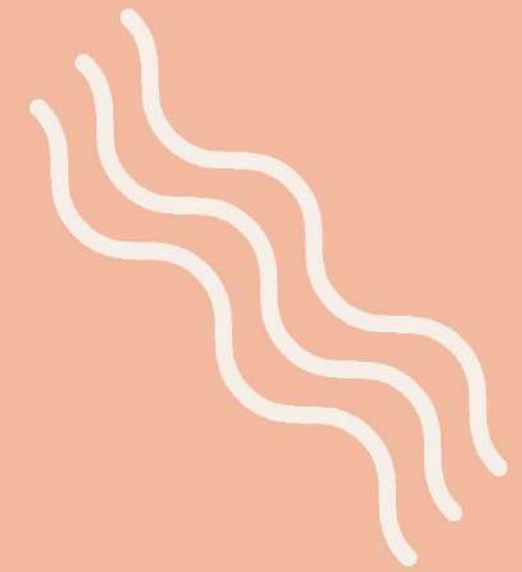
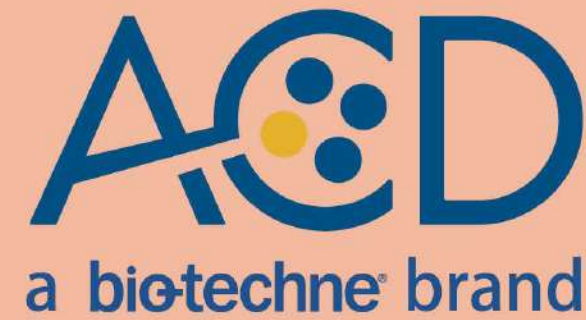
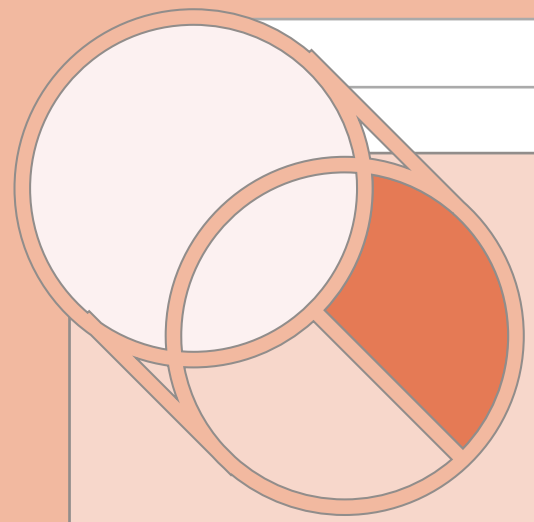


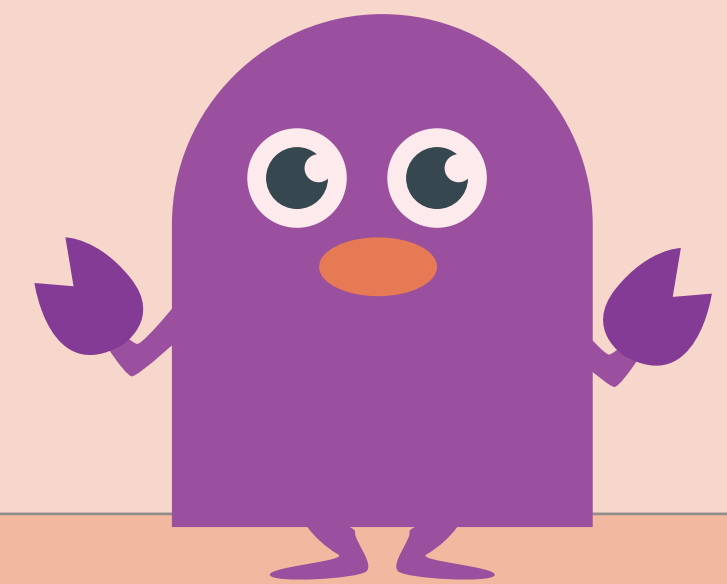


RNAscope在病人樣本內對 致病細菌的RNA定位研究





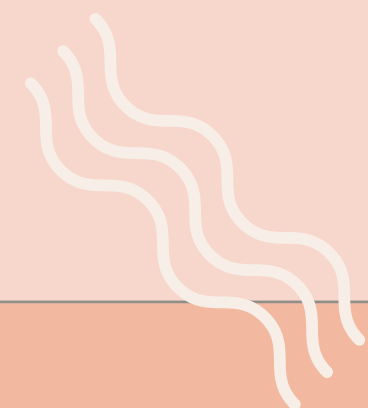
以RNAscope技術爲代表的美國Bio-Techne公司旗下Advanced Cell Diagnostics (ACD)公司的RNA原位檢測解決方案已經在基礎科學研究、藥物研發、安全性評估以及臨床病理等多個領域越來越被人們所熟知。由於該技術可以在獲得檢測RNA目標序列之後的2週內即可完成探針設計，而相關檢測試劑盒適用於各種組織樣本類型：包括新鮮冰切，固定冰切，石蠟樣本，貼附細胞，懸浮細胞，特殊樣本（骨骼，骨髓，血液單核細胞，類器官等），故在衆多生物研究領域的RNA定位和分佈中廣泛被使用。



在19年末20年新冠爆發之初，該技術在一個月內即完成了探針設計和生產，被應用於國內外科研領域對於該病毒在動物和人體中的分佈、擴增、致病以及治療後存在與否的研究之中。爲人們迅速瞭解新冠病毒的整個生物學致病機制起到了重要作用。實際上，該類應用在2015年前後北美茲卡(Zika)病毒大流行期間，美國CDC內多名流行病學家也是選用ACD的RNAscope技術對於茲卡病毒的生物學特性以及致病機制進行研究，分析其在胎盤，胎兒，母體各種器官中的分佈定位，並結合其他方法分析瞭解該病的致病機理。

除了病毒研究外，RNAscope技術在細菌的研究中也有其用武之地。

結核病是由結核分枝桿菌引發的一類慢性感染性疾病。據WHO 2020年統計數字顯示，全世界也有1000萬人患有結核病。即使在結核病有效治療的今天，每年也有150萬人死於結核病，是全球第13大死因，也是僅次於新冠的第二大傳染性殺手。在結核病的診斷中，需要鑒別結核分枝桿菌引發的感染，以及非結核分枝桿菌引發的感染，中華醫學會針對非結核分枝桿菌有獨立的抗感染診療方案推薦。爲了在診斷和鑒別診斷中區分結核以及非結核分枝桿菌，同時判斷其分佈特點，有中國科研團隊在使用ACD針對於結核分枝桿菌以及非結核分枝桿菌的探針在手術病人的石蠟切片樣本中對與結核分枝桿菌RNA以及非結核分支桿菌RNA進行了原位檢測。



發現在下圖1中，兩種分枝桿菌均大量分佈在病人的肺臟組織中（圖中紅色為使用RNAscope方法檢測到的分枝桿菌RNA）；在圖2中，絕大多數的感染病菌為非結核分枝桿菌，只有個別結核分枝桿菌的RNA被定位到；而在圖3中，雖然能夠觀察到陽性結核和非結核分枝桿菌的分佈，但是數量遠少於前兩個病例。值得一提的是，由於RNAscope檢測的目標是細菌的RNA，通常只有細菌活化時，才會產生大量RNA訊號。因此RNAscope方法不但可以定位結核分枝桿菌與非結核分枝桿菌在體內的分佈特點，更能夠體現該類桿菌是否屬於活化期還是靜止期，為疾病的診斷以及治療方案提供更多資訊和線索。

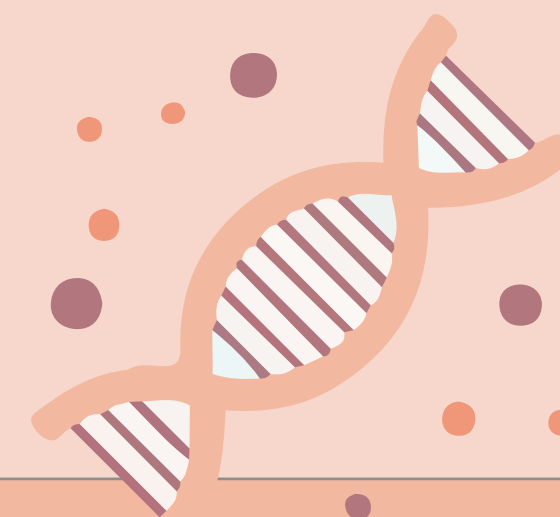


圖 1

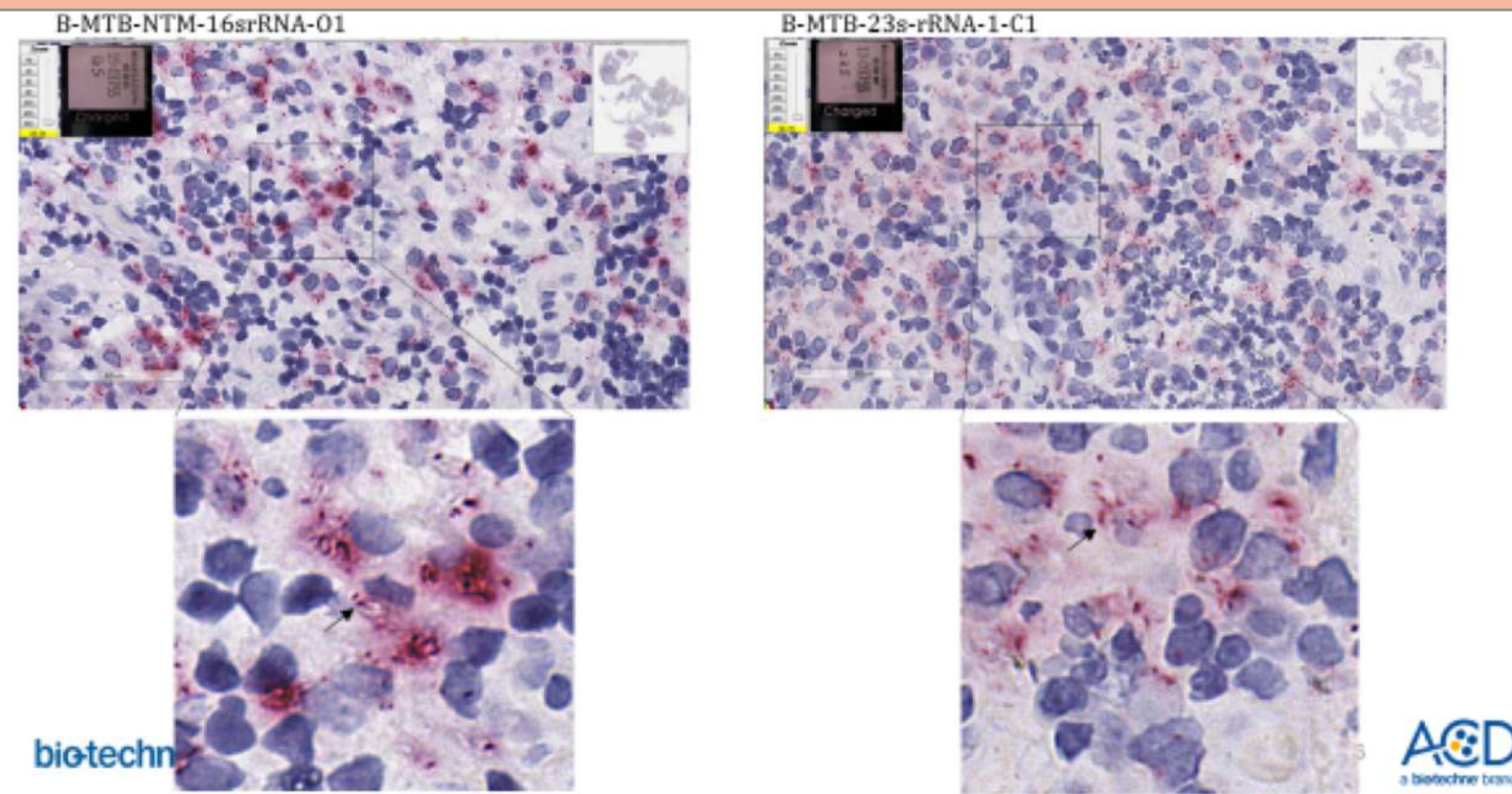


圖 2

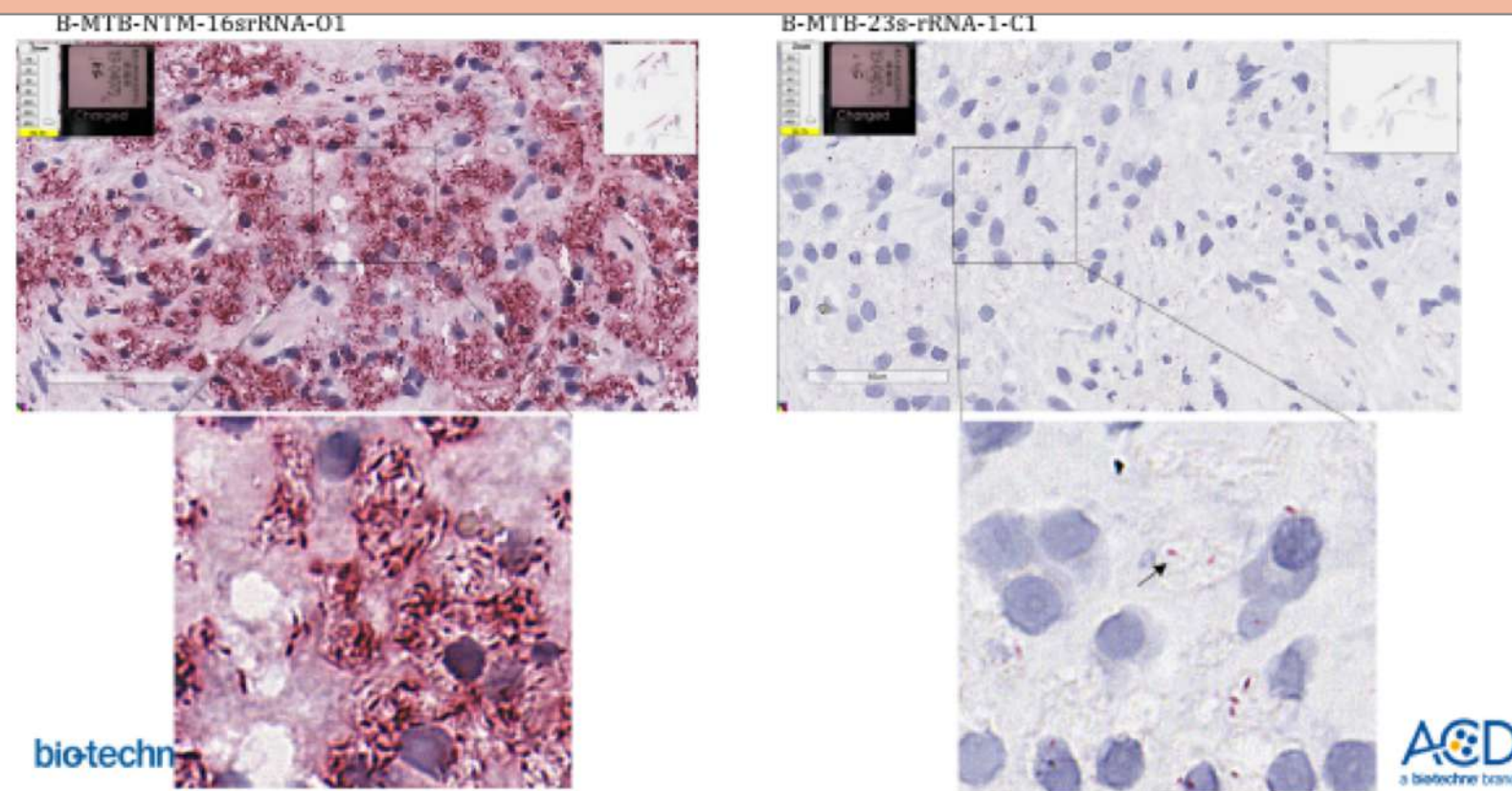
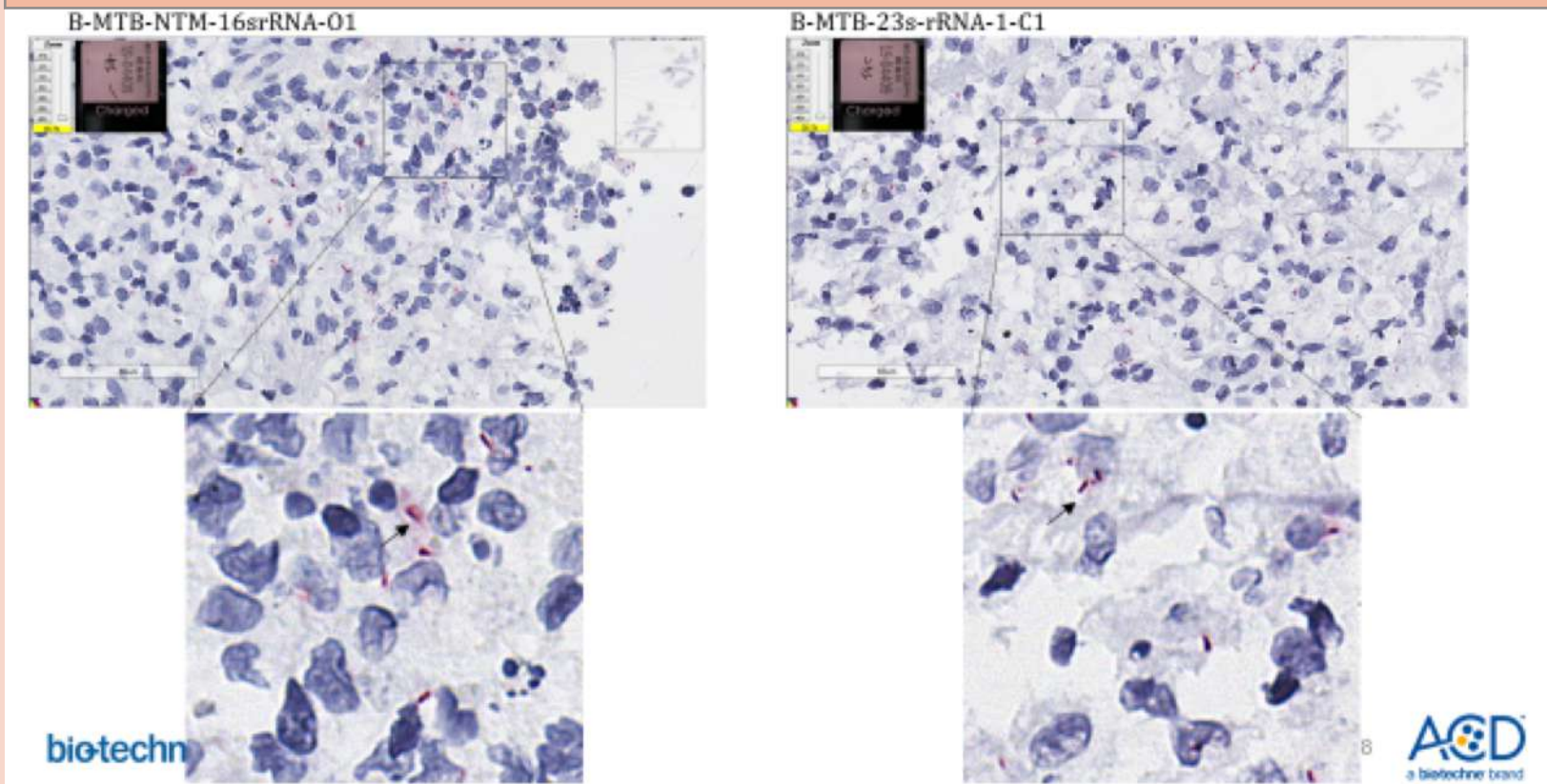
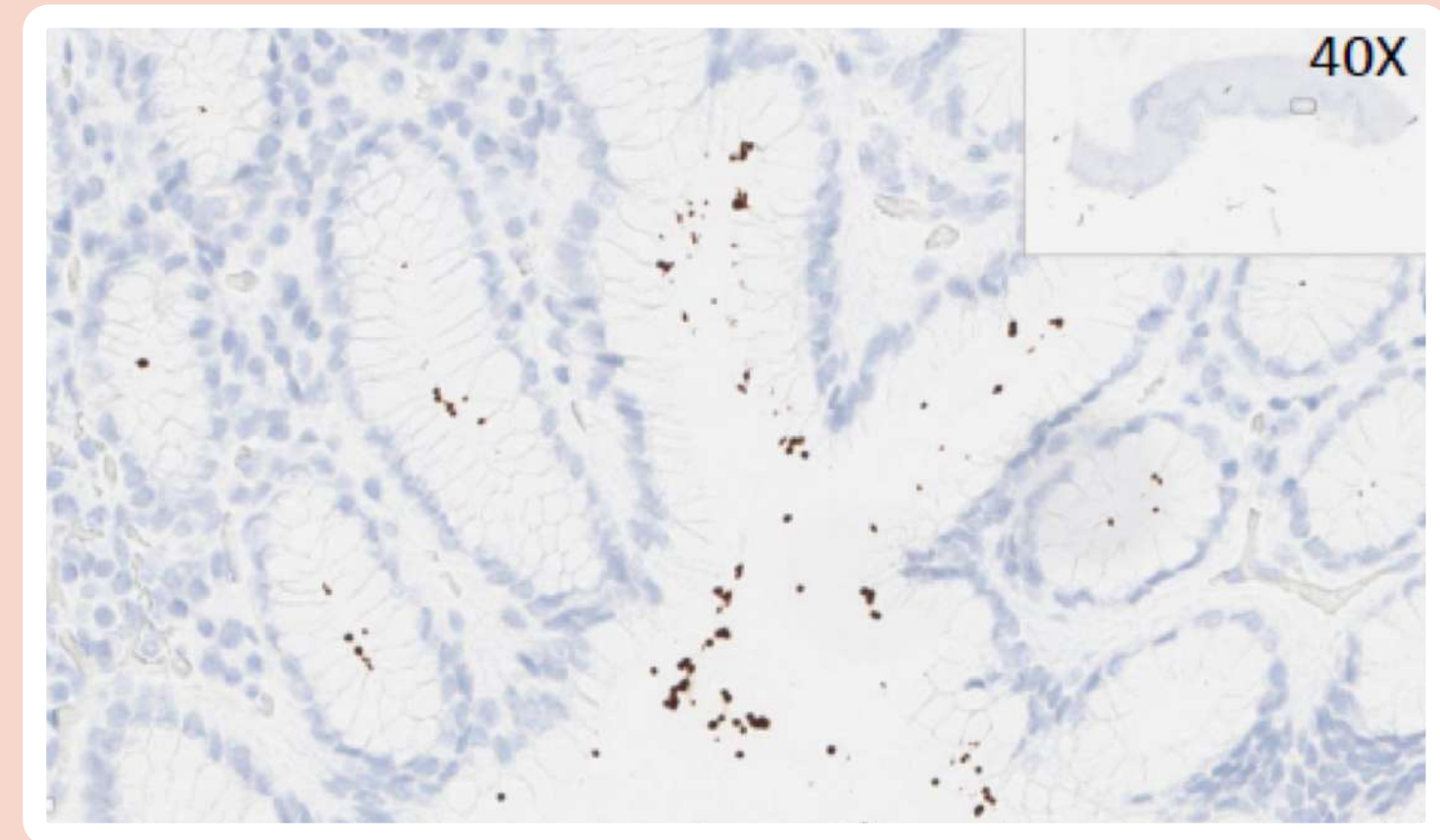
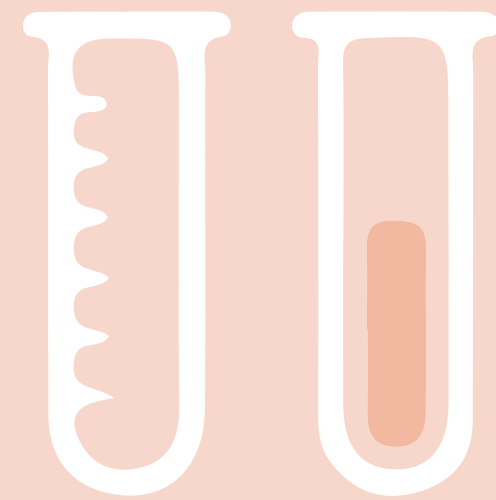


圖 3



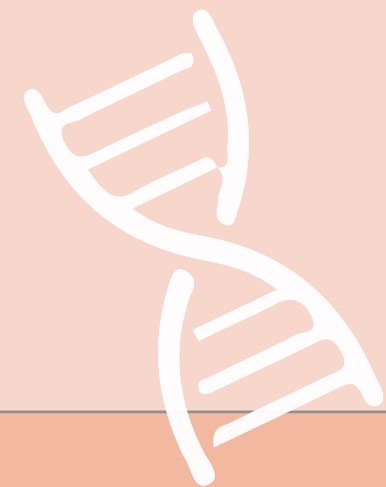
幽門螺桿菌是一種螺旋形、微厭氧菌。自從跟1983年被發現後，其與胃炎以及胃癌的研究逐漸被人們所認識到。在近年來的研究中，人們越來越認識到該細菌與胃癌的相關性。國內相關流行病學專家更是針對幽門螺桿菌與胃癌的發生，以及抗幽門螺桿菌在胃癌治療中的作用做了多方面研究。在下一步研究中，已經開始有國外研究團隊聚焦於幽門螺桿菌在病人體內的分佈及活化特點，以待研究其與胃癌的發生，進展以及治療方案的相關性。下圖為國外有客戶使用RNAscope技術，在病人胃鏡下的活檢中檢測到幽門螺桿菌的分佈特點，圖中棕色訊號為使用RNAscope方法檢測到的幽門螺桿菌的RNA。





RNAscope技術是由Bio-Techne旗下Advanced Cell Diagnostics (ACD)公司研發的RNA原位雜交產品，在近年來的生物檢測領域發展迅速。與傳統的RNA原位雜交相比，RNAscope技術屬於新一代RNA原位雜交技術，其特異性的雙Z探針設計避免了傳統長鏈RNA探針的弊端，配以自身級聯放大檢測原理，可以高效敏感地檢測到目標RNA。該方法的具體優勢如下：

1 應用廣泛:使用RNAscope技術，目標RNA為大於等於300個鹼基的特異序列，即可進行探針設計。因而RNAscope技術可以應用於幾乎所有物種，所有組織以及所有基因的檢測。

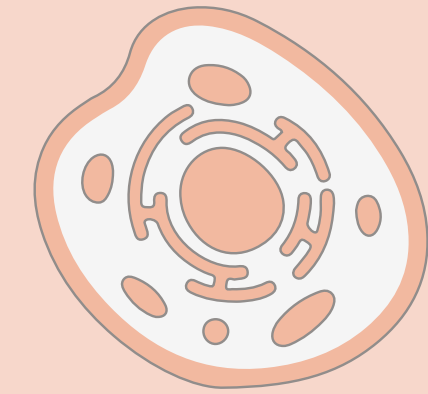




2 特異性強：RNAscope獨特的雙Z (ZZ) 探針設計有效的防止了探針的非特異性結合，同時降低了背景干擾。由於結合在非特異性位點的單個的Z探針不會產生完整的訊號放大分子結合位點，並會在雜交過程中被洗脫掉，從而防止非特異性訊號的放大，使得探針的訊號具有高度特異性。探針設計合成需要2~4週時間即可完成。

3 靈敏度高：RNAscope方法檢測每個RNA分子時，只需三對雙Z (ZZ) 探針即可完成雜交和訊號的觀察。





4 單分子檢測和單細胞定量:使用RNAscope技術雜交上三對及以上雙Z 探針即可在標準的顯微鏡下呈現可觀察到的點狀訊號。ACD公司提供的分析軟體更可以定量每一個單細胞內RNA 的表達水準。

5 兼容降解的RNA: 由於RNAscope三對雙Z探針即可檢測到目標RNA，而通常針對靶點RNA設計的探針為20對雙Z探針，因而即使目標RNA發生部分降解，仍可以穩定有效地檢測到靶點RNA。

6 檢測結果穩定一致性：RNAscope技術用到的探針以及所有檢測試劑全部由工業化合成，且該技術針對不同樣本類型（冰凍切片，石蠟切片，懸浮細胞，貼附細胞等）已經有成熟的實驗操作流程，故使得RNA-scope技術檢測結果具有穩定性和一致性。除了可以在實驗室進行手工操作外，該產品也可以在Leica以及羅氏Ventana自動平臺上運行，為結果的一致性和穩定性提供了可靠的依據。

7 多通道多目標同時檢測：由於RNAscope技術可以同時進行多通道探針雜交以及訊號放大，故在可見光檢測中可以在同一張切片上同時檢測兩個靶點；而在螢光檢測過程中，可以在同一張切片上檢測三個或三個以上靶點RNA。

