

Arbeitsablauf für unsere Spatial- Transcriptome-Sequencing-Produkte



Arbeitsablauf für unsere Spatial-Transcriptome-Sequencing-Produkte

Mit der räumlichen Sequenzierung des Transkriptoms wird die Genexpression in Zusammenhang mit der Gewebe-Morphologie gebracht. Um die Genexpression mit histologischen Bilddaten zu kombinieren, durchläuft eine Probe zahlreiche Schritte, welche wir hier genauer erklären wollen.

Wenn Sie Gewebe als FFPE-Block einsenden, dann wird dieser Block erst geschnitten. Die daraus resultierenden Schnitte werden auf einem von 10x empfohlenen Objektträger platziert. Es ist wichtig, dass der Schnitt innerhalb des analysierbaren Bereichs des Objektträgers platziert wird. Wenn Sie Ihr Gewebe selbst schneiden und die FFPE-Schnitte auf einem Standard-Objektträger einsenden, dann könnte unser [Informationsflyer](#) zu den empfohlenen Objektträgern und den analysierbaren Bereichen darauf interessant für Sie sein.



Möchten Sie mehr erfahren?

Für weitere Informationen besuchen Sie unsere Website.

www.cephg.de/spatial-transcriptome-sequencing

Der Gewebeschnitt auf dem Objektträger wird entparaffinisiert. Anschließend wird der Schnitt mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt (H&E-Färbung). Von diesem eingefärbten Gewebe wird dann ein Bild erstellt. Dieses Bild wird später in der Analyse verwendet und mit den Sequenzierdaten kombiniert, um die Genexpression in Zusammenhang mit den morphologischen Gewebestrukturen zu bringen. Sollte der Gewebeschnitt größer als 6,5 mm x 6,5 mm sein, kann dieses Bild auch verwendet werden, um den Bereich zu bestimmen, der analysiert werden soll. Nach der Bildgebung werden die Quervernetzungen entfernt und die Sonden an die RNA im Gewebe hybridisiert. Im nächsten Schritt wird der Standard-Objektträger zusammen mit dem 10x Visium-Objektträger in den Visium CytAssist eingelegt, um das Gewebe in die Nähe des Visium-Objektträgers zu bringen. Der Visium CytAssist überträgt die transkriptomischen Sonden vom Standard-Objektträger auf den 10x Visium Spatial Gene Expression-Objektträger. Im Visium CytAssist wird nochmals eine Bildaufnahme des Aufnahmebereichs erstellt. Anschließend werden die Sonden vom Gewebe freigesetzt und von den Oligonukleotiden auf dem Visium-Objektträger gebunden. Außerhalb des Visium CytAssist werden die Sonden verlängert, vervielfältigt und vom 10x Visium-Objektträger gelöst. Für die anschließende Erstellung der Library werden Indexe hinzugefügt. Die erstellte Library wird dann auf einer unserer Illumina-Sequenzierplattformen sequenziert. In der abschließenden Datenanalyse werden die bei der Sequenzierung generierten Daten mit dem H&E-Bild kombiniert, um die Genexpression in ihren morphologischen Kontext zu bringen. Der gesamte Arbeitsablauf ist in Abbildung 1 zu sehen.

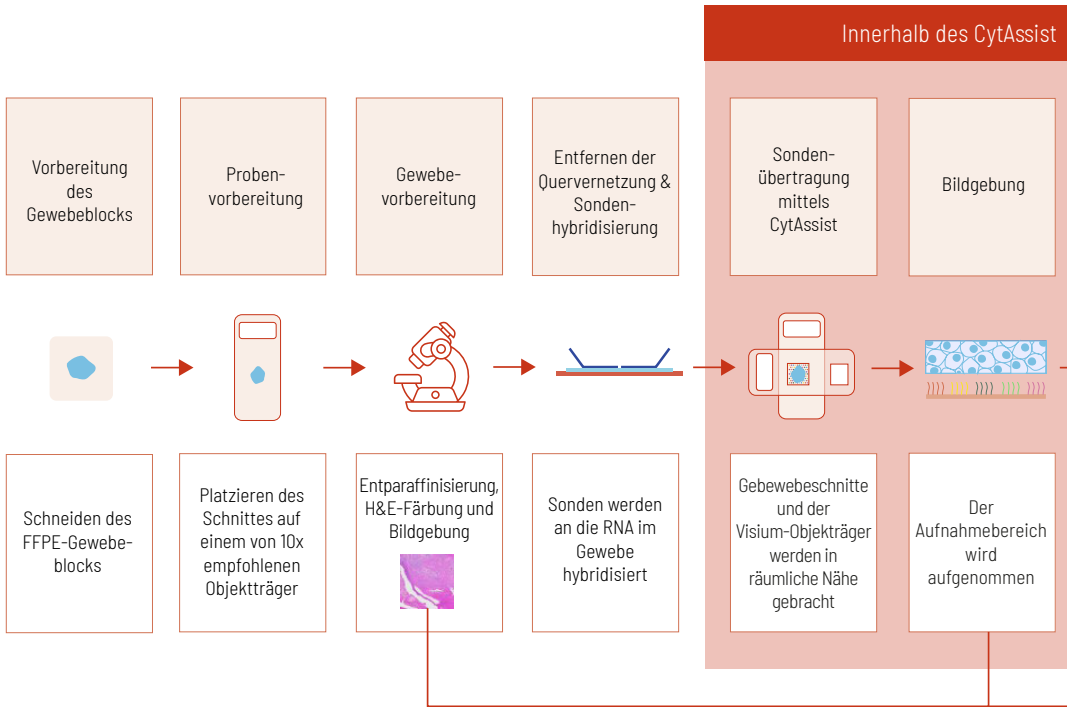


Abbildung 1 | Arbeitsablauf für Spatial Transcriptome Sequencing. Zahlreiche Schritte sind notwendig, um die Genexpression in einen morphologischen Kontext zu bringen.

