

空间成像技术揭秘

塑造空间生物学未来的最新工具、技术与实验流程

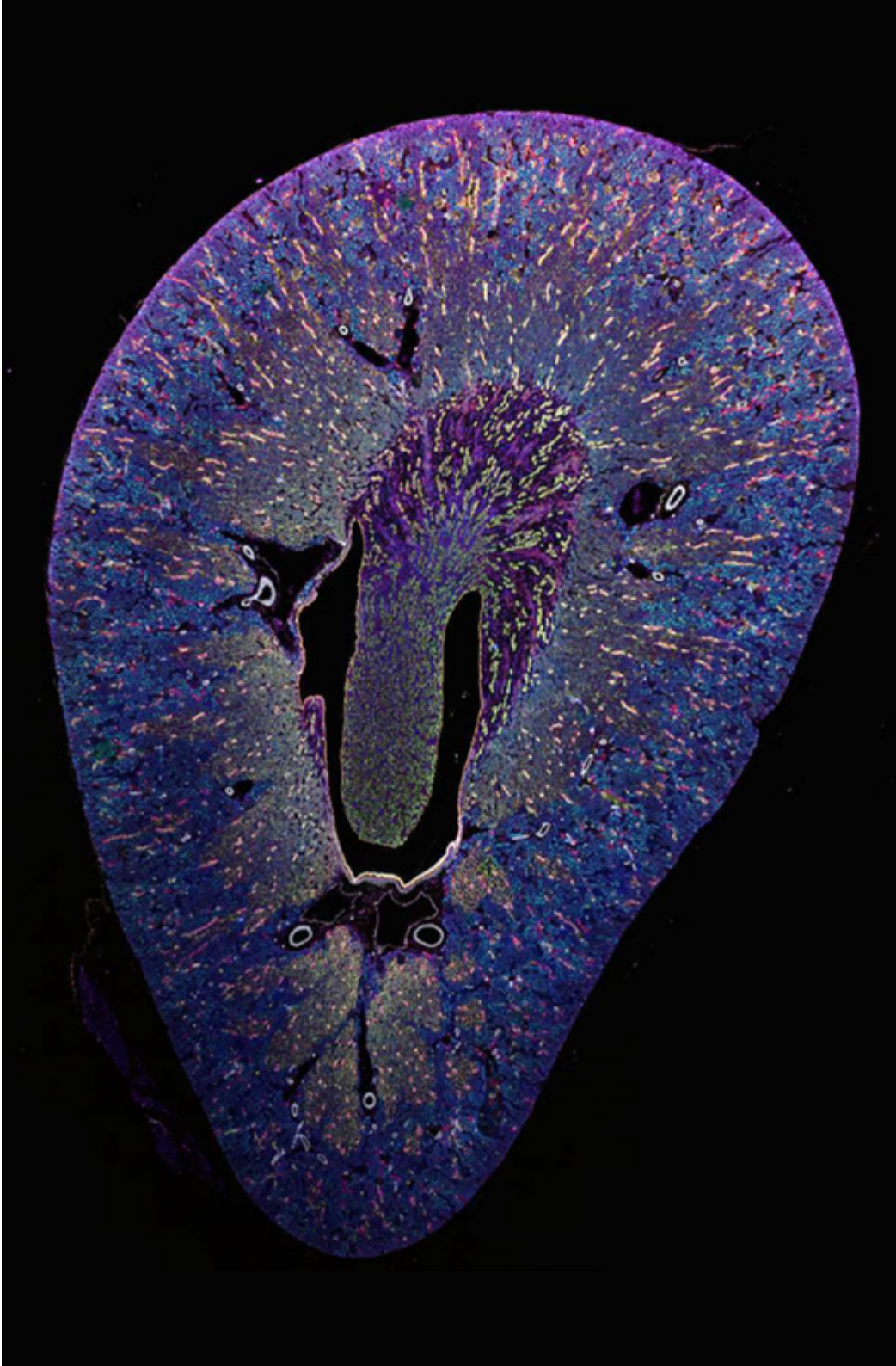
引言

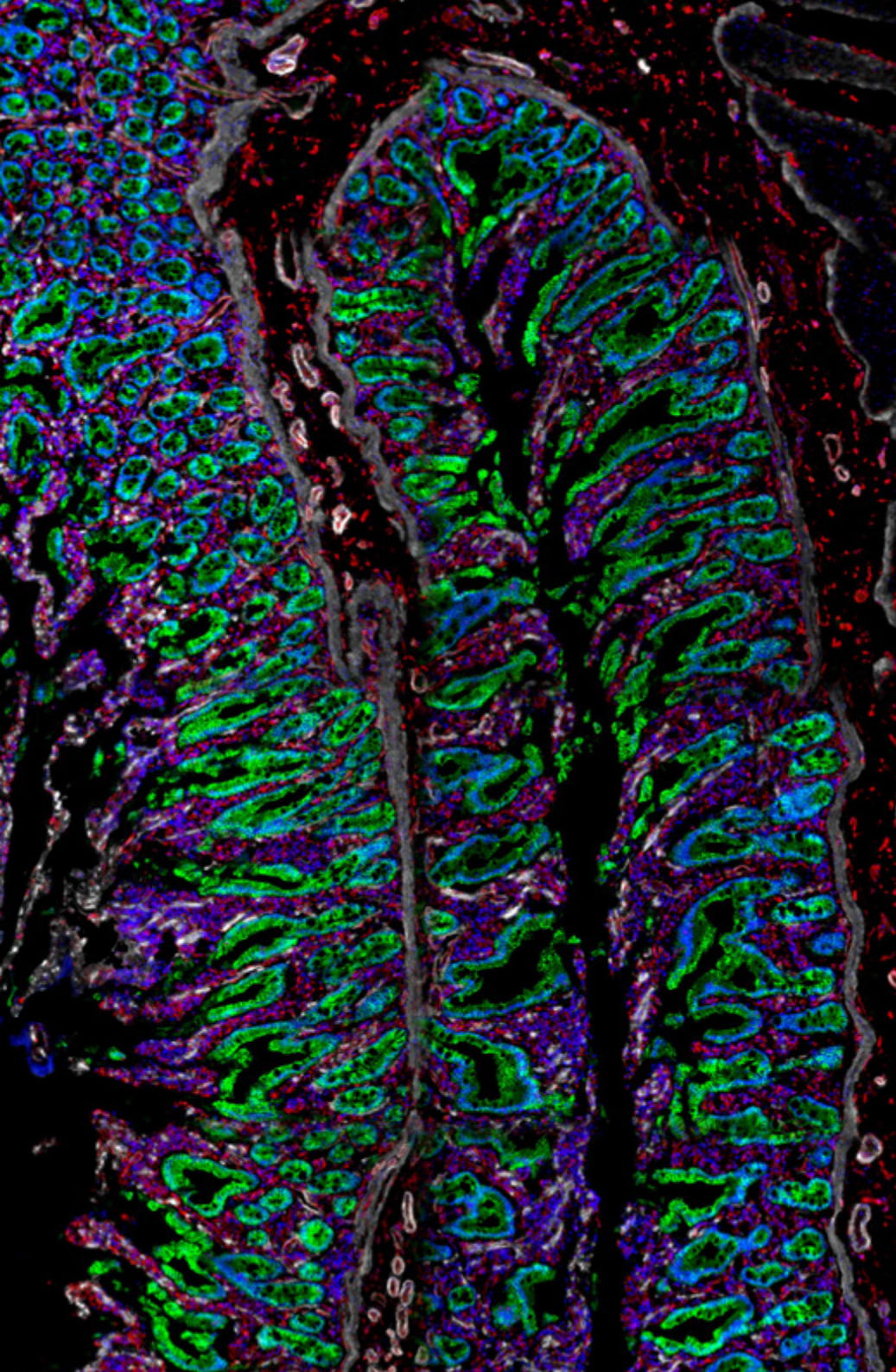
我们研究生物学的方式正在发生改变。

数字成像、多重检测以及高分辨率可视化技术的进步，正在不断深化我们对生物学的理解，并为生物过程和疾病机制带来更多洞见。

本手册全面介绍了空间成像相关的工具与技术，涵盖以下主题：

- 空间生物学的基础概念
- 不同成像技术的比较
- 各研究领域中的新兴应用
- 实验设计的关键考量因素
- 多重成像解决方案的最新进展





目录

引言	2
理解空间生物学	4
空间成像基础	5
空间生物学与疾病研究中对情境数据的聚焦	7
结果稳定的空间成像实验的设计	9
高通量多重成像技术的兴起	10
应用实例	13
总结	16

理解空间生物学

空间生物学是探究生物分子和细胞在其天然组织环境中空间分布与功能的综合性研究。通过结合成像技术、分子特征分析以及计算分析，空间生物学能够揭示组织结构、细胞间相互作用、细胞邻域以及微环境的关键信息。空间生物学涵盖多个子方向，包括空间转录组学、空间蛋白组学、空间基因组学和空间代谢组学。

空间成像：

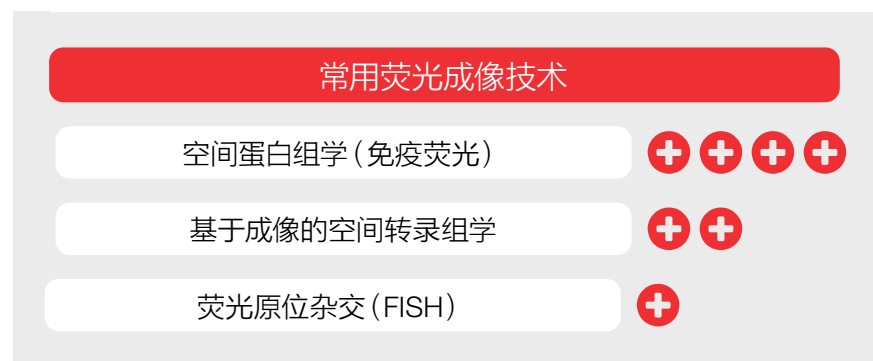
可视化天然情境中的生物学的关键

空间成像是一组用于理解空间生物学的技术，通过将分子分析与高分辨率成像相结合，在完整组织中直接定位细胞、蛋白质和基因表达。

免疫荧光成像是应用最广泛的空间生物学技术之一，可在细胞和组织中可视化目标分子。



空间生物学和其关键分支



空间成像基础

在生物学研究中，空间情境对于理解复杂的生物系统至关重要。空间成像能够捕捉关键维度，揭示细胞结构的组织方式、组织层级的构建机制，以及关键蛋白和信号在其天然环境中的具体位置。通过在保留组织结构的前提下获取高分辨率的分子和细胞层面数据，空间成像使研究人员能够直观地观察不同组成要素的分布及其相互作用。无论是绘制肿瘤中免疫细胞的浸润情况、探索药物的组织特异性差异、分析脑组织的空间结构，还是研究发育生物学过程，空间成像都揭示了以往难以解析的模式和关联。

空间成像是一类在保留完整组织结构的前提下，获取分子和细胞信息的技术。不同于分析解离细胞或组织匀浆样品的方法，空间成像能够保持细胞、蛋白质及其他标志物在组织中的物理位置信息，从而不仅揭示“存在什么”，还能够说明“位于何处”以及“如何与其周围环境相互作用”。

从本质上讲，空间成像融合了两个关键维度：

- **分子特异性：**利用免疫荧光、原位杂交等技术，对蛋白质、核酸或其他生物标志物进行特异性检测。
- **空间分辨率：**在组织结构背景下对这些标志物进行成像分析，获得从单细胞层面的精细节到整个组织范围的空间分布模式。

核心概念包括：

- **组织结构：**指生物样品中细胞及细胞外基质的结构性组织方式。
- **共定位：**在同一细胞或同一区域内识别多个标志物，以研究它们之间的功能关联。
- **多重检测：**在同一样品中同时或按顺序对多个生物标志物进行成像分析。
- **分割与定量：**利用图像分析技术对细胞和区域进行界定，并对标志物表达水平进行定量分析。

随着研究问题日益复杂，尤其是在肿瘤学、神经科学和免疫学领域，空间成像已不再是备选技术，而正逐渐成为获取关键生物学洞见的核心工具，推动产生在生物学层面具有重要意义且更具转化潜力的研究发现。综合上述要素，空间成像使研究人员能够提出关于细胞功能、细胞间通信以及空间异质性的复杂生物学问题——这些问题是传统静态方法或整体分析方法无法回答的。

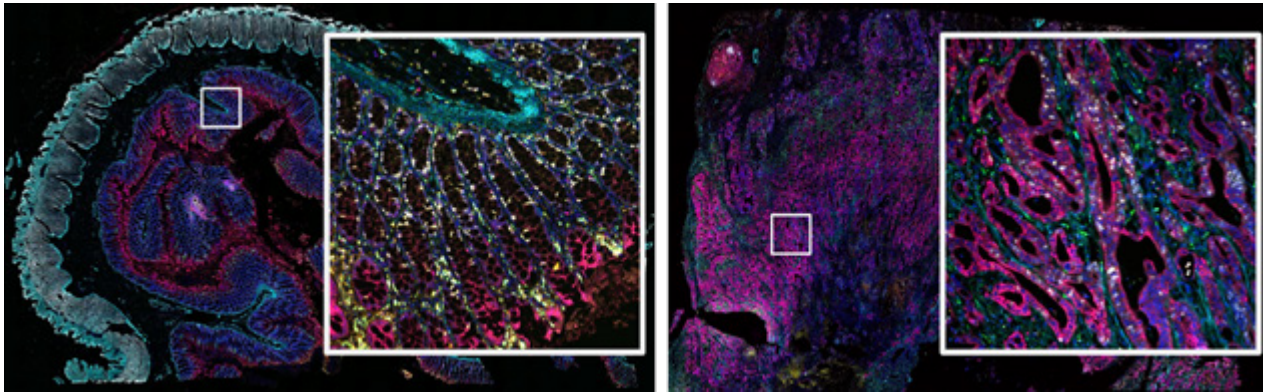


图 1. 检测更多靶标有助于获得组织微环境的更丰富细节，并凸显组织内生物系统的复杂性。图中展示了在 EVOS S1000 空间成像系统上，使用 9 重结肠 panel 染色的正常结肠组织（左）和结肠腺癌组织（右）。多重免疫荧光染色能够获取生物分子和细胞在组织微环境中的空间定位及其相互作用信息。

空间成像技术

用于多重荧光空间成像的两种最常用方法是光谱成像和循环成像。

光谱成像: 适用于中通量多重实验和转化研究

- **工作原理:** 捕获每种荧光染料的完整发射光谱, 并通过软件分离重叠信号。
- **为何重要:** 由于光谱解析可通过计算方式将信号分离, 因此可以同时使用多种荧光染料, 即使它们的发射波长非常接近, 也能实现有效区分。
- **优势:**
 - 更快: 单次染色、单次成像。
 - 更温和: 保留组织完整性、光漂白更少。
 - 灵活度高: 最常见的是单次成像, 但需要更多重标记时空间成像也支持循环标记。
- **局限:**
 - 多重标记一般为6~9标。
 - 受到系统光谱拆分能力的限制。
 - 循环成像: 适用于高通量多重实验和探索性研究。

循环成像: 适用于高通量多重实验和探索性研究

- **工作原理:** 对少量标志物进行染色 → 成像 → 通过化学或物理方式去除荧光染料 → 针对新的标志物重复上述步骤, 以每个循环 2-4 种荧光基团的方式进行多轮成像。
- **为何重要:** 由于每次只对少量标志物进行成像, 因此不受荧光光谱重叠的限制。
- **优势:**
 - 可实现更高水平的多重检测 (常见可达 20 个以上标志物)。
 - panel设计更为简单。
- **局限性:**
 - 由于需要多轮染色和成像, 实验耗时较长。
 - 在多次循环过程中, 组织损耗和图像配准误差可能逐渐累积。
 - 对样品前处理和仪器操作要求更高。
 - 由于对计算能力的需求较大, 数据处理可能具有一定挑战性。

常用技术简介

技术	描述	标志物数量
传统免疫荧光 (IF)	3-4 个荧光基团, 光谱重叠度低	低
光谱成像 + 解析 (Invitrogen EVOS S1000 空间成像系统)	捕获完整的发射光谱, 以分离相互重叠的信号。	中等 (可达8~10个)
循环免疫荧光 (例如 Phenolmager, t-CyCIF)	重复进行“染色-成像-去除”的循环流程。	高(20~60+)
DNA 条形码标记抗体 (例如 Akoya 的 PhenoCycler)	使用寡核苷酸偶联抗体, 并通过序列成像的方式进行检测。	非常高

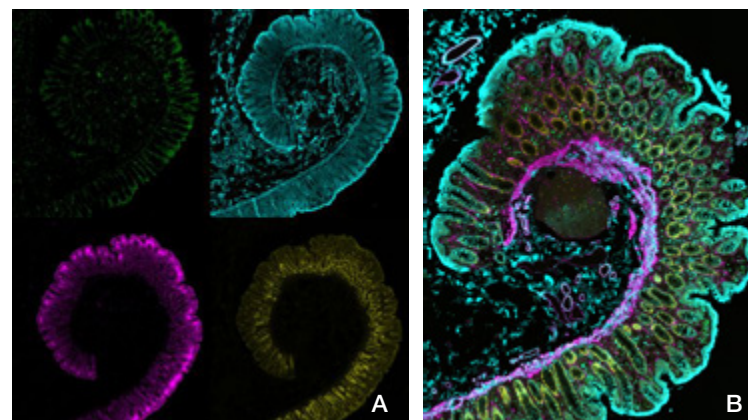


图 2. 更多的颜色可呈现组织微环境的更多细节。(A) 使用四种不同标记对健康结肠组织进行染色。由于靶标数量有限, 可用于理解组织微环境的信息也相对有限。(B) 使用九种不同标记对健康结肠组织进行染色, 并通过光谱解析进行分离。多重免疫荧光染色能够在组织背景中获取生物分子和细胞的空间定位及其相互作用信息。

空间生物学与疾病研究中对情境数据的聚焦

在生物学和医学研究中, 空间环境的重要性日益凸显, 其作用已由辅助信息转变为理解复杂生物学过程的关键要素。这种认识转变在免疫肿瘤学、神经科学和病理学中表现得尤为明显。在这些领域中, 阐明细胞在组织微环境中的空间定位及其相互作用, 往往决定着研究假设的合理性, 并直接影响疾病机制的理解和新疗法的开发。

在免疫肿瘤学中, 空间生物学正在揭示肿瘤微环境的复杂性 (2,3)。它能够显示免疫细胞是浸润进入肿瘤内部还是被排斥在外, 免疫细胞与肿瘤细胞之间的距离, 以及由细胞表达的免疫检查点标志分子——所有这些因素都会影响治疗应答。空间生物学可用于回答如下关键问题:

- 细胞毒性 T 细胞是与肿瘤细胞直接接触, 还是被基质或髓系细胞阻隔?
- PD-L1、LAG-3、TIM-3 等分子表达于何处——是在细胞界面、肿瘤巢内, 还是位于血管周围的特定生态位?
- 是否形成三级淋巴结构 (TLS), 以及其中富集了哪些 B 细胞和 T 细胞亚群?

空间成像将肿瘤微环境转化为可量化的空间特征, 例如细胞界面、生态位和梯度分布。这种空间背景信息进一步使研究人员和临床医生能够超越单纯的细胞数量数据, 开展具有实际应用价值的组织结构分析以及更高分辨率的深入研究。

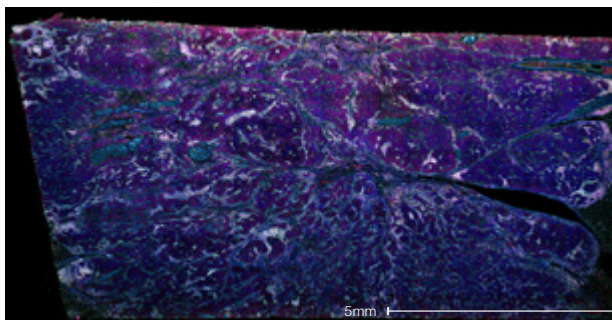


图 3. 人类乳腺浸润性导管癌组织。该图像使用 Invitrogen 的 EVOS S1000 空间成像系统, 并采用 Aluora 空间信号放大 8 重检测方案进行处理和染色。

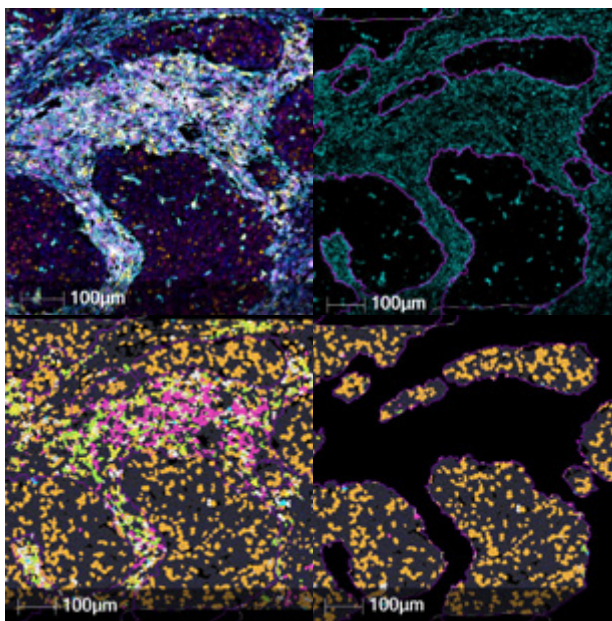
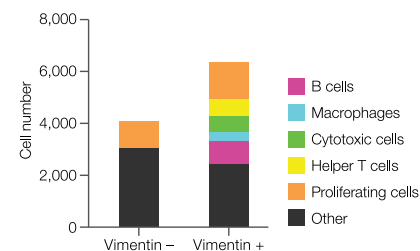
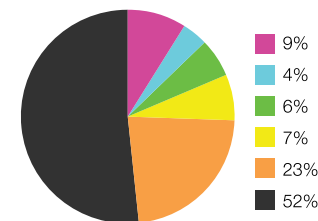


图 4. 单细胞分割与表型分析揭示了免疫细胞亚群的空间分布。定量分析实现了组织中单细胞水平的表型鉴定, 显示免疫细胞与 vimentin 阳性区域的共定位情况。图像使用 Invitrogen 的 EVOS S1000 空间成像系统获取, 数据通过 HALO® 分析软件进行采集与分析。

Phenotype	Target(s)
B cells	CD20+
Macrophages	CD68+
Cytotoxic T cells	CD3+/CD8+
Helper T cells	CD3+/CD4+
Proliferating cells	PCNA+



在神经科学领域，空间关系具有基础性意义。大脑功能依赖于高度精确的结构组织方式，包括皮层分层结构、神经纤维束以及细胞—细胞界面等特征。空间成像能够将分子特征与细胞所处的位置及其相互作用相结合，揭示组织结构、炎症状态以及神经环路背景，从而为作用机制研究和靶点发现提供重要依据。在疾病研究中，空间成像可在保留空间背景的前提下，识别区域特异性的活性变化并分析疾病在细胞层面的进展过程，这对于研究阿尔茨海默病、帕金森病或创伤性脑损伤等疾病至关重要。

病理学本质上是一门高度依赖空间信息的学科。数字化和空间化工具正在将传统的组织评估方式（如免疫组化，IHC）向数据密集型、多参数分析转化。空间成像使病理学家能够在组织学结构之上叠加分子层面信息，从而更深入地理解疾病的分子驱动因素，最终为精准诊断和患者个体化治疗方案的选择提供依据。这种更高层级的整合带来了多方面的提升，包括：

- 精确区分重叠的组织形态结构
- 对巨噬细胞状态、基质特征等属性进行标准化定量分析
- 基于形态学信息的区域感知型分析，用于引导生物标志物的定量评估

空间成像通过提供可扩展、可量化的空间背景信息，补充并强化了诊断工作流程，加速了转化研究，并为经过验证的临床级检测方法铺平了道路。

总结

空间成像已将传统荧光成像拓展为一种多重化、量化且具备空间情境信息的研究手段。通过在保留生物学发生位置的前提下同时检测多个靶标，空间成像为研究人员和临床医生提供了所需的“空间图谱”，以理解生物相互作用、比较不同研究方法，并支持得到可靠的研究结论。无论是在免疫肿瘤学、神经科学还是病理学领域，以成像为先的研究方法都能够将分子状态与组织结构紧密联系起来，这是传统整体分析方法所无法实现的

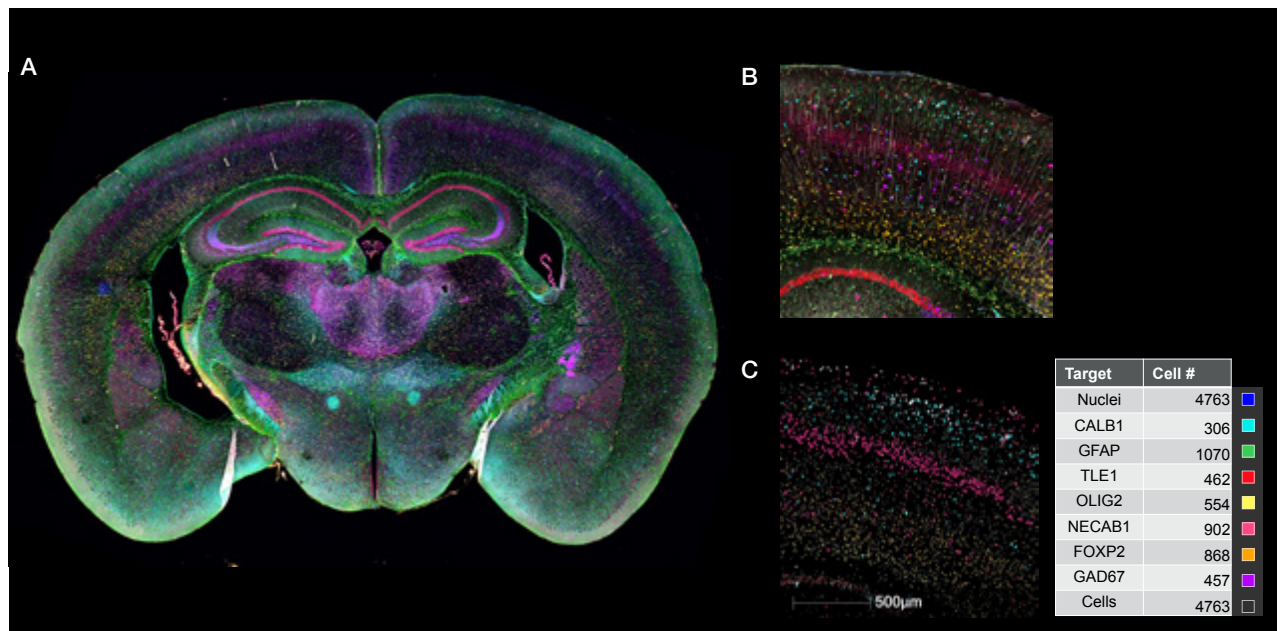
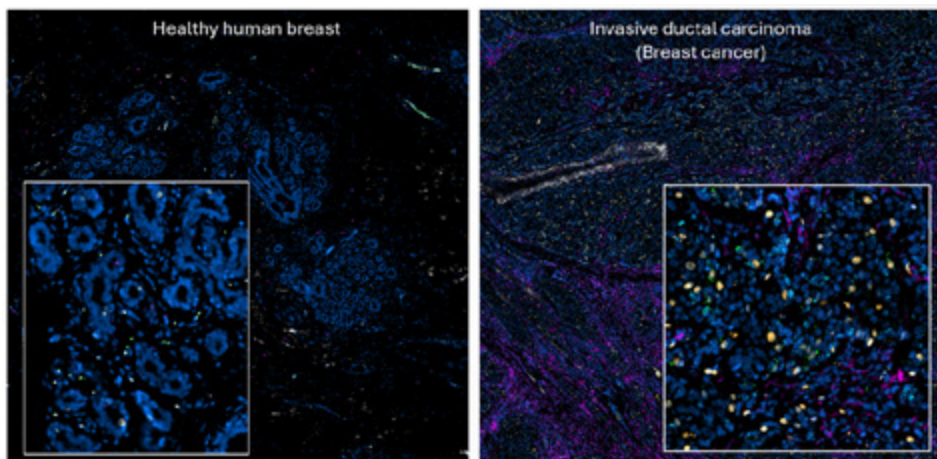


图 5. 小鼠大脑冠状组织切片。A) 复合图像; B) 局部放大图; C) 靶标阳性细胞的定量结果。该组织样品采用 Aluora 空间信号放大 8 重检测方案进行染色，并使用 Thermo Fisher 的 EVOS S1000 空间成像系统进行成像，结合 HALO® 分析软件进行数据分析。

如何设计空间成像实验

尽管基于荧光染料进行多重组织标记需要历经染色、洗脱、成像等多个实验步骤，但由此能生成丰富的空间生物学数据结果。成像平台的持续创新正不断提升其易用性和通量水平，助力科研人员克服空间蛋白质组学领域面临的各种挑战。与任何一项精密技术一样，对方法学精确性的关注是获得一致、高质量结果并深化生物学洞见的关键。空间成像实验中的主要挑战包括：

1. 组织样品的多样性
2. 实验设计与抗体 / 荧光染料的搭配
3. 图像采集
4. 区域分割与细胞分型
5. 可重复性与数据协调



空间成像技术为复杂的生物学研究提供全景式视角

空间成像技术能将组织切片转化为定量图谱——但前提是实验设计足以应对样品的变异性与分析的复杂性。

应对策略如下：

1. **最小化样品变异性：**通过控制样品来源差异、优化固定参数、规范切片策略以及降低自发荧光，可有效减少样品前处理阶段的变异。
2. **实验设计方案验证：**需验证抗体的灵敏度与特异性，优化染色方法的循环顺序，测试试剂的交叉反应性与残留，并在各阶段设置实验对照。
3. **优化图像采集：**可通过改进组织切片制备、曝光时间与对焦、照明条件，并全程追踪元数据量化及控制变异，从而设定合理的验收标准。
4. **提升区域分割与分型效果：**借助全切片可视化技术，综合标记物强度、共表达情况与形态学特征，并制定明确的接受与排除标准，可增强此环节的准确性。
5. **实现批次间可重复性与协调性：**可采用多位患者样品组、使用标准组织荧光切片、校正或去除自发荧光，以及进行跨仪器平台测试。

设计一次成功的空间成像实验，需要从样品制备到数据分析的每个阶段都进行周密规划与严格验证。尽管其复杂性可能令人望而生畏，但采用优化的实验流程、经过验证的试剂以及精心设计的实验方案，能显著降低数据变异并提升可重复性。对许多研究者而言，在生物学洞见与操作效率间取得最佳平衡，始于审慎决定检测标记物的数量，并选择稳定可靠的成像平台。

高通量组织成像: 让多重标记检测更加普及

在空间成像领域,并非荧光标记的数量越多越好。高通量多重成像平台虽能检测数十种标记物,但其实验流程往往非常复杂、图像采集耗时冗长、数据处理量庞大。而传统的低通量组织成像,又可能会遗漏研究者所需的关键生物学信息。

高通量组织成像为此提供了合适的解决方案。它通过单次扫描采集5-9种标记物的成像信息,在提供多重标记的深度洞察的同时,保持了实验流程的简洁、可重复与高性价比。其分析速度足以胜任常规科学研究,性能足以支撑深入的生物学探索,灵活性足以适应不断革新的研究问题。

EVOS™ S1000 空间生物学成像分析系统正是基于此理念开发而成,其整合了光谱实验优化的染料、经验证的抗体与试剂,以及直观的操作软件,使研究人员能够轻松搞定从实验方案设计到采集高质量空间生物学数据整个实验流程,而无需妥协于高重循环标记的种种权衡。

1) 空间成像实验流程

EVOS S1000空间成像系统支持从FFPE组织样品到单细胞水平定量结果的完整流程。多重光谱成像流程的主要实验步骤如下:

1. 样品制备与标记
2. 图像采集与探索
3. 区域分割、表型分析及空间分析



2) 仪器系统

EVOS™ S1000 空间成像系统专为多重免疫荧光设计,可在单轮实验中同时采集多达九个荧光通道,既能保护组织完整性,又避免了反复染色-成像实验循环。集成化的光谱拆分功能在图像采集过程中实时执行,可快速解析重叠的发射光谱,并提供光谱拆分的质量评估报告。

核心技术优势:

- 九色单次扫描高分辨率成像: 用于蛋白质定位与组织微环境图谱分析
- 兼容多种组织标记方法
- 成像循环次数少,更好地保持组织完整性
- 自动化、高质量的光谱解析功能

[观看 EVOS S1000 光谱解析软件实操视频](#)



3) 空间成像试剂

赛默飞可提供三种不同的标记方案及封片剂, 可兼容 EVOS S1000 及其他空间成像系统。



Invitrogen Alexa Fluor™ 直标一抗

直标一抗无需使用物种特异性二抗, 可加速染色流程。该系列抗体专为 FFPE 组织的一步法标记设计, 标记有 Alexa Fluor 或 Alexa Fluor Plus 染料, 是组织荧光成像的理想选择, 适用于单标或多重染色, 并能与常见及其他光谱成像仪兼容。

适用场景: 进行多重标记实验时, 可利用直标一抗实现对多个靶标的同步检测。这些抗体已在组织样品上经过验证, 使用的荧光基团与 EVOS S1000 空间成像系统及其他显微镜平台兼容。

ReadyLabel™ 抗体标记试剂盒

这款采用 Alexa Fluor/Alexa Fluor Plus 常用染料进行定制化荧光标记的试剂盒, 适合目前尚无市售的荧光标记抗体, 自行为一抗标记相应的荧光染料。无需进行抗体纯化——即使存在蛋白稳定剂也可使用, 能确保优异的信噪比。

适用场景: 当已有经过验证的一抗, 但尚无现成的直标抗体时; 或需要快速完成标记、手动操作时间极短且无需荧光标记的经验。

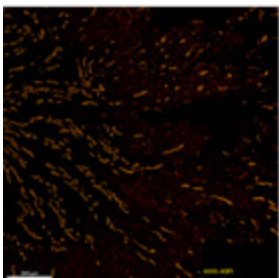
Aluora™ 空间信号放大试剂盒

采用酶介导的信号放大技术与非常明亮的荧光染料; 其共价沉积的荧光染料可耐受洗脱, 从而能够在多轮染色中重复使用同种属一抗, 且无交叉反应。

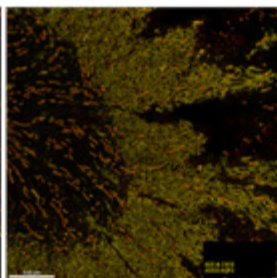
提供适用于抗小鼠、抗兔或链霉亲和素偶联一抗的单一染料及 HRP 试剂盒。

适用场景: 适用于低丰度靶标、一抗的量有限或样品背景复杂的情况。与 FFPE 样品中使用的传统二抗或其他放大技术相比, 可缩短曝光时间并改善信噪比。

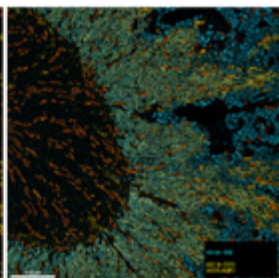
单色



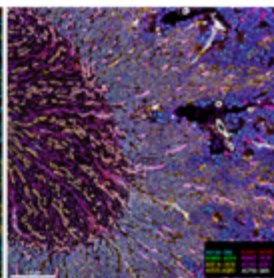
双色



3色



9色



更多色彩, 更多结果。 使用8种Aluora染料标记的小鼠肾脏FFPE样品, 经光谱拆分后的多视野区域图像。图版1-4显示了同一组织区域, 并说明了增加样品内标记靶标数量可提供更丰富的图像细节信息。使用 Invitrogen EVOS S1000 空间成像系统的20倍物镜进行图像采集。

空间成像实验流程 (推荐)

仪器平台:

EVOS S1000空间成像系统 (九重染色)

1a. FFPE 样品制备:

- 切片、脱蜡、抗原修复。

1b. 标记 (以下标记方法可混合使用):

- 方案A: 直标一抗 - 单步完成
- 方案B: ReadyLabel 试剂盒标记抗体 - 60分钟完成标记与染色
- 方案C: Aluora 信号放大 - 酶介导; 可进行多轮染色; 耐受洗脱

2. **实验对照与光谱解析:** EVOS S1000 空间成像系统软件可按需自动进行光谱拆分, 以生成高分辨率的多重免疫荧光图像。

3. **单次扫描:** 采集9通道合成图像结果, 光谱拆分在采集过程中同步运行。

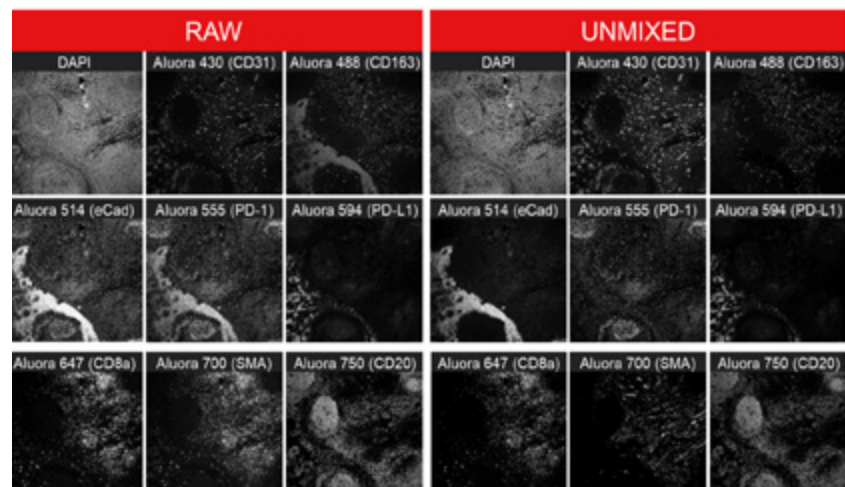
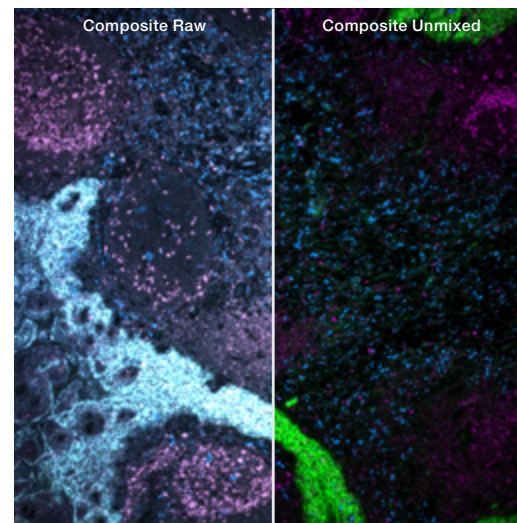
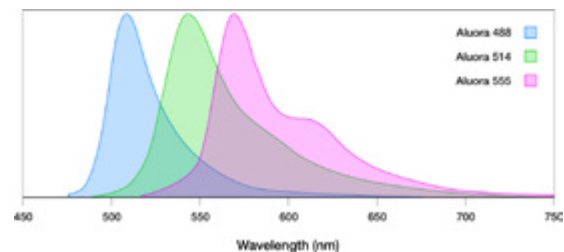
4. **导出与分析:** 保存经过光谱解析和图像拼接的OME-TIFF文件; 进行区域分割; 表型定量分析; 绘制微环境图谱 (例如, 分析免疫浸润与波形蛋白等间质细胞特征的分布关系)。

使用这些成像工具与技术的优势

- **更少循环, 更多颜色:** 每次扫描可检测九种荧光标记; 减少样品处理步骤, 保护抗原表位, 加快实验进程。
- **光谱数据质量可量化:** 光谱拆分报告提供数据的透明度, 对成像结果增强信心 (并可在需要时提供故障排除建议)。
- **更干净的数据, 更佳的分析:** 直标一抗可最大程度减少交叉反应; Aluora试剂既能增强弱信号靶标, 又支持同种属一抗的重复使用。

即刻体验 EVOS™ S1000 空间成像系统3D仪器模型!

EVOS S1000 空间成像系统及其经过验证的抗体与试剂, 为获得中通量、多重标记并经过定量光谱解析的空间数据集提供了可靠的完整解决方案。追求速度和流程简洁性及特异性时, 可选择直标一抗; 需要快速定制偶联物时, ReadyLabel是理想选择; 而当灵敏度和靶标活性是关键考量因素时, 则可选用Aluora空间生物学试剂。这一完整的产品组合共同缩短了获得科学洞察的时间, 并加强了在肿瘤学、免疫学及其他科研领域的单细胞空间分析能力。



[观看EVOS S1000空间成像系统软件实操。](#)

应用实例

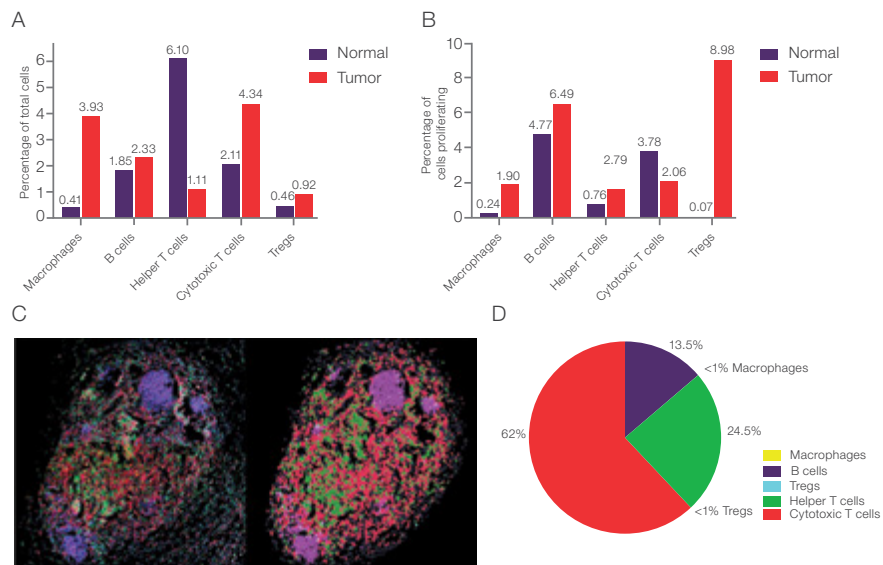
结肠腺癌肿瘤微环境研究

研究目的:

结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 是全球第二大癌症相关死亡原因。结直肠肿瘤在患者间表现出显著差异性, 同时在单个肿瘤内部也存在高度异质性。空间生物学通过在完整组织微环境的生理情境中实现高通量分子特征解析, 使得对人类肿瘤组织微环境的精细表征成为可能。将先进的染色、成像和分析技术整合至基于 EVOS S1000 空间成像系统的多重检测流程中, 可对组织结构和细胞表型获得高度精细的解析。促进深入理解 CRC 肿瘤独特的分子特征和结构特性。

实验设计:

- 多重标记 panel 及单色对照的制备:** 来自不同供体的正常结肠组织和结肠腺癌组织制备 9-plex 样本, 同时制备单色对照和未染色样本用于背景校正。
- 免疫组织化学 (IHC) 及染色:** FFPE 组织切片经标准脱蜡、复水处理后, 使用柠檬酸酐热诱导抗原修复 (20 分钟)。组织自发荧光通过含 NaOH (24 mM) 和 H₂O₂ (4.5%) 的 PBS 白光漂白 30 分钟降低。随后, 组织在 0.1% Triton X-100 中通透化 30 分钟, 并在含 3% BSA 与 5% NGS 的封闭液中封闭 1 小时。
- 图像分析:** FFPE 组织切片经标准脱蜡、复水处理后, 使用柠檬酸酐热诱导抗原修复 (20 分钟)。组织自发荧光通过含 NaOH (24 mM) 和 H₂O₂ (4.5%) 的 PBS 白光漂白 30 分钟降低。随后, 组织在 0.1% Triton X-100 中通透化 30 分钟, 并在含 3% BSA 与 5% NGS 的封闭液中封闭 1 小时。



对整张组织切片及腺癌肿瘤三级淋巴结构进行细胞类型鉴定与表型分析。A) 健康结肠组织与结肠肿瘤组织全组织扫描中各细胞类型的百分比。B) 健康结肠组织与结肠肿瘤组织全组织扫描中各细胞类型的增殖百分比。C) 结肠腺癌肿瘤三级淋巴结构 (TLS) 放大图, 由图 3C 中的黄色椭圆标出。标记物以伪彩方式显示, 与图 D 中一致。右图: 在 HALO 软件中进行细胞核分割和细胞表型分析后, TLS 内鉴定出的细胞。D) 结肠腺癌 TLS 的细胞组成分析。

产品订购指南

产品描述	Cat. No.
成像系统	
EVOS S1000 Spatial Imaging System	AMFS1000
空间生物学验证直标一抗	
Alpha-Smooth Muscle Actin Monoclonal Antibody (1A4), Alexa Fluor 420	758-9760-82
CD68 Monoclonal Antibody (KP1), Alexa Fluor Plus 488	752-0688-82
CD20 Monoclonal Antibody (L26), Alexa Fluor 514	753-0202-94
CD4 Monoclonal Antibody (N1UG0), Alexa Fluor Plus 555	754-2444-82
CD8 alpha Monoclonal Antibody (C8/144B), Alexa Fluor Plus 594	755-0085-82
FOXP3 Monoclonal Antibody (PCH101), Alexa Fluor Plus 647	756-4776-82
Pan-Cytokeratin Monoclonal Antibody (AE1/AE3), Alexa Fluor 700	56-9003-82
Ki-67 Monoclonal Antibody (SolA15), Alexa Fluor Plus 750	757-5698-82
实验试剂	
DAPI solution, 1 mg/mL	62248
ProLong Glass Antifade Mountant	P36980
PBS, pH 7.4	10010049

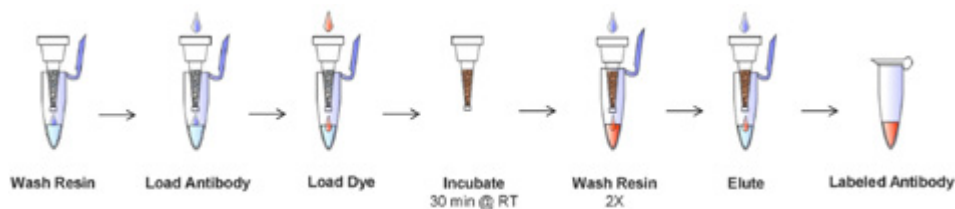
脑肿瘤微环境

研究目的:

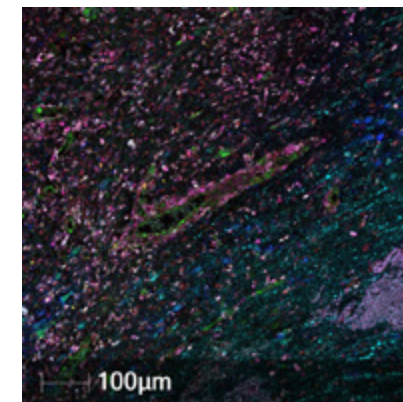
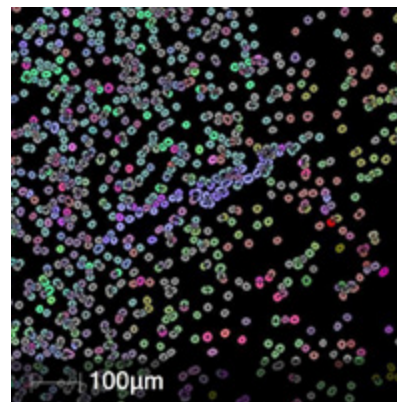
肿瘤微环境的空间研究对于理解不同细胞类型之间的复杂相互作用及其在疾病进展中的作用至关重要。脑肿瘤微环境的高度复杂性既带来了科学探索的挑战,也提供了独特的研究机会。深入解析这一环境中的空间关系和分子动态,对于推动研究策略的优化具有重要意义。通过结合先进的成像技术,如 Invitrogen™ EVOS™ S1000 空间成像系统,以及创新的标记方案,研究者能够获得蛋白质和核糖核酸空间定位的深度信息,这是传统显微技术难以实现的。

实验设计:

免疫组织化学分析在来自一名 73 岁男性的健康人额叶 FFPE (甲醛固定石蜡包埋) 组织样本以及来自一名 41 岁男性额叶的混合性胶质瘤 (星形细胞瘤和少突胶质细胞瘤) 脑肿瘤组织样本上进行。为暴露靶蛋白,对脱蜡切片进行了热诱导表位修复 (heat-induced epitope retrieval),使用 Leica Biosystems 的 BOND™ Epitope Retrieval Solution 2 (pH 9) 处理 20 分钟,随后冷却 5 分钟,并用去离子水冲洗 5 分钟。组织样本在 1xPBS 中含 0.1% Triton™ X-100 的溶液中通透化 30 分钟,并在室温下使用 1xPBS 中含 3% BSA 与 5% NGS 的封闭液封闭 1 小时。封闭液去除后,组织样本在湿盒中于 4° C 下过夜孵育,使用下表所示的一抗偶联物进行标记。



使用 ReadyLabel™ 抗体标记试剂盒对未偶联抗体进行标记的工作流程



HALO 细胞分割与检测分析的可视化,展示了在面板染色的脑肿瘤组织样本中选定 ROI 的情况。不同细胞类型以不同颜色表示,多标记阳性的细胞显示为混合颜色。(b) 脑肿瘤组织样本中 ROI 的原始光谱解析及拼接荧光图像,对应于 (a) 中所示的细胞分析。

产品订购指南

产品描述	Cat. No.
IHC 验证直标一抗	
Vimentin Monoclonal Antibody (V9), Alexa Fluor 420	758-9897-82
GFAP Monoclonal Antibody (GA5), Alexa Fluor 488	53-9892-82
PCNA Monoclonal Antibody (PC10), Alexa Fluor Plus 555	754-9910-82
p53 Monoclonal Antibody (DO-7)	MA5-12557
CD68 Monoclonal Antibody (KP1), Alexa Fluor™ Plus 750	757-0688-82
抗体偶联试剂盒	
ReadyLabel Alexa Fluor 514 Antibody Labeling Kit	R10720
ReadyLabel Alexa Fluor 594 Antibody Labeling Kit	R10722
ReadyLabel Alexa Fluor 647 Antibody Labeling Kit	R10710
一抗	
Synaptophysin Monoclonal Antibody (EP10)	14-6525-82
MAP2 Monoclonal Antibody (M13)	13-1500
Olig2 (OLIG2/7366R)	10215-RBM6-P1
实验试剂	
DAPI Nucleic Acid Stain	62248
ProLong Glass Antifade Mountant	P36980
1X PBS, pH 7.4	10010049
EVOS S1000 Spatial Imaging System	AMFS1000
FFPE Human Frontal Lobe Tissue	Biochain T2234051
FFPE Human Mixed Glioma Tissue	Biochain T2235035-12

乳腺癌

研究目的:

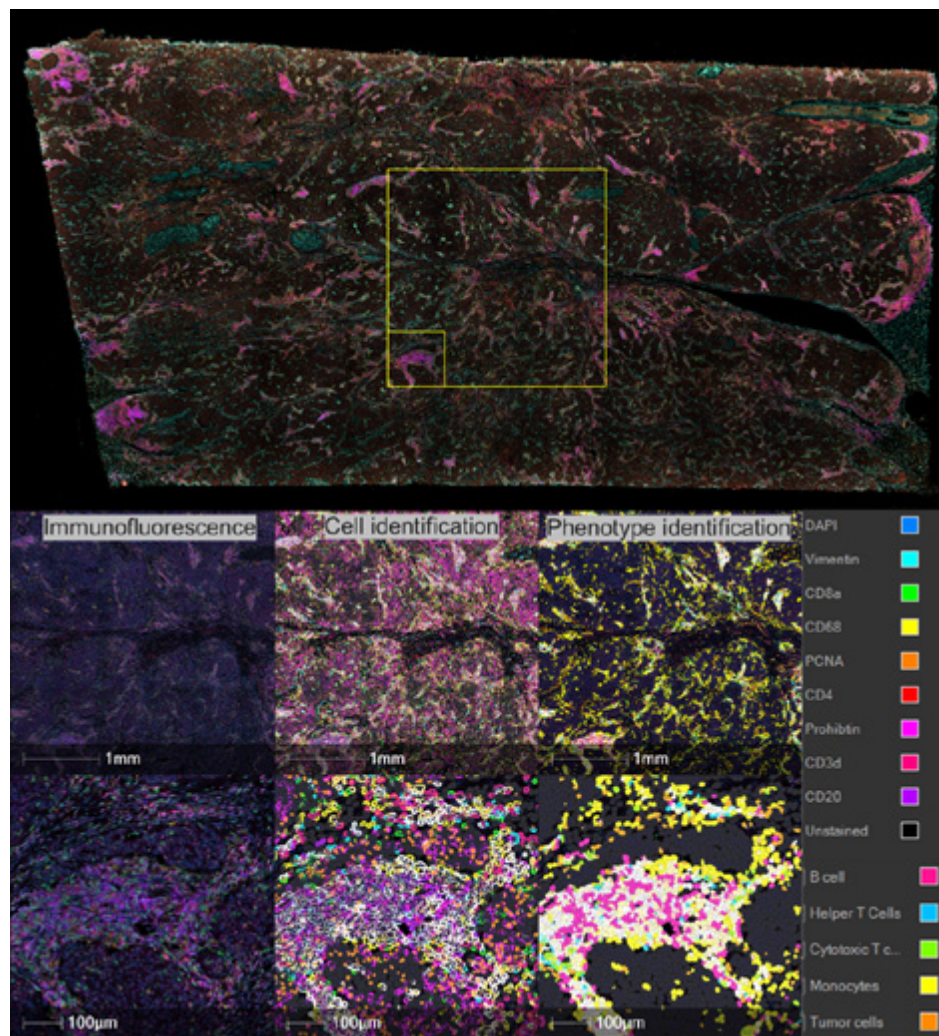
乳腺癌以多样的细胞表型及肿瘤及其周围组织中动态的细胞相互作用为特征,侵袭性导管癌 (IDC) 是乳腺癌中最常见的类型。高通量空间蛋白质组学使研究者能够以前所未有的精度绘制这些相互作用图谱,从而深入了解细胞功能、信号通路及蛋白质的空间分布,有助于发现新的生物标志物和潜在治疗靶点,从而推动个性化医学的发展。

实验流程:

- 1. 确定靶标与抗体:** 选择经过验证的乳腺癌标志物, 制定一抗与癌细胞样本及对照细胞样本。
- 2. 多重染色设置:** 考虑标记物空间定位与光谱重叠, 调整各标记物染色强度与荧光亮度, 以确保可分辨性。
- 3. 确定荧光标记与浓度优化:** 根据光谱范围选择合适的 Aluora 荧光试剂。根据目标抗体需求调整一抗浓度, 低浓度适用于信号强烈的标记, 高浓度适用于信号弱的标记。
- 4. 成像与数据采集:** 使用 EVOS S1000 空间成像系统采集多重荧光图像。对图像进行拼接和光谱解析, 确保不同标记物信号可分辨。

产品订购指南

产品描述	Cat. No.
成像系统	
EVOS S1000 Spatial Imaging System	AMFS1000
IDC标志物抗体	
Vimentin Monoclonal Antibody (V9)	MA5-11883
CD8a Monoclonal Antibody (C8/144B)	14-0085-82
CD68 Monoclonal Antibody (KP1)	14-0688-82
PCNA Monoclonal Antibody (PC10)	13-3900
CD4 Monoclonal Antibody (N1UG0)	14-2444-82
Prohibitin Monoclonal Antibody (II-14-10)	MA5-12858
CD3d Recombinant Rabbit Monoclonal Antibody (JJ08-97)	MA5-32462
CD20 Monoclonal Antibody (L26)	14-0202-82



使用 8-plex Aluora 空间放大检测和 DAPI 染色的侵袭性导管癌组织。处理并染色的人乳腺侵袭性导管癌组织样本采用 Aluora Spatial Rainbow Kit (货号 A40002450)。图像采集及光谱解析在 EVOS S1000 空间成像系统上完成。数据用于单细胞分割及表型分析,以揭示免疫细胞亚群的空间分布。多重免疫荧光拼接图像的分析在 Indica Labs HALO 软件 (版本 4.0.5107.318) 中进行。

总结

随着空间成像技术的持续发展，研究者面临的选择范围越来越宽——从侧重简便的低通量成像技术，到能够进行深度分子分析的高通量技术平台。然而，越来越多的科研人员发现，中通量成像提供了理想的平衡：拥有足以捕捉生物学复杂性的标记物数量，同时保持实验流程的高效、可重复及可扩展性。

空间成像的前景不仅在于技术本身，更在于它赋予研究者的能力：

- 更深入地理解细胞间的相互关系
- 更好地阐释组织微环境
- 为生物标志物发现和转化医学研究带来新机遇

目前空间组学这一研究领域发展迅速，总体而言，这一多重成像技术的重心转移反映了一个更广泛的趋势：从解析孤立信号转向追求系统级认知。这种新的空间生物学成像技术不仅仅是在增强现有实验流程——它正在重新定义科研领域与临床发现的未来。

参考文献：

1. <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/BID/Application-Notes/evos-s1000-spatial-imaging-system-app-note.pdf>
2. Galon J, Costes A, Sanchez-Cabo F et al. (2006) Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome. *Science* 313(5795):1960–1964. doi: 10.1126/science.1129139
3. Fridman WH, Pagès F, Sautès-Fridman C, Galon J (2012) The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome. *Nat Rev Cancer* 12:298–306. doi: 10.1038/nrc3245

探索更多技术资源

[空间生物学成像工作流程选择指南](#)

[利用空间生物学直标抗体与 EVOS S1000 空间成像系统研究结肠腺癌肿瘤微环境](#)

[使用多重免疫组化技术对脑肿瘤微环境及相关病理状态进行流程化的空间组学分析](#)

了解更多详情，请登录 thermofisher.cn/evoss1000



赛默飞
官方微信



赛默飞
生命科学小助手

免费服务电话：800 820 8982/400 820 8982

信息咨询邮箱：cnbidmarketing@thermofisher.com

www.thermofisher.cn

ThermoFisher
SCIENTIFIC