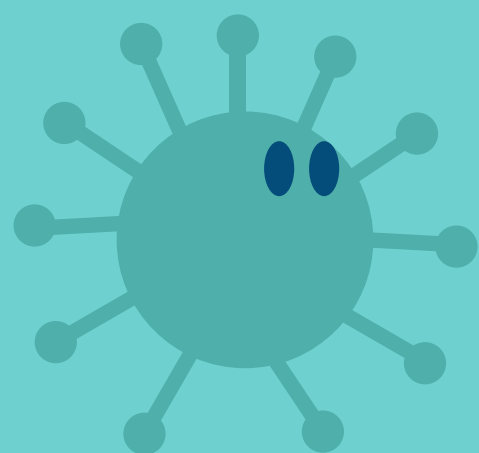
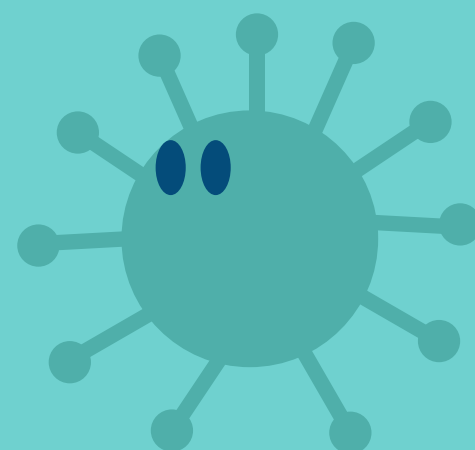
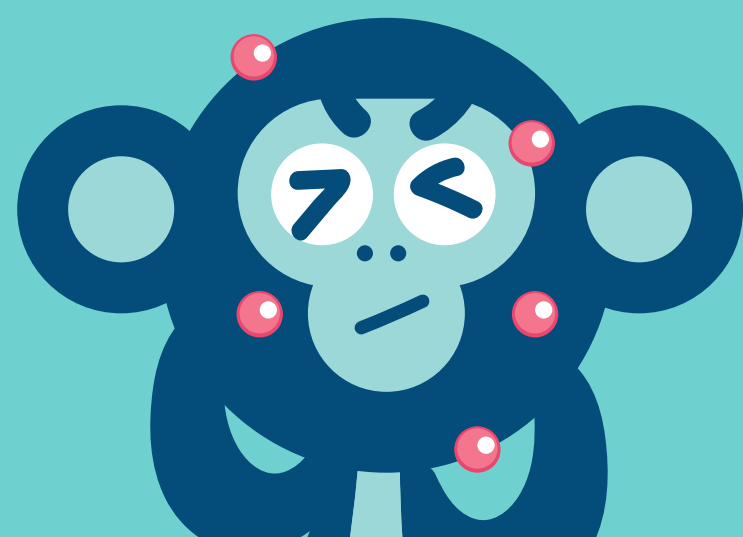


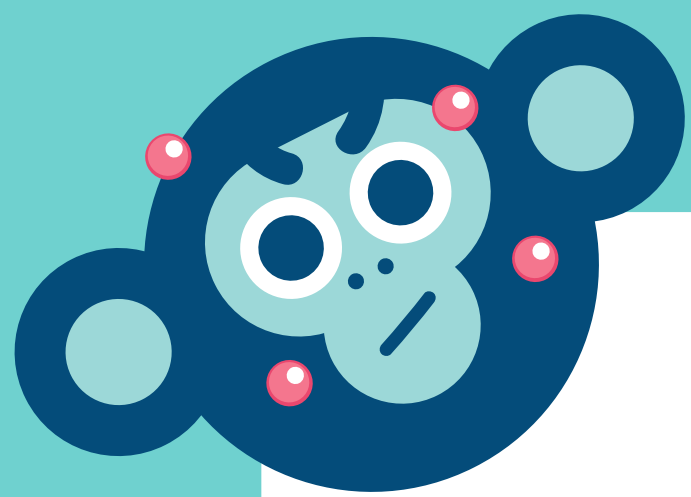


A&D
a biotechne® brand

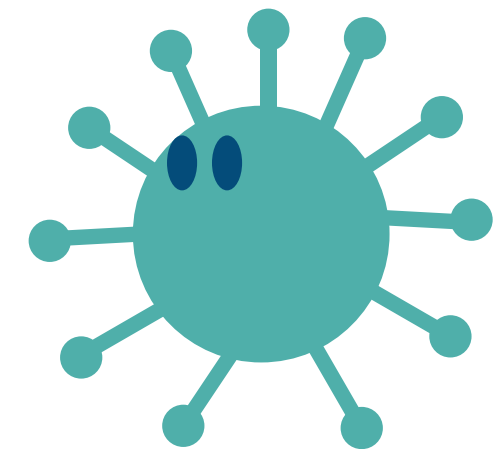


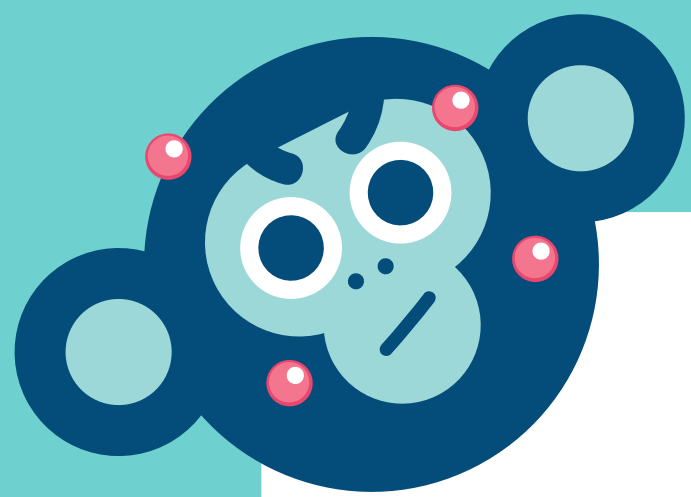
使用RNAscope對食蟹猴組織中猴痘病毒 進行特異性檢測及定位





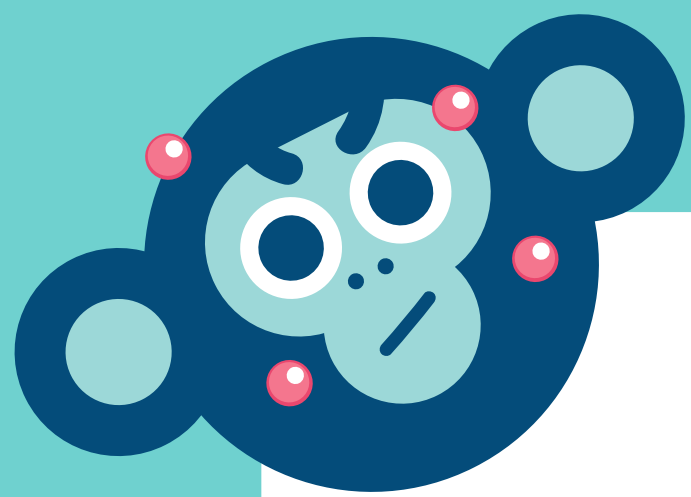
猴痘是由猴痘病毒(MPXV)引起的一類人畜共通傳染疾病，猴痘病毒是一種與天花病毒(VARV)十分類似的雙鏈DNA正痘病毒。1958年猴痘病毒首次被分離和命名分類，1970年，剛果民主共和國報告了首例猴痘傳染給人類的病例。感染人類的主要是2類猴痘病毒：分支I(中非或剛果盆地)，致死率(CFR)約10%；分支II(西非)，包括分支IIa和IIb，致死率<3%。在2022年造成全球流行的猴痘病毒經鑑定屬分支IIb，迄今已影響到超過120個國家。世界衛生組織(WHO)宣佈2022年猴痘疫情屬突發公共衛生事件。截至2022年9月9日，全球報告了超過54000例猴痘病例，其中包括死亡18例。



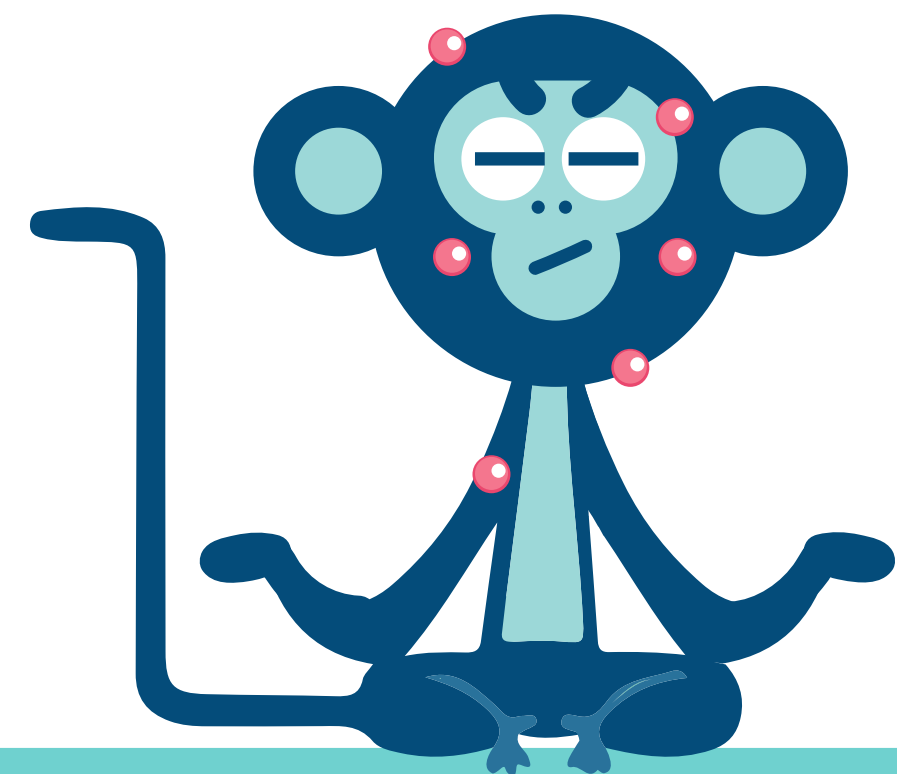


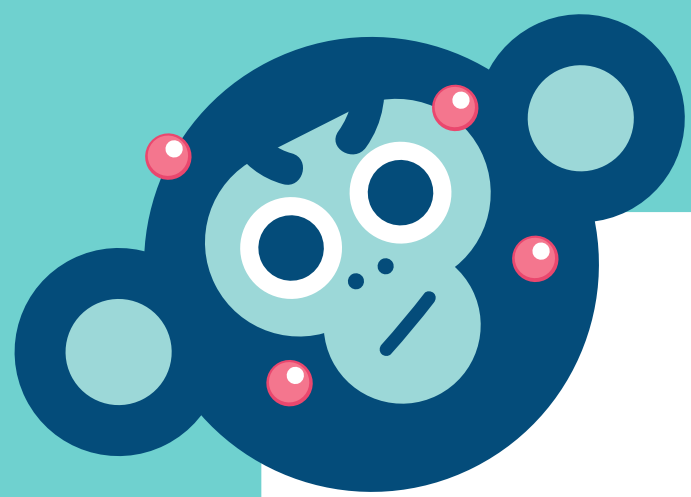
人類感染猴痘病毒的潛伏期可達21天，早期的臨床症狀以頭痛、發燒、淋巴結腫大為特徵。通過靜脈(IV)、氣管內(IT)或氣溶膠(AS)接種的食蟹獼猴是研究痘病毒發病機制(包括VARV和MPXV)以及評估疫苗和抗病毒治療效果的廣泛使用的模型。暴露於MPXV的食蟹獼猴通常會出現廣泛的水泡疹、發燒、厭食、抑鬱和淋巴結腫大。之前的顯微鏡評估顯示，在疾病的急性期，食蟹獼猴的許多器官系統中存在可檢測到病毒抗原的壞死性病變，多個淋巴器官中的淋巴耗竭，以及某些器官中的血管內纖維蛋白血栓和出血。存活的獼猴通常比死亡的獼猴病情較輕，並在暴露後20天左右恢復，出現結痂病變，無其他臨床症狀。





在當前的2022年疫情中，有證據表明MPXV的人傳人持續傳播可通過密切接觸(包括通過性接觸)進行。為研究猴痘病毒在生殖系統中的感染和持續性，美國陸軍傳染病醫學研究所的研究人員在Nature Microbiology上發表題為“Retrospective detection of monkeypox virus in the testes of nonhuman primate survivors”的文章，對既往感染猴痘病毒的食蟹猴樣本進行了回溯性研究。





[nature](#) > [nature microbiology](#) > [articles](#) > [article](#)

Article | [Published: 17 October 2022](#)

Retrospective detection of monkeypox virus in the testes of nonhuman primate survivors

[Jun Liu](#), [Eric M. Mucker](#), [Jennifer L. Chapman](#), [April M. Babka](#), [Jamal M. Gordon](#), [Ashley V. Bryan](#), [Jo Lynne W. Raymond](#), [Todd M. Bell](#), [Paul R. Facemire](#), [Arthur J. Goff](#), [Aysegül Nalca](#) & [Xiankun Zeng](#) 

[Nature Microbiology](#) **7**, 1980–1986 (2022) | [Cite this article](#)

4033 Accesses | **1** Citations | **260** Altmetric | [Metrics](#)

研究人員在感染的猴子睪丸組織中，分別使用抗體和RNA scope對猴痘病毒抗原及特異性D1L轉錄本進行原位檢測(圖1)。猴痘病毒與天花病毒同源性較高，抗體均能驗出感染猴痘和感染天花的猴子睪丸中的抗原，但針對猴痘病毒特異性D1L序列進行設計的探針則可以特異性的檢測出樣本中猴痘病毒核酸訊號，證明在感染猴痘病毒的食蟹猴睪丸組織中，有病毒的感染(圖1b, 圖1d)。

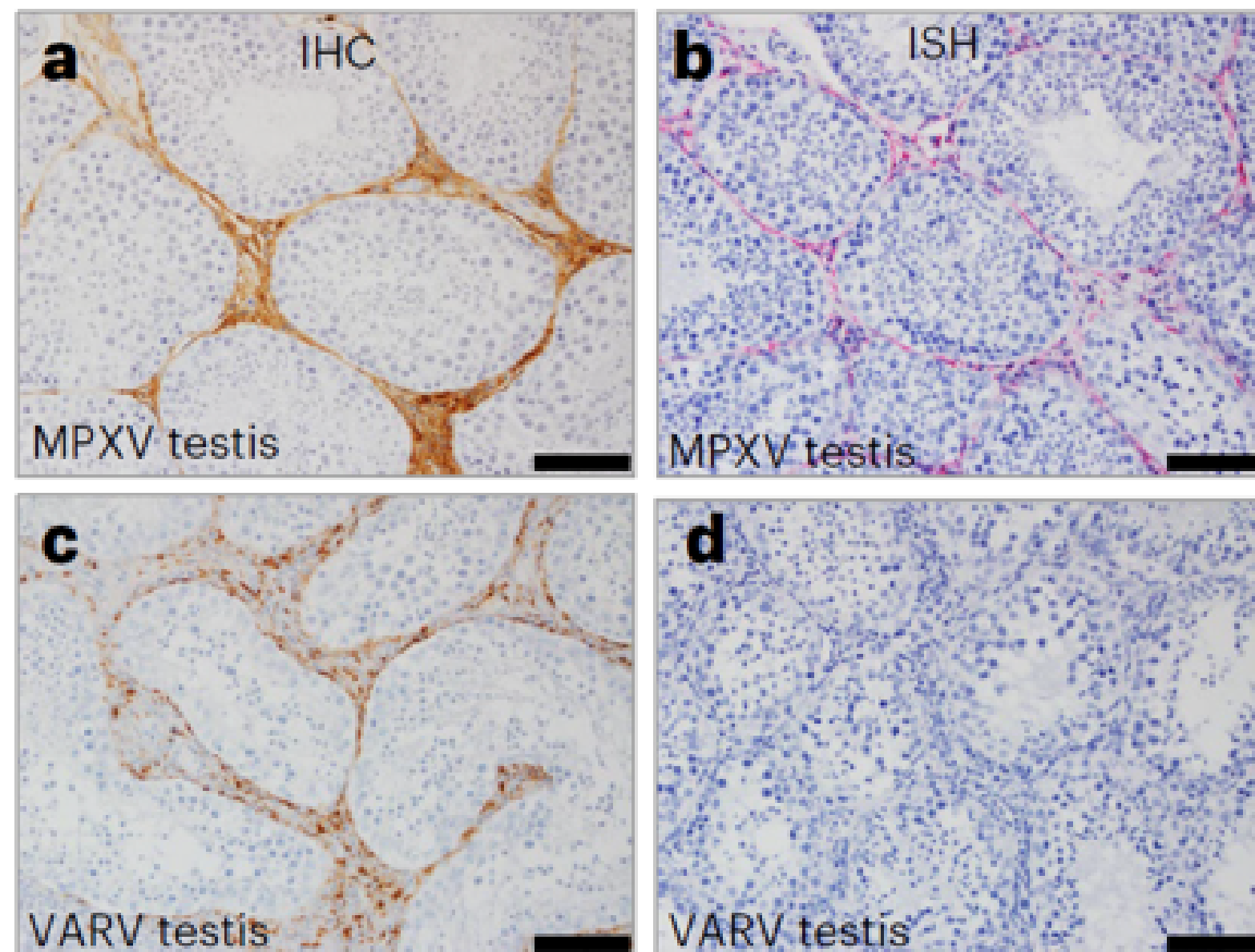
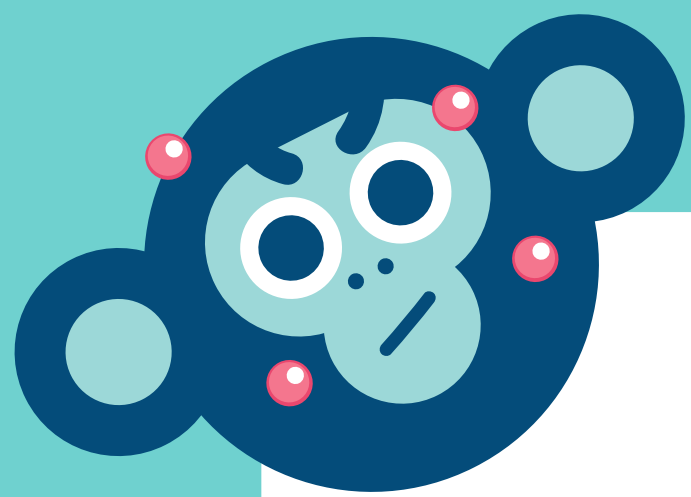
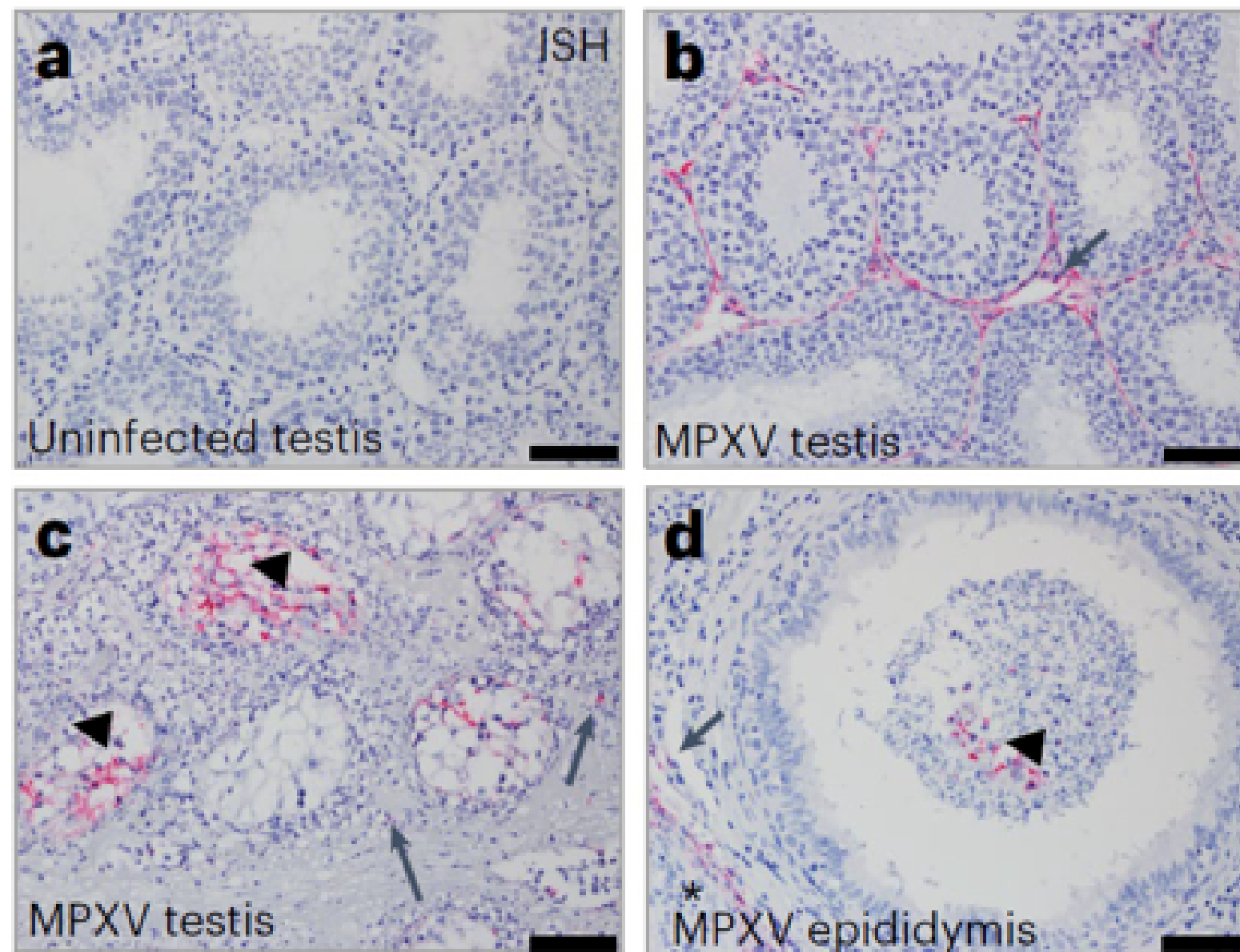
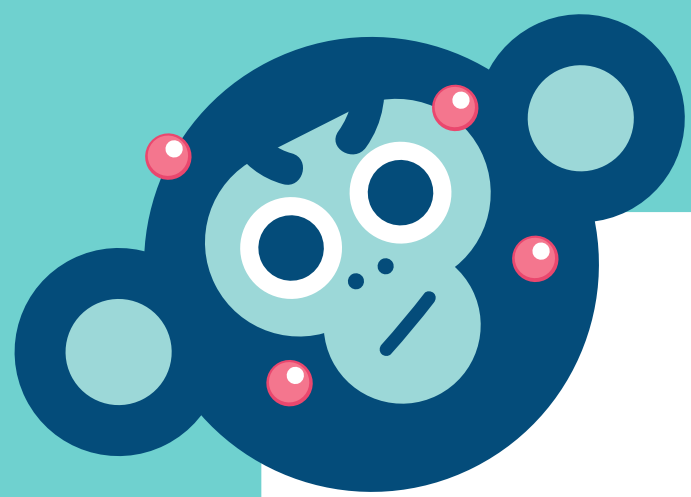


圖1.使用IHC和RNAscope分別對感染猴痘和天花的食蟹猴睪丸組織進行原位檢測。



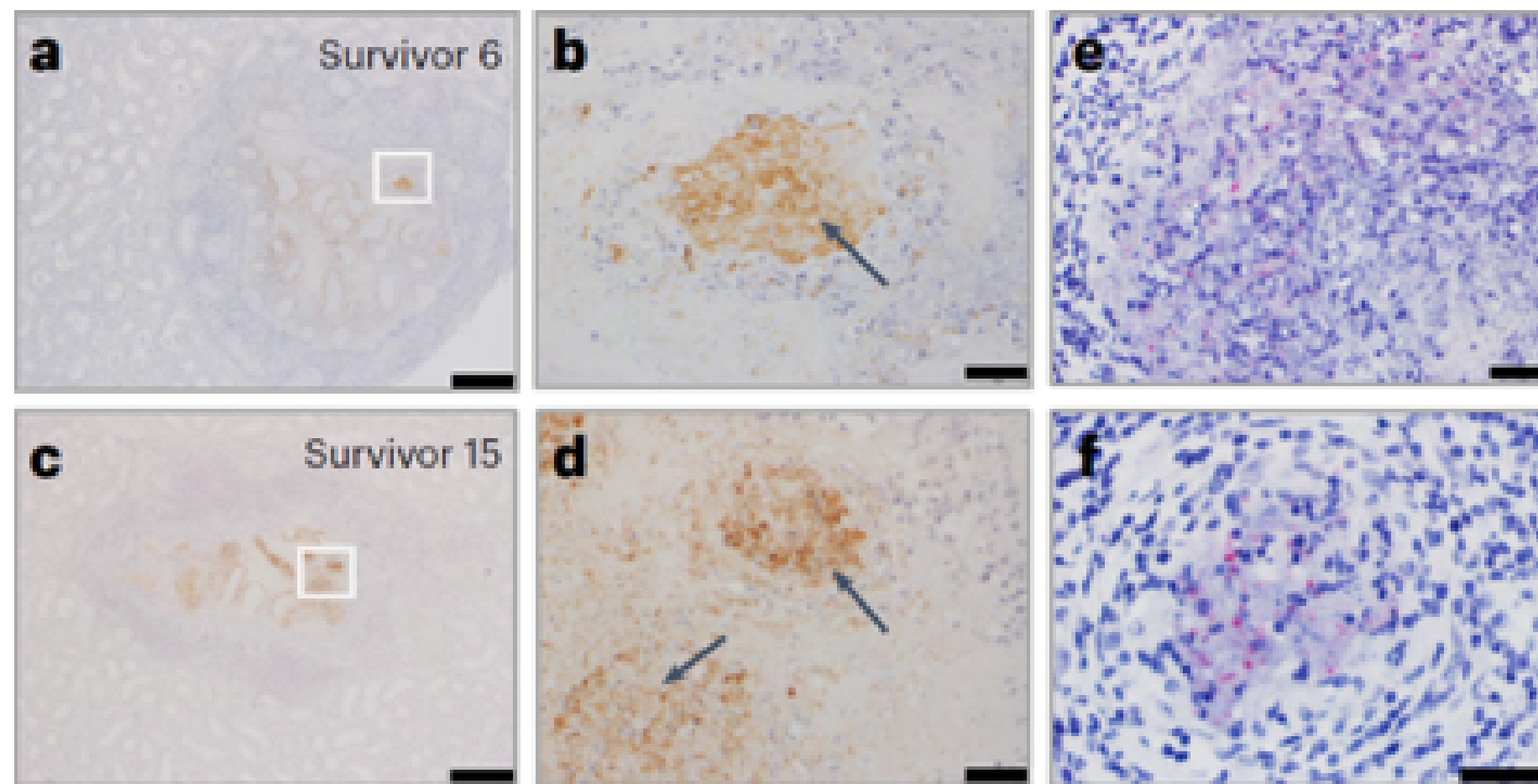
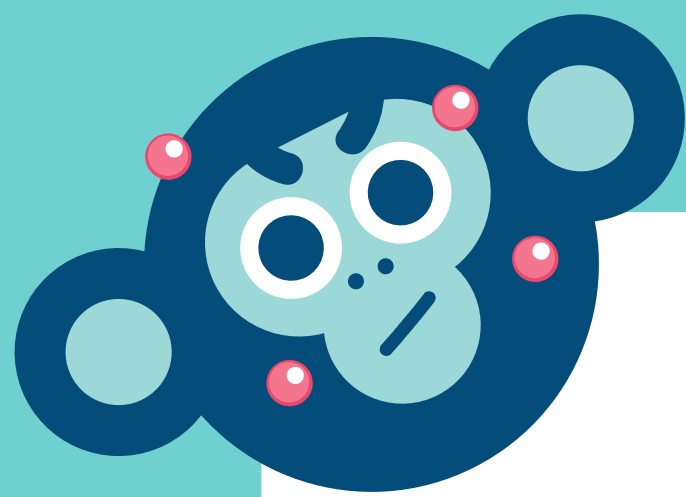


猴痘特異性RNAscope進一步證實了辜丸間質組織(圖2a-c, 箭頭)和曲細精管(圖2c, 三角)以及附辜固有層(圖2d, 箭頭)、管腔(圖2d、三角)和導管上皮(圖2d, 星號)的感染。

圖2. 辜丸輸精管中的猴痘病毒。在對感染猴痘病毒但倖存的食物蟹猴辜丸組織樣本的原位IHC和RNAscope檢測中發現，IHC染色信號主要出現在兩例存活動物辜丸肉芽腫壞死中心區，包括壞死的輸精小管

在對感染猴痘病毒但倖存的食物蟹猴辜丸組織樣本的原位IHC和RNAscope檢測中發現，IHC染色信號主要出現在兩例存活動物辜丸肉芽腫壞死中心區，包括壞死的輸精小管

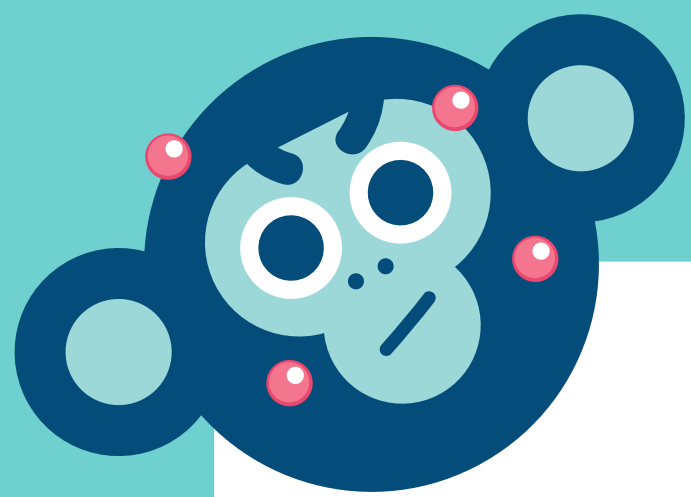




在對感染猴痘病毒但倖存的食蟹猴睪丸組織樣本的原位IHC和RNAscope檢測中發現，IHC染色信號主要出現在兩例存活動物睪丸肉芽腫壞死中心區，包括壞死的輸精小管(圖3，a-d)。MPXV特異性RNA ISH進一步證實了睪丸肉芽腫的感染(圖3e，f)

圖3.猴痘病毒在倖存食蟹獼猴睪丸中的持久性感染。

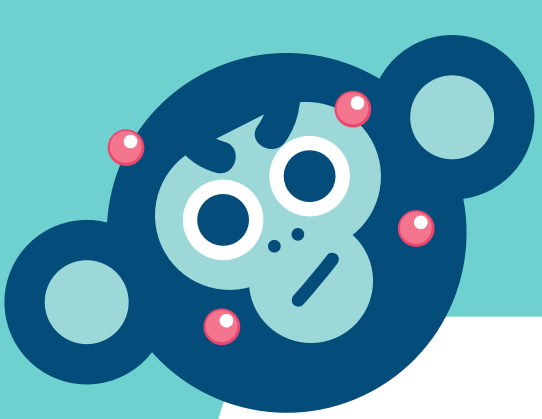




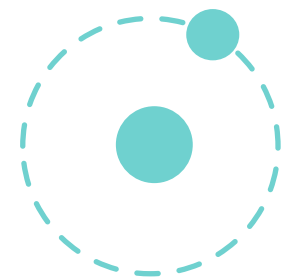
除了猴痘病毒外，RNAscope也可以針對其他各類病毒進行特異性核酸探針設計，在組織原位實現對病毒核酸的特異性檢測。以往的研究涉及肝炎病毒、愛滋病毒、HPV、MERS-CoV、EB病毒、CMV及新冠病毒等。

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檢測。

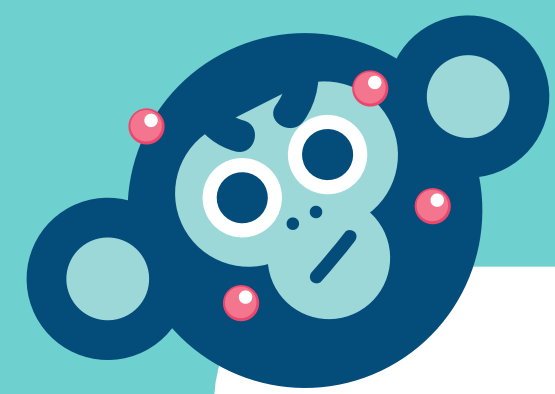




4 單分子檢測和單細胞定量：使用RNAscope技術雜交接上三對及以上雙Z探針即可在標準的顯微鏡下呈現可觀察到的點狀訊號。ACD公司建議的分析軟體更可以定量每一個單細胞內RNA的表現量。

5 相容降解的RNA：由於RNAscope三對雙Z探針即可檢測到目標RNA，而通常針對目標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目標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（冷凍切片，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RNAscope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目標；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目標RNA。

在RNAscope技術的基礎上，ACD公司旗下的Basescope技術可以檢測RNA層面的外顯子跳躍，點突變，環狀RNA等；miRNAscope可以原位對小分子RNA，包括miRNA，siRNA，ASO進行追蹤定位；而近年來推出的RNAscope HiPlex技術則可以在一張石蠟切片上同時檢測最多12個RNA目標的分佈定位，成為神經科學，腫瘤微環境研究以及單細胞定序後驗證等領域的常用檢測方法。

