最大可达13 cm×13 cm，且实现了基因与影像同时分析。



### 多维度分析

可以对病理染色片进行时空转录组和时空蛋白组的多组学分析。

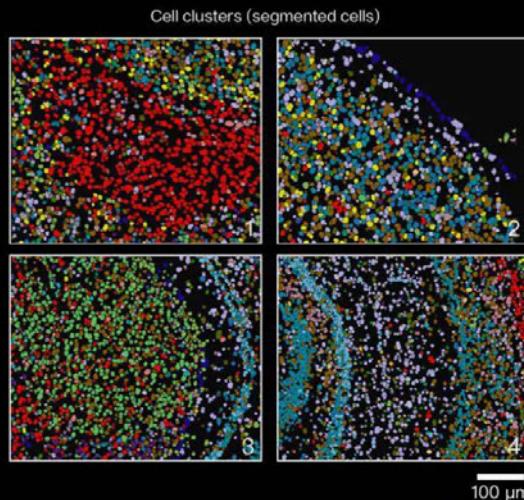
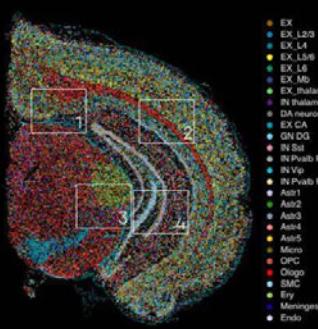


### 高兼容性

时空组学技术在新鲜冷冻保存的多种动植物细胞、器官以及胚胎切片上都有良好的表现。

## 更高 · 分辨率

Stereo-seq的检测分辨率达到500 nm，可实现对单个细胞及分子信息进行空间定位和检测，同时可以对超小组群进行高分辨率检测。



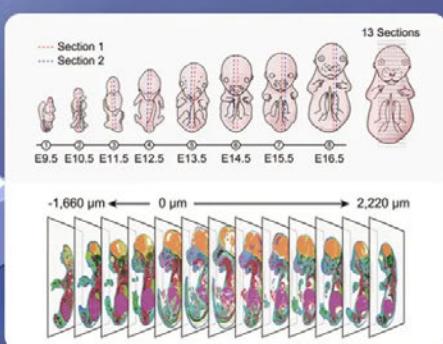
| 更高 · 分辨率

更大 · 全景视场

更强 · 支持定制

## 更大 · 全景视场

Stereo-seq的常规芯片大小为1 cm×1 cm，最大可拓展至13 cm×13 cm。



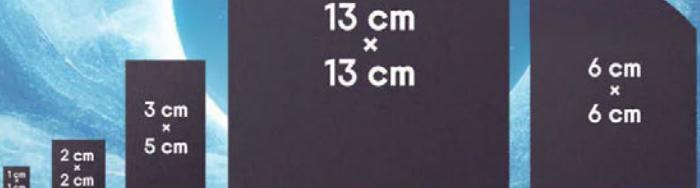
| 更高 · 分辨率

更大 · 全景视场

更强 · 支持定制

## 更强·支持定制

除了常规芯片外, Stereo-seq 还支持依据组织大小定制不同尺寸的芯片, 为您的科研提供更多选择。



更高·分辨率

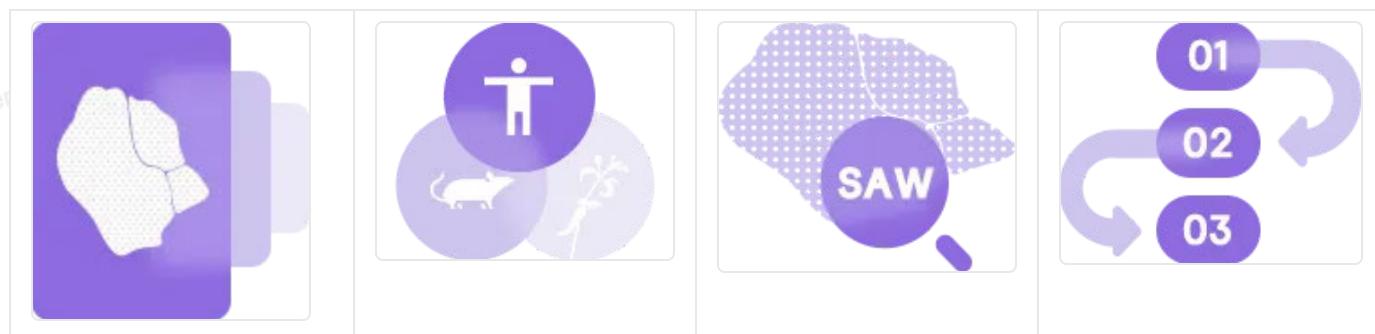
更大·全景视场

| 更强·支持定制

## 2.1. 时空转录组

时空试剂产品包含了 Stereo-seq 技术流程所需的主要时空试剂和时空芯片, 其中时空芯片上载有具有空间坐标信息的捕获探针, 与组织切片结合后通过探针原位抓取组织内的 mRNA 分子并进行 cDNA 合成。研究人员通过 DNBSEQ 测序和 STOmics 配套的可视化分析工具, 可获取特定样本超高分辨率下的空间转录组信息。

### 2.1.1. Workflow



大视场和高分辨率	高兼容性	精简的数据分析	操作便捷
实现500 nm分辨率，同时捕获面积最大可达13 cmx13 cm，且实现了基因与影像同时分析。	时空组学技术在新鲜冷冻保存的多种动植物细胞、器官以及胚胎切片上都有良好的表现。	时空云平台进行时空数据分析、可视化及数据挖掘，也可使用STomics分析流程软件（SAW）自行对分析获得时空基因表达矩阵。	整体生化流程便捷性增强。

## 时空转录组

<http://www.bgitechsolutions.com/sequencing/272>

## 空间转录组

<http://www.bgitechsolutions.com/sequencing/221>

### ▼ Sample

#### 样品要求

1. OCT 包埋的新鲜组织；
2. 建议组织离体 30 分钟内包埋，或速冻 -80°C 保存；
3. 标准芯片所包埋组织大小：1cm\*1cm\*2cm (X\*Y\*Z, X\*Y 为切面)；
4. 更详细具体的内容请参考时空组学送样建议。

#### 组织样品处理原则

1. 尽量避免组织内部 RNA 降解；
2. 样本处理需保持组织原有结构；
3. 样本处理不影响后续实验操作。

#### 样品运输要求

1. 包埋后的组织用锡箔纸包好，放入密封袋中密封并放入样本盒中 -80C 保存；
2. 寄送使用干冰运输，确保干冰充足，以运输 24h 计为 N，按消耗 (N+0.5) X 5kg 计算所需干冰用量；
3. 寄送样本前需填写《时空组学样本信息收集表》，将组织在包埋盒中的照片以及组织、切面等标记的照片附在《时空组学样本信息收集表》中。

## ▼ Experiment

4个样品标准流程（建库，测序和SAW分析）的正常周期约为25个工作日；但由于前期样品处理（切片、染色、透化）步骤需反复沟通该周期不会记入项目执行周期。

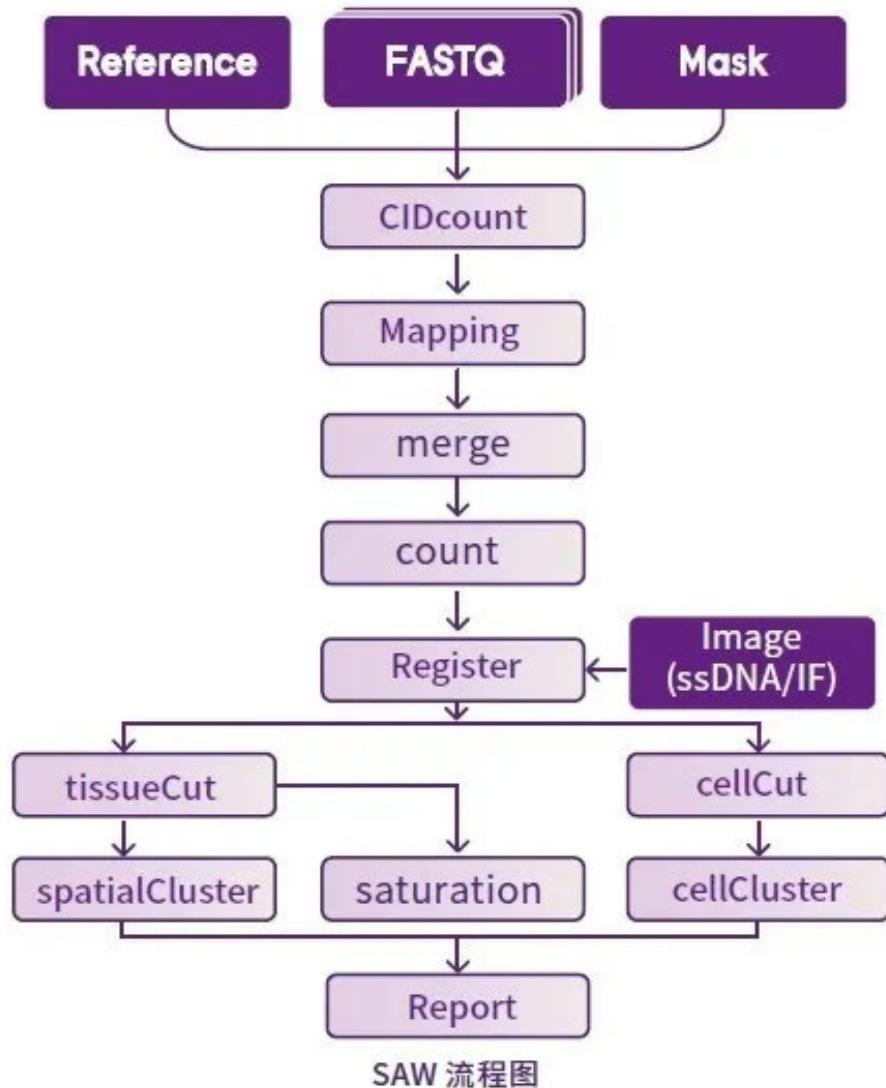
1. 样品制备：对OCT包埋组织，进行切片及RNA质量评估后，切片再将切片贴到时空芯片；
2. 组织透化：将铺贴到芯片上的组织进行切片固定和渗透。时空芯片上布置有空间捕获探针，能与组织细胞释放的mRNA分子结合，从而在芯片上抓取目标样本组织细胞的mRNA分子，并合成cDNA；
3. 文库制备及测序：cDNA合成后构建测序文库，用华大自主研发的国产化超高通量的测序仪完成测序；测序平台：DNBSEQ平台，测序读长：PE100，数据量推荐：正式实验执行样品建议交付数据：1G clean reads，Q30>80%。
4. 数据分析：针对下机数据进行质控，完成全套分析，最终得目标样本组织细胞在空间位置上表达的基因信息。

## ▼ Analysis

Stereo-seq 分析流程软件包（Stereo-seq Analysis Workflow, SAW）整合了时空组学技术 Stereo-seq 主要的基因表达分析和图像数据处理工具，用于还原及可视化测序数据在芯片上的空间表达信息。Stereo-seq 原始测序数据经 SAW 流程处理后，得到可以用于下游生信分析的空间表达数据。

1. 还原 reads 空间位置：利用空间特异性条形码 CID 序列作为媒介，将测序 reads 映射回它们在组织中的原始空间位置；
2. 获取表达矩阵：还原回组织中空间位置的 reads 通过比对、注释、过滤矫正和去重等一系列操作，得到每个基因在空间中的分布和表达，生成空间基因表达矩阵。在分析过程中，Stereo-seq 的亚细胞级高分辨率数据可以通过合并多个单元格形成不同大小的“箱(bin)”，来和其他模态的数据进行联合分析；
3. 图像识别、分割和配准：图像分析模块将显微镜拍照图像和空间表达矩阵进行对齐配准，利用深度学习模型，从显微镜拍照影像图中识别出组织和细胞，并进行分割。图像的识别和分割映射到空间表达矩阵后，便可以获取组织区域内或以细胞为单位的空间表达矩阵。

## 流程图及分析报告展示



### 2.1.2. Instruments & Reagents

#### 2.1.2.1. STomics显微镜评估参考手册

<https://cdn-newfile.stomics.tech/STomics%C2%AE%20%E6%98%BE%E5%BE%AE%E9%95%9C%E8%AF%84%E4%BC%B0%E5%8F%82%E8%80%83%E6%89%8B%E5%86%8C-G.pdf>

#### 2.1.2.2. 时空实验样本准备使用说明书

<https://cdn-newfile.stomics.tech/%E6%97%B6%E7%A9%BA%E5%AE%9E%E9%AA%8C%E6%A0%B7%E6>

%9C%AC%E5%87%86%E5%A4%87%E4%BD%BF%E7%94%A8%E8%AF%B4%E6%98%8E%  
E4%B9%A6-A.pdf

---

#### 2.1.2.3. Stereo-seq 芯片载体及配件使用说明书

<https://cdn-newfile.stomics.tech/Stereo-seq%20%E8%8A%AF%E7%89%87%E8%BD%BD%E4%BD%93%E5%8F%8A%E9%85%8D%E4%BB%B6%E4%BD%BF%E7%94%A8%E8%AF%B4%E6%98%8E%E4%B9%A6.pdf>

---

#### 2.1.2.4. Stereo-seq 芯片保存操作指南

<https://cdn-newfile.stomics.tech/Stereo-seq%20%E8%8A%AF%E7%89%87%E4%BF%9D%E5%AD%98%E6%93%8D%E4%BD%9C%E6%8C%87%E5%8D%97-B.pdf>

#### 2.1.2.5. Stereo-seq定制化芯片保存操作指南

<https://cdn-newfile.stomics.tech/Stereo-seq%E5%AE%9A%E5%88%B6%E5%8C%96%E8%8A%AF%E7%89%87%E4%BF%9D%E5%AD%98%E6%93%8D%E4%BD%9C%E6%8C%87%E5%8D%97-A.pdf>

#### 2.1.2.6. Stereo-seq定制化芯片透化试剂套装（≤2 cm\*3 cm）使用说明书

<https://cdn-newfile.stomics.tech/Stereo-seq%20%E5%AE%9A%E5%88%B6%E5%8C%96%E8%8A%AF%E7%89%87%E4%BF%9D%E5%AD%98%E6%93%8D%E4%BD%9C%E6%8C%87%E5%8D%97-A.pdf>

#### 2.1.2.7. Stereo-seq定制化芯片转录组试剂套装（≤2 cm\*3 cm）使用说明书

<https://cdn-newfile.stomics.tech/Stereo-seq%20%E5%AE%9A%E5%88%B6%E5%8C%96%E8%8A%AF%E7%89%87%E4%BF%9D%E5%AD%98%E6%93%8D%E4%BD%9C%E6%8C%87%E5%8D%97-A.pdf>

#### 2.1.2.8. 时空组学产品方案手册

[benben.miao](https://cdn-newfile.stomics.tech/%E6%97%B6%E7%A9%BA%E7%BB%84%E5%AD%A6%E4%BA%A7%E5%93%81%E6%96%B9%E6%A1%88%E6%89%8B%E5%86%8C.pdf)  
[benben.miao](https://cdn-newfile.stomics.tech/%E6%97%B6%E7%A9%BA%E7%BB%84%E5%AD%A6%E4%BA%A7%E5%93%81%E6%96%B9%E6%A1%88%E6%89%8B%E5%86%8C.pdf)

---

#### 2.1.2.9. Stereo-seq 建库试剂盒使用说明书

[benben.miao](https://cdn-newfile.stomics.tech/Stereo-seq%20%E5%BB%BA%E5%BA%93%E8%AF%95%E5%89%82%E7%9B%92%E4%BD%BF%E7%94%A8%E8%AF%B4%E6%98%8E%E4%B9%A6-C.pdf)  
[benben.miao](https://cdn-newfile.stomics.tech/Stereo-seq%20%E5%BB%BA%E5%BA%93%E8%AF%95%E5%89%82%E7%9B%92%E4%BD%BF%E7%94%A8%E8%AF%B4%E6%98%8E%E4%B9%A6-C.pdf)

---

#### 2.1.2.10. Stereo-seq 透化试剂套装（载体版）使用说明书

[benben.miao](https://cdn-newfile.stomics.tech/Stereo-seq%20%E9%80%8F%E5%8C%96%E8%AF%95%E5%89%82%E5%A5%97%E8%A3%85%EF%BC%88%E8%BD%BD%E4%BD%93%E7%89%88%EF%BC%89%E4%BD%BF%E7%94%A8%E8%AF%B4%E6%98%8E%E4%B9%A6-D.pdf)  
[benben.miao](https://cdn-newfile.stomics.tech/Stereo-seq%20%E9%80%8F%E5%8C%96%E8%AF%95%E5%89%82%E5%A5%97%E8%A3%85%EF%BC%88%E8%BD%BD%E4%BD%93%E7%89%88%EF%BC%89%E4%BD%BF%E7%94%A8%E8%AF%B4%E6%98%8E%E4%B9%A6-D.pdf)

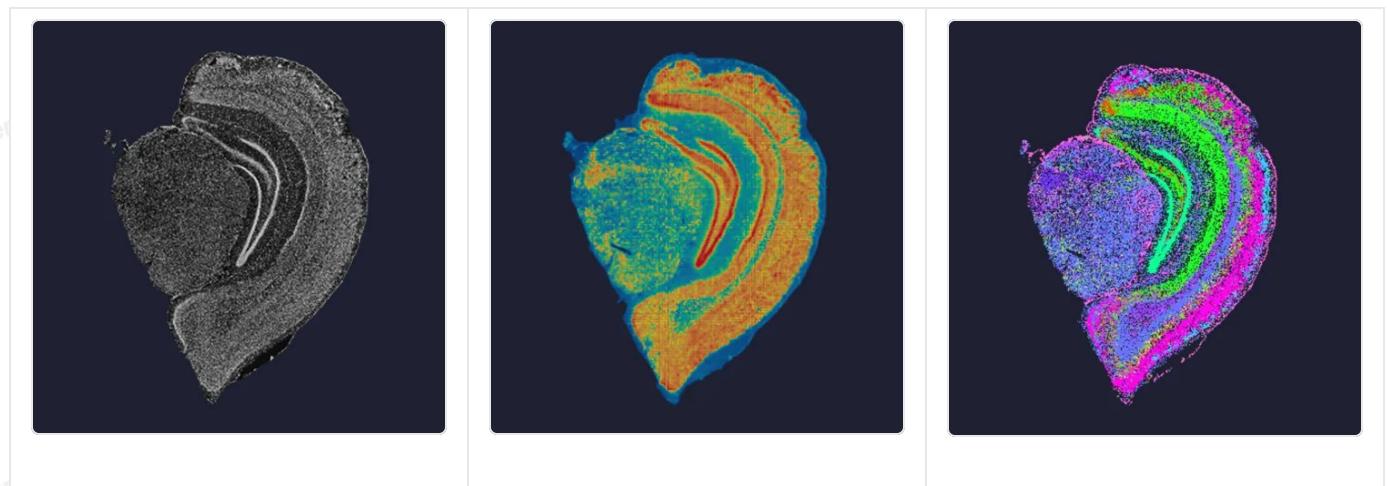
---

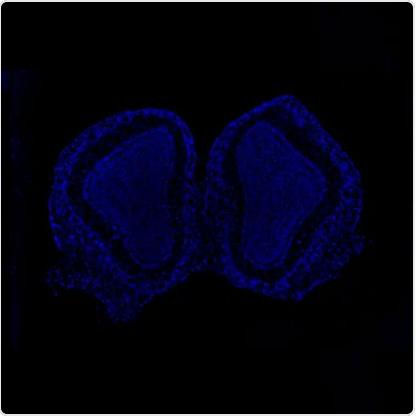
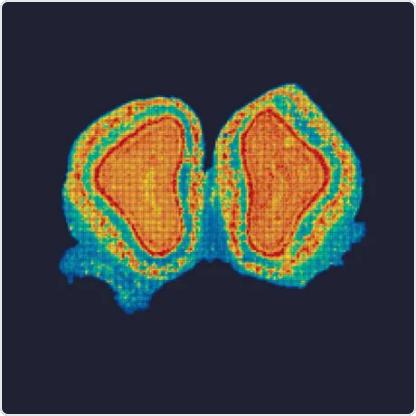
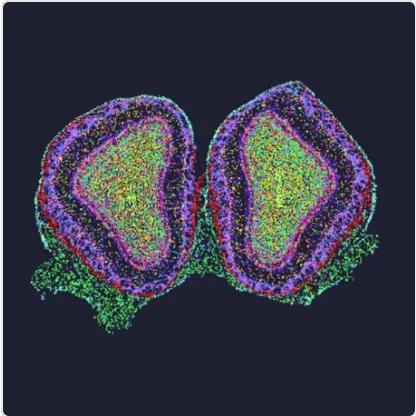
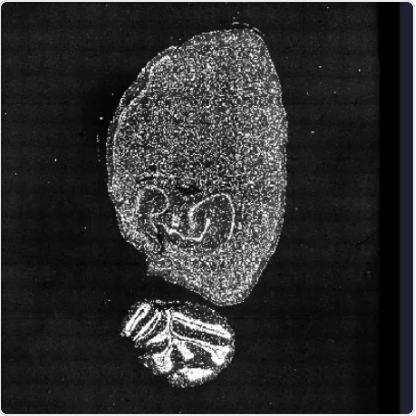
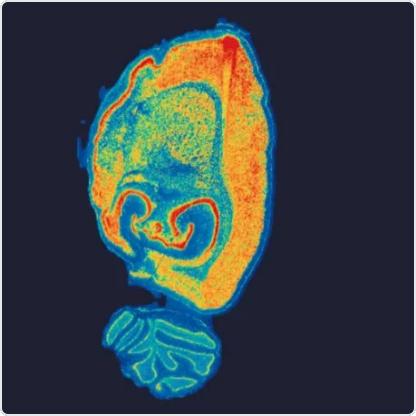
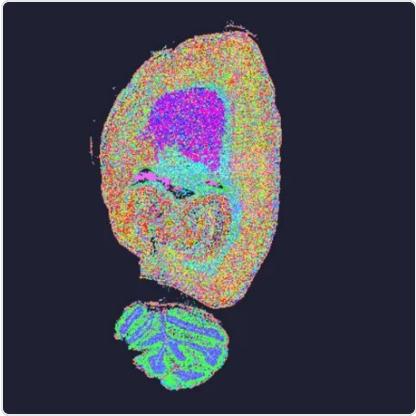
#### 2.1.2.11. Stereo-seq 转录组试剂套装（载体版）使用说明书

[benben.miao](https://cdn-newfile.stomics.tech/Stereo-seq%20%E8%BD%AC%E5%BD%95%E7%BB%84%E8%AF%95%E5%89%82%E5%A5%97%E8%A3%85%EF%BC%88%E8%BD%BD%E4%BD%93%E7%89%88%EF%BC%89%E4%BD%BF%E7%94%A8%E8%AF%B4%E6%98%8E%E4%B9%A6.%20Ver%20D.pdf)  
[benben.miao](https://cdn-newfile.stomics.tech/Stereo-seq%20%E8%BD%AC%E5%BD%95%E7%BB%84%E8%AF%95%E5%89%82%E5%A5%97%E8%A3%85%EF%BC%88%E8%BD%BD%E4%BD%93%E7%89%88%EF%BC%89%E4%BD%BF%E7%94%A8%E8%AF%B4%E6%98%8E%E4%B9%A6.%20Ver%20D.pdf)

---

### 2.1.3. Cases



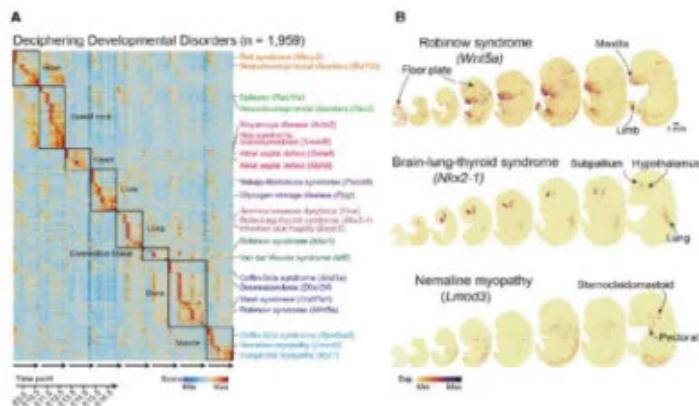
小鼠鼠脑核酸染色图 芯片尺寸: 1 cm × 1 cm	小鼠鼠脑空间基因表达量热图 芯片尺寸: 1 cm × 1 cm	小鼠鼠脑单细胞分辨率聚类结果 芯片尺寸: 1 cm × 1 cm
		
小鼠嗅球核酸染色图 芯片尺寸: 0.5 cm × 0.5 cm	小鼠嗅球空间基因表达量热图 芯片尺寸: 0.5 cm × 0.5 cm	小鼠嗅球单细胞分辨率聚类结果 芯片尺寸: 0.5 cm × 0.5 cm
		
大鼠鼠脑核酸染色图 芯片尺寸: 2 cm × 3 cm	大鼠鼠脑空间基因表达量热图 芯片尺寸: 2 cm × 3 cm	大鼠鼠脑单细胞分辨率聚类结果 芯片尺寸: 2 cm × 3 cm

### 2.1.3.1. Spatiotemporal transcriptomic atlas of mouse organogenesis using DNA nanoball-patterned arrays

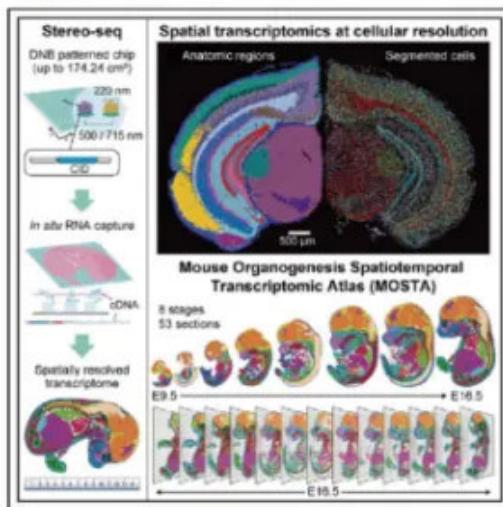
Ao Chen, Sha Liao, Mengnan Cheng, Longqi Liu, Xun Xu, Jian Wang. Spatiotemporal transcriptomic atlas of mouse organogenesis using DNA nanoball-patterned arrays. *Cell*, 2022, doi: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.04.003>

案例一 Stereo-seq云刷小鼠胚胎发育时空图谱

## Spatiotemporal transcriptomic atlas of mouse organogenesis using DNA nanoball-patterned arrays



Graphical abstract <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.04.003>



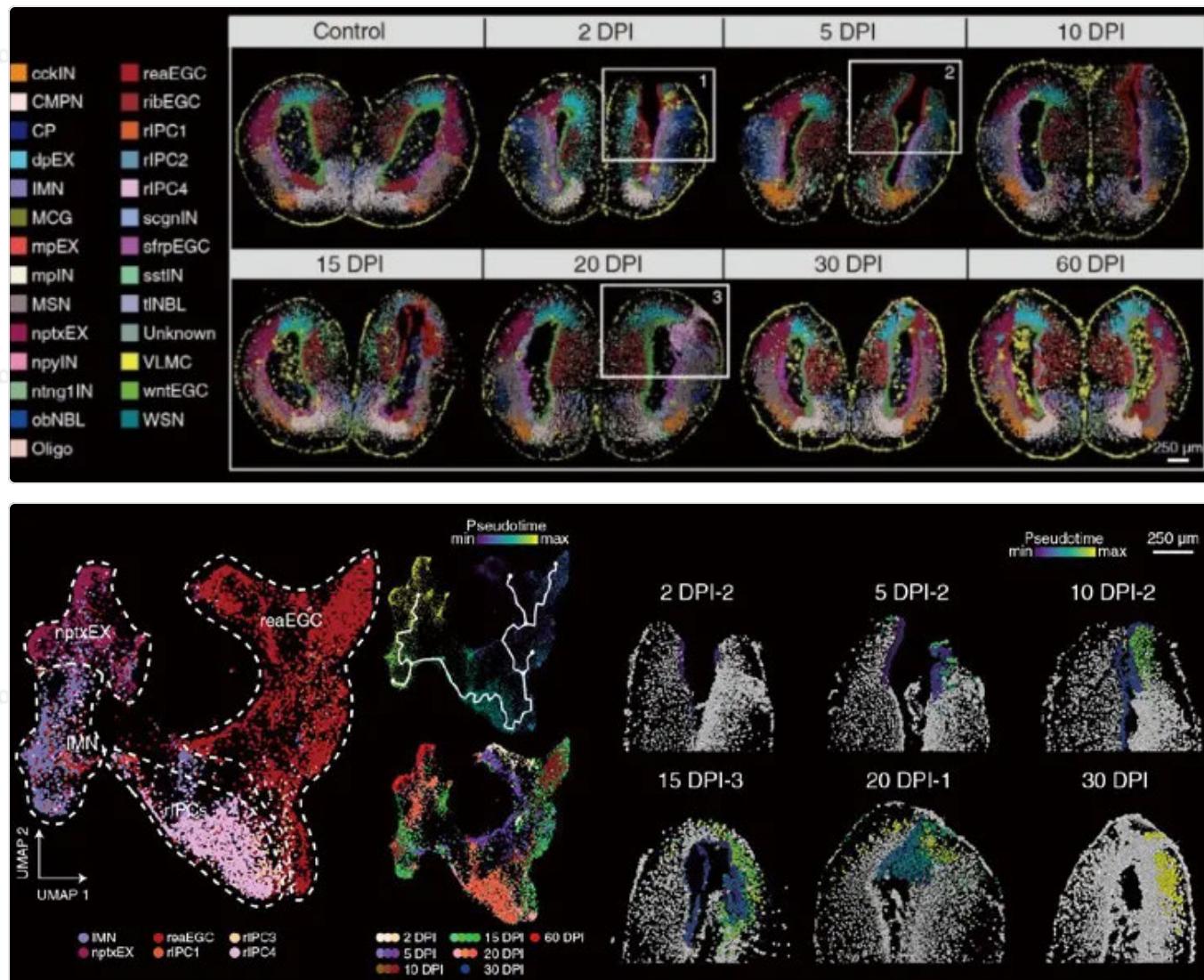
利用DNA纳米球模式阵列与原位RNA捕获相结合，首次对数千组子技术Stereo-seq，以期揭示小鼠胚胎中组织（如背侧中脑）的空间细胞异质性和细胞命运分化的分子基础。

- 利用 Stereo-seq 技术，描述了小鼠胚胎发育中晚期的前脑发育基因的全固表达模式以及前脑发育的轨迹，构建了小鼠器官发生时空转录组数据库 (MOSTA,<https://db.cngb.org/stomics/mosta/>)；
- 获取了E16.5小鼠胚胎具有全固位置的单细胞的全转录组信息，并在一张幻灯片上展示了4种上皮细胞亚型和6种成骨细胞亚型的空间分布情况，描述了前脑的抑制性神经元从内侧神经节降起至皮层的迁移轨迹；
- 利用 Stereo-seq 构建的小鼠中晚期的胚胎的全转录组图谱，描述了人类发育缺陷达 1,959 个基因在小鼠胚胎中表达模式。

### 2.1.3.2. Single-cell Stereo-seq reveals induced progenitor cells involved in axolotl brain regeneration

Xiaoyu Wei et al., Single-cell Stereo-seq reveals induced progenitor cells involved in axolotl brain regeneration. *Science* 377, eabp9444(2022). DOI: <https://doi.org/10.1126/science.abp9444>

案例—Stereo-seq揭示轴再生过程中的诱导祖细胞类型



应用 Stereo-seq 技术首次构建了猕猴脑结构，绘制了猕猴脑整个发育和损伤再生过程中单细胞分辨率的基因表达图谱和细胞空间动态变化图谱，为研究脑再生的分子机制奠定了基础。

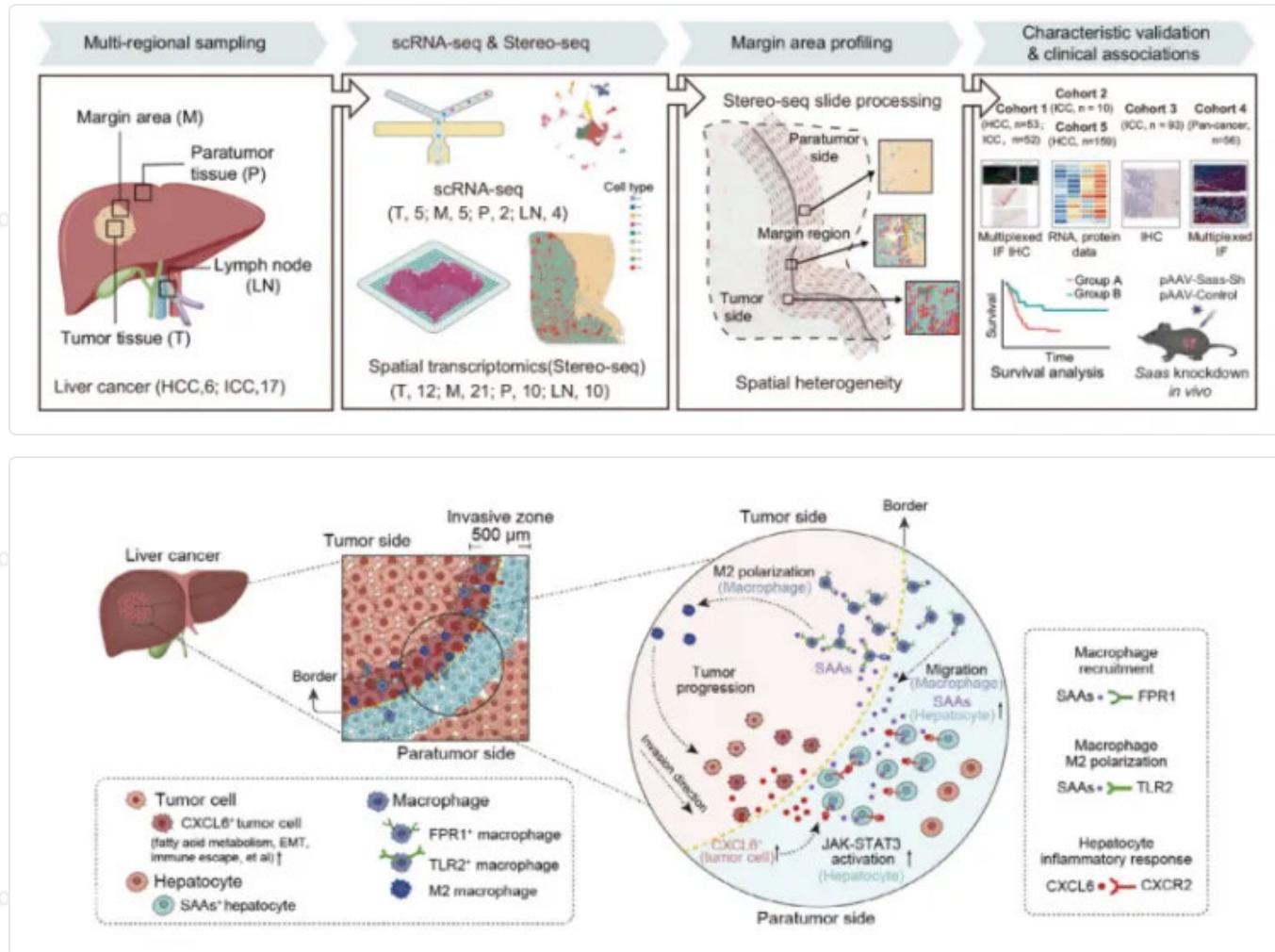
1. 有一种神经干细胞亚型在猕猴脑再生过程中早期被激活，再生后期进行大量增殖，推测此神经干细胞亚型是参与伤口愈合反应的主要细胞群，并转化为损伤缺失的神经元；
2. 猕猴脑再生可能通过具有相似的机制与干细胞分化，部分重现脑发育过程中的神经发生；
3. 猕猴脑全貌转录组图谱数据可从 <https://db.cngb.org/stomics/artista> 下载获取。

### 2.1.3.3.

VU, L., Yan, J., Bai, Y. et al. An invasive zone in human liver cancer identified by Stereo-seq promotes hepatocyte–tumor cell crosstalk, local immunosuppression and tumor progression.

*Cell Res* 33, 585–603 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41422-023-00831-1>

## 案例二 Stereo-seq 揭示人尖肝癌浸润促进肝细胞-肿瘤细胞轴、局部免疫抑制和肿瘤进展



基于 Stereo-seq 和 scRNA-seq，该研究揭示了人尖肝癌浸润促进肝细胞-肿瘤细胞轴、局部免疫抑制和肿瘤的新治疗策略铺平了道路。

1. 范围 500 μm 的浸润带，对于手术治疗提供量化依据；
2. 系统地揭示了肝癌浸润促进肝细胞-肿瘤细胞轴的作用机制的免疫抑制微环境；
3. 制备成功的肝细胞特征与原发及继发肝癌的不良预后显著相关，可作为潜在治疗靶点。

### 2.1.4. Q&A

#### 1. 包埋过程应注意什么？

包埋过程中需注意取材尺寸（目前要求组织块尺寸不得大于 0.9 cm × 0.9 cm × 2 cm），选择合适尺寸的包埋盒。新鲜组织离体后需在 30 min 内完成包埋，操作时应在低温环境下快速进行，避免 RNA 降解。包埋前应吸干组织表面水分，避免产生冰晶，同时也要避免 OCT 中气泡的产生影响后续切片。

#### 2. 组织形态变型严重是什么原因？

组织形态严重变形可能是取材过程中对组织造成了挤压，应该调整取样方式；也可能是包埋过程包埋剂膨胀挤压组织造成变形，应根据具体情况调整包埋条件，如更换尺寸材质合适的包埋盒等。

### 3. 组织包埋块中冰晶过多如何避免？

取材后包埋前尽量将组织表面的水分吸干。缓慢冰冻过程会导致较大冰晶的形成，建议组织包埋过程，迅速冷冻。

### 4. 组织包埋时，OCT 的量是否会对组织造成影响？

组织太小 OCT 太多的话，可能会对组织产生挤压。建议尽量选择跟组织大小适配的包埋盒。

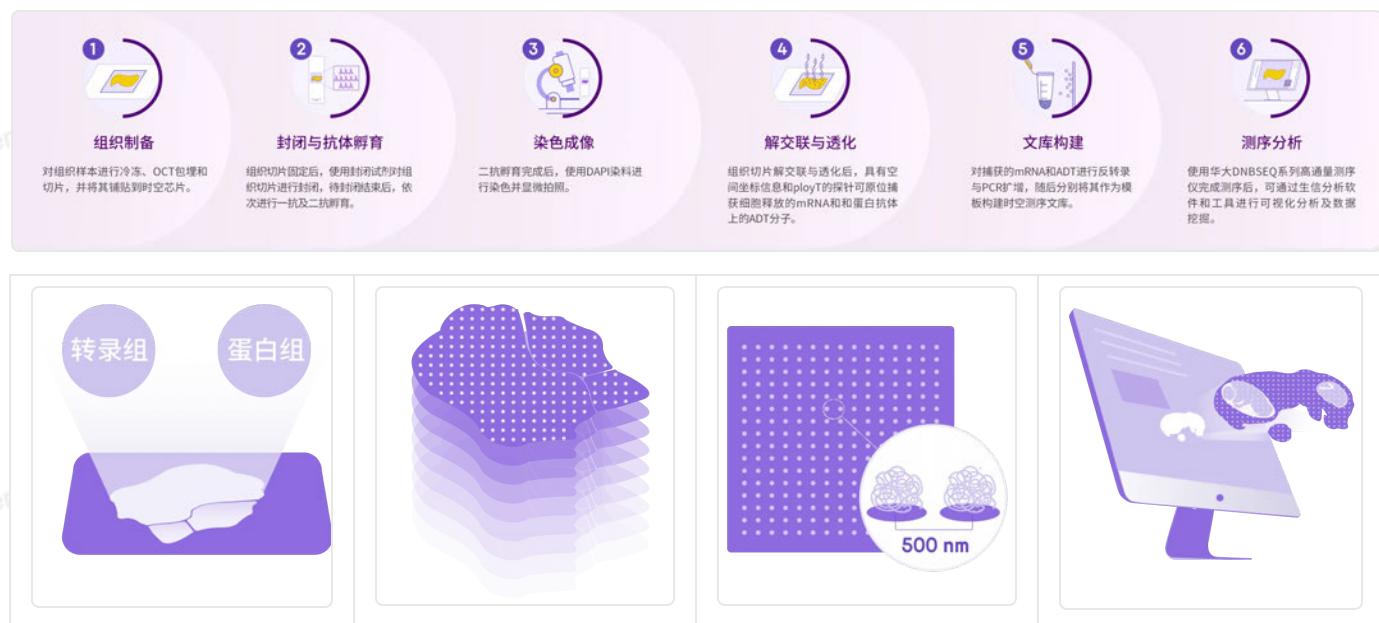
## 2.2. 时空蛋白转录组Stereo-CITE

### 2.2.1. Workflow

时空蛋白转录组Stereo-CITE利用Stereo-seq芯片上装载的具有空间坐标信息的捕获探针，可在同一张组织切片上原位捕获组织中的mRNA分子和抗体衍生标签(Antibody Derived Tag, ADT)，并通过空间条形码(Coordinate ID, CID)还原回空间位置，生成基因和蛋白空间表达图谱。

生信分析工具支持蛋白组和转录组联合分析，可获取全视场样本的转录组和多蛋白空间分布信息，助力研究人员精准量化组织异质性和相关生物学意义，获得更广的空间组学研究视角。

<https://cdn-newfile.stomics.tech/CITE%E5%8F%91%E5%B8%83%E4%BC%9A%E8%A7%86%E9%A2%910326-final.mp4>



基于测序的无偏性共捕获 在同一组织切片上实现转录组和蛋白组的无偏性共检测，无自发荧光干扰	100+重数蛋白检测 既可以高效检测100+重蛋白，也支持自由组合抗体	单细胞或亚细胞级分辨率 500 nm分辨率，呈现空间微尺度分子景观	强大的多组学分析工具 高效灵活的数据产出和挖掘，助力多组学联合分析和研究，获得更广的组学探索视角
---	--	--------------------------------------	---

## 2.2.2. Instruments & Reagents

### 2.2.2.1. 时空蛋白转录组Stereo-CITE产品折页

<https://cdn-newfile.stomics.tech/%E6%97%B6%E7%A9%BA%E8%9B%8B%E7%99%BD%E8%BD%AC%E5%BD%95%E7%BB%84Stereo-CITE.pdf>

---

### 2.2.2.2. Stereo-CITE 蛋白转录组试剂套装使用说明书

<https://cdn-newfile.stomics.tech/Stereo-CITE%20%E8%9B%8B%E7%99%BD%E8%BD%AC%E5%BD%95%E7%BB%84%E8%AF%95%E5%89%82%E5%A5%97%E8%A3%85%E4%BD%BF%E7%94%A8%E8%AF%B4%E6%98%8E%E4%B9%A6-A.pdf>

---

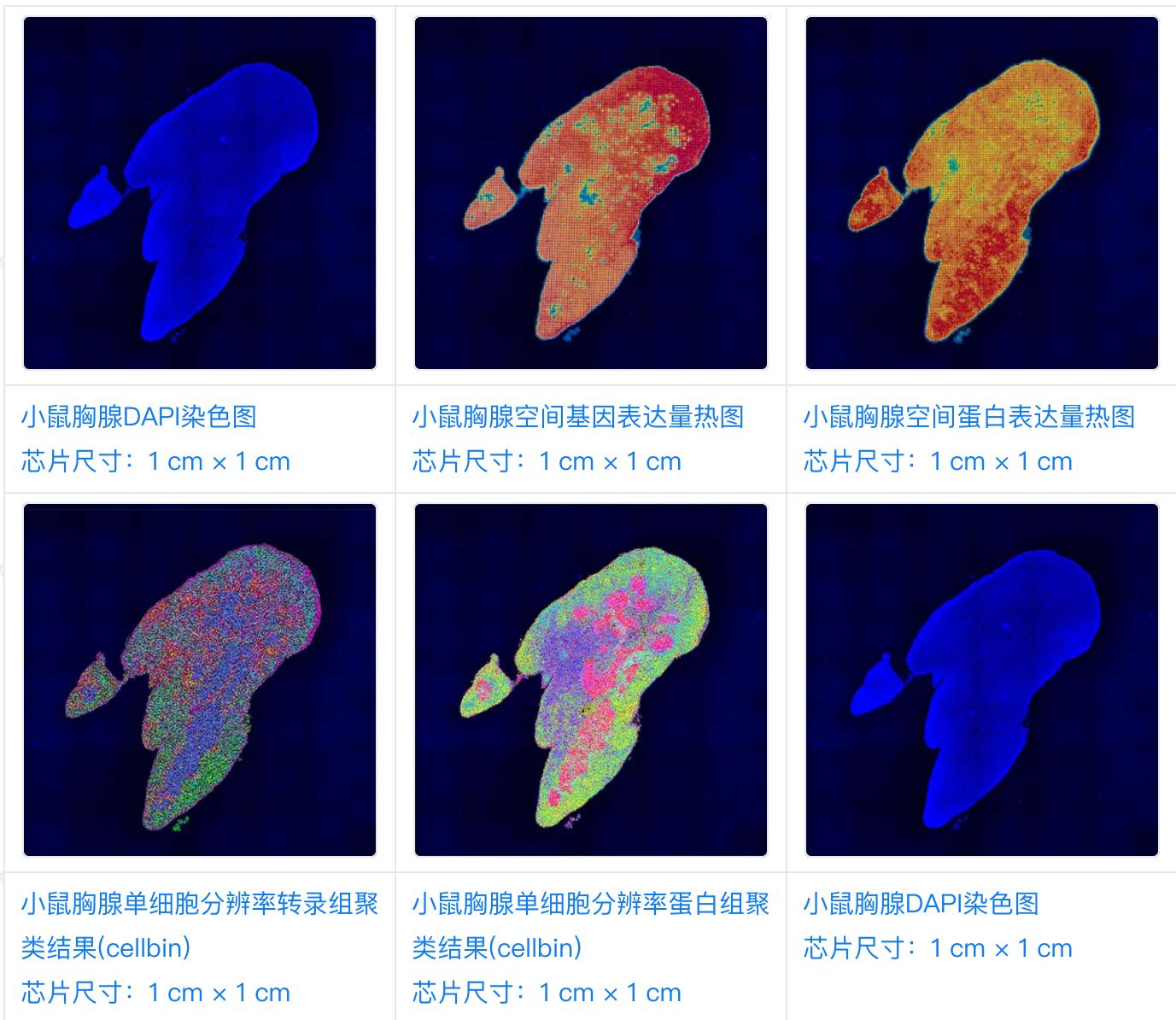
### 2.2.2.3. Stereo-seq透化试剂套装（载体版兼容蛋白组）使用说明书

[https://cdn-newfile.stomics.tech/Stereo-seq%20%E9%80%8F%E5%8C%96%E8%AF%95%E5%89%82%E5%A5%97%E8%A3%85%EF%BC%88%E8%BD%BD%E4%BD%93%E7%89%88%E5%85%BC%E5%AE%B9%E8%9B%8B%E7%99%BD%E7%BB%84%EF%BC%89%E4%BD%BF%E7%94%A8%E8%AF%B4%E6%98%8E%E4%B9%A6-\(1\).pdf](https://cdn-newfile.stomics.tech/Stereo-seq%20%E9%80%8F%E5%8C%96%E8%AF%95%E5%89%82%E5%A5%97%E8%A3%85%EF%BC%88%E8%BD%BD%E4%BD%93%E7%89%88%E5%85%BC%E5%AE%B9%E8%9B%8B%E7%99%BD%E7%BB%84%EF%BC%89%E4%BD%BF%E7%94%A8%E8%AF%B4%E6%98%8E%E4%B9%A6-(1).pdf)

---

### 2.2.2.4. 抗体滴定和IF预实验使用说明书

## 2.2.3. Cases



## 2.3. 时空转录组+H&E染色

### 2.3.1. Workflow

时空组学技术 Stereo-seq结合H&E染色技术可在同一张切片上获得组织形态与时空转录组信息。根据H&E染色图像表征的病理信息，研究人员选取与特定科学问题相关的区域，提取对应表达矩阵，利用华大时空分析软件实现H&E图像与转录组表达矩阵的自动配准并进行下游高级分析，探索潜在分子机制。

Stereo-seq 兼容H&E染色的产品方案有助于更准确地利用组织分型及获取特定组织区域的基因表达信息，帮助研究者们更好地理解生命过程以及疾病发生和发展的分子机制，为疾病诊断、治疗、预后提供新思路。

[https://cdn-newfile.stomics.tech/11%E6%9C%889%E6%97%A5\(2\).mp4](https://cdn-newfile.stomics.tech/11%E6%9C%889%E6%97%A5(2).mp4) **MP4**



<p><b>高效的生化流程</b> 在同一张切片上兼容转录组分析和H&amp;E染色的同时，不会影响mRNA的捕获效率。</p>	<p><b>精准圈选兴趣区域</b> 可直观便捷地根据H&amp;E表征的病理信息圈选感兴趣区域，提取转录组表达矩阵进行多模态数据分析及探索。</p>	<p><b>纳米级分辨率</b> 检测分辨率达到500 nm，可实现亚细胞级分子定位。</p>	<p><b>更广的时空视角</b> 实现基因与组织影像同时分析，获得的分析结果可揭示疾病发生和发展的分子机制，为疾病诊断、治疗和预后提供新思路。</p>

## 2.3.2. Instruments & Reagents

### 2.3.2.1. 时空组学产品方案手册

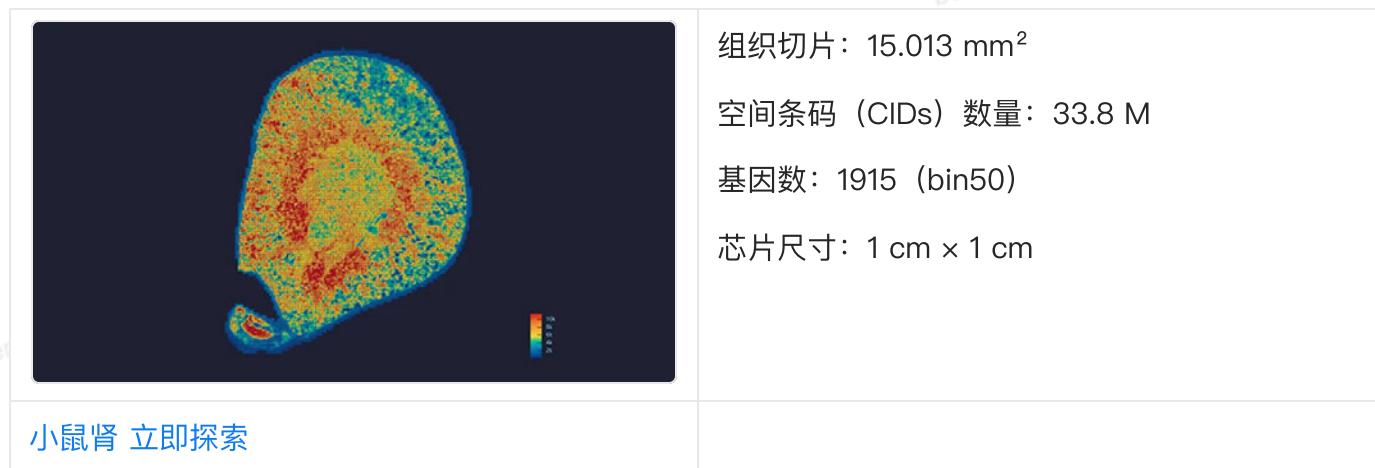
### 2.3.2.2. 时空透化试剂套装（载体版兼容 H&E）使用说明书

<https://cdn-newfile.stomics.tech/Stereo-seq%20%E9%80%8F%E5%8C%96%E8%AF%95%E5%89%82%E5%A5%97%E8%A3%85%EF%BC%88%E8%BD%BD%E4%BD%93%E7%89%88%E5%85%BC%E5%AE%B9%20H&E%EF%BC%89%E4%BD%BF%E7%94%A8%E8%AF%B4%E6%98%8E%E4%B9%A6-A.pdf>

### 2.3.2.3. 时空转录组试剂套装（载体版兼容 H&E）使用说明书

<https://cdn-newfile.stomics.tech/Stereo-seq%20%BD%AC%E5%BD%95%E7%BB%84%E8%AF%95%E5%89%82%E5%A5%97%E8%A3%85%EF%BC%88%E8%BD%BD%E4%BD%93%E7%89%88%E5%85%BC%E5%AE%B9%20H&E%EF%BC%89%E4%BD%BF%E7%94%A8%E8%AF%B4%E6%98%8E%E4%B9%A6-A.pdf>

### 2.3.3. Cases

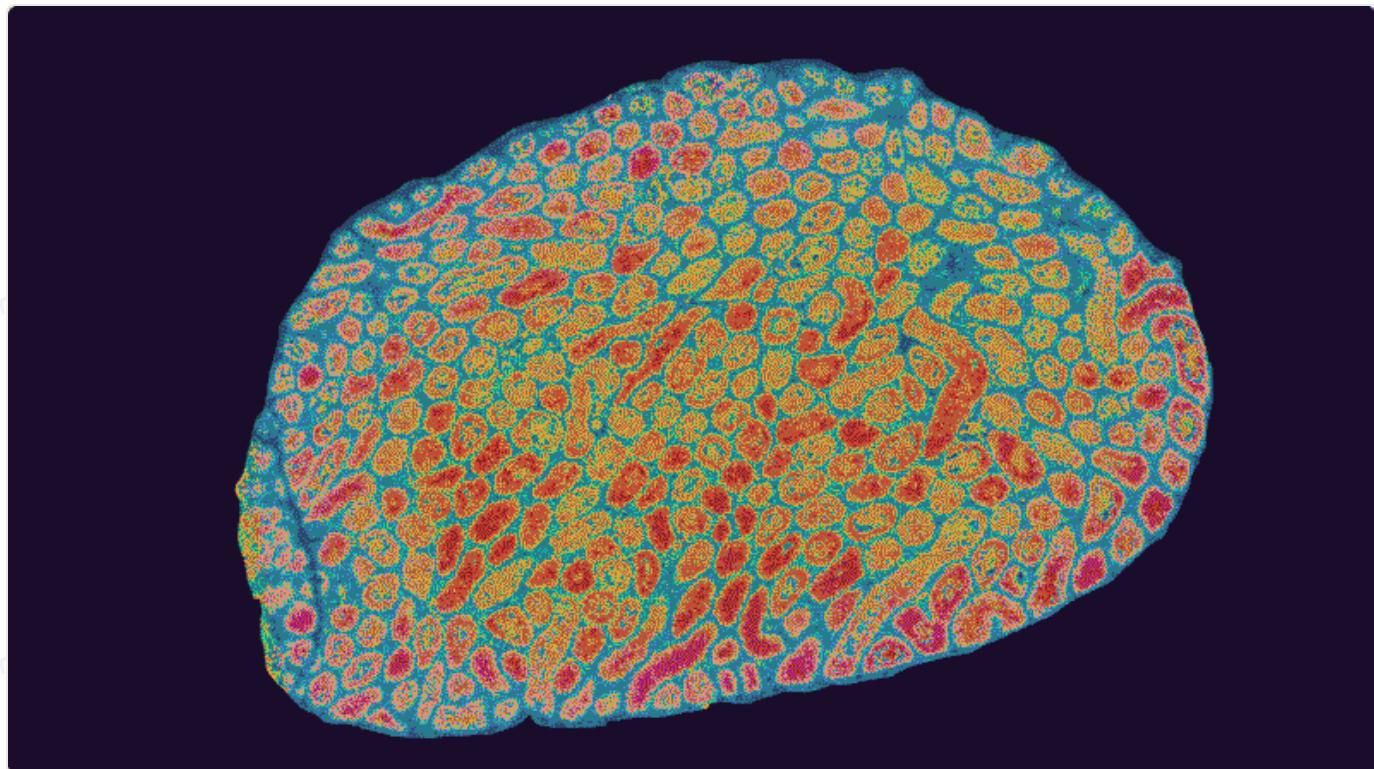


## 2.4. 时空转录组+多重免疫荧光

### 2.4.1. Workflow

在同一组织切片上结合全转录组学、蛋白质检测和组织形态学信息，可以进行深入的空间多组学研究。细胞的异质性对于新型生物标志物的识别、正常和异常组织微环境中重要表达蛋白的细胞起源研究都具有重要意义。通过研究免疫细胞与肿瘤发生发展响应机制，以及参与调控过程的基因和蛋白，进一步推进了免疫肿瘤学的快速发展。

时空组学与多重免疫荧光共检测方案能够对同一组织切片的RNA和蛋白质进行共检测，并在单细胞分辨率水平上实现多重蛋白的空间可视化。在不影响mRNA捕获的前提下，通过比较蛋白质组学和转录组学的数据，在转录水平和蛋白水平上整合分析，从而深入评估样本价值，解析复杂的病理和生理过程。



组织制备



抗体滴定和预实验



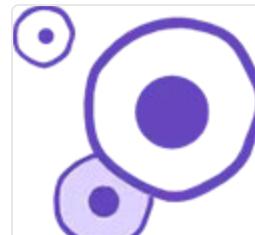
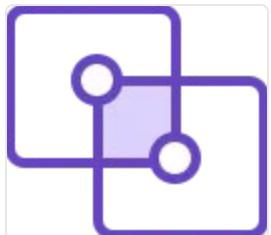
组织透化



Stereo-seq文库构建



生物信息学分析



强大的生信分析工具

升级后的软件工具可更直观地分析蛋白质定位和基因表达谱

易于实现

整个过程不需要使用额外的仪器；在时空芯片上即可进行多重免疫荧光检测

单细胞分辨率

进行转录与蛋白信息共检测的同时依然可以实现高水平的细胞分割

更深度的视角

同时检测多种蛋白质和无偏的全转录组信息  
(\*取决于用户选择的抗体)

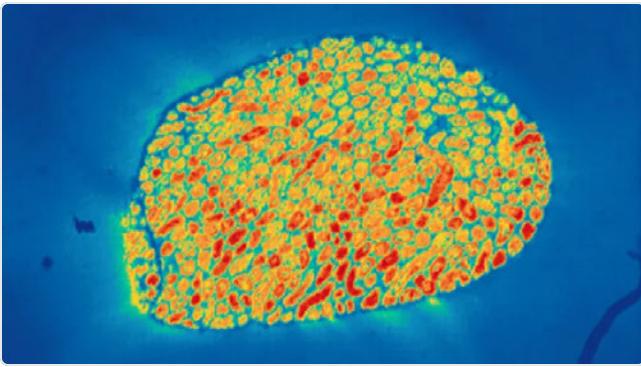
## 2.4.2. Instruments & Reagents

### 2.4.2.1. 时空组学产品方案手册

#### 2.4.2.2. 时空转录组与多重免疫荧光 (mIF) 共检测技术操作指南

<https://cdn-newfile.stomics.tech/STomics%C2%AE%20%E6%97%B6%E7%A9%BA%E8%BD%AC%E5%BD%95%E7%BB%84%E4%B8%8E%E5%A4%9A%E9%87%8D%E5%85%8D%E7%96%AB%E6%93%8D%E4%BD%9C%E6%8C%87%E5%8D%97-C.pdf>

#### 2.4.3. Cases

	组织切片: 16.3 mm <sup>2</sup> 空间条码 (IDs) 数量: 29.5M 基因数: 356 (bin 20) 芯片尺寸: 1 cm × 1cm
小鼠睾丸 <a href="#">立即探索</a>	

#### 2.4.4. Q&A

1. 针对mIF流程，摸索透化时间的实验中，不添加一抗和二抗，是否会影响转录组实验的透化时间的确定？

经过测试一抗、二抗添加与否并不影响透化时间的判断，只需要模拟前面的试剂孵育流程即可。

2. mIF流程实验中，抗体滴定实验的目的是什么？

主要目的有：（1）确保选择的抗体适配于时空组学的mIF实验，可表达出正确的pattern；（2）根据滴定实验可以判断最佳的抗体浓度。

3. 时空芯片与mIF共检测技术里，不用FcR对染色和后续捕获会有影响？只有针对小鼠和人的FcR，没有猴的。

FcR主要封闭非特异性抗原结合的位点，如果不封闭，会与目标抗原非特异性结合而影响目标位点的判断。请登录BioLegend 官网查询是否有针对猴的，或者咨询一下抗体公司。

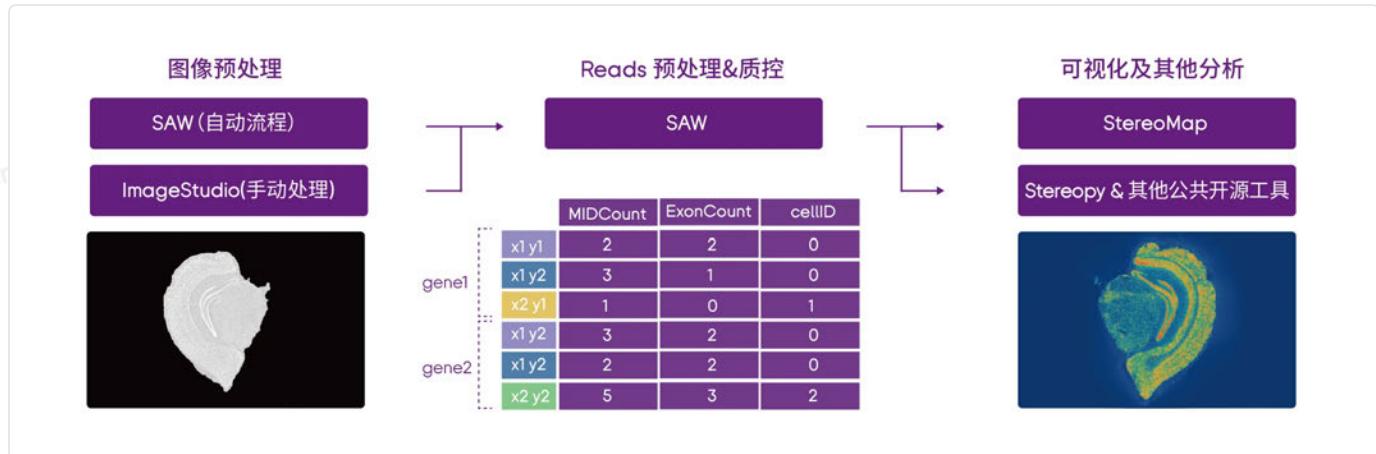
4. 血清、一抗和二抗都需要14000g 离心10 min，离心是原液离心还是稀释后的离心，离心的目的是什么？

主要目的是去除杂质，因为试剂中含有杂质，所以要离心。按照试剂盒使用说明书操作即可。

### 3. Workflow

<https://www.stomics.tech/products/BioinfoTools>

<https://www.stomics.tech/resources/Documents>



Software	Version	Requirement	Usage
ImageStudio	None	Windows	图像质控、图像拼接、组织分割、细胞分割
SAW	None	Linux	数据过滤、图像配准及表达矩阵获取等
StereoMap	None	Windows	可视化展示及个性化调整

#### 分析时如何选择合适的binsize?

可以按照不同组织类型的细胞大小等，根据下游分析效果多次调试bin20, 50, 100, 200数值。其中bin20一般是动物细胞大小，bin50和100是常用于分析的binsize大小，bin200一般用于快速可视化效果展示。

#### SAW中对测序数据做了哪些过滤?

1. CID过滤：过滤CID无法比对上mask文件的reads；
2. MID过滤：过滤MID序列中含有N碱基的reads，过滤MID为polyA的reads，过滤含有至少一个以上质量值低于10的碱基的reads；
3. reads过滤：过滤含有接头和dnb序列的reads。

#### 基因表达可视化结果异常，没有组织轮廓怎么办？

1. 第一步：检查HTML报告中Valid CID Reads的比例是否正常，不可低于10%，如低于10%请确认测序FASTQ文件和芯片SN对应；
2. 第二步：如Valid CID Reads的比例较低，在10%~30%左右，可能存在两种可能性：
3. 参考基因组格式异常：Multi-Mapped Reads比例高，Uniquely Mapped Reads比例很低且几乎全

部注释失败，需要检查注释使用的GTF/GFF文件是否符合格式要求，是否可以通过检测程序；

4. 存在混样的可能性：需要自行排查实验部分；

### ImageQC/ImageStudio、SAW、StereoMap的版本匹配关系？

imageQC	ImageQC描述	SA W	SAW描述		
<= 1.0.8	文件格式：.json + .tar.gz 描述：ssDNA图像QC	<= 4.1.0	支持组织分割和ssDNA图像配准		
>= 1.1.0	文件格式：.ipr + .tar.gz 描述：ssDNA图像QC	>= 5.1.3	支持ssDNA图像细胞分割；支持SE FASTQ数据分析		
ImageStudio	ImageStudio描述	SA W	SAW描述	StereoMa p	StereoMap描述
1.0	文件格式：.ipr + .tar.gz 描述：ssDNA图像QC及手动处理	>= 5.5	支持ssDNA图像细胞分割；支持SE FASTQ数据分析；	1.0	支持空间表达热图展示；基因分布megre展示；ssDNA图展示及手动配准；
2.0	文件格式：.ipr + .tar.gz 描述：ssDNA、DAPI、mlF图像QC及手动处理	>= 6.0	支持mlF配准；支持rRNA过滤	2.0	mlF图展示；mlF图merge展示；
2.1	文件格式：.ipr + .tar.gz 描述：ssDNA、DAPI、mlF图像QC及手动处理；及QC失败图像的全手动处理；	>= 6.1	支持ImageStudio全手动处理图像接入流程；	2.1	支持多gef一次性读入，通过切换标签展示

### Stereo-seq 分析流程软件包使用手册

<https://cdn-newfile.stomics.tech/%E5%88%86%E6%9E%90%E6%B5%81%E7%A8%8B%E8%BD%AF%E4%BB%B6%E5%8C%85%E4%BD%BF%E7%94%A8%E6%89%8B%E5%86%8Cv7.1.pdf>

[https://cdn-newfile.stomics.tech/Stereo-seq\\_Analysis\\_Workflow\\_User\\_Manual\\_A9.pdf](https://cdn-newfile.stomics.tech/Stereo-seq_Analysis_Workflow_User_Manual_A9.pdf)

### 3.1. TSOmics Cloud

<https://cloud.stomics.tech/>

<https://www.stomics.tech/helpcenter/zh/>

<https://www.stomics.tech/helpcenter/training-video.mp4> MP4



The screenshot shows the TSOmics Cloud homepage with the following sections:

- 任务统计**: 0 任务总数, 0 运行中.
- 常用功能**: 新建项目, 公共项目, 新建Notebook, Copilot.
- 最近项目**: 新建1个项目, 开启数据分析.
- 流程分析**: 列表显示任务编号, 实体ID, 项目名称, 任务状态, 流程名称.
- 公共项目**: 快速上手示例项目 (6个).
- 公共数据**: 各类应用环境的快速部署 (207个).
- 公共编像**: 各类应用环境的快速部署 (207个).
- 公共应用**: 丰富的分析工具选择 (....

### 3.2. ImageStudio

此处为语雀内容卡片，点击链接查看：

[https://www.yuque.com/benben.miao/omics/gbdntb31rp53ezvc?view=doc\\_embed](https://www.yuque.com/benben.miao/omics/gbdntb31rp53ezvc?view=doc_embed)

### 3.3. SAW

此处为语雀内容卡片，点击链接查看：

[https://www.yuque.com/benben.miao/omics/ogl1oycsie704mok?view=doc\\_embed](https://www.yuque.com/benben.miao/omics/ogl1oycsie704mok?view=doc_embed)

## 3.4. StereoMap

此处为语雀内容卡片，点击链接查看：

[https://www.yuque.com/benben.miao/omics/gklbhp33hwz6fcma?view=doc\\_embed](https://www.yuque.com/benben.miao/omics/gklbhp33hwz6fcma?view=doc_embed)

## 3.5. Stereopy

此处为语雀内容卡片，点击链接查看：

[https://www.yuque.com/benben.miao/omics/fukwebd9gf29uoph?view=doc\\_embed](https://www.yuque.com/benben.miao/omics/fukwebd9gf29uoph?view=doc_embed)

## 4. Databases

### 4.1. STOmics DB

此处为语雀内容卡片，点击链接查看：

[https://www.yuque.com/benben.miao/omics/gavgmsiy5392de1?view=doc\\_embed](https://www.yuque.com/benben.miao/omics/gavgmsiy5392de1?view=doc_embed)

## 5. Papers

### 5.1. 华大时空组学发文列表

<https://cdn-newfile.stomics.tech/%E5%8D%8E%E5%A4%A7%E6%97%B6%E7%A9%BA%E5%8F%91%E8%A1%A8%E6%96%87%E7%AB%A0%E5%88%97%E8%A1%A8.xlsx>