

INNOPSYS InnoScan 於病毒研究之關鍵腳色

病毒、細菌或寄生蟲與細胞表面受體的結合是感染的第一步。此外，在疫苗或是新藥開發上，宿主與病原體的交互作用、病原體研究抑或是宿主的免疫反應都是需要考量的。許多研究也指出細菌與病毒攻擊細胞的作用也與細胞表面的醣鏈有關，宿主細胞和病毒的表面皆有許多複雜聚醣(Glycan)覆蓋，因此感染路徑可分為兩種：(1)細胞表面的 Glycan 充當受體，病毒可藉由表面糖蛋白（例如流感病毒）與宿主細胞表面的 Glycan 結合，進入宿主細胞 (2)病毒表面的 Glycan(例如登革熱)可與宿主細胞表面的醣蛋白結合，進而誘發下游反應。醣蛋白也扮演著細胞彼此辨識的功能，像是辨識血型抗原，或是細胞移植排斥相關研究都與醣分子有很大的關連性。目前已知有超過 3000 種醣分子會影響動物的生理反應，由此可知醣蛋白對於細胞分化甚至是癌症中扮演著重要的角色。

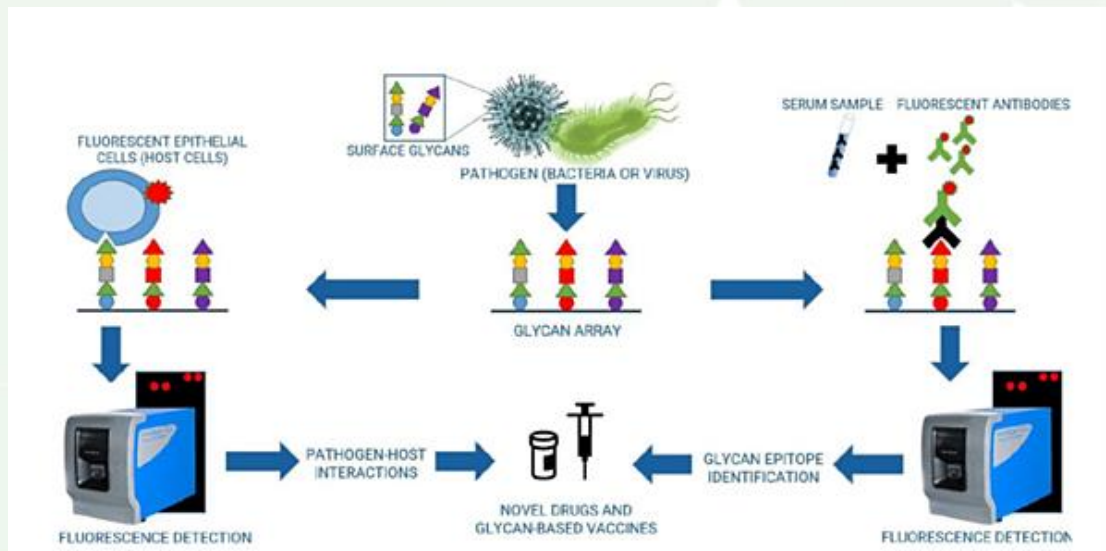


圖1. 微陣列晶片與螢光掃描儀於探討病原菌感染之應用。

偵測病原菌感染機制也可利用微陣列晶片搭配螢光掃描儀進行。微陣列晶片為已知的高密度生物分子(核酸、蛋白質或聚醣)規則排列在玻璃晶片上，與生物性樣品(血清、血液或是體液等)培養後，再利用螢光分子標記，搭配螢光掃描儀，例如: InnoScan 共軛焦掃描儀，即可快速檢測其結果，得知樣品中數十種或是數百種生物分子之變化。

DNA microarrays 為晶片上標定核酸。常見方式為在晶片上標定不同的病毒蛋白，當血清與晶片反應時，可得知其樣品是否感染病毒，通常可同時偵測 100 種不同病毒。2015 年， Martinez 等人

設計一種胃腸道 DNA 晶片，標定 10 種不同常見的腸胃道病毒，其結果解釋與 RT-PCR 結果具有高度專一性¹。此外 Khan MJ 等人開發的 SMAVirusChip，可偵測 416 種病毒蛋白，其中包含了登革熱與茲卡病毒(Zika viruses)，作者也同時比較與 RT-PCR 之結果，發現靈敏度更降低 1 個 log，表示 DNA array 可作為血液中病毒監視與篩選之工具²。Sultankulova 等人則是利用 DNA array 可標定多種 DNA 之特性，利用 860 個來自 37 鳥類家族的樣品，搭配 InnoScan 710 scanner 偵測，建立起禽流感病毒基因庫⁴。

另外，Glycan array 為探討病原菌感染機制最常見的晶片，將 Glycan 藉由共價結合於玻璃晶片上，這樣子的晶片除了可與常見的生物性樣品(血清、血液或是體液等)反應外，也可以與病毒或是其他致病菌樣品反應，探討其交互作用，目前已知有 300 種不同的聚糖可標定在晶片上，並在利用螢光分子辨識樣品，後續可利用螢光分子進行分析。Innopsys InnoScan 為自動螢光檢測儀，可同時進行 2-4 色螢光，搭配 Mapix 分析軟體，可自動量化螢光強度。

於 2016 時，McBride 等人為研究禽流感病毒是否可與人類受體結合，自行開發 glycan array，晶片先利用 Atto488-NHS 處立後，在標定 48 個不同的 glycan。其控制組為 streptavidin-555 標定凝集素(Lectin)；樣品組則是 A 型流感病毒液，反應後，再利用 Alexa 647- 標定抗體與樣品反應，搭配螢光儀 InnoScan 1100 偵測分析，發現有 6 個不同的聚糖與樣品結合⁵。

De Olivera 等人研究 Streptococcus pyogenes 感染人類機制時，發現其 M1T1 Group A streptococcal (GAS)與人類 terminal galactose blood group 有高度結合性，表示細菌對宿主血型抗原有相關性⁶。最近澳洲學者發表建立創建新的 Glycan array 研究 GAS 與宿主聚糖作用，搭配 InnoScan 1100 偵測螢光蛋白或是菌液⁷。2018，Sara Durbin 等人開發了 multiplexed glycan array 測試，並利用 3 色螢光方式搭配 InnoScan 1100 進行偵測，比較一次同時偵測人類血清中 anti-glycan IgA, IgG and IgM 表現與每次單獨偵測之結果。開發的 Glycan array 上有 500 種不同的 glycan 與醣蛋白，且利用 480nm 偵測 IgA；532nm 偵測 IgG；635nm 偵測 IgM。結果顯示其偵測方式一致，且可直接比較血液抗體的 isotype 與 glycan 之特異性⁸。

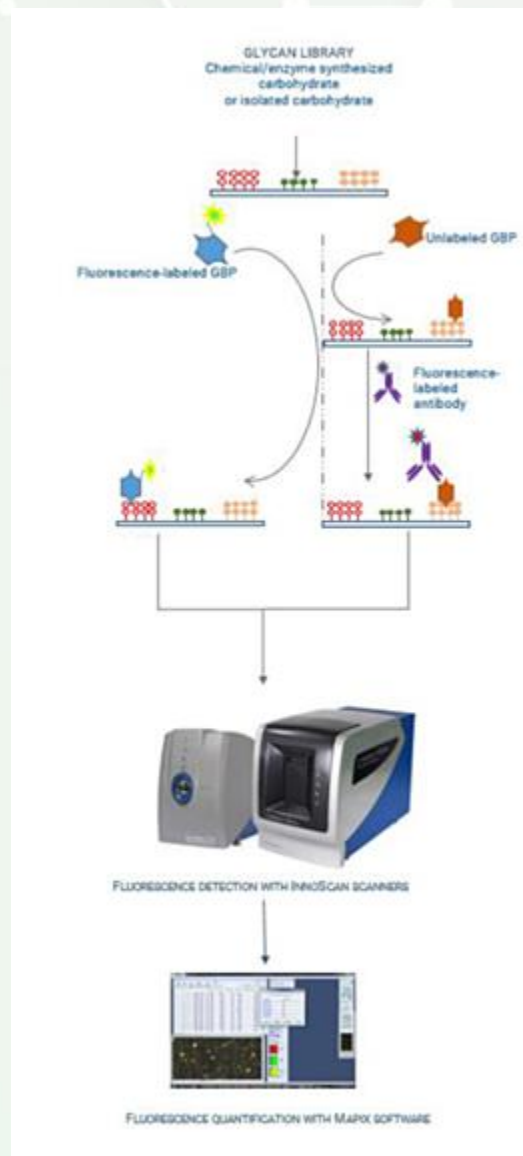


圖2. Glycan array workflow.

前面敘述是針對感染前機制探討，其 Glycan array 與 Innoscan 為最佳利器。然後感染後，其免疫反應包含 T 細胞與 B 細胞活動，細胞激素分泌抑或是抗體表現等也很值得探討，蛋白質晶片 Innoscan 螢光掃描儀為不可或缺的好夥伴。蛋白質晶片，顧名思義為在晶片上標定多種蛋白質或是抗體，甚至是 Peptide。其好處為可一次偵測數十種甚至千種蛋白表現。科學家利用們抗體晶片搭配 InnoScan 300-G (現為 InnoScan 710-G) 研究人類角膜細胞感染第一型皰疹病毒(HSV-1) 後，其細胞激素之反應。結果顯示有 18 種細胞激素表現增加，也發現若抑制 p38 MAP kinase 則可抑制 10 種發炎因子，可作為後續治療 HSV-1 時之依據，避免不當引起免疫反應，造成組織損傷⁹。在 2010 年 Marimon 等人，開發肺炎鏈球菌蛋白晶片，上面標定 83 或 91 種肺炎鏈球菌抗體，利用抗體-抗原專一性，搭配 InnoScan 710 與 Mapix 軟體定量螢光，並舉傳統分型技術比較，發現專一性更佳，且大量減少檢測時間¹⁰。2015 年， Carmona 等人利用高密度 peptide array 搭

配 InnoScan 900 找尋 *T. cruzispecific* 與 B 細胞結合之抗原結構 11；Balouz 等人更是利用 peptide array 結果，畫出可與 B 細胞結合之抗原結構，並找出了一段 21 個胺基酸組合而成的 peptide 為主要抗原位點，經過測試，可做為臨床診斷之工具 12。此外 Peptide 也可做為開發疫苗之工具，因其片段小且專一性佳，根據世界衛生組織 WHO 的報告，Peptide 亦可做為疫苗之替代方法。

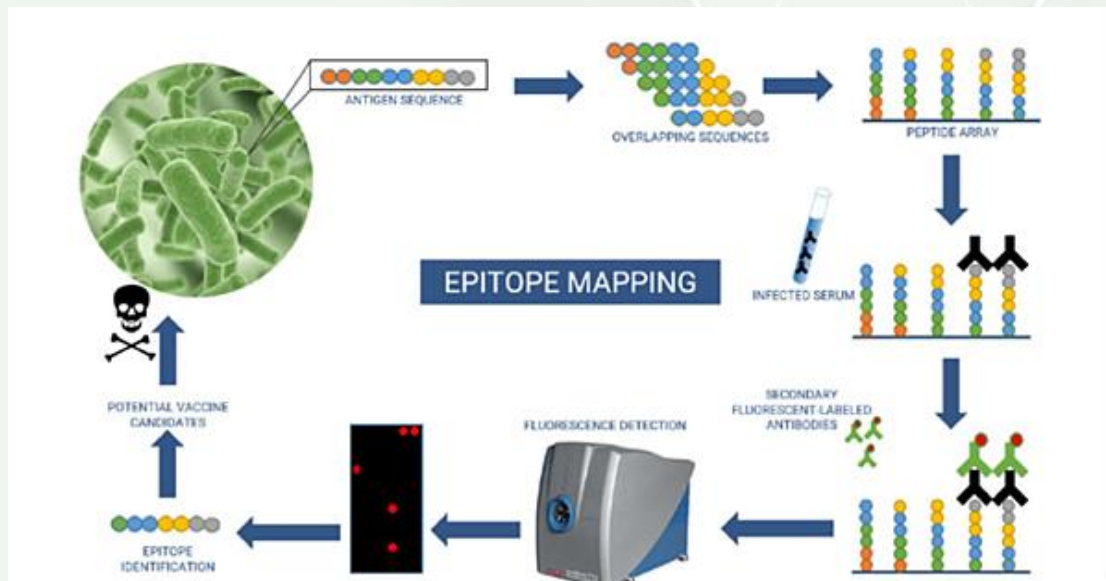


圖3.蛋白晶片與Innopsys InnoScan配合之應用.

由此可知從病原菌的篩選、感染、免疫到疫苗開發，微陣列晶片與 InnoScan 螢光掃描儀皆為不可或缺的工具(表一)，包含 DNA 晶片可檢測患者血清中的傳染性病原體和基因分型的有效工具。蛋白質晶片與 glycan array 在疾病診斷中具有強大應用，可了解感染的機制並篩選而開發疫苗。搭配 InnoScan 螢光偵測的好處為高通量，且搭配擴大的動態範圍，可增加實驗靈敏度，加速傳染性疾病研究，利於增加人類福祉。

APPLICATION	MICROARRAY TYPE	SCANNER MODEL
PATHOGEN IDENTIFICATION	DNA array	InnoScan 710
PATHOGEN SEROTYPING	Protein array	InnoScan 710
HOST-PATHOGEN INTERACTION STUDIES	Glycan array	InnoScan 1100
INFLAMMATION BIOMARKER SCREENING	Cytokine array	InnoScan 710-G
ANTIBODY SUBPOPULATION PROFILING	Glycan array	InnoScan 1100
EPITOPE MAPPING	Peptide arrays	InnoScan 910 InnoScan 710-G
VACCINE DEVELOPMENT AND VALIDATION	Peptide arrays	InnoScan 710 InnoScan 1100

Innopsys 產品資訊 [請按我](#)

Innopsys 原廠網頁 [請按我](#)

Glycan array 與蛋白質晶片 [請按我](#)

Reference:

1. Martínez MA, Soto-del Río MDLD, et al. 2015. DNA microarray for detection of gastrointestinal viruses. *J Clin Microbiol* 53:136–145.
DOI:10.1128/JCM.01317-14
2. Khan MJ, Trabuco AC, et al. 2016. DNA Microarray Platform for Detection and Surveillance of Viruses. Transmitted by Small Mammals and Arthropods. *PLoS Negl Trop Dis* 10(9): e0005017. DOI:10.1371/journal.pntd.0005017
3. Sultankulova K, Kozhabergenov NS, et al. 2017. New oligonucleotide microarray for rapid diagnosis of avian viral diseases. *Virology* 14, 69.
DOI:10.1186/s12985-017-0738-0
4. Orynbayev MB, Fereidouni, S, et al. 2018. Genetic diversity of avian avulavirus 1 (Newcastle disease virus genotypes VIg and VIIf) circulating in wild birds in Kazakhstan. *Arch Virol* 163, 1949–1954. DOI:10.1007/s00705-018-3815-9
5. McBride R, Paulson JC & De Vries RP. 2016. A Miniaturized Glycan Microarray Assay for Assessing Avidity and Specificity of Influenza A Virus Hemagglutinins. *J. Vis. Exp.* (111), e53847. DOI:10.3791/53847
6. De Oliveira DMP, Hartley-Tassell L, et al. 2017. Blood Group Antigen Recognition via the Group A Streptococcal M Protein Mediates Host Colonization. *mBio* 8 (1) e02237-16. DOI: 10.1128/mBio.02237-16
7. Indraratna A, De Oliveira DMP, et al. 2020. Investigation of Group A Streptococcal Interactions with Host Glycan Structures Using High-Throughput Techniques: Glycan Microarray Analysis Using Recombinant Protein and Whole Cells. In: Proft T., Loh J. (eds) *Group A Streptococcus*. *Methods in Molecular Biology*, vol 2136. Humana, New York, NY. DOI:10.1007/978-1-0716-0467-0_10
8. . Epitope Mapping - MeSH - NCBI. Medical Subject Headings - NCBI. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/?term=epitope+mapping>
9. Han Xian-Kui, Wang Hui-Fang, et al. 2020. P38 Inhibition Prevents Herpes Simplex Virus Type 1 (HSV-1) Infection in Cultured Corneal Keratocytes, *Current Eye Research*. DOI:10.1080/02713683.2020.1748658
10. Marimon JM, Monasterio A, et al. 2010. Antibody microarray typing, a novel technique for *Streptococcus pneumoniae* serotyping. *J Microbiol Methods* 80(3):274-80. DOI:10.1016/j.mimet.2010.01.011
11. Carmona SJ, Nielsen M, et al. 2015. Towards High-throughput Immunomics for Infectious Diseases: Use of Next-generation Peptide Microarrays for Rapid Discovery and Mapping of Antigenic Determinants *Molecular & Cellular Proteomics* 14 (7) 1871-1884. DOI: 10.1074/mcp.M114.045906
12. Balouz V, Cámara MM, et al. 2015. Mapping Antigenic Motifs in the Trypomastigote Small Surface Antigen from *Trypanosoma cruzi*. *Clinical and Vaccine Immunology* 22 (3) 304-312. DOI:10.1128/CVI.00684-14