

OmicsArray™ 自身抗体检测服务指南

GeneCopoeia, Inc. 广州易锦生物技术有限公司

广州高新技术产业开发区广州科学城

掬泉路 3 号广州国际企业孵化器 F 区 8 楼

邮编：510663

电话：4006-020-200

邮箱：sales@igenebio.com

网址：www.genecopoeia.com

www.igenebio.com

© 2018 GeneCopoeia, Inc.

一. 自身抗体检测服务概述

在自身免疫性疾病发生、发展的过程中，引起自身免疫应答的自身组织成分被称为自身抗原，包括隐藏的自身抗原（在胚胎期从未与自身淋巴细胞接触过，机体不能识别为自身物质）和修饰的自身抗原（在感染、药物、烧伤、电离辐射等因素影响下，自身组织的构象发生改变，成为自身抗原）。机体产生自身抗原时，由于免疫系统将其识别为异己部分，会产生对应的自身抗体进行抵抗。研究表明，自身抗体与多种自身免疫性疾病和免疫系统失调有关，已发现相当多的自身抗体与某些特定的疾病相关联，并由此成为某种疾病的标志抗体。此外，自身抗体在疾病表型显现的前期往往已经产生，并且表达量通常随着病情的演化呈现出一定的趋势，是一类重要的疾病生物标志物，极具早诊价值。越来越多科研人员将目光定格在自身抗体相关标志物的研究上，力求在自身抗体层面建立诊断、预后、药效评估的多参数模型。

在自身免疫相关的研究中，越来越多的现象和证据显示，免疫反应是基因与蛋白质共同参与的复杂网络协同作用的结果。虽然已有一些技术来分析这些基因和蛋白质的相互作用，但对适应性免疫的分析还存在一个额外的挑战：它激活的是对目标抗原具有不同亲和力和特异性的 T/B 细胞群体。此外，与感染或自身免疫性疾病相关的免疫反应针对的不是一种而是多种抗原。因此，使用高通量的检测方法来监测免疫反应性变得十分必要。自身抗原芯片就是顺应这一需求而开发出来的产品。

OmicsArray™ 自身抗原芯片是以自身抗体作为研究对象，其原理是将经过验证的多种自身抗原固定于硝酸纤维素基质的玻璃载片上制成微阵列，再与各种不同的体液样本孵育（如血浆、血清、淋巴、尿液、间质液、渗出液、细胞溶解液、分泌液等），经过洗涤、荧光二抗孵育、数据提取等步骤，获得样本中自身抗体的相关信息。它是一种高通量的检测分析技术，只需 10-100ul 的样本即可完成对上百种自身抗体的同步检测，十分契合自身免疫相关研究的需求。此外，自身抗原芯片还具有平行、快速、自动化的优点，且检测到的平行数据误差更小、更准确，这对于高通量的研究具有非常重要的意义。使用抗原芯片分析自身抗体图谱可对自身免疫性疾病、过敏、肿瘤反应、接种疫苗和感染的免疫反应进行大规模分析，是发现具有临床价值的抗体标记和新的疾病发病机制的有力工具。

目前，我们已成功开发针对常见自身免疫病，过敏性疾病，传染性疾病，脑神经失调或神经障碍，癌症等的自身抗原芯片，并广泛应用于肿瘤及相关疾病的研究中，包括：疾病诊

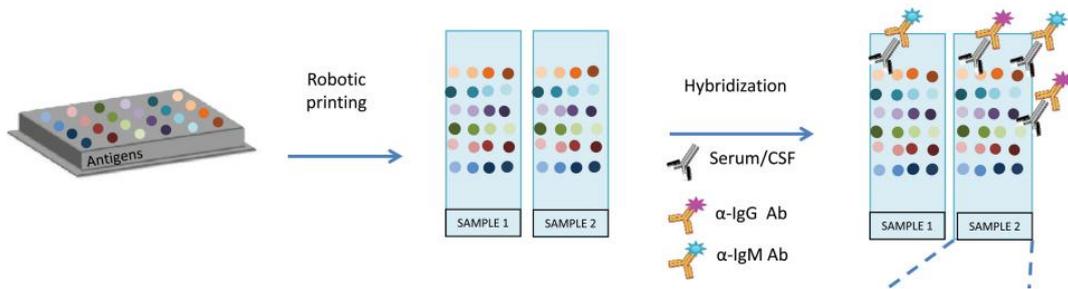
断、疾病进程监测、免疫治疗效果评估、器官移植效果评估，药物筛选、提供个性化治疗等等。

二. 自身抗体检测平台

2.1. 自身抗体检测原理

自身抗原芯片的检测原理主要是基于抗原抗体特异性非共价结合，并使用荧光标记的二抗来反映体液样本中自身抗体的结合情况。

将已知的自身抗原预先固定在硝酸纤维素基质上，制成自身抗原芯片，将体液样本（如血清，脑脊液）加入到芯片上一起孵育，样本中特异性的自身抗体会与芯片上的自身抗原结合，然后与荧光标记的二抗一起孵育，清洗后通过芯片扫描仪对荧光信号进行检测。基于荧光标记建立的自身抗原芯片，其结果的动态范围从 1 - 65000，这样宽泛的动态范围，保证了检测具有极高的灵敏度，检测浓度可以低至 1-10pg/mL。



2.2 用自身抗原芯片检测自身抗体的灵敏度和重复性

蛋白质芯片常被看做是微型化的 ELISA。在进行检测时，微型化允许较高的总体灵敏度，不仅可以保持样品所能达到的最高浓度，而且由于扩散距离短，反应时间也会相应缩短。

相比于典型的 ELISA 中的比色法读数，蛋白质芯片中基于荧光的信号检测提供了更低的检测限(低至 1 pg/mL)和更宽的动态范围(高达 5 个数量级)。

除了比 ELISA 法具有更高的敏感性外，蛋白质阵列在多重性方面也有优势，因为成千上万的蛋白质可以被重复点在玻片上并同时进行分析。

综上，考虑到高多重性的优势，以及高通量、低样品消耗、显著的敏感性和蛋白质阵列良好的重复性，蛋白质芯片现在已被证明非常适合用于自身抗体标志物的发现。

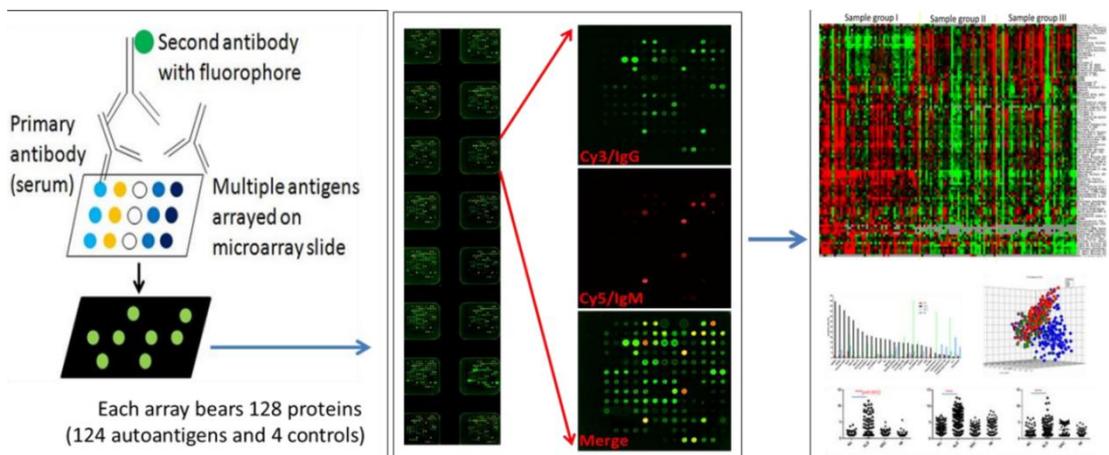
不过，在建设有效的研发平台时，一些重要的因素需要仔细考虑，比如使用的蛋白表达系统和表面化学修饰方式等，以确保仅有那些真正有生物学意义，并具有转化为临床应用潜力的自身抗体标记物能被发掘出来。

2.3 自身抗原芯片的主要应用

抗原芯片在肿瘤、自身免疫性疾病中的应用，包括疾病诊断，监控疾病进程及治疗效果，致病机制研究，为病人提供个性化治疗等。

- 自身免疫性疾病（Autoimmune Diseases）：如：系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、糖尿病、混合结缔组织病、Sjögren 综合症、硬皮病、多肌炎等等；
- 过敏性疾病（Infectious diseases）
- 传染性疾病（Allergic Diseases）
- 脑神经失调或神经障碍（Neurological disorders）
- 癌症生物标志物和免疫调节治疗毒性监测（Cancer biomarkers and Immune-regulatory therapy toxicity monitoring）
- 器官移植效果评估（Organ transplantation outcome evaluation）
- 药物筛选和临床试验（Drug screening and clinical trail）

2.4 技术流程



三. 蛋白芯片服务

广州易锦生物技术有限公司提供用于转化医学研究的 OmicsArray™ 自身抗体检测芯片服务。

3.1 服务优势如下：

- ① **有效性：**所使用抗原均经过测试，有已发表的数十篇文献证明其有效性；
- ② **高多重性：**与传统的 ELISA 法每孔检测 1 个抗体相比，自身抗原阵列每孔可检测>120 个自身抗体；
- ③ **高通量：**每张玻片可同时处理 16 个样品，多张玻片可并行操作；
- ④ **高灵活性：**结合不同抗原(蛋白质、多肽、核酸等)，检测不同类型和亚型的抗体，易可依据客户需求定制；
- ⑤ **小样本量：**5ul 血清或其他体液即可满足；
- ⑥ **高灵敏度：**结果的动态范围在 1-65000；
- ⑦ **半定量：**基于标准曲线的相对定量。

3.2 可提供的用于自身抗体检测的抗原芯片种类：

- ① **自身抗原芯片：**包含经过验证的 124 种人类自身抗原；
- ② **神经系统抗原芯片：**包含经过验证的 120 种神经系统疾病相关抗原；
- ③ **磷脂蛋白相关抗原芯片：**包含经过验证的 118 种磷脂相关抗原；
- ④ **过敏原抗原芯片：**包含来源于食物、灰尘、宠物、螨虫、昆虫、花粉等 75 种常见过敏原；
- ⑤ **病原体抗原芯片：**包含来源于病原体的 120 种抗原。

3.3 服务流程

蛋白芯片服务的流程如下图：



3.4 分析报告内容

蛋白芯片服务提供的结果报告，内容主要包括蛋白芯片扫描图、杂交信号强度值、差异分析及聚类分析等。报告及分析内容和客户提供的信息资料、样本数量等，密切相关。

❖ 报告热图举例：

客户提供 15 份系统性红斑狼疮，15 份其他自身免疫性疾病和 5 份健康人血清，要求按照检测结果对样本进行分类。

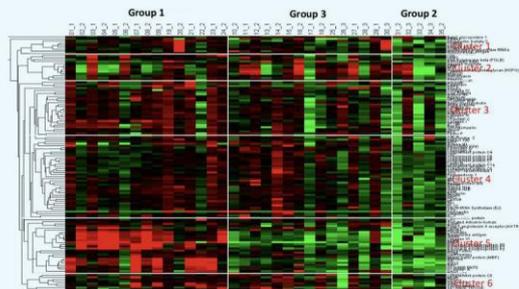
Collaborative Service Partial Data Report Example

Clustering of IgG Autoantibodies by Using Autoimmune Disease Associated Autoantigen Microarray (Panel 1)

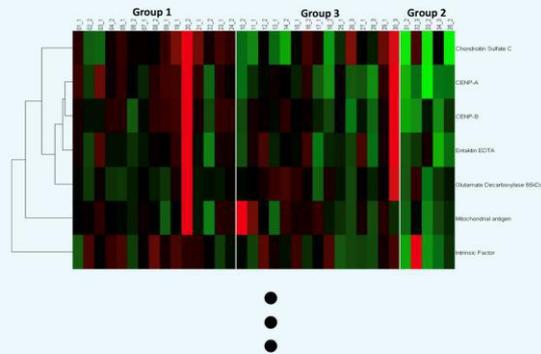
Samples: 35 Serum Samples from 3 Groups
(double blind experiment)

结论:
Group 1 (系统性红斑狼疮): 1-9, 19-24
Group 2 (健康): 31-35
Group 3 (其他自身免疫 性疾病): 11-18, 25-30

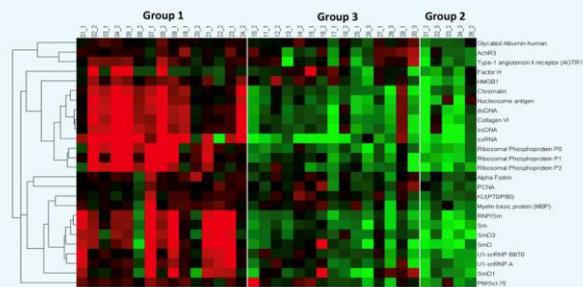
Clustering of 120 IgG autoantibodies



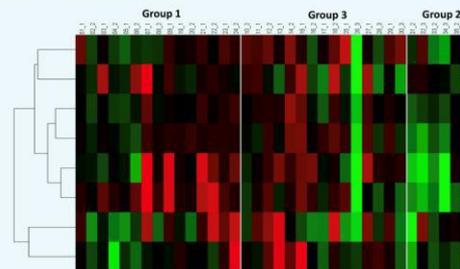
Antigen Cluster 1



Antigen Cluster 5



Antigen Cluster 6



Conclusion

From the autoantibody profile, we have the conclusion that group 1 are SLE patients, group 2 are the normal control while Group 3 are the other autoimmune disease patients.

3.5 服务周期

按照客户提供样本数量及数据，服务周期协商确定。

附录 样本要求及寄送要求

1. 适用于自身抗原芯片检测的常见样品

血浆、血清、淋巴、尿液、间质液、渗出液、细胞溶解液、分泌液等体液均可用于自身抗原芯片检测分析。

2. 样品的收集方法

- a. 血清：采用不含抗凝剂的采血管采集全血，4℃放置 30-45min 后，4℃3000rpm 离心 10min，取上清，存于-80℃冰箱；
- b. 血浆：采用抗凝剂的采血管采集全血，4℃放置 30-45min 后，4℃3000rpm 离心 10min，取上清，存于-80℃冰箱；
- c. 尿液：收集不添加稳定剂的尿液样本后，4℃10000rpm 离心 1min 或 5000rpm 离心 2min，取上清，在干冰/甲醇浴中快速冷冻，储存在-80℃备用。

3. 样本量

为保证实验的顺利进行，体液样本的样本量请 ≥ 50 ul。

4. 样本寄送要求

- a. 体液样本请优先保存于干冰中寄出，干冰用量需足够以确保寄到时仍有干冰剩余；
- b. 不能使用干冰的情况下请使用冰袋，冰袋数量需足够以确保寄到使样本温度低于 4℃；
- c. 快递发出后请于当天将快递单号或专业化冷链物流托运单号及时告知乙方；
- d. 收货后乙方会对样品到达状态拍照，若样本送达状态不佳，可能需重新寄送。

附录 FAQs

1. 在使用抗原芯片检测样本前，需要做哪些准备工作？

请在实验之前与售前进行充分沟通，说明实验目的，样本情况，以明确我方是否能满足您的需求以及确定实验方案。

2. 抗原芯片上都有哪些抗原？

抗原芯片上的抗原，全部是来自于文献报道的自身抗原。对于每种不同类型的抗原芯片，我们已展示相关抗原 20 个，在您确定签署相应服务协议后，我们会给您提供全部的抗原及相关信息，在您使用自身抗原芯片的检测结果发表文章之前，请勿对第三方展示此信息。

3. 使用抗原芯片检测时，对样本数量有什么要求？

a. 由于每张芯片上有 16 个 block，其中一个用来做 PBS 对照，剩下 15 个用来孵育样本。所以客户所送样本的总数量最好为 15 的倍数，这样可以充分保证芯片的使用效率，避免让客户分担相应的损失成本。

b. 理论上每个不同的检测组最低需要 3 个样本才能满足统计学上重复性的要求。在此基础上，样本越多，其结果对检测组的代表性越高。为了保证结果的可靠性，推荐不同检测组样本量 ≥ 30 。

4. 抗原芯片的灵敏度、重复性、动态检测范围怎样？

抗原芯片采用荧光检测，其灵敏度要比 ELISA(比色法)、Western (化学发光法) 更加灵敏和稳定。片内和片间的技术重复相关系数 R^2 均可以达到 0.9 以上。动态检测范围在 1-65000。动态范围越大，说明所能检测的信号层次就越多。

4. 芯片定制的流程是什么，定制芯片的价格如何？

如果您需要定制芯片，我们先需要与您就以下问题进行充分沟通：

a. 抗原的知识产权情况（是来自于已公开发表的论文还是已受专利保护等），我们仅能提供不涉及专利保护的抗原定制检测；

b. 抗原的基本信息（是全蛋白还是肽段，分子量，结构域，是否为膜蛋白等）；

c. 您是否能提供满足定制芯片要求的抗原；

d. 若需要我方提供待检抗原，相应费用及实验周期需另外核算。

5. 是否可进行预实验，预实验样本如何收费？

客户可以选择是否需进行预实验，若进行预实验，客户可提供 15 例样本（需符合样本要求），若您后续继续签署服务，且预实验的数据可用，再记入正常样品收费。

6. 芯片实验结果与 WB 结果不一致，该如何理解？

a. 这个差异也许与检测手段不同相关，芯片用的蛋白为非变性蛋白，和 WB 有所差别；芯片的杂交体系为抗原捕获抗体，与 WB 的抗原转膜后与抗体孵育也稍有差别，因此也许会造成部分差异；

b. 需要客户提供 WB 验证的结果图，以便我们更好的分析分析客户验证的指标在芯片上的图像和数据情况；

7. 抗原芯片检测结果是不是可以直接发文章？

目前应用自身抗原芯片发表的研究类文章已经非常多。我们的自身抗原芯片已在全世界近百家医疗科研和医药企业得到广泛应用，已独立或和用户合作发表了几十篇论文。其中高影响因子的论文含数十篇。蛋白芯片技术可以极大提高科学研究的效率，更能够获得较为全面的数据，以在研究中得到创新的结果和结论，是科学论文发表的加分项。