根据建库类型、图像和官方版本要求准备输入

完整操作教程 · 参考固定 · 往返恢复验收

按HD建库、图像与v4.1要求建立可填输入清单，避免探针型与3′混用。

运行边界：示例代码需按安装版本和真实项目输入复核；未提供真实生物数据，语法或小样本检查不代表科学结果和性能验收。

Space Ranger配置要从切片类型和实际输入开始。传统Visium、探针型Visium HD与Visium HD 3′不能因为都叫空间转录组就复制同一条命令。本文按2026年11月14日核对的Space Ranger v4.1准备一份输入与资源检查单，完成后再启动正式切片。

先辨别版本、建库与图像

数据类型	需要特别核对	常见混用
探针型Visium HD	匹配物种的probe set、参考、CytAssist图像	漏probe-set或拿错探针版本
Visium HD 3′	v4.0及以后支持；不指定probe-set	照抄探针型命令
其他Visium版本	该建库对应count输入说明	沿用HD的全部参数
H&E与荧光图像	图像、通道、切片和捕获区对应	图像能打开不代表配准正确

官方v4.1的HD说明中，H&E图像参与的自动细胞分割与荧光图像支持范围不同。是否使用分割、细胞注释、BAM或手工配准，应写入任务范围。图像像素、压缩体积和解码后内存并非同一个量，不能仅按TIFF文件大小预测分析峰值。

用本机信息填写硬件起点

当前官方通用最低要求为8核Intel/AMD且支持AVX、64 GB RAM、1 TB可用磁盘；推荐32核、128 GB，并要求受支持的64位Linux。它们不保证所有图像与切片都能完成；发行版支持及目标任务还要查对应版本文档。

项目	本项目填写	核对依据
软件与建库	版本___；建库___	版本输出、建库交付单
CPU与内存	任务可用___核、___GB	lscpu与平台额度
工作盘	挂载点___；可用___	输入、参考、图像和运行峰值
切片与捕获区	slide___；area___	CytAssist元数据与送样记录

完成路径检查并保存清单

以下需要Bash和已安装的Space Ranger。先把变量设为真实绝对路径，SR_KIND只填hd_probe或hd_3prime；其他建库改按相应官方说明。脚本只核对可访问路径，不验证图像配准或参考生物学正确性。

```
set -euo pipefail
: "${SR_KIND:?■■hd_probe■hd_3prime}"
: "${SR_REF:?■■■■■■■}"
: "${SR_FASTQS:?■■FASTQ■■}"
: "${SR_CYTAIMAGE:?■■■■■■CytAssist■■}"
: "${SR_IMAGE:?■■■■■■■■■}"
test -d "$SR_REF" && test -d "$SR_FASTQS" || exit 2
test -r "$SR_CYTAIMAGE" && test -r "$SR_IMAGE" || exit 2
case "$SR_KIND" in
  hd_probe) : "${SR_PROBES:?■■■■■probe set}"; test -r "$SR_PROBES" ;;
  hd_3prime) test -z "${SR_PROBES:-}" ;;
  *) exit 2 ;;
esac
```

```
test ! -e space-input-check
mkdir space-input-check
spaceranger --version > space-input-check/version.txt
spaceranger count --help > space-input-check/count-help.txt
printf 'kind\t%s\nreference\t%s\nfastqs\t%s\ncytaimage\t%s\nimage\t%s\n' \
  "$SR_KIND" "$SR_REF" "$SR_FASTQS" "$SR_CYTAIMAGE" "$SR_IMAGE" \
  > space-input-check/inputs.tsv
lscpu > space-input-check/cpu.txt
df -h . > space-input-check/disk.txt
```

检查清单路径是否确属同一组织切片、同一捕获区，FASTQ样本前缀是否会选入无关文库。slide与area可来自有效CytAssist元数据；离线获取布局或需手工配准时，按官方入口准备slidefile或alignment JSON。不要为跳过错误填一个猜测编号。

输入检查之后验收什么

安装测试只能回答程序环境能否工作。正式代表切片还需检查web_summary中的样本、比对与图像配准，确认检测组织和真实组织位置一致，再核对矩阵、空间文件与需要的分割结果。报告能打开，不表示捕获区、图像方向和计数已正确。

路径不可读先查账号权限和挂载；probe set或参考报错先核对建库；对齐失败先查图像和手工配准方案。只有输入与方法确认后出现明确资源缺口，再修改额度。将检查单与实际输出保存在同一项目记录中，下一张切片才能沿用有依据的条件。

交付材料里的CytAssist图像与高分辨率组织图像应分别标记，二者不能仅凭文件名相近互换。记录图像尺寸、染色类型和扫描来源；缩略图、截图或经重新压缩的副本不能默认为原始输入。图像方向或比例经过处理时，应保留原件与处理记录，再确认配准方法。

配套练习包

本PDF对应的ZIP包含本文代码块、主题练习模板或合成数据、README和SHA256校验文件。请从同一教程页面下载练习包；先核对校验值，再在独立目录复现。

参考资料

Space Ranger v4.1：系统要求 · 来源资料

Space Ranger：Visium HD与HD 3′输入 · 来源资料

Space Ranger：矩阵与bin大小 · 来源资料

Space Ranger 官方输入文件说明 · 来源资料

操作建议：先在合成小样本上验证流程，再依据项目参考、标签合同、存储策略与获配资源验收真实数据。