



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 116194590 A

(43) 申请公布日 2023. 05. 30

(21) 申请号 202180064216.2

C · 乌伊廷科 E · 格拉齐奥索

(22) 申请日 2021.09.17

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

专利代理师 岑晓东

(30) 优先权数据

63/080,547 2020.09.18 US

63/155,173 2021.03.01 US

(51) Int. Cl.

G12Q 1/6841 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2023.03.20

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2021/050929 2021.09.17

(87) PCT国际申请的公布数据

W02022/061150 EN 2022.03.24

(71) 申请人 10X基因组学有限公司

地址 美国加利福尼亚

(72) 发明人 A · M · 滕托里 H · 基姆 邢思远

F · A · 巴瓦 R · 巴拉德瓦杰

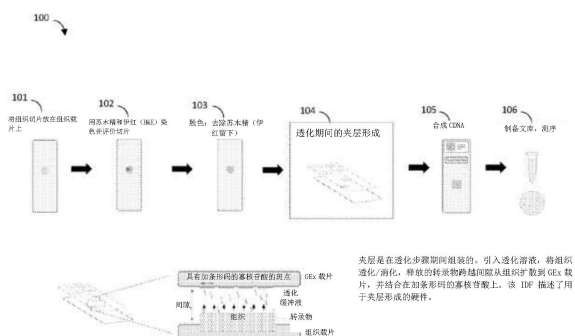
权利要求书12页 说明书61页 附图69页

(54) 发明名称

样品处理设备和图像配准方法

(57) 摘要

提供了一种用于将样品对准到阵列的方法。样品的样品图像的图像可以由数据处理器接收。所述样品图像具有第一分辨率。包括阵列与样品的叠加和阵列基准的阵列图像可以由数据处理器接收。阵列图像具有低于样品图像的第一分辨率的第二分辨率。样品图像可以通过对准样品图像和阵列图像来配准到阵列图像。可基于配准生成对准图像。对准图像可包括样品图像与阵列的叠加。对准图像可以由数据处理器提供。提供了一种用于检测与阵列相关联的基准的方法。还提供了执行所述方法的系统和非暂时性计算机可读介质。



1. 一种用于将样品对准到阵列的方法,所述方法包括:

由数据处理器接收包括所述样品的样品图像的样品图像数据,所述样品图像具有第一分辨率;

由所述数据处理器接收包括阵列图像的阵列图像数据,所述阵列图像包括阵列与所述样品的叠加以及阵列基准,所述阵列图像具有低于所述样品图像的第一分辨率的第二分辨率;

由所述数据处理器通过对准所述样品图像和所述阵列图像将所述样品图像配准到所述阵列图像;

由所述数据处理器基于所述配准生成对准图像,所述对准图像包括所述样品图像与所述阵列的叠加;以及

由所述数据处理器提供所述对准图像。

2. 根据前述权利要求所述的方法,其中所述样品图像数据是从用户或从远离所述数据处理器的计算装置接收的。

3. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述对准图像还包括与所述样品对准的阵列基准。

4. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述样品图像还包括样品基准,并且所述配准还包括将所述阵列基准与所述样品基准对准。

5. 根据权利要求4所述的方法,其中所述样品图像是包括边缘的第一基板上的样品的,并且其中所述样品基准包括所述边缘。

6. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述样品基准包括由用户施加到所述样品放置在其上的第一基板的图章或贴纸,所述样品基准界定所述样品在所述样品基板上放置在其中的样品区域。

7. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述样品基准基于一个或多个样品大小来配置。

8. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述样品位于所述第一基板上,并且所述阵列位于第二基板上。

9. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述样品基准位于所述第一基板的第一侧上,所述第一基板的第一侧与所述第一基板的所述样品位于其上的第二侧相对,并且所述阵列图像以适合在同一焦平面中获取所述样品和所述样品基准的景深获取。

10. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述阵列基准位于第二基板的第一侧上,所述第二基板的第一侧与所述第二基板的所述阵列位于其上的第二侧相对。

11. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述样品基准在所述第一基板上定位成邻近样品、在所述样品内或远离所述样品。

12. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述阵列基准在所述第二基板上定位成邻近配置在所述第二基板上的试剂、在所述试剂内或远离所述试剂。

13. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述第一基板包括一个或多个样品基准并且/或者所述第二基板包括一个或多个阵列基准。

14. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中获取所述阵列图像,使得所述阵列的一部分基于所述阵列基准和/或所述样品基准的位置叠加在所述样品的一部分上。

15. 一种用于将样品对准到阵列的方法,所述方法包括:

由数据处理器接收包括所述样品和样品基准的样品图像的样品图像数据,所述样品图像具有第一分辨率;

由所述数据处理器接收包括第一仪器基准和第二仪器基准的仪器基准图像的仪器基准数据;

由所述数据处理器接收包括阵列图像的阵列图像数据,所述阵列图像具有低于所述样品图像的第一分辨率的第二分辨率,所述阵列图像包括叠加在所述样品和所述样品基准上的阵列和阵列基准;

由所述数据处理器通过对准所述第一仪器基准和所述阵列基准将所述仪器基准图像配准到所述阵列图像;

由所述数据处理器通过对准所述第二仪器基准和所述样品基准将所述仪器基准图像配准到所述样品图像;

由所述数据处理器基于将所述仪器基准图像配准到所述样品图像并且基于将所述仪器基准图像配准到所述阵列图像来生成对准图像,所述对准图像包括与所述阵列对准的样品;以及

由所述数据处理器提供所述对准图像。

16. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述样品图像包括多个样品部分图像,每个样品部分图像与所述样品的一部分相关联,其中每个样品部分图像的大小小于所述样品图像的单个视场的大小。

17. 根据权利要求16所述的方法,其中将所述样品图像配准到所述阵列图像还包括

由所述数据处理器裁剪所述样品图像以确定所述多个样品部分图像;以及

将所述样品图像中的一个或多个样品部分图像配准到所述阵列图像中的样品的相应部分。

18. 根据权利要求17所述的方法,其中在将所述样品图像配准到所述阵列图像之后执行将所述样品图像中的一个或多个样品部分图像配准到所述阵列图像中的样品的相应部分。

19. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,还包括由所述数据处理器在样品保持器内将所述样品和所述阵列对准,所述样品保持器被构造成接收包括所述样品的第一基板和包括所述阵列的第二基板。

20. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述阵列图像包括多个阵列部分图像,每个阵列部分图像与所述阵列的一部分相关联,其中每个阵列部分图像的大小小于所述阵列图像的单个视场的大小。

21. 根据权利要求20所述的方法,其中所述配准还包括

由所述数据处理器确定所述阵列图像中的多个阵列部分图像;以及

由所述数据处理器将所述阵列图像中的一个或多个阵列部分图像配准到所述样品图像中的样品的相应部分。

22. 根据权利要求16-21中任一项所述的方法,其中所述样品图像包括所述阵列与所述样品的叠加以及所述阵列基准。

23. 根据权利要求20所述的方法,其中所述样品和所述阵列在单个基板上。

24. 一种用于处理样品图像数据的方法,包括:

由数据处理器接收第一样品图像数据集,所述第一样品图像数据集包括对应于样品的各部分的第一多个样品部分图像,所述样品部分图像中的每一个具有第一分辨率;

由所述数据处理器接收包括所述样品的样品图像的第二样品图像数据集,所述样品图像具有低于所述样品部分图像中的每一个的第一分辨率的第二分辨率;

由所述数据处理器将一个或多个样品部分图像配准到所述样品图像中的样品的相应部分。

25. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述样品图像包括多个样品部分图像,每个样品部分图像与所述样品的一部分相关联,所述方法还包括

由所述数据处理器接收包括阵列图像的阵列图像数据集,所述阵列图像包括阵列和阵列基准的单个视场;

由所述数据处理器确定所述阵列基准和所述样品在所述阵列图像的单个视场内;以及

由所述数据处理器使用所述阵列图像确定所述阵列的一个或多个试剂位置;其中所生成的对准图像包括所述一个或多个试剂位置。

26. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述样品图像包括多个样品部分图像,每个样品部分图像与所述样品的一部分相关联,并且其中所述阵列图像包括多个阵列部分图像,每个阵列部分图像与所述阵列的一部分相关联并且包括单个视场,所述配准还包括

由所述数据处理器确定所述样品图像中的多个样品部分图像;

由所述数据处理器将所述样品图像中的一个或多个样品部分图像配准到所述阵列图像中的样品的相应部分;

由所述数据处理器确定所述阵列图像中的多个阵列部分图像;以及

由所述数据处理器将所述阵列图像中的一个或多个阵列部分图像配准到所述样品图像中的样品的相应部分。

27. 一种用于将样品对准到阵列的系统,所述系统包括:

样品保持器,所述样品保持器包括

第一保持机构,所述第一保持机构被构造成保持接收在所述第一保持机构内的第一基板,所述第一基板包括样品,和

第二保持机构,所述第二保持机构被构造成保持接收在所述第二保持机构内的第二基板,所述第二基板包括阵列,所述样品保持器被构造成调节所述第一基板相对于所述第二基板的位置,以使所述样品的全部或一部分与所述阵列对准;

显微镜,所述显微镜可操作地联接到所述样品保持器,所述显微镜被构造成观察所述样品保持器内的第一基板和第二基板;并且获取与所述样品和/或所述阵列相关联的图像数据;以及

第一计算装置,所述第一计算装置通信地联接到所述显微镜和所述样品保持器,所述计算装置包括显示器、数据处理器和存储计算机可读和可执行指令的非暂时性计算机可读存储介质,所述计算机可读和可执行指令在被执行时使所述数据处理器执行操作,所述操作包括

接收包括所述样品的样品图像的样品图像数据,所述样品图像具有第一分辨率;

接收包括阵列图像的阵列图像数据,所述阵列图像具有低于所述样品图像的第一分辨率的第二分辨率,所述阵列图像包括叠加在所述样品上的阵列和阵列基准;

通过对准所述样品图像和所述阵列图像将所述样品图像配准到所述阵列图像;

基于所述配准生成对准图像,所述对准图像包括与所述阵列对准的样品;以及提供所述对准图像。

28.根据前述权利要求所述的系统,其中所述样品图像数据是从用户或从远离所述数据处理器的计算装置接收的。

29.根据前述权利要求中任一项所述的系统,其中所述对准图像还包括与所述样品对准的阵列基准。

30.根据前述权利要求中任一项所述的系统,其中所述样品图像还包括样品基准,并且所述配准还包括将所述阵列基准与所述样品基准对准。

31.根据权利要求29所述的系统,其中所述样品图像是包括边缘的第一基板上的样品的,并且其中所述样品基准包括所述边缘。

32.根据前述权利要求中任一项所述的系统,其中所述样品基准包括由用户施加到所述样品放置在其上的第一基板的图章或贴纸,所述样品基准界定所述样品在所述第一基板上放置在其中的样品区域。

33.根据前述权利要求中任一项所述的系统,其中所述样品基准基于一个或多个样品大小来配置。

34.根据前述权利要求中任一项所述的系统,其中所述样品位于所述第一基板上,并且所述阵列位于第二基板上。

35.根据前述权利要求中任一项所述的系统,其中所述样品基准位于所述第一基板的第一侧上,所述第一基板的第一侧与所述第一基板的所述样品位于其上的第二侧相对,并且所述阵列图像以适合在同一焦平面中获取所述样品和所述样品基准的景深获取。

36.根据前述权利要求中任一项所述的系统,其中所述阵列基准位于第二基板的第一侧上,所述第二基板的第一侧与所述第二基板的所述阵列位于其上的第二侧相对。

37.根据前述权利要求中任一项所述的系统,其中所述样品基准在所述第一基板上定位成邻近样品、在所述样品内或远离所述样品。

38.根据前述权利要求中任一项所述的系统,其中所述阵列基准在所述第二基板上定位成邻近配置在所述第二基板上的试剂、在所述试剂内或远离所述试剂。

39.根据前述权利要求中任一项所述的系统,其中所述第一基板包括一个或多个样品基准并且/或者所述第二基板包括一个或多个阵列基准。

40.根据前述权利要求中任一项所述的系统,其中获取所述阵列图像使得所述阵列的一部分基于所述阵列基准和/或所述样品基准的位置叠加在所述样品的一部分上。

41.一种用于将样品对准到阵列的系统,所述系统包括:

样品保持器,所述样品保持器包括

第一保持机构,所述第一保持机构被构造成保持接收在所述第一保持机构内的第一基板,所述第一基板包括样品,和

第二保持机构,所述第二保持机构被构造成保持接收在所述第二保持机构内的第二基板,所述第二基板包括阵列,所述样品保持器被构造成调节所述第一基板相对于所述第二

基板的位置,以使所述样品的全部或部分与所述阵列对准;

显微镜,所述显微镜可操作地联接到所述样品保持器,所述显微镜被构造成观察所述样品保持器内的第一基板和第二基板;并且获取与所述样品和/或所述阵列相关联的图像数据;以及

第一计算装置,所述第一计算装置通信地联接到所述显微镜和所述样品保持器,所述计算装置包括显示器、数据处理器和存储计算机可读和可执行指令的非暂时性计算机可读存储介质,所述计算机可读和可执行指令在被执行时使所述数据处理器执行操作,所述操作包括

接收包括所述样品和样品基准的样品图像的样品图像数据,所述样品图像具有第一分辨率;

接收包括第一仪器基准和第二仪器基准的仪器基准图像的仪器基准数据;

接收包括阵列图像的阵列图像数据,所述阵列图像具有低于所述样品图像的第一分辨率的第二分辨率,所述阵列图像包括叠加在所述样品和所述样品基准上的阵列和阵列基准;

通过对准所述第一仪器基准和所述阵列基准将所述仪器基准图像配准到所述阵列图像;

通过对准所述第二仪器基准和所述样品基准将所述仪器基准图像配准到所述样品图像;

基于将所述仪器基准图像配准到样品阵列图像并且基于将所述仪器基准图像配准到所述阵列图像来生成对准图像,所述对准图像包括与所述阵列对准的样品;以及

提供所述对准图像。

42. 根据前述权利要求中任一项所述的系统,其中所述样品图像包括多个样品部分图像,每个样品部分图像与所述样品的一部分相关联,其中每个样品部分图像的大小小于所述样品图像的单个视场的大小。

43. 根据权利要求42所述的系统,其中所述配准还包括

由所述数据处理器裁剪所述样品图像以确定所述多个样品部分图像;以及

将所述样品图像中的一个或多个样品部分图像配准到所述阵列图像中的样品的相应部分。

44. 根据权利要求43所述的系统,其中在将所述样品图像配准到所述阵列图像之后执行将所述样品图像中的一个或多个样品部分图像配准到所述阵列图像中的样品的相应部分。

45. 根据前述权利要求中任一项所述的系统,其中所述数据处理器还被配置成在样品保持器内将所述样品和所述阵列对准,所述样品保持器被构造成接收包括所述样品的第一基板和包括所述阵列的第二基板。

46. 根据前述权利要求中任一项所述的系统,其中所述阵列图像包括多个阵列部分图像,每个阵列部分图像与所述阵列的一部分相关联,其中每个阵列部分图像的大小小于所述阵列图像的单个视场的大小。

47. 根据权利要求46所述的系统,其中所述配准还包括

确定所述阵列图像中的多个阵列部分图像;以及

将所述阵列图像中的一个或多个阵列部分图像配准到所述样品图像中的样品的相应部分。

48. 根据前述权利要求中任一项所述的系统, 其中所述样品图像包括多个样品部分图像, 每个样品部分图像与所述样品的一部分相关联, 并且所述阵列图像包括单个视场, 所述方法还包括

接收包括阵列图像的阵列图像数据集, 所述阵列图像包括阵列和阵列基准的单个视场;

确定所述阵列基准和所述样品在所述阵列图像的单个视场内; 以及

使用所述阵列图像确定所述阵列的一个或多个试剂位置; 其中所生成的对准图像包括所述一个或多个试剂位置。

49. 根据前述权利要求中任一项所述的系统, 其中所述样品图像包括多个样品部分图像, 每个样品部分图像与所述样品的一部分相关联, 并且其中所述阵列图像包括多个阵列部分图像, 每个阵列部分图像与所述阵列的一部分相关联并且包括单个视场, 所述配准还包括

确定所述样品图像中的多个样品部分图像;

将所述样品图像中的一个或多个样品部分图像配准到所述阵列图像中的样品的相应部分;

确定所述阵列图像中的多个阵列部分图像; 以及

将所述阵列图像中的一个或多个阵列部分图像配准到所述样品图像中的样品的相应部分。

50. 一种存储指令的非暂时性计算机可读介质, 所述指令在由至少一个数据处理器执行时使所述至少一个数据处理器执行操作, 所述操作包括:

接收包括样品的样品图像的样品图像数据, 所述样品图像数据从可操作地联接到所述至少一个数据处理器和样品保持器的显微镜接收, 所述样品图像具有第一分辨率, 所述显微镜被构造成观察所述样品保持器内的包括所述样品的第一基板;

从所述显微镜接收包括阵列图像的阵列图像数据, 所述阵列图像具有低于来自所述显微镜的样品图像的第一分辨率的第二分辨率, 所述阵列图像包括叠加在所述样品上的阵列和阵列基准, 所述显微镜被构造成观察包括叠加在所述样品上的阵列和阵列基准的第二基板;

通过对准所述样品图像和所述阵列图像将所述样品图像配准到所述阵列图像;

基于所述配准生成对准图像, 所述对准图像包括与所述阵列对准的样品; 以及提供所述对准图像。

51. 一种用于检测与阵列相关联的基准的方法, 所述方法包括:

由数据处理器接收包括第一阵列图像的第一阵列图像数据, 所述第一阵列图像包括阵列和阵列基准;

由所述数据处理器接收包括第二阵列图像的第二阵列图像数据, 所述第二阵列图像包括所述阵列与样品的叠加以及所述阵列基准, 其中在所述叠加中所述样品遮蔽所述阵列基准;

由所述数据处理器基于第一坐标系确定所述阵列基准在所述第一阵列图像中的位置;

由所述数据处理器基于所述第一坐标系确定所述样品在所述第二阵列图像中的位置；
由所述数据处理器将所述第一阵列图像中的阵列基准的位置与所述第二阵列图像中的样品的位置进行比较；以及

由所述数据处理器基于所述比较相对于所述样品的位置提供所述阵列基准的位置。

52. 根据权利要求51所述的方法，其中所述第一阵列图像在所述样品不与所述阵列接触时获取，并且其中所述第二阵列图像在所述样品与所述阵列接触时获取。

53. 根据权利要求51所述的方法，其中所述第一阵列图像和所述第二阵列图像在所述样品与所述阵列接触时获取。

54. 根据权利要求53所述的方法，其中所述第一阵列图像以第一焦深获取，以便从所述第一阵列图像排除所述样品，并且其中所述第二阵列图像以第二焦深获取，以便包括与所述阵列叠加的样品。

55. 根据权利要求53所述的方法，其中所述第一阵列图像以使所述样品的对比度低于所述阵列基准的对比度的第一照明获取，并且其中所述第二阵列图像以使所述样品的对比度高于所述阵列基准的对比度的第二照明获取。

56. 根据权利要求55所述的方法，其中所述第一照明包括在564nm与580nm之间的波长或在700nm与1mm之间的波长。

57. 根据权利要求55-556中任一项所述的方法，其中所述第二照明包括在534nm与545nm之间的波长。

58. 根据前述权利要求中任一项所述的方法，其中所述第一阵列图像还包括第一仪器基准，所述方法还包括

由所述数据处理器接收所述第二阵列图像数据，所述第二阵列图像数据还包括所述第二阵列图像中的第一仪器基准，其中在所述叠加中所述样品遮蔽所述阵列基准和所述第一仪器基准；

由所述数据处理器基于所述第一坐标系确定在所述第一阵列图像中所述阵列基准相对于所述第一仪器基准的位置；

由所述数据处理器基于第二坐标系确定在所述第二阵列图像中所述样品相对于所述第一仪器基准的位置；以及

由所述数据处理器将所述第一阵列图像中的阵列基准的位置与所述第二阵列图像中的样品的位置进行比较。

59. 根据前述权利要求中任一项所述的方法，其中所述第一阵列图像还包括第一施加基准，所述方法还包括

由所述数据处理器接收所述第二阵列图像数据，所述第二阵列图像数据还包括所述第二阵列图像中的第一施加基准，其中在所述叠加中所述样品遮蔽所述阵列基准和所述第一施加基准；

由所述数据处理器基于所述第一坐标系确定在所述第一阵列图像中所述阵列基准相对于所述第一施加基准的位置；

由所述数据处理器基于所述第二坐标系确定在所述第二阵列图像中所述样品相对于所述第一施加基准的位置；以及

由所述数据处理器将所述第一阵列图像中的阵列基准的位置与所述第二阵列图像中

的样品的位置进行比较。

60. 根据权利要求59所述的方法,其中所述第一施加基准是位于所述阵列和所述阵列基准位于其上的基板上的印章、贴纸、绘图或激光蚀刻中的一者。

61. 根据权利要求60所述的方法,其中所述第一阵列基准由包括染料、化学物质、对比剂或纳米颗粒的材料形成。

62. 根据权利要求61所述的方法,其中形成所述第一阵列基准的材料改善所述第一阵列基准的可见对比度。

63. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中在所述样品的透化时段已发生之后获取所述第二阵列图像,所述方法还包括

由所述数据处理器接收所述第二阵列图像数据,其中所述透化时段使所述阵列基准在所述叠加中可见。

64. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述第一阵列图像从包括所述阵列、所述阵列基准和至少一个间隔件的基板获取,所述方法还包括

由所述数据处理器接收所述第二阵列图像数据,所述第二阵列图像数据还包括所述第二阵列图像中的叠加中的至少一个间隔件,其中所述样品的位置与所述第二坐标系相关联;

由所述数据处理器通过在包括所述第一坐标系和所述第二坐标系的共同坐标系中对准所述阵列基准的位置和所述样品的位置,将所述第一阵列图像配准到所述第二阵列图像,所述共同坐标系还包括所述阵列基准的位置和所述样品的位置;

由所述数据处理器基于所述共同坐标系确定所述阵列基准在所述第一阵列图像中的位置;

由所述数据处理器基于所述共同坐标系确定所述样品在所述第二阵列图像中的位置;以及

由所述数据处理器使用所述共同坐标系将所述第一阵列图像中的阵列基准的位置与所述第二阵列图像中的样品的位置进行比较。

65. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述第二阵列图像以所述第一照明获取,并且包括叠加在所述基板上的样品,所述基板包括所述阵列、所述阵列基准和在以所述第一照明获取的第二阵列图像中可见的至少一个间隔件,所述方法还包括

由所述数据处理器接收包括以所述第二照明获取的第二阵列图像的第二阵列图像数据,以所述第二照明获取的第二阵列图像包括叠加在包括所述阵列、所述阵列基准和所述至少一个间隔件的基板上的样品,其中所述至少一个间隔件在以所述第二照明获取的第二阵列图像中可见;

由所述数据处理器基于第一坐标系确定所述阵列基准在以所述第一照明获取的第二阵列图像中的位置;

由所述数据处理器基于第二坐标系确定所述样品在以所述第二照明获取的第二阵列图像中的位置;

由所述数据处理器通过在包括所述第一坐标系和所述第二坐标系的共同坐标系中对准所述阵列基准的位置和所述样品的位置,将以所述第一照明获取的第二阵列图像与以所述第二照明获取的第二阵列图像配准,所述共同坐标系还包括所述阵列基准的位置和所述

样品的位置；

由所述数据处理器基于所述共同坐标系确定所述阵列基准在以所述第一照明获取的第二阵列图像中的位置；

由所述数据处理器基于所述共同坐标系确定所述样品在以所述第二照明获取的第二阵列图像中的位置；以及

由所述数据处理器使用所述共同坐标系将以所述第一照明获取的第二阵列图像中的阵列基准的位置与以所述第二照明获取的第二阵列图像中的样品的位置进行比较。

66. 一种用于检测与阵列相关联的基准的系统，所述系统包括：

样品保持器，所述样品保持器包括

第一保持机构，所述第一保持机构被构造成保持接收在所述第一保持机构内的第一基板，所述第一基板包括样品，和

第二保持机构，所述第二保持机构被构造成保持接收在所述第二保持机构内的第二基板，所述第二基板包括阵列和阵列基准，所述样品保持器被构造成调节所述第一基板相对于所述第二基板的位置，以使所述样品的全部或部分与所述阵列对准；

显微镜，所述显微镜可操作地联接到所述样品保持器，所述显微镜被构造成观察所述样品保持器内的第一基板和第二基板，并且获取与所述样品和/或所述阵列相关联的图像数据；以及

第一计算装置，所述第一计算装置通信地联接到所述显微镜和所述样品保持器，所述计算装置包括显示器、数据处理器和存储计算机可读和可执行指令的非暂时性计算机可读存储介质，所述计算机可读和可执行指令在被执行时使所述数据处理器执行操作，所述操作包括

接收包括所述第二基板的第一阵列图像的第一阵列图像数据，所述第一阵列图像包括所述阵列和所述阵列基准；

接收包括第二阵列图像的第二阵列图像数据，所述第二阵列图像包括所述第一基板的样品和所述第二基板的阵列的叠加以及所述第二基板的阵列基准，其中在所述叠加中所述样品遮蔽所述阵列基准；

基于第一坐标系确定所述阵列基准在所述第一阵列图像中的位置；

基于所述第一坐标系确定所述样品在所述第二阵列图像中的位置；

将所述第一阵列图像中的阵列基准的位置与所述第二阵列图像中的样品的位置进行比较；以及

基于所述比较相对于所述样品的位置提供所述阵列基准的位置。

67. 根据权利要求66所述的系统，其中所述第一阵列图像在所述样品不与所述阵列接触时获取，并且其中所述第二阵列图像在所述样品与所述阵列接触时获取。

68. 根据前述权利要求中任一项所述的系统，其中所述第一阵列图像和所述第二阵列图像在所述样品与所述阵列接触时获取。

69. 根据权利要求68所述的系统，其中所述第一阵列图像以第一焦深获取，以便从所述第一阵列图像排除所述样品，并且其中所述第二阵列图像以第二焦深获取，以便包括与所述阵列叠加的样品。

70. 根据权利要求68所述的系统，其中所述第一阵列图像以使所述样品的对比度低于

所述阵列基准的对比度的第一照明获取,并且其中所述第二阵列图像以使所述样品的对比度高于所述阵列基准的对比度的第二照明获取。

71. 根据权利要求70所述的系统,其中所述第一照明包括在564nm与580nm之间的波长或在700nm与1mm之间的波长。

72. 根据权利要求70-71中任一项所述的系统,其中所述第二照明包括在534nm与545nm之间的波长。

73. 根据前述权利要求中任一项所述的系统,其中所述第一阵列图像还包括与所述第一坐标系相关联的第一仪器基准,所述指令还使所述数据处理器执行操作,所述操作包括接收还包括所述第二阵列图像中的第一仪器基准的第二阵列图像数据,其中在所述叠加中所述样品遮蔽所述阵列基准和所述第一仪器基准;

基于所述第一坐标系确定在所述第一阵列图像中所述阵列基准相对于所述第一仪器基准的位置;

基于第二坐标系确定在所述第二阵列图像中所述样品相对于所述第一仪器基准的位置;以及

将所述第一阵列图像中的阵列基准的位置与所述第二阵列图像中的样品的位置进行比较。

74. 根据前述权利要求中任一项所述的系统,其中所述第一阵列图像还包括第一施加基准,所述指令还使所述数据处理器执行操作,所述操作包括

接收还包括所述第二阵列图像中的第一施加基准的第二阵列图像数据,其中在所述叠加中所述样品遮蔽所述阵列基准和所述第一施加基准;

确定在所述第一阵列图像中所述阵列基准相对于所述第一施加基准的位置;

由所述数据处理器基于所述第一坐标系确定在所述第一阵列图像中所述样品相对于所述第一施加基准的位置;以及

将所述第一阵列图像中的阵列基准的位置与所述第二阵列图像中的样品的位置进行比较。

75. 根据权利要求74所述的系统,其中所述第一施加基准是位于所述第二基板上的图章、贴纸、绘图或激光蚀刻中的一者。

76. 根据权利要求75所述的系统,其中所述第一阵列基准由包括染料、化学物质、对比剂或纳米颗粒的材料形成。

77. 根据权利要求76所述的系统,其中形成所述第一阵列基准的材料改善所述第一阵列基准的可见对比度。

78. 根据前述权利要求中任一项所述的系统,其中所述第二阵列图像在所述样品的透化时段已发生之后获取,所述指令还使所述数据处理器执行操作,所述操作包括

接收所述第二阵列图像数据,其中所述透化使所述阵列基准在所述叠加中可见。

79. 根据前述权利要求中任一项所述的系统,其中所述第一阵列图像从包括所述阵列、所述阵列基准和位于所述第二基板上的至少一个间隔件的第二基板获取,所述指令还使所述数据处理器执行操作,所述操作包括

接收还包括所述叠加中的至少一个间隔件的第二阵列图像数据,其中所述样品的位置与所述第二坐标系相关联;

通过在包括所述第一坐标系和所述第二坐标系的共同坐标系中对准所述阵列基准的位置和所述样品的位置,将所述第一阵列图像配准到所述第二阵列图像,所述共同坐标系还包括所述阵列基准的位置和所述样品的位置;

基于所述共同坐标系确定所述阵列基准在所述第一阵列图像中的位置;

基于所述共同坐标系确定所述样品在所述第二阵列图像中的位置;以及

使用所述共同坐标系将所述第一阵列图像中的阵列基准的位置与所述第二阵列图像中的样品的位置进行比较。

80. 根据前述权利要求中任一项所述的系统,其中所述第二阵列图像以所述第一照明获取,并且包括叠加在所述第二基板上的样品,所述第二基板包括所述阵列、所述阵列基准和位于所述第二基板上并且在以所述第一照明获取的第二阵列图像中可见的至少一个间隔件,所述指令还使所述数据处理器执行操作,所述操作包括

接收包括以所述第二照明获取的第二阵列图像的第二阵列图像数据,以所述第二照明获取的第二阵列图像包括所述阵列与所述样品的叠加、所述阵列基准和所述至少一个间隔件,其中所述至少一个间隔件在以所述第二照明获取的第二阵列图像中可见;

基于第一坐标系确定所述阵列基准在以所述第一照明获取的第二阵列图像中的位置;

基于第二坐标系确定所述样品在以所述第二照明获取的第二阵列图像中的位置;

通过在包括所述第一坐标系和所述第二坐标系的共同坐标系中对准所述阵列基准的位置和所述样品的位置,将以所述第一照明获取的第二阵列图像配准到以所述第二照明获取的第二阵列图像,所述共同坐标系还包括所述阵列基准的位置和所述样品的位置;

基于所述共同坐标系确定所述阵列基准在以所述第一照明获取的第二阵列图像中的位置;

基于所述共同坐标系确定所述样品在以所述第二照明获取的第二阵列图像中的位置;以及

使用所述共同坐标系将以所述第一照明获取的第二阵列图像中的阵列基准的位置与以所述第二照明获取的第二阵列图像中的样品的位置进行比较。

81. 一种存储指令的非暂时性计算机可读介质,所述指令在由至少一个数据处理器执行时使所述至少一个数据处理器执行操作,所述操作包括:

接收包括第一阵列图像的第一阵列图像数据,所述第一阵列图像包括阵列和阵列基准;

接收包括第二阵列图像的第二阵列图像数据,所述第二阵列图像包括第一基板上的样品和第二基板上的阵列的叠加以及所述第二基板上的阵列基准,其中在所述叠加中所述样品遮蔽所述阵列基准;

基于第一坐标系确定所述阵列基准在所述第一阵列图像中的位置;

基于所述第一坐标系确定所述样品在所述第二阵列图像中的位置;

将所述第一阵列图像中的阵列基准的位置与所述第二阵列图像中的样品的位置进行比较;以及

基于所述比较相对于所述样品的位置提供所述阵列基准的位置。

82. 一种用于将样品对准到阵列的系统,所述系统包括:

样品保持器,所述样品保持器包括

第一保持机构,所述第一保持机构被构造成保持接收在所述第一保持机构内的第一基板,所述第一基板包括样品,和

第二保持机构,所述第二保持机构被构造成保持接收在所述第二保持机构内的第二基板,所述第二基板包括阵列,所述样品保持器被构造成调节所述第一基板相对于所述第二基板的位置,以使所述样品的全部或部分与所述阵列对准;

图像捕获装置,所述图像捕获装置可操作地联接到所述样品保持器,所述图像捕获装置被构造成观察所述样品保持器内的第一基板和第二基板;并且获取与所述样品和/或所述阵列相关联的图像数据;以及

第一计算装置,所述第一计算装置通信地联接到所述图像捕获装置和所述样品保持器,所述计算装置包括显示器、数据处理器以及存储计算机可读和可执行指令的非暂时性计算机可读存储介质,所述计算机可读和可执行指令在被执行时使所述数据处理器执行操作,所述操作包括

接收包括所述样品和样品基准的样品图像的样品图像数据,所述样品图像具有第一分辨率;

接收包括第一仪器基准和第二仪器基准的仪器基准图像的仪器基准数据;

接收包括阵列图像的阵列图像数据,所述阵列图像具有低于所述样品图像的第一分辨率的第二分辨率,所述阵列图像包括叠加在所述样品和所述样品基准上的阵列和阵列基准;

通过对准所述第一仪器基准和所述阵列基准将所述仪器基准图像配准到所述阵列图像;

通过对准所述第二仪器基准和所述样品基准将所述仪器基准图像配准到所述样品图像;

基于将所述仪器基准图像配准到样品阵列图像并且基于将所述仪器基准图像配准到所述阵列图像来生成对准图像,所述对准图像包括与所述阵列对准的样品;以及

提供所述对准图像。

样品处理设备和图像配准方法

背景技术

[0001] 受试者组织内的细胞由于不同细胞内的分析物水平(例如,基因和/或蛋白质表达)多变而存在细胞形态和/或功能的差异。细胞在组织内的具体位置(例如,细胞相对于相邻细胞的位置,或细胞相对于组织微环境的位置)可能影响例如细胞的形态、分化、命运、活力、增殖、行为,以及与组织中其他细胞的信号传导和交叉对话。

[0002] 空间异质性先前已经使用在完整组织或部分组织的背景下仅提供少量分析物的数据、或者提供单细胞的许多分析物数据的技术进行了研究,但未能提供关于单细胞在亲本生物样品(例如,组织样品)中的位置的信息。

[0003] 来自生物样品的分析物可以被捕获到试剂阵列上,同时保留分析物的空间背景。所捕获的分析物可用于生成序列数据,该序列数据可映射到生物样品的图像。需要用于将图像数据与序列数据配准的改进的方法和系统。

[0004] 图像数据可用于评估细胞和组织的分析物水平的空间异质性。为了准确确定细胞或组织内的空间异质性和转录组学活性的程度,与细胞或组织的样品相关联的图像数据可以与和试剂阵列相关联的图像数据对准,所述试剂阵列被配置成从细胞或组织样品捕获分析物。可以使用图像配准来确定所述对准,以提供样品内的转录组学活性的准确空间映射。本文描述了对生物样品执行图像配准的各种方法。

发明内容

[0005] 互联网上可获得并且本说明书中提到的所有出版物、专利、专利申请和信息均以引用方式并入本文,其程度如同单独的出版物、专利、专利申请或信息项各自被具体且单独地指明以引用方式并入本文中一样。在以引用方式并入的出版物、专利、专利申请和信息项与本说明书中包含的公开内容相矛盾的情况下,本说明书旨在取代并且/或者优先于任何这种矛盾的材料。

[0006] 生物样品内的分析物通常通过破坏(例如,透化)生物样品来释放。破坏生物样品的各种方法是已知的,包括透化生物样品的细胞膜。本文描述了将流体递送到生物样品的方法、用于样品分析的系统以及样品对准方法。

[0007] 在一个方面,提供了一种用于将样品对准到阵列的方法。所述方法包括由数据处理器接收包括所述样品的样品图像的样品图像数据。所述样品图像可具有第一分辨率。所述方法还包括由所述数据处理器接收包括阵列图像的阵列图像数据,所述阵列图像包括阵列与所述样品的叠加和阵列基准。所述阵列图像可具有低于所述样品图像的第一分辨率的第二分辨率。所述方法还包括由所述数据处理器通过对准所述样品图像和所述阵列图像来将所述样品图像配准到所述阵列图像。所述方法还包括由所述数据处理器基于所述配准生成对准图像。所述对准图像可包括所述样品图像与所述阵列的叠加。所述方法还包括由所述数据处理器提供所述对准图像。

[0008] 在一些变型中,包括以下特征的本文公开的一个或多个特征可任选地以任何可行组合被包括。例如,所述样品图像数据可以从用户或从远离所述数据处理器的计算装置接

收。所述对准图像可包括与所述样品对准的阵列基准。所述样品图像可包括样品基准,并且所述配准还可包括使所述阵列基准与所述样品基准对准。所述样品图像可以是在包括边缘的第一基板上的样品的,并且所述样品基准可以包括所述边缘。所述样品基准可包括由用户施加到所述样品放置在其上的第一基板的图章或贴纸。所述样品基准可以界定所述样品在所述样品基板上放置在其中的样品区域。所述样品基准可基于一个或多个样品大小来配置。所述样品可以位于所述第一基板上,并且所述阵列可以位于第二基板上。所述样品基准可以位于所述第一基板的第一侧上。所述第一基板的第一侧可以与所述第一基板的所述样品位于其上的第二侧相对。所述阵列图像可以适合在同一焦平面中获取所述样品和所述样品基准的景深获取。

[0009] 所述阵列基准可以位于所述第二基板的第一侧上。所述第二基板的第一侧可以与所述第二基板的所述阵列可位于其上的第二侧相对。所述样品基准可以在所述第一基板上定位成邻近所述样品、在所述样品内或远离所述样品。所述阵列基准可以在所述第二基板上定位成邻近配置在所述第二基板上的试剂、在所述试剂内或远离所述试剂。所述第一基板可包括一个或多个样品基准,并且/或者所述第二基板可包括一个或多个阵列基准。所述阵列图像可以被获取,使得所述阵列的一部分基于所述阵列基准和/或所述样品基准的位置叠加在所述样品的一部分上。

[0010] 在另一方面,一种用于对准样品的方法包括由数据处理器接收包括所述样品和样品基准的样品图像的样品图像数据。所述样品图像可具有第一分辨率。所述方法还可包括由所述数据处理器接收仪器基准数据,所述仪器基准数据包括第一仪器基准和第二仪器基准的仪器基准图像。所述方法还可包括由所述数据处理器接收包括阵列图像的阵列图像数据,所述阵列图像具有低于所述样品图像的第一分辨率的第二分辨率。所述阵列图像可包括叠加在所述样品和所述样品基准上的阵列和阵列基准。所述方法还可包括由所述数据处理器通过对准所述第一仪器基准和所述阵列基准而将所述仪器基准图像配准到所述阵列图像。所述方法还可包括由所述数据处理器通过将所述第二仪器基准对准到所述样品图像而将所述仪器基准图像配准到所述样品图像。所述方法还可包括由所述数据处理器基于将所述仪器基准图像配准到所述样品图像且基于将所述仪器基准图像配准到所述阵列图像而生成对准图像。所述对准图像可包括与所述阵列对准的样品。所述方法还可包括由所述数据处理器提供所述对准图像。

[0011] 在一些变型中,包括以下特征的本文公开的一个或多个特征可任选地以任何可行组合被包括。例如,所述样品图像可以包括多个样品部分图像。每个样品部分图像可以与所述样品的一部分相关联。每个样品部分图像的大小可以小于所述样品图像的单个视场的大小。将所述样品图像配准到所述阵列图像还可包括由所述数据处理器裁剪所述样品图像以确定所述多个样品部分图像。将所述样品图像配准到所述阵列图像还可包括将所述样品图像中的样品部分图像中的一个或多个配准到所述阵列图像中的样品的相应部分。可以在将所述样品图像配准到所述阵列图像之后,执行将所述样品图像中的一个或多个样品部分图像配准到所述阵列图像中的样品的相应部分。

[0012] 所述方法还可包括由所述数据处理器在样品保持器内将所述样品和所述阵列对准,所述样品保持器被构造成接收包括所述样品的第一基板和包括所述阵列的第二基板。所述阵列图像可包括多个阵列部分图像。每个阵列部分图像可以与所述阵列的一部分相关

联。每个阵列部分图像的大小可以小于所述阵列图像的单个视场的大小。所述配准还可以包括由所述数据处理器确定所述阵列图像中的多个阵列部分图像,以及由所述数据处理器将所述阵列图像中的一个或多个阵列部分图像配准到所述样品图像中的样品的相应部分。所述样品图像可包括所述阵列与所述样品的叠加和所述阵列基准。所述样品和所述阵列可以在单个基板上。

[0013] 在另一方面,提供了一种用于处理样品图像数据的方法。所述方法包括由数据处理器接收包括对应于样品的各部分的第一多个样品部分图像的第一样品图像数据集。每个样品部分图像可以具有第一分辨率。所述方法还可包括由所述数据处理器接收包括所述样品的样品图像的第二样品图像数据集。所述样品图像具有低于所述样品部分图像中的每一个的第一分辨率的第二分辨率。所述方法还可包括由所述数据处理器将一个或多个样品部分图像配准到所述样品图像中的样品的相应部分。

[0014] 在一些变型中,包括以下特征的本文公开的一个或多个特征可任选地以任何可行组合被包括。例如,所述样品图像可以包括多个样品部分图像。每个样品部分图像可以与所述样品的一部分相关联。用于处理样品图像数据的方法还可包括由所述数据处理器接收包括阵列图像的阵列图像数据集,所述阵列图像包括阵列和阵列基准的单个视场。用于处理样品图像数据的方法还可包括由所述数据处理器确定所述阵列基准和所述样品在所述阵列图像的单个视场内。用于处理样品图像数据的方法还可包括由所述数据处理器使用所述阵列图像确定所述阵列的一个或多个试剂位置。所生成的对准图像可包括一个或多个试剂位置。

[0015] 还可以执行用于处理样品图像数据的方法,使得所述样品图像包括多个样品部分图像。每个样品部分图像可以与所述样品的一部分相关联。所述阵列图像可包括多个阵列部分图像。每个阵列部分图像可以与所述阵列的一部分相关联,并且可以包括单个视场。用于处理样品图像数据的方法还可包括由所述数据处理器确定所述样品图像中的多个样品部分图像。用于处理样品图像数据的方法还可包括由所述数据处理器将所述样品图像中的一个或多个样品部分图像配准到所述阵列图像中的样品的相应部分。用于处理样品图像数据的方法还可包括由所述数据处理器确定所述阵列图像中的多个阵列部分图像。用于处理样品图像数据的方法还可包括由所述数据处理器将所述阵列图像中的一个或多个阵列部分图像配准到所述样品图像中的样品的相应部分。

[0016] 在另一方面,提供了一种用于将样品对准到阵列的系统。所述系统可包括样品保持器,所述样品保持器包括第一保持机构,所述第一保持机构被构造成将第一基板保持在所述第一保持机构内。所述第一基板可包括样品。所述样品保持器还可包括第二保持机构,所述第二保持机构被构造成保持接收在所述第二保持机构内的第二基板。所述第二基板可包括阵列。所述样品保持器可以被构造成调节所述第一基板相对于所述第二基板的位置,以使所述样品的全部或部分与所述阵列对准。所述系统还可包括可操作地联接到所述样品保持器的显微镜。所述显微镜可以被构造成观察所述样品保持器内的第一基板和第二基板;并且可以获取与所述样品和/或所述阵列相关联的图像数据。所述系统也可包括通信地联接到所述显微镜和所述样品保持器的第一计算装置。所述计算装置可包括显示器、数据处理器和非暂时性计算机可读存储介质,所述非暂时性计算机可读存储介质存储计算机可读和可执行指令,所述计算机可读和可执行指令在被执行时可使所述数据处理器执行操

作,所述操作包括接收包括所述样品的样品图像的样品图像数据。所述样品图像可具有第一分辨率。所述操作也可包括接收包括阵列图像的阵列图像数据,所述阵列图像具有低于所述样品图像的第一分辨率的第二分辨率。所述阵列图像可包括叠加在所述样品上的阵列和阵列基准。所述操作还可包括通过对准所述样品图像和所述阵列图像来将所述样品图像配准到所述阵列图像。所述操作还可包括基于所述配准生成对准图像。所述对准图像可包括与所述阵列对准的样品,以及提供所述对准图像。

[0017] 在一些变型中,包括以下特征的本文公开的一个或多个特征可任选地以任何可行组合被包括。例如,所述样品图像数据可以从用户或从远离所述数据处理器的计算装置接收。所述对准图像还可包括与所述样品对准的阵列基准。所述样品图像还可包括样品基准,并且所述配准还可包括使所述阵列基准与所述样品基准对准。所述样品图像可以是在包括边缘的第一基板上的样品的,并且所述样品基准可以包括所述边缘。所述样品基准可包括由用户施加到所述样品可放置在其上的第一基板的图章或贴纸。所述样品基准可以界定所述样品可在所述第一基板上放置在其中的样品区域。所述样品基准可基于一个或多个样品大小来配置。所述样品可以位于第一基板上,并且所述阵列可以位于所述第二基板上。

[0018] 所述样品基准可以位于所述第一基板的第一侧上。所述第一基板的第一侧可以与所述第一基板的所述样品可位于其上的第二侧相对。所述阵列图像可以适合在同一焦平面中获取所述样品和所述样品基准的景深获取。所述阵列基准可以位于第二基板的第一侧上。所述第二基板的第一侧可以与所述第二基板的所述阵列可位于其上的第二侧相对。所述样品基准可以在所述第一基板上定位成邻近所述样品、在所述样品内或远离所述样品。所述阵列基准可以在所述第二基板上定位成邻近配置在所述第二基板上的试剂、在所述试剂内或远离所述试剂。所述第一基板可包括一个或多个样品基准,并且/或者所述第二基板可包括一个或多个阵列基准。所述阵列图像可以被获取,使得所述阵列的一部分基于所述阵列基准和/或所述样品基准的位置叠加在所述样品的一部分上。

[0019] 在另一方面,提供了一种用于将样品对准到阵列的系统。所述系统可包括样品保持器,所述样品保持器包括第一保持机构,所述第一保持机构被构造成将第一基板保持在所述第一保持机构内。所述第一基板可包括样品。所述样品保持器还可包括第二保持机构,所述第二保持机构被构造成保持接收在所述第二保持机构内的第二基板。所述第二基板可包括阵列。所述样品保持器可以被构造成调节所述第一基板相对于所述第二基板的位置,以使所述样品的全部或部分与所述阵列对准。所述系统还可包括可操作地联接到所述样品保持器的显微镜。所述显微镜可以被构造成观察所述样品保持器内的第一基板和第二基板;并且可以获取与所述样品和/或所述阵列相关联的图像数据。所述系统也可包括通信地联接到所述显微镜和所述样品保持器的第一计算装置。所述计算装置可包括显示器、数据处理器和非暂时性计算机可读存储介质,所述非暂时性计算机可读存储介质存储计算机可读和可执行指令,所述计算机可读和可执行指令在被执行时可使所述数据处理器执行操作,所述操作包括接收包括样品和样品基准的样品图像的样品图像数据,所述样品图像具有第一分辨率。所述操作还可包括接收仪器基准数据,所述仪器基准数据包括第一仪器基准和第二仪器基准的仪器基准图像。所述操作还可包括接收包括阵列图像的阵列图像数据,所述阵列图像具有低于所述样品图像的第一分辨率的第二分辨率。所述阵列图像可包括叠加在所述样品和所述样品基准上的阵列和阵列基准。所述操作还可包括通过对准所述

第一仪器基准和所述阵列基准来将所述仪器基准图像配准到所述阵列图像。所述操作还可包括通过对准所述第二仪器基准和所述样品基准来将所述仪器基准图像配准到所述样品图像。所述操作还可包括基于将所述仪器基准图像配准到样品阵列图像并且基于将所述仪器基准图像配准到所述阵列图像来生成对准图像。所述对准图像可包括与所述阵列对准的样品。所述操作还可包括提供所述对准图像。

[0020] 在另一方面,一种用于将样品对准到阵列的系统包括样品保持器,所述样品保持器包括第一保持机构,所述第一保持机构被构造成将第一基板保持在所述第一保持机构内。所述第一基板可包括样品。所述样品保持器还可包括第二保持机构,所述第二保持机构被构造成保持接收在所述第二保持机构内的第二基板。所述第二基板可包括阵列。所述样品保持器可以被构造成调节所述第一基板相对于所述第二基板的位置,以使所述样品的全部或一部分与所述阵列对准。所述系统还可包括可操作地联接到所述样品保持器的显微镜。所述显微镜可以被构造成观察所述样品保持器内的第一基板和第二基板;并且可以获取与所述样品和/或所述阵列相关联的图像数据。所述系统也可包括通信地联接到所述显微镜和所述样品保持器的第一计算装置。所述计算装置可包括显示器、数据处理器和非暂时性计算机可读存储介质,所述非暂时性计算机可读存储介质存储计算机可读和可执行指令,所述计算机可读和可执行指令在被执行时可使所述数据处理器执行操作,所述操作包括接收包括所述样品和样品基准的样品图像的样品图像数据。所述样品图像可具有第一分辨率。所述操作还可包括接收仪器基准数据,所述仪器基准数据包括第一仪器基准和第二仪器基准的仪器基准图像。所述操作还可包括接收包括阵列图像的阵列图像数据,所述阵列图像具有低于所述样品图像的第一分辨率的第二分辨率。所述阵列图像包括叠加在所述样品和所述样品基准上的阵列和阵列基准。所述操作还可包括通过对准所述第一仪器基准和所述阵列基准来将所述仪器基准图像配准到所述阵列图像。所述操作还可包括通过对准所述第二仪器基准和所述样品基准来将所述仪器基准图像配准到所述样品图像。所述操作还可包括基于将所述仪器基准图像配准到样品阵列图像并且基于将所述仪器基准图像配准到所述阵列图像来生成对准图像。所述对准图像可包括与所述阵列对准的样品。所述操作还可包括提供所述对准图像。

[0021] 在另一方面,提供了一种存储指令的非暂时性计算机可读介质。所述指令在由至少一个数据处理器执行时使所述至少一个数据处理器执行操作,所述操作包括接收包括样品的样品图像的样品图像数据。所述样品图像数据可从可操作地联接到所述至少一个数据处理器和样品保持器的显微镜接收。所述样品图像可包括第一分辨率。所述显微镜可被构造成观察所述样品保持器内的包括所述样品的第一基板。所述操作还可包括从所述显微镜接收包括阵列图像的阵列图像数据,所述阵列图像具有低于来自所述显微镜的样品图像的第一分辨率的第二分辨率。所述阵列图像可以包括叠加在所述样品上的阵列和阵列基准。所述显微镜可以被构造成观察包括叠加在所述样品上的阵列和阵列基准的第二基板。所述操作还可以包括通过对准所述样品图像和所述阵列图像来将所述样品图像配准到所述阵列图像。所述操作还可包括基于所述配准生成对准图像,所述对准图像包括与所述阵列对准的样品,以及提供所述对准图像。

[0022] 在一个方面,提供了一种用于检测与阵列相关联的基准的方法。所述方法包括由数据处理器接收包括第一阵列图像的第一阵列图像数据,所述第一阵列图像包括阵列和阵

列基准。所述方法还包括由所述数据处理器接收包括第二阵列图像的第二阵列图像数据，所述第二阵列图像包括所述阵列与样品的叠加和所述阵列基准。在所述叠加中所述样品可遮蔽所述阵列基准。所述方法还可包括由所述数据处理器基于第一坐标系确定所述阵列基准在所述第一阵列图像中的位置。所述方法还可包括由所述数据处理器基于所述第一坐标系确定所述样品在所述第二阵列图像中的位置。所述方法还可包括由所述数据处理器将所述第一阵列图像中的阵列基准的位置与所述第二阵列图像中的样品的位置进行比较。所述方法还可包括由所述数据处理器基于所述比较相对于所述样品的位置提供所述阵列基准的位置。

[0023] 在一些变型中，包括以下特征的本文所公开的一个或多个特征可以任选地以任何可行的组合包括在所述方法中。例如，所述第一阵列图像可在所述样品不与所述阵列接触时获取，并且所述第二阵列图像可在所述样品与所述阵列接触时获取。所述第一阵列图像和所述第二阵列图像可在所述样品与所述阵列接触时获取。所述第一阵列图像可以以第一焦深获取，以便从所述第一阵列图像排除所述样品，并且所述第二阵列图像可以以第二焦深获取，以便包括与所述阵列叠加的样品。所述第一阵列图像可以使所述样品的对比度低于所述阵列基准的对比度的第一照明获取，并且所述第二阵列图像可以使所述样品的对比度高于所述阵列基准的对比度的第二照明获取。所述第一照明可包括在564nm与580nm之间的波长或在700nm与1mm之间的波长。所述第二照明可包括在534nm与545nm之间的波长。

[0024] 所述第一阵列图像还可包括第一仪器基准。所述方法还包括由所述数据处理器接收所述第二阵列图像数据，所述第二阵列图像数据还包括所述第二阵列图像中的第一仪器基准。在所述叠加中所述样品可遮蔽所述阵列基准和所述第一仪器基准。所述方法还可包括由所述数据处理器基于所述第一坐标系确定在所述第一阵列图像中所述阵列基准相对于所述第一仪器基准的位置。所述方法还可包括由所述数据处理器基于第二坐标系确定在所述第二阵列图像中所述样品相对于所述第一仪器基准的位置。所述方法还可包括由所述数据处理器将所述第一阵列图像中的阵列基准的位置与所述第二阵列图像中的样品的位置进行比较。

[0025] 所述第一阵列图像还可包括第一施加基准。所述方法还包括由所述数据处理器接收所述第二阵列图像数据，所述第二阵列图像数据还包括所述第二阵列图像中的第一施加基准。在所述叠加中所述样品可遮蔽所述阵列基准和所述第一施加基准。所述方法还可包括由所述数据处理器基于所述第一坐标系确定在所述第一阵列图像中所述阵列基准相对于所述第一施加基准的位置。所述方法还可包括由所述数据处理器基于所述第二坐标系确定在所述第二阵列图像中所述样品相对于所述第一施加基准的位置。所述方法还可包括由所述数据处理器将所述第一阵列图像中的阵列基准的位置与所述第二阵列图像中的样品的位置进行比较。

[0026] 所述第一施加基准可以是位于所述阵列和所述阵列基准所位于的基板上的图章、贴纸、绘图或激光蚀刻中的一者。所述第一阵列基准可由包括染料、化学物质、造影剂或纳米颗粒的材料形成。形成所述第一阵列基准的材料可以改善所述第一阵列基准的可见对比度。

[0027] 所述第二阵列图像可以在所述样品的透化时段已发生之后获取。所述方法还可包括由所述数据处理器接收所述第二阵列图像数据。所述透化时段使所述阵列基准在所述叠

加中可见。

[0028] 所述第一阵列图像可从包括所述阵列、所述阵列基准和至少一个间隔件的基板获取。所述方法还可包括由所述数据处理器接收所述第二阵列图像数据，所述第二阵列图像数据还包括所述第二阵列图像中的叠加中的至少一个间隔件。所述样品的位置可与所述第二坐标系相关联。所述方法还可包括由所述数据处理器通过在包括所述第一坐标系和所述第二坐标系的共同坐标系中对准所述阵列基准的位置和所述样品的位置，将所述第一阵列图像配准到所述第二阵列图像。所述共同坐标系还可包括所述阵列基准的位置和所述样品的位置。所述方法还可包括由所述数据处理器基于所述共同坐标系确定所述阵列基准在所述第一阵列图像中的位置。所述方法还可包括由所述数据处理器基于所述共同坐标系确定所述样品在所述第二阵列图像中的位置。所述方法还可包括由所述数据处理器使用所述共同坐标系将所述第一阵列图像中的阵列基准的位置与所述第二阵列图像中的样品的位置进行比较。

[0029] 所述第二阵列图像可以第一照明获取，且可包括叠加在所述基板上的样品，所述基板包括所述阵列、所述阵列基准和以所述第一照明获取的第二阵列图像中可见的至少一个间隔件。所述方法还可包括由所述数据处理器接收包括以所述第二照明获取的第二阵列图像的第二阵列图像数据。以所述第二照明获取的第二阵列图像可包括叠加在包括所述阵列、所述阵列基准和所述至少一个间隔件的基板上的样品。所述至少一个间隔件可在以所述第二照明获取的第二阵列图像中可见。所述方法还可包括由所述数据处理器基于第一坐标系确定所述阵列基准在以所述第一照明获取的第二阵列图像中的位置。所述方法还可包括由所述数据处理器基于第二坐标系确定所述样品在以所述第二照明获取的第二阵列图像中的位置。所述方法还可包括由所述数据处理器通过在包括所述第一坐标系和所述第二坐标系的共同坐标系中对准所述阵列基准的位置和所述样品的位置，将以所述第一照明获取的第二阵列图像配准到以所述第二照明获取的第二阵列图像。所述共同坐标系还可包括所述阵列基准的位置和所述样品的位置。所述方法还可包括由所述数据处理器基于所述共同坐标系确定所述阵列基准在以所述第一照明获取的第二阵列图像中的位置。所述方法还可包括由所述数据处理器基于所述共同坐标系确定所述样品在以所述第二照明获取的第二阵列图像中的位置。所述方法还可包括由所述数据处理器使用所述共同坐标系将以所述第一照明获取的第二阵列图像中的阵列基准的位置与以所述第二照明获取的第二阵列图像中的样品的位置进行比较。

[0030] 在另一方面，提供了一种用于检测与阵列相关联的基准的系统。所述系统可包括样品保持器。所述样品保持器可包括第一保持机构，所述第一保持机构被构造成保持接收在所述第一保持机构内的第一基板。所述第一基板可包括样品。所述样品保持器还可包括第二保持机构，所述第二保持机构被构造成保持接收在所述第二保持机构内的第二基板。所述第二基板可包括阵列和阵列基准。所述样品保持器可以被构造成调节所述第一基板相对于所述第二基板的位置，以使所述样品的全部或部分与所述阵列对准。所述系统也可包括可操作地联接到所述样品保持器的显微镜。所述显微镜可以被构造成观察所述样品保持器内的第一基板和第二基板，并获取与所述样品和/或所述阵列相关联的图像数据。所述系统还可包括通信地联接到所述显微镜和所述样品保持器的第一计算装置。所述计算装置可包括显示器、数据处理器和存储计算机可读和可执行指令的非暂时性计算机可读存储介

质。所述可执行指令在被执行时可以使所述数据处理器执行操作,所述操作包括接收包括所述第二基板的第一阵列图像的第一阵列图像数据。所述第一阵列图像可包括所述阵列和所述阵列基准。所述指令还可使所述数据处理器执行操作,所述操作包括:接收包括第二阵列图像的第二阵列图像数据,所述第二阵列图像包括所述第一基板的样品和所述第二基板的阵列的叠加以及所述第二基板的阵列基准。在所述叠加中所述样品可遮蔽所述阵列基准。所述指令还可使所述数据处理器执行操作,所述操作包括基于第一坐标系确定所述阵列基准在所述第一阵列图像中的位置。所述指令还可使所述数据处理器执行操作,所述操作包括基于所述第一坐标系确定所述样品在所述第二阵列图像中的位置。所述指令还可使所述数据处理器执行操作,所述操作包括将所述第一阵列图像中的阵列基准的位置与所述第二阵列图像中的样品的位置进行比较。所述指令还可使所述数据处理器执行操作,所述操作包括基于所述比较相对于所述样品的位置提供所述阵列基准的位置。

[0031] 在一些变型中,包括以下特征的本文中公开的一个或多个特征可任选地以任何可行组合包括在所述系统中。例如,所述第一阵列图像可在所述样品不与所述阵列接触时获取,并且所述第二阵列图像可在所述样品与所述阵列接触时获取。所述第一阵列图像和所述第二阵列图像可在所述样品与所述阵列接触时获取。所述第一阵列图像可以以第一焦深获取,以便从所述第一阵列图像排除所述样品,并且所述第二阵列图像可以以第二焦深获取,以便包括与所述阵列叠加的样品。所述第一阵列图像可以使所述样品的对比度低于所述阵列基准的对比度的第一照明获取,并且所述第二阵列图像可以使所述样品的对比度高于所述阵列基准的对比度的第二照明获取。所述第一照明可包括在564nm与580nm之间的波长或在700nm与1mm之间的波长。所述第二照明可包括在534nm与545nm之间的波长。

[0032] 所述第一阵列图像还可包括第一仪器基准。所述指令还可使所述数据处理器执行操作,所述操作包括接收所述第二阵列图像数据,所述第二阵列图像数据还包括所述第二阵列图像中的第一仪器基准。在所述叠加中所述样品可遮蔽所述阵列基准和所述第一仪器基准。所述指令还可使所述数据处理器执行操作,所述操作包括基于所述第一坐标系确定在所述第一阵列图像中所述阵列基准相对于所述第一仪器基准的位置。所述指令还可使所述数据处理器执行操作,所述操作包括基于第二坐标系确定在所述第二阵列图像中所述样品相对于所述第一仪器基准的位置。所述指令还可使所述数据处理器执行操作,所述操作包括将所述第一阵列图像中的阵列基准的位置与所述第二阵列图像中的样品的位置进行比较。

[0033] 所述第一阵列图像还可包括第一施加基准。所述指令还可使所述数据处理器执行操作,所述操作包括接收所述第二阵列图像数据,所述第二阵列图像数据还包括所述第二阵列图像中的第一施加基准。在所述叠加中所述样品可遮蔽所述阵列基准和所述第一施加基准。所述指令还可使所述数据处理器执行操作,所述操作包括基于所述第一坐标系确定在所述第一阵列图像中所述阵列基准相对于所述第一施加基准的位置。所述指令还可使所述数据处理器执行操作,所述操作包括基于所述第二坐标系确定在所述第二阵列图像中所述样品相对于所述第一施加基准的位置。所述指令还可使所述数据处理器执行操作,所述操作包括将所述第一阵列图像中的阵列基准的位置与所述第二阵列图像中的样品的位置进行比较。

[0034] 所述第一施加基准可以是位于所述阵列和所述阵列基准所位于的基板上的图章、

贴纸、绘图或激光蚀刻中的一者。所述第一阵列基准可由包括染料、化学物质、造影剂或纳米颗粒的材料形成。形成所述第一阵列基准的材料可以改善所述第一阵列基准的可见对比度。

[0035] 所述第二阵列图像可以在所述样品的透化时段已发生之后获取。所述指令还可使所述数据处理器执行操作,所述操作包括接收所述第二阵列图像数据。所述透化时段使所述阵列基准在所述叠加中可见。

[0036] 所述第一阵列图像可从包括所述阵列、所述阵列基准和至少一个间隔件的基板获取。所述指令还可使所述数据处理器执行操作,所述操作包括接收所述第二阵列图像数据,所述第二阵列图像数据还包括所述第二阵列图像中的叠加中的至少一个间隔件。所述样品的位置可与所述第二坐标系相关联。所述指令还可使所述数据处理器执行操作,所述操作包括通过在包括所述第一坐标系和所述第二坐标系的共同坐标系中对准所述阵列基准的位置和所述样品的位置,将所述第一阵列图像配准到所述第二阵列图像。所述共同坐标系还可包括所述阵列基准的位置和所述样品的位置。所述指令还可使所述数据处理器执行操作,所述操作包括基于所述共同坐标系确定所述阵列基准在所述第一阵列图像中的位置。所述指令还可使所述数据处理器执行操作,所述操作包括基于所述共同坐标系确定所述样品在所述第二阵列图像中的位置。所述指令还可使所述数据处理器执行操作,所述操作包括使用所述共同坐标系将所述第一阵列图像中的阵列基准的位置与所述第二阵列图像中的样品的位置进行比较。

[0037] 所述第二阵列图像可以所述第一照明获取,并且包括叠加在所述基板上的样品,所述基板包括所述阵列、所述阵列基准和位于第二基板上并且在以所述第一照明获取的第二阵列图像中可见的至少一个间隔件。所述指令还可使所述数据处理器执行操作,所述操作包括接收包括第二阵列图像的第二阵列图像数据,所述第二阵列图像以所述第二照明获取。以所述第二照明获取的第二阵列图像可包括所述阵列与所述样品的叠加、所述阵列基准和所述至少一个间隔件。所述至少一个间隔件可在以所述第二照明获取的第二阵列图像中可见。所述指令还可使所述数据处理器执行操作,所述操作包括基于第一坐标系确定所述阵列基准在以所述第一照明获取的第二阵列图像中的位置。所述指令还可使所述数据处理器执行操作,所述操作包括基于第二坐标系确定所述样品在以所述第二照明获取的第二阵列图像中的位置。所述指令还可使所述数据处理器执行操作,所述操作包括通过在包括所述第一坐标系和所述第二坐标系的共同坐标系中对准所述阵列基准的位置和所述样品的位置,将以所述第一照明获取的第二阵列图像配准到以所述第二照明获取的第二阵列图像。所述共同坐标系还可包括所述阵列基准的位置和所述样品的位置。所述指令还可使所述数据处理器执行操作,所述操作包括基于所述共同坐标系确定所述阵列基准在以所述第一照明获取的第二阵列图像中的位置。所述指令还可使所述数据处理器执行操作,所述操作包括基于所述共同坐标系确定所述样品在以所述第二照明获取的第二阵列图像中的位置。所述指令还可使所述数据处理器执行操作,所述操作包括使用所述共同坐标系将以所述第一照明获取的第二阵列图像中的阵列基准的位置与以所述第二照明获取的第二阵列图像中的样品的位置进行比较。

[0038] 在另一方面,提供了一种存储指令的非暂时性计算机可读介质。所述指令在由至少一个处理器执行时可以使所述至少一个数据处理器执行操作。所述操作可包括接收包括

第一阵列图像的第一阵列图像数据,所述第一阵列图像包括阵列和阵列基准。所述操作还可包括接收包括第二阵列图像的第二阵列图像数据,所述第二阵列图像包括第一基板上的样品和第二基板上的阵列的叠加。所述第二阵列图像数据还可包括所述叠加中的阵列基准。在所述叠加中所述样品可遮蔽所述阵列基准。所述操作还可包括基于第一坐标系确定所述第一阵列图像中的阵列基准的位置。所述操作还可包括基于所述第一坐标系确定所述第二阵列图像中的样品的位置。所述操作还可包括将所述第一阵列图像中的阵列基准的位置与所述第二阵列图像中的样品的位置进行比较。所述操作还可包括基于所述比较相对于所述样品的位置提供所述阵列基准的位置。

[0039] 在另一方面,提供了一种用于将样品对准到阵列的系统。所述系统可包括样品保持器,所述样品保持器包括第一保持机构,所述第一保持机构被构造成将第一基板保持在所述第一保持机构内。所述第一基板可包括样品。所述样品保持器还可包括第二保持机构,所述第二保持机构被构造成保持接收在所述第二保持机构内的第二基板。所述第二基板可包括阵列。所述样品保持器可以被构造成调节所述第一基板相对于所述第二基板的位置,以使所述样品的全部或部分与所述阵列对准。所述系统还可包括可操作地联接到所述样品保持器的图像捕获装置。所述图像捕获装置可以被构造成观察所述样品保持器内的第一基板和第二基板;并且可以获取与所述样品和/或所述阵列相关联的图像数据。所述系统还可包括通信地联接到所述图像捕获装置和所述样品保持器的第一计算装置。所述计算装置可包括显示器、数据处理器和非暂时性计算机可读存储介质,所述非暂时性计算机可读存储介质存储计算机可读和可执行指令,所述计算机可读和可执行指令在被执行时可使所述数据处理器执行操作,所述操作包括接收包括样品和样品基准的样品图像的样品图像数据,所述样品图像具有第一分辨率。所述操作还可包括接收仪器基准数据,所述仪器基准数据包括第一仪器基准和第二仪器基准的仪器基准图像。所述操作还可包括接收包括阵列图像的阵列图像数据,所述阵列图像具有低于所述样品图像的第一分辨率的第二分辨率。所述阵列图像可包括叠加在所述样品和所述样品基准上的阵列和阵列基准。所述操作还可包括通过对准所述第一仪器基准和所述阵列基准来将所述仪器基准图像配准到所述阵列图像。所述操作还可包括通过对准所述第二仪器基准和所述样品基准来将所述仪器基准图像配准到所述样品图像。所述操作还可包括基于将所述仪器基准图像配准到样品阵列图像并且基于将所述仪器基准图像配准到所述阵列图像来生成对准图像。所述对准图像可包括与所述阵列对准的样品。所述操作还可包括提供所述对准图像。

[0040] 在以范围描述值的情况下,应理解,该描述包括公开这样的范围内所有可能的子范围,以及落入这样的范围内的具体数值,而不管明确陈述的是具体数值还是具体子范围。

[0041] 在提及项目集合而使用时,术语“各/每个/每一个”旨在识别集合中的单个项目但不一定是指集合中的每个项目,除非另有明确说明,或除非使用的上下文另有明确指示。

[0042] 本文描述了本公开的特征的各种实施方案。然而,应当理解,此类实施方案仅通过举例来提供,在不脱离本公开范围的情况下,本领域技术人员可以想到许多变型形式、变化和替换方案。还应当理解,本文所述具体实施方案的各种替代方案也在本公开的范围之内。

附图说明

[0043] 以下附图展示了本公开的特征和优点的某些实施方案。这些实施方案无意于以任

何方式限制所附权利要求书的范围。附图中相同的附图符号表示相同的元件。

[0044] 图1示出了根据一些示例实施方式的示例性空间分析工作流程。

[0045] 图2描绘了根据一些示例实施方式的在载片上制备生物样品的示例工作流程。

[0046] 图3是描绘了根据一些示例实施方式的夹层构造中的组织载片与基因表达载片之间的示例性透化溶液相互作用的示意图。

[0047] 图4是示出了根据一些示例实施方式的示例样品处理设备的示意图。

[0048] 图5A描绘了根据一些示例实施方式的示例第一构件和示例第二构件。

[0049] 图5B描绘了根据一些示例实施方式的联接到第二构件的第一构件的实例。

[0050] 图5C描绘了根据一些示例实施方式的联接到第二构件的第一构件、包括联接到第一基板和第二基板的联接构件的实例。

[0051] 图6是根据一些示例实施方式的示例第一构件和示例第二构件的图。

[0052] 图7描绘了根据一些示例实施方式的联接到第二构件的第一构件和第一基板与第二基板重叠的重叠区的特写仰视图的图。

[0053] 图8描绘了根据一些示例实施方式的示例样品处理设备的前剖面图。

[0054] 图9是根据一些示例实施方式的示例调节机构的图。

[0055] 图10是根据一些示例实施方式的包括自动化第二构件的示例样品处理设备的透视图。

[0056] 图11A是根据一些示例实施方式的包括加热器的示例样品处理设备的透视图。

[0057] 图11B是根据一些示例实施方式的包括加热器的示例第二构件的分解图。

[0058] 图11C是根据一些示例实施方式的示例所需基板(例如,载片)温度曲线随时间推移的图形。

[0059] 图12A是根据一些示例实施方式的示例第一构件的透视图。

[0060] 图12B是根据一些示例实施方式的图12A的示例第一构件的分解图。

[0061] 图13A是根据一些示例实施方式的示例第一构件的透视剖面图。

[0062] 图13B是根据一些示例实施方式的图13A的示例保持器板的透视图。

[0063] 图13C是根据一些示例实施方式的图13A的示例散热器块的透视图。

[0064] 图14A是根据一些示例实施方式的处于闭合位置的示例样品处理设备的透视图。

[0065] 图14B是根据一些示例实施方式的处于开启位置的示例样品处理设备的透视图。

[0066] 图15是根据一些示例实施方式的示例样品处理设备的透视图。

[0067] 图16A是根据一些示例实施方式的示例样品处理设备的透视图。

[0068] 图16B是根据一些示例实施方式的示出了设备的示例尺寸的示例样品处理设备的前视图。

[0069] 图16C是根据一些示例实施方式的示出了设备的示例尺寸的示例样品处理设备的侧视图。

[0070] 图17A-17C描绘了根据一些示例实施方式的将载片加载到样品处理设备中以供稍后对准的工作流程。

[0071] 图18A-18C描绘了根据一些示例实施方式的对准样品处理设备的已加载载片的工作流程。

[0072] 图19是说明根据当前主题的一些实施方式的用于将样品区域与阵列区域对准的

示例过程的过程流程图。

[0073] 图20描绘了根据当前主题的一些实施方式的调节第一基板相对于第二基板的位置以使样品区域的全部或部分与阵列区域对准的工作流程。

[0074] 图21A-21B描绘了根据当前主题的一些实施方式的基于在样品保持器内配置的阵列区域指示符调节第一基板相对于第二基板的位置的工作流程。

[0075] 图21C-21D描绘了根据当前主题的一些实施方式的基于在样品保持器内配置的多个阵列区域指示符调节多个第一基板相对于第二基板的位置的工作流程。

[0076] 图22A-22C描绘了根据当前主题的一些实施方式的指示基板的样品区域的工作流程。

[0077] 图23是说明根据当前主题的一些实施方式的用于基于所接收的样品的图像自动确定样品区域指示符的示例过程的过程流程图。

[0078] 图24A-24B描绘了接收基于样品的图像识别样品区域指示符的输入的工作流程。

[0079] 图25是说明根据当前主题的一些实施方式的用于基于所接收的多个视频图像自动确定样品区域指示符的示例过程的过程流程图。

[0080] 图26是说明根据当前主题的一些实施方式的用于响应于确定样品的区域而自动确定样品区域指示符的示例过程的过程流程图。

[0081] 图27是说明根据当前主题的一些实施方式的用于确定位于第一基板上的基准标记的示例过程的过程流程图。

[0082] 图28是说明根据当前主题的一些实施方式的用于基于配准的样品图像识别样品区域指示符的示例过程的过程流程图。

[0083] 图29A-29C描绘了根据一些示例实施方式的透化样品处理设备的样品的工作流程。

[0084] 图30是根据一些示例实施方式的示例样品处理设备的图。

[0085] 图31A-31C描绘了根据一些示例实施方式的在透化步骤期间对样品处理设备的夹层化载片进行图像捕获的工作流程。

[0086] 图32是说明根据当前主题的一些实施方式的基于将样品图像配准到阵列图像来生成对准图像的示例过程的过程流程图。

[0087] 图33A-33描绘了根据当前主题的一些实施方式的将样品图像配准到阵列图像的工作流程。

[0088] 图34A-34E描绘了根据当前主题的一些实施方式的基于对准样品基准和阵列基准而将样品图像配准到阵列图像的工作流程。

[0089] 图35A-35E描绘了根据当前主题的一些实施方式的基于对准用户提供的样品基准和阵列基准而将样品图像配准到阵列图像的工作流程。

[0090] 图36A-36B描绘了根据当前主题的一些实施方式的基于对准样品基板的边缘和阵列基准而将样品图像配准到阵列图像的工作流程。

[0091] 图37A-37D是说明根据当前主题的一些实施方式的样品基准的实施方案的图。

[0092] 图38A-38C是说明根据当前主题的一些实施方式的配置在样品基板的后部上的样品基准的实施方案的图。

[0093] 图39A-39E是说明根据当前主题的一些实施方式的阵列基准的配置的实施方案的

图。

[0094] 图40A-40C是说明根据当前主题的一些实施方式的可在其处捕获包括叠加在样品上的阵列的低分辨率图像以将样品图像配准到阵列图像的位置的实施方案的图。

[0095] 图41是说明根据当前主题的一些实施方式的用于基于使用多个仪器基准将样品图像配准到阵列图像来生成对准图像的示例过程的过程流程图。

[0096] 图42描绘了根据当前主题的一些实施方式的用于基于使用多个仪器基准将样品图像配准到阵列图像来生成对准图像的工作流程。

[0097] 图43A-43B示出了拼接伪像,其可以存在于包括多个单独图像部分的拼接图像内。

[0098] 图44是说明根据当前主题的一些实施方式的用于将样品图像的样品部分图像配准到阵列图像中的样品的相应部分的示例过程的过程流程图。

[0099] 图45描绘了根据当前主题的一些实施方式的将样品图像的样品部分图像配准到阵列图像中的样品的相应部分的工作流程。

[0100] 图46是说明根据当前主题的一些实施方式的用于将阵列图像的阵列部分图像配准到样品图像中的样品的相应部分的示例过程的过程流程图。

[0101] 图47描绘了根据当前主题的一些实施方式的将阵列图像的阵列部分图像配准到样品图像中的样品的相应部分的工作流程。

[0102] 图48是说明根据当前主题的一些实施方式的用于将拼接的样品部分图像配准到样品图像中的样品的相应部分的示例过程的过程流程图。

[0103] 图49是说明根据当前主题的一些实施方式的用于基于确定阵列的一个或多个加条形码的位置而将拼接的样品部分图像配准到样品图像中的样品的相应部分的示例过程的过程流程图。

[0104] 图50描绘了根据当前主题的一些实施方式的将拼接的样品部分图像配准到样品图像中的样品的相应部分的工作流程。

[0105] 图51是说明根据当前主题的一些实施方式的用于将拼接的样品部分图像配准到样品图像中的样品的相应部分并将拼接的阵列部分图像配准到样品图像中的样品的相应部分的示例过程的过程流程图。

[0106] 图52描绘了根据当前主题的一些实施方式的将拼接的样品部分图像配准到样品图像中的样品的相应部分并将拼接的阵列部分图像配准到样品图像中的样品的相应部分的工作流程。

[0107] 图53是根据一些示例实施方式的用于执行本文所述的图像配准过程和工作流程的示例系统架构的图。

[0108] 图54是根据一些示例实施方式的用于执行本文所述的过程和工作流程的示例软件架构的图。

[0109] 图55是根据一些示例实施方式的图54中所示的图像管理子系统的示例架构的图。

[0110] 图56是说明根据一些示例实施方式的计算装置的示例架构的图。

[0111] 图57是根据一些示例实施方式的由本文所述的可视化工具提供的示例界面显示器。

[0112] 图58A-58B描绘了根据一些示例实施方式的样品和阵列的配置,其中在所获取的图像数据中阵列基准与样品不重叠。

[0113] 图59是说明根据一些示例实施方式的用于检测与阵列相关联的基准的示例过程的过程流程图。

[0114] 图60A-60B描绘了根据一些示例实施方式的在所获取的图像数据中检测与样品重叠的阵列基准的工作流程。

[0115] 图61A-61B描绘了根据一些示例实施方式的在以不同焦平面获取的图像数据中检测与样品重叠的阵列基准的工作流程。

[0116] 图62A-62B描绘了根据一些示例实施方式的在以不同照明获取的图像数据中检测与样品重叠的阵列基准的工作流程。

[0117] 图63A-63B是说明根据一些示例实施方式的以不同照明获取的图像数据的图像。

[0118] 图64是说明根据一些实例实施方式的用于使用样品处理设备中提供的仪器基准来检测与阵列相关联的基准的示例过程的过程流程图。

[0119] 图65A-65B描绘了根据一些示例实施方式的在包括样品处理设备中提供的仪器基准的图像数据中检测与样品重叠的阵列基准的工作流程。

[0120] 图66是说明根据一些示例实施方式的用于检测施加到阵列位于其上的基板的基准的示例过程的过程流程图。

[0121] 图67A-67B描绘了根据一些示例实施方式的在包括施加到阵列位于其上的基板的基准的图像数据中检测与样品重叠的阵列基准的工作流程。

[0122] 图68A-68B描绘了根据一些示例实施方式的在关于样品的透化获取的图像数据中检测与样品重叠的阵列基准的工作流程。

[0123] 图69是说明根据一些示例实施方式的用于使用样品图像数据和在包括配置在阵列基板上的间隔件的样品处理设备中获取的阵列图像数据的图像配准来检测基准的示例过程的过程流程图。

[0124] 图70A-70B描绘了根据一些示例实施方式的在使用包括间隔件的样品处理设备获取和配准的图像数据中检测与样品重叠的阵列基准的工作流程。

[0125] 图71是说明根据一些示例实施方式的用于使用样品图像数据和在包括间隔件的样品处理设备中以多次照明获取的阵列图像数据的图像配准来检测基准的示例过程的过程流程图。

[0126] 图72A-72B描绘了根据一些示例实施方式的在使用包括间隔件的样品处理设备以多次照明获取和配准的图像数据中检测与样品重叠的阵列基准的工作流程。

[0127] 图73A-73C是说明根据一些示例实施方式的由样品处理设备以不同照明获取的用于图像配准过程和技术的图像数据的实施方案的图像。

[0128] 图74A-74B是说明根据一些示例实施方式的由样品处理设备以不同照明获取的用于图像配准过程和技术的图像数据的附加实施方案的图像。

[0129] 图75A-75D是说明根据一些示例实施方式的与用于验证本文所述的图像配准过程和技术的配准和位置误差相关联的示例数据的绘图。

[0130] 图76描绘了根据一些示例实施方式的由本文所述的样品处理设备进行图像和视频捕获的示例性工作流程。

具体实施方式

[0131] I. 引言

[0132] 本公开描述了用于生物样品的空间分析的设备、系统、方法和组合物。本章节描述了在本公开随后的章节中提及的某些通用术语、分析物、样品类型和制备步骤。例如，术语和短语：空间分析、条形码、核酸、核苷酸、探针、靶标、寡核苷酸、多核苷酸、受试者、基因组、衔接子 (adaptor)、接合物 (adapter)、标签、杂交 (hybridizing, hybridize)、退火 (annealing, anneal)、引物、引物延伸、邻近连接、核酸延伸、聚合酶链式反应 (PCR) 扩增、抗体、亲和基团、标记物、可检测标记物、光学标记物、模板转换寡核苷酸、夹板寡核苷酸、分析物、生物样品、基于一般空间阵列的分析方法、空间分析方法、免疫组织化学和免疫荧光、捕获探针、基板、阵列、分析物捕获、划分、对所捕获的分析物的分析、质量控制、多重化等在 PCT 专利申请公开号 W02020/123320 中更详细地描述，该专利申请的全部内容以引用方式并入本文。

[0133] 组织和细胞可以从任何来源获得。例如，组织和细胞可以从单细胞或多细胞生物体 (例如哺乳动物) 获得。细胞与其在组织样品内的相对位置之间的关系对于理解疾病病理学可能至关重要。空间组学 (例如，空间转录组学) 技术可以允许科学家测量组织样品中的所有基因活动并绘制正在发生活动的地方。本文所述的这种技术和实施方案可以产生新发现，这些新发现可以证明有助于帮助科学家更好地理解生物学过程和疾病。

[0134] 从哺乳动物 (例如人) 获得的组织和细胞通常具有各种各样的分析物水平 (例如，基因表达和/或蛋白质表达)，这可能导致细胞形态和/或功能上的差异。组织内细胞或细胞子集 (例如，相邻细胞和/或非相邻细胞) 的位置可能影响例如细胞的命运、行为、形态，以及与组织中其他细胞的信号传导和交叉对话。关于哺乳动物组织中不同细胞内分析物水平 (基因表达和/或蛋白质表达) 差异的信息还可以帮助医生选择或施用将会有效的治疗，并且可以允许研究人员基于检测到的该组织中不同细胞内分析物水平的差异来鉴定和阐明单细胞或多细胞生物体 (例如哺乳动物) 中细胞形态和/或细胞功能上的差异。哺乳动物组织中不同细胞内分析物水平的差异还可以提供关于组织 (例如，健康组织和患病组织) 如何起作用 and/或发育的信息。哺乳动物组织中不同细胞内分析物水平的差异还可以提供组织中疾病发病机理的不同机制和组织内治疗性处理的作用机制的信息。

[0135] 本文的空间分析方法提供了对哺乳动物组织中的不同细胞内或来自哺乳动物的单细胞内的分析物水平 (例如，基因表达和/或蛋白质表达) 差异的检测。例如，空间分析方法可以用于检测组织学载片样品中不同细胞内的分析物水平 (例如，基因表达和/或蛋白质表达) 的差异，从其可以重新组合数据以产生从哺乳动物获得的组织样品的分析物水平 (例如，基因表达和/或蛋白质表达) 的三维图谱，该三维图谱例如具有一定程度的空间分辨率 (例如，单细胞分辨率)。

[0136] 一直以来，发育中的系统内的空间异质性典型地经由 RNA 杂交、免疫组织化学、荧光报告蛋白或者预定义的亚群体的纯化或诱导以及随后的基因组图谱分析 (例如，RNA-seq) 来研究。然而，这类方法依赖于相对小的一组预定义标记物，从而引入了对发现造成限制的选择偏倚。这些现有方法还依赖于先验知识。传统上，RNA 测定依赖于有限数量的 RNA 物质的染色。相比之下，单细胞 RNA 测序允许对细胞基因表达 (包括非编码 RNA) 进行深入的图谱分析，但是已建立的方法将细胞与它们的天然空间背景分开。

[0137] 本文所述的空间分析方法以高空间分辨率提供样品内极其多种分析物的大量分析物水平和/或表达数据,例如,同时保留天然空间背景。

[0138] 分析物与捕获探针的结合可以使用多种不同的方法来检测,例如核酸测序、荧光团检测、核酸扩增、核酸连接检测和/或核酸裂解产物检测。在一些实例中,该检测用于将特定空间条形码与细胞(例如,哺乳动物细胞)所产生的以及/或者存在于该细胞中的特定分析物相关联。

[0139] 捕获探针可以例如附接到表面,例如固体阵列、珠粒或盖玻片。在一些实例中,捕获探针没有附接到表面。在一些实例中,捕获探针可以封装在可渗透的组合物(例如,本文所述的任何基板)的表面内,包埋在该表面内,或者层叠在该表面上。

[0140] 空间分析方法的非限制性方面在以下文献中描述:WO 2011/127099、WO 2014/210233、WO 2014/210225、WO 2016/162309、WO 2018/091676、WO 2012/140224、WO 2014/060483、美国专利号10,002,316、美国专利号9,727,810、美国专利申请公开号2017/0016053;Rodriques等人,Science 363(6434):1463-1467,2019;WO 2018/045186;Lee等人,Nat. Protoc. 10(3):442-458,2015;WO 2016/007839、WO 2018/045181、WO 2014/163886;Trejo等人,PLoS ONE 14(2):e0212031,2019;美国专利申请公开号2018/0245142;Chen等人,Science 348(6233):aaa6090,2015;Gao等人,BMC Biol. 15:50,2017;WO 2017/144338、WO 2018/107054、WO 2017/222453、WO 2019/068880、WO 2011/094669、美国专利号7,709,198、美国专利号8,604,182、美国专利号8,951,726、美国专利号9,783,841、美国专利号10,041,949、WO 2016/057552、WO 2017/147483、WO 2018/022809、WO 2016/166128、WO 2017/027367、WO 2017/027368、WO 2018/136856、WO 2019/075091、美国专利号10,059,990、WO 2018/057999、WO 2015/161173;以及Gupta等人,Nature Biotechnol. 36:1197-1202,2018,这些文献的全部内容以引用方式并入本文,并且能够以任何组合在本文中使用。本文描述了空间分析的其他非限制性方面。

[0141] 本文所述的实施方案可以用载片(例如,基因表达载片)(例如,在组织载片上)绘制复杂组织样品的空间基因表达,所述载片利用分析物和/或mRNA转录物捕获和空间条形码技术来进行文库制备。可以将组织(例如,新鲜冷冻的、福尔马林固定石蜡包埋的(FFPE)、等)切片并放置在具有数千个加条形码斑点的载片附近,其中每个加条形码斑点均含有数百万个捕获寡核苷酸,这些捕获寡核苷酸具有该斑点特有的空间条形码。一旦组织切片被固定、染色和透化,它们就从组织的近侧位置释放与捕获寡核苷酸结合的mRNA。当组织仍在原位时,可能会发生逆转录反应,从而产生掺入空间条形码并保留空间信息的cDNA文库。加条形码的cDNA文库被映射回加条形码斑点的捕获区上的特定斑点。该基因表达数据随后可以在组织切片的高分辨率显微镜图像上分层,使得有可能以空间分辨的方式显现组织形态内任何mRNA或mRNA组合的表达。

[0142] 图1示出了根据一些示例实施方式的示例性空间分析工作流程100。工作流程100包括在载片(例如,病理载片)上制备生物样品101,固定该样品,以及/或者对生物样品进行染色102以用于成像。然后,可以使用明场模式(对苏木精和伊红染色的样品成像)和/或荧光模式(对特征成像)在载片上将染色的样品成像。该成像可以包括高分辨率成像(例如,可以揭示病理学特征和组织学特征的图像)。任选地,在103处,样品可以在透化之前脱色。在104处,可以将透化溶液施加到生物样品,同时病理载片以“夹层”构造与包括在空间上加条

形码的阵列的载片(例如,在阵列载片上)对准。透化溶液允许分析物和/或mRNA转录物迁移离开样品,扩散穿过透化溶液,然后朝阵列迁移。分析物和/或mRNA转录物与载片上的捕获探针相互作用。

[0143] 在105处,捕获探针可以任选地从阵列中裂解,并且所捕获的分析物可以通过进行逆转录酶第一链cDNA反应而在空间上加条形码。第一链cDNA反应可以任选地使用模板转换寡核苷酸来进行。在106处,可以(例如,使用聚合酶链式反应(PCR))扩增第一链cDNA,其中正向引物和反向引物位于空间条形码和感兴趣的分析物区域的侧翼,从而产生与特定空间条形码相关联的文库。在一些实施方案中,cDNA包含边合成边测序(SBS)引物序列。可以对文库扩增子进行测序和分析,以解码空间信息。

[0144] 图2描绘了根据一些示例实施方式的在载片(例如病理载片)上制备生物样品的示例工作流程101。在载片上制备生物样品可以包括选择病理玻璃载片201。工作流程101还包括将组织切片放置在玻璃载片上202。将组织切片放置在玻璃载片上可以包括将组织放置在玻璃载片上的任何位置,包括将组织放置在设置在玻璃载片上的基准上或将组织放置为与设置在玻璃载片上的基准相关。基准可以包括任何有助于将组织放置在载片上以及/或者有助于组织载片相对于基因表达载片对准的标记。工作流程101还包括用苏木精和伊红203或者另一种染色剂或方法对组织进行染色。工作流程101还包括使用明场(例如,对苏木精和伊红染色的样品成像)或另一种成像技术对载片上的组织204成像。该成像可以包括在用户成像系统上的高分辨率成像。该成像还可包括使用在本文所述的样品处理设备中配置的图像捕获装置执行的成像。在一些实施方案中,使用图像捕获装置执行的成像可包括低分辨率成像或高分辨率成像。该成像可以允许用户确认相关病理以及/或者识别用于分析的任何目标区。该成像可以使用本文所述的图像捕获装置和样品处理设备以一个或多个图像捕获模式执行。

[0145] 本文所述的涉及在载片上制备生物样品的实施方案可以有利地允许用户:确认组织切片上的病理区域或相关区域,确认选择最佳或未受损的组织切片以供分析,通过允许放置在病理载片上的任何位置来改进阵列与组织的对准。另外,在载片上制备生物样品的工作流程可以授权用户或科学家选择要测序的对象(例如,要测序的组织切片)。

[0146] 图3是描绘根据一些示例实施方式的夹层构造中包括生物样品,例如组织切片的第一基板(例如,组织载片)与包括在空间上加条形码的阵列的第二基板(例如,基因表达载片)之间的示例性夹层化过程(例如,透化溶液相互作用)104的示意图。在示例性夹层化过程期间,第一基板与第二基板对准,使得生物样品的至少一部分与阵列的至少一部分对准(例如,以夹层构造对准)。在示例性构造中,样品(例如,组织样品或生物样品)302设置在病理载片303上,并且夹置在病理载片303与组装有在空间上加条形码的捕获探针306的载片304(例如基因表达载片)之间。如图所示,载片304位于病理载片303的上方位置。在一些实施方案中,病理载片303可以定位在玻璃载片304的上方。当透化溶液305施加到病理载片303与载片304之间的间隙307时,透化溶液305产生透化或消化样品302的透化缓冲液,并且组织样品302的分析物(例如,mRNA转录物)308可以释放,跨越间隙307朝捕获探针306扩散,然后结合在捕获探针306上。在一些实施方案中,已与样品中的分析物结合的分析物捕获试剂(或此分析物捕获试剂的各部分)可以释放,主动地或被动地跨越间隙迁移并且结合在捕获探针上。

[0147] 在分析物(例如,转录物)308结合在捕获探针306上之后,可能发生延伸反应(例如,逆转录反应),从而产生空间上加条形码的文库。例如,在mRNA转录物的情况下,可能发生逆转录,从而产生与特定空间条形码相关联的cDNA文库。加条形码的cDNA文库可以被映射回到捕获探针306的捕获区上的特定斑点。该基因表达数据随后可以在组织切片的高分辨率显微镜图像(例如,在图2的204处获取)上分层,使得有可能以空间分辨的方式显现组织的形态内的任何mRNA或mRNA组合的表达。

[0148] 在一些实施方案中,延伸反应可以与本文所述的被配置成执行示例性夹层化过程104的样品处理设备分开执行。样品302、病理载片303和载片304的夹层构造可以提供优于其他空间分析方法和/或分析物捕获方法的优点。例如,该夹层构造可以减轻用户开发自身的组织切片和/或组织安装专门技能的负担。另外,该夹层构造可以使样品制备/组织成像与加条形码的阵列(例如,在空间上加条形码的捕获探针306)脱离,并且使得能够选择特定的感兴趣区域以供分析(例如,对于大于加条形码的阵列的组织切片)。该夹层构造还有益地使得能够进行空间分析,而不必将组织切片302直接放置在基因表达载片(例如,载片304)上。

[0149] 本文所述的夹层构造还提供了在将额外时间和资源投入分析工作流程之前质量检查或选择组织的特定切片的有益能力。这可以有利于减少成本和风险,或者减少样品制备过程中可能出现的错误或问题。另外,夹层构造可以使得能够在样品切片大于阵列时选择样品的哪个区域进行测序。使用本文所述的夹层构造的另一个益处是能够分离基准成像和高分辨率样品成像。这可以实现执行组织学工作流程和分子生物学工作流程所需的专业知识的分离,并且还可以使得测定和样品能够在不同实验室之间移动。另外,本文所述的夹层构造可以在样品制备条件下提供极大的灵活性和更多选项,因为样品基板或载片上不存在寡核苷酸。这可以降低样品从基板掉落的可能性,并且可以降低寡核苷酸由于高温或在样品制备期间与其它试剂的相互作用而受损的可能性。本文所述的夹层构造还可以通过在竖直方向上将目标分子限制在扩散距离内来提高灵敏度和空间分辨率。

[0150] II. 用于样品分析的系统

[0151] 上述用于分析生物样品的方法(例如上述夹层构造)可以使用多种硬件部件来实现。在本章节中,描述了此类部件的实例。然而,应当理解,一般来讲,本文所论述的各种步骤和技术可以使用多种不同的装置和系统部件来执行,但并非所有这些装置和系统部件都被明确地阐述。

[0152] 图4是示出了根据一些示例实施方式的示例样品处理设备400的示意图。样品处理设备400(也称为样品保持器400)包括保持第一基板406的第一构件404,样品302可以定位在该第一基板上。第一构件404可以包括第一保持机构,该第一保持机构被构造成将第一基板406保持在沿轴线的固定位置,并且将该第一基板保持设置在第一平面中。如图所示,样品处理设备400还包括保持第二基板412的第二构件410。第二构件410可以包括第二保持机构,该第二保持机构被构造成将第二基板412保持设置在第二平面中。第二基板412可以包括加条形码的阵列(例如,在空间上加条形码的捕获探针306),如上所述。如图所示,样品处理设备400还包括调节机构415,该调节机构被构造成移动第二构件410。调节机构415可以联接到第二构件410并且包括线性致动器420,该线性致动器被构造成使第二构件410沿与第二平面正交的z轴移动。在一些方面,调节机构415可以替代地或另外地联接到第一构件

404。

[0153] 图5A描绘了根据一些示例实施方式的示例第一构件404和示例第二构件410。如图所示,第二构件410包括销505。如还所示,第一构件404包括孔口504。孔口504的大小和构造可与销505配合。在一些方面,调节机构415(未示出)可包括销505和孔口504。销505和孔504配合可使得第一构件404相对于第二构件410对准。

[0154] 图5B描绘了根据一些示例实施方式的在夹层构造中的(例如,经由销505和孔口504)联接或以其它方式机械附接到第二构件410的第一构件404的实例。如图所示,第二基板412包括至少部分地围绕第二基板412的加条形码的阵列的间隔件507。间隔件507可以被构造成接触并维持第一基板406与第二基板412之间的最小间距。虽然间隔件507被示为设置在第二基板412上,但是间隔件507可以另外或替代地设置在第一基板406上。

[0155] 图5C描绘了根据一些示例实施方式的在夹层构造中的联接第二构件410的第一构件404的实例,所述夹层构造包括联接第一基板406和第二基板412并且被构造成抑制第一基板406与第二基板412之间的移动的联接构件509。在一些方面,联接构件509包括(例如,经由磁力)将第一基板406朝向第二基板412推动或将第二基板朝向第一基板推动的磁体。

[0156] 图6是根据一些示例实施方式的示例第一构件604和示例第二构件410的图。如图6的左侧所示,第一构件604联接第二构件410。图6的右上方描绘了第一构件604。如图所示,第一构件604被构造成保持两个第一基板406。如还所示,两个第一基板406在第一构件604内沿着共同平面(例如,xy平面)基本上彼此平行地设置。第一构件包括第一保持机构608,该第一保持机构被构造成保持第一基板406。第一保持机构608可包括弹簧柱塞,该弹簧柱塞被构造成将第一基板406推到某一位置;可包括弹簧加载夹钳设计,该弹簧加载夹钳设计被构造成向第一基板406施加力以保持第一基板406与第一构件604之间的接触,等等,以将第一基板406保持在第一构件604中的某一位置。图6的右下方描绘了第二构件410。第二构件410包括被构造成保持第二基板412的第二保持机构609。第二保持机构609可包括弹簧柱塞,该弹簧柱塞被构造成将第二基板412推到某一位置;可包括弹簧加载夹钳设计,该弹簧加载夹钳设计被构造成向第二基板412施加力以维持第二基板412与第二构件410之间的接触,等等,以将第二基板412保持在第二构件410中的某一位置。

[0157] 图7描绘了根据一些示例实施方式的联接第二构件410的第一构件404和第一基板406与第二基板412重叠的重叠区710的特写仰视图的图700。该重叠可以沿与第一基板406正交并且/或者与第二基板412正交的轴线发生。在一些方面,相机可以捕获重叠区710的图像,该图像可以用作本文进一步描述的空间分析的一部分。在一些实施方案中,图700描绘了联接第二构件410的第一构件404的组件,该组件具有113mm长和112mm宽的尺寸,但其它尺寸是可能的。

[0158] 图8描绘了根据一些示例实施方式的样品处理设备400的前剖面图。如图所示,第一构件404和第二构件410可以被构造成维持第一基板406与第二基板412之间的分隔距离405。分隔距离405在初始或打开位置可以为19.5mm。在一些方面,调节机构415可被构造成调节分隔距离405。

[0159] 图9是根据一些示例实施方式的示例调节机构415的图。调节机构415可以包括移动板916、衬套917、有肩螺钉918、马达托架919和线性致动器420。移动板916可以联接第二

二构件410,并且通过使移动板916在上方向上朝第一基板406向上移动来调节沿z轴(例如,与第二基板412正交)的分隔距离405。移动板906的这种移动可以通过线性致动器420来完成,该线性致动器被构造成使第二构件410沿与第二平面正交的轴线以一定速度移动。该速度可以由通信地联接到线性致动器420的控制器来控制。例如,该速度可以被构造为以在至少0.1mm/s至2mm/s之间的速度来移动该移动板。在一些方面,移动板(例如,闭合夹层)的速度可以影响透化溶液305内的气泡产生或截留。另外,线性致动器可以被构造成以一定量的力(例如,在0.1-4.0磅之间的力)移动移动板906。控制器可以被配置成调节线性致动器420的速度和/或力的量,以实现移动板906的速度和力的期望组合。

[0160] 在一些方面,移动板(例如,闭合夹层)的速度可以影响透化溶液305内的气泡产生或截留。在一些实施方案中,选择闭合速度以使透化溶液305内的气泡产生或截留最小化。在一些实施方案中,选择闭合速度以缩短试剂介质的流动前沿从与第一基板和第二基板的初始接触点扫过夹层区所花费的时间(本文中也称为“闭合时间”)。在一些实施方案中,选择闭合速度以将闭合时间缩短到小于约1100ms。在一些实施方案中,选择闭合速度以将闭合时间缩短到小于约1000ms。在一些实施方案中,选择闭合速度以将闭合时间缩短到小于约900ms。在一些实施方案中,选择闭合速度以将闭合时间缩短到小于约750ms。在一些实施方案中,选择闭合速度以将闭合时间缩短到小于约600ms。在一些实施方案中,选择闭合速度以将闭合时间缩短到约550ms或更短的时间。在一些实施方案中,选择闭合速度以将闭合时间缩短到约370ms或更短的时间。在一些实施方案中,选择闭合速度以将闭合时间缩短到约200ms或更短的时间。在一些实施方案中,选择闭合速度以将闭合时间缩短到约150ms或更短的时间。

[0161] 图10是根据一些示例实施方式的包括自动化第二构件410的示例样品处理设备400的透视图。如图所示,样品处理设备400包括调节机构415。调节机构415可以是自动的,使得移动板916、衬套917、有肩螺钉918、马达托架919和线性致动器420中的一者或多者可以由通信地联接到调节机构415的控制器(未示出)来控制。控制器可以被配置成调节第二构件410相对于第一构件404的位置(例如,分隔距离405)。第一构件404可以相对于一个或多个轴(例如,z轴)固定。

[0162] 图11A是根据一些示例实施方式的包括加热器1108的示例样品处理设备400的透视图。如图所示,样品处理设备400包括作为第二构件410的一部分的加热器1108。

[0163] 图11B是根据一些实例实施方式的包括加热器1108的示例第二构件410的分解图。如图所示,加热器1108位于第二基板412下方或之下,且位于第二构件保持器1110上方(之上)。加热器1108可以被构造成将第二基板412加热到所需或目标温度。第二构件保持器1110包括重叠区710的切口窗口1111。第二构件保持器1110还包括用于加热器1108的环氧树脂凹部1112和用于第一基板406和第二基板412平行对准的螺钉孔1113。如还所示,第二构件410包括第二保持机构609。第二保持机构609可包括摆动夹钳、弹簧加载夹钳等,以将第二基板412保持在第二构件410内的某一位置。

[0164] 图11C是根据一些示例实施方式的示例所需基板(例如,载片)温度曲线随时间推移的图形1150。如图形1150所示,载片的温度可以在接近环境温度处(例如,在18-28°C之间)徘徊,直到触发时间1160(例如,当成像开始时或当基板的夹层化开始时)。在触发时间1160之后,加热器1108可以加热载片,并且载片温度可以线性上升,直到在1170处载片温度

达到所需载片温度的阈值温度。在达到阈值温度之后,载片温度可以围绕所需载片温度 T_{set} 正弦波动,并且可以稳定在围绕所需温度 T_{set} 的阈值幅值内。在1180处,夹层计时器可以完成,并且载片温度可以开始下降并返回到环境温度。在一些方面,所需温度可以基于组织样品302、透化溶液305、第一基板或第二基板的起始温度等。

[0165] 图12A是根据一些示例实施方式的示例第一构件404的透视图。如图所示,第一构件404包括保持器板1210和第一保持机构608,该第一保持机构将第一基板406保持在第一构件404内。

[0166] 图12B是根据一些示例实施方式的图12A的示例第一构件404的分解图。如图所示,第一构件404包括保持器板1210、绝缘垫圈1211、热垫1212和热电冷却器(TEC) 1213。保持器板1210可被构造成接收和保持第一基板406。绝缘垫圈1211、热垫1212和/或TEC 1213可被构造成调节和/或维持第一基板406的所需或目标温度。

[0167] 图13A是根据一些示例实施方式的示例第一构件404的透视剖面图。如图所示,图13A的第一构件404包括保持器板1210、绝缘垫圈1211、TEC 1213和散热器块1214。

[0168] 图13B是根据一些示例实施方式的图13A的示例保持器板1210的透视图。如图所示,保持器板1210包括重叠区710的切口窗口1216。

[0169] 图13C是根据一些示例实施方式的图13A的示例散热器块1214的透视图。如图所示,散热器块1214包括重叠区710的切口窗口1217。

[0170] 图14A是根据一些示例实施方式的处于闭合位置的示例样品处理设备1400的透视图。如图所示,样品处理设备1400包括第一构件1404、第二构件1410、图像捕获装置1420、第一基板1406、铰链1415和镜子1416。铰链1415可以被构造成通过沿铰链1415以蛤壳方式开启和/或闭合第一构件1404来允许第一构件1404以开启或闭合构造定位。

[0171] 图14B是根据一些示例实施方式的处于开启位置的示例样品处理设备1400的透视图。如图所示,样品处理设备1400包括一个或多个第一保持机构1408,该第一保持机构被构造成保持一个或多个第一基板1406。在图14B的实例中,第一构件1404被构造成保持两个第一基板1406,然而第一构件1404可以被构造成保持更多或更少第一基板1406。

[0172] 在一些方面,当样品处理设备1400处于开启位置时(如图14B所示),第一基板1406和/或第二基板1412可以装载和定位在样品处理设备1400内,例如分别在第一构件1404和第二构件1410内。如上所述,铰链1415可以允许第一构件1404闭合在第二构件1410上并形成夹层构造(例如,图3所示的夹层构造)。

[0173] 在一些方面,在第一构件1404闭合在第二构件1410上之后,样品处理设备1400的调节机构(未示出)可以致动第一构件1404和/或第二构件1410,以形成用于透化步骤的夹层构造(例如,使第一基板1406和第二基板1412彼此更靠近,并且处于该夹层构造的阈值距离内)。调节机构可以被构造成控制夹层构造的速度、角度等。

[0174] 在一些实施方案中,组织样品(例如,样品302)可以在闭合第一构件1404之前(例如,经由第一保持机构1408)在第一构件1404内对准,使得样品302的期望的感兴趣区域与基因表达载片(例如,载片304)的加条形码的阵列对准,例如,当第一基板和第二基板在夹层构造中对准时。这种对准可以(例如,由用户)手动或(例如,经由自动化对准机构)自动完成。在对准之后或之前,可以将间隔件施加到第一基板1406和/或第二基板1412,以在夹层化期间维持第一基板1406与第二基板1412之间的最小间距。在一些方面,透化溶液(例如,

透化溶液305)可以施加到第一基板1406和/或第二基板1412。第一构件1404然后可以闭合在第二构件1410上并形成夹层构造。分析物和/或mRNA转录物308可以被捕获探针306捕获,并且可以被加工以用于空间分析。

[0175] 在一些实施方案中,在透化步骤期间,图像捕获装置1420可以捕获组织302与捕获探针306之间的重叠区(例如,重叠区710)的图像。如果在样品处理设备1400内存在多于一个第一基板1406和/或第二基板1412,则图像捕获装置1420可以被构造为捕获一个或多个重叠区710的一个或多个图像。

[0176] 图像捕获装置1420和样品处理设备1400可以被配置成以一种或多种图像捕获模式捕获图像。图像捕获模式可以包括可由用户应用的编程设置和参数,并且可以将图像捕获装置1420和样品处理设备1400配置为在各种工作流程或实验条件下捕获图像。图像捕获模式可以允许针对各种使用情况,包括不同的样品染色条件、不同的荧光条件和不同的照明要求进行图像捕获和图像数据生成。以此方式,样品处理设备1400可以不同分辨率支持各种成像需求,所述不同分辨率可以独立于特定测定或实验工作流程。

[0177] 在一些实施方案中,图像捕获模式可包括自由捕获模式和测定捕获模式。自由捕获模式可能不与捕获关于特定测定或测定工作流程的图像数据相关联。而是,自由捕获模式可以使得用户能够按照其意愿以自组方式或在定制或替代实验工作流程内获取图像数据。例如,可以在去除苏木精之前和去除苏木精之后对H&E染色的组织样品进行成像。

[0178] 测定捕获模式可以与特定测定或测定工作流程相关联且在特定测定或测定工作流程内执行。测定或测定工作流程可包括捕获已染色的样品的图像。例如,可以用苏木精和伊红进行H&E染色的H&E染色的组织样品可以在测定或测定工作流程中成像以生成RGB图像数据。当以测定捕获模式配置时,样品处理设备1400可以在可以在如本文所述的测定期间执行的透化步骤之前、期间或之后捕获图像数据。

[0179] 以任何一个或若干图像捕获模式获取的所捕获的图像数据可用于由样品处理设备1400执行的图像配准方法中。在一些实施方案中,在测定捕获模式和/或自由捕获模式中获取的图像数据可以程序化自动方式或以由提供给样品处理设备1400的用户输入限定的手动方式获取。

[0180] 在一些实施方案中,以本文所述的图像捕获模式捕获的图像数据可包括图像捕获模式数据。图像捕获模式数据可以是识别在使用图像捕获装置1420捕获图像数据时样品处理设备1400正以其操作的特定图像捕获模式的数据,例如标签、参数或标识符。在一些实施方案中,本文所述的样品处理设备400、1400和3000中的任一个可包括实现图像捕获模式中的任一者的软件。当软件由数据处理器执行时,软件可以使在样品处理设备400、1400和3000中的任一个中配置的图像捕获装置获取如本文中所描述的图像数据。

[0181] 图15是根据一些示例实施方式的示例样品处理设备1400的透视图。如图所示,样品处理设备1400处于打开位置,其中第一构件1404设置在第二构件1410上方(之上)。如上所述,第一构件1404和/或第二构件1410可以被构造成保持一个或多个基板(例如,分别是第一基板1406和/或第二基板1412)。样品处理设备1400还包括用户界面1525。用户界面1525可包括触摸屏显示器,该触摸屏显示器用于显示与样品处理设备有关的信息,并接收用于控制样品处理设备1400的各方面或各功能的用户输入控件。

[0182] 图16A是根据一些示例实施方式的示例样品处理设备1400的透视图。

[0183] 图16B是根据一些示例实施方式的示例样品处理设备1400的前视图,其示出了设备1400的示例尺寸。如图所示,样品处理设备可具有300mm的宽度和255mm的高度,但其它尺寸是可能的。第二构件1410可具有150mm的高度和300mm的宽度,但其它尺寸是可能的。

[0184] 图16C是根据一些示例实施方式的示例样品处理设备1400的侧视图,其示出了设备1400的示例尺寸。如图所示,样品处理设备可具有405mm的深度,但其它尺寸是可能的。

[0185] III. 样品和阵列对准装置和方法

[0186] 本文所述的空间分析工作流程通常涉及使样品与特征阵列接触。在利用此类工作流程的情况下,将样品与阵列对准是执行空间组学(例如,空间转录组学)测定的重要步骤。高效产生给定样品的可靠实验数据的能力在很大程度上可能取决于样品与阵列的对准。传统的技术需要将样品直接放置到阵列上。这种方法可能需要熟练的人员和额外的实验时间来制备样品的切片并将样品的切片直接安装在阵列上。样品与阵列未对准可能导致资源浪费、样品制备时间延长以及样品的低效使用,这可能在数量上受限。

[0187] 本文所述的系统、方法和计算机可读介质可以实现样品和阵列的高效且精确对准,从而有助于本文所述的空间组学(例如,空间转录组学)成像和分析工作流程或测定。样品(例如,组织的各部分)可以放置在第一基板上。第一基板可以包括载片,用户可以将组织的样品放置到该载片上。阵列(例如,试剂阵列)可以形成在第二基板上。第二基板可以包括载片,并且阵列可以形成在第二基板上。对样品和阵列使用分开的基板可以有利地允许用户进行本文所述的空间组学(例如,空间转录组学)测定,而无需将样品放置到阵列基板上。本文所述的样品保持器和使用方法可以提高使用者提供用于空间转录组学分析的样品的便利性。例如,本文所述的系统和方法让使用者免于拥有先进的样品或组织切片或安装专门技能就可以操作。对样品和阵列使用分开的基板的额外益处可以包括改进的样品制备和样品成像时间、更强的对感兴趣区域(ROI)做出选择的能力,以及对样品和阵列基板的更有效使用。本文所述的系统、方法和计算机可读介质可以还使得用户能够选择样品的最佳切片以提交给测序工作流程。一些组织样品或部分组织样品在安装期间可能受损。例如,组织样品或部分组织样品可能自身折叠。本文所述的系统、方法和计算机可读介质还可以使得用户能够在提交给测序工作流程之前确认相关病理学和/或生物学。

[0188] 样品基板和阵列基板,以及因此样品和阵列可以使用本文所述的仪器和方法来对准。由于样品与阵列(例如,试剂阵列)的改进的对准,因此本文所述的对准技术和方法可以产生更准确的空间组学(例如,空间转录组学)测定结果。

[0189] 在一些实施方案中,本文所述的工作流程包括使设置在第一基板的某个区上的样品与第二基板的至少一个特征阵列接触。在一些实施方案中,该接触包括使两个基板接近,使得第一基板上的样品可以与第二基板上的加条形码的阵列对准。在一些情况下,该接触通过将第一基板和第二基板布置在夹层组件中来实现。在一些实施方案中,工作流程包括将样品安装到第一基板上的在先步骤。

[0190] 第一基板上的样品与第二基板上的阵列的对准可以手动或(例如,经由自动化对准)自动实现。在一些方面,手动对准可以在最少的光学或机械辅助下完成,然而在将样品的期望的感兴趣区域与加条形码的阵列对准时,可能导致精度有限的问题。此外,由于透化步骤期间所需的时间相对较短,因此对手动完成的对准的调节可能很耗时。

[0191] 可能希望执行组织载片(例如,病理载片303)与阵列载片(例如,具有加条形码的

捕获探针306的载片304)的实时对准。在一些实施方式中,这种实时对准可以经由样品处理设备(例如,样品处理设备400、样品处理设备1400等)的机动化平台和致动器来实现。

[0192] 图17A-17C描绘了根据一些示例实施方式的将载片加载到样品处理设备中以供稍后对准的工作流程1700。

[0193] 图17A描绘了示例样品处理设备400,其中没有载片加载到设备400中。如图所示,样品处理设备400包括两个第一构件404、第二构件410和图像捕获装置1720。图像捕获装置1720可以对应于关于图14A-14B示出和描述的图像捕获装置1420。虽然图17A-17C示出了两个第一构件404和单个第二构件410,但应了解更多或更少第一构件404和/或第二构件410是可能的。虽然图像捕获装置1720示出为处于低于第二构件410的位置,但图像捕获装置1720可以有其它位置,并且也可以有更多或更少图像捕获装置1720。

[0194] 图17B描绘了样品处理设备400,其中基因表达载片(例如,具有加条形码的捕获探针306的载片304)加载到第二构件410中。图17B的底部部分示出了载片304的俯视图。如图所示,载片304包括分别具有加条形码的捕获探针306A和306B的两个阵列区域。

[0195] 图17C描绘了样品处理设备400,其中组织载片303A和病理载片303B分别加载到第一构件404A和404B中。如图所示,组织载片303A和病理载片303B分别包括组织样品302A和302B。图17C的底部部分示出了在加载之后基因表达载片304与组织载片303A和病理载片303B的初始对准的俯视图。

[0196] 图18A-18C描绘了对准样品处理设备400的已加载载片的工作流程1800。图18A-18C与图17A-17C相似并且由其改变而来,且工作流程1800可以在工作流程1700之后发生。

[0197] 图18A示出了图17C的样品处理设备400,其中第二构件410朝向第一构件404A和404B向上移动。在一些方面,使第二构件410更靠近第一构件404可以使载片303和304的期望区域的对准更容易实现。第二构件410的移动可以由样品处理设备400的调节机构(例如,调节机构415)执行。图18A的底部部分示出了载片303A、303B和304的初始对准的俯视图。如还所示,组织样品302A和302B分别包括感兴趣区域1802A和1802B。感兴趣区域1802A和1802B可以由用户在将载片303加载到样品处理设备400中之前选择,或者可以在对组织样品302A和302B成像之后确定。在一些实施方案中,感兴趣区域1802可以是注释,所述注释可以由用户手动地施加在组织载片303A、病理载片303B或阵列载片304上。例如,用户可以使用标记、图章或贴纸来注释载片上的感兴趣区域1802。在一些实施方案中,感兴趣区域1802可以由用户手动地施加在组织样品302A和/或302B的图像上,或者施加在已与阵列载片304叠加的组织样品302A或302B的图像上。

[0198] 在一些实施方案中,基于由用户提供给样品处理设备400的输入,感兴趣区域1802可以自动地施加在组织载片303A和/或病理载片303B上,或施加在阵列载片304上。在一些实施方案中,感兴趣区域1802可以在联接到样品处理设备400的计算装置的显示器上选择和注释。在一些实施方案中,样品处理设备400可以基于所选的感兴趣区域1802将组织载片303A和/或病理载片303B与阵列载片304对准。在一些实施方案中,样品处理设备400可以经由图像捕获,例如使用图像捕获装置1720,并且使用图像处理技术,读取或确定标记感兴趣区域1802的注释。在一些实施方案中,注释感兴趣区域1802可以由与样品处理设备400分开的专用机器执行,使得在用户已通过向样品处理设备400提供的界面选择感兴趣区域1802之后,专用机器将注释标记施加于组织载片303A、病理载片303B或阵列载片304。图18B描绘

了加条形码的捕获探针区域306A与组织样品感兴趣区域1802A的对准。对准可以在xy平面中并且通过在xy方向上移动第一构件404A以使捕获探针306A与感兴趣区域1802A光学地和竖直地对准进行。例如,如图18B的底部部分所示,载片303A和304的俯视图示出了捕获探针306A与组织样品302A的感兴趣区域1802A对准(例如,虚线)。在一些方面,图像捕获装置1720可以通过提供捕获探针306A、样品302A和/或感兴趣区域1802A的图像来帮助载片303和304的对准。在一些方面,对准精度可以在大约0.1-0.5mm内。在一些实施方案中,本文所述的自动对准可以实现在1-10微米内的对准精度。

[0199] 在一些方面,第一构件404A的移动可以由对准机构执行,所述对准机构被构造成使载片303A(例如,第一基板406、第一基板1406等)沿着第一平面(例如,组织载片303A的xy平面)移动。在一些实施方式中,对准机构可以被构造成使基因表达载片304(例如,第二基板412、第二基板1412等)沿着第二平面(例如,载片304的xy平面)移动。

[0200] 图18C描绘了加条形码的捕获探针区域306B与组织样品感兴趣区域1802B的对准。对准可以在xy平面中并且通过在xy方向上移动第一构件404B以使捕获探针306B与感兴趣区域1802B光学地和竖直地对准进行。例如,如图18C的底部部分所示,载片303B和304的俯视图示出了捕获探针306B与组织样品302B的感兴趣区域1802B对准。在一些方面,图像捕获装置1720可以通过提供捕获探针306B、样品302B和/或感兴趣区域1802B的图像来帮助载片303和304的对准。

[0201] 在一些方面,第一构件404B的移动可以由对准机构执行,所述对准机构被构造成使载片303B(例如,第一基板406、第一基板1406等)沿着第一平面(例如,载片303B的xy平面)移动。在一些实施方式中,对准机构可以被构造成使基因表达载片304(例如,第二基板412、第二基板1412等)沿着第二平面(例如,载片304的xy平面)移动。

[0202] 图19是说明根据当前主题的一些实施方式的用于将样品区域与阵列区域对准的示例过程1900的过程流程图。在1910处,第一基板可以接收在样品处理设备,例如样品处理设备400、1400或3000的第一保持机构内。用户可以将第一基板提供或定位在样品处理设备400的第一保持机构内。第一基板可包括由用户施加到第一基板的样品。第一基板还可包括样品将放置在其中的样品区域。第一基板还可包括识别样品区域的样品区域指示符。在一些实施方案中,第一基板可包括基准标记。第一保持机构可包括一个或多个弹簧构件,所述一个或多个弹簧构件被构造成向第一基板施加力以保持第一基板与第一保持机构被构造在其上的样品处理设备400的第一构件之间的接触。

[0203] 在1920处,第二基板可接收在样品处理设备400的第二保持机构内。第二基板可包括在识别第二基板上的阵列的阵列区域指示符内形成的试剂介质阵列。在一些实施方案中,阵列区域指示符可以设置在样品处理设备400上。用户可以将第二基板提供或定位在样品处理设备400的第二保持机构内。第二保持机构可包括一个或多个弹簧构件,所述一个或多个弹簧构件被构造成向第二基板施加力以保持第二基板与第二保持机构被配置在其上的样品保持器的第二构件之间的接触。

[0204] 在1930处,可相对于第二基板调节第一基板的位置,以使第一基板的样品区域的全部或一部分与第二基板的阵列区域对准。在一些实施方案中,可以执行相对于第二基板调节第一基板的位置,以使样品区域指示符与阵列区域指示符对准。在一些实施方案中,第一基板相对于第二基板的位置可由用户调节。例如,用户可以手动操作样品保持器的第一

构件和/或第二构件,以便调节第一基板和/或第二基板在样品保持器内的位置,以使样品区域与阵列区域对准。在一些实施方案中,可以相对于第二基板调节第一基板的位置,所述第二基板可以固定在样品处理设备400内的适当位置。在一些实施方案中,可以相对于第一基板调节第二基板的位置,所述第一基板可以固定在样品处理设备400内的适当位置。在一些实施方案中,第二基板可以固定在样品处理设备400内的适当位置,并且第一保持机构可以被调节以使样品区域的全部或一部分与阵列区域对准。

[0205] 在一些实施方案中,用户可以在观察样品处理设备400内的第一基板和/或第二基板时调节第一基板和/或第二基板的位置。例如,用户可以通过被构造成提供样品保持器的仪器的显微镜在显微镜的视场内观察第一基板和第二基板。在一些实施方案中,所述仪器可包括显示器,所述显示器提供样品处理设备内的第一基板和第二基板的视图。

[0206] 在一些实施方案中,相对于第二基板调节第一基板的位置还可包括观察样品保持器内的第一基板和第二基板,并且调节第一保持机构和/或第二保持机构以使样品区域的全部或一部分与阵列区域对准。以此方式,样品处理设备400可通过提供多种不同方式执行对准来有利地支持高效且精确的对准。在一些实施方案中,可以在不存在配置在第一基板上的样品区域指示符和/或在不存在配置在第二基板上的阵列区域指示符的情况下执行调节。

[0207] 在一些实施方案中,可通过用户与样品处理设备400或仪器上配置的物理定位装置交互同时观察第一基板和第二基板来在样品保持器内调节第一基板和/或第二基板的位置。物理定位装置可包括操纵杆、指向杆、按钮等。在一些实施方案中,所述仪器可以配置有存储在所述仪器的存储器中的计算机可读可执行指令。指令在被执行时可以基于与样品处理设备400、第一基板和/或第二基板相关联的图像数据自动地执行调节。在一些实施方案中,所述仪器可以配置有提供图形用户界面(GUI)的显示器。用户可以与GUI交互以调节第一基板相对于第二基板的位置,以使样品区域指示符的全部或一部分相对于阵列区域指示符对准。

[0208] 图20描绘了用于调节第一基板相对于第二基板的位置以使样品区域的全部或一部分与阵列区域对准的工作流程2000。如图20中所示,且参考关于图19描述的操作1930,第一基板2005可包括由用户定位在由第一基板2005的样品区域指示符2020识别的样品区域2015内的样品2010。在一些实施方案中,第一基板2005可以不包括样品区域指示符2020。第二基板2025可包括指示阵列区域2035的位置的一个或多个阵列区域指示符2030。每个阵列区域2035在其中可包括阵列2040。

[0209] 样品处理设备400可被构造成使得能够沿着第一轴线2045和第二轴线2050调节第一基板2005和/或第二基板2025。第一轴线2045可被视为是对应于安装表面的横向平面内的后轴线,第一基板2005和第二基板2025在所述安装表面中接收在样品处理设备400内。第二轴线2050可被视为是对应于安装表面的横向平面内的纵向轴线,第一基板2005和第二基板2025在所述安装表面中接收在样品处理设备400内。

[0210] 如图20中所示,可以执行相对于第二基板2025调节2055第一基板2005以使样品区域2015的全部或一部分与阵列区域2035对准。另外或替代地,调节2055(例如,图19的操作1930)还可以使样品区域指示符2020相对于阵列区域指示符2030对准。这样,调节2055可以使样品2010与阵列2040对准。

[0211] 图21A-21B描绘了根据当前主题的一些实施方式的基于在样品处理设备400内配置的阵列区域指示符调节第一基板相对于第二基板的位置的工作流程2100。如图21A所示,样品处理设备400可包括配置有表面2110的保持机构2105。表面2110可包括识别阵列区域2120的阵列区域指示符2115。在一些实施方案中,表面2110的部分或全部是透明的。在一些实施方案中,当第一基板和第二基板进入夹层构造(例如,图3中描绘的夹层构造)时,阵列区域指示符2115识别第二基板上的阵列的位置。阵列区域指示符2115可配置在保持机构2105的第一表面,例如对应于表面2110的第一表面上。在一些实施方案中,阵列区域指示符2115可配置在保持机构2105的第二表面,即与表面2110相对的第二表面上。在一些实施方案中,保持机构2105的一部分可包括表面2110。在一些实施方案中,阵列区域指示符2115是透明的并且可以背光。在一些实施方案中,表面2110可以是前光而不是背光。在一些实施方案中,表面2110可以不包括照明,并且可以通过环境照明来照明。

[0212] 如图21B中所示,包括位于样品区域2135内的样品2130的第一基板2125可接收在保持机构2105内。可以执行相对于透明表面2110调节2140基板2125以使样品区域2135的全部或部分与阵列区域2120对准。然后可以使第一基板和第二基板进入夹层构造(例如,图3中描绘的夹层构造),使得样品区域2135与第二基板上的阵列对准。

[0213] 图21C-21D描绘了根据当前主题的一些实施方式的基于在样品保持器内配置的多个阵列区域指示符调节多个第一基板相对于第二基板的位置的工作流程。如图21C中所示,样品处理设备400可包括配置有表面2150的保持机构2145。表面2150可包括识别第一阵列区域2160的第一阵列区域指示符2155和识别第二阵列区域2170的第二阵列区域指示符2165。在一些实施方案中,表面2150的部分或全部是透明的。在一些实施方案中,当第一基板和第二基板进入夹层构造(例如,图3中描绘的夹层构造)时,阵列区域指示符2155和2165识别第二基板上的阵列的位置。阵列区域指示符2155和2165可配置在保持机构2145的第一表面,例如对应于表面2150的第一表面上。在一些实施方案中,阵列区域指示符2155和2165可配置在保持机构2145的第二表面,即与表面2150相对的第二表面上。如图21C中所示,包括定位在样品区域2135内的第一样品2130的第一基板2125可接收在保持机构2145内。包括定位在第二样品区域2185内的第二样品2180的第二基板2175也可接收在保持机构2145内。

[0214] 如图21C和图21D中所示,可执行相对于表面2150调节2190第一基板2125以使第一样品区域2135的全部或部分与第一阵列区域2160对准。第二基板2175还可相对于表面2150调节2190以使第二样品区域2185的全部或部分与第二阵列区域2170对准。然后可以使第一基板2125和第二基板2175进入夹层构造(例如,图3中描绘的夹层构造),使得第一样品区域2135与第一阵列区域2160内配置的阵列对准,并且第二样品区域2185与第二阵列区域2170内配置的阵列对准。

[0215] 图22A-22C描绘了根据当前主题的一些实施方式的指示基板的样品区域的工作流程2200。关于图22A-22C描述的基板可等同于关于图19和20描述的第一基板。为了指示样品置于其上的基板的样品区域,可以考虑各种实施方案。

[0216] 如图22A中所示,基板2205可包括样品区域指示符2210。样品区域指示符2210可以由基板的制造商提供,使得在用户将样品2220置于基板2205上之前,样品区域指示符设置在基板2205上。在一些实施方案中,在将样品2220施加到基板2205的第一侧之前,可以将样品区域指示符2210施加到基板2205的第一侧。在一些实施方案中,样品区域指示符2210可

以施加到基板2205的第二侧。基板2205的第二侧可以与基板2205的第一侧相对。在一些实施方案中,在样品2220已被施加到基板2205的第一侧之后,可以将样品区域指示符2210施加到基板2205的第二侧。

[0217] 如图22A中还所示,基板2205可包括基准标记2215。基准标记2215可以施加到基板2205的第一侧或基板2205的第二侧。基准标记2215可用于帮助将第一基板2205上的样品区域与第二基板(例如,关于图20描述的第二基板2025)上的阵列区域对准。基准标记2215可包括各种非限制性形状和形式,例如各种形状施加或嵌入的标记或蚀刻,其适合于在基板2205上提供基准参考。

[0218] 如图22B中所示,样品区域指示符可包括图章或贴纸2225。在用户已将样品2220施加到基板2205的第一侧之后,可以将图章或贴纸2225施加到基板2205的第二侧。

[0219] 如图22C中所示,在用户已将样品2220施加到基板2205的第一侧之后,可将样品区域指示符作为绘图2230施加到基板2205的第二侧上。在一些实施方案中,绘图2230可以由用户用适于标记基板2205的标记绘制。

[0220] 在一些实施方案中,可以提供具有印刷指南的信息标签,以帮助用户将组织置于载片上。基准标记(例如,点、数字和字母)可以为载片上的印刷阵列位置提供视觉引导。点可以指示阵列的中心,而数字和字母可以标识单个孔。在一些实施方案中,具有印刷指南的信息标签通过充当载片与其他表面之间的物理屏障来减少表面污垢,并且减少与低温箱表面的直接接触。在一些实施方案中,信息标签是一次性的。

[0221] 在一些实施方案中,信息标签可以是透明的。信息标签可具有用墨水(例如,白色墨水、黑色墨水、彩色墨水或荧光墨水)印刷的印刷指南。在一些实施方案中,信息标签可以使用热打印来打印,所述热打印使用热将印记转移到信息标签。在一些实施方案中,蚀刻可用于在信息标签上打印指南。信息标签纹理可以通过在信息标签的表面上打印不同的图案来改变。在一些实施方案中,信息标签具有哑光饰面。在一些实施方案中,信息标签具有光滑饰面。信息标签可以在信息标签的内部具有孔或切口。在一些实施方案中,信息标签占据保持机构和/或透明表面的全部,样品基板可以在其上接收在样品处理设备400、1400和3000内。在一些实施方案中,信息标签占据样品处理设备400、1400和3000的保持机构和/或透明表面的一部分。在一些实施方案中,信息标签能够进行导热和导电。在一些实施方案中,信息标签能够导热。在一些实施方案中,信息标签能够导电。在一些实施方案中,信息标签含有元数据。元数据的非限制性实例包括组织放置引导、阵列/孔识别、载片识别条形码、载片取向、过期日期、载片类型、载片尺寸或针对用户的其它指示。在一些实施方案中,夹具可用于将载片保持在适当位置以施加信息标签并防止对载片的损坏。使用此类夹具施加信息标签可以减少表面污垢,同时将信息标签施加到载片。

[0222] 图23是说明根据当前主题的一些实施方式的用于基于所接收的样品的图像自动确定样品区域指示符的示例过程2300的过程流程图。本文所述的系统、方法和介质可以被配置成基于样品的图像来确定样品区域指示符。在2310处,样品的图像可以由通信地联接到样品处理设备400的计算装置的数据处理器接收。样品处理设备400可以接收并保持其中包括样品的基板。计算装置还可以通信地联接到图像捕获装置1720,例如显微镜、相机、光学传感器、成像装置等,所述图像捕获装置被配置成获取样品的图像并且将样品的图像提供至计算装置。在一些实施方案中,计算装置的数据处理器可以被配置成从通信地联接到

执行过程2300的计算装置的远程计算装置的数据处理器接收样品的图像。

[0223] 在2320处,数据处理器可经由计算装置的显示器提供样品的图像以供显示。在一些实施方案中,样品的图像可经由计算装置的显示器内配置的GUI提供以供显示。

[0224] 在2330处,数据处理器可以接收基于所提供的图像识别样品区域指示符的输入。例如,计算装置的显示器可包括触摸屏显示器,该触摸屏显示器被配置成接收在显示的图像上识别样品区域指示符的用户输入。在一些实施方案中,GUI可以被配置成接收识别样品区域指示符的用户提供的输入。

[0225] 在2340处,数据处理器可基于图像自动地确定样品区域指示符。数据处理器可以被配置成访问并执行计算机可读可执行指令,所述计算机可读可执行指令被配置成基于图像中包括的各种特征自动地确定样品区域指示符。例如,数据处理器可以基于图像内存在的组织的轮廓自动地确定样品区域指示符。当样品区域小于阵列区域时,可以使用此方法。在一些实施方案中,数据处理器可基于在图像中可见且由用户施加到第一基板的图章或贴纸自动地确定样品区域指示符。在一些实施方案中,数据处理器可以基于位于第一基板上的在图像中可见的基准标记自动地确定样品区域指示符。在一些实施方案中,数据处理器可基于在图像中可见且由用户施加到第一基板的绘图自动地确定样品区域指示符。

[0226] 在一些实施方案中,数据处理器可以访问并执行计算机可读可执行指令,所述计算机可读可执行指令被配置成基于可存储在计算装置的存储器中的样品区域指示数据自动地确定样品区域指示符。在一些实施方案中,样品区域指示符数据可以从远离计算装置并且通信地联接到计算装置的第二计算装置导入到计算装置中,所述计算装置自动地确定与图像中的样品相关联的样品区域指示符。

[0227] 在一些实施方案中,数据处理器可以访问并执行计算机可读可执行指令,所述计算机可读可执行指令被配置成基于使用图像分割功能处理样品图像而自动地确定样品区域指示符。在一些实施方案中,数据处理器可以访问并执行计算机可读可执行指令,所述计算机可读可执行指令被配置成基于样品的类型、样品的大小、样品的形状和/或样品的区域自动地确定样品区域指示符。

[0228] 图24A-24B描绘了如关于图23的操作2330描述的接收基于样品的图像识别样品区域指示符的输入的工作流程2400。如图24A中所示,计算装置2405可包括显示器2410。显示器2410可以被配置成提供样品的图像2415。如图24B中所示,用户可以与显示器2410交互以提供识别样品区域指示符2420的输入。例如,用户可以相对于样品的图像2415操作鼠标或其它输入装置,以便提供识别样品区域指示符2420的输入。可以提供用户输入以选择与样品区域指示符2420相关联的图像2415的全部或一部分。所述选择可以通过用户在图像2415上拖动光标2425以形成样品区域指示符2420来提供。在一些实施方案中,输入可以通过用户裁剪图像2415使得裁剪图像的周边形成样品区域指示符2420来提供。

[0229] 图25是说明根据当前主题的一些实施方式的用于基于多个所接收的视频图像自动地确定样品区域指示符的示例过程2500的过程流程图。在2510处,通信地联接到样品处理设备400的计算装置的数据处理器可以接收多个视频图像。多个视频图像可以由通信地联接到数据处理器图像捕获装置1720(例如,显微镜、相机、光学传感器、成像装置等)获取并从该图像捕获装置接收。多个视频图像可包括位于第一基板上的样品和位于第二基板上的阵列。多个视频图像可包括叠加在第一基板上的第二基板。在一些实施方案中,计算装

置的数据处理器可以被配置成从通信地联接到执行过程2500的计算装置的远程计算装置的数据处理器接收样品的图像。

[0230] 在2520处,数据处理器可经由计算装置的显示器提供多个视频图像以供显示。在一些实施方案中,可以提供多个视频图像以经由计算装置的显示器内配置的GUI显示。在一些实施方案中,多个视频图像可以被提供至第二计算装置的数据处理器。第二计算装置可以远离第一计算装置,并且可以通信地联接到首先接收多个视频图像的第一计算装置。第二计算装置可以被配置成提供多个视频图像以经由第二计算装置的显示器显示。在一些实施方案中,第二计算装置可被配置成从用户接收识别与位于第一基板上的样品相关联的样品区域指示符的输入。用户可如上文先前所述将识别样品区域指示符的输入提供到第二计算装置。

[0231] 在2530处,用户可以手动调节样品处理设备400的第一保持机构,以使第一基板的样品区域与第二基板的阵列区域对准。在一些实施方案中,用户可以调节样品处理设备400的第一保持机构以使第一基板的样品区域与配置在样品处理设备400内的阵列区域对准。用户可以基于观察由第一计算装置或第二计算装置提供的多个视频图像来调节第一保持机构。

[0232] 在2540处,作为在2530处执行的手动调节的补充或替代,第一计算装置的数据处理器可基于多个视频图像自动地确定样品区域指示符。第一计算装置的数据处理器可以被配置成访问并执行计算机可读可执行指令,所述计算机可读可执行指令被配置成基于多个视频图像中包括的各种特征而自动地确定样品区域指示符。例如,数据处理器可以基于多个视频图像内存在的组织的轮廓自动地确定样品区域指示符。当样品区域小于阵列区域时,可以使用此方法。在一些实施方案中,数据处理器可基于多个视频图像中可见且由用户施加到第一基板的图章或贴纸自动地确定样品区域指示符。在一些实施方案中,数据处理器可以基于位于第一基板上的在多个视频图像中可见的基准标记自动地确定样品区域指示符。在一些实施方案中,数据处理器可基于在多个视频图像中可见且由用户施加到第一基板的绘图自动地确定样品区域指示符。

[0233] 在一些实施方案中,数据处理器可以访问并执行计算机可读可执行指令,所述计算机可读可执行指令被配置成基于可存储在计算装置的存储器中的样品区域指示符数据自动地确定样品区域指示符。在一些实施方案中,样品区域指示符数据可以从远离计算装置并且通信地联接到计算装置的第二计算装置导入到计算装置中,所述计算装置自动地确定与多个视频图像中的样品相关联的样品区域指示符。

[0234] 在2550处,第一计算装置的数据处理器可以基于自动确定的样品区域指示符自动地执行调节。计算装置可以被配置成经由控制器自动地调节第一基板相对于第二基板的位置,以使样品区域的全部或部分与第二基板的阵列区域对准,所述控制器可以通信地联接到样品处理设备400和第一计算装置。控制器可以从数据处理器接收输入信号,并且可以生成控制信号,从而使第一保持机构或第二保持机构在样品处理设备400内平移,并且由此分别调节第一基板或第二基板的位置。

[0235] 在一些实施方案中,通信地联接到第一计算装置的数据处理器的第二计算装置的数据处理器可以类似地联接到控制器和样品处理设备400。第二计算装置的数据处理器可以向控制器生成输入信号,并且可以使控制器生成控制信号,从而使第一保持机构或第二

保持机构在样品处理设备400内平移。这样,第一基板和/或第二基板的位置可以被控制和调节,使得第一基板的样品区域可以与第二基板的阵列区域对准。

[0236] 图26是说明根据当前主题的一些实施方式的用于响应于确定样品的区域而自动地确定样品区域指示符的示例过程2600的过程流程图。在2610处,数据处理器可以例如在样品的轮廓与阵列区域对准期间相对于阵列的区域确定样品的区域。例如,数据处理器可以被配置成以自动方式相对于阵列的区域确定样品的区域。在一些实施方案中,将首先对样品基板成像,并且可以使用在样品处理设备400或数据处理器内配置的图像处理管道来确定样品的轮廓。如果确定样品大小大于阵列大小,则图像处理管道可以用图像处理管道可检测到的注释来注释目标样品区域。

[0237] 在一些实施方案中,用户可以将样品的轮廓手动地对准到阵列区域。当轮廓不清晰或样品较大时,样品基板或载片可由专业人员注释,从而用标记、图章、贴纸等指示样品基板上的样品区域。在一些实施方案中,样品处理设备400可以基于用户提供的输入来施加注释,所述用户提供的输入在样品处理设备的显示器中识别样品区域或感兴趣区域。在一些实施方案中,输入可以提供到样品处理设备400或通信地联接到样品处理设备400的计算装置。

[0238] 在2620处,数据处理器可响应于确定样品的区域小于阵列的区域而自动地确定第一基板上的样品区域指示符。例如,在对样品基板进行成像并且使用图像处理管道确定样品的轮廓之后,可以将轮廓与阵列的区域进行比较以确定样品的区域小于阵列的区域。

[0239] 在2630处,数据处理器可以将样品区域指示符提供为样品的轮廓。例如,可以在计算装置的显示器中提供样品区域指示符。

[0240] 在2640处,数据处理器可以基于样品的轮廓自动地执行调节。例如,数据处理器可以使用样品处理设备400的图像处理管道来将轮廓拟合在阵列区域内。样品处理设备400可被配置成经由一个或多个致动器提供致动以引起对准。在一些实施方案中,对准可以针对阵列本身、样品处理设备400的显示器的图形用户界面中提供的虚拟轮廓,或样品处理设备中提供的指示阵列将位于何处的对准参考标记。如上所述,计算装置的数据处理器可以被配置成经由控制器自动地调节第一基板相对于第二基板的位置,以使样品区域的全部或一部分与第二基板的阵列区域对准,所述控制器可以通信地联接到样品处理设备400并且联接到计算装置。控制器可以从数据处理器接收输入信号,并且可以生成控制信号,从而使第一保持机构或第二保持机构在样品处理设备400内平移,并且由此分别调节第一基板或第二基板的位置。

[0241] 图27是说明根据当前主题的一些实施方式的用于确定位于第一基板上的基准标记的示例过程2700的过程流程图。在2710处,数据处理器可以确定位于第一基板上的基准标记。可以使用样品处理设备400内配置的图像处理管道中提供的计算机视觉和/或图像处理功能来确定基准标记。基准可包括高对比度或独特形状的标志,以帮助经由图像处理管道中提供的计算机视觉和/或图像处理功能或其它方法确定基准。

[0242] 在2720处,数据处理器可以基于所确定的基准标记自动地执行调节。如上所述,计算装置的数据处理器可以被配置成经由控制器自动地调节第一基板相对于第二基板的位置,以使样品区域的全部或一部分与第二基板的阵列区域对准,所述控制器可以通信地联接到样品处理设备400并且联接到计算装置。在一些方面,调节可基于所确定的基准的位

置。例如,基准可以提供用于使第一基板与第二基板对准的参考点。控制器可以从数据处理器接收输入信号,并且可以生成控制信号,从而使第一保持机构或第二保持机构在样品处理设备400内平移,并且由此分别调节第一基板或第二基板的位置。

[0243] 图28是说明根据当前主题的一些实施方式的用于基于配准的样品图像识别样品区域指示符的示例过程2800的过程流程图。在2810处,第一计算装置的数据处理器可以从通信地联接到第一计算装置的第二计算装置接收样品和样品区域指示符的图像。

[0244] 在2820处,第一计算装置的数据处理器可以将接收的样品和样品区域指示符的图像与多个视频图像中的至少一个视频图像配准。多个视频图像可以经由通信地联接到第一计算装置的数据处理器的图像捕获装置1720获取,所述图像捕获装置是例如显微镜、相机、光学传感器、成像装置等。

[0245] 在2830处,第一计算装置的数据处理器可以基于图像配准经由第一计算装置的显示器提供配准的样品图像。例如,配准的样品图像可以在第一计算装置的显示器中提供。

[0246] 在2840处,可以在第一计算装置处接收识别配准的样品图像中的样品区域指示符的输入。例如,用户可以将输入提供至第一计算装置的显示器中提供的GUI。在一些实施方案中,显示器可以直接从用户或经由联接到显示器的输入装置(例如鼠标或触笔)接收输入。

[0247] 在2850处,数据处理器可以基于所接收的识别样品区域指示符的输入自动地执行调节。计算装置可以被配置成经由控制器自动地调节第一基板相对于第二基板的位置,以使样品区域的全部或部分与第二基板的阵列区域对准,所述控制器可以通信地联接到样品处理设备400和第一计算装置。控制器可以从数据处理器接收输入信号,并且可以生成控制信号,从而使第一保持机构或第二保持机构在样品处理设备400内平移,并且由此分别调节第一基板或第二基板的位置。

[0248] 图29A-29C描绘了样品处理设备400的样品(例如,样品302)的透化的工作流程2900。图29A-29C与图18A-18C相似并且由其改变而来,且工作流程2900可以在工作流程1800之后发生。在一些实施方案中,工作流程2900可以在关于图19描述的过程1900、关于图23描述的过程2300、关于图25描述的过程2500、关于图27描述的过程2700以及关于图28描述的过程2800中的一个或多个之后发生。

[0249] 在对准载片303和304之后(例如,如图18C中所示),可添加透化溶液(例如,透化溶液305)。透化溶液305可在夹层中(例如,在间隙307内)产生透化缓冲液,其使组织样品(例如,样品302)透化或消化。组织样品302的分析物和/或mRNA转录物可以释放,跨越间隙307朝向捕获探针306扩散,并且结合在捕获探针306上(例如,如图3中所示)。

[0250] 如图29A中所示,在对准载片303和304之后,可以降低第二构件410以促进添加透化溶液305。在一些实施方案中,当第二构件410处于降低位置以促进添加透化溶液304时,可以发生载片303和304的对准。

[0251] 图29B描绘了载片304上分配的透化溶液305。如图所示,透化溶液分别以位于捕获探针306A和306B附近的两个体积305A和305B分配。在一些方面,透化溶液305可以由用户手动分配或经由样品处理设备400的部件自动分配。

[0252] 图29C描绘了由载片303、载片304和样品302形成的夹层。在载片和样品的夹层化期间,透化溶液305可以开始消化样品302,并且释放样品302的分析物和/或mRNA转录物以

供捕获探针306A和306B捕获。在一些方面,可以通过使第二构件410朝向第一构件404A和404B向上移动使得样品302接触透化溶液305的至少一部分,并且载片303和304沿着正交于载片的轴线(例如,沿着z轴)在阈值距离内来形成夹层。第二构件410的移动可以由样品处理设备400的调节机构(例如,调节机构415)执行。

[0253] IV. 图像配准装置和方法

[0254] 图30是根据一些示例实施方式的示例样品处理设备3000的图。样品处理设备3000与图4-13C的样品处理设备400类似并从其改变而来。

[0255] 如图所示,样品处理设备3000包括调节机构415、线性引导件3016、照明源3017(例如,透射照明源)、一个或多个加热器1108、第一构件404A和404B、组织载片303A和303B、组织样品302A和302B、基因表达载片304和图像捕获装置1720。在图30的示例中,调节机构415可以被构造成使一个或多个第一构件404沿着与第一构件404正交的轴线(例如,沿着z轴)移动。线性引导件3016可有助于一个或多个第一构件404沿着所述轴线移动。如还所示,图像捕获装置1720可安装在穿梭件3025上,所述穿梭件被构造成使图像捕获装置1720从第一构件404A之下的位置横向移动到第一构件404B之下的位置。穿梭件3025可以允许图像捕获装置1720捕获与基因表达载片304的各部分对准的组织302A和302B的图像。在一些实施方案中,第二图像捕获装置1720可以设置在样品处理设备400内。包括第二图像捕获装置1720的实施方案可以不包括穿梭件3025,并且相反,第一图像捕获装置和第二图像捕获装置可以固定在样品处理设备400内适合捕获分别与组织样品302A和302B相关联的图像数据的位置。照明源3017(例如,透射照明源)可以通过提供图像捕获区域的充分照明来促进对对准部分的图像捕获。在一些实施方案中,照明源3017可以提供红光、绿光、蓝光或其组合。

[0256] 在一些实施方案中,照明源3017可以提供绿色、红色或蓝色(例如,RGB)照明或光。可以选择不同的照明颜色以防止注释标记影响本文所述的图像数据收集和图像配准方法。例如,绿光可用于具有伊红染色的组织分割,并且组织对比度将被最大化。注释标记(例如,由用户施加的感兴趣区域1802)不吸收绿光,因此当在绿光下成像时,注释标记将具有较低对比度。

[0257] 在另一实例中,红光可用于具有伊红染色的基准检测,并且组织对比度将被最小化。基准框架即使被组织覆盖也可以在这些条件下可见。基准标记不吸收红光,因此当在红光下成像时,基准标记将具有较低对比度。在另一实例中,蓝光可在阵列对准期间使用,因为注释标记吸收蓝光且因此具有较高对比度。因此,在对准期间使用蓝光可以改进图像配准方法的对准和结果的准确性。

[0258] 图31A-31C描绘了根据一些示例实施方式的在透化步骤期间对样品处理设备400的夹层化载片进行图像捕获的工作流程3100。图31A-31C与图29A-29C相似并且由其改变而来,且工作流程3100可以在工作流程2900之后发生。在一些实施方案中,工作流程3100可以在关于图19描述的过程1900、关于图23描述的过程2300、关于图25描述的过程2500、关于图27描述的过程2700以及关于图28描述的过程2800中的一个或多个之后发生。

[0259] 在将透化溶液(例如,透化溶液305)添加到对准的载片之后,捕获对准的组织样品302和/或加条形码的捕获探针306的图像以帮助将基因表达映射到组织样品302的位置可能是有益的。因此,图像捕获装置1720可以被配置成在透化步骤期间捕获对准的组织样品302、感兴趣区域1802和/或加条形码的捕获探针306的图像。

[0260] 图31A描绘了图像捕获装置1720在透化期间捕获对准的感兴趣区域1802A和捕获探针306A的配准图像。图31A的底部部分示出了由组织样品302A的图像捕获装置1720捕获的示例配准图像3121。如还所示,可能期望载片303和304的对准精度小于10微米。配准图像3121可以记录基因表达载片304上的任何基准相对于组织302的对准。

[0261] 图31B描绘了图像捕获装置1720在透化期间捕获与捕获探针306B对准的感兴趣区域1802B的第二配准图像。图31B的底部部分示出了组织样品302B的由图像捕获装置1720捕获的示例第二配准图像3122。

[0262] 在一些方面,透化步骤可在一分钟内发生,并且可能有益于图像捕获装置1720在不同的夹层载片和感兴趣区域之间快速移动。尽管示出了单个图像捕获装置1720,但可以实施多于一个图像捕获装置1720。

[0263] 图31C描绘了在捕获任何配准图像(例如,配准图像3121和/或3122)且可完成透化步骤之后的样品处理设备400。如图所示,可以打开夹层,并且可以取出载片303和304中的任一个以进行清洗,或者可以将清洗液加载到仪器中以进行清洗。例如,可以取出基因表达载片303以进行清洗、文库制备、基因测序、图像配准、基因表达映射等。

[0264] 在一些方面,可以通过使第二构件410远离第一构件404移动或者使第一构件远离第二构件移动来打开夹层。打开可以由样品处理设备400的调节机构415执行。

[0265] 虽然关于样品处理设备400示出和描述了工作流程1700、1800、2900和3100,但根据本文所述的实施方式,也可以关于样品处理设备1400、样品处理设备3000或另一样品处理设备执行工作流程1700、1800、2900和3100。在一些实施方案中,根据本文所述的实施方式,过程1900、2300、2500、3000、2700和2800也可以关于样品处理设备1400、样品处理设备3000或另一样品处理设备执行。

[0266] 本文所述的空间组学(例如,空间转录组学)过程和工作流程可以被配置成在高分辨率样品图像上显示基因表达信息。试剂阵列内的加条形码的位置可以捕获来自与阵列接触的样品的转录物。所捕获的转录物可用于随后的下游处理中。可以使用放置在试剂阵列位于其上的基板上的基准标记来执行相对于样品确定试剂阵列的加条形码的位置的位置。加条形码的位置可以与样品一起成像以生成样品的空间组学(例如,空间转录组学)数据。

[0267] 生成适合于空间组学(例如,空间转录组学)分析的图像数据可能受到样品与试剂阵列的加条形码的区域的相对对准的影响。用于空间组学(例如,空间转录组学)的高分辨率阵列可能需要叠加在高分辨率样品图像上的推断的加条形码的位置的分辨率,以便将捕获的转录物与转录物源于的特定细胞正确地相关联。样品处理设备400可以被配置成执行本文所述的图像配准过程和工作流程,以提供将样品图像和阵列图像在 $\pm 1-5$ 微米、 $\pm 1-10$ 微米、 $\pm 1-20$ 微米或 $1-30 \pm$ 微米内对准的精确水平。

[0268] 图32是说明根据当前主题的一些实施方式的用于基于将样品图像配准到阵列图像来生成对准图像的示例过程3200的过程流程图。在3210处,样品图像数据可以由样品处理设备400的数据处理器接收。在一些实施方案中,样品图像数据可以由数据处理器从用户接收。在一些实施方案中,样品图像数据可以由数据处理器从相对于数据处理器远程定位的计算装置接收。

[0269] 样品图像数据可包括具有第一分辨率的样品图像。例如,样品图像的分辨率可以是图像的整体分辨率,并且可以基于放大倍数、数值孔径、以兆像素表示的传感器或捕获装

置的分辨率以及波长。例如,捕获装置(例如,关于图17和30描述的图像捕获装置1720)可被配置成使用10倍物镜、在575纳米波长处的0.45数值孔径以0.8微米的分辨率捕获样品图像。在一些实施方案中,样品处理设备400可以被配置成捕获具有第一分辨率的样品图像。例如,样品设备400可以被配置成经由高分辨率成像模块捕获具有第一分辨率的样品图像,所述高分辨率成像模块被配置成用于明场和/或荧光模式。高分辨率成像模块可包括高分辨率放大倍数图像捕获装置。在一些实施方案中,高分辨率成像模块还可包括机动化平台,所述机动化平台被配置成沿着水平平面和垂直平面(例如,xy平面)平移,使得可以捕获多个高分辨率图像以形成单个大图像。在一些实施方案中,具有第一分辨率的样品图像可以由样品处理设备400外部的成像系统在使用样品处理设备400之前捕获。例如,在使用样品处理设备400执行本文所述的空间组学(例如,空间转录组学)测定过程和工作流程之前,用户可以利用远离样品处理设备400且在其外部的图像捕获装置和/或系统捕获样品图像。以该方式远程或从外部捕获的样品图像可以被传输到样品处理设备400的数据处理器,其可以接收在数据处理器中以进行如关于操作3210所述的进一步处理。

[0270] 在3220处,数据处理器可以接收包括阵列图像的阵列图像数据。阵列图像可包括阵列(例如,配置有加条形码的位置的试剂阵列)与样品的叠加。阵列图像还可包括阵列基准。阵列基准可用于推断阵列的位置和阵列内的加条形码的位置,使得可相对于阵列基准确定加条形码的位置的坐标。所述阵列图像可具有低于所述样品图像的第一分辨率的第二分辨率。

[0271] 在3230处,数据处理器可以通过对准样品图像和阵列图像来将样品图像配准到阵列图像。可以使用Matte的互信息(熵)或平均差度量作为基于强度的图像配准过程来执行配准。可以对样品图像和阵列图像执行预处理。预处理可包括匹配像素级分辨率(上采样)、镜像翻转和角旋转。可以基于初始变换类型和初始变换矩阵生成初始图像变换。初始变换矩阵类型可以包括基于平移、旋转和缩放的相似性变换矩阵。在一些实施方案中,初始变换矩阵可以包括基于平移、旋转、缩放和剪切的仿射变换矩阵。可以使用双线性内插相对于初始移动图像处理初始图像变换,以生成经变换的移动图像。经变换的移动图像可以与固定图像配准以生成配准度量,例如,Matte的互信息(熵)的量度或平均差度量值。可以将结果提供给优化器以与预定阈值进行比较。基于此比较,配准可以使用新的变换矩阵继续,或者可以完成配准以生成对准的配准图像。在一些实施方案中,样品图像还可包括样品基准,并且配准还可包括使阵列基准与样品基准对准。

[0272] 在3240处,数据处理器可以基于在3230处执行的配准来生成对准图像。所述对准图像可包括所述样品图像与所述阵列的叠加。在一些实施方案中,对准图像可包括与样品对准的阵列基准。

[0273] 在3250处,数据处理器可提供对准图像。例如,可以经由本文所述的样品处理设备400、1400或3000的显示器提供对准图像。

[0274] 图33A-33E描绘了根据当前主题的一些实施方式的将样品图像配准到阵列图像的工作流程3300。可通过使第一基板上的样品与第二基板上的试剂阵列对准来增强本文所述的图像配准过程和工作流程。为了执行对准和图像配准,可以提供加条形码的位置在试剂阵列内的坐标和加条形码的试剂位置的大小。在一些实施方案中,加条形码的位置的坐标和加条形码的位置的大小可由其上配置有试剂阵列的基板的制造商提供。在一些实施方案

中,加条形码的位置的坐标和加条形码的位置的大小可以由样品处理设备400、1400和3000的制造商成像并提供。在一些实施方案中,在执行空间组学(例如,空间转录组学)测定之前,加条形码的位置的坐标和加条形码的位置的大小可以由样品处理设备400、1400和3000的用户成像并提供。为了进一步执行对准和图像配准,可以提供样品的高分辨率明场或荧光图像。可以将高分辨率明场图像配准到包括加条形码的位置与样品的叠加的较低分辨率图像。

[0275] 如图33A中所示,可以提供基板或载片,并且其可以包括阵列基准3305和加条形码的位置3310的阵列。阵列基准3305可以是具有尺寸为微米的特征的微尺度图章或贴纸。加条形码的位置3310的直径可以在40-60微米之间,例如55微米。在一些实施方案中,加条形码的位置3310的直径小于40微米,例如小于10微米,例如约5微米。在图33B中,可提供包括样品3315的基板或载片。用户可以在基板上提供样品。样品可以在基板上的任何位置处提供。在图33C中,可经由图像捕获装置捕获样品3315的高分辨率图像。高分辨率图像通常可以包括适合于解析亚细胞组织学特征和病理学特征的图像。高分辨率图像可包括分辨率小于5-10微米的图像。图像捕获装置可以被配置成以在1000像素至3000像素之间的分辨率捕获图像。在图33D中,可以使样品基板与阵列基板在样品处理设备400、1400和3000内接触,并且低分辨率图像可以由图像捕获装置1720捕获。低分辨率图像可包括加条形码的位置3310的阵列和样品3315的叠加。低分辨率图像还可包括阵列基准3305。低分辨率图像可以包括具有比上述高分辨率图像(例如,分辨率大于5-10微米的图像)低的分辨率的图像。在图33E中,可以在图33C中所示的样品3315的高分辨率图像与加条形码的位置3310的阵列和样品3315的叠加的较低分辨率图像之间执行图像配准。图像配准可使阵列基准3305(例如,阵列基准3305的中心)与图33D中获取的低分辨率图像对准,并且图33C中获取的高分辨率图像可以与图33D中获取的低分辨率图像对准以生成在图33C中捕获的高分辨率图像上显示的加条形码的位置3310的叠加。

[0276] 图34A-34E描绘了根据当前主题的一些实施方式的基于对准样品基准和阵列基准而将样品图像配准到阵列图像的工作流程3400。在一些实施方案中,除了在其上提供有阵列基准和加条形码的位置的阵列基板之外,样品处理设备400、1400和3000的制造商还可以提供样品基板或载片。例如,如图34A中所示,阵列基板可包括阵列基准3405和加条形码的位置3410。在图34B中,样品基板或载片可包括样品基准3415和样品区域指示符3420。在图34C中,用户可以将样品3425提供到由样品区域指示符3420限定的样品区域内的基板上。在图34D中,图像捕获装置可以获取样品3425和样品基准3415的高分辨率图像。在一些实施方案中,可以在样品基板被接收在样品处理设备400、1400和3000内之前获取高分辨率图像。一旦接收样品基板,就可以使样品基板和阵列基板在样品处理设备400、1400和3000内接触,并且图像捕获装置1720可以获取如图34E中所示的包括与样品基准3415对准的阵列基准3405的低分辨率图像。阵列基准3405与样品基准3415的对准可用于在图34D中捕获的样品的高分辨率图像上产生加条形码的位置3410的阵列3430的叠加。

[0277] 图35A-35E描绘了根据当前主题的一些实施方式的基于对准用户提供的或系统提供的样品基准和阵列基准而将样品图像配准到阵列图像的工作流程3500。在一些实施方案中,样品处理设备400、1400和3000的用户或样品处理设备本身可以在旨在用作样品基板或载片的基板或载片上提供样品基准。在此类实施方案中,任何基板或载片都可以用作样品

基板或载片以用于对准和图像配准。例如,如图35A中所示,阵列基板可包括阵列基准3505和加条形码的位置3510。在图35B中,用户可以提供样品基板或载片,并且样品3515可以放置在用户提供的样品基板或载片上的任何地方。在图35C中,用户或样品处理设备400、1400和3000可以将样品基准3520和/或样品区域指示符3525提供到样品3515放置在其上的用户提供的样品基板或载片。在一些实施方案中,用户提供的样品基准3520和/或用户提供的样品区域指示符3525可包括施加到样品基板或载片的图章或贴纸。在一些实施方案中,样品基准3520和/或用户提供的样品区域指示符3525可以是样品处理仪器400、1400和3000上的标记。仪器上的标记可以是高对比度标记,包括易于识别标记的中心的功能可见性。在图35D中,可使用图像捕获装置获取样品3515、样品基准3520和样品区域指示符3525(如果提供)的高分辨率图像。在一些实施方案中,可以在样品基板被接收在样品处理设备400、1400和3000内之前获取高分辨率图像。可以使样品基板和阵列基板在样品处理设备400、1400和3000内接触,并且图像捕获装置1720可获取如图35E所示的包括与样品基准3520对准的阵列基准3505的低分辨率图像。阵列基准3505与样品基准3520的对准可用于在图34D中捕获的样品的高分辨率图像上产生加条形码的位置3510的阵列3530的叠加。

[0278] 图36A-36B描绘了根据当前主题的一些实施方式的基于对准样品基板的边缘和阵列基准而将样品图像配准到阵列图像的工作流程3600。在一些实施方案中,可以使用用户提供的基板或载片的边缘作为样品基准来执行对准和图像配准。在此类实施方案中,任何基板或载片都可以用作样品基板或载片以用于对准和图像配准。例如,如图36A中所示,样品3610可以放置在基板或载片上的任何位置处。基板或载片的边缘3605可以用作样品基准。可以经由图像捕获装置捕获样品和边缘3605的高分辨率图像。在一些实施方案中,可以在样品基板被接收在样品处理设备400、1400和3000内之前获取高分辨率图像。在一些实施方案中,可以使用宏或图像获取/处理软件来获取高分辨率图像,所述宏或图像获取/处理软件被配置成捕获高分辨率图像内的边缘3605。一旦接收样品基板,就可以使样品基板和阵列基板在样品处理设备400、1400和3000内接触,并且图像捕获装置1720可以获取如图36B所示的包括与边缘3605对准的阵列基准3615的低分辨率图像。阵列基准3615与作为样品基准的边缘3605的对准可用于在图36A中捕获的样品的高分辨率图像上产生加条形码的位置的阵列3620的叠加。

[0279] 图37A-37D是说明根据当前主题的一些实施方式的样品基准的实施方案的图。在不偏离本文所述的样品基准和/或样品区域指示符的预期用途的情况下,可以设想与样品处理设备400、1400和3000一起使用的各种非限制性样品基准和样品区域指示符大小、形状和配置。可以提供样品基准和/或样品区域指示符的不同大小、形状和配置以适应不同大小的样品。例如,如图37A中所示,样品基准3705A可以相对于提供为正方形虚线的样品区域指示符3710定位。在一些实施方案中,多个样品基准可以设置在样品基板或载片上,如由包括第二样品基准3705B所示。在一些实施方案中,样品区域指示符3710可包括正方形、矩形、圆形、椭圆形等形状。样品基准3705可以定位在样品区域指示符3710中或周围的各种非限制性位置。如图37B中所示,样品区域指示符3710的形状可以是矩形虚线。如图37C中所示,样品基准3720可配置在样品区域指示符3725内。样品区域指示符3725可包括提供为粗实线的正方形形状。在图37D中,样品区域指示符3730可设置成矩形实线,且样品基准3720可设置在样品区域指示符3730内。

[0280] 图38A-38C是说明根据当前主题的一些实施方式的配置在样品基板的后部上的样品基准的实施方案的图。在样品基板或载片的后表面上提供样品基准可以允许样品基准放置在样品基板或载片上的任何地方,包括在样品的位置内的位置。例如,如图38A中所示,可以提供样品基板或载片,并且可以将样品3805放置在基板的表面上。在图38B中,样品基准3810可以放置在样品基板的相对表面上,在图38A中样品3805施加在该样品基板上。在图38C中,可以看到样品基板或载片的横截面,以进一步指示样品3805在样品基板的组织或样品侧上的放置以及样品基准3810在样品基板或载片的基准侧上的放置。基准侧可以与样品3805位于其上的基板或载片的组织或样品侧相对。

[0281] 样品处理设备400、1400和3000的图像捕获装置可以被配置成用于捕获高分辨率图像,使得样品基板图像和阵列基板图像可以在两个不同的焦点处被捕获,同时保持xy位置固定。为了以相同焦点在低分辨率图像中捕获样品和样品基准,图像捕获装置1720可以配置有低放大倍数物镜,数值孔径设定为0.02。此设置可提供大于样品基板或载片的厚度(~1mm)的1.5mm的景深。在一些实施方案中,样品基准3810可以是不透明或透明基准,例如在使样品基板与阵列基板在样品处理设备400、1400和3000内接触之前捕获高分辨率图像时。

[0282] 图39A-39E是说明根据当前主题的一些实施方式的阵列基准的配置的实施方案的图。类似于样品基准在样品基板或载片上的放置,阵列基准可以设置在阵列基板或载片上的各种非限制性位置中,而不偏离如本文所述的阵列基准和/或阵列的预期用途。例如,如图39A中所示,阵列基板或载片可包括相对于加条形码的位置的阵列3910定位的阵列基准3905。阵列基准3905可以挨着或紧邻阵列3910定位。如图39B中所示,阵列基准3905可以位于阵列3910的区域内。如图39C中所示,多个阵列基准3905A和3905B可以挨着或紧邻阵列3910位于阵列基板或载片上。在一些实施方案中,多个阵列基准3905可以位于阵列3910的区域内。如图39D中所示,阵列基准3905可以位于与阵列3910位于其上的侧面相对的阵列基板或载片的后表面上。如图39E中所示,阵列基准3905可以与阵列3910位于阵列基板或载片的同一侧上。

[0283] 图40A-40C是说明根据当前主题的一些实施方式的可在其处捕获包括叠加在样品上的阵列的低分辨率图像以将样品图像配准到阵列图像的位置的实施方案的图。取决于样品基准和阵列基准的位置,关于图32的操作3220描述的图像捕获装置1720获得的低分辨率图像可以在样品和阵列重叠的区域上、附近或远离所述区域捕获。例如,如图40A中所示,低分辨率图像可由图像捕获装置1720在至少一部分样品4010和阵列4015重叠的位置4005处捕获。如图40B中所示,低分辨率图像可由图像捕获装置1720在样品4010和阵列4015更完全重叠的位置4020处捕获。如图40C中所示,低分辨率图像可由图像捕获装置1720在阵列基准4030与样品基准4035对准或邻近该样品基准的位置4025处捕获。

[0284] 图41是说明根据当前主题的一些实施方案的用于基于使用多个仪器基准将样品图像配准到阵列图像来生成对准图像的示例过程4100的过程流程图。在一些实施方案,例如关于图21描述的那些实施方案中,样品处理设备400、1400和3000可包括一个或多个仪器基准。仪器基准可以设置在本文所述的样品处理设备的透明表面上。可以使用仪器基准执行图像配准以提供包括与阵列对准的样品的对准图像。

[0285] 在4110处,样品处理设备400、1400和3000的数据处理器可以接收包括样品和样品

基准的样品图像的样品图像数据。同一图像可具有第一分辨率。可以根据图32的操作3210接收样品图像数据。在4120处,数据处理器可接收仪器基准数据,所述仪器基准数据包括第一仪器基准和第二仪器基准的仪器基准图像。仪器基准可包括如关于图30描述的样品处理设备400、1400和3000的合适安装或观察表面上的各种非限制性大小、形状和配置。

[0286] 在4130处,数据处理器可接收阵列图像数据,所述阵列图像数据包括具有低于样品图像的第一分辨率的第二分辨率的阵列图像。该阵列图像可以包括叠加在样品和样品基准上的阵列和阵列基准。该阵列图像数据可以根据图32的操作3220接收。在4140处,数据处理器可以基于对准第一仪器基准和阵列基准将仪器基准图像配准到阵列图像。该配准可以类似于关于图32的操作3230描述的配准执行,除了通过基于对准第一仪器基准和阵列基准将仪器基准图像配准到阵列图像来执行配准之外。在4150处,数据处理器可以通过对准第二仪器基准和样品基准来将仪器基准图像配准到样品图像。该配准可以类似于关于图32的操作3230描述的配准执行,除了通过基于对准第二仪器基准和样品基准将仪器基准图像配准到样品图像来执行配准之外。

[0287] 在4160处,数据处理器可以基于将仪器基准图像配准到阵列图像并将仪器基准配准到样品图像来生成对准图像。在4170处,数据处理器可提供对准图像。例如,数据处理器可以经由样品处理设备400、1400和3000的显示器提供对准图像。

[0288] 图42描绘了根据当前主题的一些实施方式的基于使用多个仪器基准将样品图像配准到阵列图像来生成对准图像的工作流程4200。如图42A中所示,样品处理设备400、1400和3000可包括配置有第一仪器基准4210和第二仪器基准4215的透明观察或安装表面4205。如图42B中所示,阵列基板或载片可包括阵列基准4220和阵列4225。如图42C中所示,样品基板或载片可包括样品基准4230和样品4235。如图42D中所示,包括阵列基准4220的阵列基板可与第一仪器基准4210对准,且样品基准4230可与第二仪器基准4215对准。可以使样品基板和阵列基板在样品处理设备400、1400和3000内接触,且图像捕获装置1720可获取多个低分辨率图像。可以基于使第一仪器基准4210对准阵列基准4220来捕获第一低分辨率图像。可以基于使第二仪器基准4215对准样品基准4230来捕获第二低分辨率图像。阵列4225内的加条形码的位置相对于阵列基准4225的已知坐标、样品4235相对于样品基准4230的已知位置以及第一仪器基准4210相对于第二仪器基准4215的已知位置可以与在图41的操作4110处接收的样品图像和在图41的操作4130处接收的阵列图像一起使用以将阵列4225与样品4235对准。

[0289] 本文所述的样品处理设备400、1400和3000可以被配置成执行样品图像的图像配准,所述样品图像包括可以拼接在一起的多个样品部分图像。当在高放大倍数下采集样品的高分辨率图像时,通常使用样品的多个视场的图像拼接来获得所述高分辨率图像。图像拼接可导致拼接伪影。在对准较低分辨率图像(其可以是叠加在样品上的阵列的非拼接较低分辨率图像)和样品的较高分辨率拼接图像时,拼接伪影可在图像配准期间产生误差。

[0290] 图43A-43B示出了拼接伪像,其可以存在于包括多个单独图像部分的拼接图像内。拼接伪影可以存在于包括多个样品部分图像的高分辨率样品图像中,并且也可以存在于包括捕获阵列与样品的叠加的一个或多个部分的多个阵列部分图像的低分辨率阵列图像中。对于拼接的高分辨率图像内存在的水平、竖直和弯曲特征,可能存在拼接伪影。如图43A中所示,可获取不同形状光学目标标记(例如,小和大圆形标记、十字形标记和散列形标记)的

重复图案的光学目标4310的拼接的高分辨率图像4305。例如,可以使用配置有150兆像素分辨率的图像捕获装置(例如显微镜)以10倍放大倍数获取拼接的高分辨率图像4305。与显微镜相关联的成像功能可以将图像自动拼接在一起以构建较大的合成图像(例如,图像4305)。如图43A中所示,拼接的高分辨率图像4305可包括大小为9mm×9mm的单个阵列,并且由每个大小为1mm×1mm的81个单独部分图像组成。拼接的高分辨率样品图像4305可包括拼接的光学目标4310的模板标记。如4315中所示,拼接伪影可包括第一十字形模板标记的竖直未对准,这在十字形模板标记跨越的单独部分图像中的两个之间的水平拼接边界上发生。如4320中所示,拼接伪影可包括十字形模板标记的水平未对准,这在第二十字形模板标记跨越的单独部分图像中的两个之间的竖直拼接边界上发生。如4315中所示,拼接伪影可包括小圆形模板标记的弯曲特征的未对准,这在小圆形模板标记跨越的单独部分图像中的两个之间的水平拼接边界上发生。

[0291] 如图43B的4330中所示,拼接伪影可包括大圆形模板标记的弯曲特征的未对准,这在大圆形模板标记跨越的单独部分图像中的两个之间的水平拼接边界上发生。如4335中所示,拼接伪影可包括小圆形模板标记的弯曲特征的未对准,这在四个单独部分图像的交界边界处发生。如4340中所示,拼接伪影可包括在四个单独部分图像的交界边界附近发生的小圆形模板标记的弯曲特征的未对准。

[0292] 为了减轻和纠正由于拼接伪影造成的图像配准误差,可以使用高分辨率样品图像的各部分并将样品图像的各部分配准到整个较低分辨率图像来执行图像配准。拼接误差也可能导致局部配准误差。为了减轻和纠正局部拼接误差,可以使用高分辨率拼接的图像的局部子图像执行本文所述的图像配准过程和工作流程。以此方式,可以减轻和消除由拼接伪影造成的配准误差。

[0293] 图44是说明根据当前主题的一些实施方式的用于将样品图像的样品部分图像配准到阵列图像中的样品的相应部分的示例过程4400的过程流程图。在一些实施方案中,高分辨率样品图像可以包括被拼接在一起以形成样品图像的多个样品部分图像。每个样品部分图像可以与样品的一部分相关联。在一些实施方案中,每个样品部分图像的大小可以设定成使得每个样品部分图像的大小小于样品图像的单个视场的大小。以此方式,可以校正由拼接伪影造成的位置配准误差。

[0294] 如图44所示,在4410处,样品处理设备400、1400和3000的数据处理器可以裁剪高分辨率样品图像以确定多个样品部分图像。可以使用样品处理设备400、1400和3000内配置的图像处理管道中提供的计算机视觉和/或图像处理功能来裁剪高分辨率样品图像以确定多个样品部分图像。在4420处,数据处理器可以将高分辨率样品图像中的样品部分图像中的一个或多个配准到低分辨率阵列图像中的样品的相应部分。在一些实施方案中,在预对准操作中最初将样品图像配准到阵列图像之后,可以执行将一个或多个样品部分图像配准到阵列图像中的样品的相应部分。

[0295] 图45描绘了根据当前主题的一些实施方式的将样品图像的样品部分图像配准到阵列图像中的样品的相应部分的工作流程4500。高分辨率拼接的样品图像4405可以由样品处理设备400、1400和3000的数据处理器(例如,关于图53描述的数据处理器5320)接收。在一些实施方案中,数据处理器可以远离样品处理设备400、1400和3000或在所述样品处理设备的外部,并且可以配置有本文所述的图像处理管道和功能。在这些实施方案中,可以经由

USB或网络连接将使用样品处理设备捕获的图像数据提供给远程或外部配置的数据处理器。在一些实施方案中,高分辨率拼接的样品图像4505可包括阵列与样品的叠加以及阵列基准。样品处理设备400、1400和3000的数据处理器也可以接收包括样品的单个视场的低分辨率样品图像4510。初始对准图像4515可以经由全局全图像配准操作生成,所述全局全图像配准操作将高分辨率拼接的样品图像4505配准到较低分辨率样品图像。在一些实施方案中,可能不需要生成初始对准图像4515。在一些实施方案中,在生成初始对准图像4515之前,样品基板和阵列基板可以手动对准或由样品处理设备400、1400和3000的数据处理器自动对准。可执行此初步对准以指定本文所述的图像配准方法的起始条件。

[0296] 可以裁剪高分辨率拼接的样品图像4505以确定多个样品部分图像4520。多个样品部分图像4520可以与低分辨率样品图像4510局部配准以生成局部对准的样品图像4525。多个样品部分图像中的每个样品部分图像可以比高分辨率拼接的样品图像4505的单个视场小。以此方式,可校正由拼接伪影造成的局部配准误差。

[0297] 图46是说明根据当前主题的一些实施方式的用于将阵列图像的阵列部分图像配准到样品图像中的样品的相应部分的示例过程4600的过程流程图。在一些实施方案中,关于图32的操作3230描述的叠加在样品上的阵列的低分辨率图像可包括多个阵列部分图像。在4610处,样品处理设备400、1400和3000的数据处理器可以确定阵列的低分辨率图像中的多个阵列部分图像。可以使用在样品处理设备400、1400和3000内配置的图像处理管道中提供的计算机视觉和/或图像处理功能来确定阵列的低分辨率图像中的多个阵列部分图像。在4620处,数据处理器可以将低分辨率阵列图像中的阵列部分图像中的一个或多个配准到高分辨率样品图像中的样品的相应部分。

[0298] 图47描绘了根据当前主题的一些实施方式的将阵列图像的阵列部分图像配准到样品图像中的样品的相应部分的工作流程4700。样品处理设备400、1400和3000的数据处理器可以接收高分辨率拼接的样品图像4705。样品处理设备400、1400和3000的数据处理器也可以接收包括叠加在样品上的阵列的单个视场的低分辨率阵列图像4710。在一些实施方案中,样品和阵列可以位于单个基板或载片上。初始对准图像4715可以经由全局全图像配准操作生成,所述全局全图像配准操作将高分辨率拼接的样品图像4705配准到较低分辨率阵列图像。在一些实施方案中,可能不需要生成初始对准图像4715。在一些实施方案中,在生成初始对准图像4715之前,样品基板和阵列基板可以手动对准或由样品处理设备400、1400和3000的数据处理器自动对准。可执行此初步对准以指定本文所述的图像配准方法的起始条件。

[0299] 可以处理低分辨率阵列图像4710以确定多个阵列部分图像4720。多个阵列部分图像4720可以与高分辨率拼接的样品图像4705局部配准以生成局部对准的样品图像4725。多个阵列部分图像中的每个阵列部分图像可以比高分辨率拼接的阵列图像4675的单个视场小。以此方式,可校正由拼接伪影造成的局部配准误差。

[0300] 用于空间组学(例如,空间转录组学)的高分辨率阵列可以被配置成识别5-10微米特征和单细胞分辨率。在高分辨率样品图像上推断出的阵列的加条形码的位置的对准可能需要单细胞分辨率,以便将在加条形码的位置捕获的转录物与转录物源自的细胞适当地相关联。通常,高分辨率样品图像以高放大倍数获取,并且可以使用多个视场拼接在一起。这种将图像拼接在一起的方式可能产生拼接伪影。当使用基准外推加条形码的位置时,拼接

伪影可能导致误差。拼接误差可为约5-10微米。如果未校正,基因表达数据将与高分辨率样品图像中的错误位置相关联。

[0301] 为了纠正或减轻由拼接伪影造成的配准误差,除了高分辨率样品图像之外,还可以捕获单个视场低分辨率样品图像。较低分辨率样品图像可以不包括拼接伪影。因此,当使用基准外推加条形码的位置时,不会出现斑点位置误差。可以使用高分辨率拼接的样品图像的各部分在高分辨率拼接的样品图像与低分辨率未拼接的样品图像之间执行图像配准。以此方式,可以减轻和/或消除由拼接伪影造成的与加条形码的位置相关联的误差。

[0302] 图48是说明根据当前主题的一些实施方式的用于将拼接的样品部分图像配准到样品图像中的样品的相应部分的示例过程4800的过程流程图。在4810处,样品处理设备400、1400和3000的数据处理器可以接收包括对应于样品的各部分的第一多个样品部分图像的第一样品图像数据集。样品部分图像中的每一个可以具有第一分辨率。

[0303] 在4820处,数据处理器可以接收包括样品的样品图像的第二样品图像数据集。样品图像可具有低于第一样品图像数据集中的每个样品部分图像的第一分辨率的第二分辨率。

[0304] 在4830处,数据处理器可以将一个或多个样品部分图像配准到样品图像中的样品的相应部分。

[0305] 图49是说明根据当前主题的一些实施方式的用于基于确定阵列的一个或多个加条形码的位置将拼接的样品部分图像配准到样品图像中的样品的相应部分的示例过程4900的过程流程图。在一些实施方案中,样品图像可以包括与样品的一部分单独相关联的多个样品部分图像。在这些实施方案中,配准还可包括图49中所示的过程4900的各操作。例如,在4910处,数据处理器可以接收包括阵列的单个视场的阵列图像的阵列图像数据集。阵列图像还可包括阵列基准。在4920处,数据处理器可以确定阵列基准在阵列图像的单个视场内。可以使用样品处理设备400、1400和3000内配置的图像处理管道中提供的计算机视觉和/或图像处理功能来确定阵列基准。在一些实施方案中,阵列基准可以是预定义的,并且可以在视场下可见。用户或软件可以在获取图像之前确定所有基准特征是否包括在视场中。在一些实施方案中,可以使用样品处理设备400、1400和3000内配置的图像处理管道中提供的计算机视觉和/或图像处理功能来确定阵列图像的单个视场内的阵列基准。在4930处,数据处理器使用阵列图像确定阵列的一个或多个加条形码的位置。相对于图32的操作3240描述的所生成的对准图像可包括一个或多个加条形码的位置。

[0306] 图50描绘了根据当前主题的一些实施方式的将拼接的样品部分图像配准到样品图像中的样品的相应部分的工作流程5000。样品处理设备400、1400和3000的数据处理器可以接收包括一个或多个基准5010的高分辨率拼接的样品图像5005。样品处理设备400、1400和3000的数据处理器也可以接收包括一个或多个基准5020的单个视场未拼接的低分辨率图像5015。单个视场未拼接的低分辨率图像5015中的基准5020和样品5025可用于确定一个或多个加条形码的位置5030。可以在单个视场未拼接的低分辨率图像5015与高分辨率拼接的样品图像5005之间执行图像配准,以如5040中所示提供关于高分辨率拼接的样品图像5005的高分辨率条形码位置信息。

[0307] 图51是说明根据当前主题的一些实施方式的用于将拼接的样品部分图像配准到样品图像中的样品的相应部分并将拼接的阵列部分图像配准到样品图像中的样品的相应

部分的示例过程5100的过程流程图。在一些实施方案中,高分辨率拼接的样品图像可包括多个样品部分图像。每个样品部分图像可以与样品的相应部分相关联。低分辨率阵列图像可以包括多个拼接的阵列部分图像。每个阵列部分图像可以与阵列的相应部分相关联,并且可以包括单个视场。

[0308] 在5110处,样品处理设备400、1400和3000的数据处理器可以确定高分辨率拼接的样品图像中的多个样品部分图像。可以使用数据处理器内配置或经由数据处理器访问的计算机视觉和/或图像处理功能来确定多个样品部分图像。在一些实施方案中,多个样品部分图像可以是当获得高分辨率拼接的样品图像时图像捕获装置记录的已知信息。在5120处,数据处理器可以将样品图像中的样品部分图像中的一个或多个配准到低分辨率拼接的阵列图像中的样品的相应部分。在5130处,数据处理器可以确定低分辨率拼接的阵列图像中的多个阵列部分图像。可以使用数据处理器内配置或经由数据处理器访问的计算机视觉和/或图像处理功能来确定多个阵列部分图像。在5140处,数据处理器可以将低分辨率拼接的阵列图像中的一个或多个阵列部分图像配准到高分辨率拼接的样品图像中的样品的相应部分。

[0309] 图52描绘了根据当前主题的一些实施方式的将拼接的样品部分图像配准到样品图像中的样品的相应部分并将拼接的阵列部分图像配准到样品图像中的样品的相应部分的工作流程5200。样品处理设备400、1400和3000的数据处理器可以接收高分辨率拼接的样品图像5205。高分辨率拼接的样品图像5205可包括一个或多个样品基准5210。样品处理设备400、1400和3000的数据处理器也可以接收包括四个单个视场阵列部分图像的低分辨率拼接的阵列图像5215。低分辨率拼接的阵列图像5215可包括一个或多个阵列基准5220。初始对准图像5225可以经由全局全图像配准操作生成,所述全局全图像配准操作将高分辨率拼接的样品图像5205配准到较低分辨率拼接的阵列图像。在一些实施方案中,可能不需要生成初始对准图像5215。在一些实施方案中,在生成初始对准图像5225之前,样品基板和阵列基板可以手动对准或由样品处理设备400、1400和3000的数据处理器自动对准。可执行此初步对准以指定本文所述的图像配准方法的起始条件。

[0310] 可以处理四分之一的低分辨率拼接的样品图像5215以确定多个样品部分图像5230。可以对每个单个视场阵列部分图像5230执行配准。基准5235可用于促进将基因表达数据映射到高分辨率样品图像。由于图像5215的此四分之一可以是单个视场并且未拼接,因此可以确定组织样品与基准之间的位置信息是准确的。多个样品部分图像5230可以与低分辨率单个视场阵列图像5215局部地配准以生成局部对准的样品图像5240。多个阵列部分图像中的每个样品部分图像可以比低分辨率拼接的样品图像5215的单个视场小。以此方式,可以校正由高分辨率图像中的拼接伪影造成的局部配准误差。

[0311] V. 图像配准系统和软件架构

[0312] 图53是根据一些示例实施方式的用于执行本文所述的图像配准过程和 workflows 的示例系统架构5300的图。例如,系统架构5300被配置成与样品处理设备400、1400和3000一起操作以执行本文所述的工作流程和过程中的一个或多个。系统架构5300还可包括远程处理服务5355、支持门户5360以及可经由网络5350彼此通信地联接的计算装置5365。所述系统架构可配置在系统中,且可执行本文所述的图像配准工作流程。

[0313] 如图53中所示,样品处理设备400、1400和3000可包括输入/输出控制板5305,所述

输入/输出控制板控制可配置在样品处理设备400、1400和3000内的电机、泵、风扇、加热器、致动器、传感器、照明源、流体源等的操作。在样品处理设备400、1400、3000中也可以包括相机控件5310和网络接口5315。如图所示,输入/输出(I/O)控制器5305、相机控件5310和网络接口5315可以经由控制器局域网(CAN)总线连接。相机控件5310可以被配置成控制相机(例如,图像捕获装置1420或1720)的各方面或各部件。例如,相机控件5310可以控制焦距、变焦、相机的位置、图像捕获等。

[0314] 样品处理设备400、1400和3000还包括处理器5320、存储一个或多个应用程序5330的存储器5325、输入装置5335和显示器5340。处理器5320可被配置成执行存储在存储器5325中的计算机可读指令以执行与应用程序5330相关联的工作流程和过程。处理器5320还可以执行存储在存储器5325中的计算机可读指令,所述计算机可读指令使处理器5320经由I/O控制器5305控制样品处理设备400、1400和3000的操作和/或经由相机控件5310控制图像捕获装置1420、1720的操作。以此方式,处理器5320可以控制样品处理设备400、1400和3000的操作以将样品与阵列对准。例如,处理器5320可以执行指令以使第一保持机构或第二保持机构中的任一个在样品处理设备400、1400、3000内平移,以便调节其各自位置并且使第一基板的样品区域与第二基板的阵列区域对准。

[0315] 输入装置5335可包括被配置成从用户接收用户输入的鼠标、触控笔、触控板、操纵杆等。例如,用户可以使用输入装置5335来提供指示第一基板的样品区域指示符的输入。显示器5340可包括显示与一个或多个应用程序5330相关联的数据的图形用户界面5345。

[0316] 网络接口5315可以被配置成提供与网络5350的有线或无线连接,所述网络是例如互联网、局域网、广域网、虚拟专用网络、蜂窝网络等。在一些实施方案中,网络接口5315可以被配置成经由以太网、Wi-Fi、蓝牙、USB等进行通信。网络5350可以连接到一个或多个分布式计算资源或远程处理服务5355。在一些实施方案中,远程处理服务5355可以是云计算环境、软件即服务(SaaS)管道。远程处理服务5355可以被配置成辅助、执行或控制本文所述的样品处理设备400、1400和3000的自动图像对准和/或图像配准。支持门户5360可以被配置成将共享图像数据、图像配准数据、仪器校准数据或包括图像、视频和日志或相关联参数数据的自检数据发送至支持门户5655。在一些实施方案中,远程处理服务5355或支持门户5360可以被配置为云计算环境、虚拟或容器化计算环境和/或基于web的微服务环境。

[0317] 样品处理设备400还可以经由网络5350通信地联接到计算装置5365。在一些实施方案中,第二计算装置5365可以远离样品处理设备400、1400和3000定位。

[0318] 计算装置5365可以被配置成利用样品处理设备400、1400和3000传输和接收数据。计算装置5365可包括台式电脑、笔记本电脑、手机、平板电脑、触摸屏计算装置等。在一些实施方案中,计算装置5365可包括智能电话,例如配置有iOS或安卓操作系统的电话。

[0319] 图54是根据一些示例实施方式的用于执行本文所述的过程和工作流程的示例软件架构5400的图。架构5400可配置在关于图53描述的样品处理设备400、1400和3000的存储器5325中。该架构的编程模块可以实施为样品处理设备400、1400和3000的操作系统5410(例如,Linux OS),并且可以存储在存储器5325中。操作系统5410可包括I/O控制器5305、CAN驱动器5412、相机接口5414、图像管理子系统5420、诊断子系统5425、统计收集器5430、发布和订阅服务5435、升级子系统5440、平台管理子系统5445、用户界面子系统5450、云管理子系统5460和测定控制子系统5470。用户界面子系统5450可包括触摸屏用户界面基础设

施5452。云管理子系统5460可包括云连接基础设施5462。测定控制子系统5470可包括控制器局域网(CAN)装置控制子系统5472和相机控制子系统5474。CAN装置控制子系统5472可以连接到控制其它传感器、致动器、加热器、照明源或连接的样品处理设备400、1400和3000的其它部件的其它板。相机接口5414可以被配置成使用图像捕获装置控制和记录图像/视频。

[0320] 图55是图54中所示的图像管理子系统5420的示例架构5500的图。图像管理子系统5420可以被配置成根据一些示例实施方式执行本文所述的图像配准过程和 workflows。图像管理子系统5420可包括图像处理管道5505和可视化工具5510。

[0321] 图像处理管道5505可包括一个或多个分析管道,所述一个或多个分析管道被配置成处理空间RNA-seq输出以及明场和荧光显微镜图像,以便检测样品、对准读段、生成特征-斑点矩阵、执行聚类 and 基因表达分析,以及在基板图像上的空间背景中放置斑点。在一些实施方案中,图像处理管道5505可包括被配置成正确地解复用测序运行并将条形码和读段数据转换为FASTQ格式化文件的功能。FASTQ格式是用于存储生物序列(通常是核苷酸序列)及其对应的质量得分的基于文本的格式。为了简洁起见,序列字母和质量得分各自用单个ASCII字符编码。在一些实施方案中,图像处理管道5505可包括被配置成接收显微镜载片图像和FASTQ文件以及执行对准、组织检测、基准检测和条形码位置计数的功能。图像处理管道5505使用空间条形码来生成特征-斑点矩阵,确定聚类,并执行基因表达分析。在一些实施方案中,图像处理管道5505可包括被配置成从相关样品接收计数条形码的位置和/或唯一分子标识符(UMI)的多次运行的输出的功能并且可聚合输出,从而将这些运行归一化到同一测序深度,并且接着对组合数据重新计算特征-条形码矩阵和分析。图像处理管道5505可以将来自多个样品的数据组合成实验范围的特征-条形码矩阵和分析。

[0322] 图像处理管道5505还可包括被配置成处理明场和荧光成像的功能。例如,图像处理管道5505可以被配置成接收作为输入的载片图像,以用作在其上可视化基因表达测量的解剖图。图像处理管道5505可以被配置成接收至少两种样式的图像:a)在光背景上用苏木精和伊红(H&E)染色的具有暗组织的明场图像,或b)在暗背景上具有亮信号的荧光图像。虽然明场输入可包括单个图像,但荧光输入可包括由样品的分开的激励生成的一个或多个通道的信息。

[0323] 图像处理管道5505还可包括自动和/或手动执行本文所述的图像处理 workflows 的功能。例如,图像处理管道5505可包括被配置成将基板条形码斑点图案对准到用于明场图像的输入基板图像的功能。图像处理管道5505可进一步区分用于明场图像的载片中的组织与背景。图像处理管道5505还可以被配置成制备全分辨率载片图像以与可视化工具5510一起使用。

[0324] 图像处理管道5505可以配置有一个或多个成像算法。成像算法可被配置成确定诸如组织的样品已放置的位置并对准印刷基准斑点图案。组织检测可用于识别哪些捕获斑点,以及因此哪些条形码将用于分析。可以执行基准对准以确定单独加条形码的斑点驻留在图像中的位置,因为当对样品区域成像时,每个用户可以设置略微不同的视场。图像处理分析管道5505还可被配置成支持经由可视化工具5510的手动对准和组织选择。

[0325] 图像处理管道5505可以通过识别印在每个载片上的不可见捕获斑点的载片特定图案以及这些斑点如何与围绕每个捕获区域形成框架的可见基准斑点相关来执行基准对准。基准框架可包括软件试图识别的独特拐角和侧边。为了确定基准的对准,图像处理管道

5505可以提取“看起来”像基准斑点的特征,然后可以尝试将这些候选基准斑点对准已知基准斑点图案。从图像提取的斑点可能必定含有一些遗漏,例如在基准斑点被组织覆盖的地方,以及一些假阳性,例如在载片或组织特征上的碎屑可能看起来像基准斑点的地方。

[0326] 在从图像提取推定的基准斑点之后,此图案可以以对合理数目的假阳性和假阴性稳健的方式与已知基准斑点图案对准。此过程的输出可以是加条形码的斑点图案与用户的组织图像相关的坐标变换。在一些实施方案中,基准对准算法可以针对每个可能的基准框架变换执行,并且在其中选择具有最佳拟合的对准。

[0327] 图像处理管道5505还可包括组织检测功能。基板或载片中的每个区域可以包含用在空间上有条形码的探针填充的捕获斑点网格,以捕获聚腺苷酸化mRNA。这些斑点中只有一小部分可能被组织覆盖。为了将图像处理管道5505分析仅限于那些放置有组织的斑点,图像处理管道5505可以使用算法来识别输入明场图像中的组织。例如,使用输入图像的灰度下采样版本,可以计算和比较组织切片放置的多个估计值。这些估计值可用于训练统计分类器以将捕获区域内的每个像素标记为组织或背景。为了实现最佳结果,组织检测算法可以被配置成接收具有平滑、明亮背景和具有复杂结构的较暗组织的图像。

[0328] 如图55中还所示,图像管理子系统5420还可包括可视化工具5510。可视化工具5510可以被配置成以一种或多种视觉格式提供空间组学(例如,空间转录组学)数据。可视化工具5510可以提供空间组学(例如,空间转录组学)数据以在样品处理设备400、1400和3000的显示器中显示。在一些实施方案中,可以在样品处理设备400、1400和3000的显示器的GUI中提供空间组学(例如,空间转录组学)数据。在一些实施方案中,可视化工具5510可以被配置在远程计算装置上,所述远程计算装置通信地联接到样品处理设备400、1400和3000,使得可以在远程计算装置上可视化和/或操作空间组学(例如,空间转录组学)数据。

[0329] 可视化工具5510可以被配置成提供用户输入系统和用户界面,例如提供交互式可视化功能的桌面应用程序,以分析来自本文所述不同空间组学(例如,空间转录组学)过程和工作流程的数据。可视化工具5510可包括浏览器,所述浏览器可以被配置成使得用户能够评估空间组学(例如,空间转录组学)数据的不同视图并与之交互,以快速获得对所分析样品的基础生物学的洞察。浏览器可以被配置成评估重要基因,表征和优化数据聚类,并且在样品图像的空间背景上执行差异表达分析。

[0330] 可视化工具5510可以被配置成从图像处理管道5505生成的文件进行读取并向其写入。这些文件可以被配置成包括样品图像、基板或载片上的所有加条形码的位置的基因表达数据、与样品或样品的各部分和阵列的加条形码的位置的对准相关联的对准数据,以及加条形码的位置的基于基因表达的聚类信息的平铺和非平铺版本。基于基因表达的聚类信息可以包括t-分布随机近邻嵌入(t-SNE)和均匀流形近似和投影(UMAP)投影。

[0331] 图56是说明计算系统5605的示例架构的图。计算系统5605可包括第一计算装置5610和第二计算装置5630。在一些实施方案中,计算装置5610可以与关于图53描述的计算装置5360相同。在一些实施方案中,计算装置5610可以通信地联接到计算装置5630,例如当计算装置5630被配置为本文所述的仪器400、1400和3000时或被配置为在本文所述的上述仪器内时。

[0332] 如图56所示,计算装置5610包括用于根据指令执行动作的至少一个处理器5640,以及用于存储指令和数据的一个或多个存储装置(例如,高速缓存5645)和/或存储器5650。

计算装置5610包括一个或多个处理器5640,所述一个或多个处理器经由总线5615与存储器5650通信,并且与具有网络接口5625的至少一个网络接口控制器5620通信,所述网络接口用于连接到外部装置,例如计算装置5630,例如计算装置(例如,本文的仪器400、1400、3000)。一个或多个处理器5640还经由总线5615彼此通信,并且在一个或多个I/O接口5625处与任何I/O装置以及任何其它装置5660通信。所示的处理器5640可并入或可直接连接到高速缓存存储器5645。通常,处理器将执行从存储器接收的指令。

[0333] 网络接口控制器5620经由网络接口5625管理数据交换。网络接口控制器5620处理用于网络通信的开放系统互连(OSI)模型的物理和数据链路层。在一些实施方式中,网络接口控制器的一些任务由处理器5640处理。在一些实施方式中,网络接口控制器5620是处理器5640的一部分。在一些实施方式中,计算装置5610具有多个网络接口控制器5620。在一些实施方式中,网络接口5625是物理网络链路的连接点,例如RJ 45连接器。在一些实施方式中,网络接口控制器5620支持无线网络连接,并且接口端口5625是无线接收器/发射器。通常,计算装置5610可以通过网络接口5625的物理或无线链路诸如与本文所述的样品处理设备400、1400和3000的其他网络装置5630交换数据。在一些实施方式中,网络接口控制器5620实施网络协议,例如以太网协议。

[0334] 其它计算装置5630经由网络接口端口5625连接到计算装置5610。其它计算装置5630可以是对等计算装置、网络装置或具有网络功能的任何其它计算装置。在一些实施方案中,计算装置5630可以是计算装置5360连接到诸如互联网的数据网络的网络装置,例如集线器、桥、交换机或路由器。在一些实施方案中,计算装置5610可以经由I/O接口5635通信地联接到计算装置5630(例如,仪器400、1400和3000)。在一些实施方式中,I/O装置并入计算装置5610中,例如,如在触摸屏计算装置或平板计算装置上配置的那样。

[0335] 在一些用途中,I/O接口5635支持输入装置和/或输出装置。在一些用途中,输入装置和输出装置被集成到同一硬件中,例如集成在触摸屏中。在某些用途中,例如在服务器背景下,没有I/O接口5635或不使用I/O接口5635。

[0336] 更详细地,处理器5640可以是处理指令(例如,从存储器5650或高速缓存5645获取的指令)的任何逻辑电路系统。在许多实施方案中,处理器5640是嵌入式处理器、微处理器单元或专用处理器。在一些实施方案中,关于计算装置5610描述的功能可以配置在能够如本文所述操作的任何处理器,例如合适的数字信号处理器(DSP)或一组处理器上。在一些实施方案中,处理器5640可以是单核或多核处理器。在一些实施方案中,处理器5640可以由多个处理器构成。

[0337] 高速缓存存储器5645通常是高速计算机存储器的形式,其紧邻处理器5640放置以用于快速读/写时间。在一些实施方案中,高速缓存存储器5645是处理器5640的一部分或与该处理器在同一芯片上。

[0338] 存储器5650可以是适合于存储计算机可读数据的任何装置。存储器5650可以是具有固定存储装置的装置或用于读取可移动存储介质的装置。实例包括所有形式的非易失性存储器、介质和存储装置、半导体存储装置(例如,EPROM、EEPROM、SDRAM、闪存装置和所有类型的固态存储器)、磁盘和磁光盘。计算装置5610可以具有任何数目的存储装置5650。

[0339] 存储器5650可包括一个或多个应用程序5655。应用程序5655可包括编程指令和用户界面,所述编程指令和用户界面被配置成发射和接收对应于由样品处理设备400、1400、

3000生成的图像数据和/或测定数据的数据。在一些实施方案中,应用程序5655可以被配置成与操作系统5410、远程处理服务5355和/或支持门户5360共享数据。

[0340] 应用程序5655可以允许用户接收关于实验工作流程、样品和样品处理设备400、1400和3000的设置的数据。应用程序5655可包括用户可视化测定进度或结果,或监测和控制测定的进度的特征和功能。以此方式,应用程序5655可以提供监测,使得测定工作流程中的一些或全部可能不需要亲自现场监测。在一些实施方案中,应用程序5655可包括订购与使用样品处理设备400、1400、3000执行的测定结合使用的诸如试剂或染色剂的消耗品的特征或功能。

[0341] 在一些实施方案中,应用程序5655可以允许用户在载片或基板上注释感兴趣区域。例如,应用程序5655可以提供组织样品在基板上的图像、阵列在基板上的图像或在本文所述的夹层构造中与阵列基板叠加的组织样品基板的图像的显示。用户可以与应用程序5655交互以提供识别感兴趣区域的输入。输入可以用鼠标、触控笔、触摸屏等提供。输入可以由应用程序5655处理,并且显示在样品基板、阵列基板或与阵列基板叠加的组织样品基板的图像上。在一些实施方案中,样品处理设备400、1400和3000可以接收与用户输入注释相关联的数据,并且可以将注释施加到样品基板、阵列基板或与阵列基板叠加的组织样品基板。

[0342] 在一些实施方案中,应用程序5655可以提供用户查看测定结果或图像数据,使用另外的处理技术或部件评估测定结果或图像数据,以及评论和共享测定结果和图像数据的特征和功能。应用程序5655还可以使得用户能够向支持门户5360报告关于样品处理设备400、1400和3000的操作的问题并跟踪所述问题的状态。因此,可以提升用户的客户支持体验,因为应用程序可以使得能够直接访问错误,而不需要用户单独编写冗长的电子邮件并收集样品处理设备400、1400、3000的日志文件或操作参数以提供给客户支持团队。在一些实施方案中,应用程序5360可以提供文档(例如,训练材料、测定或试剂数据、以及样品处理设备400、1400和3000的用户手册)。例如,应用程序5655可以立即通知用户更新的用户指南和产品改进。在一些实施方案中,应用程序5655可以为用户提供易于访问教程和交互指令。

[0343] 与诸如移动电话、平板电脑或个人计算装置的计算装置5610上的应用程序5655交互的用户可以例如通过支持门户5360向客户支持团队提供关于样品处理设备400、1400和3000的反馈。客户支持团队可以与用户互动,以提供关于样品处理设备400、1400和3000的状态和操作的及时可操作洞察,从而改善用户体验和获得更成功实验结果的可能性。这样,客户支持团队可以减少诊断时间和解决方案实施时间。在一些实施方案中,应用程序5655可以被配置成接收和安装与操作系统5410或应用程序5655相关联的软件更新或补丁。以此方式,应用程序5655可以帮助自动或手动配置和初始化样品处理设备400、1400和3000。例如,客户支持团队可以经由应用程序5655访问样品处理设备,并且可以在应用程序5655通知问题时直接访问错误。因此,在一些实施方案中,应用程序5655可以生成与样品处理设备400、1400和3000的测定和配置相关联的警报和通知。例如,在客户支持背景下,当确定协议或实验工作流程或对测定进行添加时,应用程序5655可以通知用户。应用程序5655可以实例化对样品处理设备400、1400和3000的更新,使得用户可以立即访问更新协议。

[0344] 在一些实施方案中,其它装置5660与计算装置5610或5630通信。在一些实施方案中,其它装置5660可包括经由通用串行总线(USB)连接的外部计算或数据存储装置。其他装

置5660还可包括I/O接口、通信端口和接口以及数据处理器。例如,其它装置可包括键盘、麦克风、鼠标或其它指向装置、输出装置,例如视频显示器、扬声器或打印机。在一些实施方案中,其它装置5660可包括附加存储装置(例如,便携式闪存驱动器或外部介质驱动器)。在一些实施方式中,其它装置可包括协处理器。在一些实施方案中,附加装置5660可包括FPGA、ASIC或GPU,以协助处理器5640进行与本文所述的图像处理 and 图像配准方法相关联的高精度或复杂计算。

[0345] 图57是根据一些示例实施方式的由本文所述的可视化工具5410提供的示例界面显示器5700。界面显示器5700可包括图像设置功能5705,所述图像设置功能被配置成调节或配置与基准显示器、比例显示器、旋转和重置图像数据相关联的设置。界面显示器5700还可包括一个或多个图像操作工具5710,例如用于选择数据或菜单项目的指针、用于选择数据的套索,以及用于在载片或载片的图像上注释或标记数据或感兴趣区域的笔。可以在主观察面板5715中提供空间组学(例如,空间转录组学)数据。

[0346] 如图57中所示,界面显示器5700可包括关于聚类组织的基因/特征表达数据的呈现5720。在一些实施方案中,尽管可以设想许多其他非限制性图类型,但呈现5720可以小提琴图提供代表性聚类。界面显示器5700还可包括辅助观察面板5725和5730。辅助观察面板5725和5730可以提供在主观察面板5715中提供的空间组学(例如,空间转录组学)数据的一个或多个投影。例如,辅助观察面板5725可以提供空间组学(例如,空间转录组学)数据的空间投影,使得用户可以与数据的空间不透明度和放大倍数设置交互。辅助观察面板5730可以提供空间组学(例如,空间转录组学)数据的附加投影,例如图57中所示的t-SNE投影。主观察面板5715和辅助观察面板5725和5730可各自单独地配置有图像操作工具5510,包括但不限于图像大小调节功能、图像裁剪功能、图像缩放功能、图像捕获功能、平铺视图功能、列表视图功能等。

[0347] VI. 使用图像配准系统的基准检测

[0348] 对于使用本文所述的系统、方法和计算机可读介质执行的空间组学(例如,空间转录组学)应用,可以在高分辨率组织图像上显示分析物信息。加条形码的斑点阵列可以从样品(例如,组织切片的样品)捕获分析物以用于下游测序。可以使用可放置在阵列基板上的基准标记相对于样品载片或基板上的样品的位置推断阵列基板或载片上的斑点的位置,所述基准标记可与样品基板上的组织切片一起成像。诸如本文所述的样品处理设备400、1400或3000的样品处理设备可以实现空间组学(例如,空间转录组学)测定,而不必将组织切片的样品首先直接放置在包括加条形码的斑点阵列的阵列基板上。本文所述的样品处理设备400、1400或3000可被配置成形成样品基板和阵列基板的叠加或夹层。可以在透化步骤期间形成和组装叠加或夹层,在所述透化步骤中,可以将透化溶液引入样品基板和阵列基板的叠加或夹层中。在透化期间,样品可以被透化或消化,并且可以释放转录物,该转录物可以跨越样品基板与阵列基板之间形成的间隙(例如,从组织样品到加条形码的斑点阵列)扩散,并且可以结合在加条形码的斑点内存在的加条形码的寡核苷酸上。由于该转录物的释放和捕获是在样品基板和阵列基板的受限叠加或夹层构造中完成的,因此在该步骤期间交换试剂以确保足够的流体分散并控制试剂分布,使得可以在最佳条件下实现转录物的空间可视化可能是具有挑战性的。当样品与基准重叠时,可能难以使基准可视化以进行稳健检测和后续图像处理。这可能影响执行本文所述的空间组学(例如,空间转录组学)工作流程

所必需的将阵列图像对准到样品图像。

[0349] 图58A-58B描绘了根据一些示例实施方式的样品和阵列的配置,其中在所获取的图像数据中阵列基准与样品不重叠。如图58A中所示,样品处理设备400、1400或3000可以获取与阵列基板5815叠加的样品基板5805(包括其上的样品5810)的图像数据。阵列基板5815可包括阵列5820和阵列基准5825。在一些实施方案中,基准框架可以包括以环绕阵列5820的图案化布置的多个单独的阵列基准5825。阵列基准5825可以界定和识别阵列5820在阵列基板5815上的位置。可以通过图像捕获装置5830(对应于本文所述的图像捕获装置1720)获取叠加的图像。图像和与图像相关联的对应图像数据可以一个或多个焦平面、照明和帧速率获取,如将进一步描述的。

[0350] 如图58B所示,可以获取叠加的图像5835,并且该图像可以包括样品5810和基准5825。如图所示,已提供样品5810,使得其不遮蔽阵列基准5825或不与其重叠。这样,图像5835在图像中包括样品5810和阵列基准5825两者。由于阵列基准5825的位置相对于加条形码的斑点的阵列5820是已知的,并且加条形码的斑点在叠加的图像5835中不可见,因此阵列基准5825的位置可用于相对于样品5810的定位或位置确定阵列5820的加条形码的斑点的定位或位置。

[0351] 在样品5810不覆盖阵列基准5825的情况下,如图像5835所示,可以通过首先将样品基板和阵列基板加载到样品处理设备中,并使样品基板5805接近阵列基板5815以形成样品5810和阵列5820的叠加或夹层,使用样品处理设备400、1400或3000相对于样品5810的定位确定阵列基准5825的定位。可通过图像捕获装置5830获取叠加的图像数据,所述叠加包括如图像5835所示的样品5810、阵列5820和阵列基准5825。通信地联接到图像捕获装置5830和样品处理设备400、1400或3000的计算装置可以接收包括图像5835的图像数据,并且可以检测阵列基准5825相对于由计算装置确定并应用于图像数据的坐标系的位置。计算装置还可以使用坐标系检测样品5810在图像5835中的位置。由于样品5810的位置和阵列基准5825的位置由计算装置在同一图像5835中并且使用同一坐标系确定,因此可以由计算装置相对于样品5810的位置确定并提供阵列基准5825的位置。然而,在一些条件下,样品5810可以与阵列基准5825重叠并遮蔽该阵列基准,使得难以相对于样品5810的位置确定阵列基准5825的位置。本文所述的系统、方法和计算机可读介质提供对阵列基准的改进检测。

[0352] 图59是说明根据一些示例实施方式的用于检测与阵列相关联的基准的示例过程5900的过程流程图。过程5900可以由配置有软件架构5400和图像管理子系统5420的示例架构5500的系统5300执行。

[0353] 例如,在操作5910中,处理器5320可以接收通过图像捕获装置(例如,图像捕获装置1720)获取的图像数据。图像数据可包括叠加在样品上的阵列和阵列基准的图像。

[0354] 在操作5920中,处理器5320可接收通过图像捕获装置1720获取的图像数据,所述图像数据包括在样品基板5805已相对于阵列基板5815叠加或夹置之后如关于图58A-58B描述的阵列与样品的叠加的图像。当使用样品处理设备形成叠加或夹层时,样品处理设备400、1400和3000可以防止载片基板相对于阵列基板移动。样品处理设备400、1400和3000还可以防止阵列基板相对于图像捕获装置1720移动。叠加的图像还可包括阵列基准。样品可以相对于阵列定位,使得在叠加中样品遮蔽阵列基准。样品可以不是完全遮蔽阵列基准,而是可以遮蔽阵列基准的一部分,以便限制或减少本文所述的改进的阵列基准检测。

[0355] 在操作5930中,处理器5320可以基于图像数据和包括阵列和阵列基准的图像确定阵列基准的位置。处理器5320可以基于坐标系确定阵列基准的位置。在一些实施方案中,图像数据包括坐标系,其中像素数据存储于坐标系中。在一些实施方案中,图像数据包括存储在坐标系中的像素值的数据。在一些实施方案中,图像数据包括存储在矩阵坐标系中的像素值的数据。在一些实施方案中,坐标系存储在存储器5320内或可以其它方式由操作系统5410(例如,图像管理子系统5420或I/O控制板5305)访问。在一些实施方案中,存储器5320或操作系统5410可以存储或访问一个或多个独特且不同的坐标系。在一些实施方案中,坐标系可以包括一维、二维或三维笛卡尔坐标系。处理器5320可以将坐标系坐标应用于接收的图像数据的一个或多个特征,使得图像数据中的特征的位置(例如,阵列基准位置和/或样品位置)相对于坐标系坐标可能是已知的。

[0356] 在操作5940中,处理器5320可以基于图像数据和包括阵列与样品的叠加并且还包含阵列基准的图像来确定样品的位置。阵列基准在此图像数据中可被样品遮蔽,且可能不可见。可以由数据处理器5320以与关于在操作5930中确定阵列基准的位置描述的类似的方式在坐标系中确定样品的位置。

[0357] 在操作5950中,数据处理器5320可以将操作5930中确定的阵列基准的位置和在操作5940中确定的样品的位置进行比较。由于在捕获第一图像和第二图像之间,样品基板和阵列基板相对于彼此或相对于一个或多个图像捕获装置1720不存在推定的偏移,因此这些位置可被视为在同一坐标系内,并且处理器5320可以执行该比较以对此进行确认。在操作5960中,基于该比较,处理器5320可相对于由已确定均位于其中的坐标系定义的样品的位置提供阵列基准的位置。在一些实施方案中,处理器5320可以在显示器5335和/或图形用户界面5340中提供阵列基准的位置和样品的位置。

[0358] 图60A-60B描绘了根据一些示例实施方式的在所获取的图像数据中检测与样品重叠的阵列基准的工作流程6000。工作流程6000可以针对图59中描述的过程5900的实施方案执行。如图60A中所示,图像捕获装置6020(对应于图像捕获装置1720)可以获取图像6025。图像6025可以是阵列基板6005的图像,所述阵列基板可以包括阵列基准6010和阵列6015。图像6025可包括阵列基板6005和阵列基准6010。如图60B中所示,可在样品处理设备400、1400或3000中形成包括样品6045的样品基板6040与阵列基板6005的叠加6055。图像捕获装置6020可以获取叠加6055的图像6050。图像6050可包括被样品6045重叠和遮蔽的阵列基准6010。

[0359] 图61A-61B描绘了根据一些示例实施方式的在以不同焦平面获取的图像数据中检测与样品重叠的阵列基准的工作流程6100。工作流程6100可以针对图59的过程5900的实施方案执行。样品处理设备400、1400和3000可被配置成使图像捕获装置6135相对于z轴在垂直方向上移动,同时相对于阵列基板6115在x、y轴中保持固定。

[0360] 如图61A中所示,可以获取样品基板6105和阵列基板6115的叠加6125的图像数据。样品基板6105可包括样品6110,并且阵列基板可包括阵列基准6120。图像数据可以由图像捕获装置6135(对应于图像捕获装置1720)在焦平面6130处获取。焦平面可对应于获取与叠加6125相关联的图像数据的焦深。在图61A所示的焦平面6130中,叠加6125可能未被完全捕获,例如,样品基板6105和样品6110可能失焦,而阵列基板6115和阵列基准6120可能更可见。由图像捕获装置6135捕获的叠加6125的图像6140可以反映该次优焦深,使得阵列基准

6120可以更大的焦距在图像6140中示出,而样品6110示出为失焦。

[0361] 在图61B中,焦平面更佳地捕获样品6110和阵列基准6120的叠加6125。由图像捕获装置6135捕获的图像6150可包括叠加6125,且具体地包括聚焦的样品6110和阵列基准6120的叠加。图像6140可直接用于检测阵列基准,或用于帮助使用图像6150检测阵列基准。由于在通过夹层化样品基板6105和阵列基板6115形成叠加期间,在x轴和y轴中叠加6125相对于图像捕获装置6135不存在推定的偏移,因此两个基板都存在于同一坐标系中。

[0362] 图62A-62B描绘了根据一些示例实施方式的在以不同照明获取的图像数据中检测与样品重叠的阵列基准的工作流程6200。工作流程6200可以针对关于图59描述的过程5900的实施方案执行。样品处理设备400、1400和3000可配置有光源6240,所述光源被配置成在关于过程5900描述的图像获取步骤期间以一个或多个照明设置提供光。尽管光源6240示出为在叠加6225上方定向,但在样品处理设备400、1400和3000中可包括光源6240的各种非限制性数目、配置和定向。例如,在一些实施方案中,光源6240可以配置在叠加6225下方。光源可以各种波长发射有色RGB光。在一些实施方案中,光源和照明设置可以与接近或匹配用于对样品染色的一个或多个染料(例如,伊红染料或荧光染料)的吸光度波长的一个或多个波长相关联。在一些实施方案中,光源和照明设置可以被配置成改善阵列基准对比度和/或样品对比度。在一些实施方案中,处理器5320可以选择图像数据或过滤与光源6240的一个或多个RGB信道相关联的图像数据。

[0363] 如图62A中所示,光源6240可以将照明6230提供到叠加6225上。照明6230可对应于被配置成改善阵列基准6220的对比度的波长。例如,在550nm与1 μ m之间的照明可以相对于伊红染色样品的对比度最大化阵列基准的对比度,因为与伊红染色相关联的吸收带为440nm~550nm。当捕获图像6245时,阵列基准6220的对比度相对于样品6210得到改进,如叠加6225的图像6245中所示。例如,照明6230可包括红色或红外(IR)照明。如图61B中所示,光源6240可以将照明6250提供到叠加6225上。照明6250可对应于被配置成改进样品6210的对比度的波长,如叠加6225的图像6255中所示。例如,照明6250可包括绿色照明。在一些实施方案中,照明6230和6250可包括在500nm与1mm之间的波长。在一些实施方案中,照明可包括在500nm与530nm之间、在525nm与550nm之间、在540nm与570nm之间、在560nm与585nm之间、在580nm与700nm之间、在600nm与800nm之间、在700nm与1mm之间,以及在850nm与1 μ m之间的波长。图像6245可直接用于检测阵列基准6220或帮助检测图像6255中的阵列基准6220。如果在以不同照明捕获图像之间,样品基板和阵列基板相对于彼此或相对于一个或多个图像捕获装置6235不存在推定的偏移,则这些位置可被视为在同一坐标系内,并且处理器5320可以执行此比较以对此进行确认。

[0364] 图63A-63B是说明根据一些示例实施方式的以不同照明获取的图像数据的图像。如图63A中所示,IR照明可最大化阵列基准6305的对比度。如图63B中所示,绿色照明可最大化组织6310的样品的对比度。

[0365] 图64是说明根据一些示例实施方式的用于使用样品处理设备中提供的仪器基准检测与阵列相关联的基准的示例过程6400的过程流程图。过程6400可以针对关于图59的过程5900描述的实施方案执行。样品处理设备可包括一个或多个仪器基准,如关于图41所述。仪器基准可以提供通过组织的样品容易看到的高对比度标记。在操作5910中获取的阵列图像的阵列图像数据还可包括样品处理设备上配置的仪器基准。这样,可以确定仪器基准相

对于阵列基准的位置。

[0366] 在操作6410中,处理器5320可以例如在操作5920中在具有样品、阵列和阵列基准的叠加的图像中接收包括仪器基准的阵列图像数据。在叠加中样品可遮蔽阵列基准和仪器基准。这样,可以相对于样品位置确定仪器基准的位置。如果阵列基准被样品覆盖,那么它们可能不易看见。

[0367] 在操作6420中,处理器5320可以基于操作5910中使用的坐标系在操作5910中捕获的并且现在包括仪器基准的阵列图像数据中确定阵列基准相对于仪器基准的位置。

[0368] 在操作6430中,处理器5320可以确定样品相对于在操作5910中获取的阵列图像数据中捕获的仪器基准的位置。可以使用在操作6410中获取的阵列图像数据确定样品相对于仪器基准的位置。可以使用第二或替代坐标系确定样品相对于仪器基准的位置,所述第二或替代坐标系不同于用于在操作6420中确定阵列基准相对于仪器基准的位置的坐标系。

[0369] 在操作6440中,处理器5320可以将操作5910中获取的并且还包括仪器基准的阵列图像中的阵列基准的位置与在操作6410中获取的阵列图像中的样品的位置进行比较。由于阵列基准的位置相对于样品的位置是已知的,且仪器基准的位置相对于阵列基准的位置是已知的,因此可以基于两个坐标系中的位置之间的差异来确定样品相对于阵列基准的位置。

[0370] 图65A-65B描绘了根据一些示例实施方式的在包括样品处理设备中提供的仪器基准的图像数据中检测与样品重叠的阵列基准的工作流程6500。工作流程6500可以针对关于图59的过程5900描述的实施方案执行。如图65A中所示,包括阵列基准6510的阵列基板6505可以定位在保持构件6515(对应于构件410)中或上。保持构件6515可包括一个或多个仪器基准6520。图像捕获装置6525可获取包括阵列基准6510和仪器基准6520的图像数据的图像6530。如图65B中所示,图像捕获装置6525还可获取包括叠加6535的图像6550的图像数据,所述叠加包括与阵列基准6510和仪器基准6520叠加的样品6545。阵列基准6510可被样品6545遮蔽或覆盖,然而,由于仪器基准6520相对于样品6545的高对比度和可见性,可使用仪器基准6520确定阵列基准6510的位置。

[0371] 图66是说明根据一些示例实施方式的用于检测施加到阵列位于其上的基板的基准的示例过程6600的过程流程图。过程6600可以针对关于图59的过程5900描述的实施方案执行。

[0372] 在一些实施方案中,施加基准可以包括图章、贴纸、间隔件、绘图、印刷点或激光蚀刻,其施加到阵列和阵列基准可以位于其上的基板上并位于所述基板上。可以将间隔件施加到阵列基板以提供对在本文所述的透化过程期间使用的透化试剂的流动控制。间隔件可提供阵列基板与样品基板之间的分离量,使得当阵列基板和样品基板接触时,间隔件可起作用以维持两个基板之间的分离量。间隔件可包括在被组织的样品覆盖或遮蔽时可见的高对比度材料。例如,在一些实施方案中,间隔件可包括由石墨片形成的石墨材料。石墨是深色材料,并且可以提供高对比度间隔件,而不需要向间隔件施加额外的高对比度饰面。在一些实施方案中,间隔件可包括施加到间隔件材料的高对比度饰面。例如,可以将深黑色饰面施加到透明聚酯材料以产生高对比度间隔件。间隔件可以在通过将基板保持构件404闭合到基板保持构件410上形成的叠加的形成期间固定到阵列基板,以防止相对于阵列基板移动。在一些实施方案中,间隔件可以是不透明的。

[0373] 在一些实施方案中,施加基准可以由包括染料、化学物质、造影剂或纳米颗粒的材料形成。施加基准可被配置成当在成像期间被组织的样品遮蔽时改善基准的对比度,使得当以特定波长照明时,它们更容易对人眼或图像捕获装置可见。例如,不同大小和形状的金纳米颗粒可用于在不同波长下提供不同的对比度。在操作5910中获取的阵列图像的阵列图像数据还可包括施加到阵列和阵列基准位于其上的基板的施加基准。以此方式,可以确定施加基准相对于阵列基准的位置。

[0374] 在操作6610中,处理器5320可以例如在操作5920中接收图像数据,所述图像数据还包括已施加到阵列和阵列基准位于其上的基板的施加基准。以此方式,可以确定施加基准相对于阵列基准的位置。如果阵列基准被样品覆盖,那么它们可能不易看见。

[0375] 在操作6620中,处理器5320可以基于操作5910中使用的坐标系,在操作5910中捕获的并且现在包括施加基准的阵列图像数据中确定阵列基准相对于施加基准的位置。

[0376] 在操作6630中,处理器5320可以确定样品相对于在操作5910中获取的阵列图像数据中捕获的施加基准的位置。可以使用在操作6610中获取的阵列图像数据确定样品相对于施加基准的位置。可以使用第二或替代坐标系确定样品相对于施加基准的位置,所述第二或替代坐标系不同于在操作6620中用于确定阵列基准相对于施加基准的位置的坐标系。

[0377] 在操作6640中,处理器5320可以将操作5910中获取的并且还包括施加基准的阵列图像中的阵列基准的位置与在操作6610中获取的阵列图像中的样品的位置进行比较。由于阵列基准的位置相对于样品的位置是已知的,并且施加基准的位置相对于阵列基准的位置是已知的,因此可以基于两个坐标系中的位置之间的差异来确定样品相对于阵列基准的位置。

[0378] 图67A-67B描绘了根据一些示例实施方式的在包括施加到阵列位于其上的基板的基准的图像数据中检测与样品重叠的阵列基准的工作流程6700。工作流程6700可以针对图59的过程5900和图66的过程6600中描述的实施方案执行。如图67A中所示,图像捕获装置6720(对应于图像捕获装置1720)可以获取包括图像6725的图像数据。图像6725可包括阵列基板6705、阵列基准6710和已施加到阵列基板6705的施加基准6715。图像6725可用于确定施加基准6715相对于阵列基准6710的位置。在一些实施方案中,施加基准6715

[0379] 如图67B中所示,图像捕获装置6720可以获取包括图像6745的图像数据的图像数据。图像6745可包括样品6740、阵列基准6710和施加基准6715的叠加6730。图像6745可用于确定样品6740相对于阵列基准6710的位置,因为施加基准6715的位置相对于样品6740的位置是已知的,并且施加基准6716相对于阵列基准6710的位置也是已知的。

[0380] 图68A-68B描绘了根据一些示例实施方式的在关于透化样品获取的图像数据中检测与样品重叠的阵列基准的工作流程6800。工作流程6800可以针对图59的过程5900中描述的实施方案执行。可以根据关于图3、图29A-29C和图31A-31C提供的描述来执行使用本文所述的样品处理设备对样品进行透化。如图68A中所示,图像捕获装置6825(对应于图像捕获装置1720)可以在最初已通过将基板保持构件404闭合到基板保持构件410上形成叠加6830时,在样品透化开始或接近开始之前获取叠加6830的图像数据。图像6835可包括以高对比度遮蔽阵列基准6820的样品6810。

[0381] 如图68B中所示,图像捕获装置6825可以获取包括图像6845的图像数据。可以在叠加6840中已经发生样品6810的透化的时段之后获取图像6845。透化时段可使样品被消化,

这可使得阵列基准6820在图像6845中以较大对比度变得更可见。

[0382] 图69是根据一些示例实施方式例如关于图65描述的示例实施方式的说明用于使用在包括配置在阵列基板上的间隔件的样品处理设备中获取的样品图像数据与阵列图像数据的图像配准来检测基准的示例过程6900的过程流程图。可以关于在图59的过程5900、图66的过程6600和图66A-66B的工作流程6600中描述的实施方案执行过程6900。图像配准方法和技术可关于本文在第IV章节:图像配准装置和方法中提供的描述执行。

[0383] 如图69中所示,在操作6910中,处理器5320可以接收经由图像捕获装置1720获取的并且包括如在关于图59描述的操作5910中获取的阵列基准的图像并且还包含至少一个间隔件的阵列图像数据。间隔件的各种非限制性数目、形状和布置可以包括在阵列基板上,并且因此可以包括在阵列图像数据中。

[0384] 在操作6920中,处理器5320可以执行如关于图53描述的图像配准,通过在共同坐标系中对准阵列基准的位置和样品的位置而将在关于图59描述的操作5910中获取的图像配准到在操作6910中获取的图像,所述共同坐标系包括由处理器5320施加到在关于图59描述的操作5910中获取的图像的坐标系和由处理器5320施加到在操作6910中获取的图像的第二坐标系。

[0385] 在操作6930中,处理器5320可以基于共同坐标系在关于图59描述的操作5910中获取的图像中确定阵列基准的位置。在操作6940中,处理器5320可以基于共同坐标系确定样品在关于图59描述的操作5910中获取的图像中的位置。在操作6950中,处理器5320可以使用共同坐标系将在操作5910中获取的图像中的阵列基准的位置与在操作6910中获取的图像中的样品的位置进行比较。操作6930-6950可以如关于对应于图59的描述的操作5930-5950描述的执行,除非本文另外指出。

[0386] 图70A-70B描绘了根据一些示例实施方式的在使用包括间隔件的样品处理设备获取和配准的图像数据中检测与样品重叠的阵列基准的工作流程7000。工作流程7000可以针对关于图59描述的过程5900和关于图69描述的过程6900中描述的实施方案执行。如图70A中所示,图像捕获装置7020(对应于图像捕获装置1720)可以获取包括图像7025的图像数据。除了阵列基准7010之外,图像7025可包括间隔件7015。间隔件7015可具有高对比度,并且在被样品7040覆盖时可见。

[0387] 如图70B中所示,图像捕获装置7020可以获取包括叠加7030的图像7045的图像数据。图像7045可包括通过遮蔽阵列基准7010的样品7040可见的间隔件7015。这样,处理器5320可以在图像7025与图像7045之间执行图像配准,以确定图像7025中的阵列基准的位置和图像7045中的样品的位置,以便比较阵列基准7010的位置和图像7045中的样品的位置,如关于操作6930-6950所述。

[0388] 图71是说明根据一些示例实施方式的使用在包括间隔件的样品处理设备中以多个照明获取的样品图像数据和阵列图像数据的图像配准来检测与样品重叠的基准的示例过程7100的过程流程图。过程7100可针对在关于图59描述的过程5900、关于图62A-62B描述的工作流程6200、关于图66描述的过程6600以及关于图67A-67B描述的工作流程6700中描述的实施方案执行。可以执行过程7100以确认当照明条件已改变时样品位置和基准位置保持不变。执行关于间隔件位置的图像配准可以帮助确认样品位置和基准位置未改变。如果间隔件位置已改变,则图像配准可用于在所接收的图像数据中确定样品的位置和基准的位

置。

[0389] 如图71中所示,在操作7110中,处理器5320可以接收以第一照明获取且在操作5920中接收的阵列图像数据。以第一照明获取且在操作5920中接收的阵列图像可包括叠加在基板上的样品,所述基板包括阵列、阵列基准和在以第一照明获取的阵列图像中可见的间隔件的至少一部分。处理器5320还可接收额外或后续阵列图像数据,所述额外或后续阵列图像数据包括以第二照明获取的且包括叠加在包括阵列、阵列基准和间隔件的基板上的样品的阵列图像。在一些实施方案中,第一阵列图像和第二阵列图像中的间隔件可以是不透明的。由于其对比度特性,可以在以第二照明获取的阵列图像中看见间隔件。以第一照明和第二照明获取的阵列图像的阵列图像数据的比较可用于使用共同坐标系确定阵列基准和样品的位置。

[0390] 在一些实施方案中,可以选择第一照明和/或第二照明以增加或减少样品与阵列基准之间的对比度的量。例如,与阵列基准的对比度相比,第一照明可以增强样品的对比度。与样品的对比度相比,第二照明可以增强阵列基准的对比度。照明也可以基于关于本文的图62A-62B和图63A-63B描述的照明特性或特征来选择。

[0391] 在操作7120中,处理器5320可以确定阵列基准在以第一照明获取的并且在操作5920中接收的且包括在以第一照明获取的阵列图像中可见的间隔件的阵列图像中的位置。可以基于第一坐标系在以第一照明获取的阵列图像中确定阵列基准的位置。在操作7130中,处理器可以基于第二坐标系在以第二照明获取并在操作7110中接收的阵列图像中确定样品的位置。在以第一照明和第二照明的图像捕获之间,样品基板、间隔件(或其一部分)和阵列基板相对于彼此或相对于一个或多个图像捕获装置不存在移位的一些实施方案中,第二坐标系可以与第一坐标系相同,例如,可以是共同坐标系。换句话说,这些位置可被视为在同一坐标系内,且处理器5320可以执行此比较以对此进行确认。

[0392] 在以第一照明和第二照明的图像捕获之间,在例如间隔件或其部分相对于图像捕获装置发生移位的一些实施方案中,可以执行图像配准以将第二坐标系变换到第一坐标系。替代地,在以第一照明和第二照明的图像捕获之间,在例如间隔件或其部分相对于图像捕获装置发生移位的一些实施方案中,可以执行图像配准以将第一坐标系变换到第二坐标系。替代地,在以第一照明和第二照明的图像捕获之间,在例如间隔件或其部分相对于图像捕获装置发生移位的一些实施方案中,可以执行图像配准以将第一坐标系和第二坐标系变换到共同坐标系。

[0393] 在操作7140中,处理器5320可以通过在共同坐标系中对准阵列基准的位置和样品的位置,将在操作5920中以第一照明获取的包括间隔件的阵列图像配准到以第二照明获取的且在操作7110中接收的阵列图像。共同坐标系可以包括第一坐标系和第二坐标系,并且还可以包括阵列基准的位置和样品的位置。对准方法和技术可关于本文在第III章节:样品和阵列对准装置和方法中提供的描述执行。图像配准方法和技术可关于本文在第IV章节:图像配准装置和方法中提供的描述执行。

[0394] 在一些实施方案中,例如在以第一照明和第二照明的图像捕获之间,样品基板、间隔件(或其一部分)和阵列基板相对于彼此或相对于一个或多个图像捕获装置不存在移位,并且第二坐标系可与第一坐标系相同,例如可为共同坐标系时,可任选地省略操作7140,因为不需要图像配准。换句话说,第一坐标系和第二坐标系可被视为同一坐标系,因为阵列基

准和/或样品的位置没有变化。

[0395] 在操作7150中,处理器5320可以基于共同坐标系确定阵列基准在以第一照明获取的且在操作5920中接收的包括间隔件的阵列图像中的位置。在操作7160中,处理器5320可以基于共同坐标系确定样品在以第二照明获取的并在操作7110中接收的阵列图像中的位置。在操作7170中,处理器5320可以使用共同坐标系将以第一照明获取的且在操作5920中接收的包括间隔件的阵列图像中的阵列基准的位置与以第二照明获取的且在操作7110中接收的阵列图像中的样品的位置进行比较。这样,可以相对于样品的位置提供阵列基准的位置。

[0396] 在一些实施方案中,可以组合关于图69描述的过程6900的操作和关于图71描述的过程7100的操作。

[0397] 图72A-72B描绘了根据一些示例实施方式的使用包括间隔件的样品处理设备在以多个照明获取和配准的图像数据中检测与样品重叠的阵列基准的工作流程7200。工作流程7200可以针对关于图59描述的过程5900的实施方案、关于图62描述的工作流程6200的实施方案以及关于图71描述的过程7100的实施方案来执行。

[0398] 如图72A中所示,图像捕获装置7235(对应于图像捕获装置1720)可以获取包括图像7250的图像数据。图像7250可包括样品7210、阵列基准7220和间隔件7225的叠加7230。图像7250可以由提供照明7245的光源7240照明。例如,照明7245可包括红色或红外(IR)波长以最大化阵列基准7220的对比度。例如,在550nm与1 μ m之间的照明可以相对于伊红染色样品的对比度最大化阵列基准的对比度,因为与伊红染色相关联的吸收带为440nm~550nm。高对比度间隔件7220也可以在图像7250中可见。

[0399] 如图72B中所示,图像捕获装置可以获取包括图像7265的图像数据。图像7265可包括样品7210、阵列基准7220和间隔件7225的叠加。图像7265可以由提供照明7260的光源7240照明。例如,照明7260可以包括绿色波长以最大化样品7210的对比度。在一些实施方案中,可以在样品处理设备400、1400和3000中配置多于一个光源7240。在图像7265中,间隔件7225和样品7210可见,而阵列基准7220在被样品7210覆盖时不可见。在一些实施方案中,照明7245和7260可包括在500nm与1 μ m之间的波长。在一些实施方案中,照明可包括在500nm与530nm之间、在525nm与550nm之间、在540nm与570nm之间、在560nm与585nm之间、在580nm与700nm之间、在600nm与800nm之间、在700nm与1 μ m之间,以及在850nm与1 μ m之间的波长。

[0400] 图73A-73C是说明根据一些示例实施方式的由样品处理设备400、1400和300以不同照明获取的用于关于图62A-62B和图72A-72B中描述的实施方案描述的图像配准过程和技术中的图像数据的实施方案的图像。如图73A中所示,可以获取包括阵列基准7305的图像。在图73B中,可以绿色照明获取图像以最大化样品7310与阵列基准7305之间的对比度。在图73C中,可以红色或红外(IR)照明获取图像以最大化阵列基准7305的对比度。

[0401] 图74A-74B是说明根据一些示例实施方式的由样品处理设备400、1400和300以不同照明获取的用于关于图62A-62B和图72A-72B中描述的实施方案描述的图像配准过程和技术中的图像数据的额外实施方案的图像。如图74A中所示,可以在阵列基准7405在图像内可见的图像中检测阵列基准。在图74B中,可以对包括含有间隔件的图像的图像数据执行图像配准。在图74C中,阵列基准7405的框架可以叠加在样品7410上。

[0402] 在一些实施方案中,在所获取的图像数据中检测到的阵列基准位置可以与数据文

件(例如.gpr文件)中识别的阵列基准的位置配准。基于图像配准,可以为每个阵列基准分配配准误差。在一些实施方案中,在所获取的低分辨率图像数据中检测到的阵列基准位置可以与在所获取的高分辨率图像数据中检测到的阵列基准位置配准。基于图像配准,可以为每个阵列基准分配配准误差。单色照明可用于所获取的图像数据,而不促成配准误差。

[0403] 图75A-75D是说明根据一些示例实施方式的与用于验证本文所述的图像配准过程和技术配准和位置误差相关联的示例数据的绘图。如图75A-75B中所示,图像数据的两个不同样品(例如,“C1”和“D1”)的绘图说明对于高分辨率图像和低分辨率图像配准误差计数(x轴)随以 μm 为单位的配准误差大小(y轴)而变。如图75A-75B中所示,当使用具有0.4放大倍数的单色12M传感器(例如,3k传感器)时,高分辨率图像和低分辨率图像的配准误差计数是相似的。

[0404] 如图75C-75D中所示,图像数据的两个不同样品(例如,“C1”和“D1”)的绘图说明对于高分辨率图像和低分辨率图像配准与位置误差计数(x轴)随以 μm 为单位的误差大小(y轴)而变。如图75C-75D中所示,对于使用单色12M传感器以高分辨率和低分辨率获取的图像数据,在0.4放大倍数下,大部分误差小于或等于1像素(例如, $\sim 4.5\mu\text{m}$)。

[0405] 图76描绘了由本文所述的样品处理设备进行图像和视频捕获的示例性工作流程7600。一旦将包括样品和阵列的基板加载到样品处理设备中,工作流程7600就开始。用户可以通过按下样品处理设备上的“开始”按钮来启动工作流程。在一些实施方案中,工作流程7600的启动可以由通信地联接到样品处理设备的计算装置以编程方式控制。

[0406] 在7610处,在盖闭合之后,捕获阵列载片的夹层前图像。此时可捕获多个图像。在一些实施方案中,以一个或多个照明(例如,包括与红光、绿光或蓝光相关联的波长的照明)获取叠加在第二基板上的阵列上的第一基板上的样品的图像。在一些实施方案中,图像以一个或多个分辨率(例如全分辨率)获取。例如,全分辨率可以包括与获取图像的装置的如设计的分辨率能力相关联的分辨率,例如3000x3000像素分辨率。在一些实施方案中,图像以一个或多个放大倍数(例如0.4放大倍数)获取。0.4放大倍数可以被解释为指示1cm物体可以在获取图像的传感器的平面中成像为0.4cm物体。在一些实施方案中,图像以多层标签图像文件格式(TIFF)获取。在一些实施方案中,图像在诸如3-5秒的时间段内获取。在7610期间获取图像可以使得能够确定样品处理设备的可适用性,和适当的载片加载,以及识别和记录夹层前开始条件。在7610之后,样品处理设备开始将包括样品的第一基板与包括阵列的第二基板放在一起,以启动夹层化过程的开始。

[0407] 在7620处,夹层闭合和夹层对准过程开始。获取夹层闭合过程的视频。在一些实施方案中,视频以预定帧速率例如每秒30帧(fps)获取。在一些实施方案中,视频以一个或多个照明(例如,包括与绿光相关联的波长的照明)获取。在一些实施方案中,视频以一个或多个分辨率(例如,1000像素x1000像素分辨率)获取,所述分辨率可以是小于获取图像的传感器的如设计的分辨率能力的分辨率。在一些实施方案中,视频以一种或多种视频格式(例如,音频视频交错(AVI)格式)获取。AVI格式化的视频文件可包括使用一个或多个压缩方案(例如压缩JPEG方案)压缩的视频数据。在一些实施方案中,视频在一段时间(例如10秒)内获取。在7620期间获取视频可以帮助确定样品处理设备的可适用性。

[0408] 在7630处,可以获取对准的载片的图像。在一些实施方案中,以一个或多个照明(例如,包括与红光、绿光或蓝光相关联的波长的照明)获取对准在第二基板上的阵列上的

第一基板上的样品的图像。在一些实施方案中,图像以一个或多个分辨率(例如,如上文关于7610描述的全分辨率)获取。在一些实施方案中,图像以多层TIFF格式获取。在一些实施方案中,图像在诸如3-5秒的时间段内获取。在7630期间获取图像可以使得能够确定所执行的测定的输出。

[0409] 在7640处,获取捕获包括样品的第一基板与包括阵列的第二基板夹在一起的时间段的视频。夹层计时器视频可以与测定期间执行的透化时段相关联。在一些实施方案中,视频以预定帧速率(例如0.5fps)获取。在一些实施方案中,视频以一个或多个照明(例如,包括与绿光相关联的波长的照明)获取。在一些实施方案中,视频以一个或多个分辨率(例如,如上文关于7520描述的1000像素x1000像素分辨率)获取。在一些实施方案中,视频以一种或多种视频格式(例如AVI格式)获取。AVI格式化的视频文件可包括使用一个或多个压缩方案(例如压缩JPEG方案)压缩的视频数据。在一些实施方案中,视频在一段时间(例如,~30分钟)内获取。在一些实施方案中,视频在1-90分钟之间的时间段内获取。在7640期间获取视频可以帮助确定样品处理设备的可适用性。

[0410] 在7650处,可以在夹层过程结束时获取图像。此时可捕获多个图像。在一些实施方案中,以一个或多个照明(例如,包括与红光、绿光或蓝光相关联的波长的照明)获取叠加在第二基板上的阵列上的第一基板上的样品的图像。在一些实施方案中,图像以一个或多个分辨率(例如,如上文关于7610描述的全分辨率)获取。在一些实施方案中,图像以一个或多个放大倍数(例如,如上文关于7610描述的0.4放大倍数)获取。在一些实施方案中,图像以多层TIFF获取。在一些实施方案中,图像在诸如3-5秒的时间段内获取。在7650期间获取图像可以使得能够确定样品处理设备的可适用性,并且在打开夹层之前识别和记录夹层状况。

[0411] 虽然关于样品处理设备400示出和描述了工作流程1700、1800、2900、3100和7600,但是也可以关于样品处理设备1400、样品处理设备3000或根据本文所述的实施方式的另一样品处理设备执行工作流程1700、1800、2900、3100和7600。在一些实施方案中,过程1900、2300、2500、2700、2800和3000也可以关于样品处理设备1400、样品处理设备3000或根据本文所述的实施方式的另一样品处理设备执行。

[0412] 本文所述的空间组学(例如,空间转录组学)过程和 workflows 可以被配置成在高分辨率样品图像上显示基因表达信息。试剂阵列内的加条形码的位置可以捕获来自与阵列接触的样品的转录物。所捕获的转录物可用于随后的下游处理中。可以使用放置在试剂阵列位于其上的基板上的基准标记来执行相对于样品确定试剂阵列的加条形码的位置的位置。加条形码的位置可以与样品一起成像以生成样品的空间组学(例如,空间转录组学)数据。

[0413] 生成适合于空间组学(例如,空间转录组学)分析的图像数据可能受到样品与试剂阵列的加条形码的区域的相对对准的影响。空间组学(例如,空间转录组学)的高分辨率阵列可能需要叠加在高分辨率样品图像上的推断的加条形码的位置的分辨率,以便适当地将所捕获的转录物与转录物源自的特定细胞相关联。样品处理设备400、1400和3000可被配置成执行本文所述的图像配准过程和 workflows,以提供将样品图像和阵列图像在 $\pm 1-5$ 微米、 $\pm 1-10$ 微米、 $\pm 1-20$ 微米或 $1-30 \pm$ 微米内对准的精度水平。

[0414] 本文所述的主题的一个或多个方面或特征可在数字电子电路系统、集成电路、专门设计的ASIC、现场可编程门阵列(FPGA)计算机硬件、固件、软件和/或其组合中实现。这些

不同的方面或特征可以包括在一个或多个计算机程序中的实施,所述一个或多个计算机程序可在可编程系统上执行和/或解释,所述可编程系统包括至少一个可编程处理器、至少一个输入装置以及至少一个输出装置,所述至少一个可编程处理器可以是专用或通用的,被联接以从存储系统接收数据和指令以及向存储系统传输数据和指令。可编程系统或计算机系统可以包括客户端和服务端。客户端和服务端一般彼此远离,通常通过通信网络进行交互。客户端和服务端的关系由于在相应计算机上运行且具有彼此的客户端-服务端关系的计算机程序而产生。

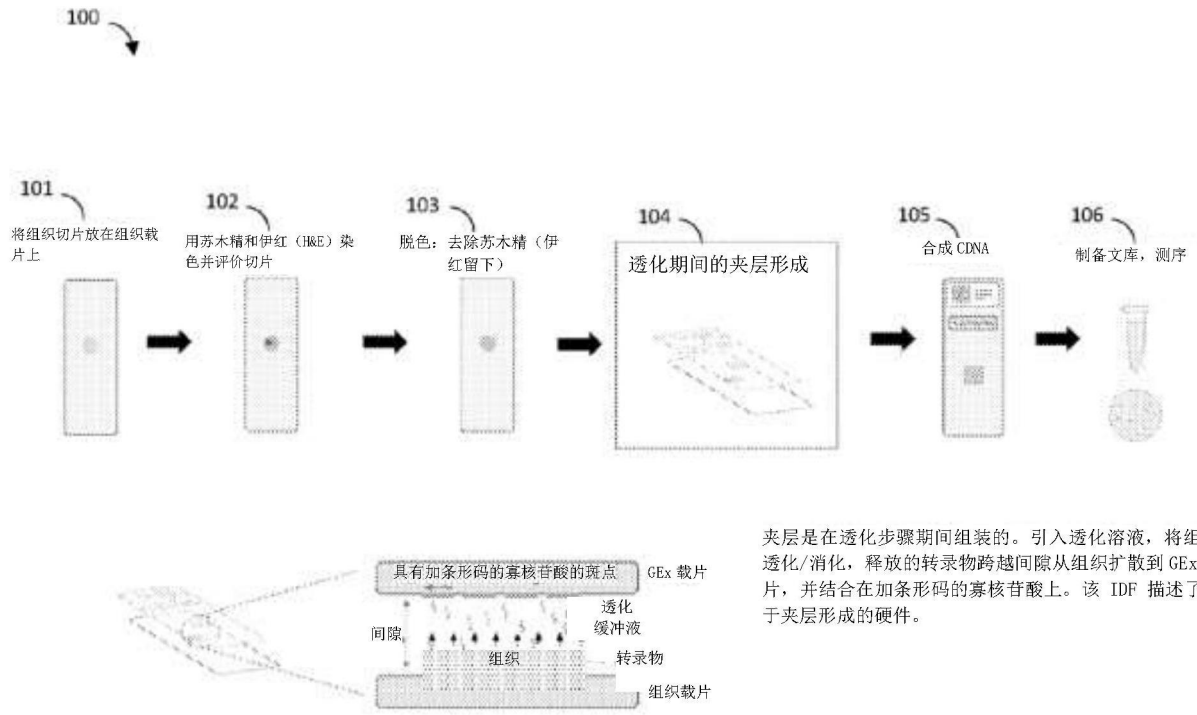
[0415] 这些计算机程序也可以被称为程序、软件、软件应用程序、应用程序、组件或代码,包括可编程处理器的机器指令,并且可以以高级别程序和/或面向对象的编程语言和/或汇编/机器语言实施。如本文所使用,术语“机器可读介质”是指用于向可编程处理器提供机器指令和/或数据的任何计算机程序产品、设备和/或装置,例如磁盘、光盘、存储器和可编程逻辑装置(PLD),包括接收作为机器可读信号的机器指令的机器可读介质。术语“机器可读信号”是指用于向可编程处理器提供机器指令和/或数据的任何信号。机器可读介质可以非暂时性地存储此类机器指令,例如,如非暂时性固态存储器或磁硬盘驱动器或任何等效存储介质那样。机器可读介质可以替代地或另外以瞬态方式存储此类机器指令,例如,如处理器高速缓存或与一个或多个物理处理器核心相关联的其它随机存取存储器那样。

[0416] 为了提供与用户的交互,本文所述的主题的一个或多个方面或特征可以在具有用于向用户显示信息的显示装置(例如,阴极射线管(CRT)或液晶显示器(LCD)或发光二极管(LED)显示器)以及用户可通过其向计算机提供输入的键盘和指向装置(例如,鼠标或跟踪球)的计算机上实施。其它类型的装置也可用于提供与用户的交互。例如,提供给用户的反馈可以是任何形式的感觉反馈,例如视觉反馈、听觉反馈或触觉反馈;并且来自用户的输入可以任何形式,包括声学、语音或触觉输入接收。其它可能的输入装置包括触摸屏或其它触敏装置,例如单点或多点电阻式或电容式跟踪板、语音识别硬件和软件、光学扫描器、光学指针、数字图像捕获装置和相关联的解释软件等。

[0417] 在以上描述和权利要求书中,诸如“中的至少一者”或“中的一者或多者”之类的短语之前可以出现要素或特征的联合清单。术语“和/或”也可以出现在两个或更多个要素或特征的清单中。除非与在其中使用这种短语的上下文隐含或明确地矛盾,否则这种短语旨在表示单独列出的任何要素或特征,或者与任何其他所列举的要素或特征组合的任何所列举的要素或特征。例如,短语“A和B中的至少一者”、“A和B中的一者或多者”以及“A和/或B”各自旨在表示“单独的A、单独的B,或者A和B一起”。类似的解释也旨在用于包括三个或更多个项目的清单。例如,短语“A、B和C中的至少一者”、“A、B和C中的一者或多者”以及“A、B和/或C”各自旨在表示“单独的A、单独的B、单独的C、A和B一起、A和C一起、B和C一起,或者A和B和C一起”。上文和权利要求书中使用的术语“基于”旨在表示“至少部分地基于”,使得未列举的特征或要素也是允许的。

[0418] 根据期望的构造,本文描述的主题可以体现在系统、设备、方法和/或制品中。在上述说明中阐述的实施方式并不代表与本文描述的主题相符的所有实施方式。相反,它们仅仅是与所描述的主题相关的方面相符的一些实例。尽管上文已经详细描述了一些变化,但是其他的修改或添加也是可能的。特别地,除了本文阐述的那些特征和/或变化之外,还可以提供另外的特征和/或变化。例如,上文描述的实施方式可以涉及本发明所公开特征的各

种组合和子组合,以及/或者上文所公开的若干个其他特征的组合和子组合。此外,附图中描绘的和/或本文描述的逻辑流程不一定需要所示的特定顺序或连续顺序来实现期望的结果。其他实施方式可以在所附权利要求书的范围内。



夹层是在透化步骤期间组装的。引入透化溶液，将组织透化/消化，释放的转录物跨越间隙从组织扩散到 GEx 载片，并结合在加条形码的寡核苷酸上。该 IDF 描述了用于夹层形成的硬件。

图1

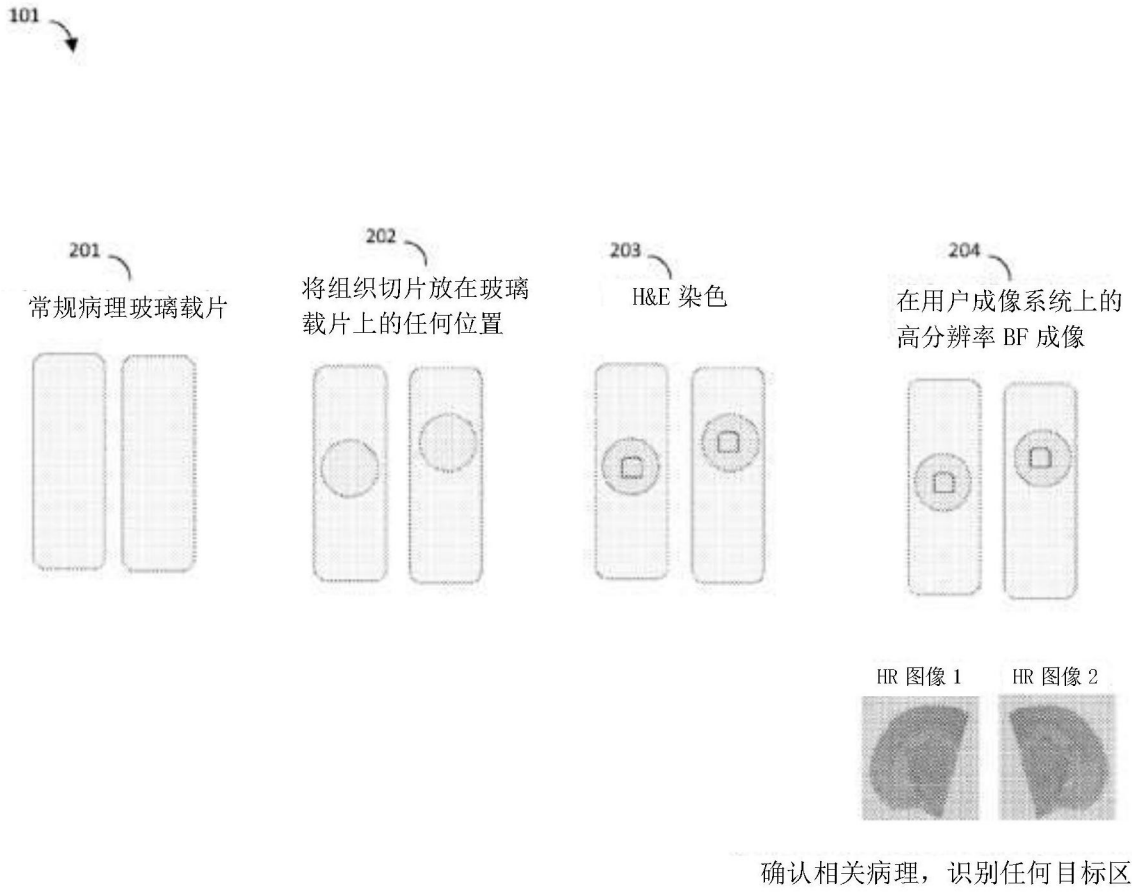


图2

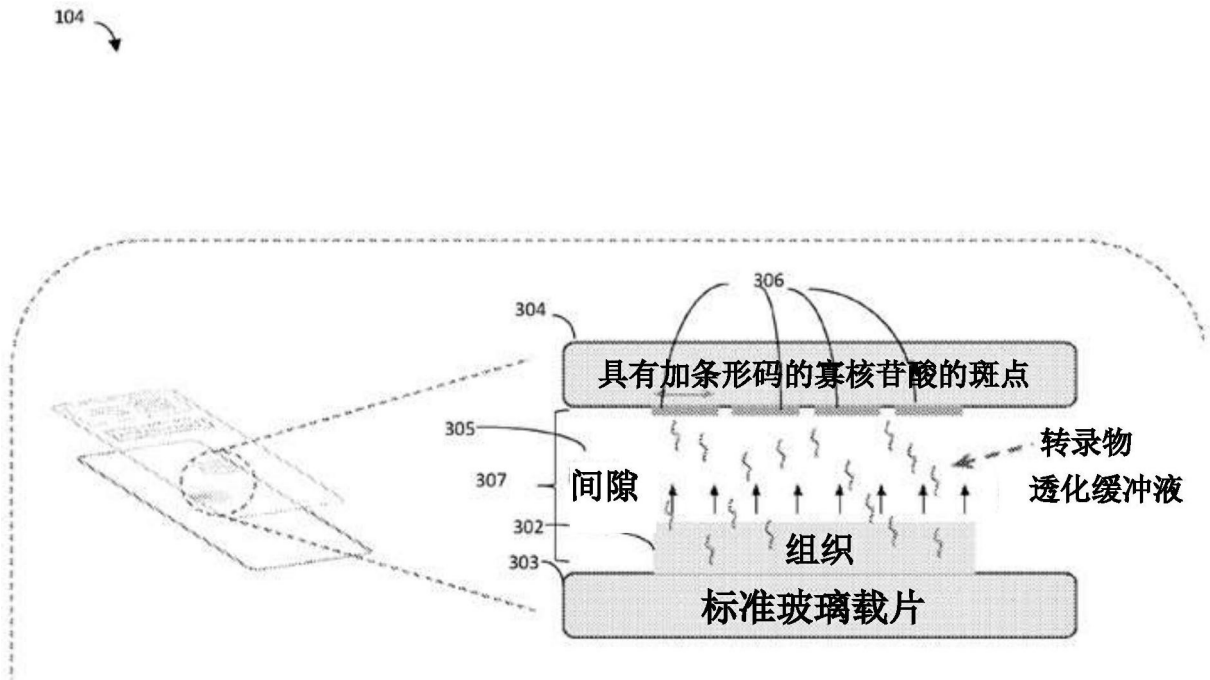


图3

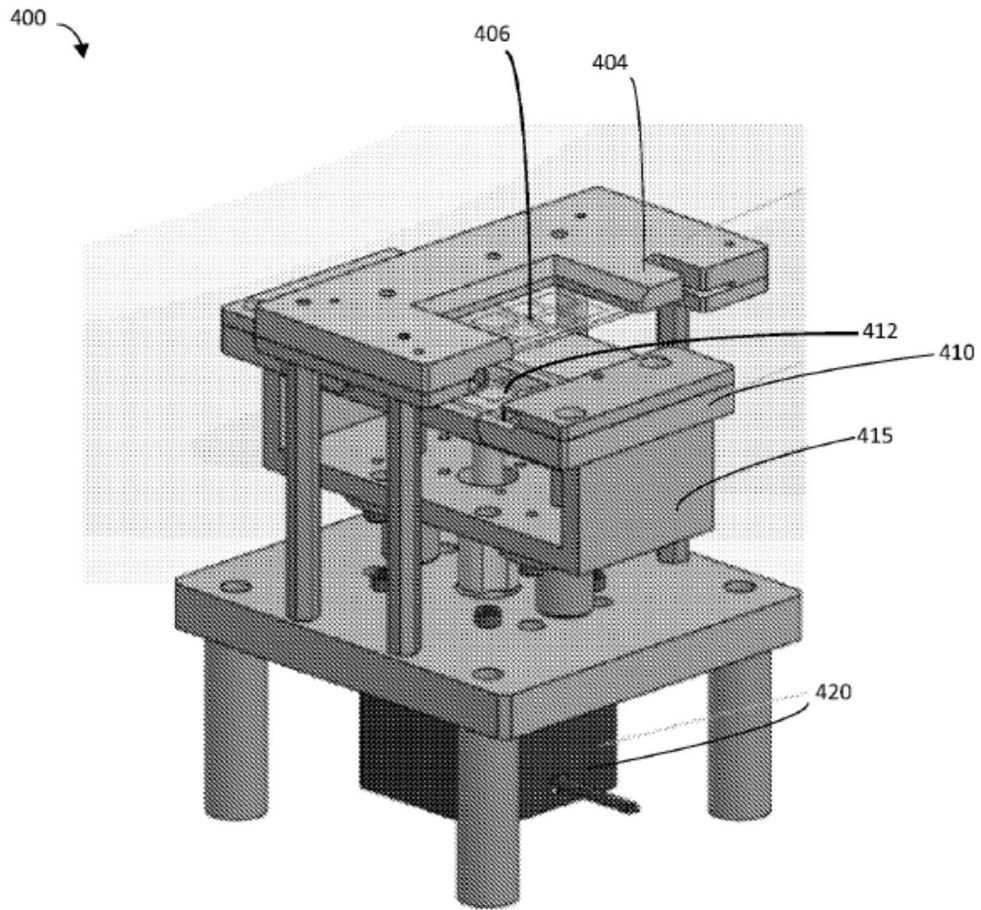


图4

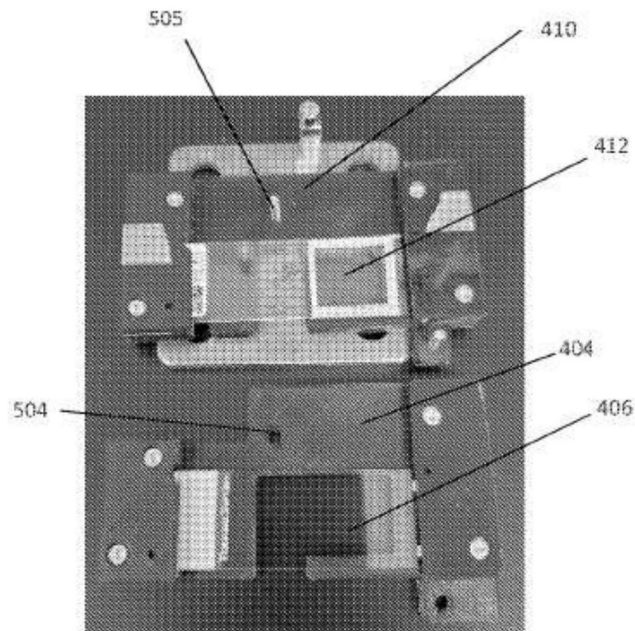


图5A

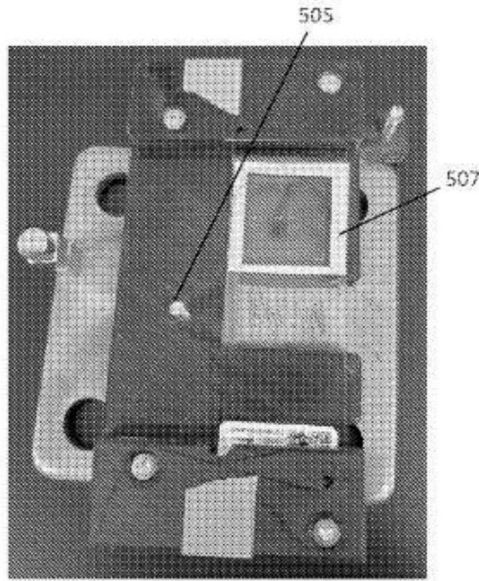


图5B

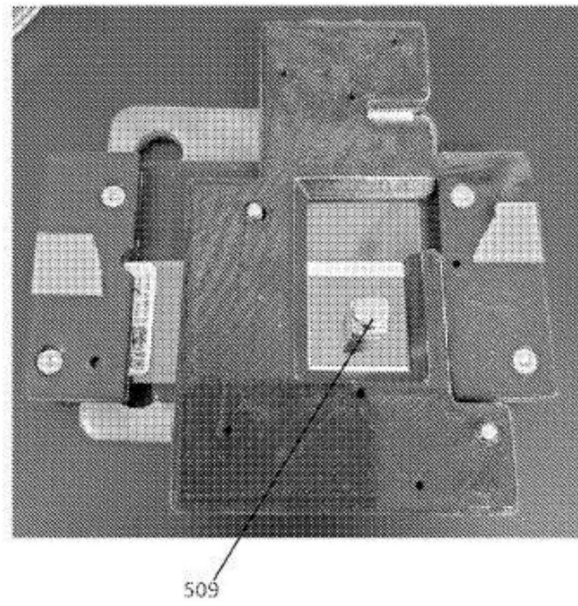


图5C

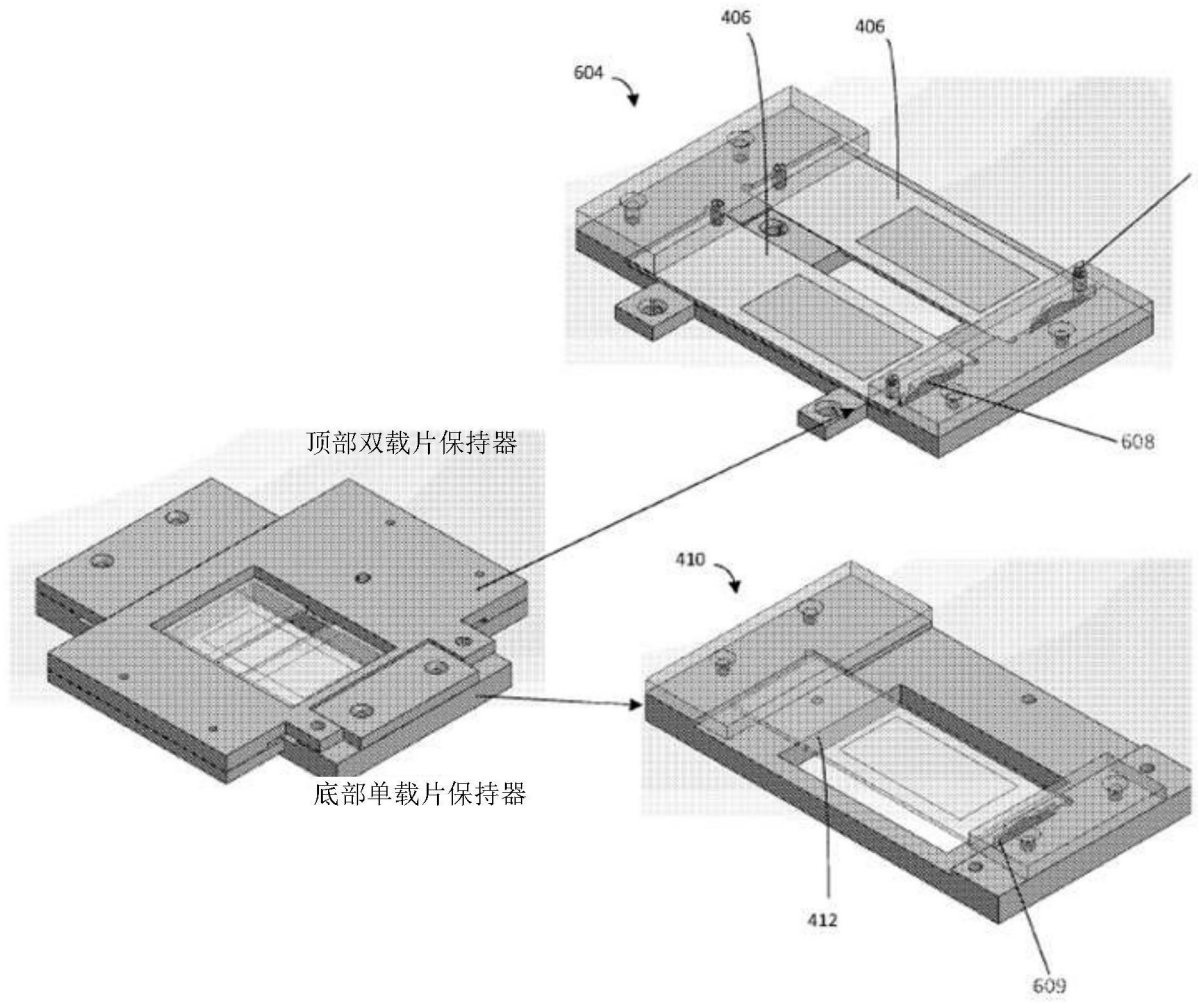


图6

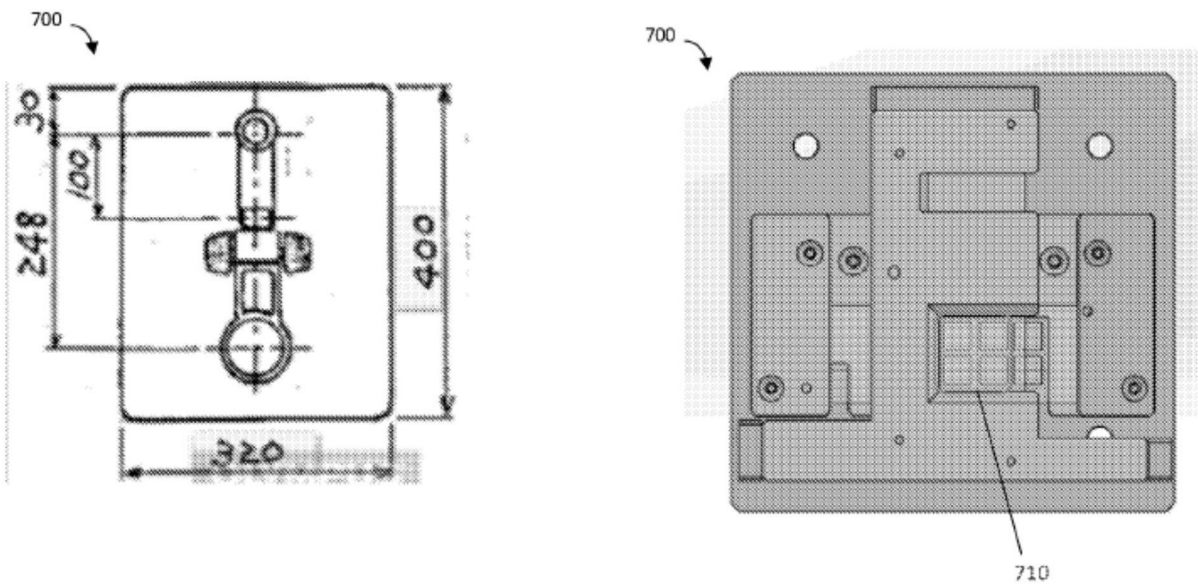


图7

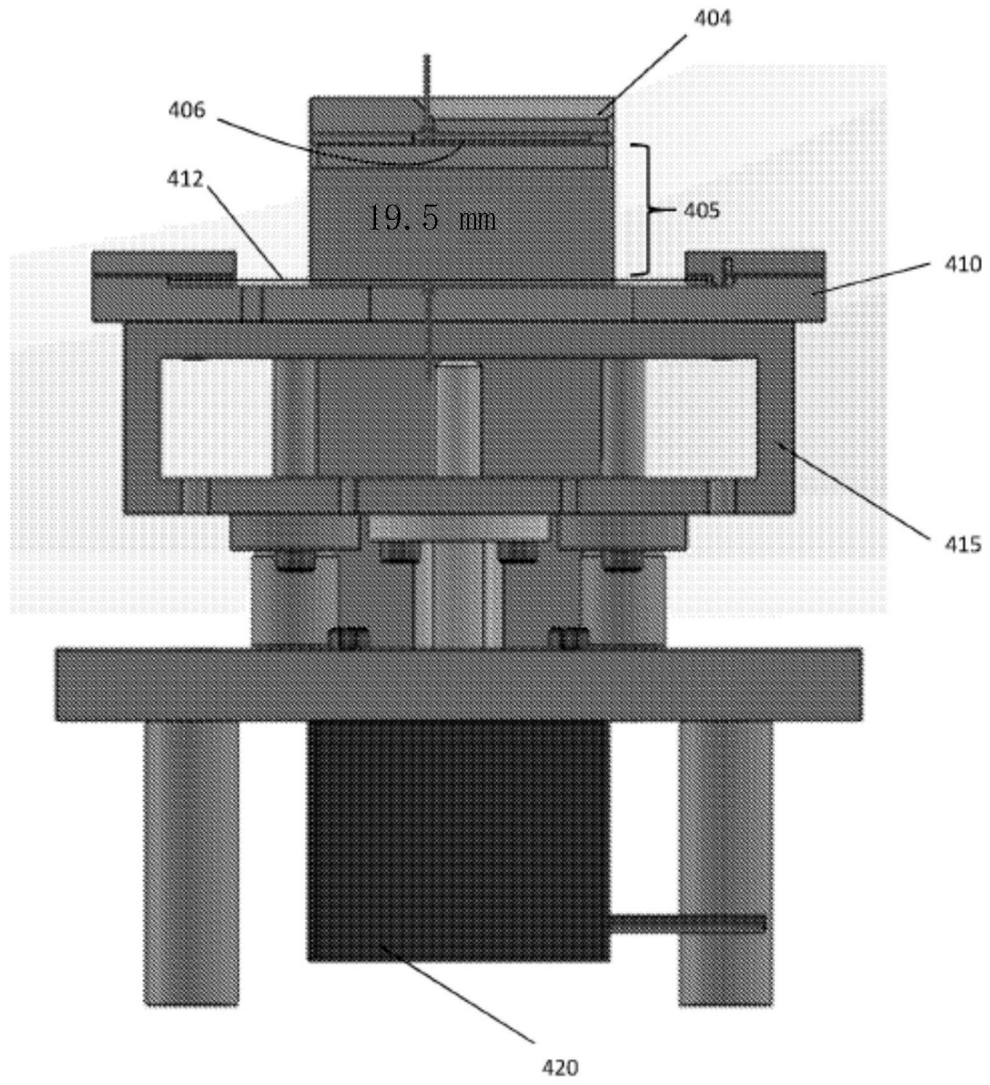


图8

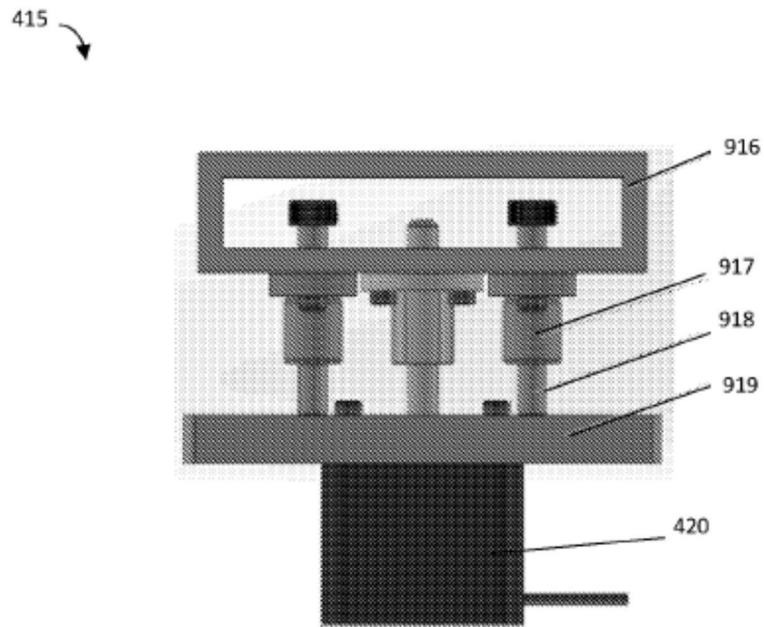


图9

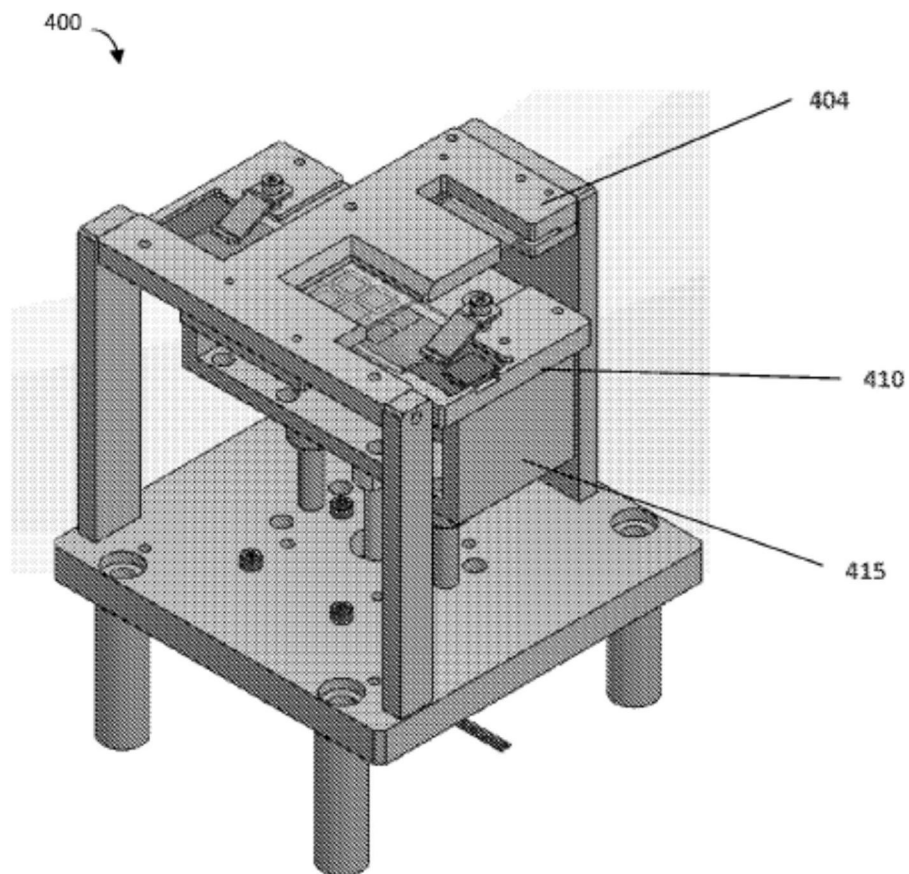


图10

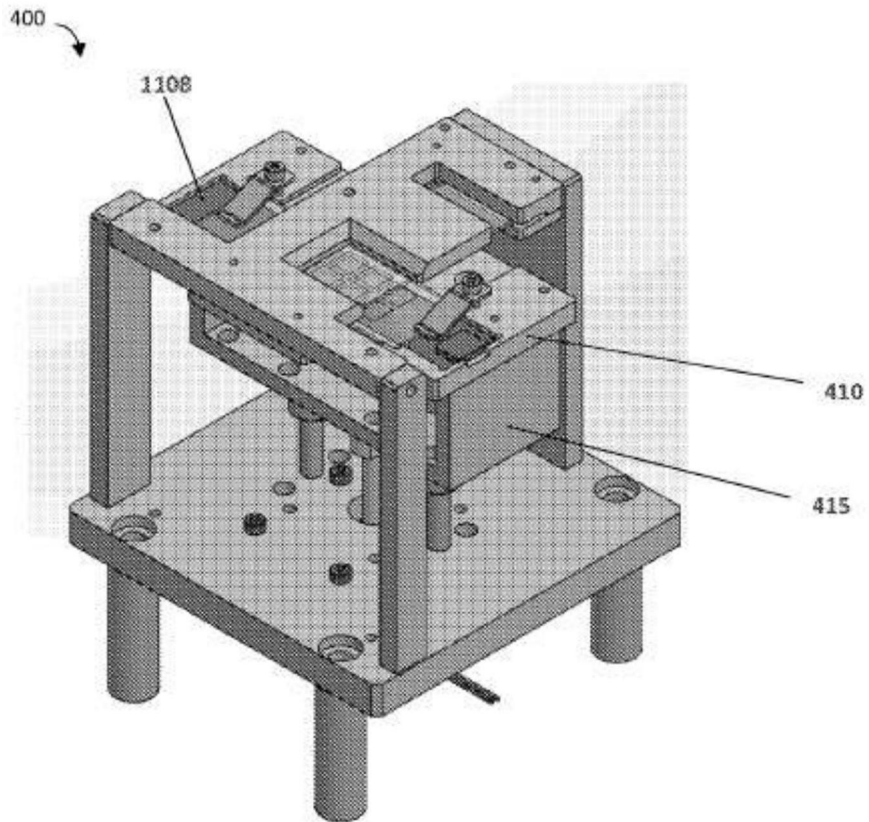


图11A

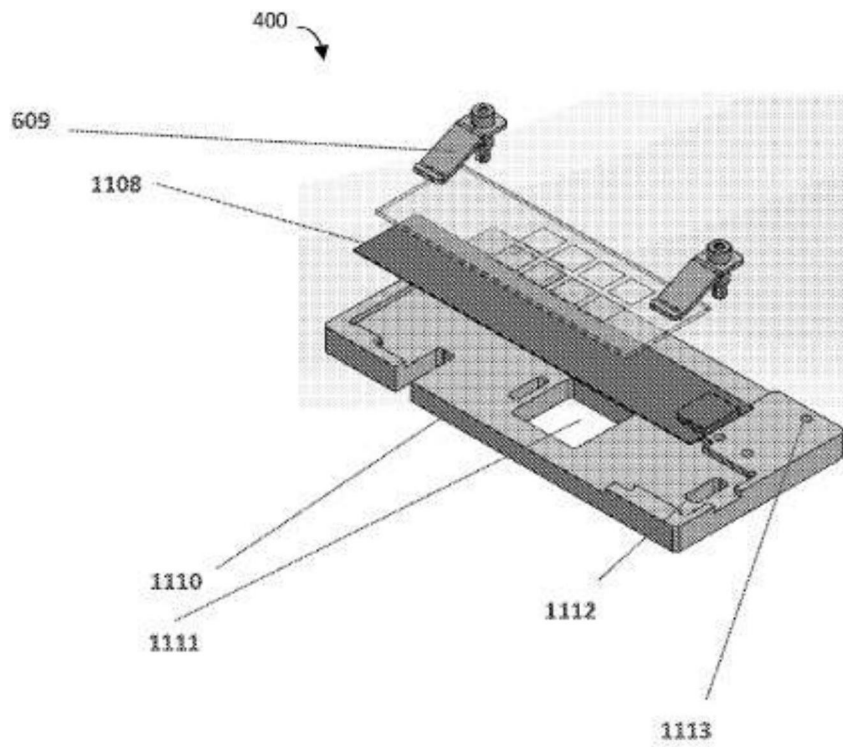


图11B

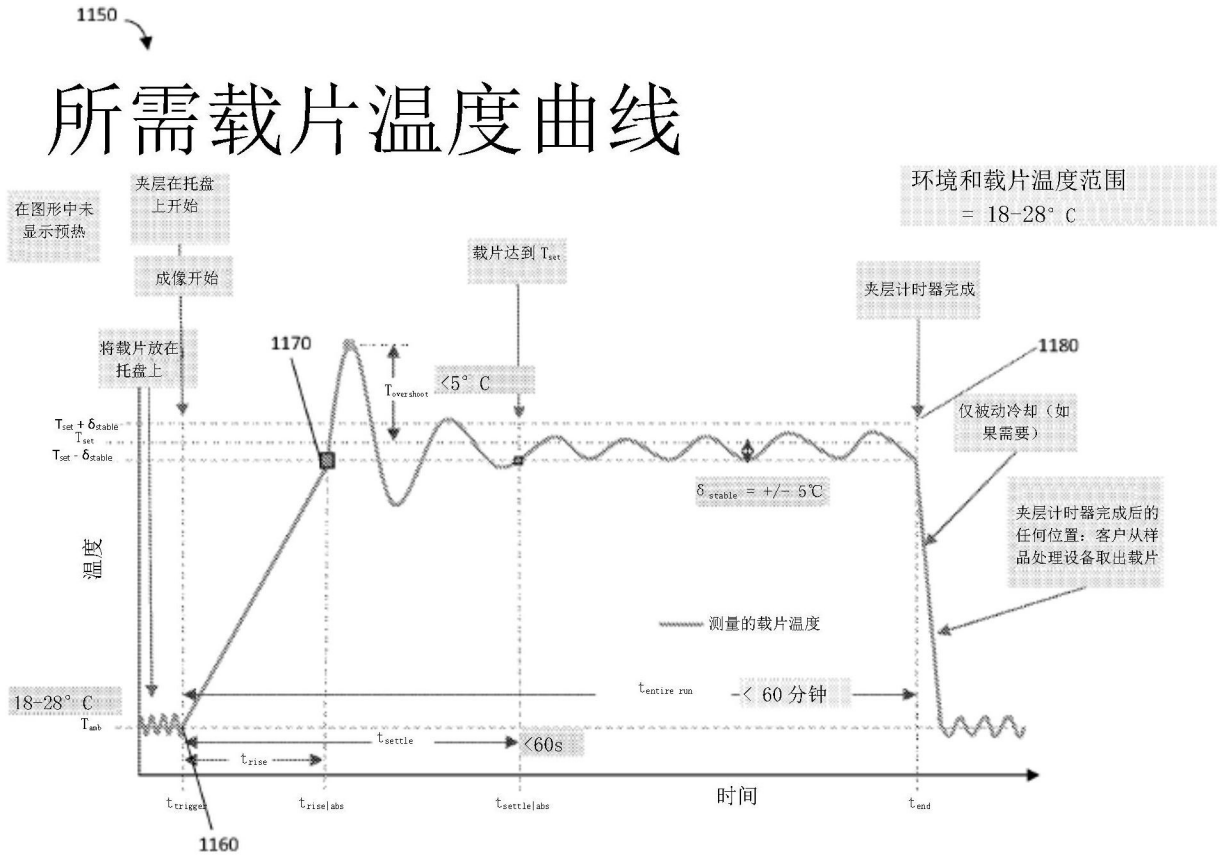


图11C

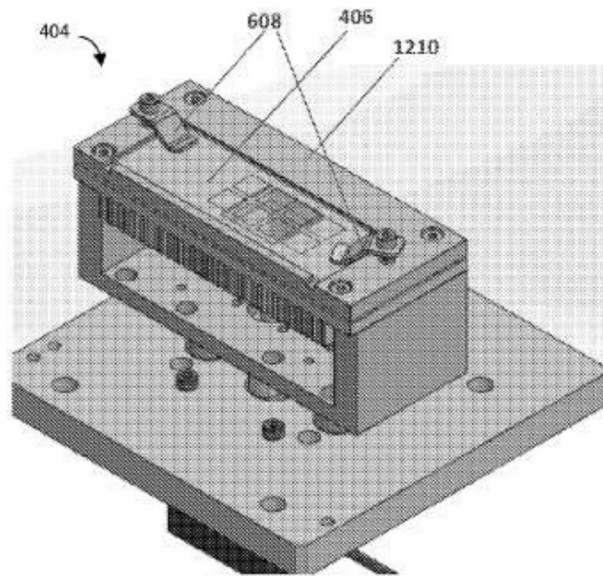


图12A

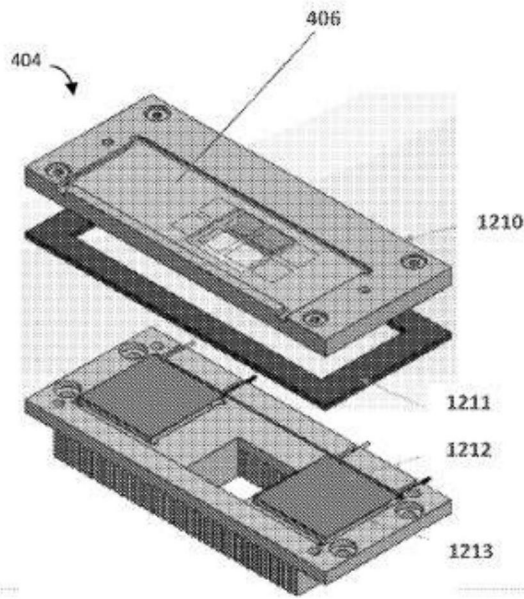


图12B

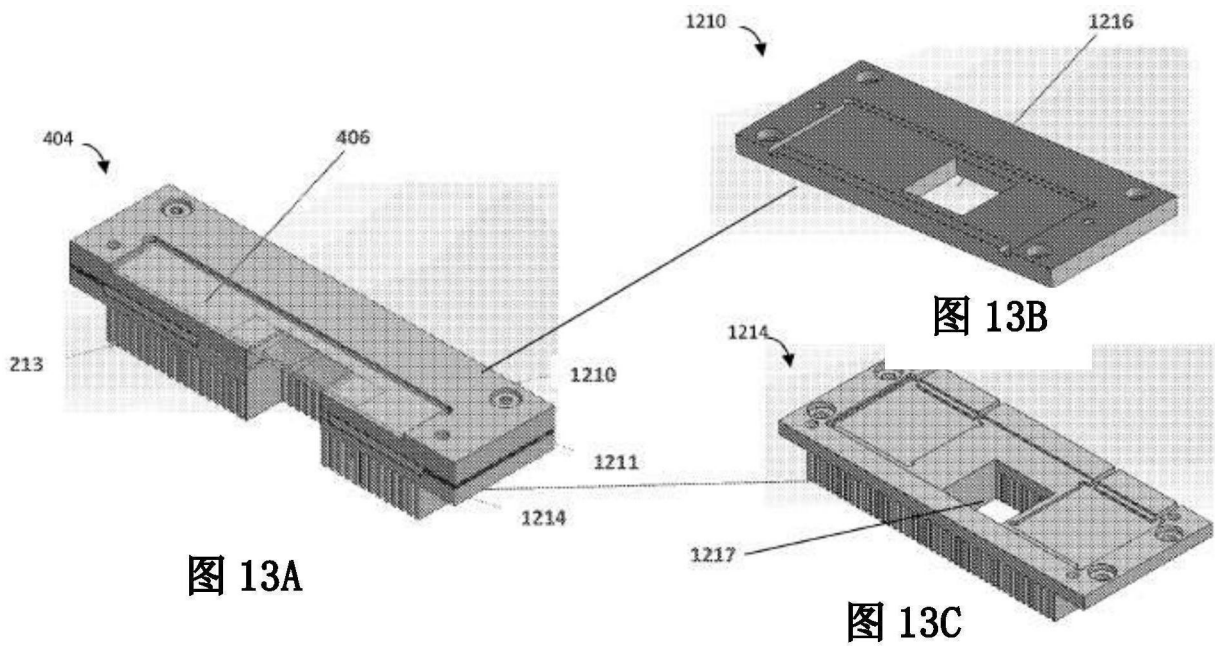


图 13A

图 13B

图 13C

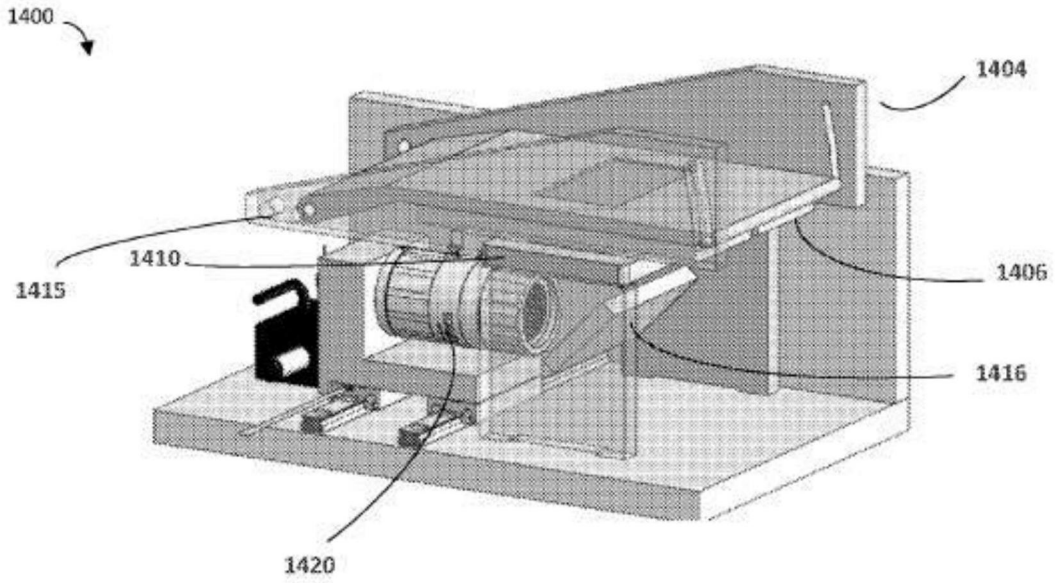


图14A

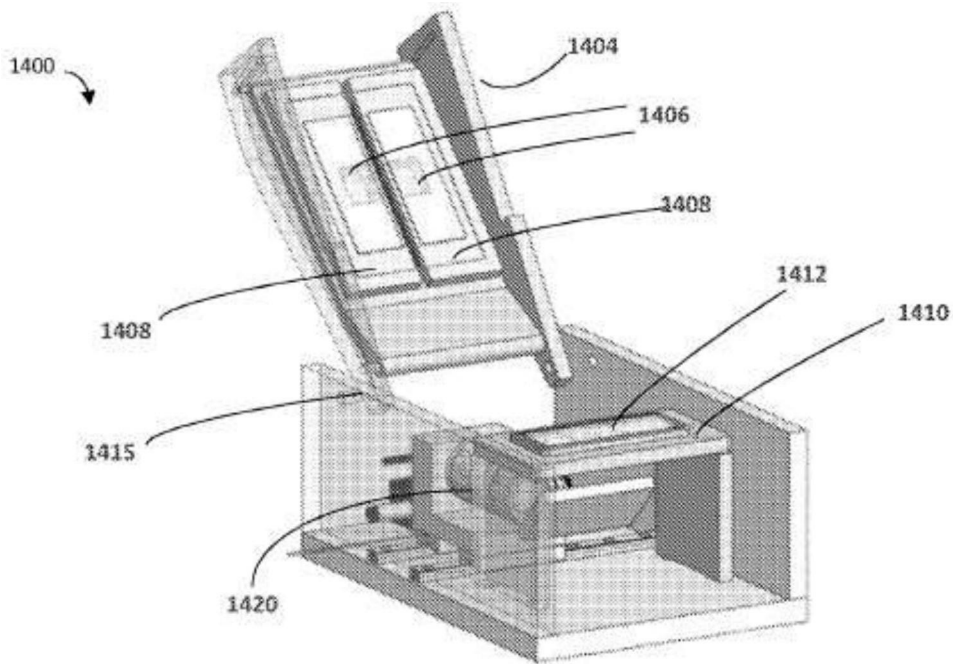


图14B

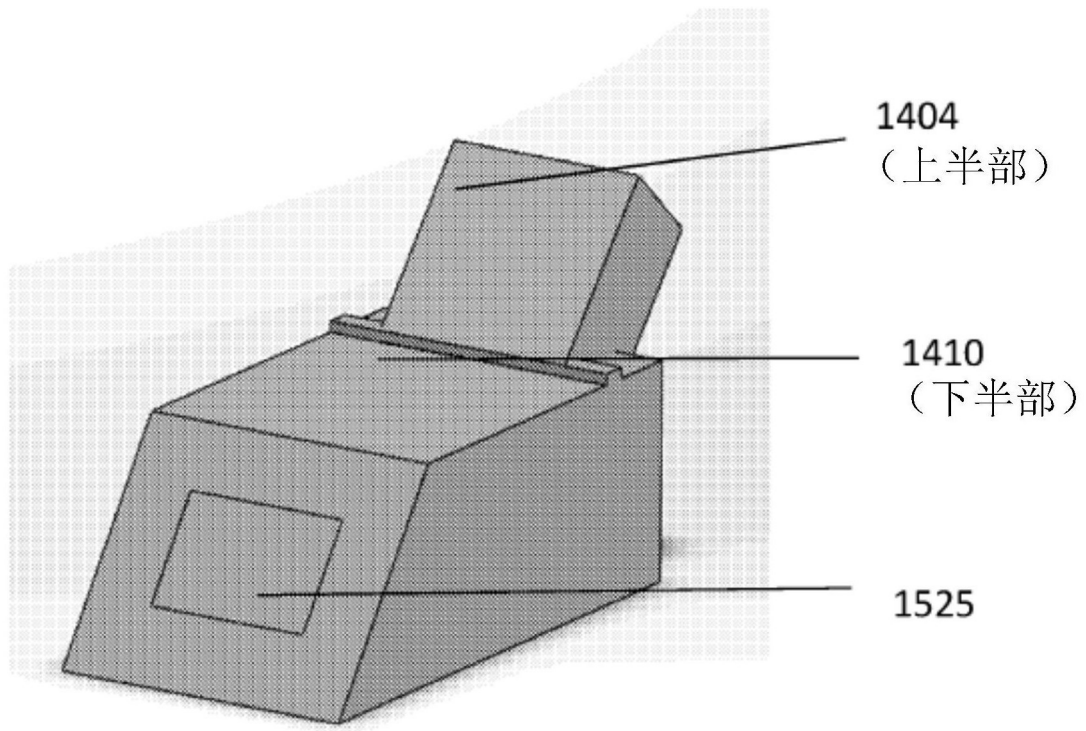


图15

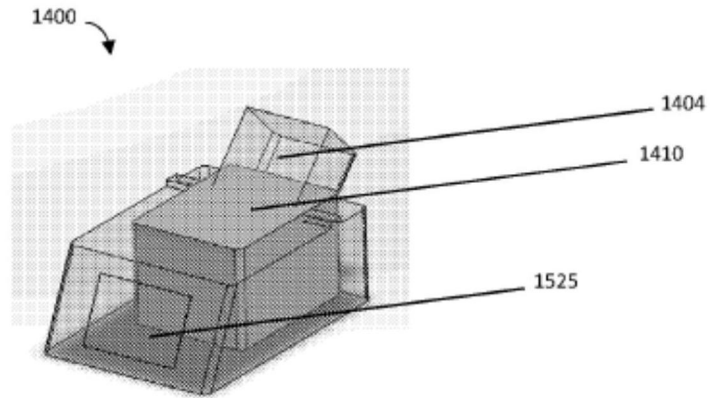


图16A

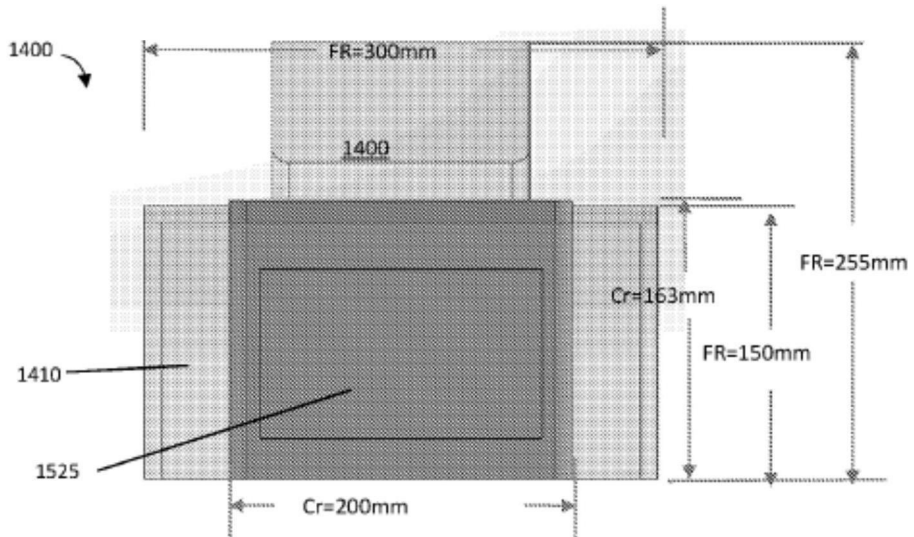


图16B

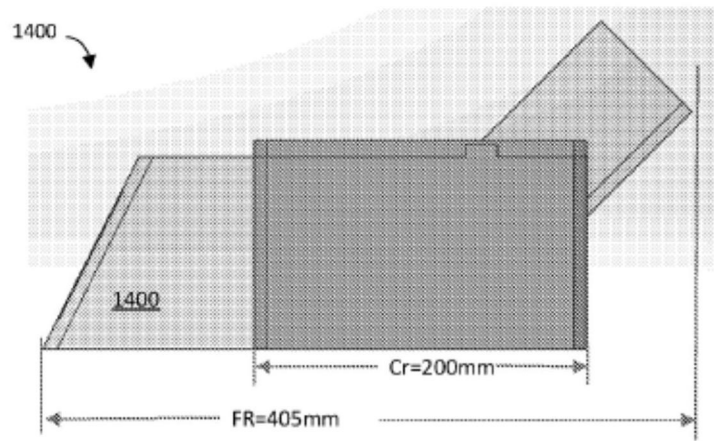


图16C

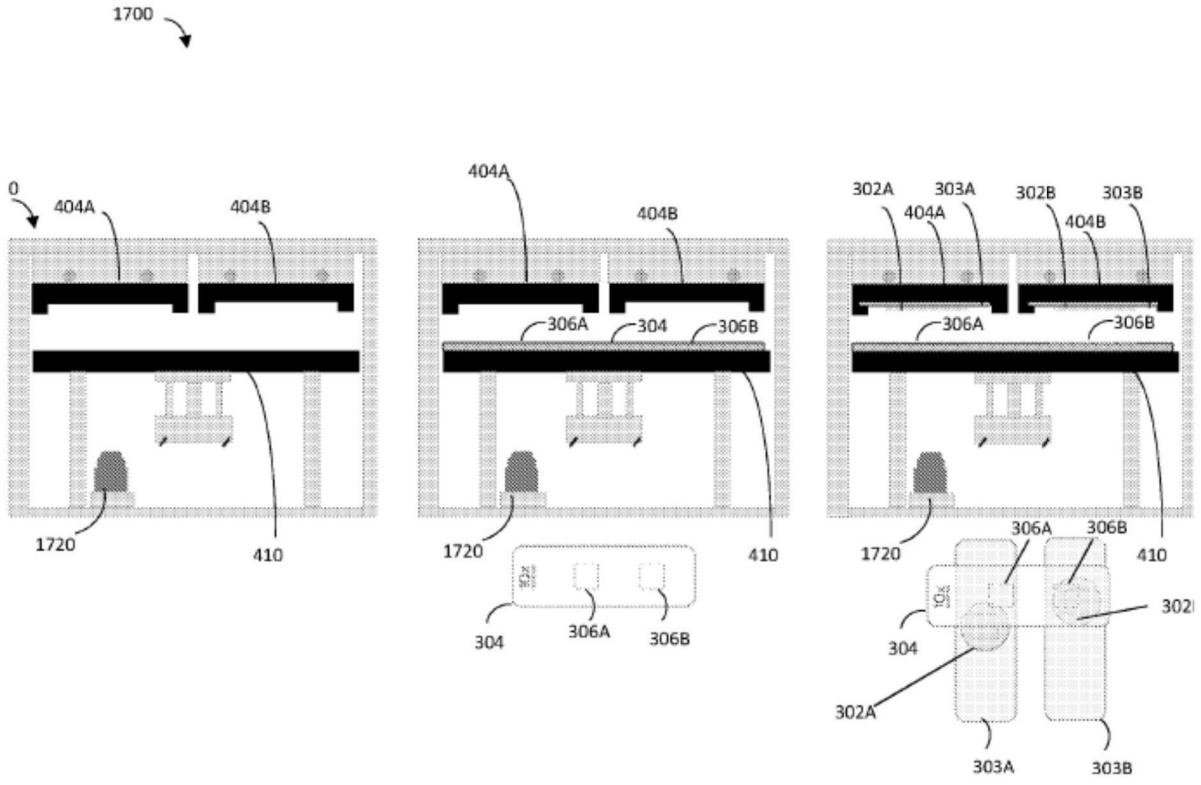


图 17A

图 17B

图 17C

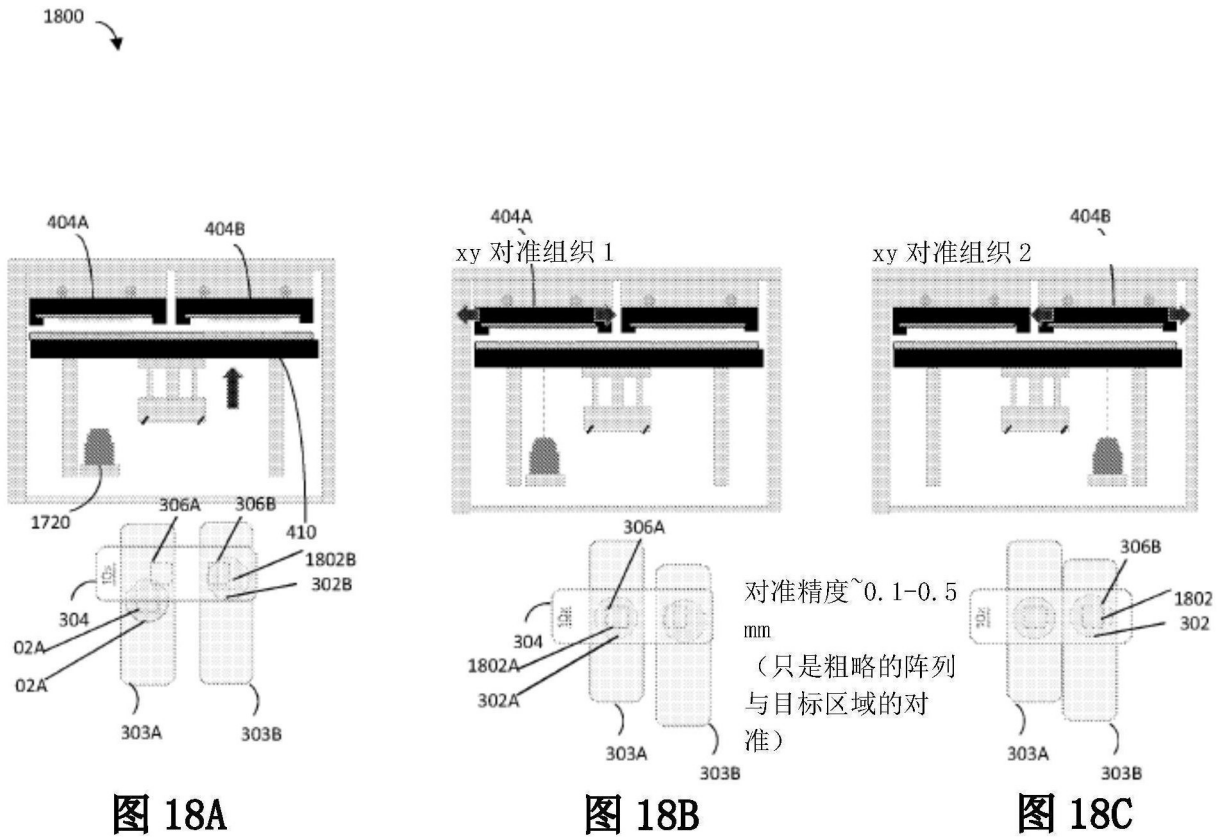


图 18A

图 18B

图 18C

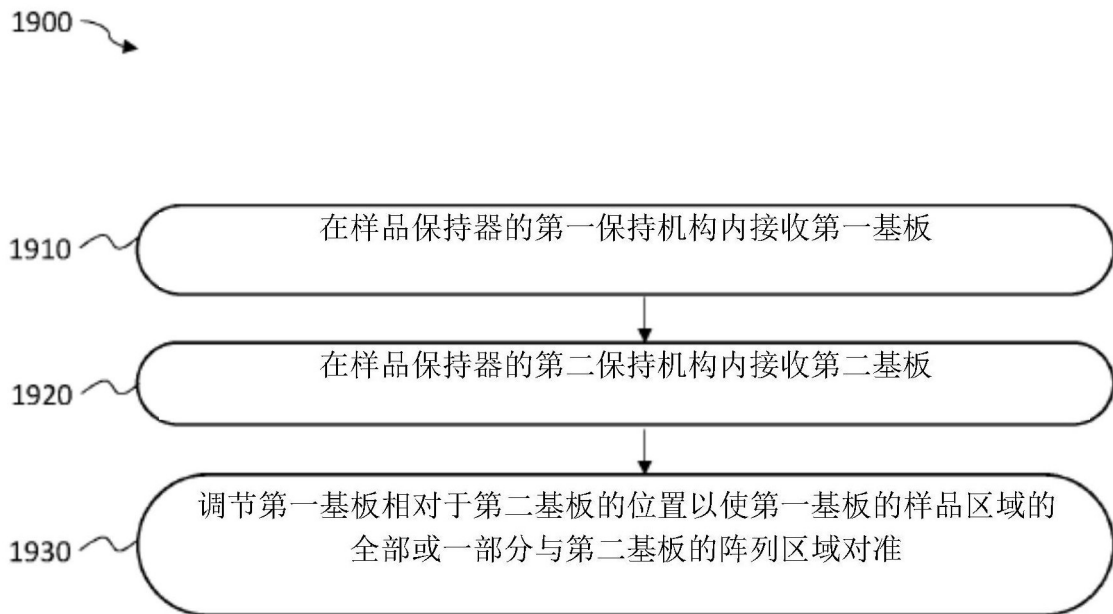


图19

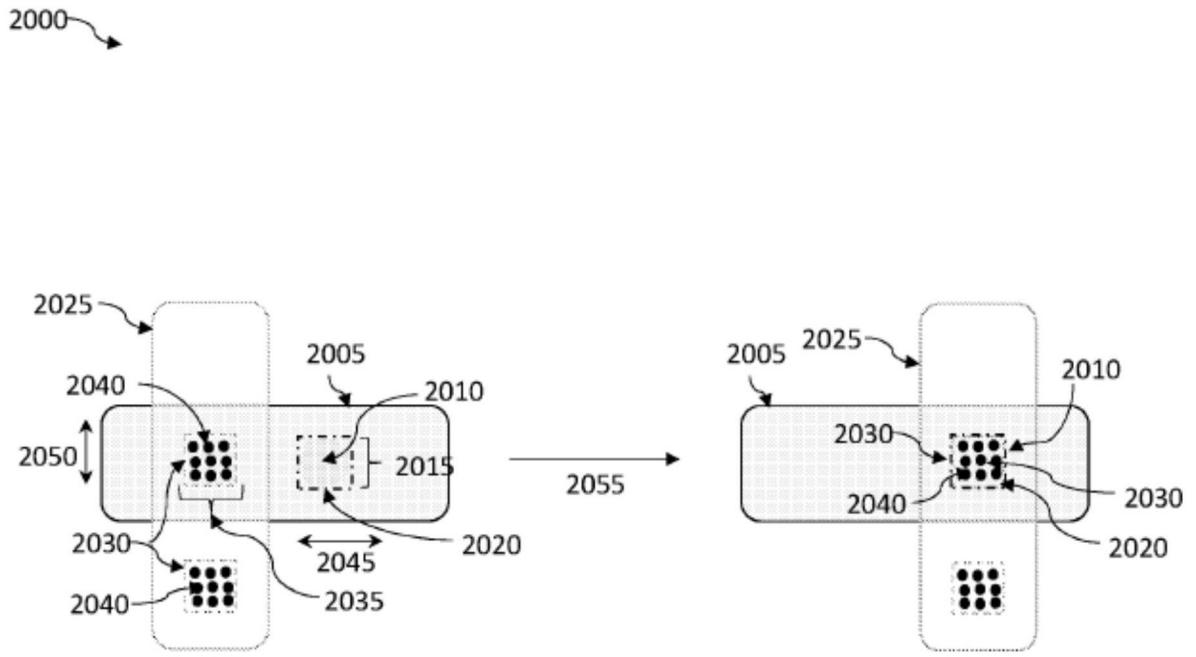


图20

2100

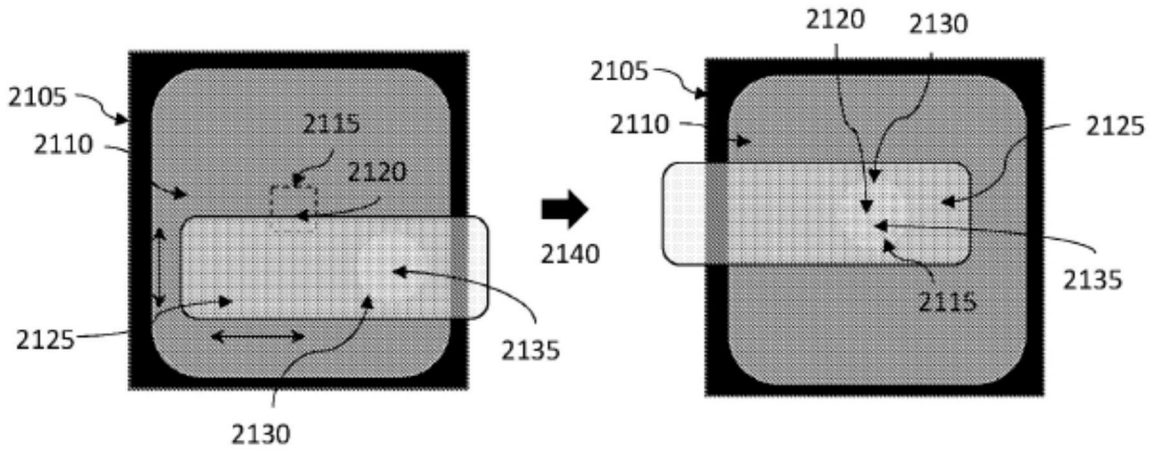


图 21A

图 21B

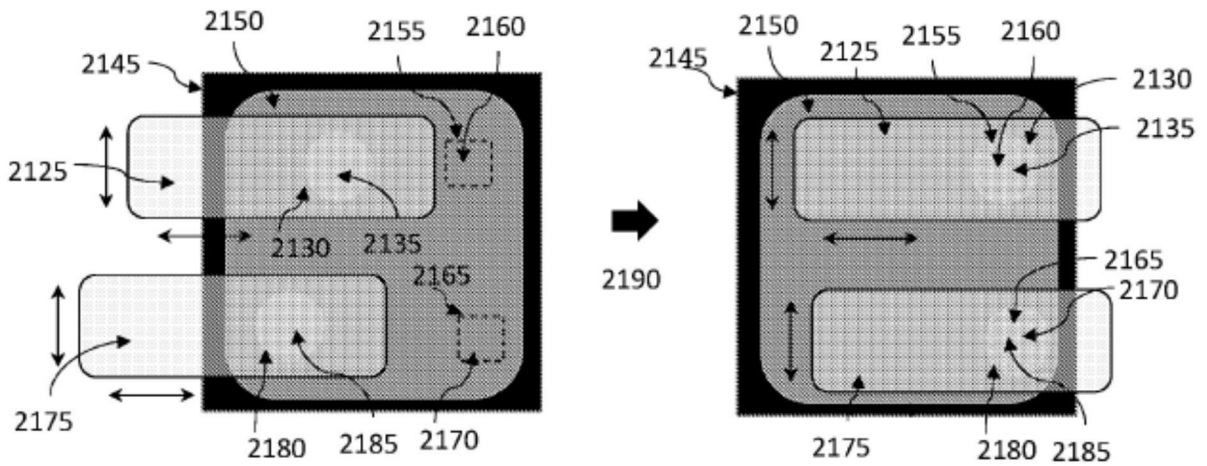


图 21C

图 21D

2200

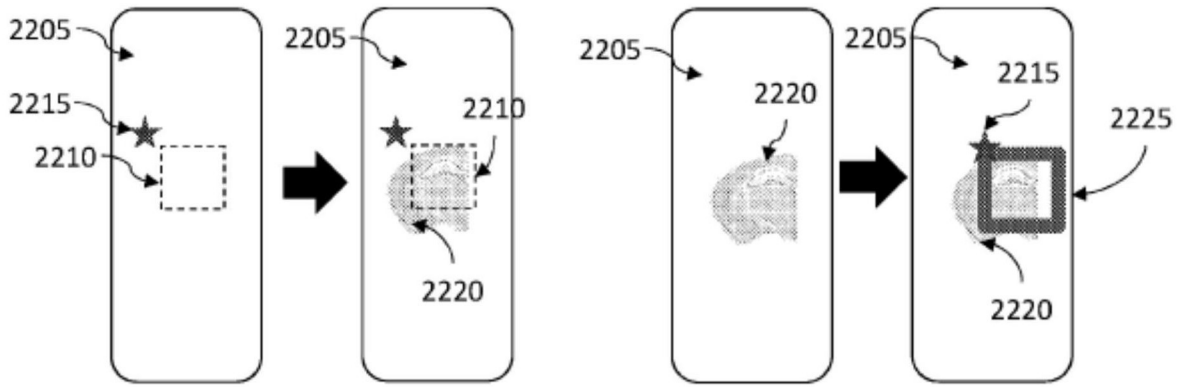


图 22A

图 22B

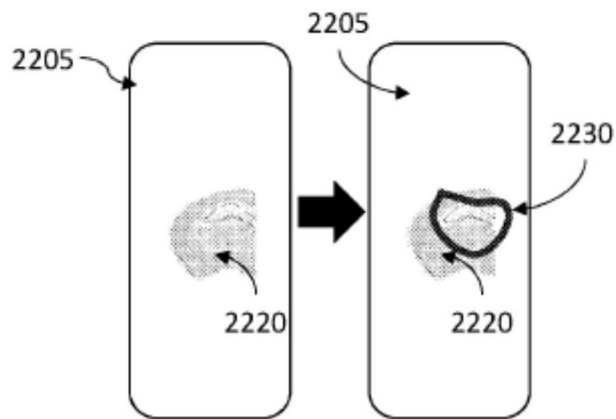


图 22C

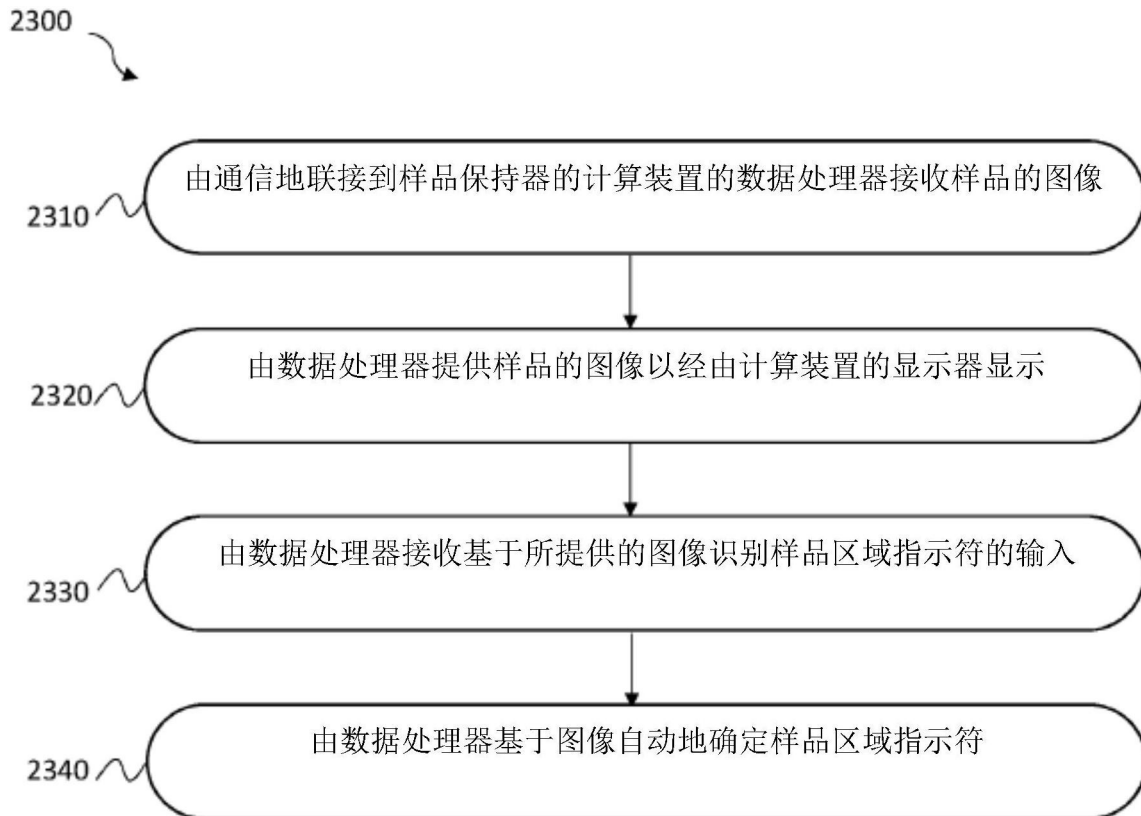


图23

2400

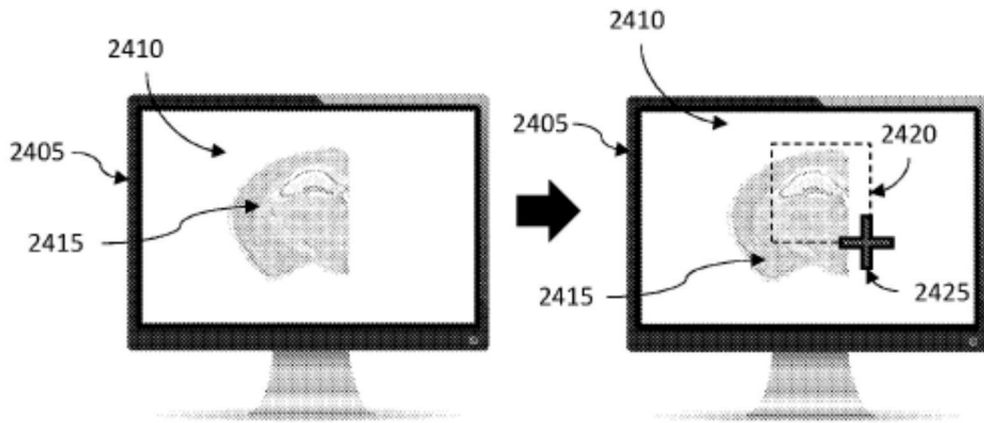


图 24A

图 24B

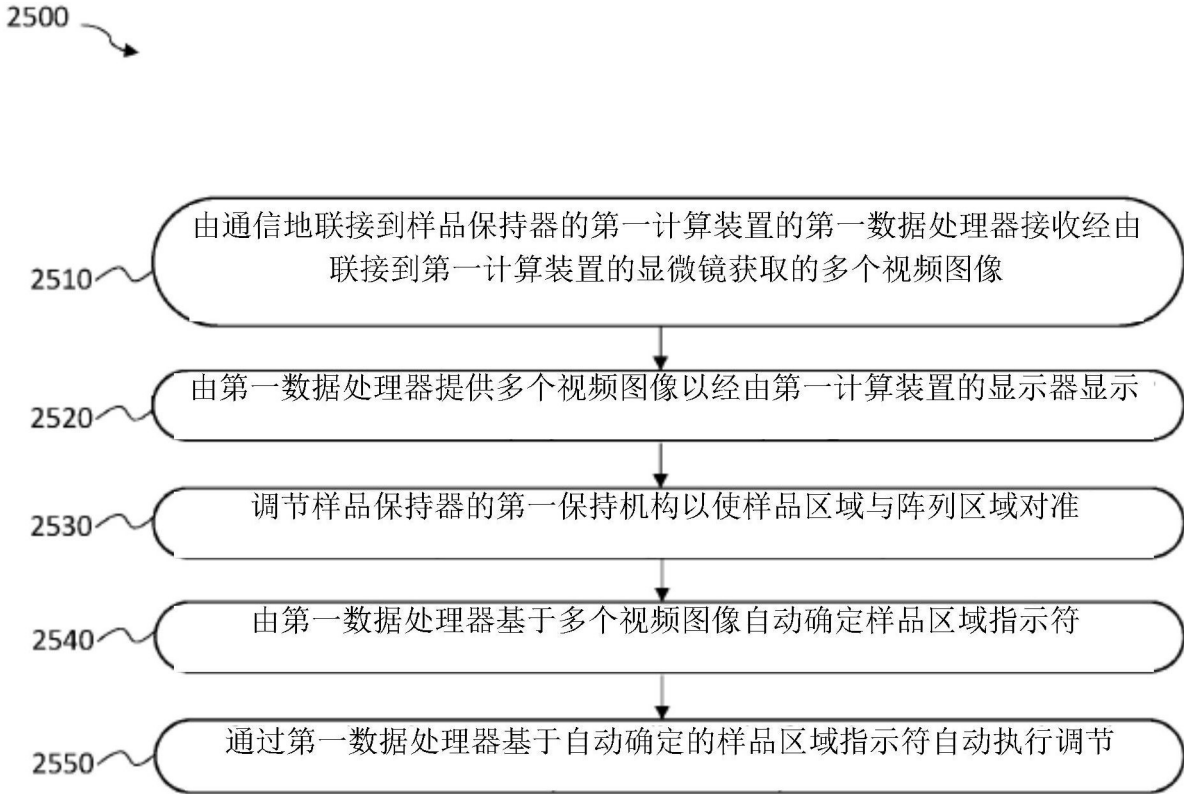


图25

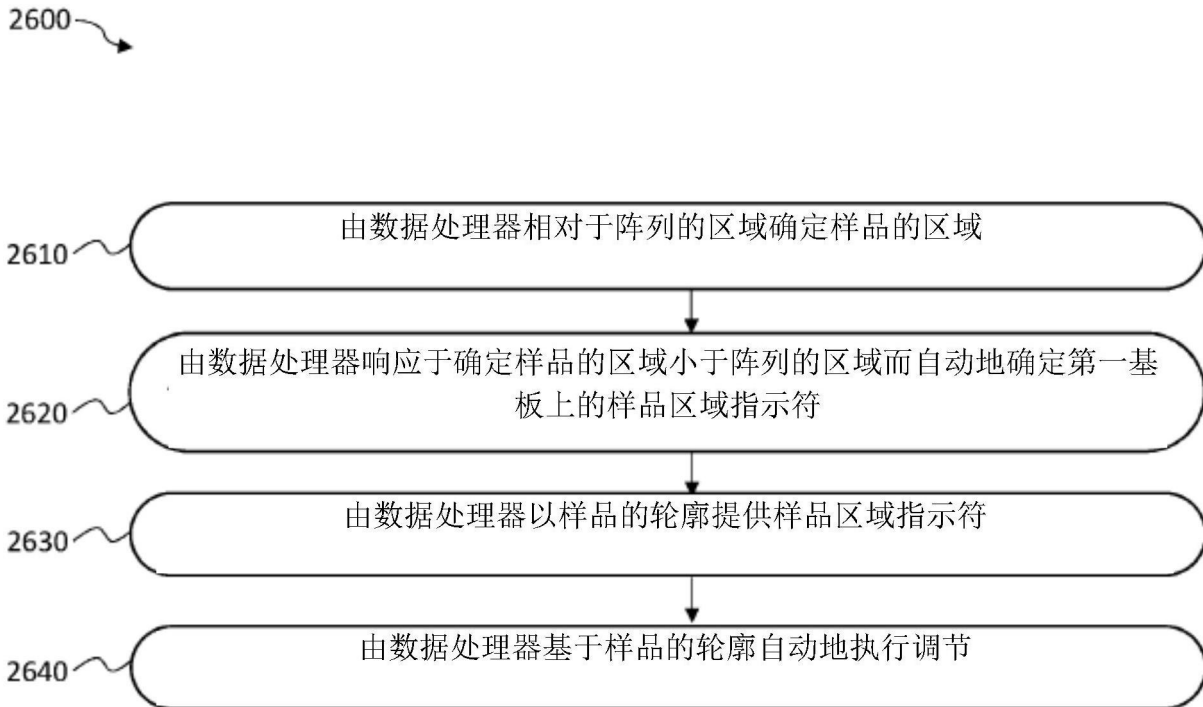


图26

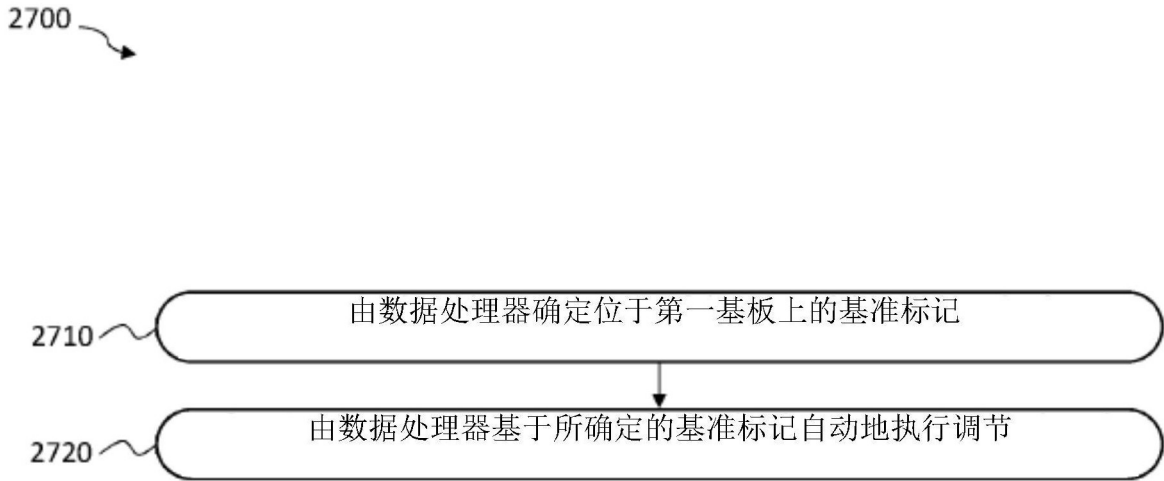


图27

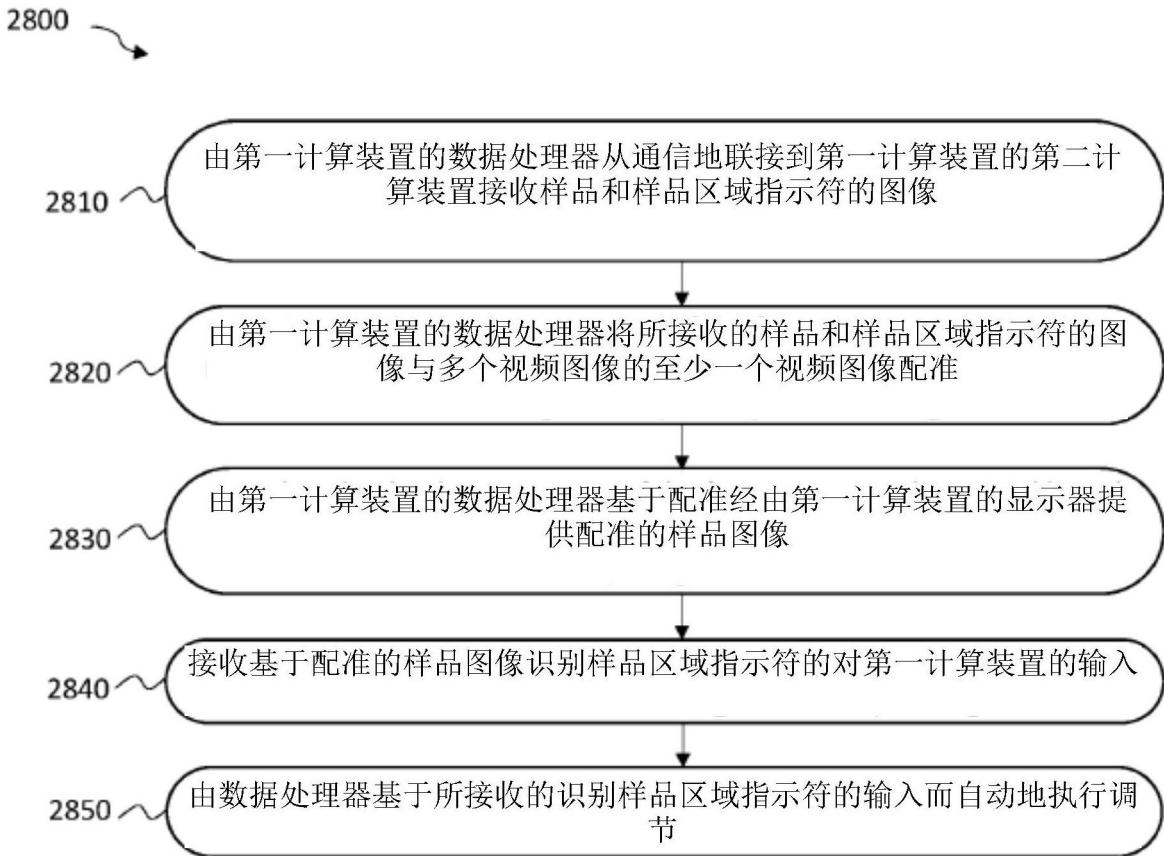


图28

2900

夹层化期间的透化

低位 GEx 载片

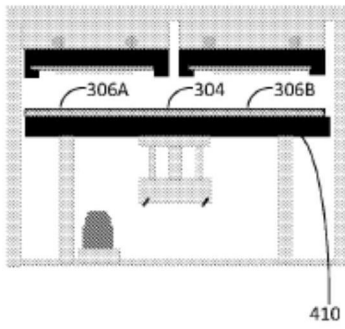


图 29A

用户手动分配透化溶液

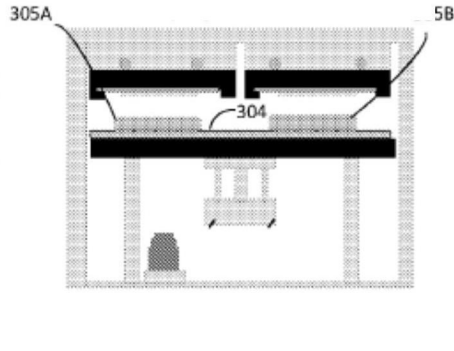


图 29B

形成夹层

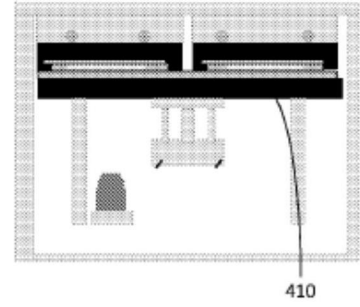


图 29C

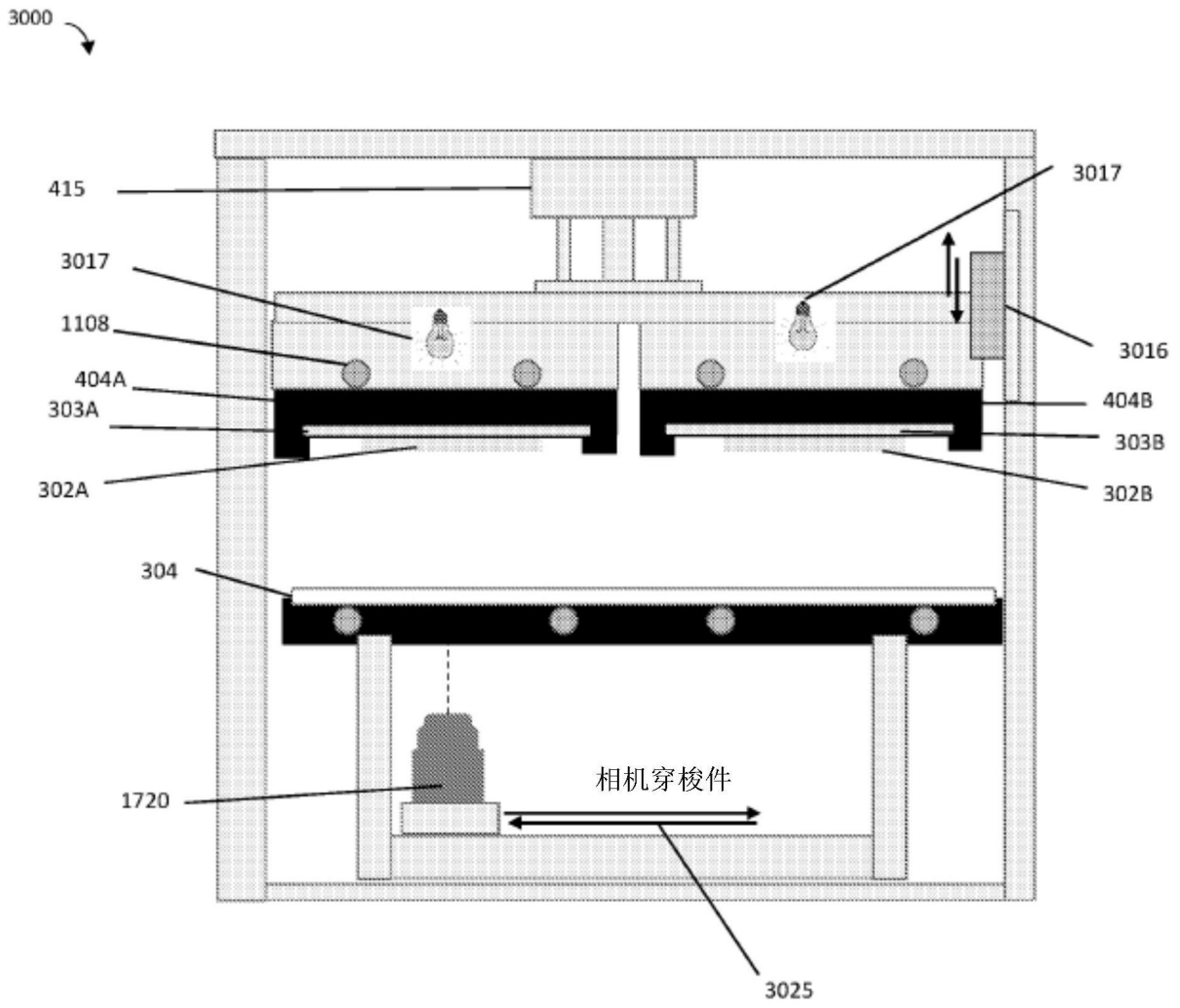
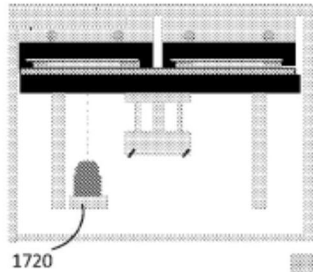


图30

3100

配准图像捕获 (在 1 分钟透化期间)

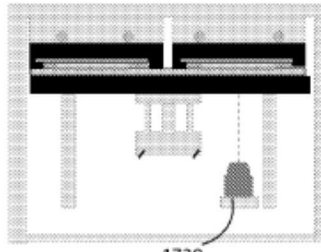
捕获配准图像#1



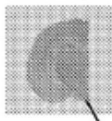
1720

对准精度 < 10 微米
需要记录 GEx 载片上的基
准与组织的对准

捕获配准图像#2

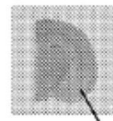


1720



配准图像 1

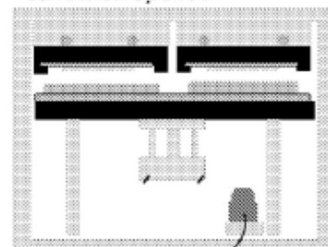
3121



配准图像 2

3122

夹层开启



1720

需要快速取出 GEx 载片以进行清洗或
将清洗液加载到仪器以进行清洗

图 31A

图 31B

图 31C

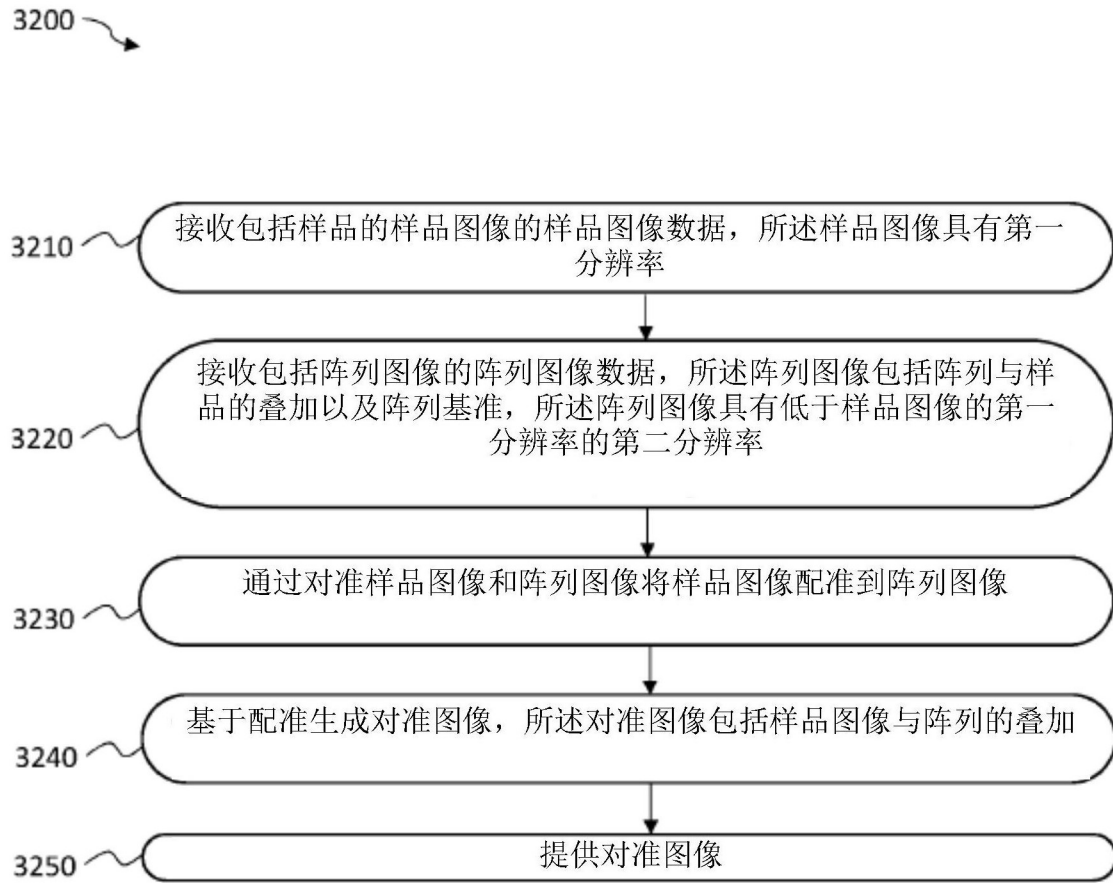
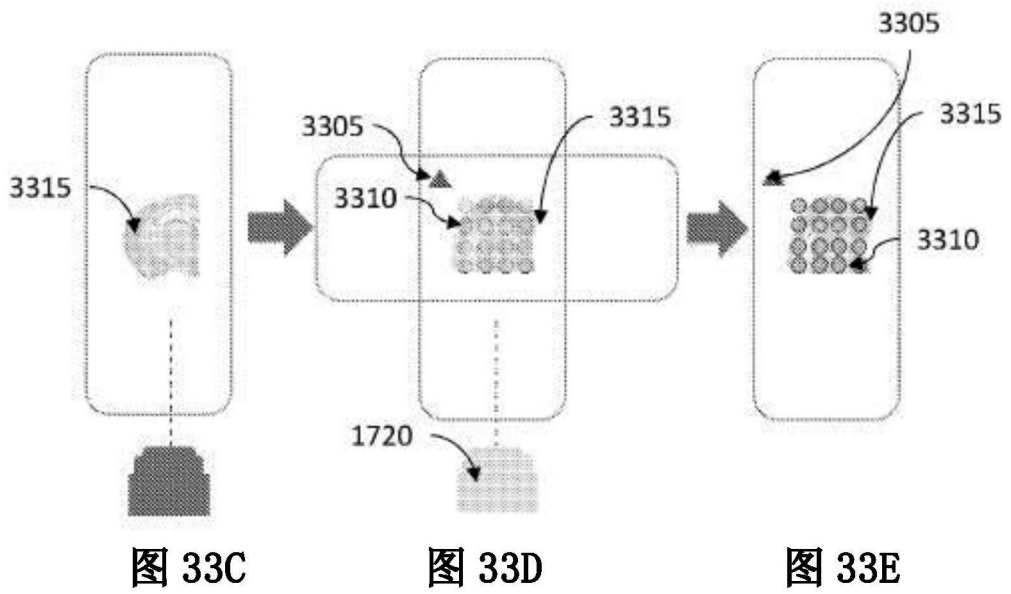
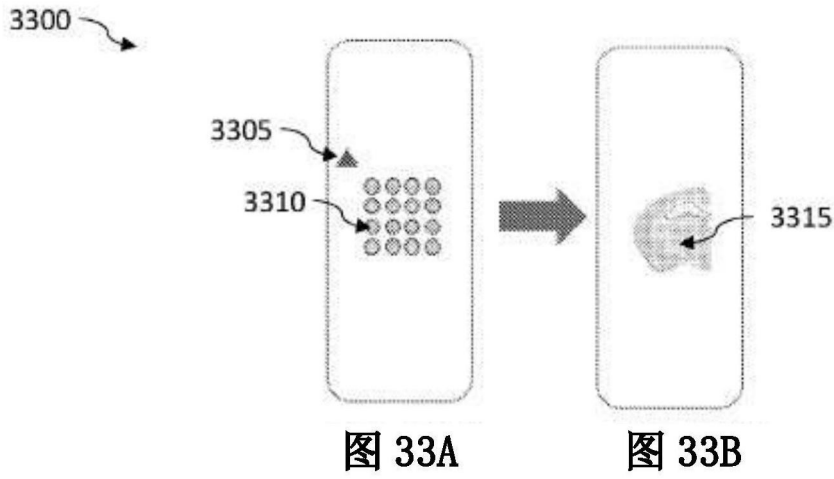


图32



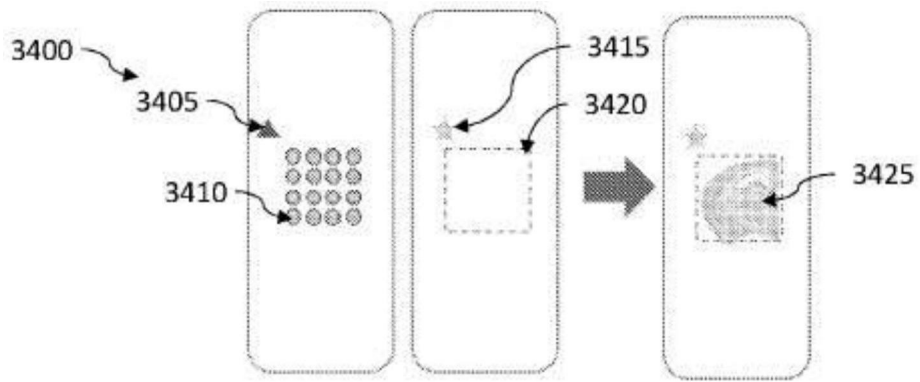


图 34A

图 34B

图 34C

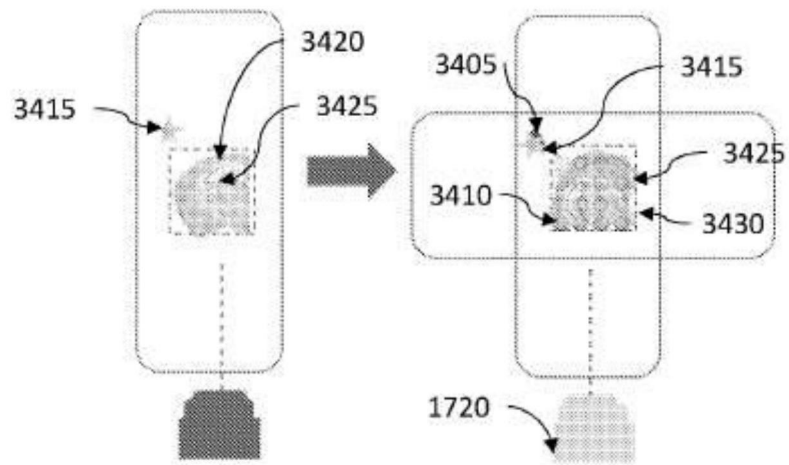
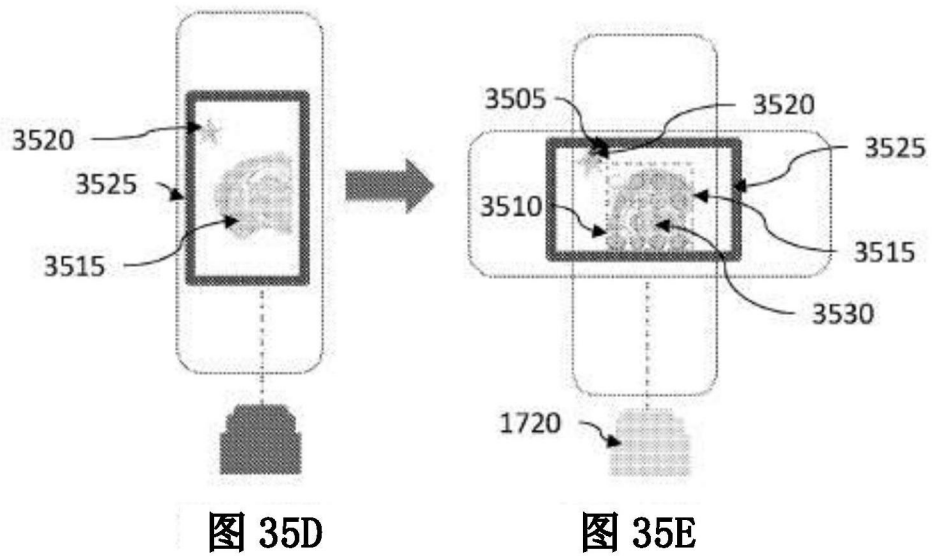
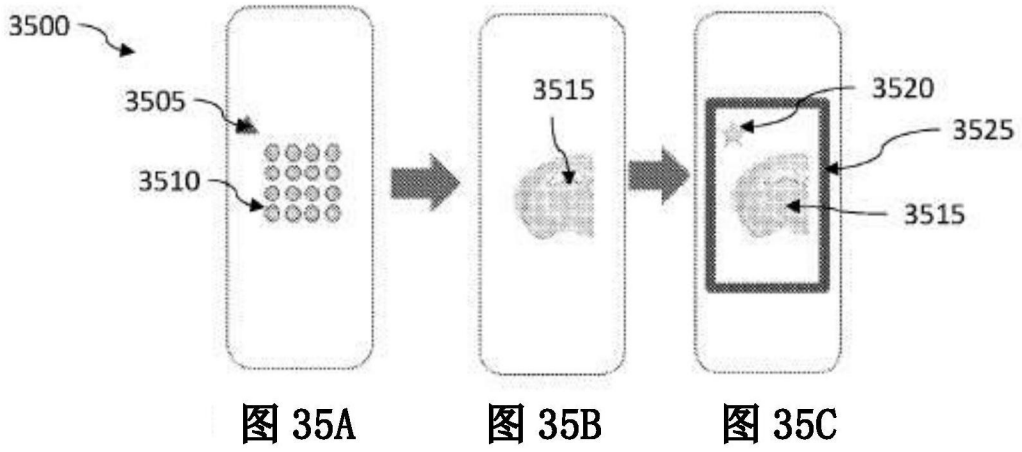


图 34D

图 34E



3600

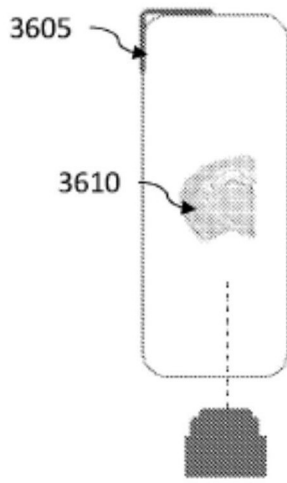


图 36A

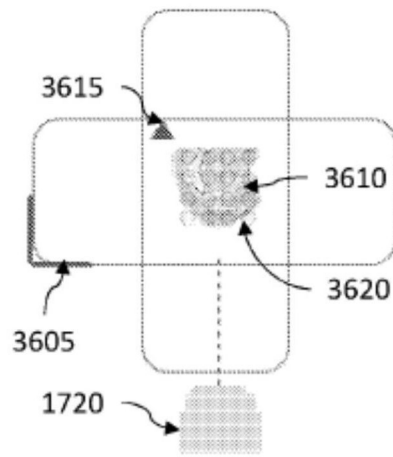


图 36B

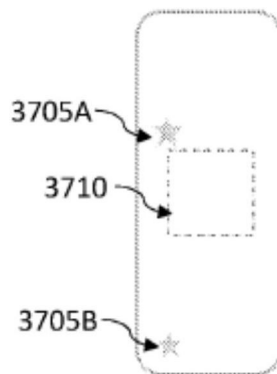


图37A

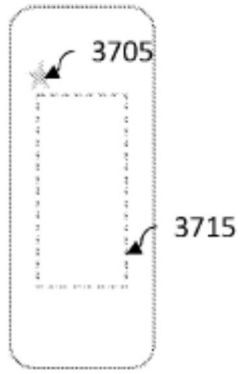


图37B

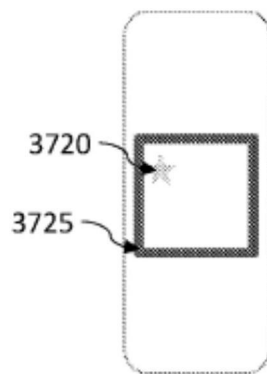


图37C

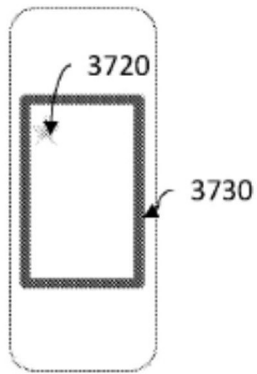


图37D

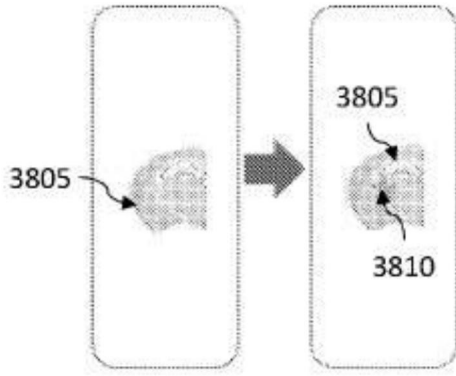


图 38A 图 38B

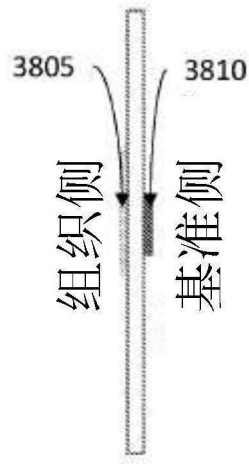


图38C

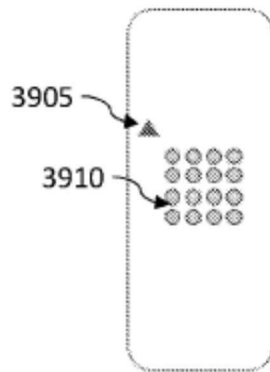


图39A

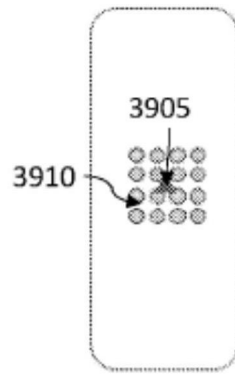


图39B

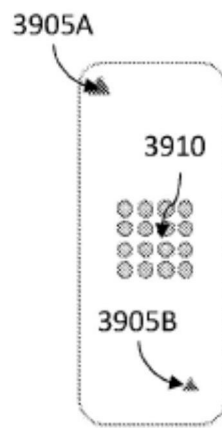


图39C

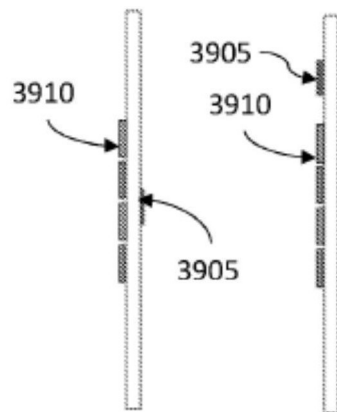


图 39D

图 39E

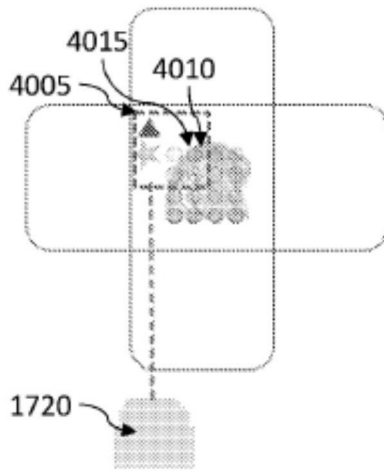


图40A

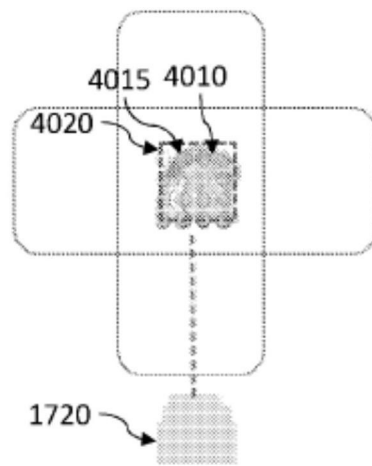


图40B

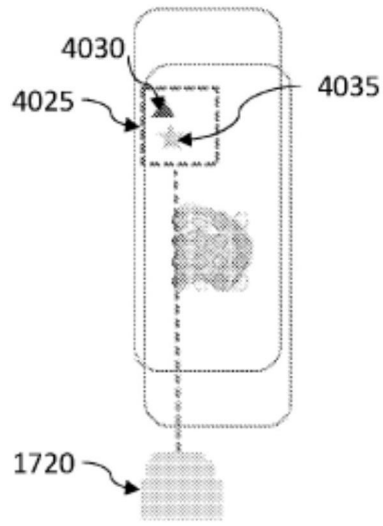


图40C

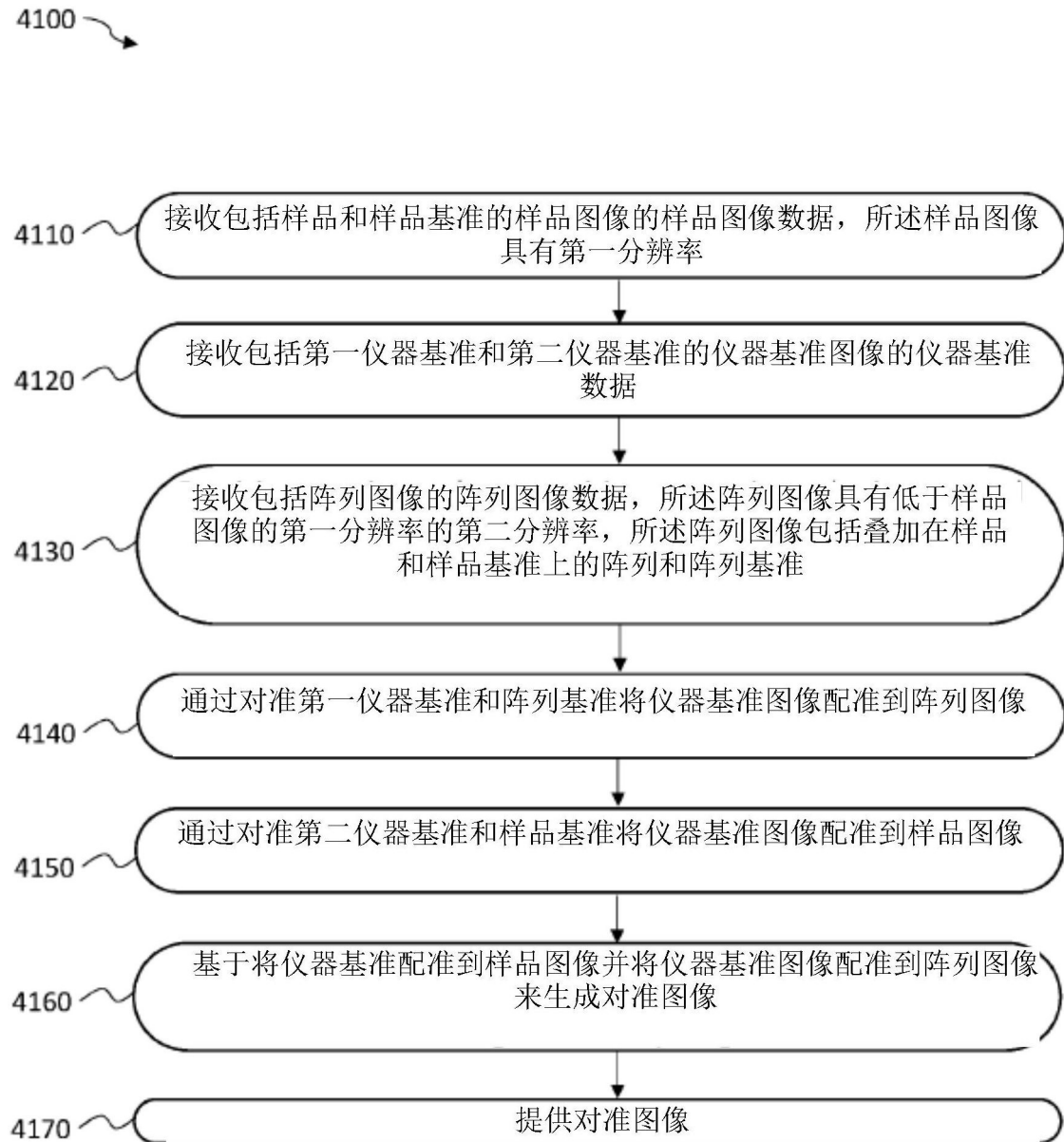


图41

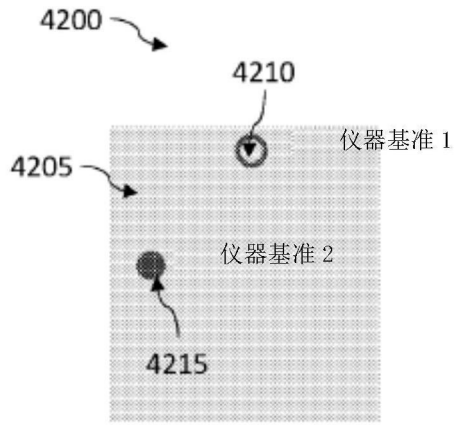


图 42A

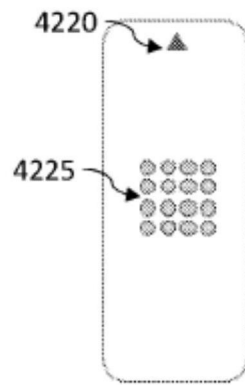


图 42B

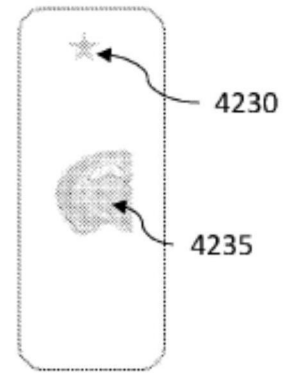


图 42C

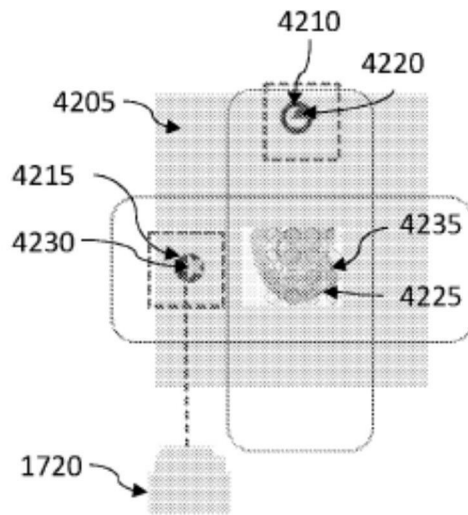


图 42D

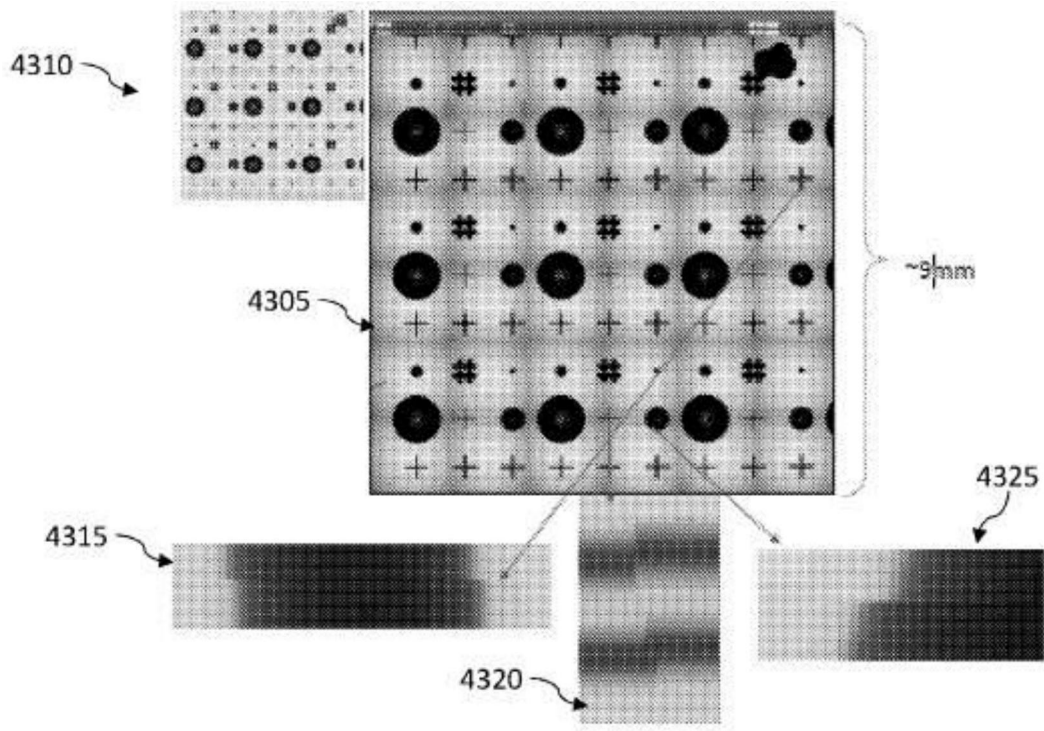


图43A

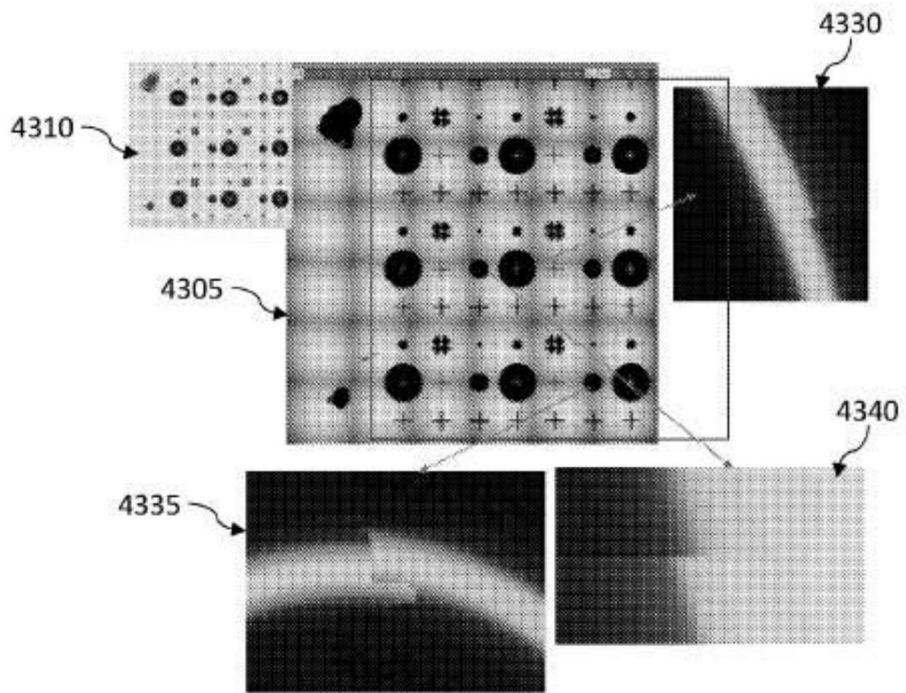


图43B

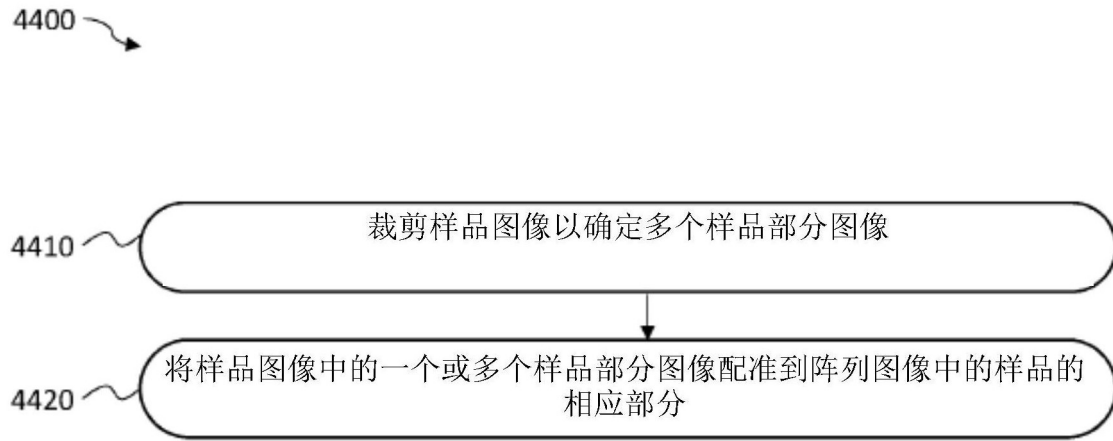


图44

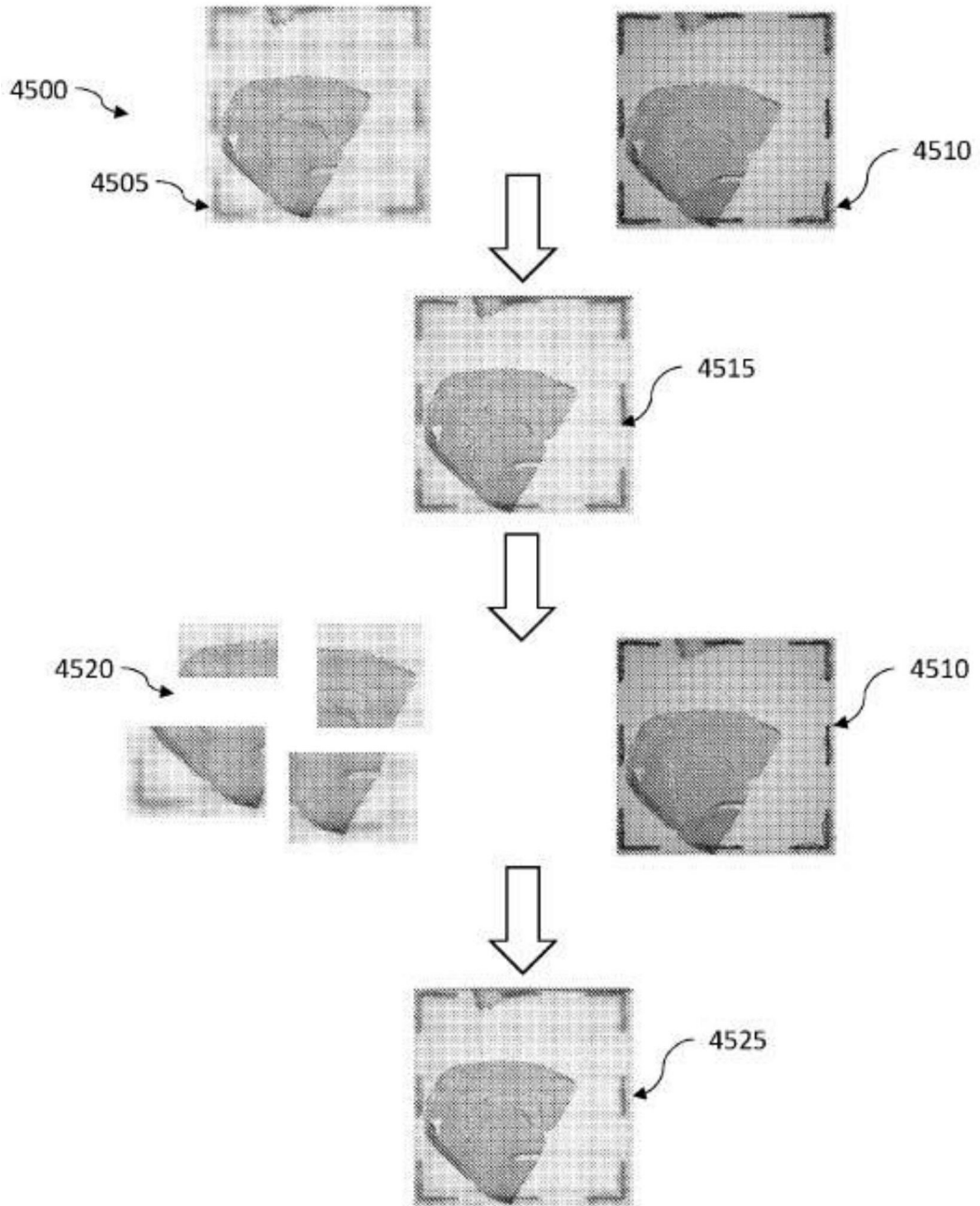


图45

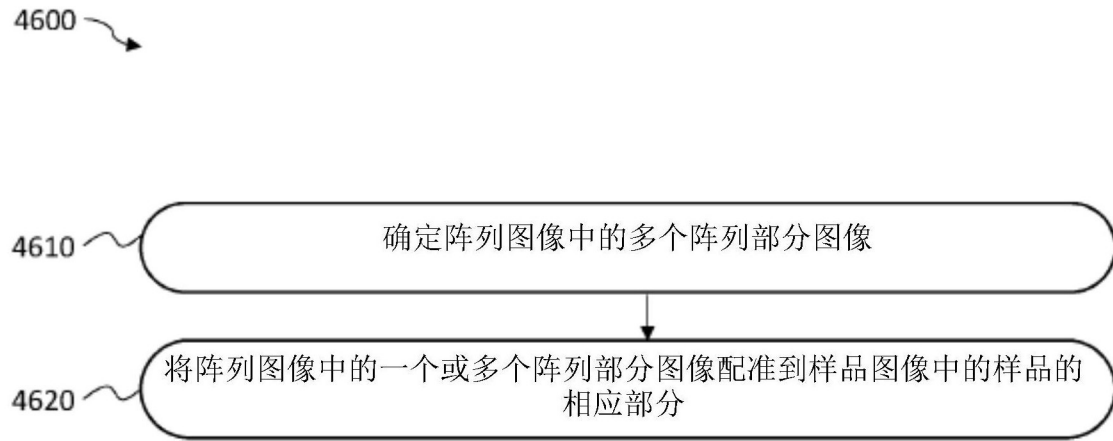


图46

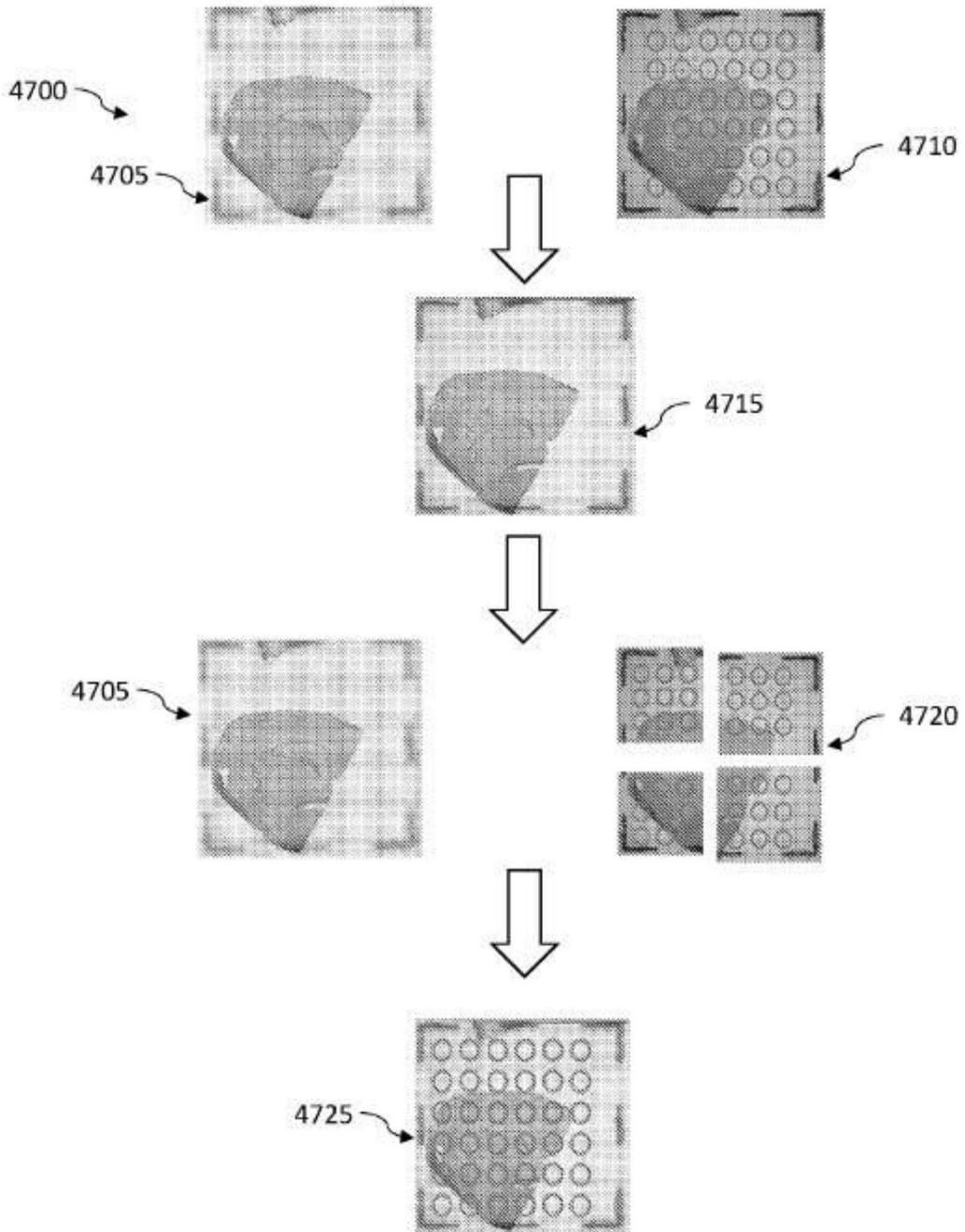


图47

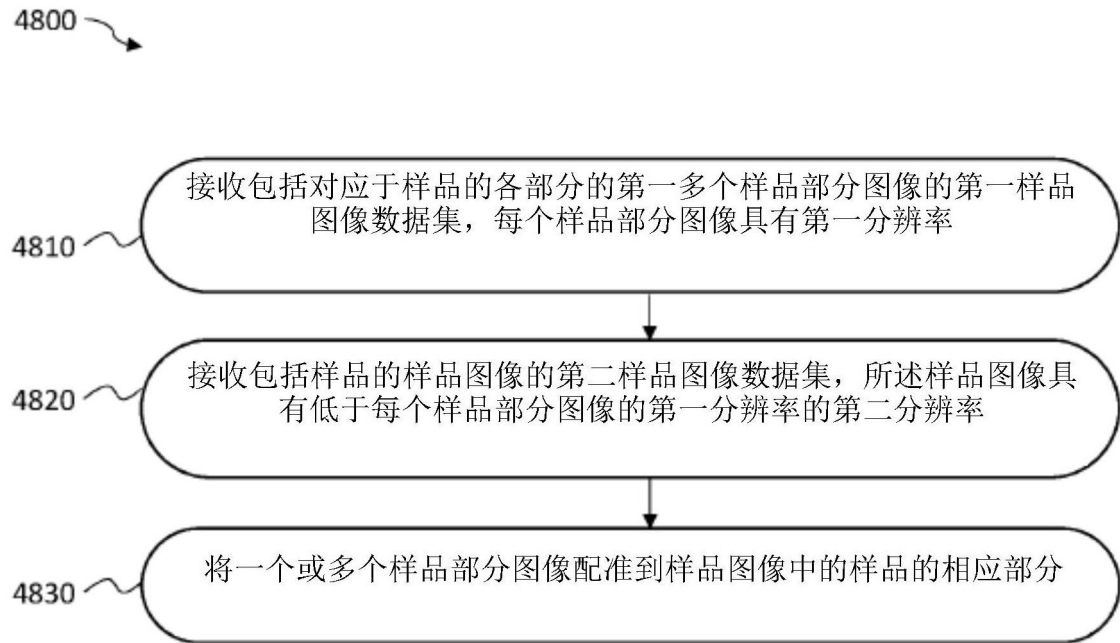


图48

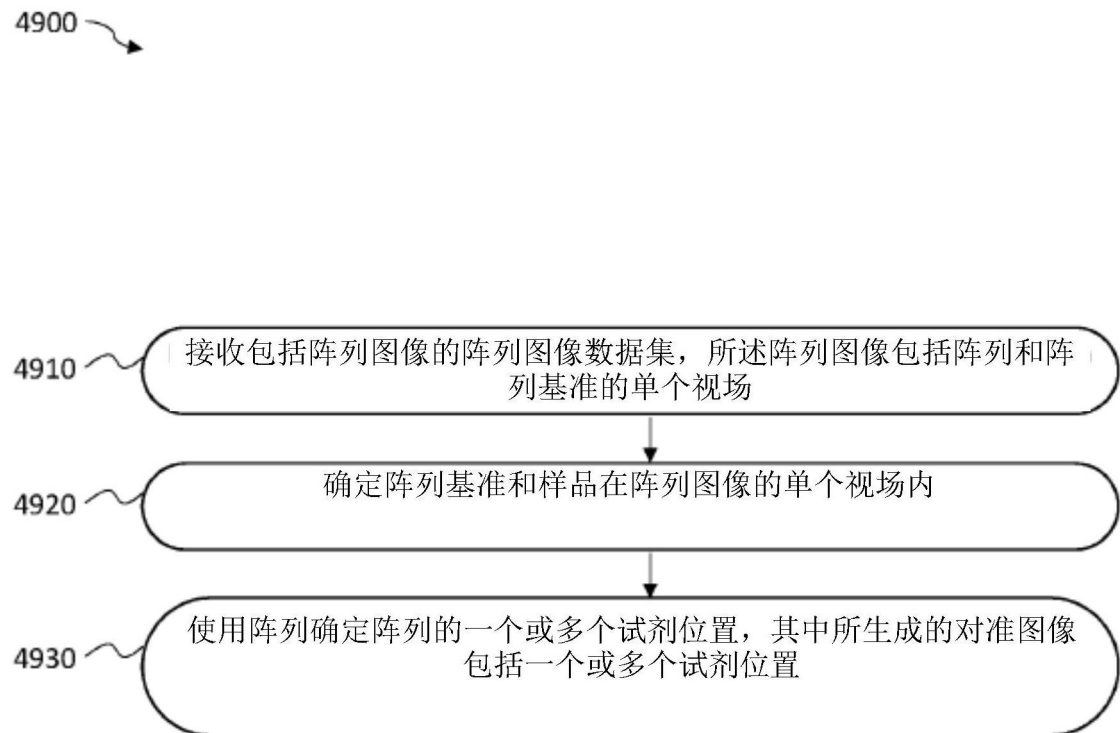


图49

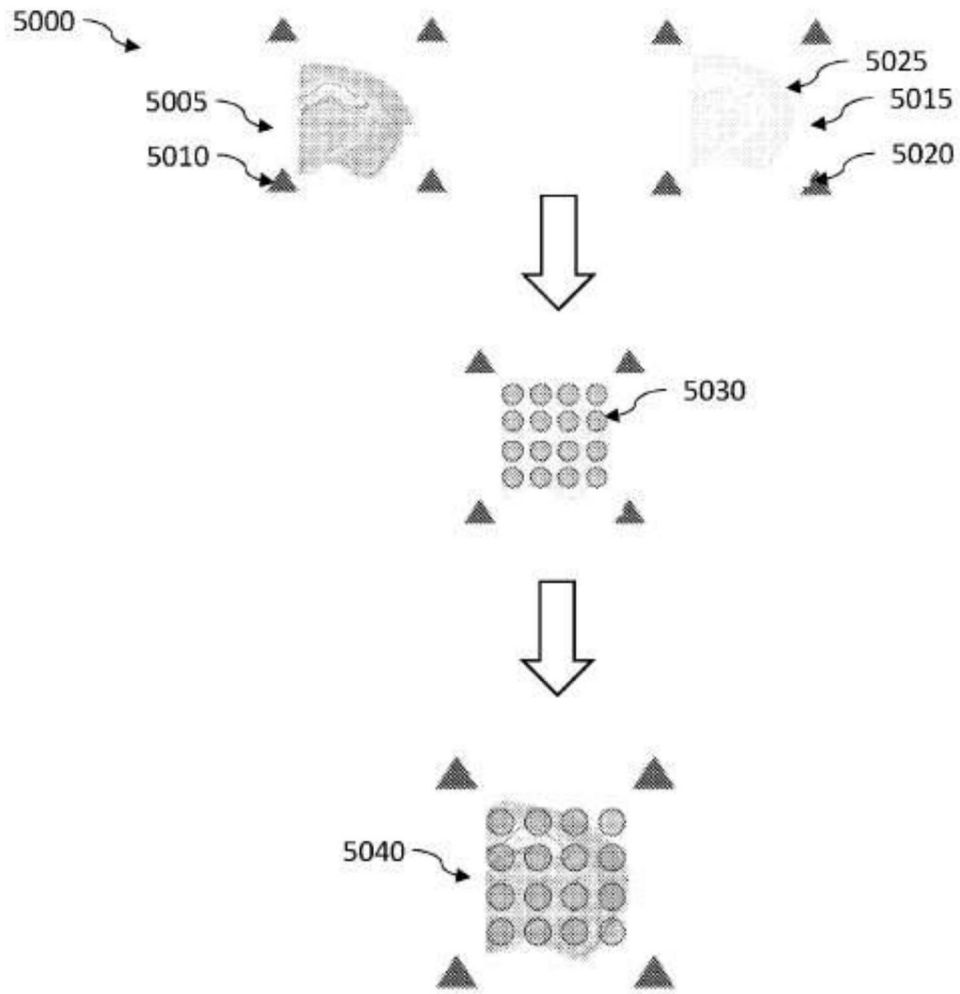


图50

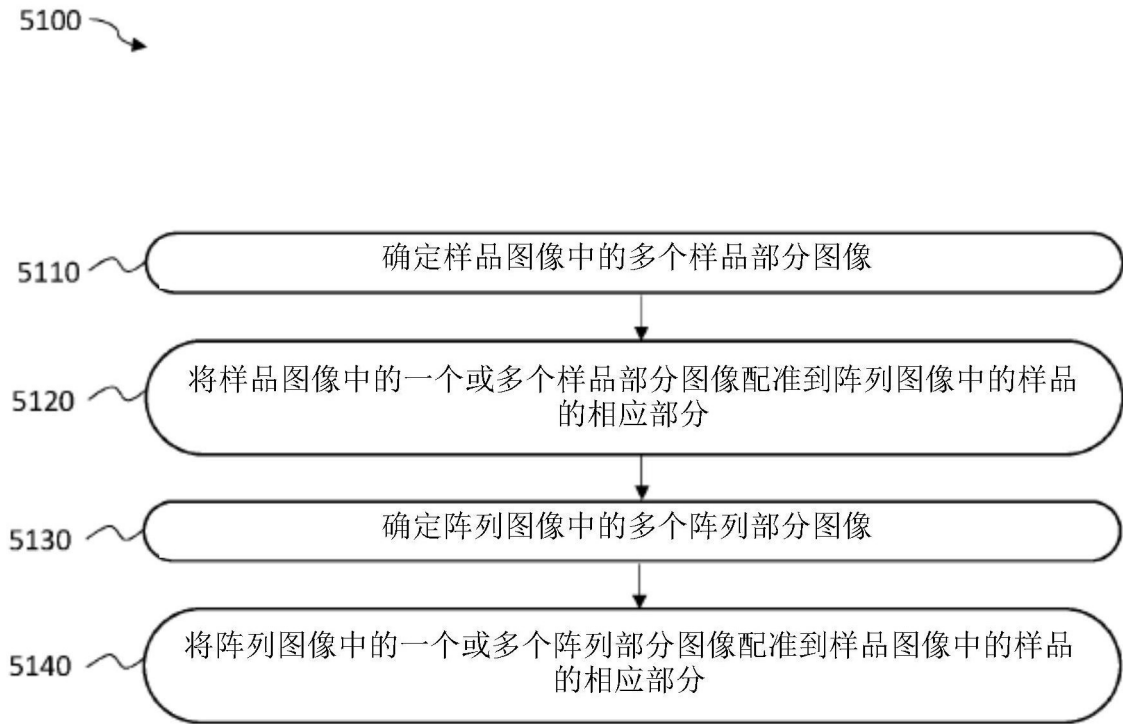


图51

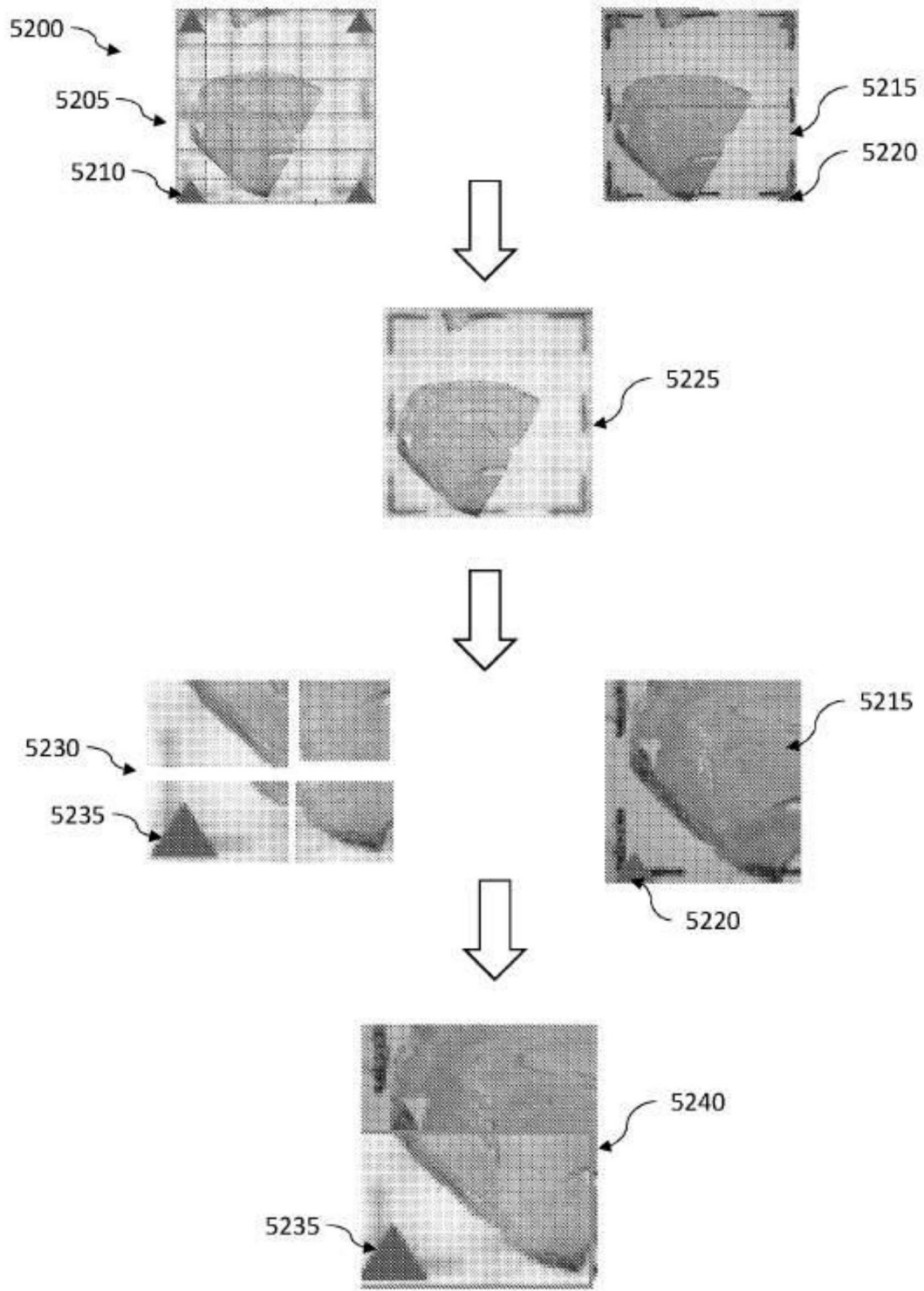


图52

5300

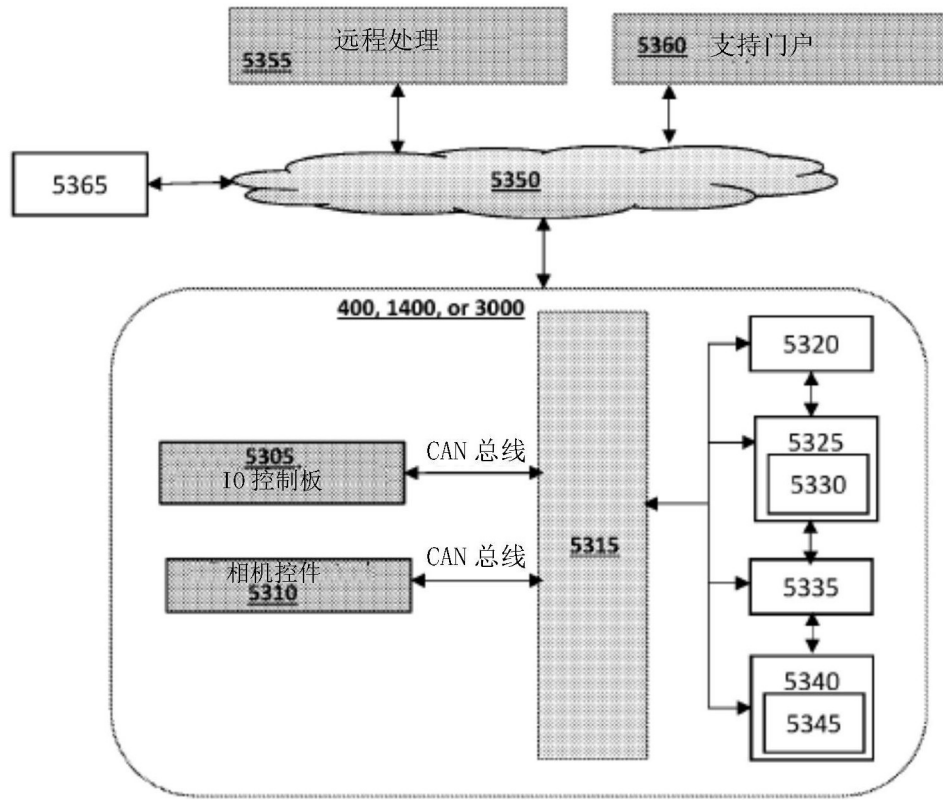


图53

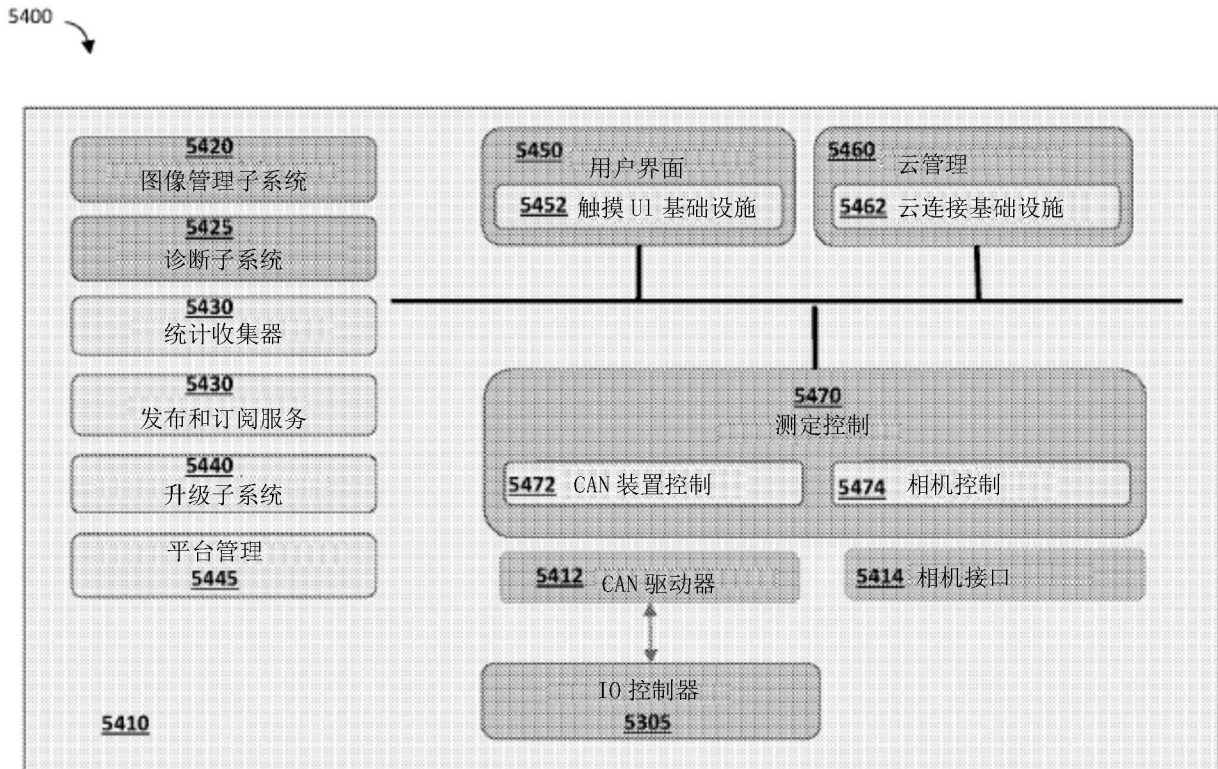


图54

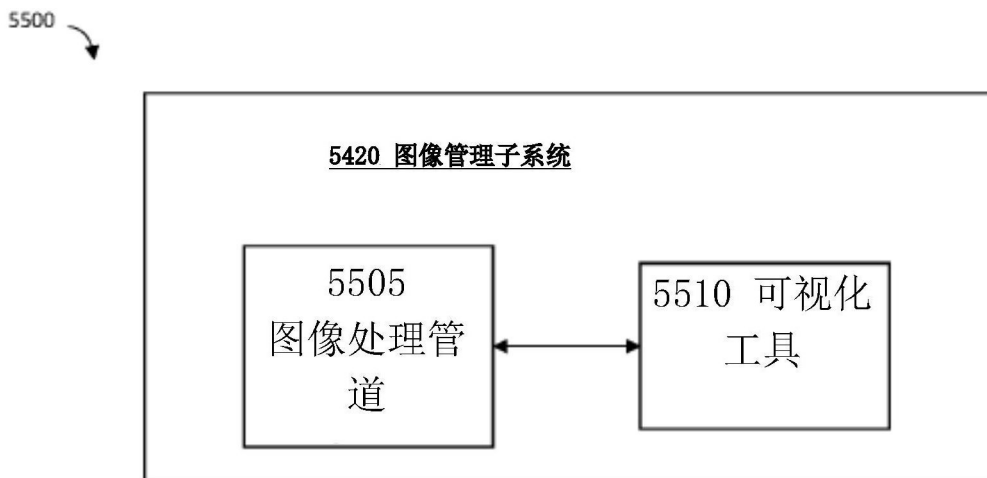


图55

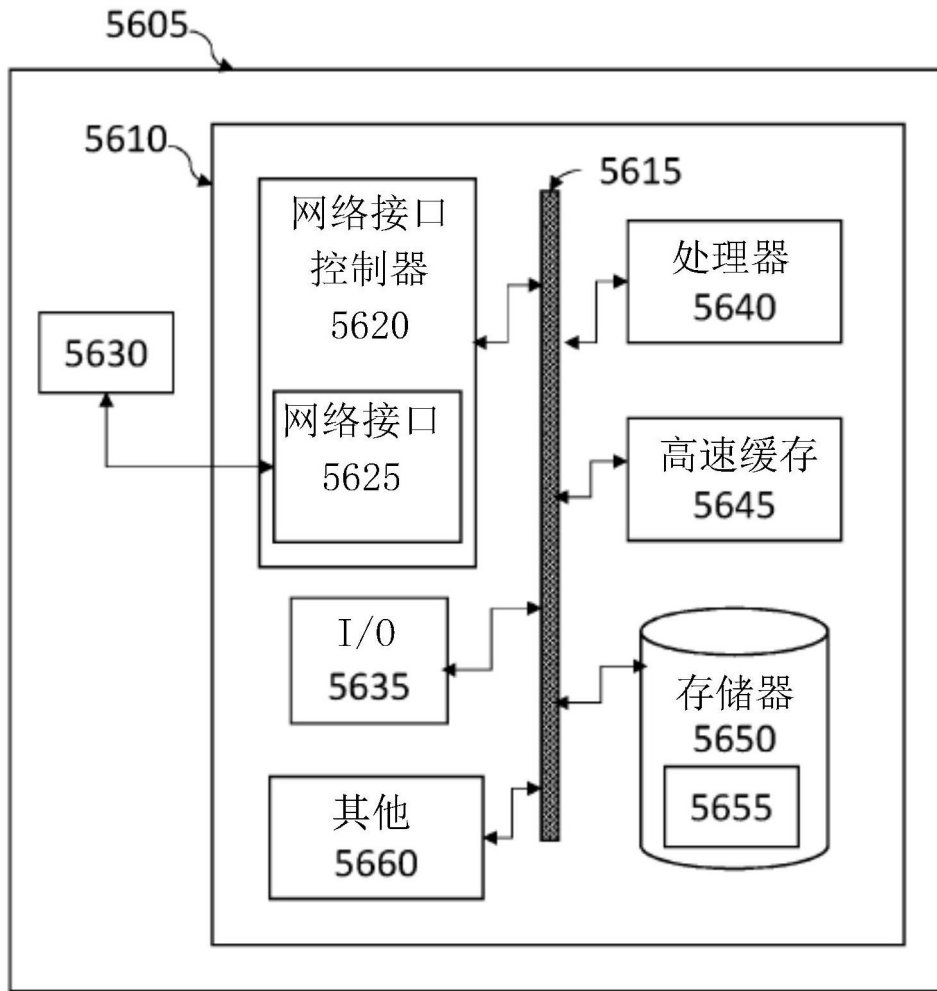


图56

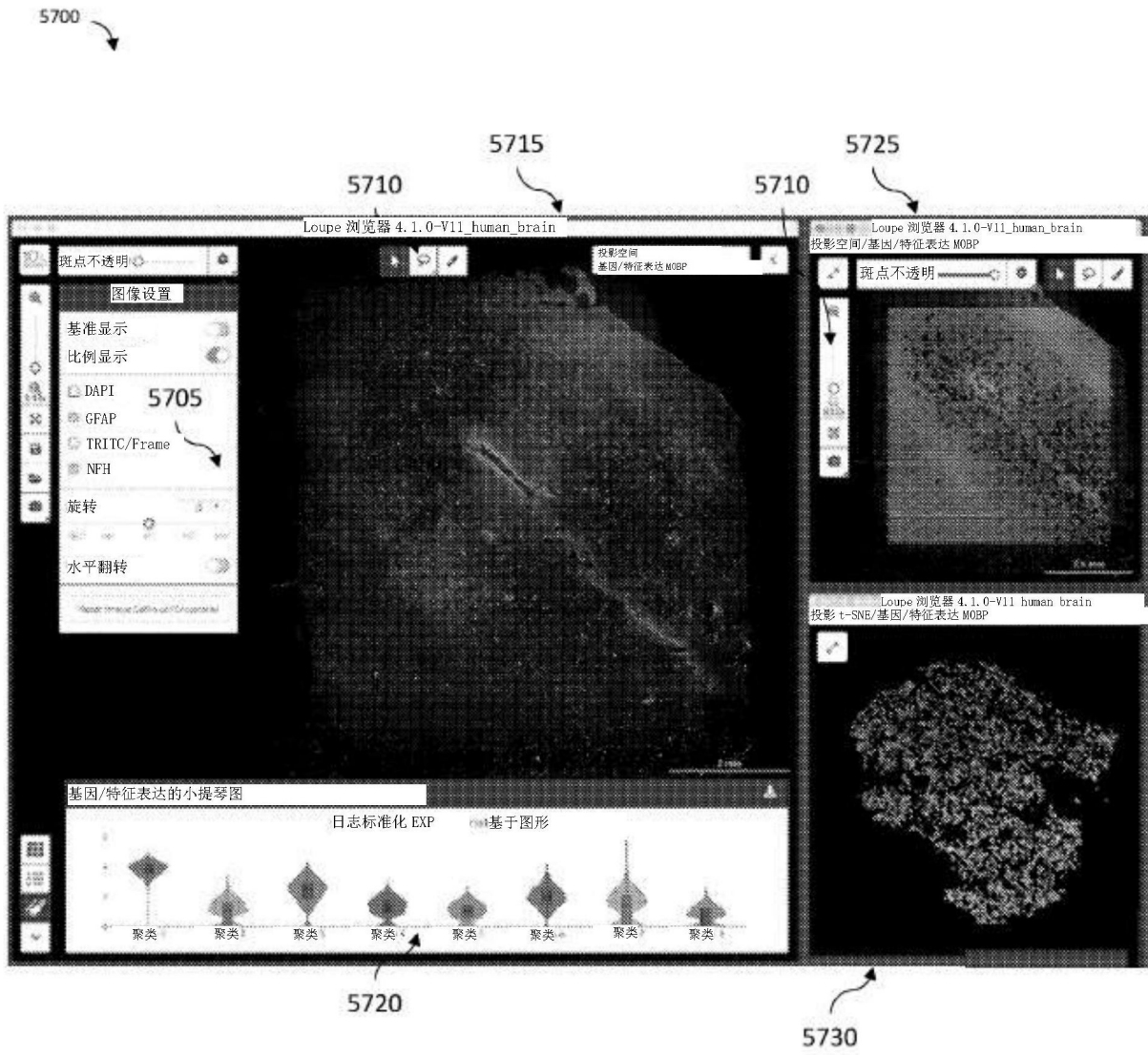


图57

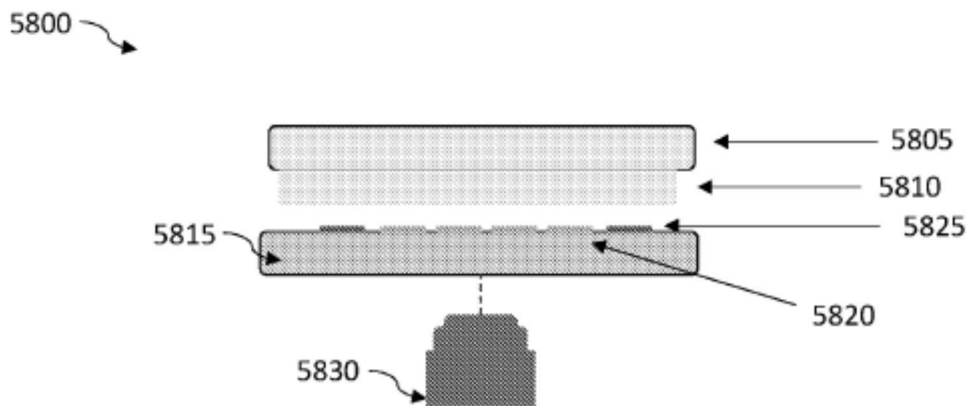


图58A

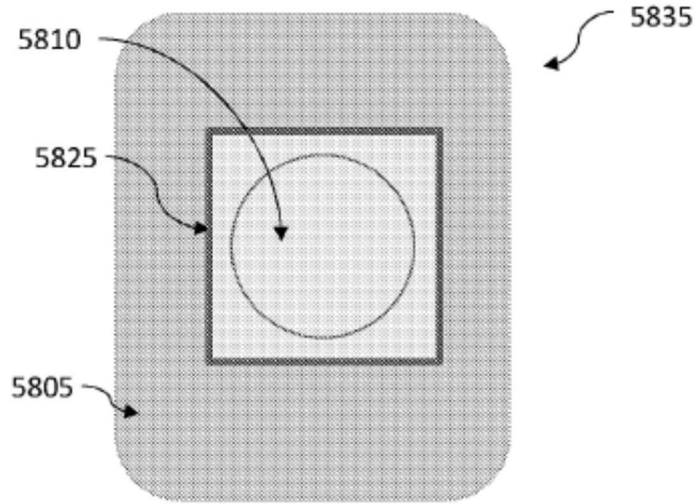


图58B

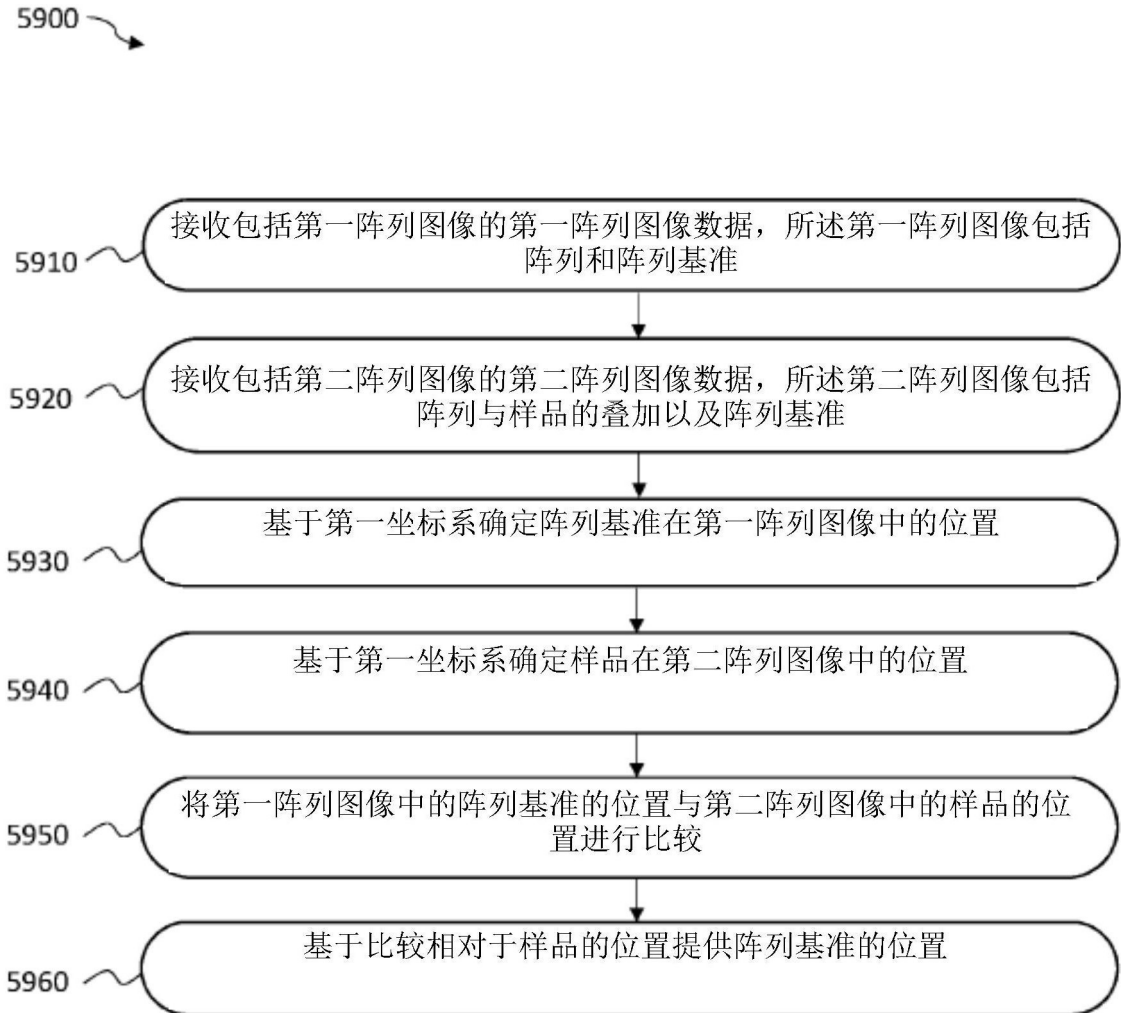


图59

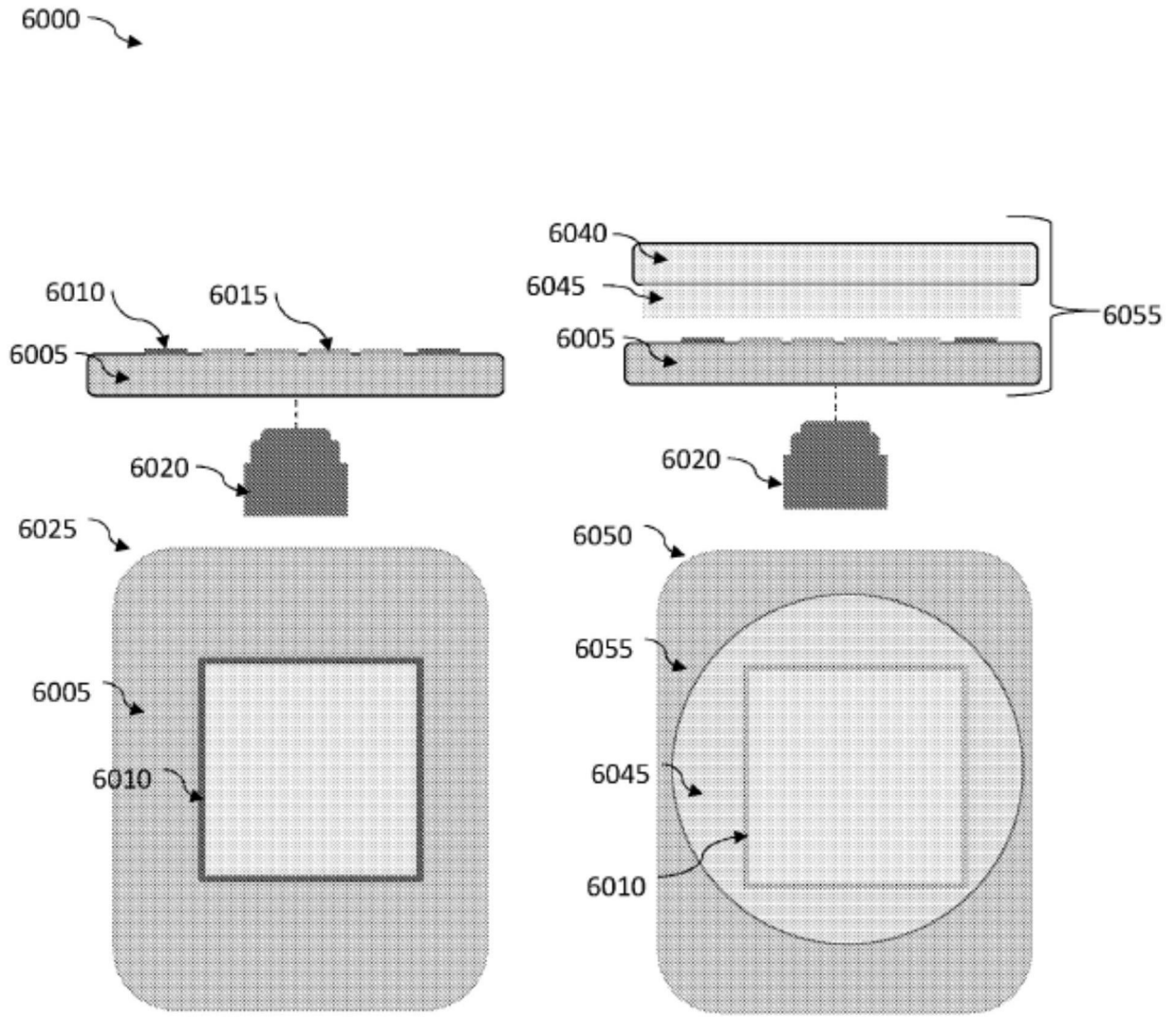


图 60A

图 60B

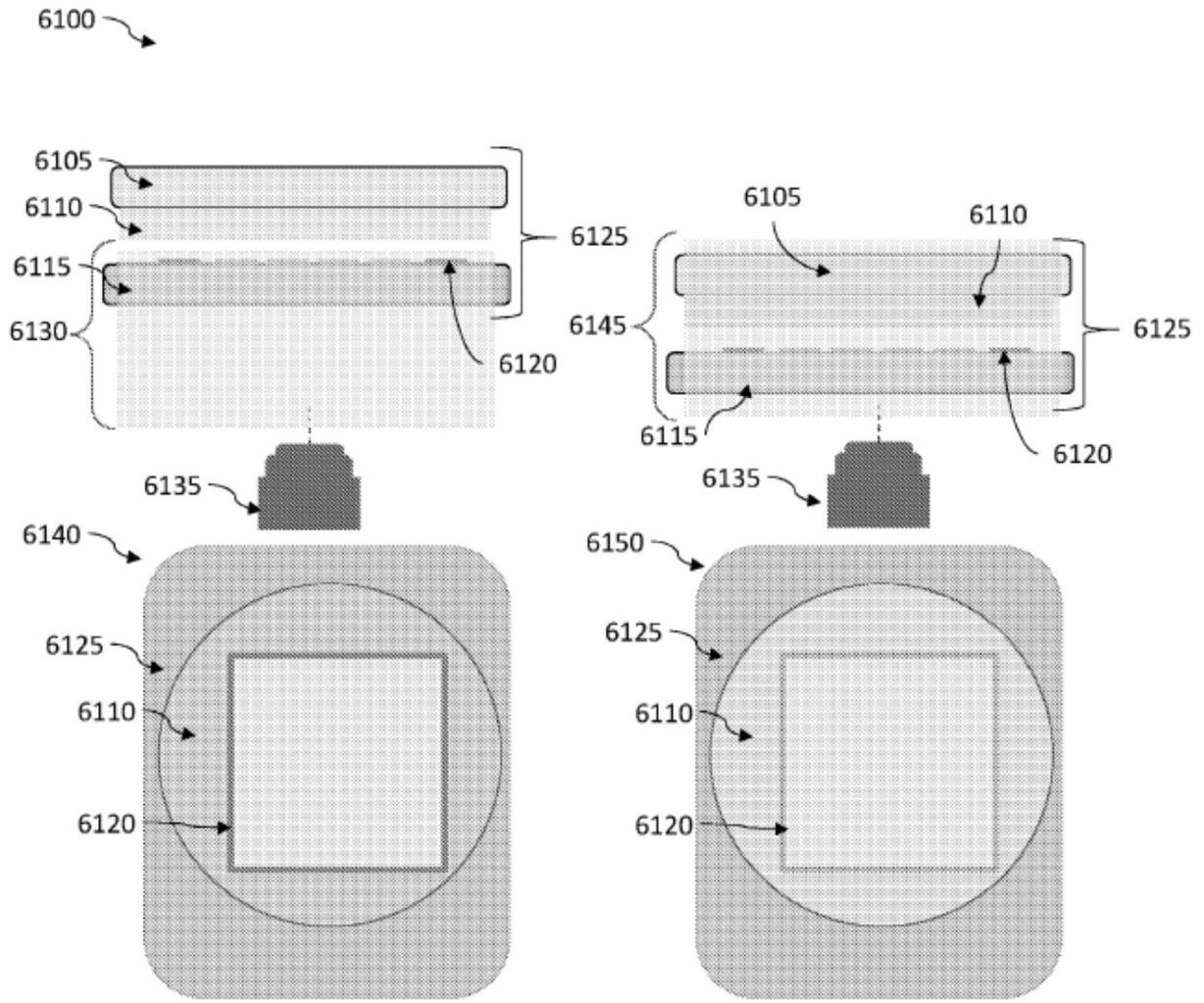


图 61A

图 61B

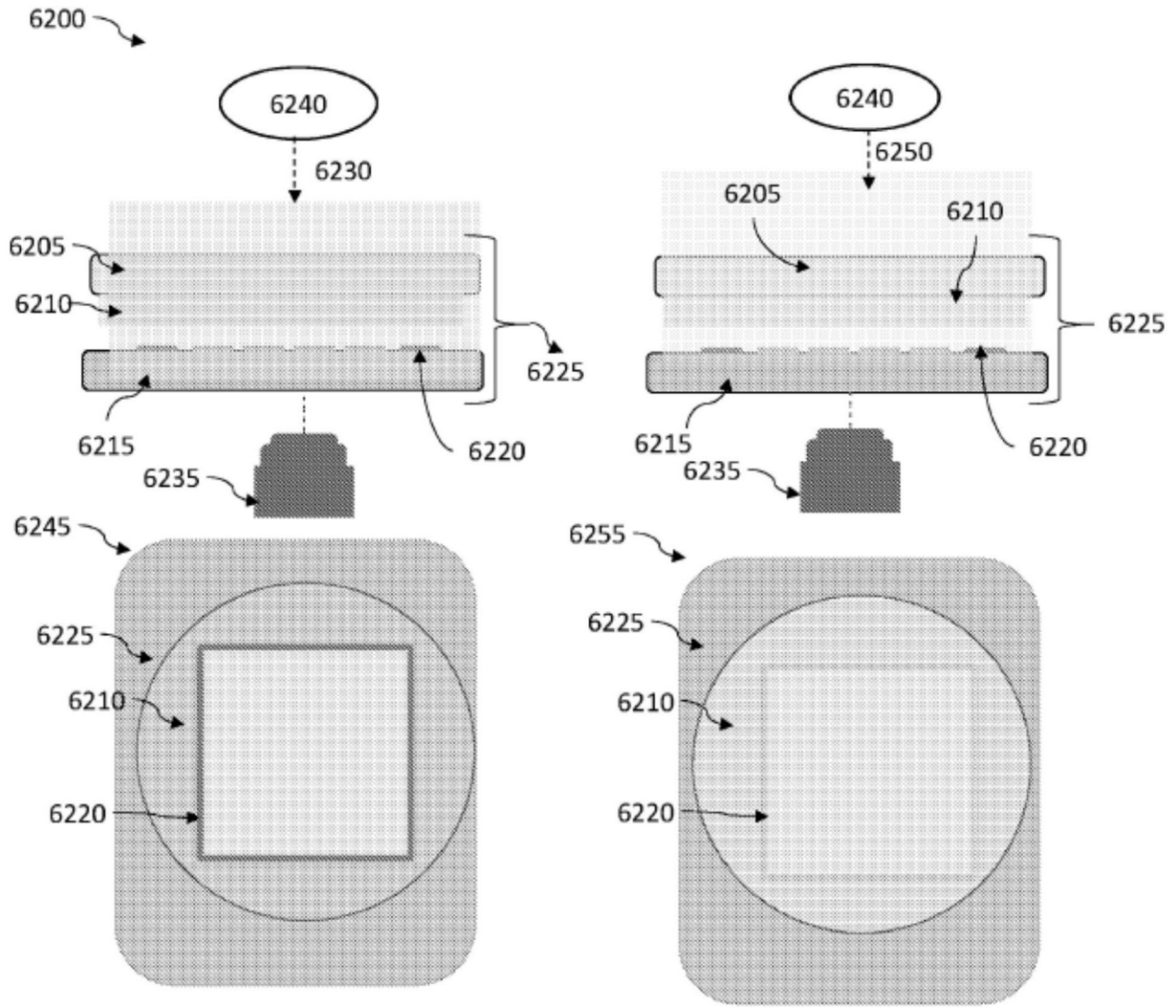


图 62A

图 62B

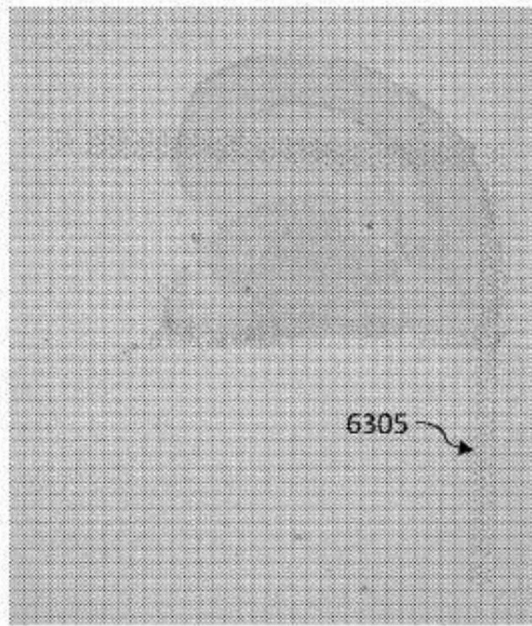


图63A

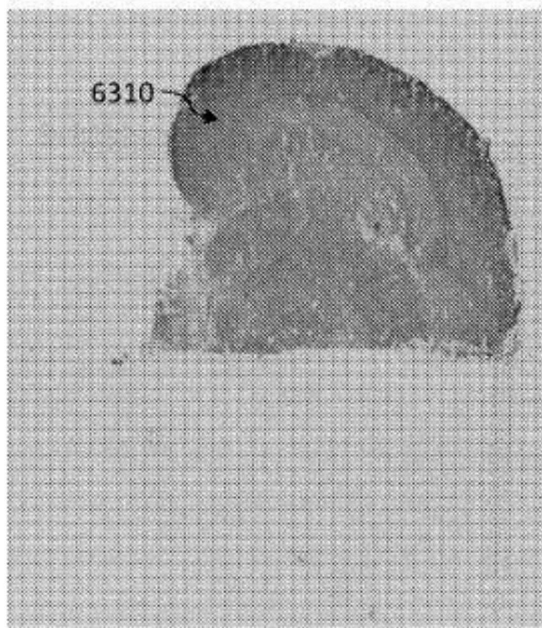


图63B

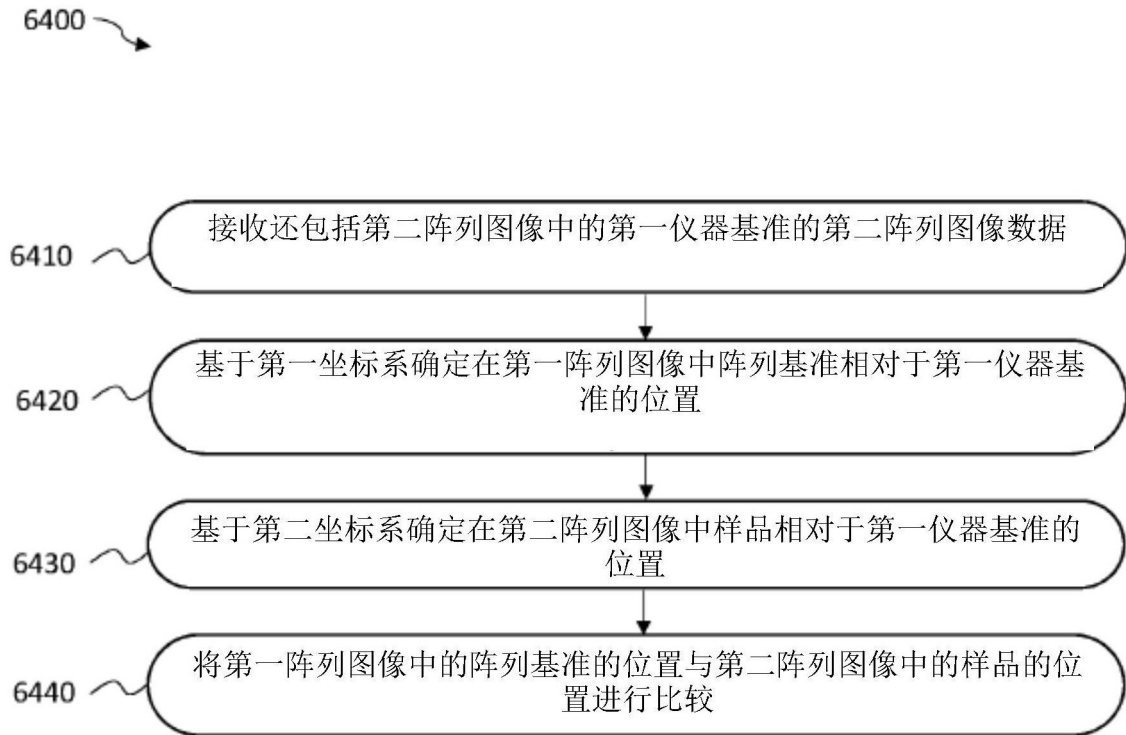


图64

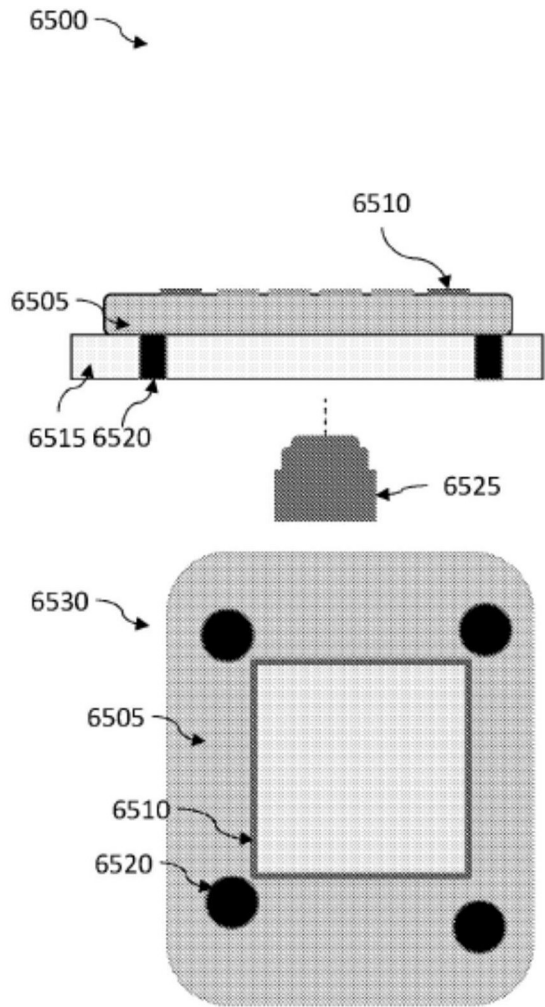


图 65A

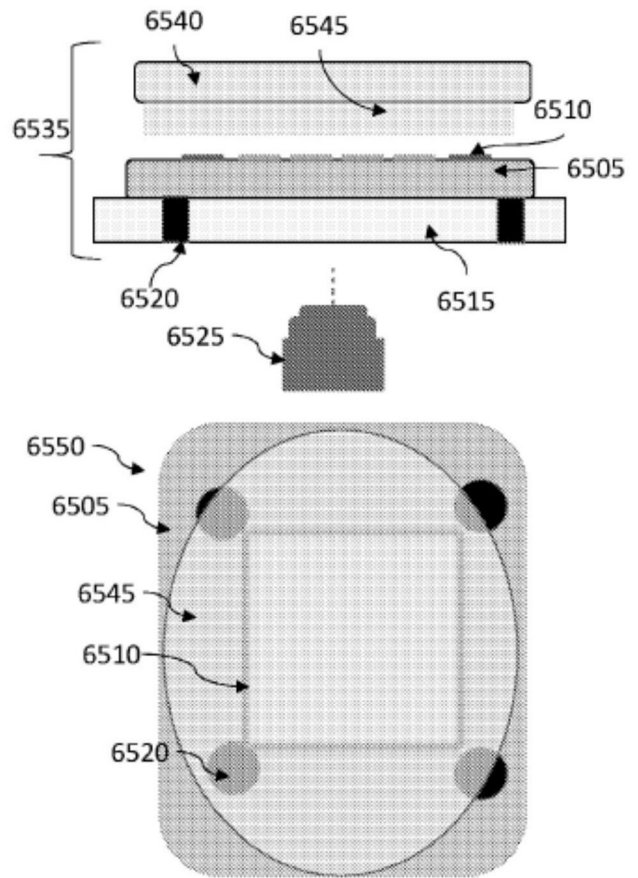


图 65B

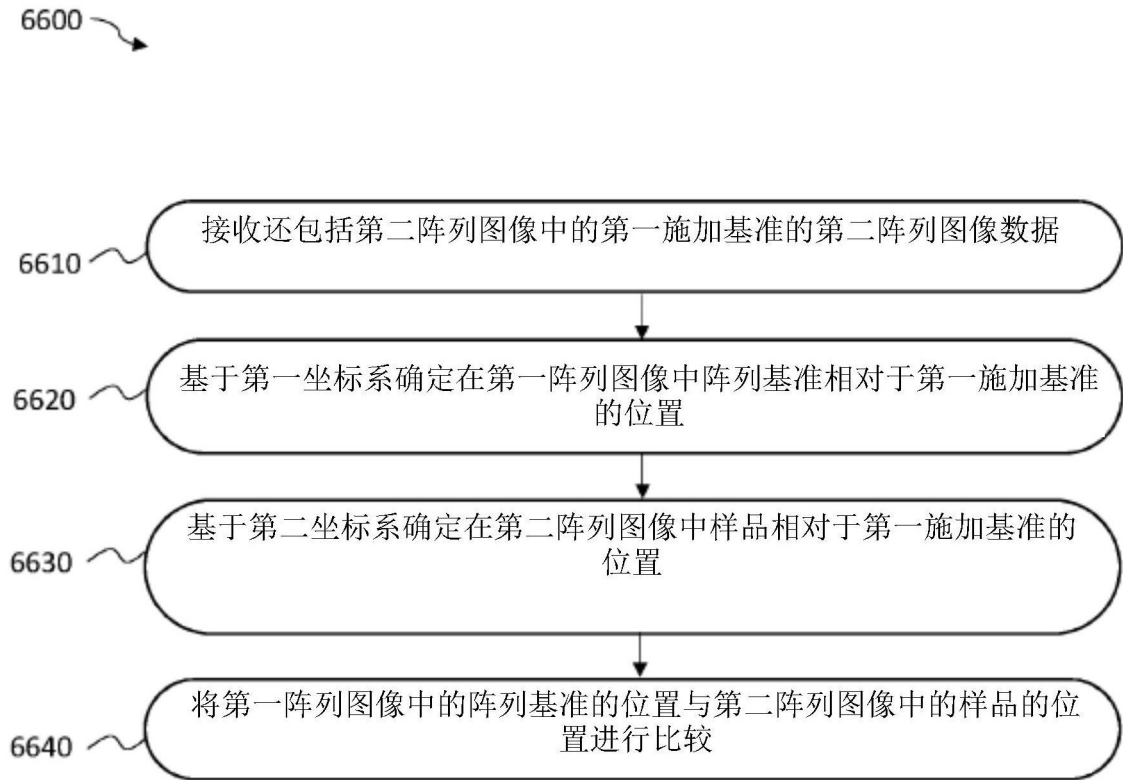


图66

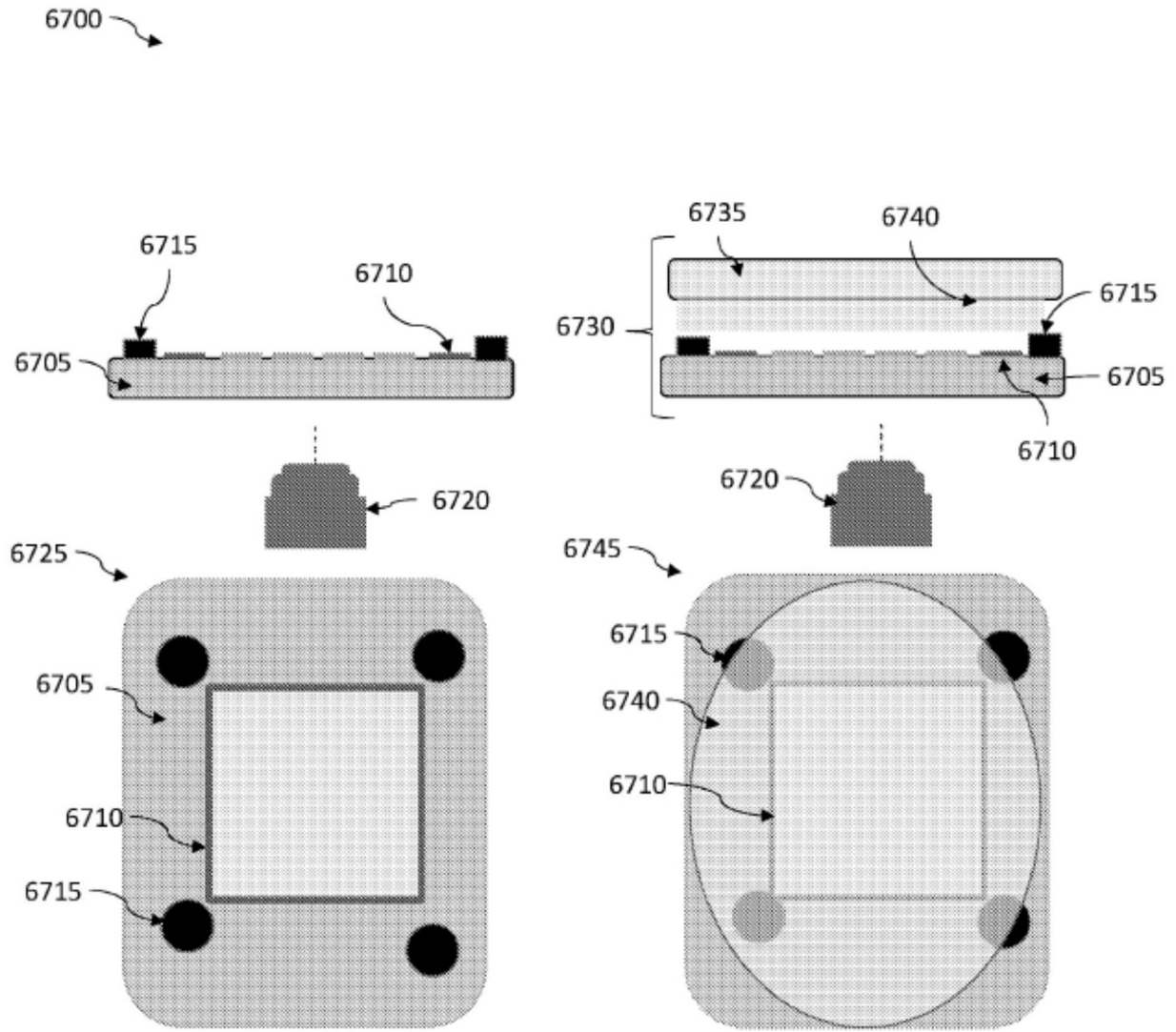


图 67A

图 67B

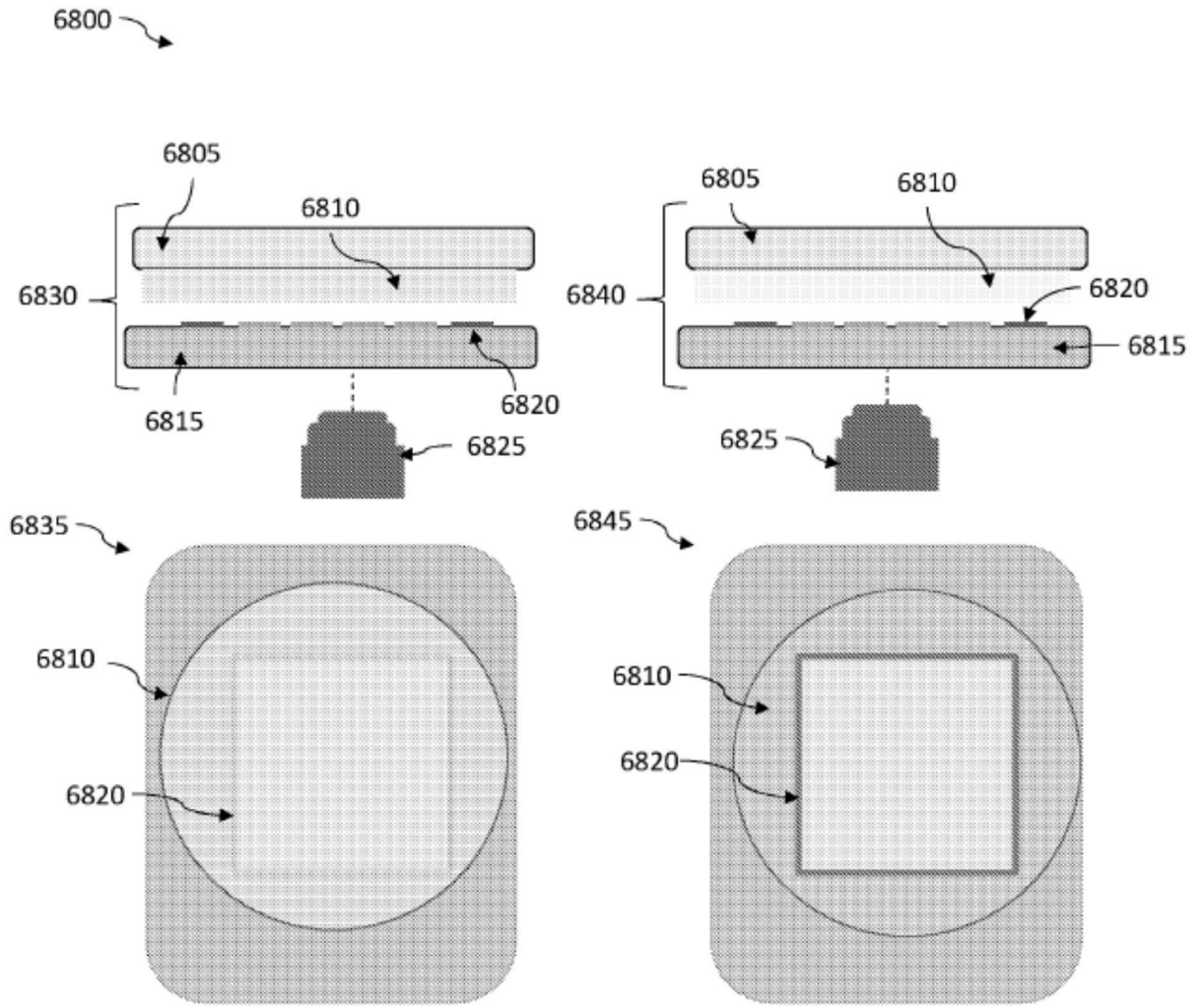


图 68A

图 68B

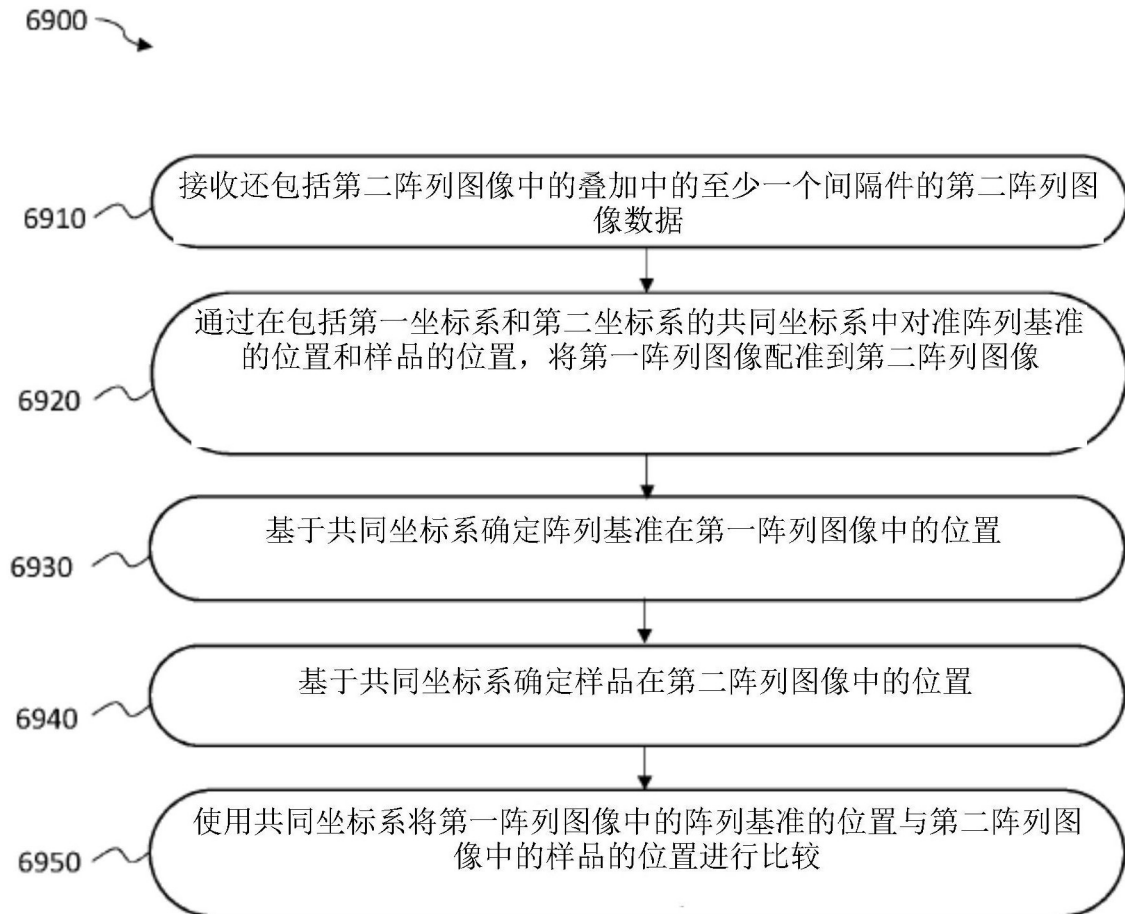


图69

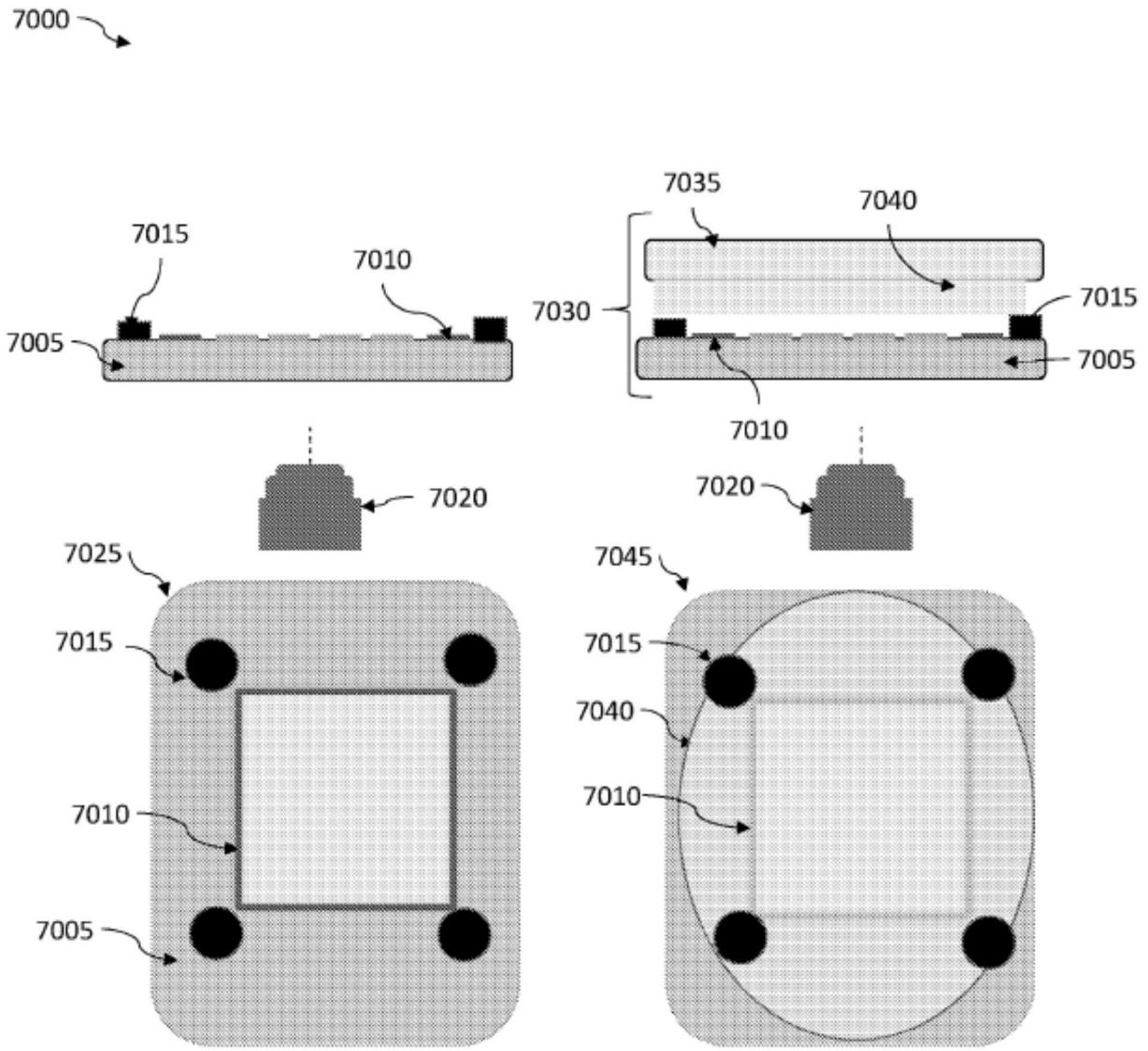


图 70A

图 70B

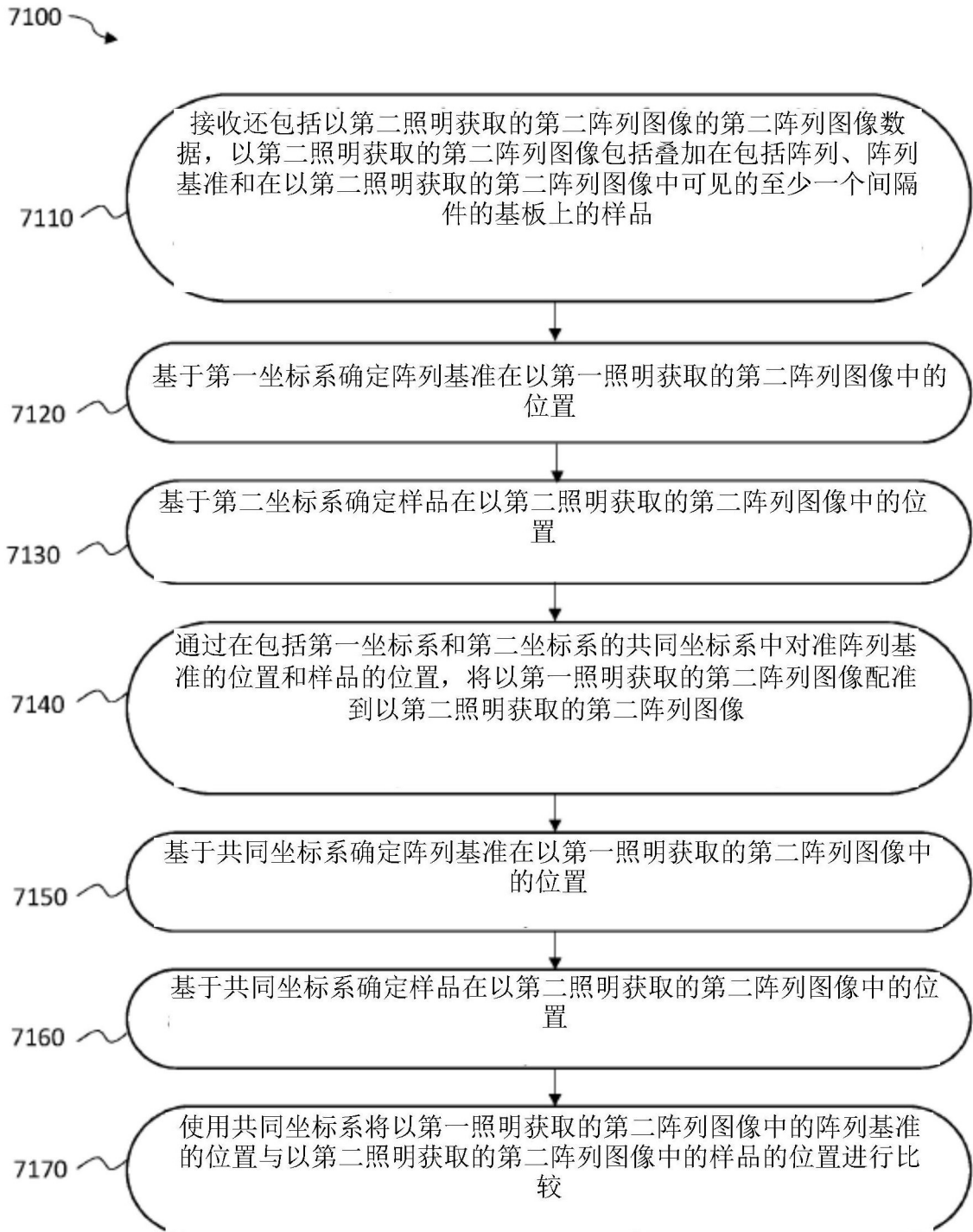


图71

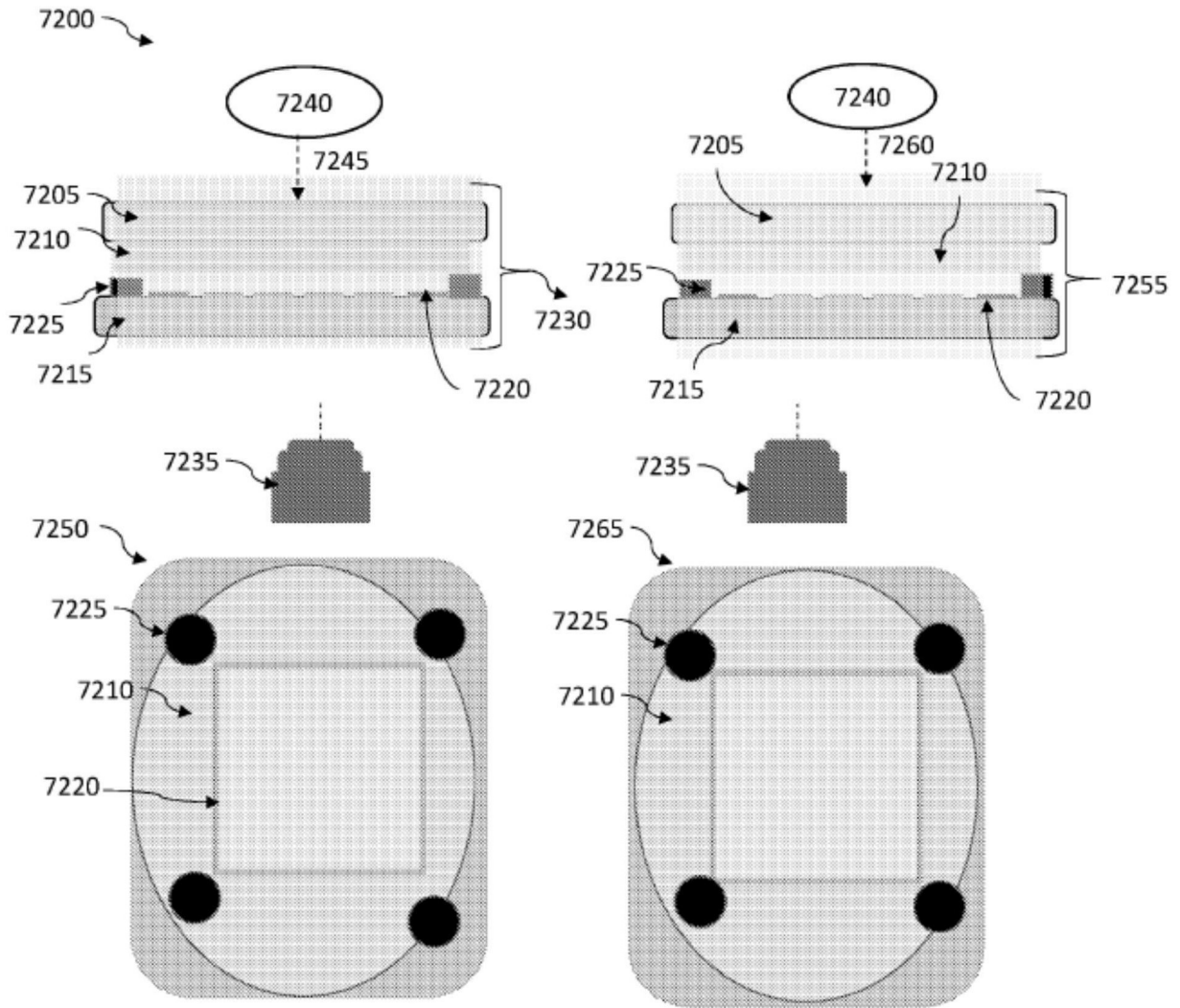


图 72A

图 72B

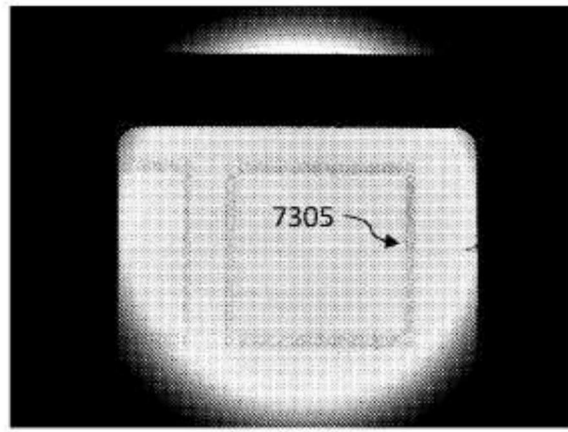


图73A

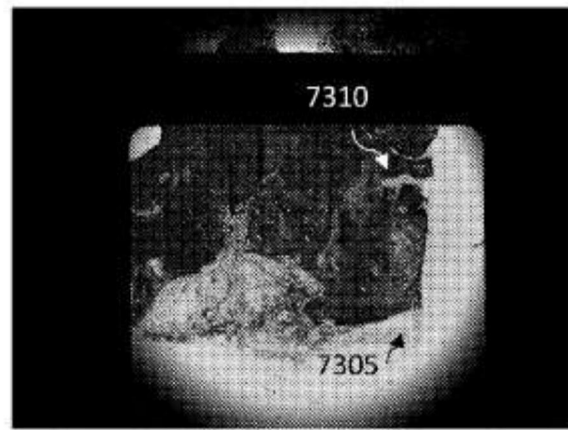


图73B

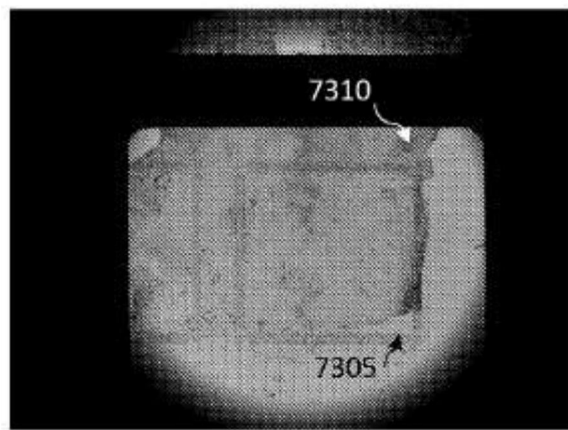


图73C

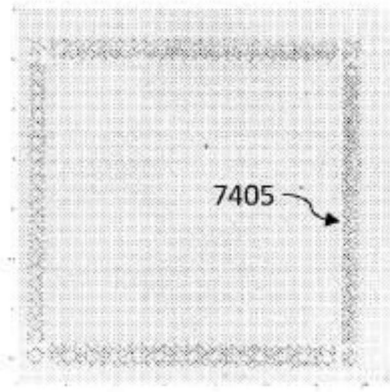


图74A

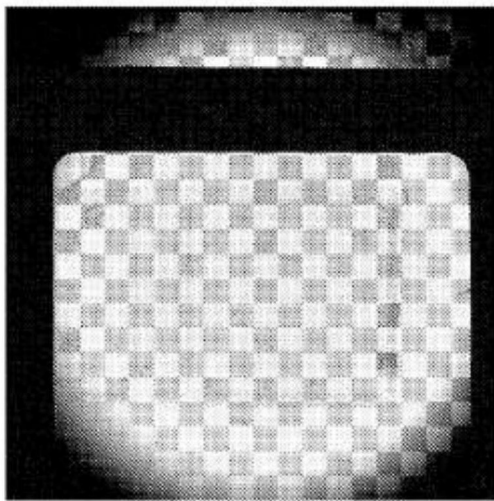


图74B

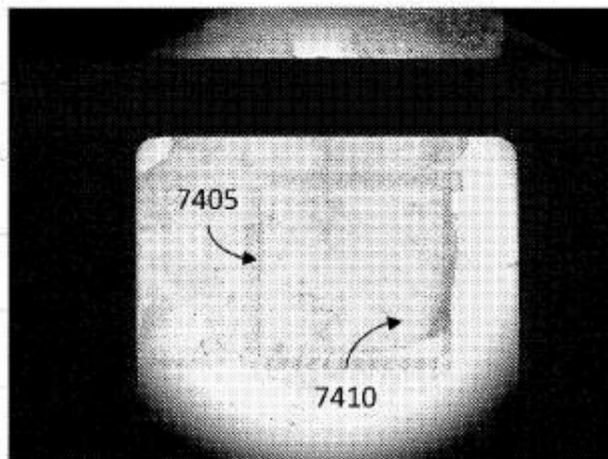


图74C

载片 V10F03-026_C1 的配准误差

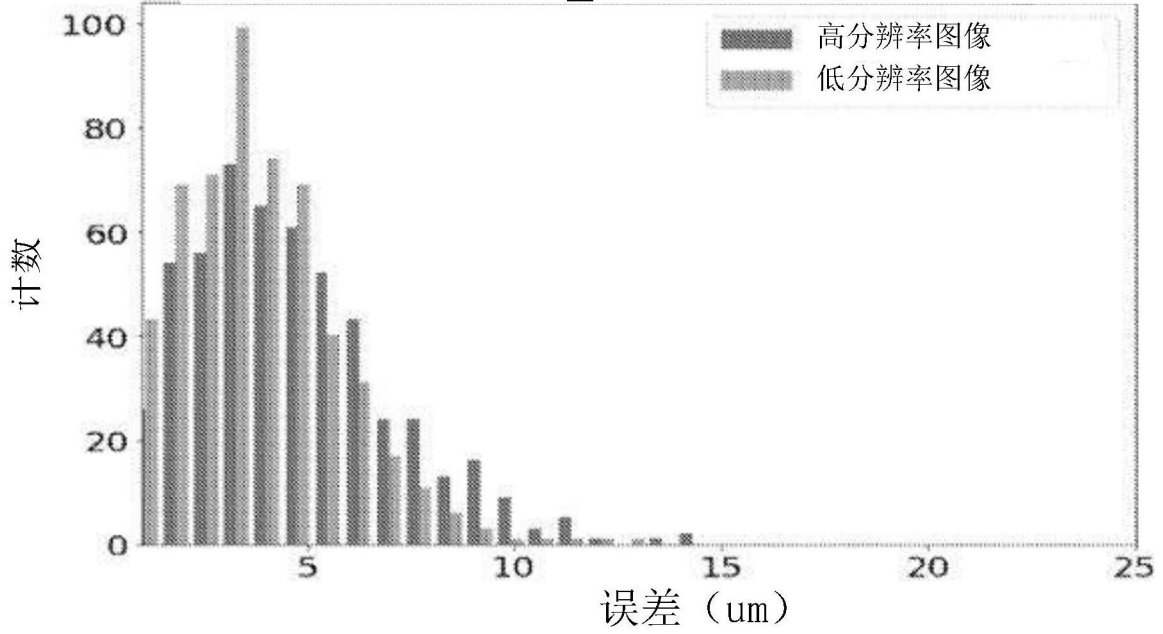


图75A

载片 V10F03-026_D1 的配准误差

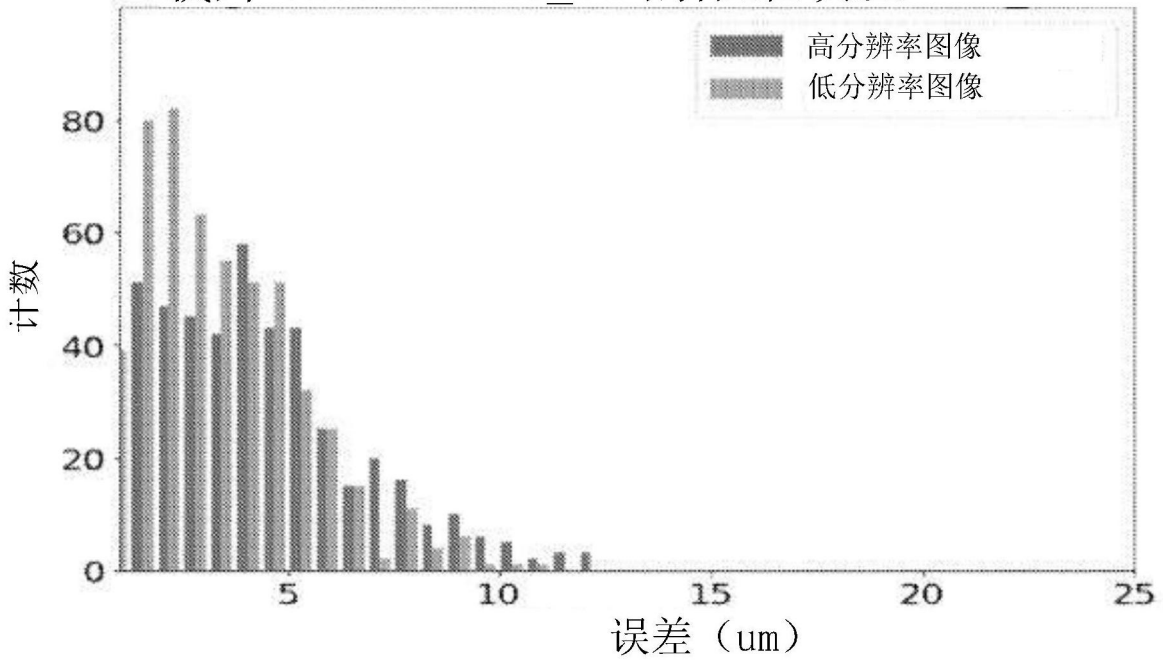


图75B

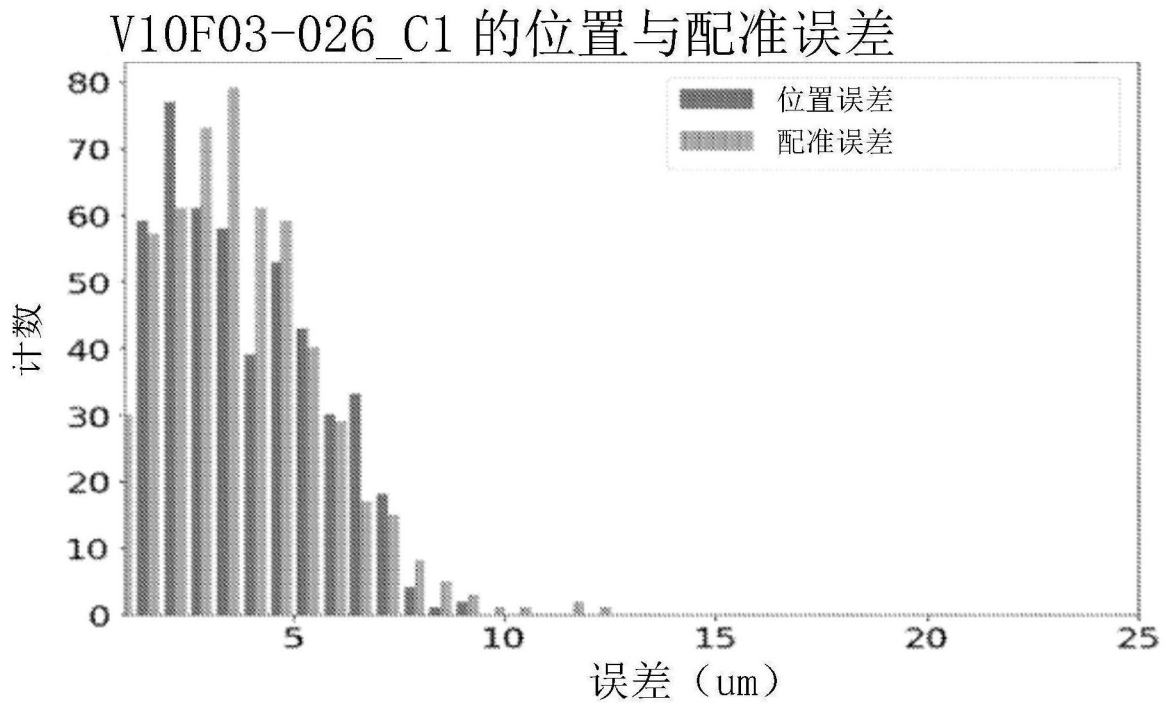


图75C

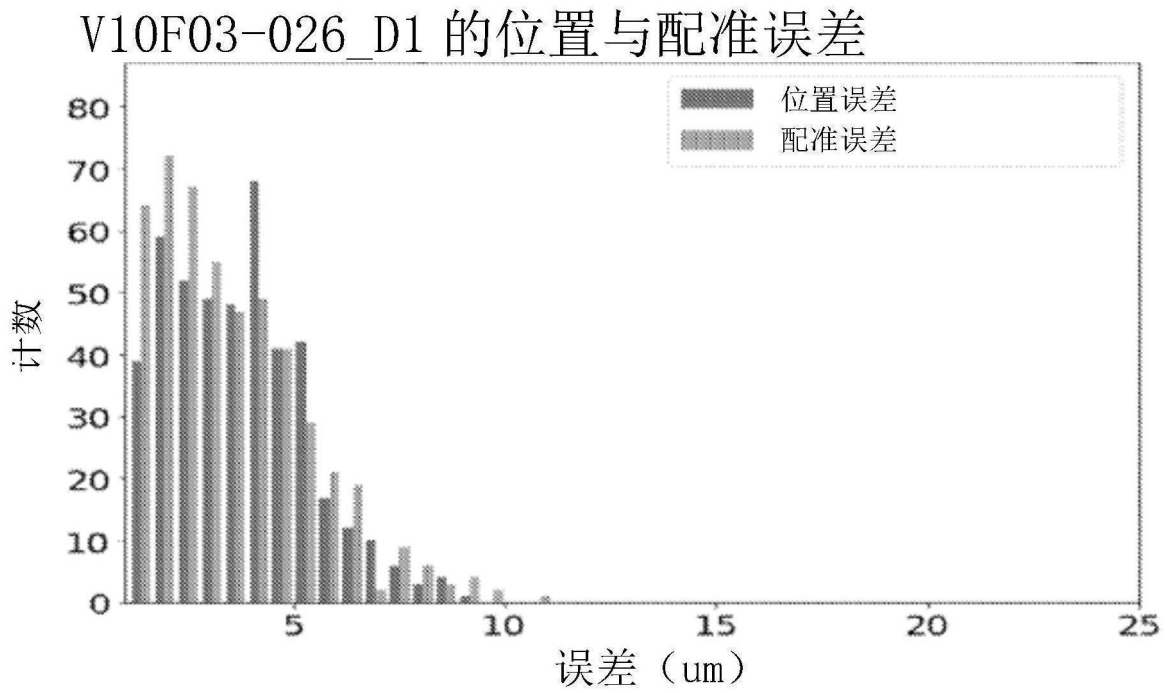


图75D

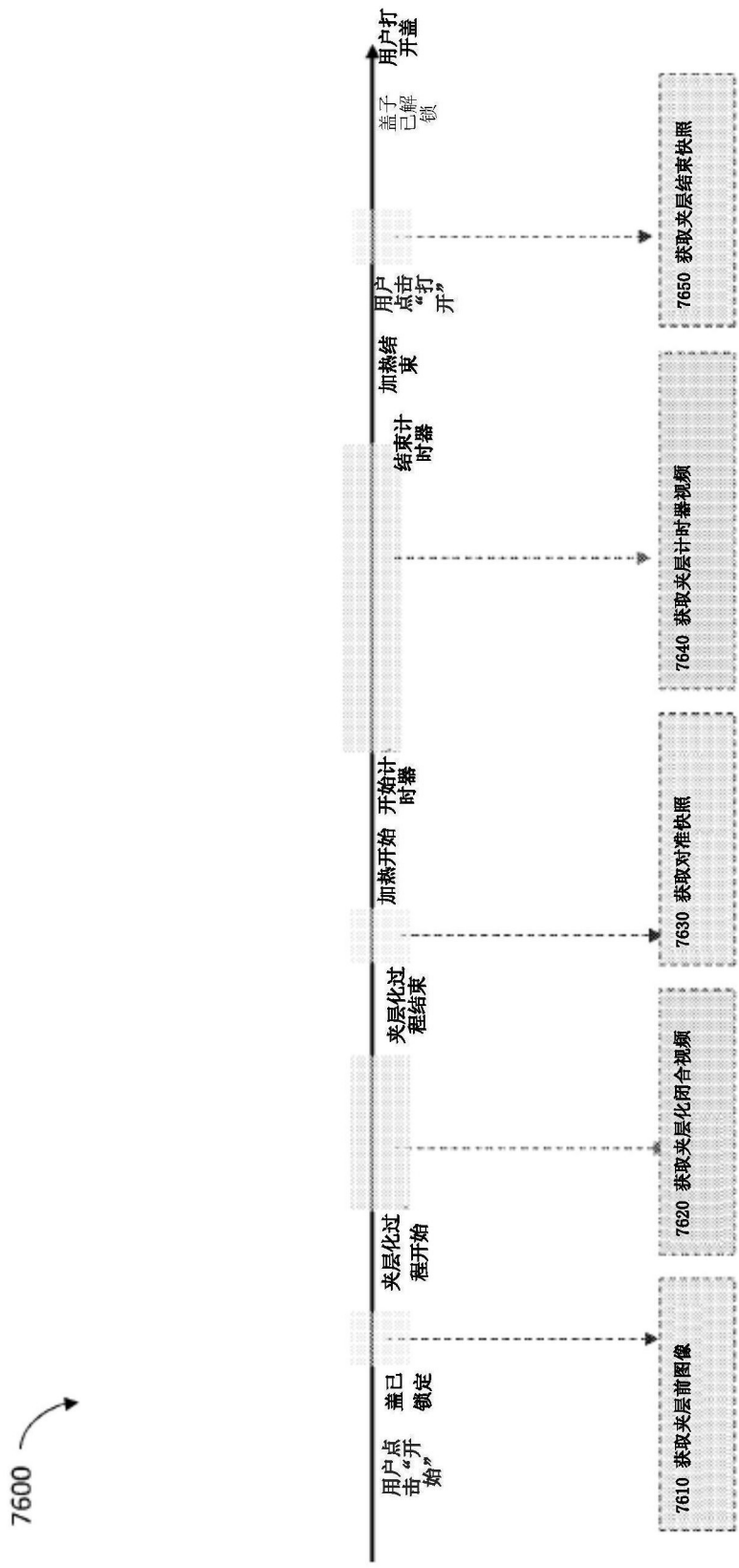


图76