

靶向蛋白组学和空间多组学助力疾病研究

王楠 首席技术官 2022年04月 (天坛医院)

OUTLINE 目录

非因生物 专注癌症精准医疗 / 全球领先的蛋白组学·空间多组学技术平台

01| 非因生物简介

03| 空间多组学技术

05| 样本准备要素

02| RPPA蛋白组学技术

04| 非因策略

※ 内部资料请勿转发 最终解释权归非因生物所有

OUTLINE 目录

非因生物 专注癌症精准医疗 / 全球领先的蛋白组学·空间多组学技术平台

01| 非因生物简介

03| 空间多组学技术

05| 样本准备要素

02| RPPA蛋白组学技术

04| 非因策略

※ 内部资料请勿转发 最终解释权归非因生物所有

非因生物简介——全球领先的新型蛋白组学和空间多组学技术开发和服务商



非因生物>>>

是以新型癌症蛋白组学和空间多组学为核心技术、以癌症精准医疗研究与临床服务为核心业务的创新型生物医学公司,在癌症的基础研究、转化医学、临床研究、药物开发、临床诊疗等各方面开展自主及合作研究,并提供全方位高水准的科研及临床服务。

国际领先 国内领跑

- 国际领先国内唯一的商业化RPPA靶向蛋白组学技术
- 拥有多项全国领先的空間多组学技术
- 聚焦癌症靶向治疗与免疫治疗研究前沿

多领域整合

- 新型多组学整合研究
- 药物联合治疗策略研究
- 癌症精准诊疗技术临床转化
- 伴随诊断标志物转化与临床应用

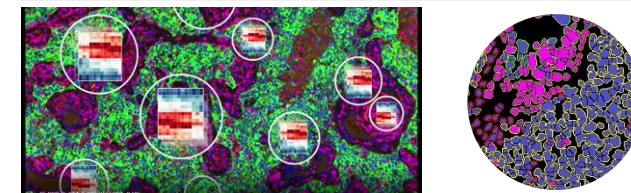
聚焦进阶

- 高通量靶向蛋白组学与微环境研究一站式解决方案
- RPPA反相蛋白微阵列技术
- 空间多组学技术

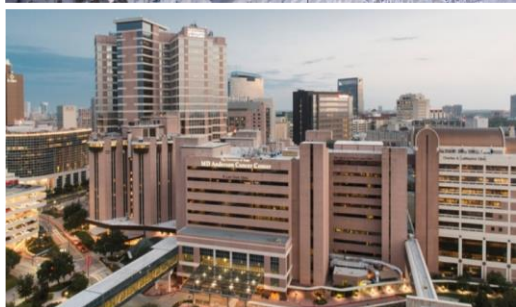
RPPA反相蛋白微阵列蛋白组学平台



空间多组学平台



非因生物简介——技术与团队



◎团队传承 MD 安德森的价值理念，以 TCGA 蛋白组学研究策略为核心技术，精心打造了全球领先，国内首个高通量 RPPA 蛋白组学研发实验室，并成为国内唯一的 RPPA 靶向蛋白组学技术服务商。

◎站在巨人肩膀上，结合多项国内领先的空间组学技术，建立基于中国人群的特有的癌症靶向蛋白组数据库，从空间多组学角度，为肿瘤异质性和肿瘤微环境研究开拓新的科研和临床转化制高点，助力癌症精准医疗。



非因生物简介——技术与团队



源自美国MD安德森转化医学中心的原创技术，**反相蛋白微阵列RPPA为TCGA唯一蛋白组学技术策略**。站在巨人肩膀上，**结合多项领先的空间组学技术**，建立基于中国人群的特有的癌症靶向蛋白组数据库，从空间多组学角度，为肿瘤异质性和肿瘤微环境研究开拓新的科研和临床转化制高点，助力癌症精准医疗。



Gordon B. Mills

- 创建MD 安德森癌症个体化治疗中心 (IPCT) 并担任中心主任;
- 创建全美第一个专注于癌症研究的系统生物学系并担任主任;
- 创建MD 安德森Kleberg 分子标志物研究中心并担任主任;
- 参与负责重大科研计划癌症射月计划;
- 发表超过**1000**篇科研文章,被**引用次数超过20万次**, 2020年**H指数 (H-index) 达到199**, 全球第100 名高引科学家;
- 首创并发展了RPPA蛋白质组学研究技术平台, 分析了超过13万例样本。



CEO丁志勇

- 北京大学博士, 2000年赴美从事博士后研究;
- 2003年起在休斯顿MD安德森癌症中心从事癌症生物学及靶向药物研究16年, 其中13年作为Faculty, 以PI身份先后主持美国国立卫生院 (NIH) 和多项基金会科研项目, 使用反相蛋白微阵列 (RPPA) 蛋白组学、功能性基因组学、高通量药物筛选等前沿技术, 致力于揭示癌症中分子致病机制、发现新的分子靶标以及新的药物靶点, 推动癌症个体化诊疗。
- 2019山东省泰山学者产业人才



CTO王楠

- 英国纽卡斯尔大学癌症分子生物学博士 (欧盟玛丽居里学者)
- 英国北方蛋白组学分析中心 (NEPAF) 研究员;
- 英国纽卡斯尔大学蛋白组分析中心 (NUPPA) 研究员;
- 英国ArrayGen公司蛋白组学应用开发技术主管;
- 多项RPPA蛋白组发明专利和研究论文;
- 2019济南市泉城产业人才



VP李振亚
BD总监

- 清华大学/协和医学院博士;
- 爱博泰克抗体产品首席战略官;
- Cell Signaling Technology全国学术推广经理;
- 中科院生物物理所助理研究员;
- 多项研究论文



CBO王连水

- 中国科学院上海生命科学研究院博士;
- 国防科学技术大学 应用数学 学士;
- 印第安纳大学 (美国) 信息与计算院 生物信息学 博士后;
- 山东大学副研究员;
- 银丰基因生物信息总监



从基因组变化到系统组学变化

靶向肿瘤

靶向治疗

即使有生物标志物指导，只有**小部分病人**

能够从单药治疗中获益：普遍获益时间短，

且伴随这耐药的发生。

病人特异性的
联合治疗策略

多组学整合

RPPA靶向蛋白组学：

深入挖掘肿瘤耐药机制，探索新的靶向肿瘤疗法。

空间多组学：

深度挖掘肿瘤微环境调控机理，找寻肿瘤免疫新策略。

靶向微环境调节

免疫治疗

当病人获益，免疫疗法的获益时间通常较长，尤其在**一些癌种中**：血癌，皮肤癌，肺癌，膀胱癌。

大多数癌种的获益不太高。

临床标志物少。

精准肿瘤学理念仍需加强。

SMMART临床试验 (**S**erial **M**easurement of **M**olecular and **A**rchitectural **R**esponses to **T**herapy) 由Gordon Mills博士主导，通过适应疗法来应对肿瘤进化，帮助癌症病人获得长久可持续的响应

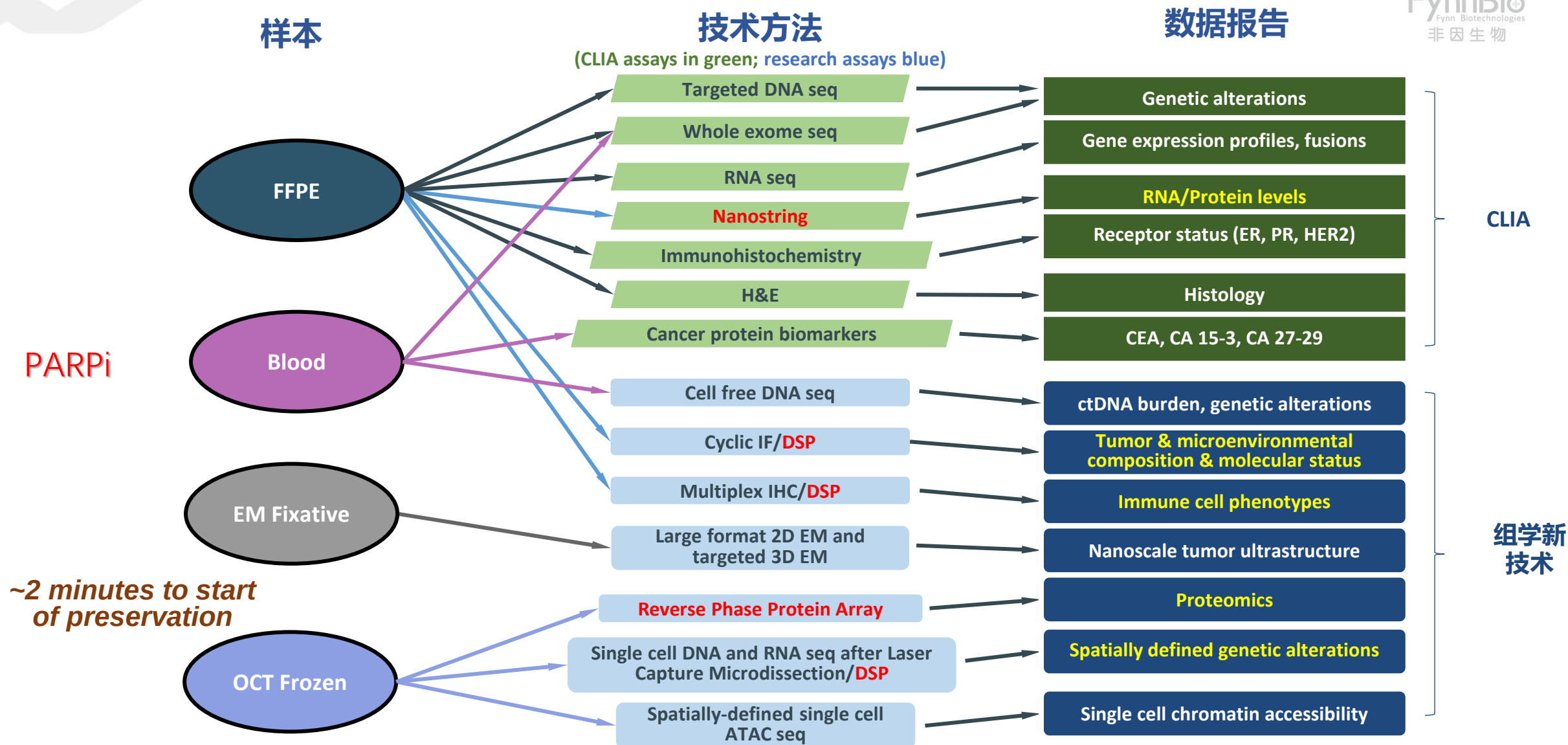


KNIGHT
CANCER
Institute

THE UNIVERSITY OF TEXAS
MDAnderson
Cancer Center
Making Cancer History®

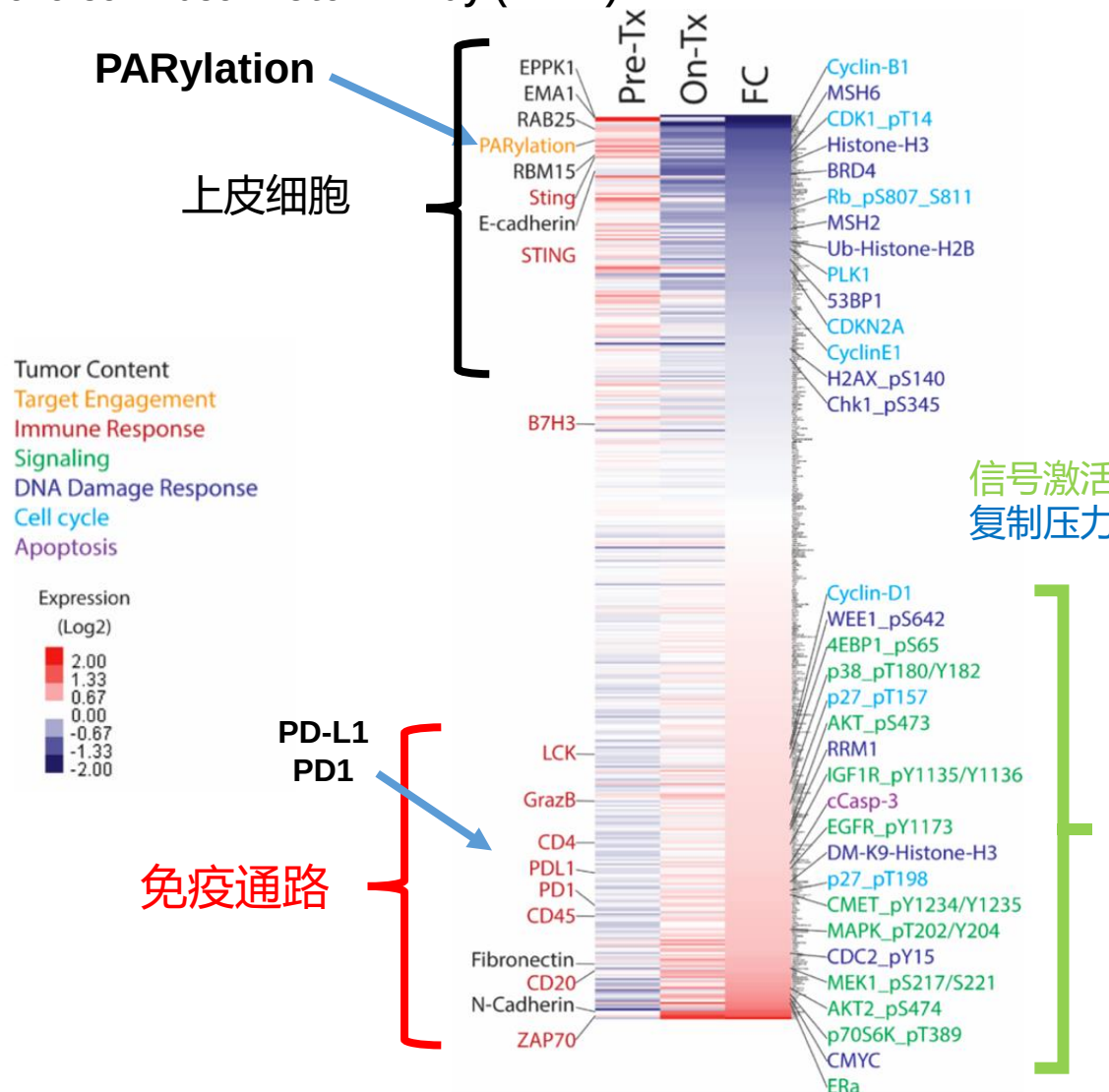
AstraZeneca

多组学技术在癌症精准医疗中的应用-----SMMART临床试验



PARPi奥拉帕利单药适应性治疗导致免疫激活和信号激活RAS/PI3K

Reverse Phase Protein Array (RPPA)



治疗前
免疫沙漠型

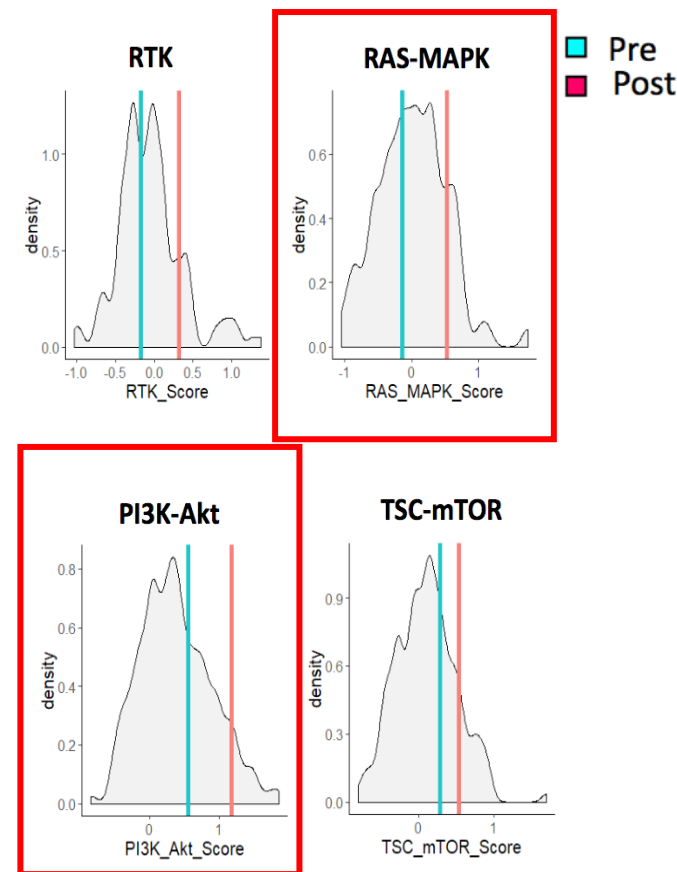
治疗后
肿瘤减小

分子层面：表达上调

- 靶蛋白响应
- 免疫激活
- 复制压力
- DNA 损伤修复
- 细胞凋亡
- RTK 信号激活

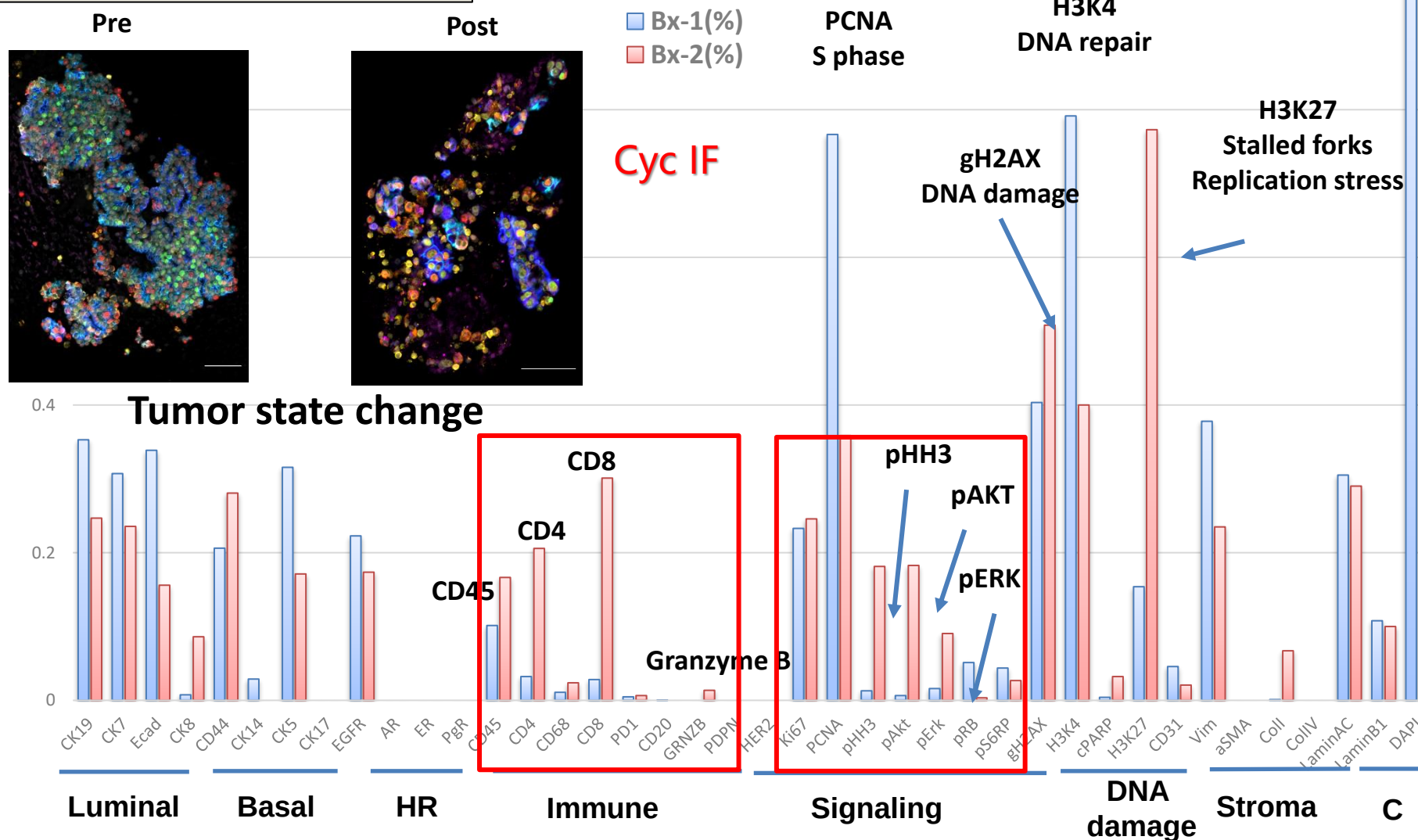
Patient X

TCGA Ranking ordering各个组分



单细胞PerturbProt: : PARPi奥拉帕利单药适应性治疗导致免疫激活和信号激活

DAPI PCNA CK19 CD45 Ki67 Ecad VIM aSMA



OUTLINE 目录

非因生物 专注癌症精准医疗 / 全球领先的蛋白组学·空间多组学技术平台

01| 非因生物简介

03| 空间多组学技术

05| 样本准备要素

02| RPPA蛋白组学技术

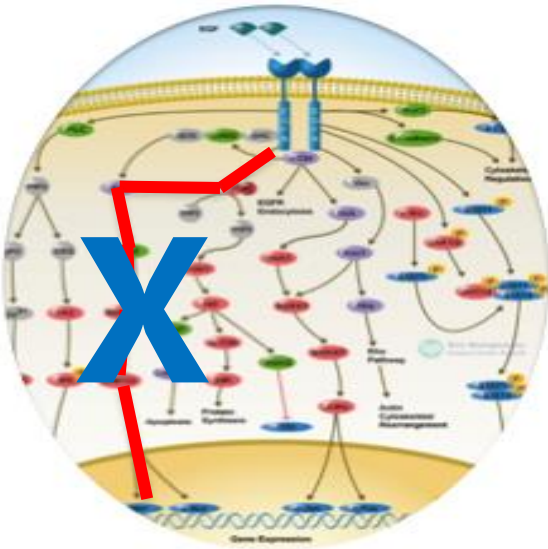
04| 非因策略

※ 内部资料请勿转发 最终解释权归非因生物所有

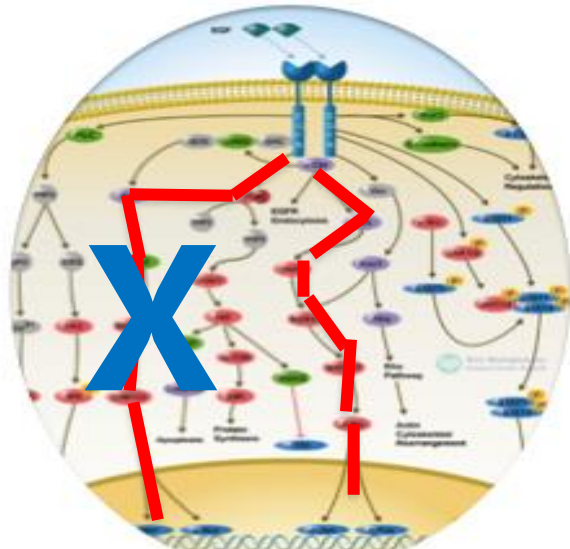
药物作用引发的根据细胞进化进行适应治疗策略

肿瘤生物学系统对单一调控的适应能力强，但对多重阻断有着很好的敏感性和持续效果 Yossi Yarden and Arthur Lander

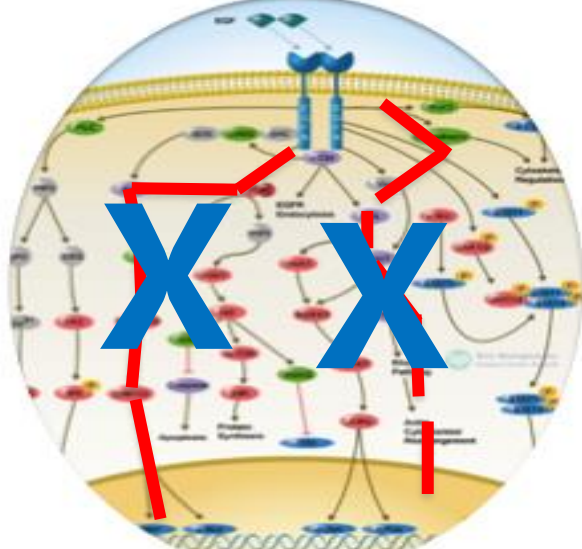
调控重要通路的重要节点



肿瘤细胞通过代偿机制或自适应抵抗外界阻断



找到最佳药物组合是肿瘤个体化的治疗的最终目标



对单一调控已经在复杂的肿瘤系统中被证明是短暂且不能长时间持续的

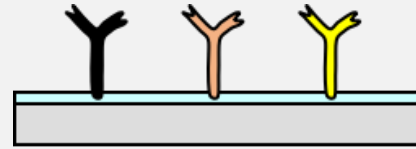
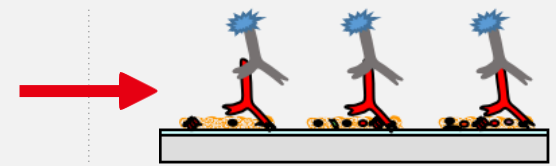
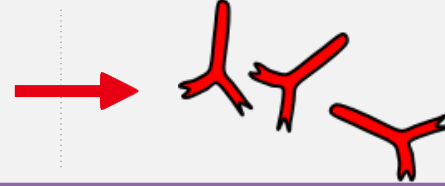


非因生物RPPA介绍——微阵列技术比对

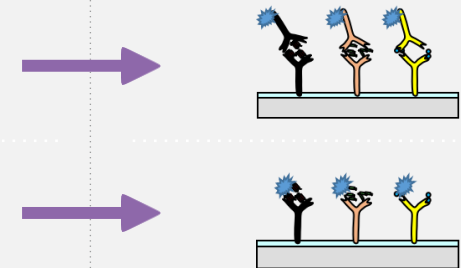
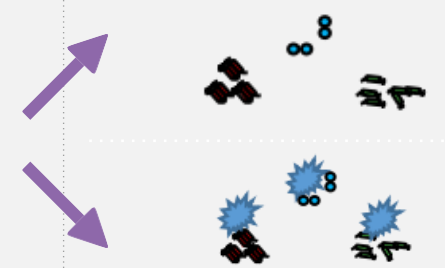
RPPA 功能蛋白组方法学



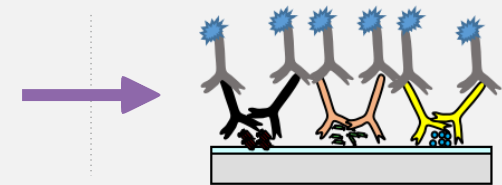
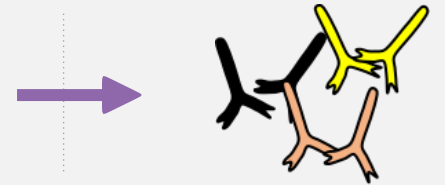
反相蛋白微阵列
Reverse Phase Protein Arrays



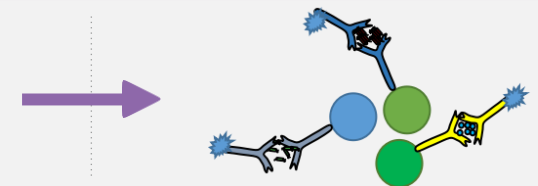
抗体芯片 (正相微阵列)
Forward phase protein arrays



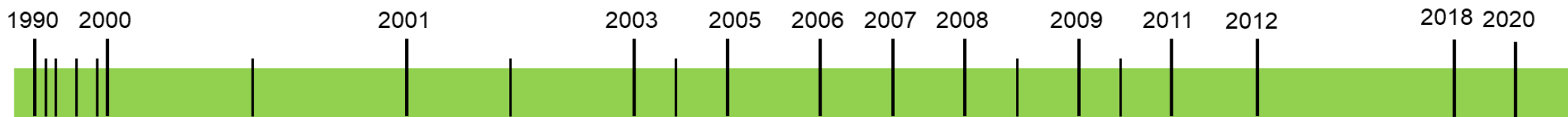
重组抗原芯片 (正相微阵列)



液相芯片
Bead-Based Arrays



RPPA 技术发展历程



概念

技术

概念验证

基础医学应用

临床前/
转化医学

临床研究

Ekins R & Chu FW (1991)
微型配体免疫检测法
Liotta LA & Petricoin EF (2000)
提出抗原在下蛋白微阵列技术

高精度自动化微阵列技术发展
蛋白结合基质发展
商业化抗体库的完善
磷酸化抗体发展
激光捕获显微切割技术发展

运用RPPA进行磷酸化蛋白检测
Pawelcz, C et al (2001)

运用RPPA技术进行NCI-60细胞系分析
Nishizuka, S et al (2003)

商业化进程
RPPA技术在全球实验室建立并得到广泛应用

PWG为基础的Zeptosens技术
运用于RPPA领域
Oostrum J & Voshol H (2008)

MD 安德森在淋巴瘤样本中
应用RPPA技术
Tibes R, et al (2006)

TCGA项目开始, MD 安德森
Mills 组承担RPPA蛋白组学任务

在乳腺癌, 头颈癌, 淋巴瘤,
肠癌临床试验中开始得到应用
Mueller C et al (2010)

RPPA国际联盟成立
第一届联盟大会2011年
在MD 安德森举行

Nature发表乳腺癌分子特征,
RPPA在TCGA项目中首次应用
TCGA (2012)

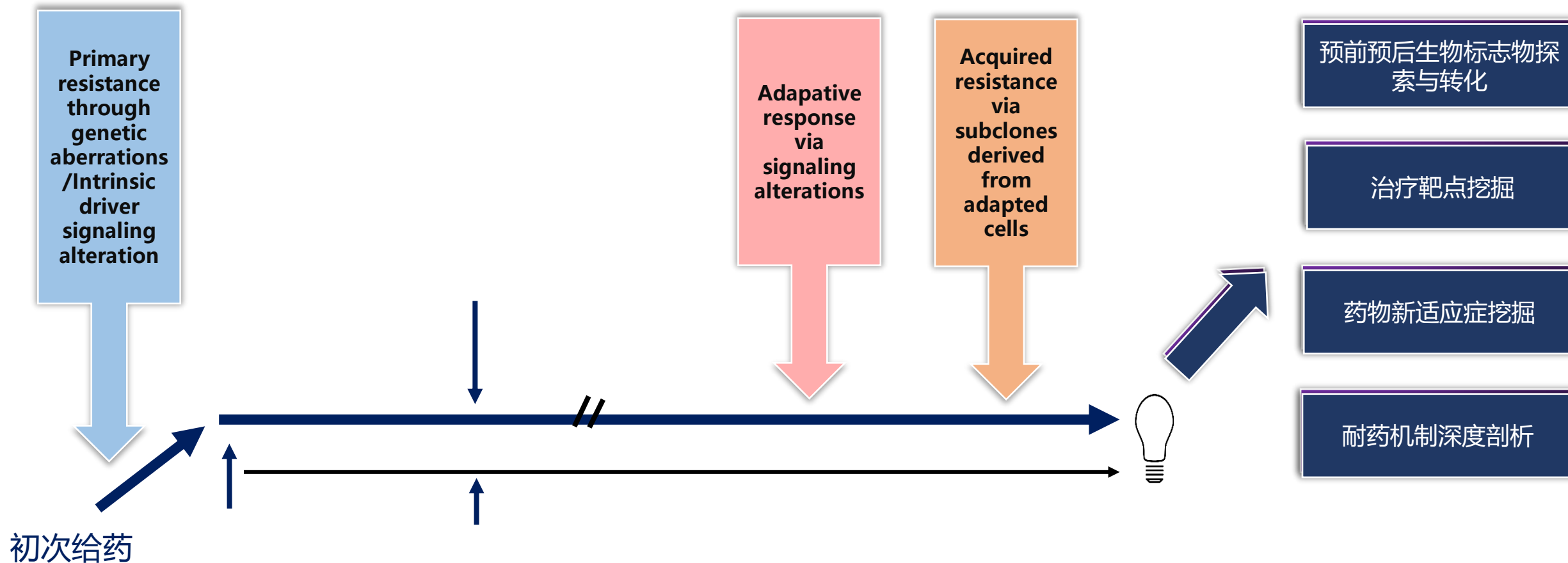
MD 安德森RPPA开始应用临床实验中
Beasley G et al (2012)

2020年中国第一个RPPA平台
在济南非因生物成功建设
严格按照MD安德森RPPA水准搭建

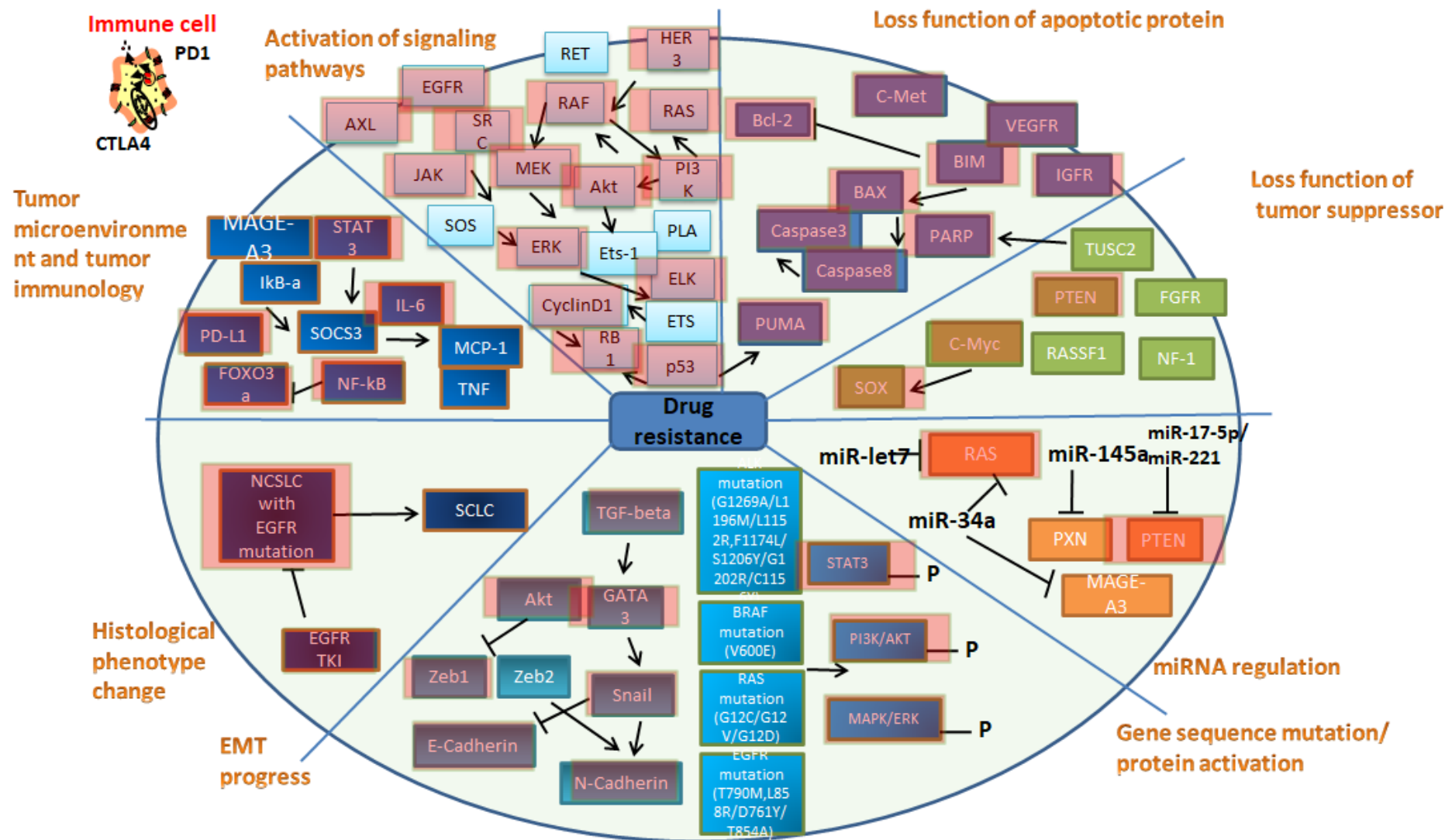
TCGA项目结束,
RPPA在CNS等高影响
杂志中得到广泛应用
TCGA (2018)



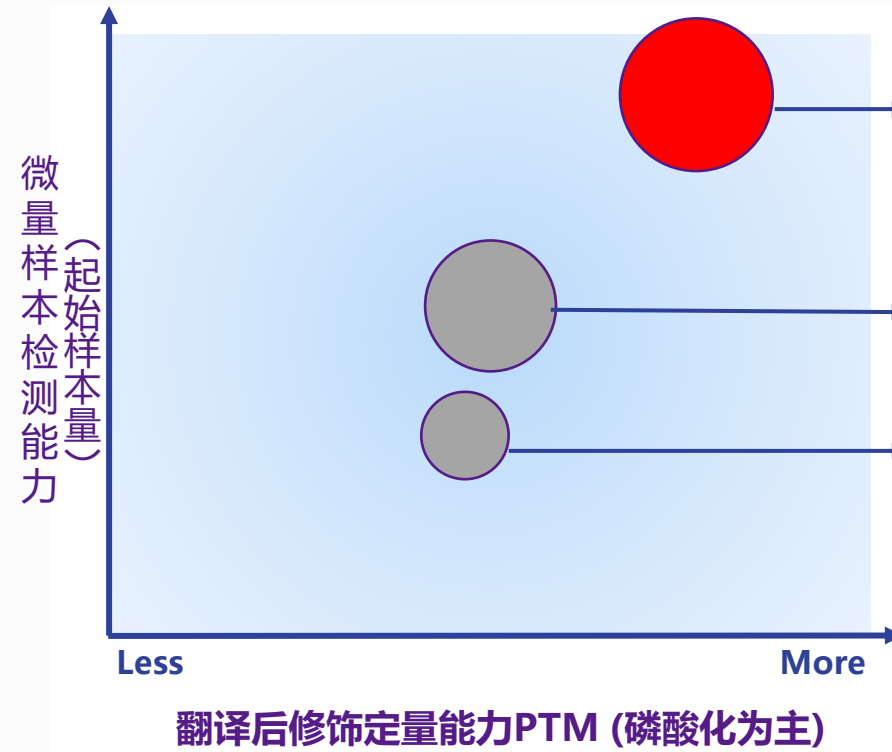
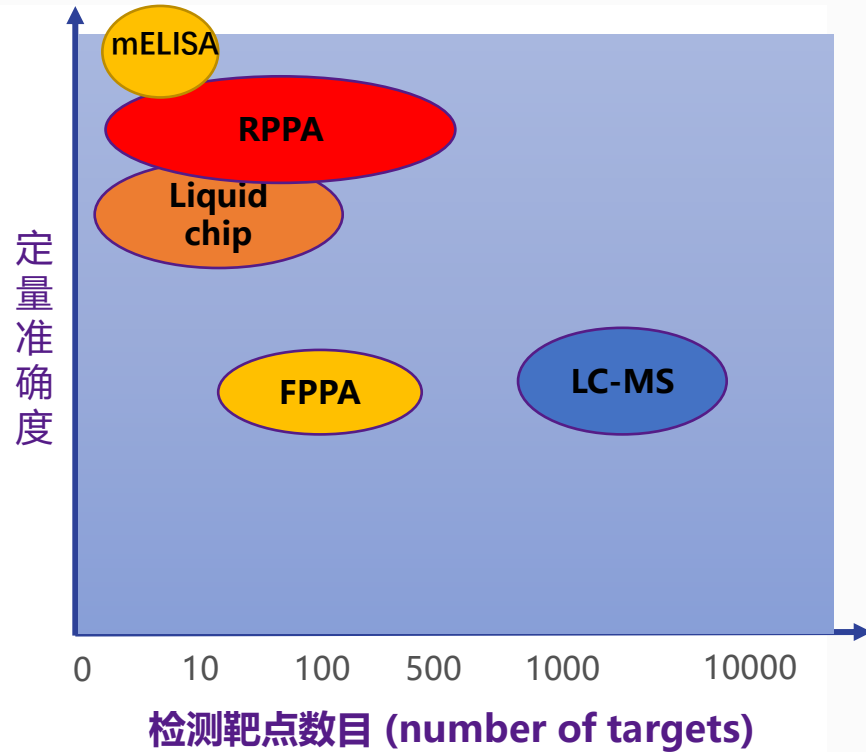
药物作用引发的根据病程进化进行适应治疗策略



RPPA靶点基础：药物作用机理分析-----细胞信号转导覆盖



高通量蛋白组学技术比对



RPPA:

一般<5mg组织 /50K
细胞系/20-40µg总蛋白
更精确的PTM定量优势

抗体芯片:

5百万细胞/10-50mg组织
/100-200µg总蛋白
PTM定量一般

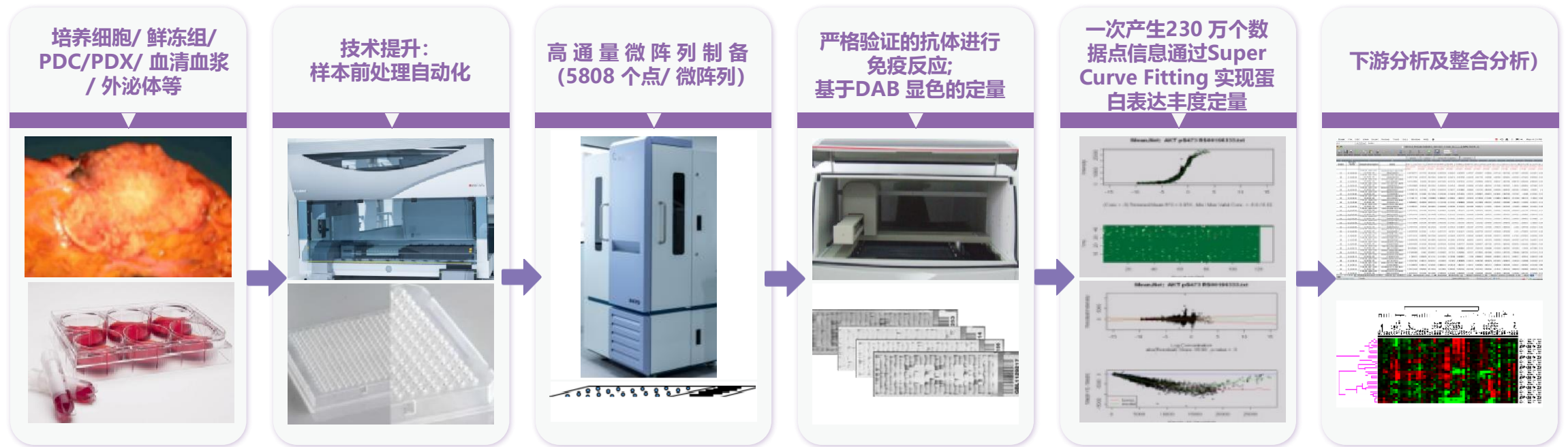
液相质谱:

一般10-50mg组织
/100-500万细胞
/1-200µg总蛋白



非因生物RPPA介绍——反相蛋白微阵列RPPA工作流程

传承MD 安德森的价值和理念，TCGA 的蛋白组学分析策略



- 微量多样本简单处理;
- 大规模高通量消除实验间误差;
- 全流程全自动化, 减少人为误差;
- 高灵敏, 可测蛋白重要分子及修饰水平 (PTM) 上的变化, 如磷酸化等



RPPA 蛋白组学技术的优势

高通量：每张芯片容纳1056个样品及所需各种对照，适合多样本比对。

高内涵：380个以上癌症相关蛋白包括磷酸化蛋白的信息。

自动化：主要步骤自动化操作，消除人为误差。

微量样品：40 μ g总蛋白可以完成380个以上蛋白的分析。

高灵敏度：飞克级(10^{-15} 次方克)检测精度。

高度定量：每个样本5个梯度稀释同时检测，基于 SuperCurve 精确定量。

- 依赖大量高质量抗体和多种高端设备，不易推广。
- 芯片制做和高通量抗体染色等过程复杂，技术难度大。



RPPA Arrayer

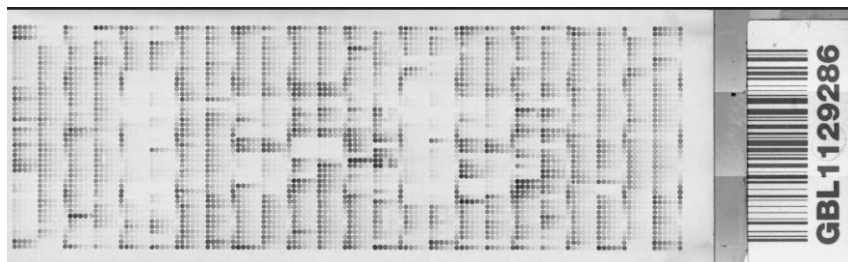


Huron Scanner

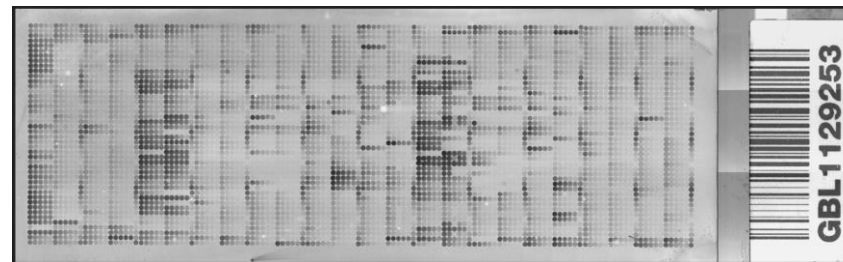


非因生物RPPA 微阵列展示

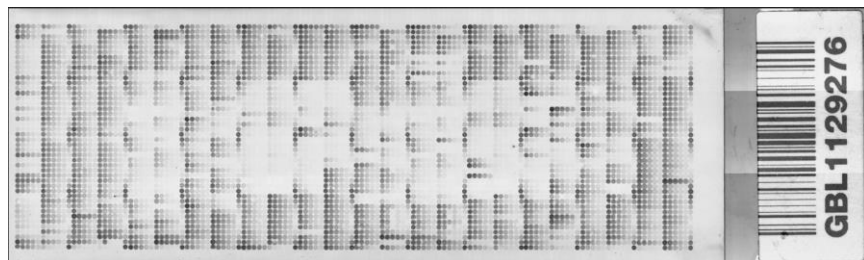
Tau



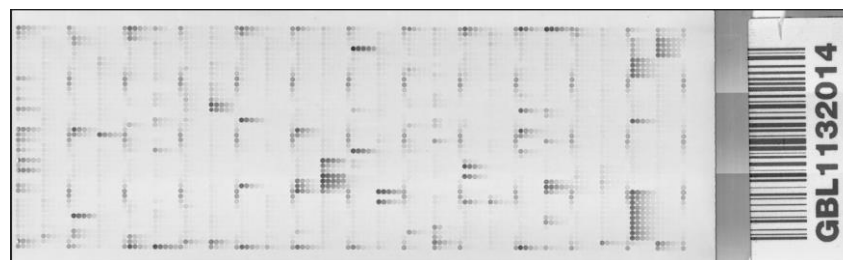
GSK-3 α / β



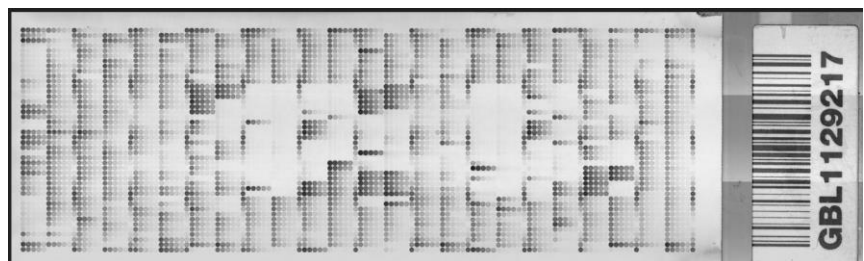
GSK-3/ β -pS21/pS9



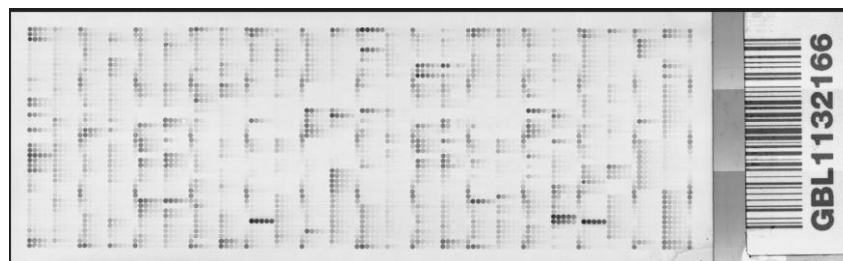
CD31



Synaptophysin



Vimentin



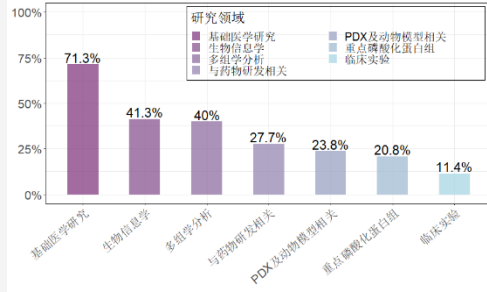
**1 RPPA experiment
1056 samples**

2.3 Million data points

**Systemic proteomics
informed**

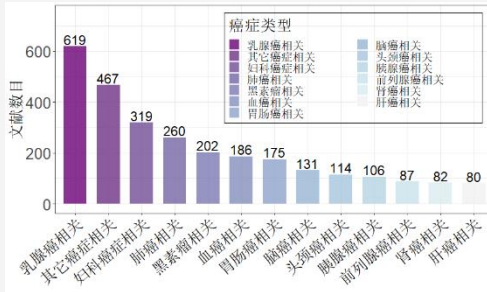


非因生物案例解析——应用领域及研究癌种分布



RPPA文献各研究领域占比

RPPA 文献中各类癌症类型的文献数目

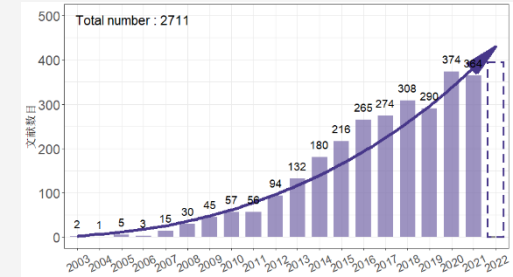


已为基础科研领域提供了
2700+ 研究论文

横跨各领域
各癌种

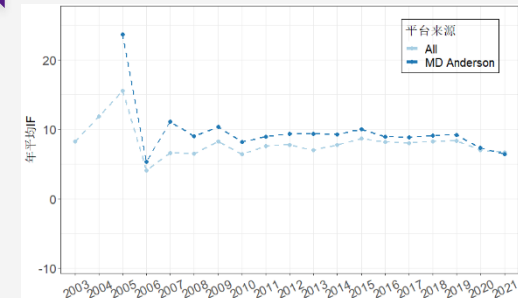
高发文量
高影响因子

平均影响因子达到8+



2006-2021 历年RPPA
相关文章发表数目

2006-2021 历年RPPA
文献平均影响因子



非因生物案例解析——应用领域及研究癌种分布

基础·研究

单基因调控机理研究

外泌体蛋白组学研究

临床样本多组学整合研究

临床治疗靶点挖掘

RPPA

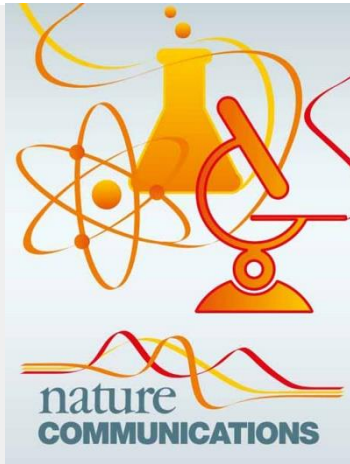
临床·转化医学

临床试验耐药机理研究

高通量药物敏感性生物标志物研究

临床试验靶向药生物标志物探索

非因生物RPPA案例分析——应用场景



01 | 单基因/蛋白免疫调控细胞系研究



02 | 单基因免疫检查点相关调控研究



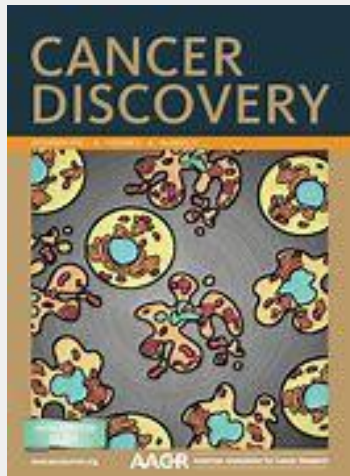
03 | 单基因信号通路深入研究



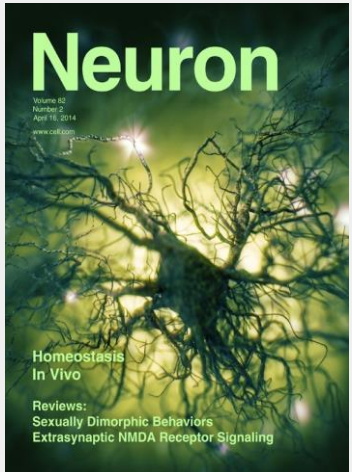
04/05 | 基于蛋白组的临床多组学整合性分析



06 | RPPA外泌体蛋白组分型研究



07 | 临床治疗靶点挖掘



08 | 关键AD相关通路靶点验证



非因生物RPPA案例分析1——探究卵巢癌中促进转移的潜在决定因素



ARTICLE

DOI: 10.1038/s41467-018-04987-y OPEN

FABP4 as a key determinant of metastatic potential of ovarian cancer

Kshipra M. Gharpure¹, Sunila Pradeep^{1,2}, Marta Sans³, Rajesha Rupaimoole⁴, Cristina Ivan^{5,6}, Sherry Y. Wu¹, Emine Bayraktar¹, Archana S. Nagaraja¹, Lingegowda S. Mangala^{1,5}, Xinna Zhang⁵, Monika Haemmerle⁷, Wei Hu¹, Cristian Rodriguez-Aguayo^{5,6}, Michael McGuire¹, Celia Sze Ling Mak¹, Xiuhui Chen¹, Michelle A. Tran¹, Alejandro Villar-Prados¹, Guillermo Armaiz Pena⁸, Ragini Kondetimmanahalli⁹, Ryan Nini¹⁰, Pranavi Koppula¹¹, Prahlad Ram¹², Jinsong Liu¹³, Gabriel Lopez-Berestein^{5,6}, Keith Baggerly¹⁴, Livia S. Eberlin³ & Anil K. Sood^{1,5,15}

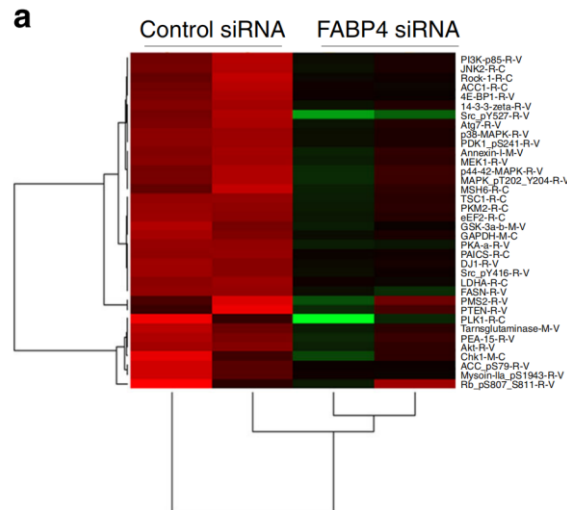
细胞培养及siRNA和miRNA转染

免疫印迹迁移和入侵试验

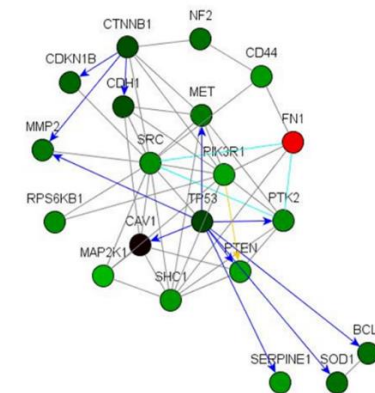
RPPA分析: FABP4表达对癌细胞蛋白质表达的影响FABP4基因与缺氧元标记基因的相关性研究

组织病理学IHC验证

背景: 先前的研究发现FABP4 (脂肪酸结合蛋白)可以显著增加癌细胞的转移潜能。还发现FABP4高表达可作为高级别浆液性卵巢癌可靠的分子预测标志物。在前列腺癌中, FABP4 蛋白可作为协同脂肪细胞与肿瘤进展的重要分子。



用对照siRNA或FABP4 siRNA转染 HeyA8 MDR细胞72小时后, 从细胞中分离蛋白质裂解物进行RPPA分析。RPPA数据的热图显示了FABP4敲除后几种蛋白质表达下调。



基于RPPA蛋白表达谱, 通过网络互作发现FABP4 siRNA组下调的蛋白质与转移途径有关

b

Pathway	p-value
Microtubule bundle formation	1.96E-04
Regulation of actin cytoskeleton	3.76E-06
Focal adhesion	3.57E-09
Tight junction	1.19E-04
Adherens junction	2.04E-05

进一步使用Netwalker软件分析蛋白数据, 结果显示FABP4 siRNA组中与转移相关的子路径显著相关



非因生物RPPA案例分析2——探究黑素瘤中RAC1 P29S调控PD-L1表达模式

Pigment Cell Melanoma Res. 28; 590-598

IF:4.693

ORIGINAL ARTICLE

RAC1 P29S regulates PD-L1 expression in melanoma

Ha Linh Vu¹, Sheera Rosenbaum¹, Timothy J. Purwin¹, Michael A. Davies² and Andrew E. Aplin^{1,3}

¹ Department of Cancer Biology and Sidney Kimmel Cancer Center, Thomas Jefferson University, Philadelphia, PA, USA ² Division of Cancer Medicine, Department of Melanoma Medical Oncology, The University of Texas MD Anderson Cancer Center, Houston, TX, USA ³ Department of Dermatology and Cutaneous Biology, Thomas Jefferson University, Philadelphia, PA, USA

CORRESPONDENCE Andrew E. Aplin, e-mail: Andrew.Aplin@jefferson.edu

The results published here are in part based upon data generated by the TCGA Research Network; <http://cancergenome.nih.gov/>

KEYWORDS melanoma/RAC1/PD-L1/Van6-PD-1/immune evasion

PUBLICATION DATA Received 1 May 2015, revised and accepted for publication 6 July 2015, published online 14 July 2015

doi:10.1111/pcmr.12392

Summary

Whole exome sequencing of cutaneous melanoma has led to the detection of P29 mutations in RAC1 in 5-9% of

野生型及两类突变株细胞培养

单基因功能研究

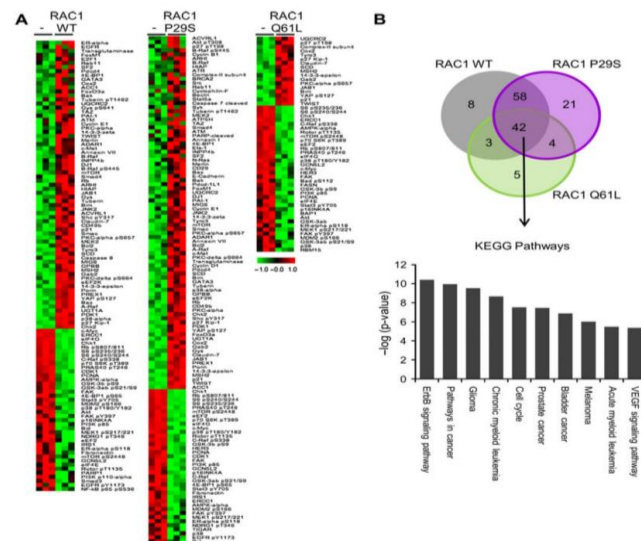
RPPA分析: PD-L1在野生型-突变株, 以及过表达和siRNA敲低表达细胞株中的表达水平

WB验证

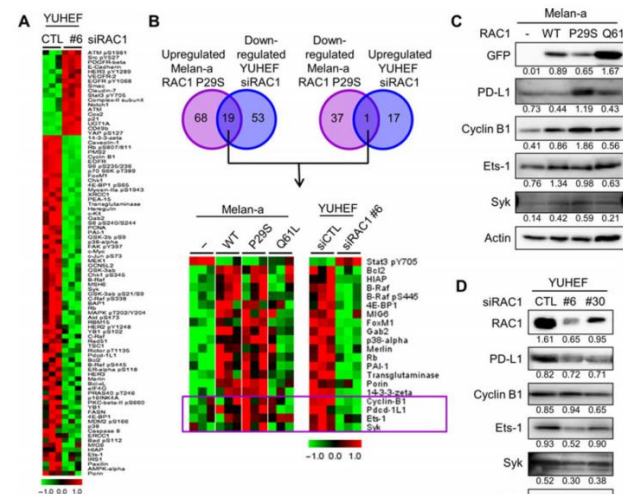
背景: RAC1 P29S突变是继BRAF V600E 和 NRAS Q61 后, 晒伤所致黑素瘤中突变最多的基因;

RAC1是小GTP酶RHO家族的重要成员。当Rac1被激活后, 可参与肌动蛋白应力纤维和粘附斑形成, 促进细胞骨架结构重组, 调节片状伪足与丝状伪足伸延, 影响细胞的形体极化, 增强细胞运动迁移;

作者通过RPPA来揭示基于RAC1突变为特征的黑素瘤亚群, 在经免疫治疗后其潜在的分子关联机制。从而更好地了解这些突变的生物学效应, 以找出有显著临床意义的突变, 为寻找更有意义的临床靶点及生物标志物而服务。



作者发现了在各个细胞系中的蛋白丰度变化, 并通过Venn图发现了42个共有的差异表达蛋白。并对它们进行KEGG分析, 发现top10中有通路Cell cycle和Melanoma



随即通过RPPA比较了过表达细胞系与RAC1 siRNA敲低的细胞系。并发现了19个高表达以及1个低表达的差异蛋白, 并发现了四个独特的差异表达蛋白cyclin B1, PD-L1, Ets-1和Syk为RAC1 P29S突变株所独有。并通过WB证实了RAC1 P29S对PD-L1表达的正调控。



非因生物RPPA案例分析3——探究在BRAF突变型黑素瘤中由PAK通路驱动的获得性靶向药物耐药性机理

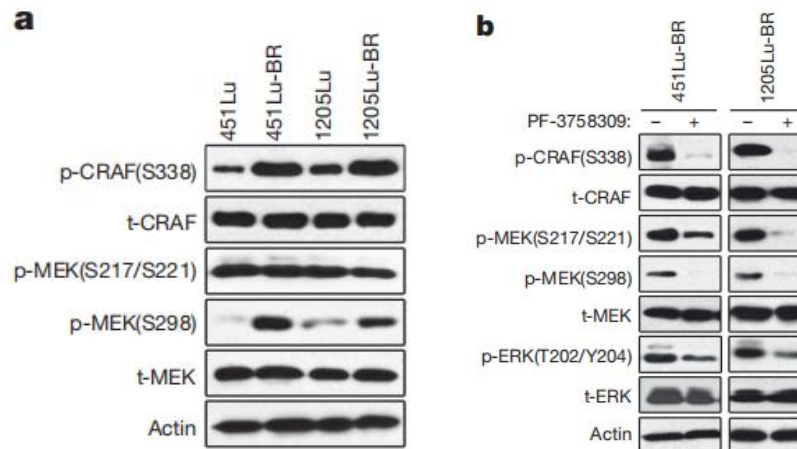
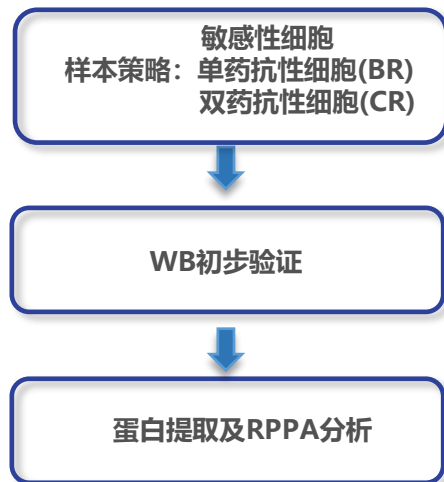
IF: 49.962

LETTER

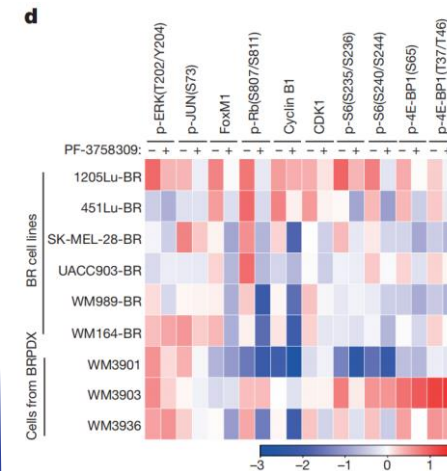
doi:10.1038/nature24040

PAK signalling drives acquired drug resistance to MAPK inhibitors in *BRAF*-mutant melanomas

Hezhe Lu^{1*}, Shujing Liu^{2*}, Gao Zhang^{1*}, Bin Wu¹, Yueyao Zhu¹, Dennie T. Frederick⁴, Yi Hu⁵, Wenqun Zhong¹, Sergio Randell³, Norah Sadek³, Wei Zhang¹, Gang Chen¹, Chaoran Cheng⁶, Jingwen Zeng¹, Lawrence W. Wu³, Jie Zhang⁶, Xiaoming Liu², Wei Xu⁷, Clemens Krepler³, Katrin Sproesser³, Min Xiao³, Benchun Miao⁴, Jianglan Liu³, Claire D. Song¹, Jephrey Y. Liu², Giorgos C. Karakousis⁸, Lynn M. Schuchter³, Yiling Lu⁹, Gordon Mills⁹, Yusheng Cong¹⁰, Jonathan Chernoff¹¹, Jun Guo¹², Genevieve M. Boland¹³, Ryan J. Sullivan⁴, Zhi Wei⁶, Jeffrey Field¹⁴, Ravi K. Amaravadi⁸, Keith T. Flaherty⁴, Meenhard Herlyn³, Xiaowei Xu^{2,15} & Wei Guo¹



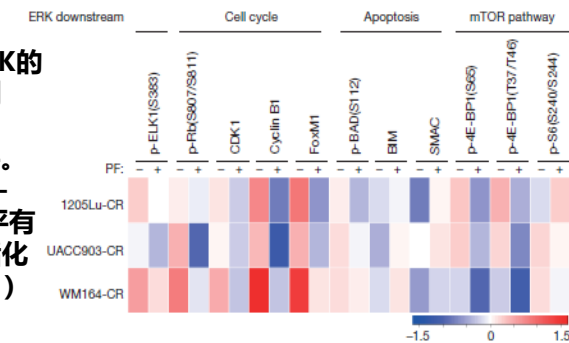
通过WB检测，发现BR细胞中p - CRAF (S338)和p - MEK (S298)都显著增加；用抑制剂处理后，MAPK信号表达下调



为了全面了解抑制PAK后BR细胞系中改变的信号通路，作者使用RPPA对它们进行分析。

主要变化: (1) 抑制MAPK路径，如p-ERK (T202 / Y204)及其下游目标p-c-JUN (S73)的减少; (2) 抑制细胞周期进程，如FOXM1、细胞周期蛋白B1和CDK1减少，同时p-Rb减少(S807 / S811); (3) 抑制mTOR信号，如p-S6 (S235 / S236)、p-S6 (S240 / S244)、p-4E-BP1 (S65)和p-4E-BP1 (T37 / T46)的减少

在CR细胞中，发现对p-ERK的影响并不大，但是却会抑制ERK下游通路蛋白p-ELK1(S383)的磷酸化水平。同时m-TOR通路上的p-4E-BP1以及p-S6的磷酸化水平有显著降低，并且细胞周期活化(上调p-Rb和p-cyclin B1)



非因生物RPPA案例分析4——乳腺癌分子分型研究及新亚型鉴定 (TCGA)



ARTICLE

IF: 49.962

doi:10.1038/nature11412

Comprehensive molecular portraits of human breast tumours

The Cancer Genome Atlas Network*

We analysed primary breast cancers by genomic DNA copy number arrays, DNA methylation, exome sequencing, messenger RNA arrays, microRNA sequencing and reverse-phase protein arrays. Our ability to integrate information across platforms provided key insights into previously defined gene expression subtypes and demonstrated the existence of four main breast cancer classes when combining data from five platforms, each of which shows significant molecular heterogeneity. Somatic mutations in only three genes (*TP53*, *PIK3CA* and *GATA3*) occurred at >10% incidence across all breast cancers; however, there were numerous subtype-associated and novel gene mutations including the enrichment of specific mutations in *GATA3*, *PIK3CA* and *MAP3K1* with the luminal A subtype. We identified two novel protein-expression-defined subgroups, possibly produced by stromal/microenvironmental elements, and integrated analyses identified specific signalling pathways dominant in each molecular subtype including a HER2/phosphorylated HER2/EGFR/phosphorylated EGFR signature within the HER2-enriched expression subtype. Comparison of basal-like breast tumours with high-grade serous ovarian tumours showed many molecular commonalities, indicating a related aetiology and similar therapeutic opportunities. The biological finding of the four main breast cancer subtypes caused by different subsets of genetic and epigenetic abnormalities raises the hypothesis that much of the clinically observable plasticity and heterogeneity occurs within, and not across, these major biological subtypes of breast cancer.

466 组织样本/463 病人
mRNA DNA methylation
SNP miRNA-seq WES

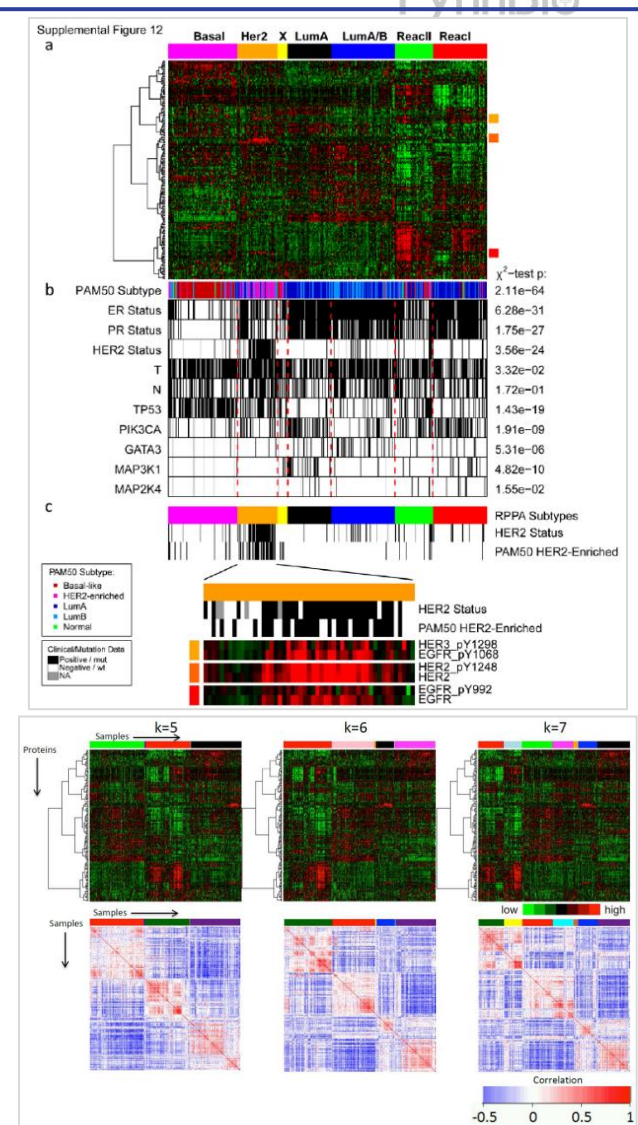
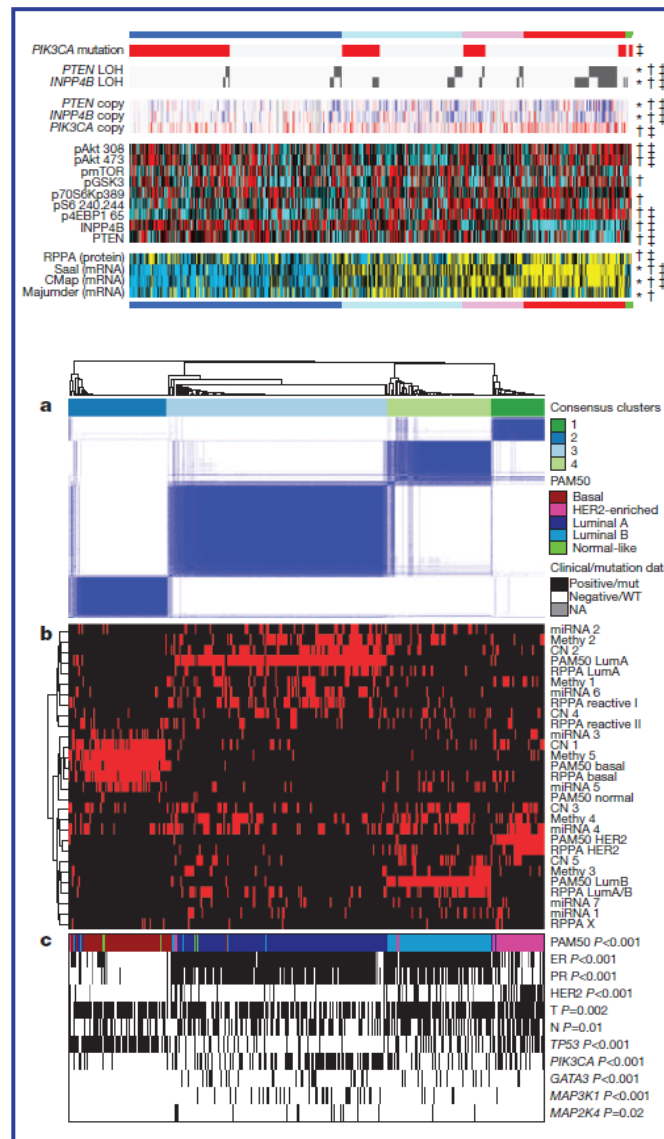
403 样本
RPPA 171 蛋白/磷酸化蛋白

mRNA与RPPA蛋白分型的高度一致性
高表达的HER2/EGFR ;
HER2(pY1248) /EGFR(pY992)
ER,PR,AR,BCL2,GATA3,INPP4B
(Lumina A)

RPPA 蛋白表达谱定义新亚型

➤ 发现2个
RPPA 蛋白表达谱定义新亚型:
reactive I and reactive II
TME and fibroblasts (fibronectin
caveolin 1 collagen VI)

➤ 主要发现:
蛋白表达定义的新亚型在基因组, 表观组,
突变组合拷贝数变异层面观测不到。可独立
作为生物标志物和临床靶向药物研究的新
突破口。



非因生物 新型蛋白组学和空间多组学在癌症研究领域中的应用

非因生物RPPA案例分析5——RPPA蛋白分型寻找透明细胞肾癌ccRCC生物标志物

ARTICLE

IF:49.962

OPEN

doi:10.1038/nature12222

Comprehensive molecular characterization of clear cell renal cell carcinoma

The Cancer Genome Atlas Research Network*

找寻基因组层面所不能发现的信息

Genetic changes underlying clear cell renal cell carcinoma (ccRCC) include alterations in genes controlling cellular oxygen sensing (for example, *VHL*) and the maintenance of chromatin states (for example, *PBRM1*). We surveyed more than 400 tumours using different genomic platforms and identified 19 significantly mutated genes. The PI(3)K/AKT pathway was recurrently mutated, suggesting this pathway as a potential therapeutic target. Widespread DNA hypomethylation was associated with mutation of the H3K36 methyltransferase *SETD2*, and integrative analysis suggested that mutations involving the SWI/SNF chromatin remodelling complex (*PBRM1*, *ARID1A*, *SMARCA4*) could have far-reaching effects on other pathways. Aggressive cancers demonstrated evidence of a metabolic shift, involving downregulation of genes involved in the TCA cycle, decreased AMPK and *PTEN* protein levels, upregulation of the pentose phosphate pathway and the glutamine transporter genes, increased acetyl-CoA carboxylase protein, and altered promoter methylation of *miR-21* (also known as *MIR21*) and *CRABP1*. Remodelling cellular metabolism thus constitutes a recurrent pattern in ccRCC that correlates with tumour stage and severity and offers new views on the opportunities for disease treatment.

The Author(s) BMC Genomics 2017, 18(Suppl 6):678
DOI: 10.1186/s12864-017-4026-6

BMC Genomics

生信挖掘

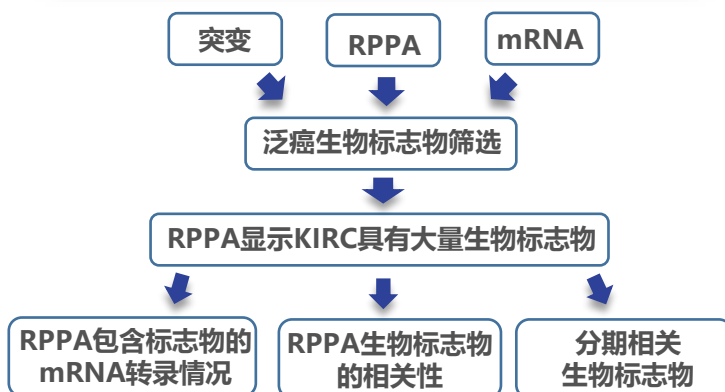
IF:3.969

Open Access

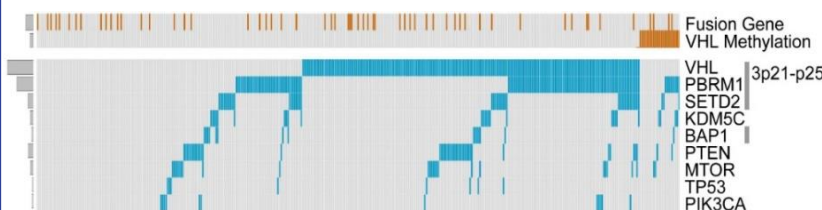
Unique protein expression signatures of survival time in kidney renal clear cell carcinoma through a pan-cancer screening

Guangchun Han¹, Wei Zhao², Xiaofeng Song³, Patrick Kwok-Shing Ng⁴, Jose A. Karam⁵, Eric Jonasch⁶, Gordon B. Mills², Zhongming Zhao^{1,2*}, Zhiyong Ding^{2*} and Peilin Jia^{1*}

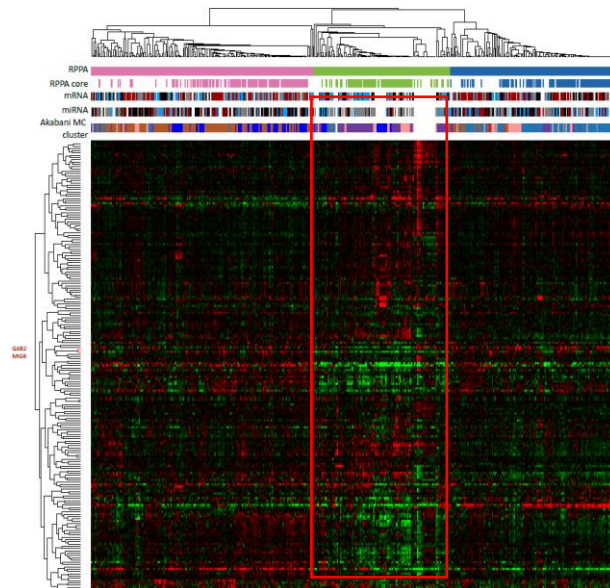
From The International Conference on Intelligent Biology and Medicine (ICBM) 2016
Houston, TX, USA. 08-10 December 2016



从基因突变层面去寻找预后相关亚型存在缺陷

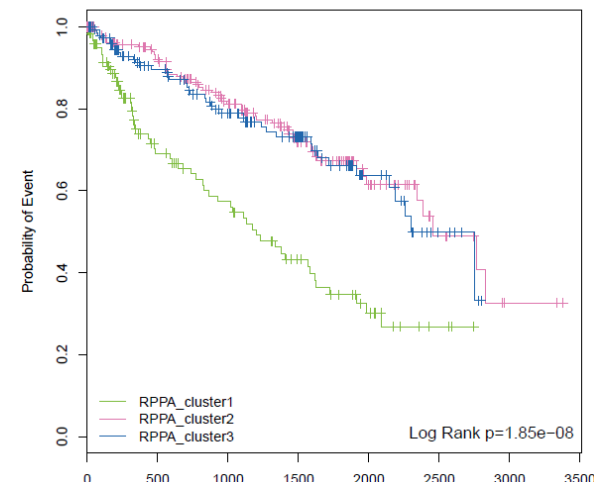


蛋白组定义的亚型在基因组层面无法获得

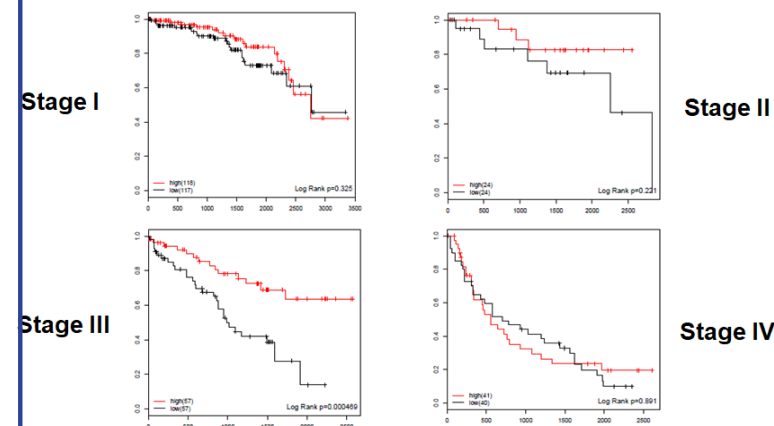


生存与蛋白标志物直接关联
生物标志物/药物靶点的发掘

TCGA KIRC, RPPA consensus cluster. Overall Survival. N=478



MIG6蛋白高表达在三期病人中预示着最佳的生存(ccRCC, TCGA)



非因生物RPPA案例分析6——RPPA外泌体蛋白组之蛋白生物标志物探索



SCIENCE ADVANCES | RESEARCH ARTICLE

IF:14.136

CANCER

Proteomic analysis of circulating extracellular vesicles identifies potential markers of breast cancer progression, recurrence, and response

Yaron Vinik^{1*}, Francisco Gabriel Ortega^{1*}, Gordon B. Mills², Yilling Lu³, Menucha Jurkowicz⁴, Sharon Halperin⁴, Mor Aharoni⁴, Mordechai Gutman⁴, Sima Lev^{1†}

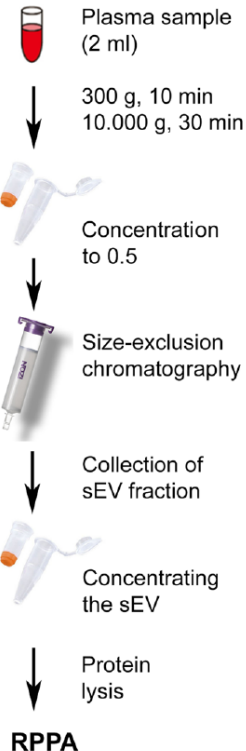
52例乳腺癌患者+22例健康对照
尺寸排阻法收集外周血外泌体

276个蛋白靶点RPPA实验

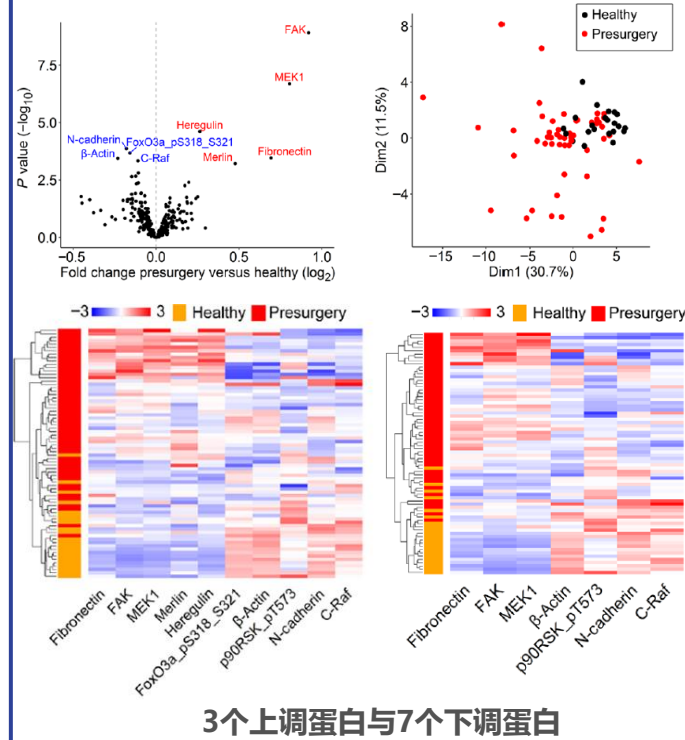
差异表达
分析
KNN和
ROC分析
FAK可作为最有力
的预测标
签

乳腺癌不同阶
段的生物标签
的鉴定
EGFR、P-
cadherin、
IGFRβ在区分
健康样本、I
期和IIA期患
者起到重要作
用

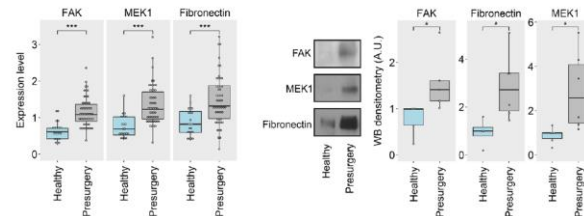
复发风险的
蛋白质标签
比较3例复发患
者RPPA结果,
发现HSP70可能
可用作复发预测
标签



10个蛋白表达定义的标志物群 区分乳腺癌人群



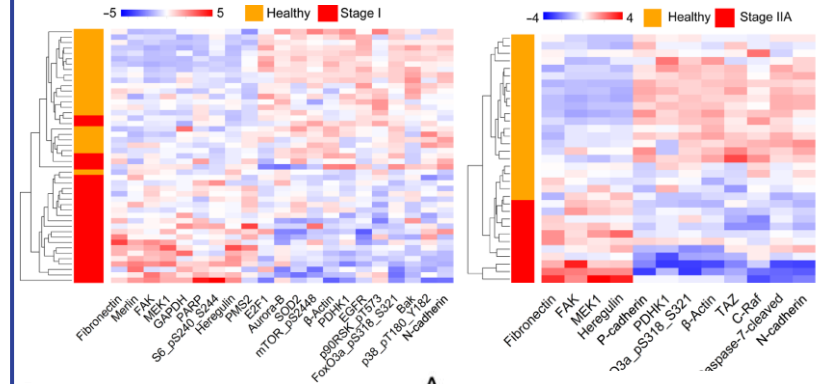
3个上调蛋白与7个下调蛋白



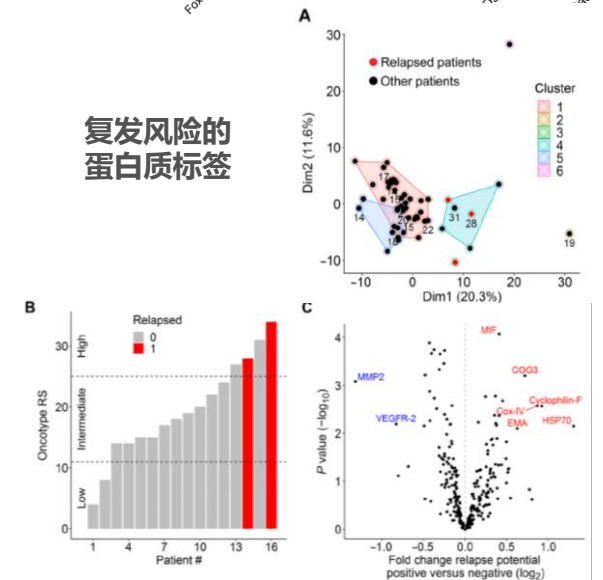
乳腺癌不同阶段的生物标签的鉴定

差异表达谱:
健康人群 vs Stage I

差异表达谱:
健康人群 vs Stage IIA



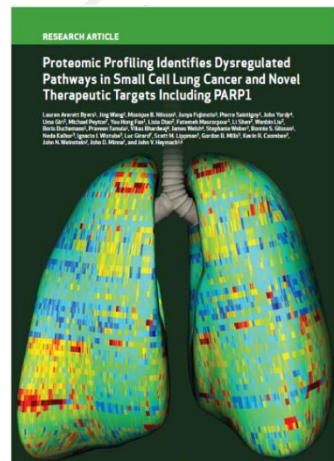
复发风险的 蛋白质标签



非因生物 新型蛋白组学和空间多组学在癌症研究领域中的应用

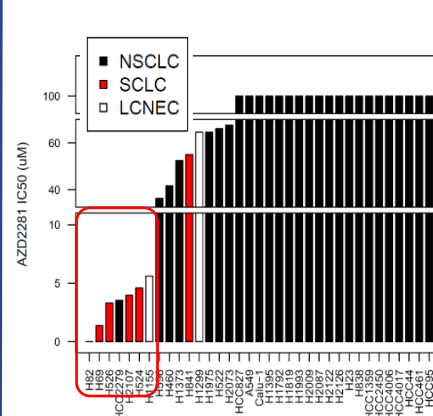
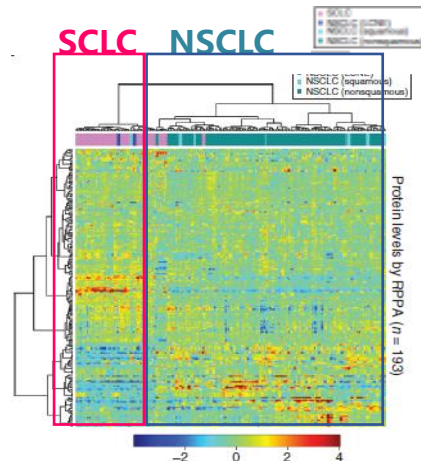
非因生物RPPA案例分析7——探究小细胞肺癌中RPPA高表达，并应用于靶向治疗

临床靶向药物适应症和治疗分子靶点研究

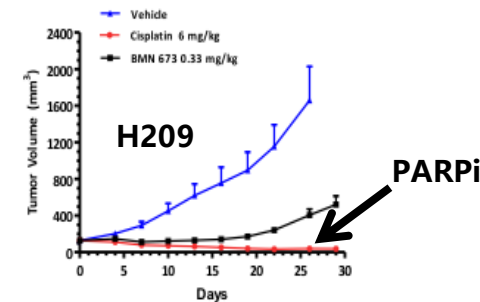
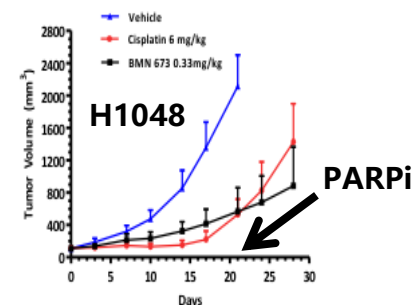


IF:39.397

Byers et al. Cancer Discovery, 2012 封面文章报道

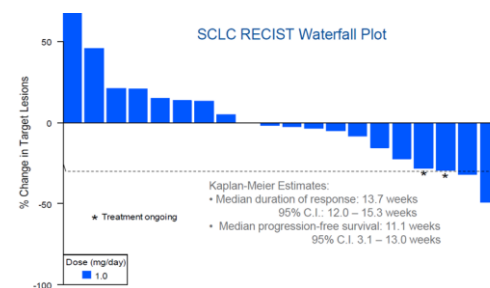
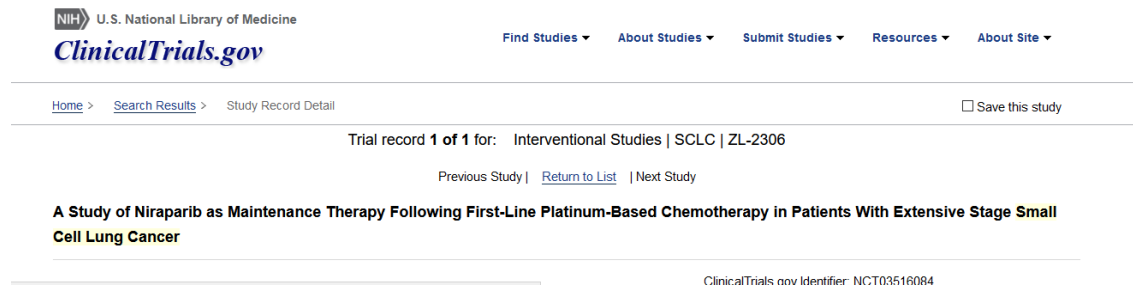


Olaparib (AZD2281) 单药



Byers et al. Cancer Discovery, 2012;
Cardnell and Byers, CCR 2013

PARP抑制剂Niraparib单药小细胞肺癌维持治疗III期研究



PARP抑制剂
Talazoparib (BMN 673) – 单药在SCLC中

SCLC patients had extensive stage and had progressed following platinum administration

Zev A. Wainberg, Saeed Rafii et al. ASCO 2014 Abstract no 7522



非因生物RPPA案例分析8——C3AR在AD中的机制研究

基于小鼠的机理研究

IF:14.415

Neuron

Article
Complement C3aR Inactivation Attenuates Tau Pathology and Reverses an Immune Network Deregulated in Tauopathy Models and Alzheimer's Disease

Graphical Abstract

Authors

Alexandra Litvinchuk, Ying-Mao Wan

背景：AD形成过程中Tau蛋白调控机制不明确，C3-C3AR通路调控与感知下降与Braak分期相关，且C3被证明调控A β 以及星形细胞---神经元---小胶质细胞之间互作

RNA-Seq确认C3/C3AR表达与疾病的关系(人/小鼠模型PS19)

小鼠C3AR/KO功能缺失实验探究机理

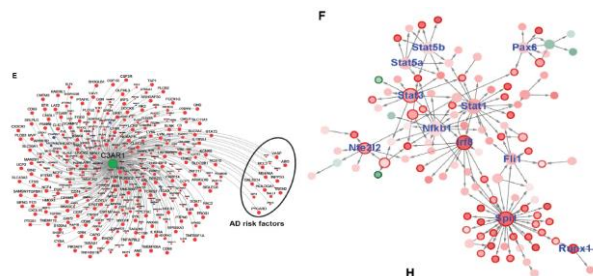
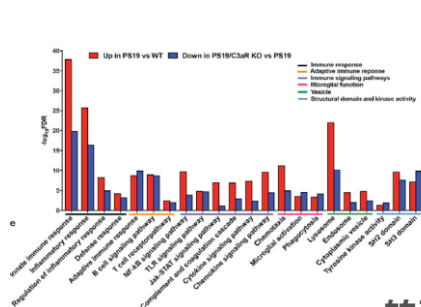
KO模型
RNA-seq
实验确认
免疫调控
机理

GSEA分析
确认核心免疫
转录调控
因子STAT

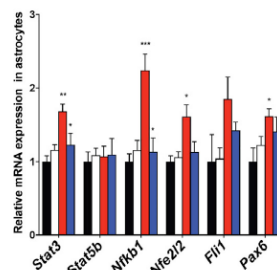
RPPA分析核
心STAT3相
关蛋白调控

WB部分验证

基于RNA-seq的模型机理研究



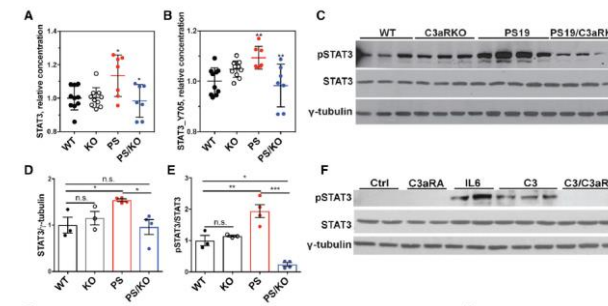
转录调控研究聚焦到免疫及免疫相关转录因子



RPPA分析STAT3相关通路表达水平

Bulk层面的
STAT3表达与
C3AR显著相关。

64小鼠样本(4个
组，每组7-10个
独立样本RPPA
分析)

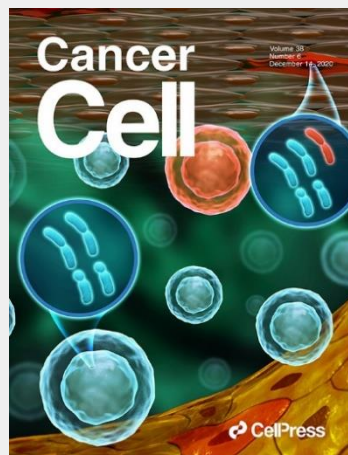


WB验证

非因生物RPPA案例分析——临床转化医学类



08 | 临床耐药性分子机制的整体评估



09 | 高通量癌症药物靶点研究



10 | 临床试验靶向药生物标志物探索



非因生物RPPA案例分析8——临床样本耐药机理研究

转移性结直肠癌I/II期个体化治疗试验方法学

评估获取Imatinib和Panitumumab分层治疗患者蛋白质通路激活图谱的可行性

Journal of
proteome
research

IF: 4.466

Article
pubs.acs.org/jpr

Pilot Phase I/II Personalized Therapy Trial for Metastatic Colorectal Cancer: Evaluating the Feasibility of Protein Pathway Activation Mapping for Stratifying Patients to Therapy with Imatinib and Panitumumab

M. Pierobon,[†] A. Silvestri,^{†,*} A. Spira,[§] A. Reeder,[†] E. Pin,^{†,*} S. Banks,[§] Erika Parasido,^{†,*} K. Edmiston,^{||} L. Liotta,[†] and E. Petricoin^{†,*}

难点:

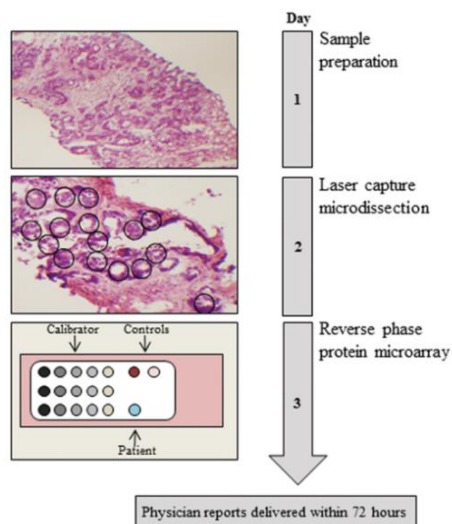
- (1) CRC病例的分子图谱和基质不明确, 且非常影响靶标药物的作用; 因而, 转移性患者的治疗应以继发病灶的分子图谱为主导;
- (2) 转移瘤与原发肿瘤的分子相似性较低, 只有通过转移瘤的直接分析才能获得准确的分子图谱;
- (3) WGS、WES等分析技术存在数据局限性, 不能完全解释耐药;
- (4) 利用基于活体检视获得的微量细胞, 及时定量活化状态蛋白的技术方法, 目前还十分缺乏;

3名患者 (2敏感, 1耐药)
给药前 vs 给药后
Fresh frozen tissues
新鲜冰冻组织获取

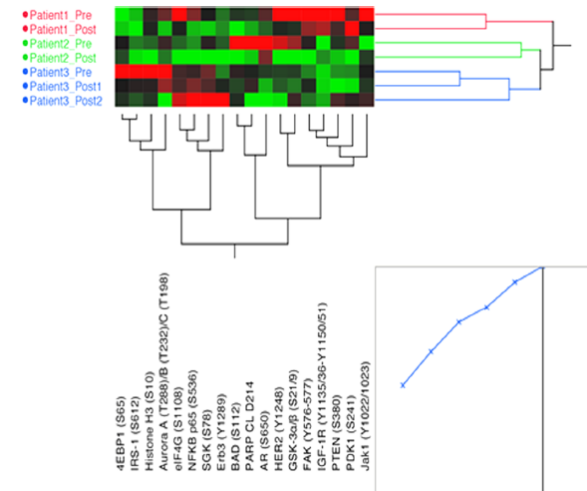
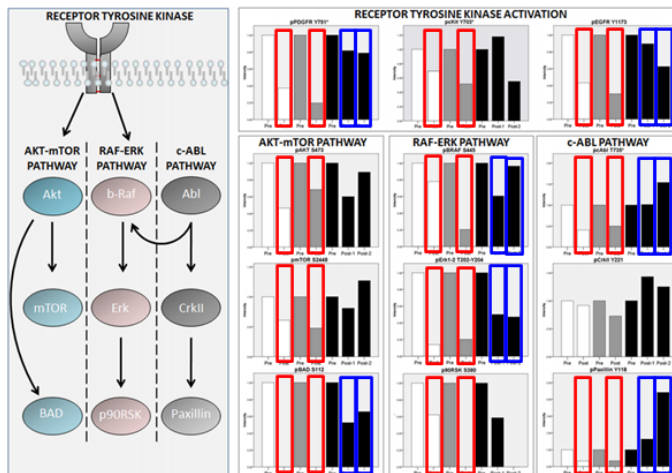
Laser Captured Microdissection
激光捕获显微切割纯化
微环境中的肿瘤组织

蛋白提取及RPPA分析

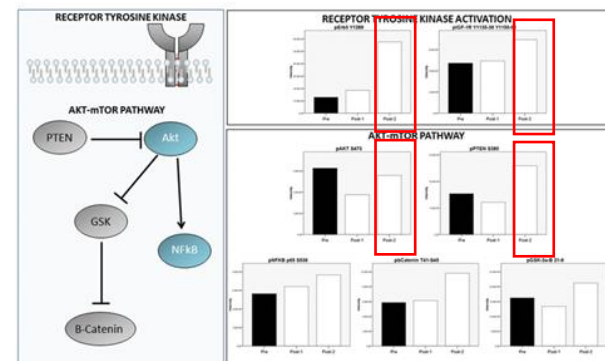
72h内, 获取Imatinib和
Panitumumab分层治疗患者蛋
白质通路激活图谱



通过3名患者评估: 给药后, 药物靶点和下游底物磷酸化的变化。评估的3名患者中有2名患者的所有药物靶点的活化/磷酸化水平以及一些下游底物的活性/磷酸化水平下调



1名耐药患者评估: 二次治疗后观测,
AKT-mTOR通路激活增加, 同样的还有RTKs。



非因生物RPPA案例分析9——高通量癌症药物靶点研究

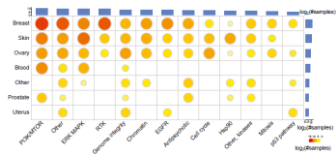
Cancer Cell

CellPress

Article

Large-Scale Characterization of Drug Responses of Clinically Relevant Proteins in Cancer Cell Lines

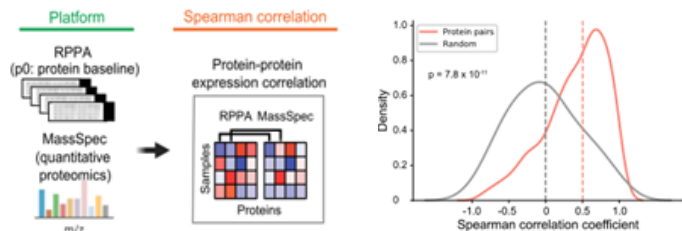
Wei Zhao,^{1,2,12} Jun Lu,^{1,12} Mei-Ju M. Chen,¹ Yikai Luo,^{1,2} Zhenlin Ju,¹ Nicole K. Nesser,² Katie Johnson-Camacho,² Christopher T. Boniface,² Yancey Lawrence,² Nupur T. Pande,² Michael A. Davies,² Meenhard Herlyn,² Taru Muraen,² Ioannis K. Zervantonakis,^{2,4} Erika von Euw,² Andre Schultz,¹ Shwetha V. Kumar,¹ Anil Korkut,¹ Paul T. Spellman,² Rehan Akbani,¹ Dennis J. Slamon,² Joe W. Gray,^{1,2} Joan S. Brugge,² Yiling Lu,² Gordon B. Mills,^{1,2} and Han Liang,^{1,2,12,13,*}



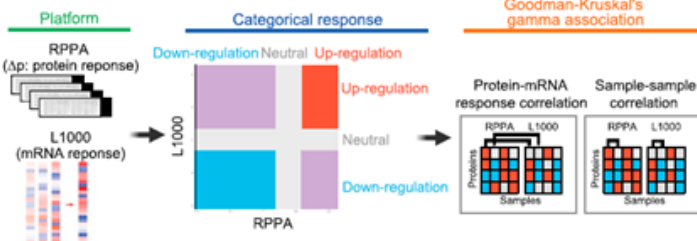
实验设计:

319种细胞系+170种药物的关联
单药处理86%, 1700+组合处理
11884份处理样本和3608份对照 (Δp)

RPPA比对MS数据 (靶点相关性)



RPPA比对RNA-seq数据 (靶点相关性,样本相关性)



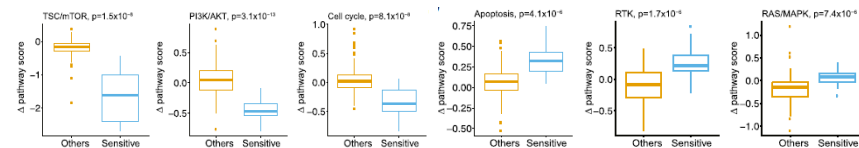
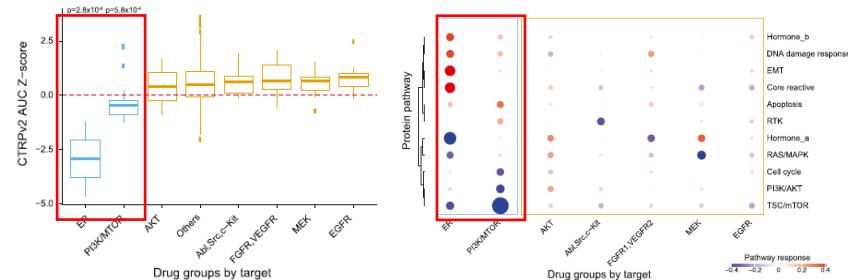
实验设计:

聚焦在MCF7细胞系数据 (1500+样本)

- ✓ 19种靶向药及组合
- ✓ 9种刺激及不同处理时间 (本底+处理条件/时间 Δp)
- ✓ 覆盖主要MCF7主要药物靶点 (ER, PI3K/mTOR, AKT, MEK, EGFR)
- ✓ 2层面分析: 按RPPA靶点 pathway 分类或按药物作用机理 pathway 分类

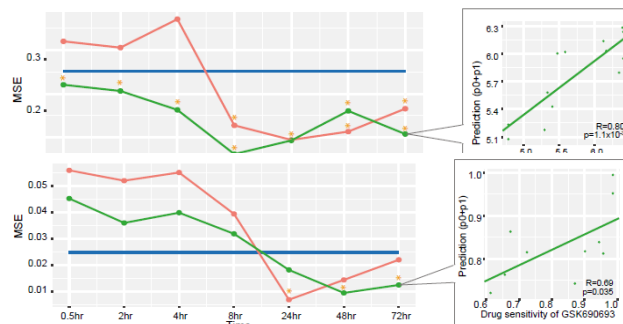
结论:

MCF7对ER和PI3K/MTOR极度敏感



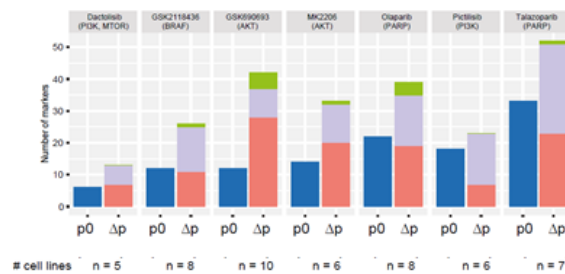
实验设计:

7个药物 (GDSC2数据, 5个以上细胞系)
处理前, 处理后差异, 处理后差异+处理前



结论:

- ✓ 对药物敏感的生物标志物研究
- ✓ 差异变化可以作为更直接的生物标志物
- ✓ 在时间维度上, 处理后72小时的预测准确度
- ✓ 高于早期时间点



非因生物RPPA案例分析10——药敏临床试验生物标志物研究（RPPA分析）

I-SPY-2 trial 抑制剂(MK2206)

转录组表达谱芯片 (Agilent 44K) WES全外显子测序 RPPA蛋白组学 (118 protein/phosphoproteins targeting drug pathways)

入组病例 (n=151)
MK2206:94
对照组: 57

有治疗前表达谱数据 (n=150)
MK2206:94
对照组: 56

撤回组织使用同意书 (n=8)

治疗前样本可供多组学
生物标志物评估 (n=142)
MK2206:88
对照组: 54

RPPA数据可用 (n=138)
MK2206:87
对照组: 51

样本量不足 (n=4)

npj Breast Cancer

www.nature.com/npjbcancer

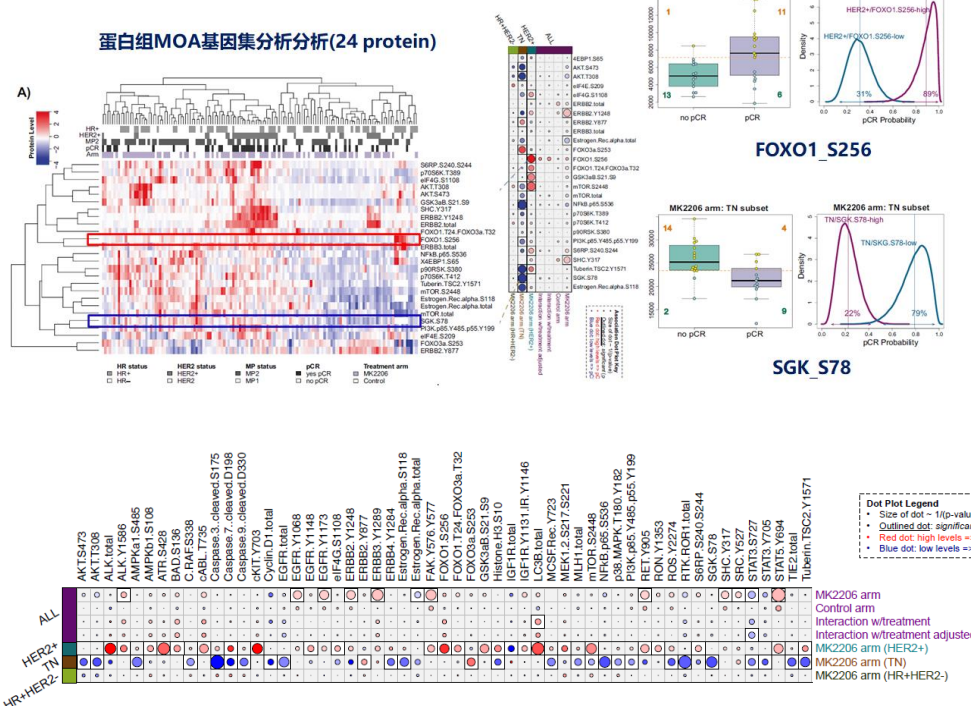
IF:6.923

ARTICLE OPEN

Mechanism of action biomarkers predicting response to AKT inhibition in the I-SPY 2 breast cancer trial

Denise M. Wolf^{1,6}, Christina Yau^{1,6}, Julia Wulfeuhle^{2,6}, Lamorna Brown-Swigart¹, Rosa I. Gallagher², Mark Jesus M. Magbanua⁶, Nick O'Grady¹, Gillian Hirst⁶, I-SPY 2 TRIAL Investigators*, Smita Asare³, Debu Tripathy⁶, Don Berry⁵, Laura Esserman⁶, A. Jo Chien¹, Emanuel F. Petricoin III² and Laura van 't Veer⁶

蛋白组MOA基因集分析分析(24 protein)



转录组分析

Population as a whole with gene expression (n=150: 94 in MK2206, 56 in Ctr)										HER2+ subset (n=34 in MK2206)*		TN subset (n=28 in MK2206)*		HR+HER2- subset (n=28 in MK2206)*	
Genes	MK2206 arm: OR/unit inc	MK2206 arm: LR p	MK2206 arm: LR p (adjusted for HR and HER2)	Contr arm: OR/unit inc	Contr arm: LR p	Biomarker x treatment int (LR p)	Biomarker x treatment int (adjusted for HR and HER2)	MK2206 arm: OR/unit inc	MK2206 arm: LR p	MK2206 arm: OR/unit inc	MK2206 arm: LR p	MK2206 arm: OR/unit inc	MK2206 arm: LR p	MK2206 arm: OR/unit inc	MK2206 arm: LR p
AKT1	0.959	0.803	0.855	0.944	0.887	0.957	0.899	0.986	0.97	0.986	0.175	0.972	0.849		
EGFR	1.13	0.305	1.09	1.01	0.985	0.66	0.664	1.02	0.949	1.21	0.098	0.884	0.806		
HER2	1.15	0.0964	1.15	1.47	0.329	0.964	0.977	1.32	0.644	1.17	0.836	0.88	0.916		
PIK3CA	1.05	0.977	0.954	0.956	0.155	0.726	0.737	1.02	0.963	1.19	0.74	1.27	0.648		
MTOR	0.638	0.0678	0.624	0.779	0.322	0.656	0.68	0.709	0.809	2.03	0.2	0.772	0.52		
MTOR	0.905	0.652	1.33	1.69	0.157	0.144	0.213	1.09	0.807	0.747	0.462	0.781	0.659		
NRAS	1.37	0.153	1.2	0.742	0.444	0.152	0.17	0.725	0.626	1.79	0.0457	0.166	0.0529		
PTEN	1.15	0.481	1.14	1.59	0.18	0.428	0.267	0.857	0.568	0.2	0.939	1.18	0.792		
TP53	1.06	0.774	1.32	1.03	0.952	0.914	0.84	0.917	0.823	1.43	0.318	1.08	0.89		
TP53	1.28	0.226	0.855	1.28	0.552	0.983	0.816	1.78	0.135	1.04	0.922	0.888	0.823		
BRCA1	1.01	0.898	0.962	0.892	0.378	0.626	0.461	1.21	0.588	0.443	0.0017	1.1	0.641		
GPR1	0.693	0.0481	0.79	0.979	0.963	0.429	0.725	0.611	0.315	0.999	0.998	0.692	0.479		
MEF1	1.2	0.881	1.08	0.887	0.753	0.451	0.436	1.14	0.661	0.54	0.185	2.84	0.0862		
PIK3R	0.899	0.724	0.7	0.795	0.681	0.974	0.71	0.608	0.122	0.854	0.213	0.894	0.927		
PIK3R	1.44	0.067	1.3	1.48	0.321	0.489	0.287	1.39	0.549	1.44	0.164	0.592	0.164		
SELNBP1	0.634	0.0558	0.768	0.929	0.147	0.908	0.534	0.663	0.413	0.771	0.502	0.52	0.409		
STARD3	1.15	0.0497	1.15	1.71	0.174	0.785	0.553	1.37	0.504	0.131	0.15	0.651	0.773		
TTX102	1.34	0.161	1.47	0.851	0.65	0.944	0.255	1.05	0.907	1.71	0.151	1.48	0.265		
THY22	0.971	0.888	0.723	0.444	0.0659	0.117	0.313	0.983	0.965	0.363	0.044	0.564	0.947		

RPPA蛋白组

Population as a whole with RPPA (n=138: 87 in MK2206, 51 in Ctr)										HER2+ subset (n=31 in MK2206)*		TN subset (n=29 in MK2206)*		HR+HER2- subset (n=27 in MK2206)*	
AKT/MTOR signaling proteins	MK2206 arm: OR/unit inc	MK2206 arm: LR p	MK2206 arm: LR p (adjusted for HR and HER2)	Contr arm: OR/unit inc	Contr arm: LR p	Biomarker x treatment int (LR p)	Biomarker x treatment int (adjusted for HR and HER2)	MK2206 arm: OR/unit inc	MK2206 arm: LR p	MK2206 arm: OR/unit inc	MK2206 arm: LR p	MK2206 arm: OR/unit inc	MK2206 arm: LR p	MK2206 arm: OR/unit inc	MK2206 arm: LR p
HERP136	0.824	0.581	0.491	0.96	0.887	0.732	0.728	0.55	0.25	0.441	0.144	0.881	0.889		
AKT1	0.743	0.175	0.963	0.952	0.737	0.737	1.04	0.904	0.147	0.021	0.293	0.19			
AKT1308	0.658	0.0684	0.564	1.3	0.814	0.561	0.524	1.23	0.696	0.125	0.011	0.288	0.191		
HER2	1.2	0.047	0.944	0.814	0.716	0.659	0.843	1.29	0.46	0.669	0.1	0.2	0.14		
HER21308	1.18	0.065	0.983	1.34	0.386	0.788	0.517	1.22	0.897	0.406	0.0666	1.04	0.36		
HER21308	1.33	0.106	0.35	1.84	0.0995	0.452	0.422	0.806	0.333	0.37	0.733	2.18	0.095		
HER21308	1.77	0.00049	0.186	1.54	0.222	0.745	0.852	1.74	0.0983	3.29e-05	0.0775	0.0007	0.512		
HER21308	1.05	0.925	0.445	1.05	0.932	0.589	0.626	0.72	0.4	0.896	1.68				
HER21308	1.4	0.25	0.348	0.863	0.349	0.671	1.7	0.287	0.356	0.487	1.37	0.389			
HER21308	0.19	0.0006	0.195	0.865	0.648	0.179	0.706	1.15	0.765	0.34	0.0579	0.999	0.265		
HER21308	1.38	0.261	0.724	1.16	0.623	0.686	0.491	0.524	0.243	1.21	0.0246	1.24	0.001		
FOXO1	1.93	0.163	0.321	0.74	0.375	0.0991	0.14	1.12	0.8072	0.687	0.209	0.016	0.055		
FOXO11308	1.35	0.125	0.569	1.47	0.118	0.894	0.933	2.3	0.0004	0.749	0.361	2.26	0.505		
FOXO11308	1.31	0.138	0.17	1.27	0.551	0.958	0.872	1.84	0.00017	0.77	0.529	1.09	0.825		
FOXO11308	1.71	0.346	0.288	1.18	0.634	0.92	0.62	1.84	0.00025	0.39	0.8379	1.82	0.166		
FOXO11308	0.685	0.148	0.296	0.779	0.938	0.326	1.17	0.36	0.326	0.0112	0.805	0.708			
FOXO11308	0.551	0.118	0.0658	0.773	0.435	0.337	0.386	1.55	0.333	0.138	0.00072	0.371	0.575		
FOXO11308	1.18	0.487	0.475	1.06	0.904	0.852	0.243	1.25	0.393	0.249	0.0867	2.33	0.386		
FOXO11308	1.39	0.294	0.644	1.01	0.87	0.338	0.644	1.51	0.23	0.476	0.135	2.26	0.331		
FOXO11308	1.06	0.741	0.907	0.881	0.724	0.61	0.484	1.76	0.381	0.579	0.249	1.23	0.702		
FOXO11308	1.24	0.302	0.792	1.48	0.323	0.703	0.704	1.52	0.195	0.319	0.0394	1.26	0.7		
FOXO11308	1.47	0.156	0.433	1.01	0.973	0.48	0.357	0.76	0.446	0.267	0.0956	1.18	0.898		
FOXO11308	1.47	0.0075	0.252	1.95	0.152	0.76	0.851	1.41	0.18	0.871	0.984	2.11	0.758		
FOXO11308	0.858	0.529	0.403	1	0.995	0.779	0.868	1.13	0.0004	0.14	0.00007	0.77	0.76		
FOXO11308	0.836	0.508	0.262	1.15	0.63	0.423	0.308	1.05	0.379	0.00352	1.49	0.334			
FOXO11308	0.795	0.432	0.431	0.963	0.901	0.651	0.723	1.28	0.27	0.184	0.0098	0.803	0.735		

RPPA临床试验应用-----全球大药厂研发的核心技术之一

乳腺癌 (USO, Inova:GSK) TKI:EGF/HER2联合治疗

乳腺原位癌DCIS cancer stem/Progenitor cells

乳腺癌 (IV级) 基于基因蛋白组的个体化治疗

ISPY 2 乳腺癌适应性疗法预前生物标志物筛选

乳腺癌TNBC新辅助化疗 (Novartis) +TKI靶向 (phase2)

多发性骨髓瘤(Hem Oncol Assoc, Inova): 靶向抑制剂筛选

神经内分泌瘤(Novartis): TKI靶向抑制剂 (phase2)

结直肠癌肝转移(Novartis): 个体化分层治疗研究

转移性结直肠癌(GSK): EGFR+HER2抑制剂 (phase1b)

转移性结直肠癌: TKI组合抑制剂 (phase1/2)

多种实体瘤(GSK): EGFR+HER2抑制剂 (phase1/2)



非因生物多组学研究策略——RPPA解决方案

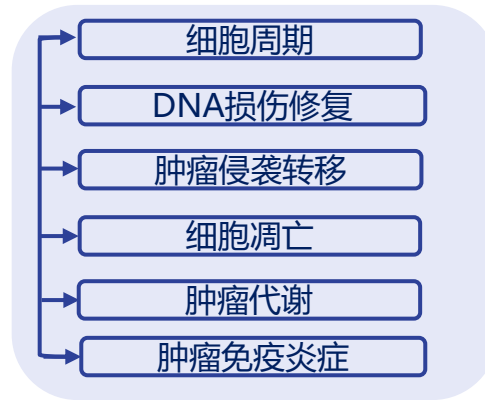
- 耐药机理，用药组合，信号水平



EGFR, ErbB, FoxO, mTOR, JAK-STAT, MAPK, NF-kappa B, AMPK, p53, TGF-beta, Ras, Insulin, cGMP-PKG, Hippo, cGAS-STING

基于药物靶点及通路水平的深入研究

- 10-100' s protein/modified proteins
某些机制主要相关通路及靶点深度研究



机理相关通路深度研究

- Protein ID' s
候选通路/靶点验证



RPPA

VS

机理探索/标志物发现

LC/LC-MS/MS
2-D Gels
MALDI-TOF
...Proteomics
Tissue Arrays
Protein microarrays

样本: 10-100' s

1000' s

分析靶点: 1000' s

100' s



OUTLINE 目录

非因生物 专注癌症精准医疗 / 全球领先的蛋白组学·空间多组学技术平台

01| 非因生物简介

03| 空间多组学技术

05| 样本准备要素

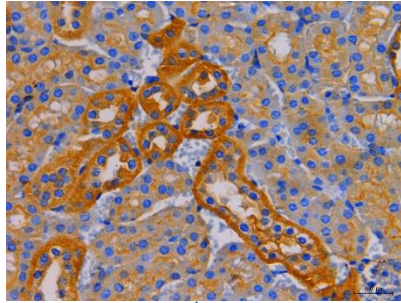
02| RPPA蛋白组学技术

04| 非因策略

※ 内部资料请勿转发 最终解释权归非因生物所有

为何空间生物学的革命正在发生

还原细胞亚型的空间分布的重要性

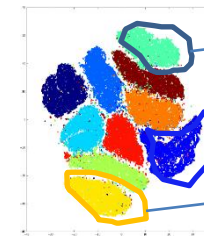


组织形态及功能

100-200年前

2006年至今

TCGA和bulk
组织NGS分析



tSNE cell
type "A"

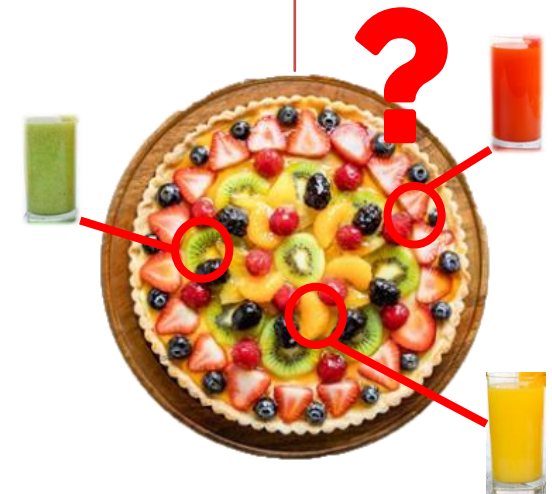
tSNE cell
type "B"

tSNE cell
type "C"

单细胞测序,
细胞分群

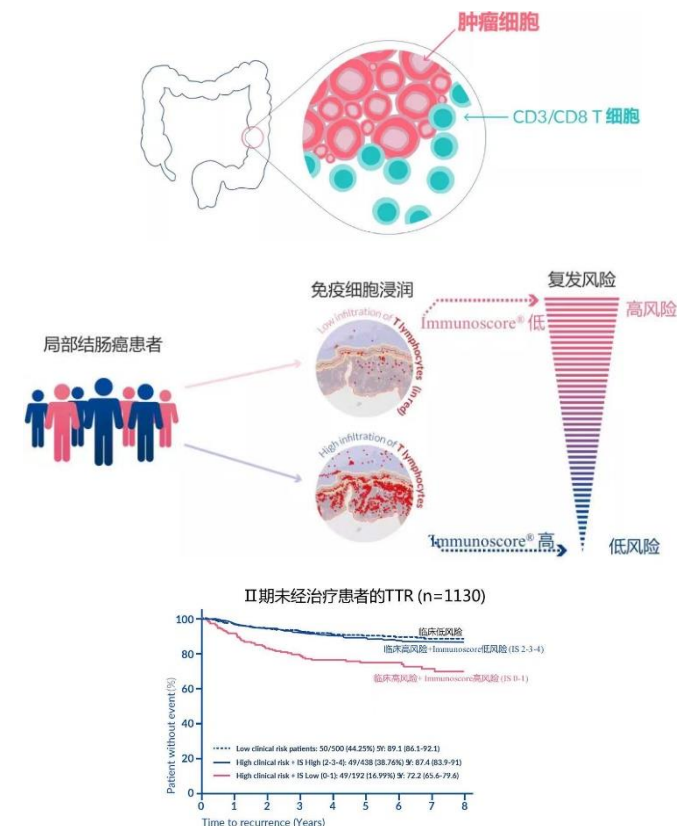
2012年至今

组学结果无法
还原空间信息



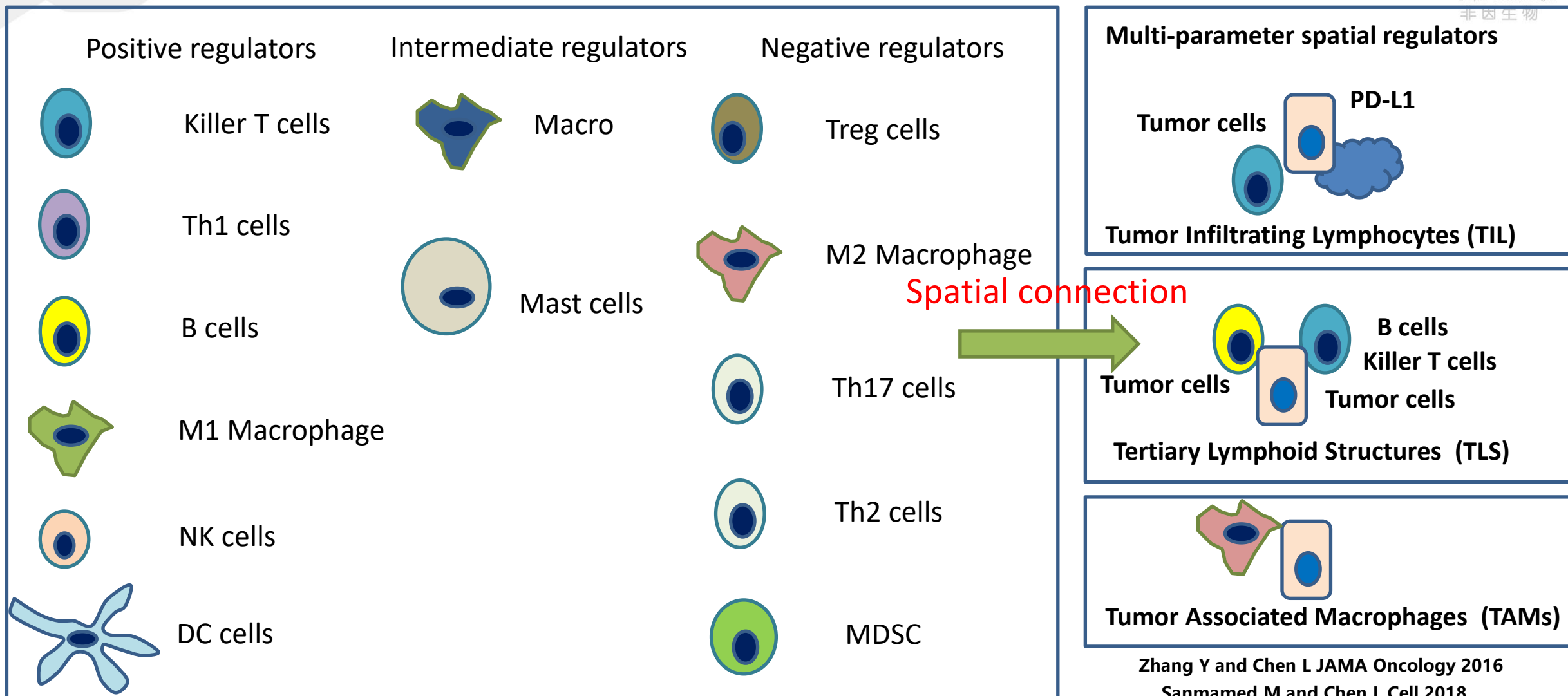
结合空间信息的多重原位荧光有着更好的治疗预后效果

CRC预后复发风险评估: CD3/CD8浸润T细胞



Broad Institute of MIT and Harvard
Lu Steven, Stein Julie et al, JAMA oncology 2019
Yarchoan M Hopkins A and Jaffee E NHJM 2017

为何我们需要深入研究空间组学-----微环境角度



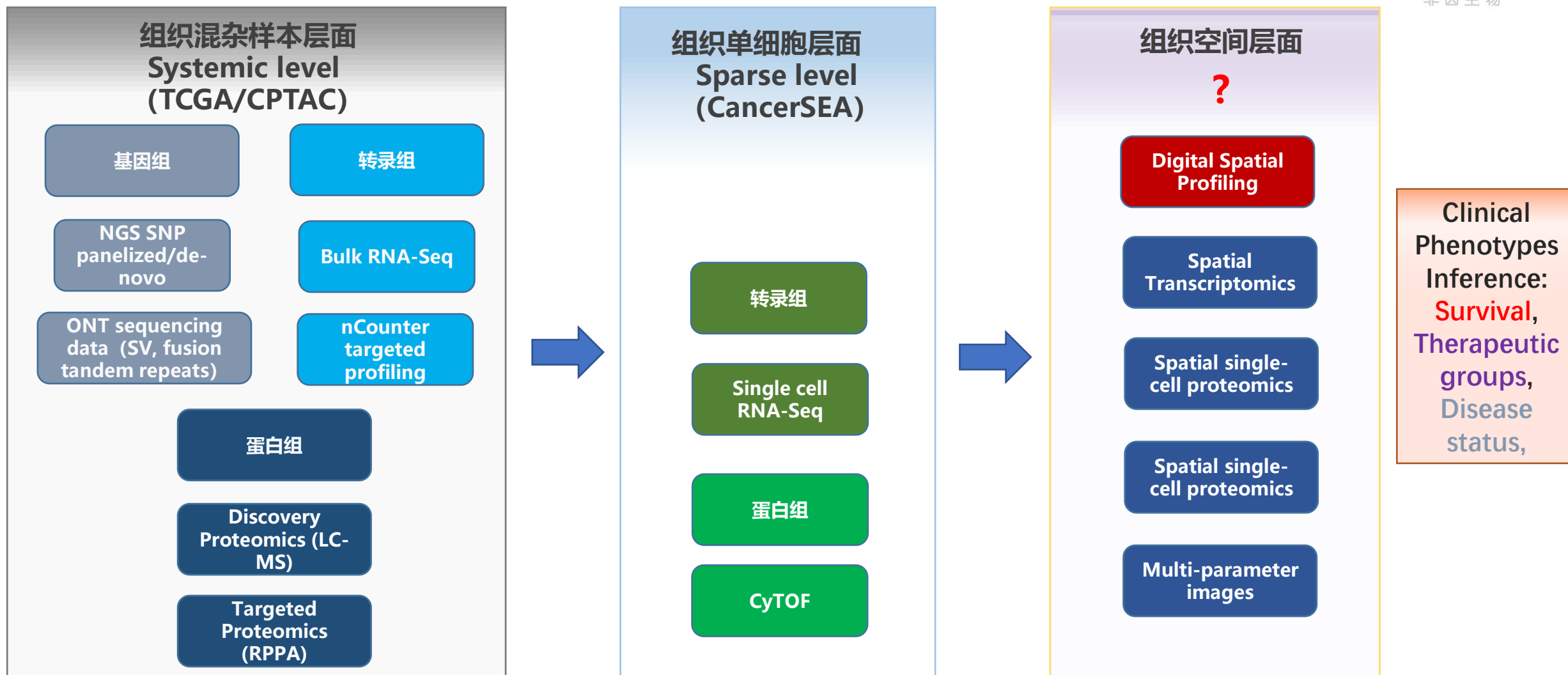
Zhang Y and Chen L JAMA Oncology 2016

Sanmamed M and Chen L Cell 2018

Daniela Buini Gelen Angell Jerome Galon Nat reviews cancer 2020



临床多组学研究发展方向



DSP 技术的发明人



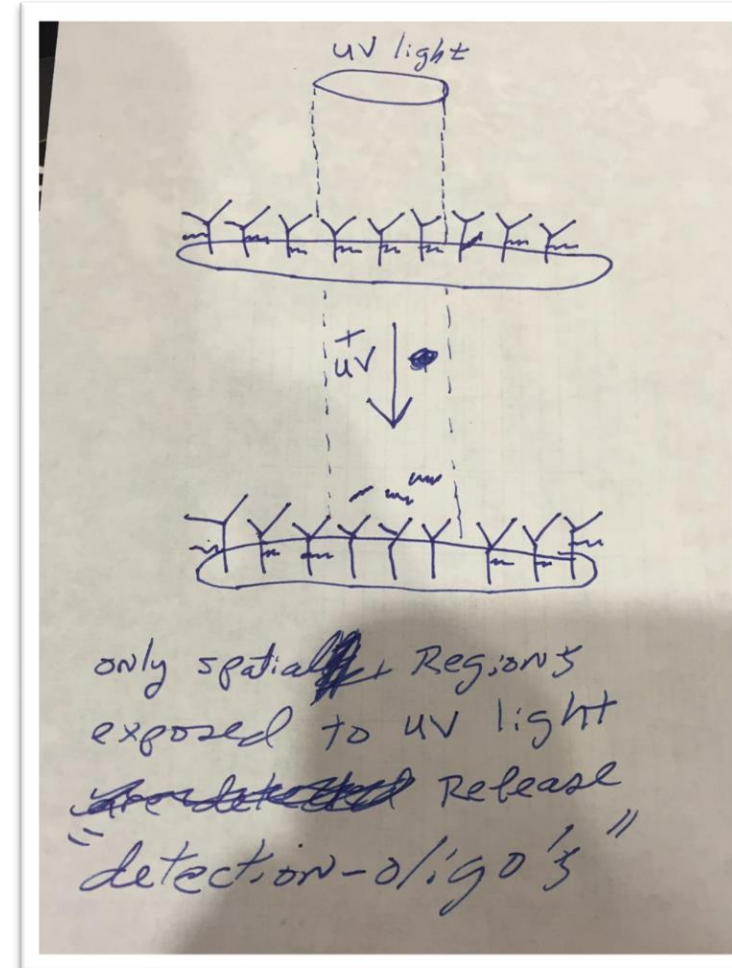
MD Anderson 教授
Knight 癌症中心教授

Dr. Gordon B. Mills



NanoString VP/CSO

Dr. Joseph Beechem



高维度分析与空间表达信息的解决方案



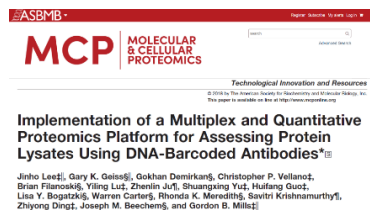
Dr. Gordon Mills



Dr. Joseph Beechem

Digital Spatial Profiler (DSP) 是一个全新的技术平台，**Dr. Gordon Mills**是该项技术的**共同发明人之一**。它将传统的**免疫荧光技术**与**数字可视化编码技术**相结合，因此不仅能获得清晰的空间信息，而且可以做到多重蛋白/RNA靶标的检测。目前在单个样本中的检测上限能够达到**90种蛋白/18000种RNA**，很好的将空间信息及其他多组学数据结合起来，极大的帮助科研工作者来解读**肿瘤异质性及其复杂的微环境**。

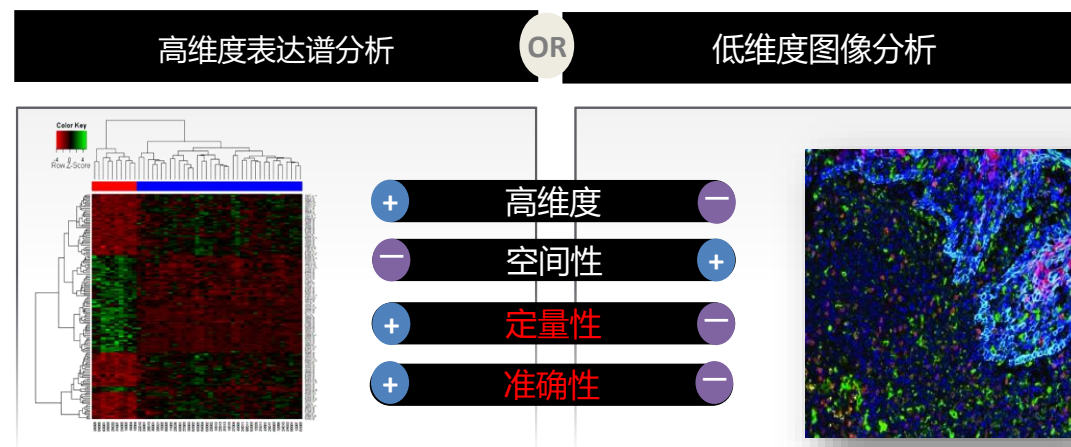
2015-2019



解决现有技术存在问题，可进行RNA蛋白共分析

相对荧光强度定义的
表达量，各个荧
光基团的激发强弱
差异
定量存在偏倚

荧光信号交叠
Plexing能力限制在
30-40重（实操）
自荧光



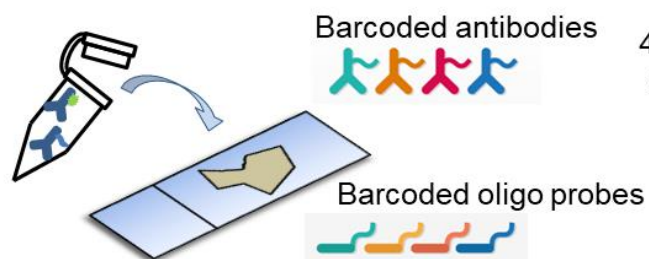
GEP:
Multi-plex PCR (bulk),
RNAseq (bulk),
Single-cell RNAseq,
PEP:
Flow Cytometry,
Mass cytometry,
RPPA

IHC,
Immunofluorescence,
FISH

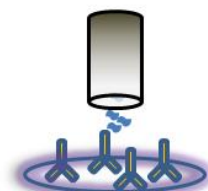


Proteogenomics基因蛋白组

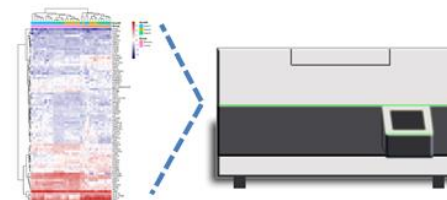
1. Incubation with antibody mix, including morphology and target antibodies



4. Oligo release by UV light and collection via microcapillary

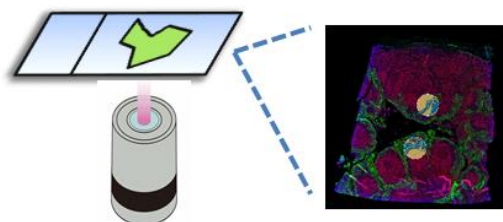


5a. nCounter digital counting and data analysis

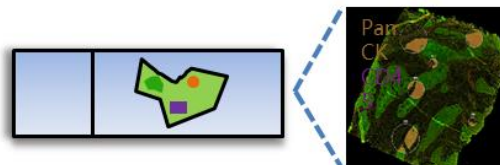


nCounter readout for proteoin and RNA
With upper limit of 96-plex

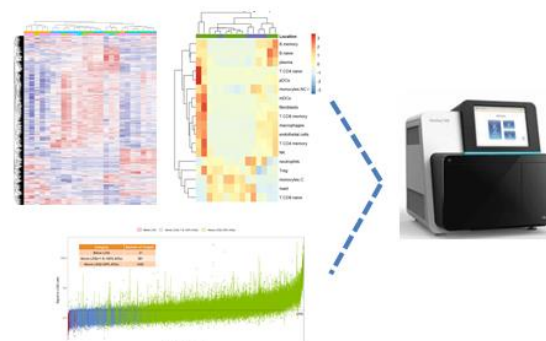
2. Scan and imaging



3. ROI selection



5b. NGS library Construction, sequencing & data analysis

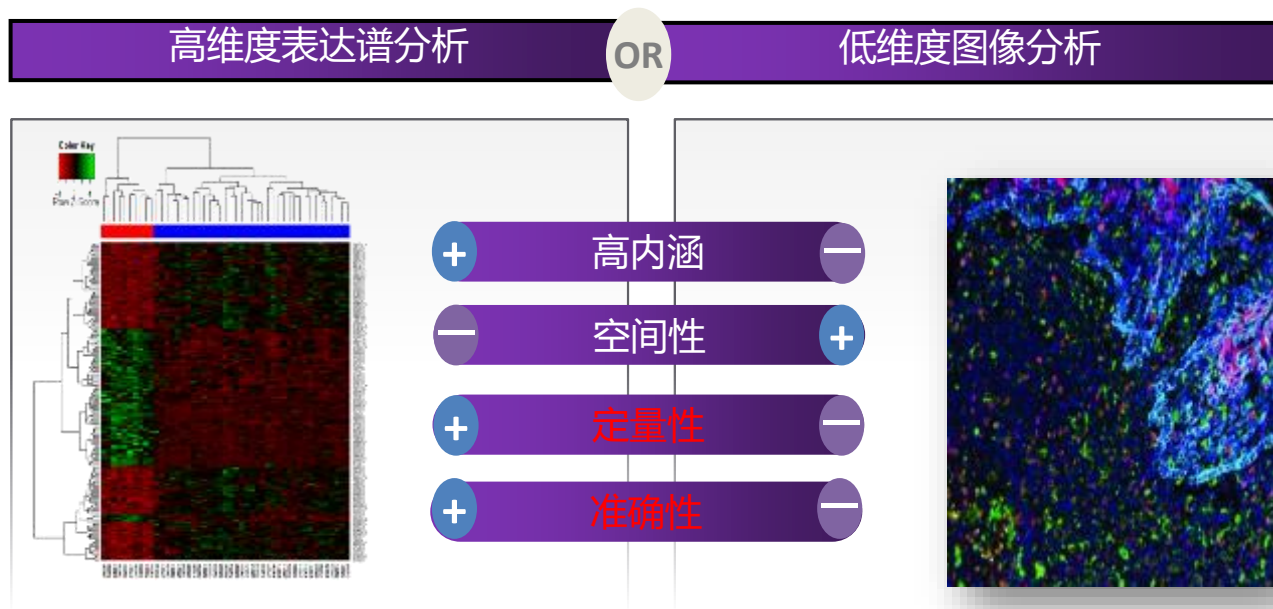


NGS readout without
detection limit, currently support 100-plex
protein and 18000-plex RNA (WTA)

Nan W, Rongshui W et. al. VCM 2021



DSP数字空间多组学技术优势



适用于FFPE样本和新鲜样本



样本制备简便容易



可同时分析蛋白和RNA



适用于大样本空间组分析 (TMA)



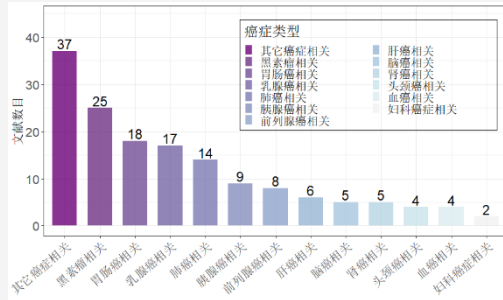
样本覆盖区域大，异质性信息更为全面丰富。更有利于肿瘤，基质，免疫区域划分



18000重全转录组覆盖

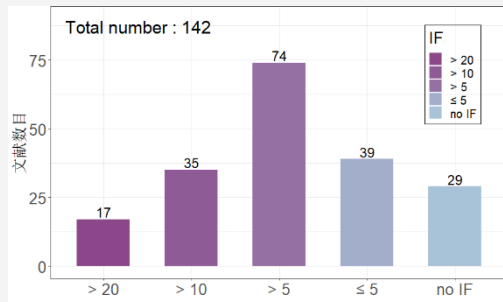


非因生物案例解析——文章发表情况



DSP文献中各类癌症类型的文献数目

不同影响因子范围内DSP文献发表数目

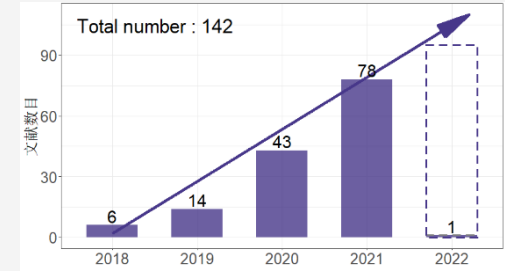


已为基础科研领域提供了
140+ 研究论文

横跨各领
域各癌种

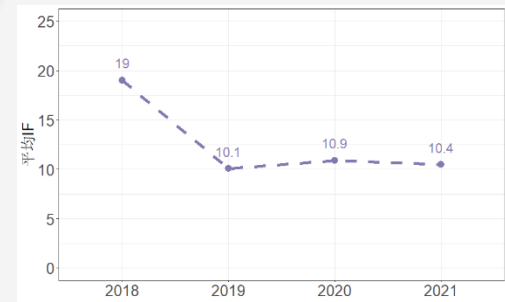
高发文量
高影响力

平均影响因子达到10+



2018-2021 历年DSP
相关文章发表数目

2018-2021 历年DSP
文献平均影响因子

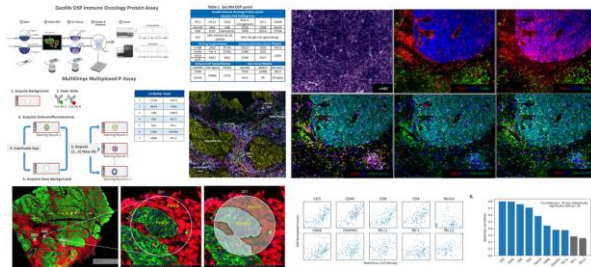


非因生物多组学研究策略——DSP在研究中的切入点

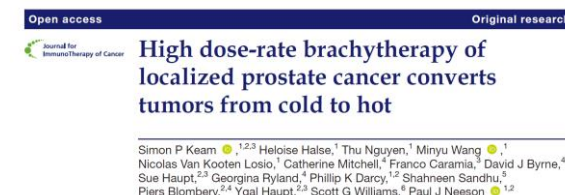
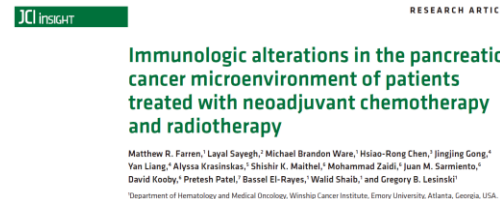
运用DSP作为探索性工具



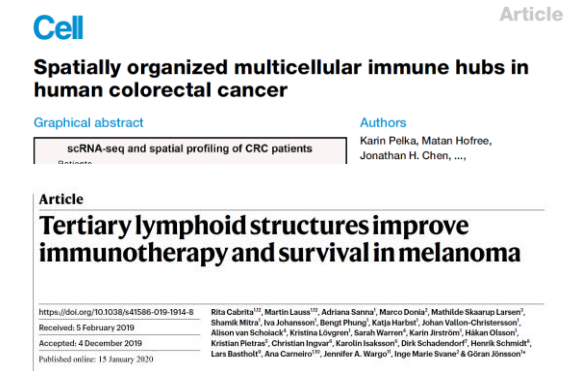
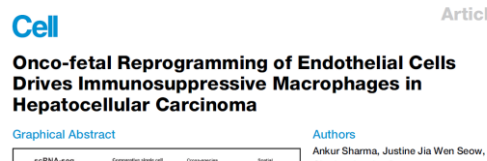
DSP与单细胞空间组联合分析



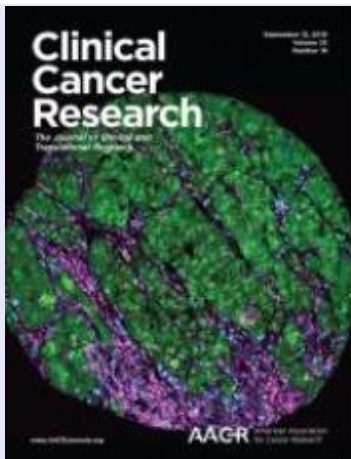
运用DSP与高通量多组学数据进行整合



运用DSP与单细胞测序交叉验证



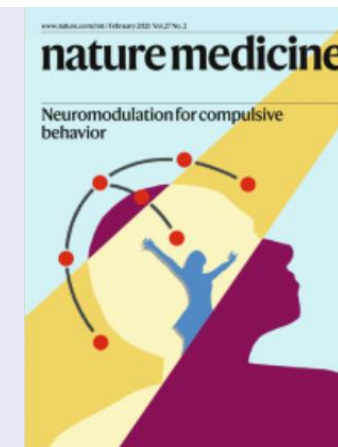
非因生物 DSP 案例分析——应用场景



01 免疫治疗分子标志物探索 (TMA)



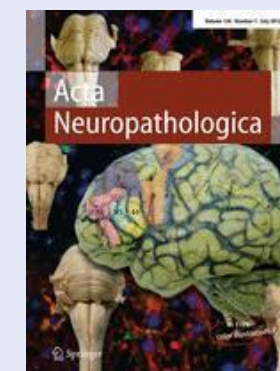
02 临床亚型微环境表达谱分析 (DSP+nCounter)



03 基于微环境的机制探索 (DSP+scRNA-seq)



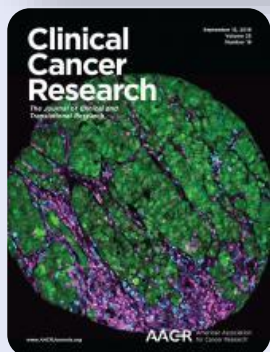
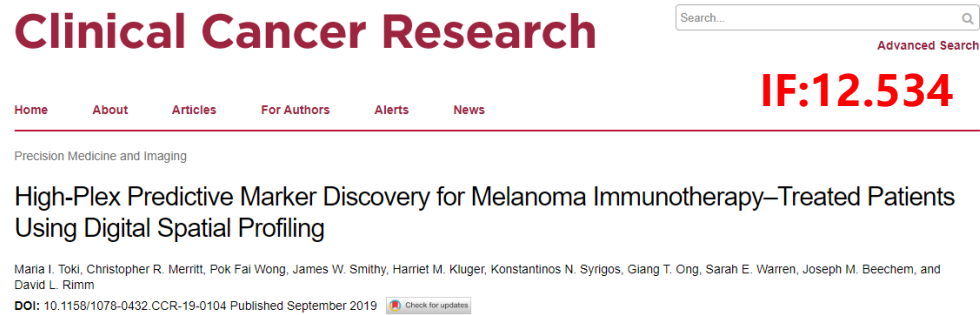
04 DSP空间全转录组技术用于绘制发育中的人类新皮质的细胞结构



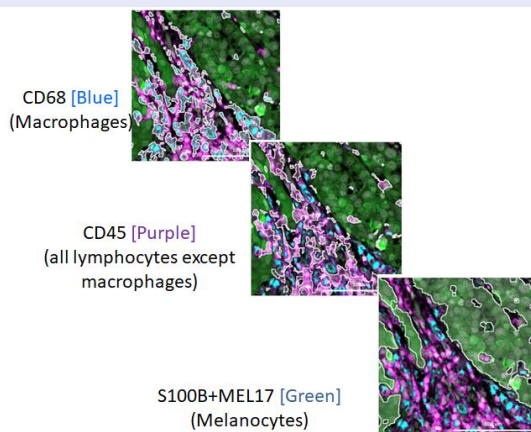
05 DSP空间蛋白组解析AD病变进程中机制 (DSP+nCounter)



DSP 案例分析1——黑素瘤免疫治疗生物标志物微环境探索



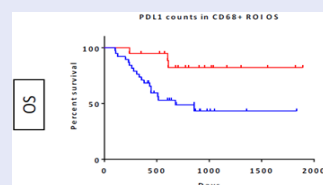
杂志封面展示了黑色素瘤在DSP系统的镜下染色情况：黑色素瘤（绿色），CD68+（蓝色），CD45+（紫色）



44 蛋白靶标
60 免疫检查点抑制剂病人TMA样本

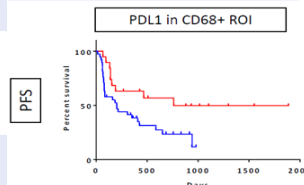
空间信息对新型标志物的发现非常重要

- PDL1 在CD68富集区表现出与OS强相关, (而不在淋巴细胞与肿瘤细胞中)
- B2M 在CD45富集区域与PFS和OS均相关
- 结果独立于术前治疗方案



Low PDL1 in CD68+ ROI (n=38)
High PDL1 in CD68+ ROI (n=19)

p=0.0089
HR: 4.3, 95% CI: 1.86-10.22



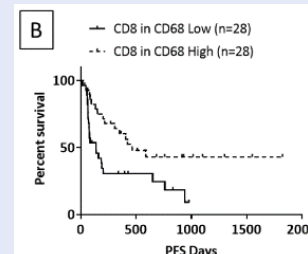
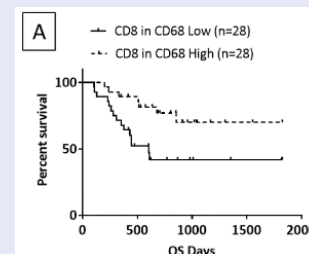
Low PDL1 in CD68+ ROI (n=38)
High PDL1 in CD68+ ROI (n=19)

p=0.02
HR: 2.32, 95% CI: 1.21-4.46

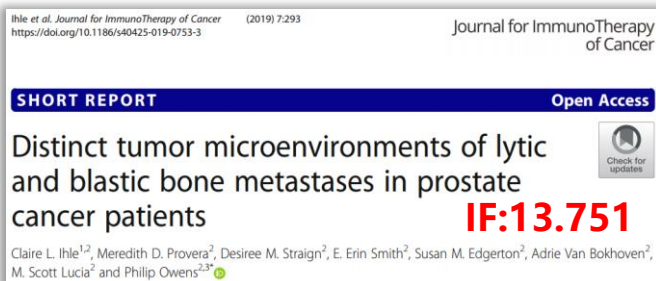
DSP实验
确定区域划分 (Segment) 策略
黑色素瘤 (S100B+MEL17, 绿色)
巨噬细胞 (CD68+, 蓝色)
淋巴细胞 (CD45+, 紫色)

不同靶点在不同空间位置的表达情况不同
不同位置的表达情况相同但与预后的关系不同

- CD8在CD68+ 和CD45+ 区域中的表达.
- CD8 在CD68+ (Macrophages) 区域高表达和 OS and PFS相关
- CD8 在CD45+ (Lymphocytes) 区域高表达与 OS and PFS无显著相关



DSP 案例分析2——DSP技术结合nCounter探索前列腺癌骨转移瘤标志



IHC观察溶解性 (lytic) 和成细胞性 (blastic) 转移前列腺癌组织的差异, 发现两种组织在骨中分布较为分散且免疫细胞也呈零散分布的状态, T细胞的功效有待验证。

16例患者FFPE样本
6例溶解型/10例成细胞型
nCounter IO 360 Panel
(770 基因)

发掘两类型组织内的差异表达基因, 并通过GSEA基因富集分析找到两种前列腺癌相关的信号转导通路。

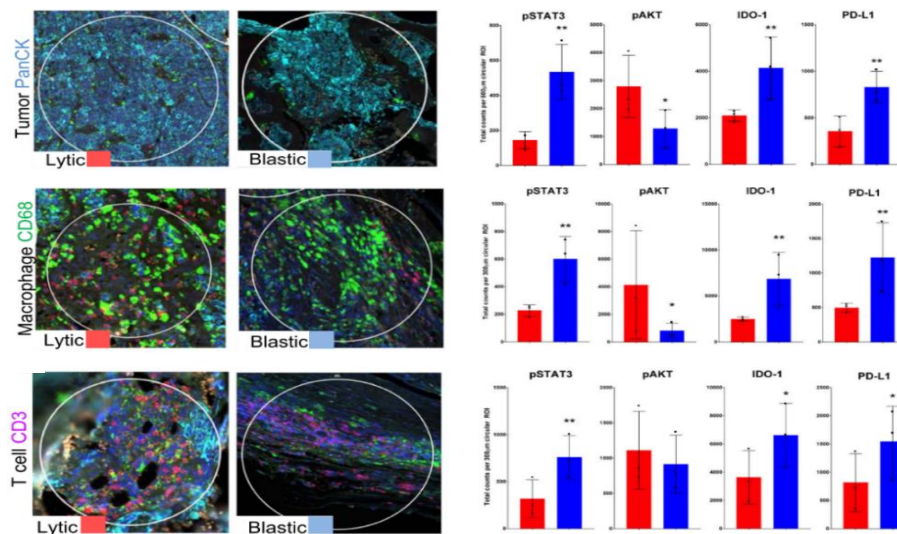
通过转录组结果富集不同类型组织的活跃信号转导通路, 结合蛋白组结果进一步确定显著差异表达靶点在不同微环境中的表达情况, 为靶向治疗的开发提供更准确的信息。

6例患者FFPE样本
3例溶解型/3例成细胞型
DSP, 33蛋白靶点

利用DSP技术分析两种前列腺癌组织的异质性, 并开发新的免疫检查点。

nCounter表达谱GSEA分析溶解性转移样本和成细胞性转移样本的差异表达基因, 并通过GSA分析发现溶解性转移样本富集了PI3K-AKT信号通路、成细胞性转移样本富集了JAK-STAT信号通路。

通过分析两种组织中富集的细胞类型。在溶解性转移样本中发现免疫细胞的增加与骨细胞的减少相关, 是由于骨细胞被肿瘤和基质细胞浸润及破坏。



通过DSP深入探究表型间微环境差异, 成细胞性样本内pSTAT3活性的增加和PD-L1在两种类型样本的高表达, 结合其空间信息, 为开发靶向治疗方案提供可能性。

临床亚型肿瘤微环境表达谱分析 (DSP+nCounter)

nature
medicine Check for updates

核心驱动基因标记在组织空间中的分布与免疫细胞的浸润呈现出反相关的关系



DSP 案例分析4-----DSP空间全转录组技术用于绘制发育中的人类新皮质的细胞结构

Transcriptome-wide spatial RNA profiling maps the cellular architecture of the developing human neocortex

Kenny Roberts^{1†}, Alexander Alvazidis^{1†}, Vitalii Kleshchynnikov¹, Tong Li¹, Robin Frope², Michael Rhodes², Joseph M. Beechem², Martin Hemberg^{1,3}, Omer Ali Bayraktar^{1*}

¹ Wellcome Sanger Institute, Cambridge, CB10 1SA, UK

² NanoString Technologies Inc., 530 Fairview Avenue North, Seattle, WA 98109, USA

³ Evergrande Center for Immunologic Diseases, Harvard Medical School and Brigham and Women's Hospital, Boston, MA

背景：人类胎儿大脑新皮质具有显著的空间细胞结构特点，也是随后皮质发育和功能形成的基础。在胎儿皮质深处，不同的祖细胞和分化细胞类型构成不同的细胞隔间。多种类型的径向祖细胞和中间祖细胞位于深部生发区。这些神经前体细胞产生兴奋性神经元和神经胶质亚型，向表层皮质板移动，形成成人新皮质的六层结构。尽管胎儿皮质细胞有广泛的组织学和单细胞转录组结果，但是缺乏全面的空间解析。

妊娠期16周 (16GW) 和21周 (21GW) 胎儿大脑皮层的FFPE

RNAscope原位杂交

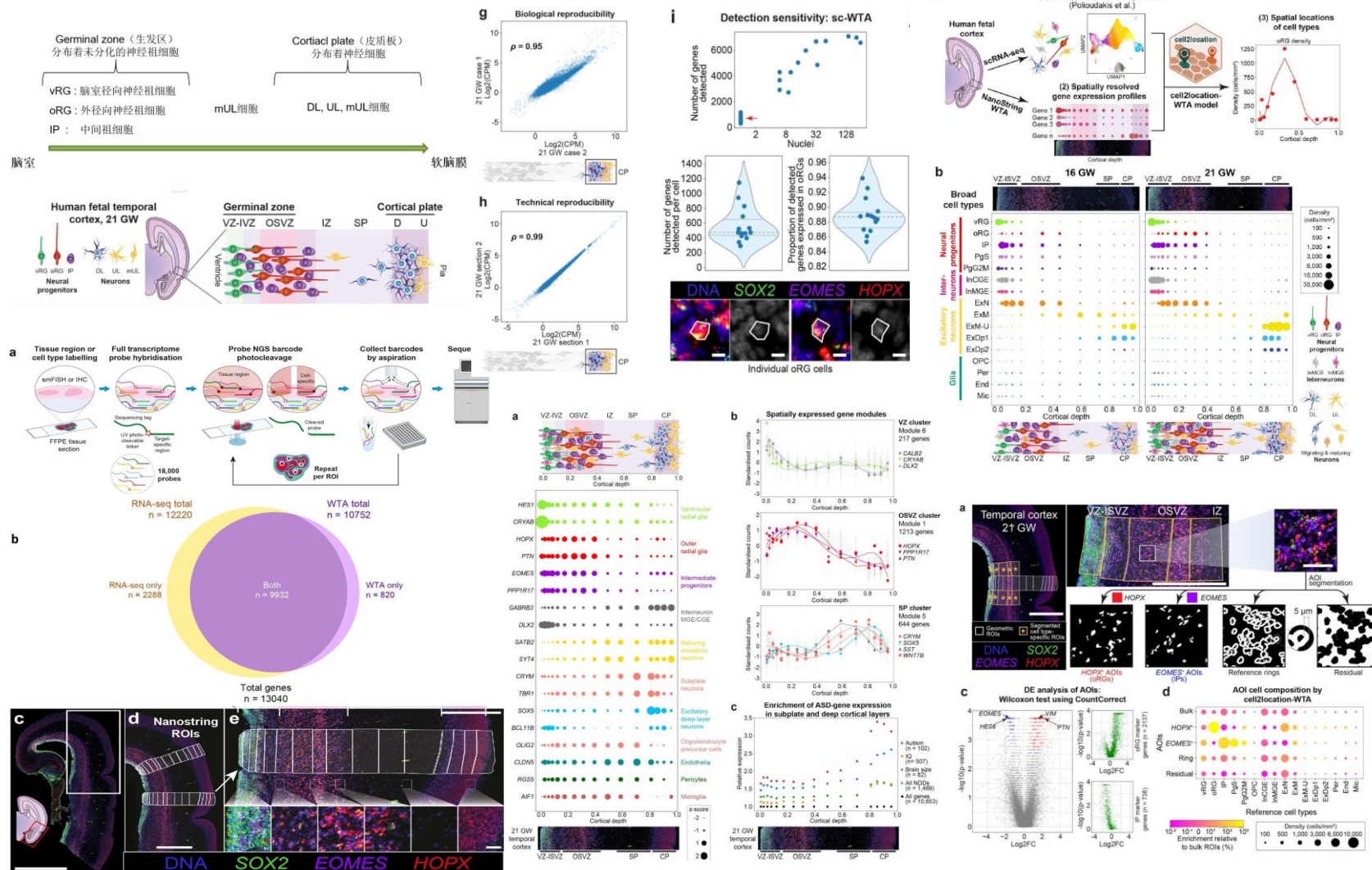
WTA空间转录组

数据校准、基因表达及聚类分析

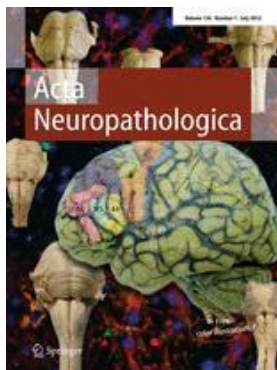
单细胞测序数据

差异表达及富集分析、细胞分型、细胞通讯等

解析发育过程中的细胞间相互作用、细胞空间结构特征并发现某些疾病相关 (如自闭症) 基因在大脑深层皮质中的富集



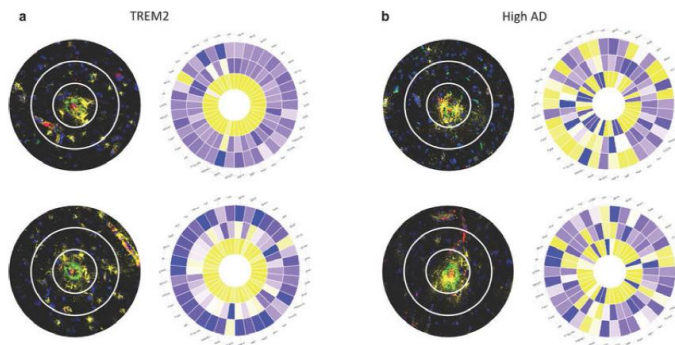
DSP 案例分析5- DSP空间蛋白组解析TREM2剪切异构体病例微环境表型变化



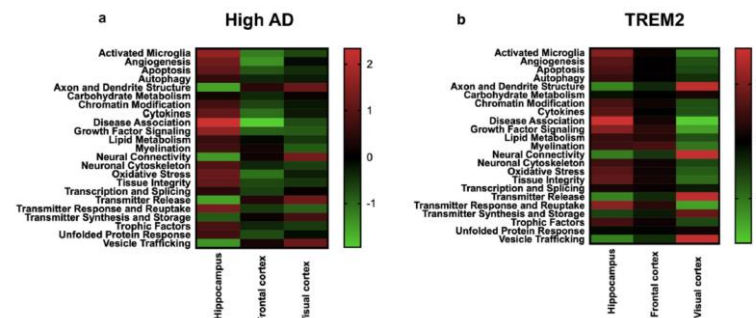
IF: 17.088

背景：散发性阿兹海默症(sAD)研究中，免疫调控的已经成为重点研究方向，小胶质瘤细胞激活与AD神经病理学变化及beta-淀粉样蛋白及Tau蛋白病理变化密切相关，TRME2剪切异构体下调与淀粉样蛋白微环境变化及病变进程具有相关性，研究以此为背景展开基于DSP空间蛋白组学及ncounter转录组的研究

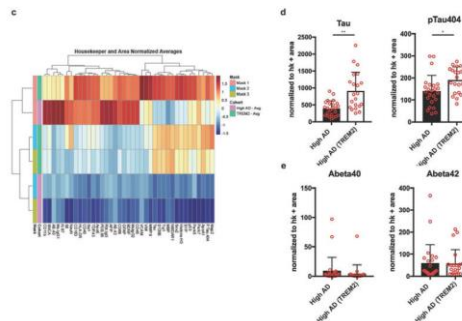
DSP空间蛋白



nCounter转录组



TREM2 vs HighAD



DSP空间蛋白组解析区域特异性蛋白达谱特征 (TREM2/High-AD病人) Mask1(淀粉样中心), Mask2(中环), Mask3(外环)。发现Tau及Tau磷酸化水平在TREM2中总体高表达。

通过nCounter神经病理/神经炎症基因 panel (1540基因) 对配对的海马体区域, 前叶皮质层, 视觉皮层进行分析及通路富集 (TREM2/High-AD病人)。

TREM2/high-AD

40神经相关空间蛋白组

Beta-淀粉样蛋白 ($\alpha\beta$), 小胶质瘤细胞(Iba1), 星型细胞(GFAP) 荧光标记

等高线ROIA圈选策略

差异表达分析

Visualized Cancer Medicine 2021, 2, 1
© The Authors, published by EDP Sciences, 2021
<https://doi.org/10.1051/vcm/2020002>



Available online at:
<https://vcm.edpsciences.org>

TECHNOLOGICAL ADVANCES

OPEN ACCESS

Spatially-resolved proteomics and transcriptomics: An emerging digital spatial profiling approach for tumor microenvironment

Nan Wang¹, Rongshui Wang¹, Xue Zhang¹, Xia Li¹, Yan Liang², and Zhiyong Ding^{1,*}

¹ Mills Institute for Personalized Cancer Care, Fynn Biotechnologies Ltd., Gangxing 3rd Rd, High-Tech and Innovation Zone, Bldg. 2, Rm. 2201, Jinan City, Shandong Province 250101, P.R. China

² NanoString Technologies, Inc., Seattle, WA, USA

Received 17 September 2020, Accepted 4 December 2020, Published online 3 March 2021

frontiers
in Bioengineering and Biotechnology

BRIEF RESEARCH REPORT
published: 28 October 2021
doi: 10.3389/fbioe.2021.757378



Tumor Microenvironment Profiles Reveal Distinct Therapy-Oriented Proteogenomic Characteristics in Colorectal Cancer

Nan Wang¹, Rongshui Wang¹, Xia Li¹, Zhentao Song¹, Lingbo Xia¹, Jue Wang², Li Zhang³, Aiwen Wu^{4*} and Zhiyong Ding^{1*}

¹Mills Institute for Personalized Cancer Care, Fynn Biotechnologies Ltd., Jinan, China, ²Department of Oncology, Shandong Provincial Hospital Affiliated to Shandong First Medical University, Jinan, China, ³Department of Pathology, Beijing Cancer Hospital, Beijing, China, ⁴Key Laboratory of Carcinogenesis and Translational Research (Ministry of Education), Department of Gastrointestinal Surgery, Peking University, Beijing, China

Received: 5 February 2021 | Revised: 28 May 2021 | Accepted: 3 June 2021

DOI: 10.1002/biot.202100041

MINI-REVIEW

Biotechnology
Journal

Spatial transcriptomics and proteomics technologies for deconvoluting the tumor microenvironment

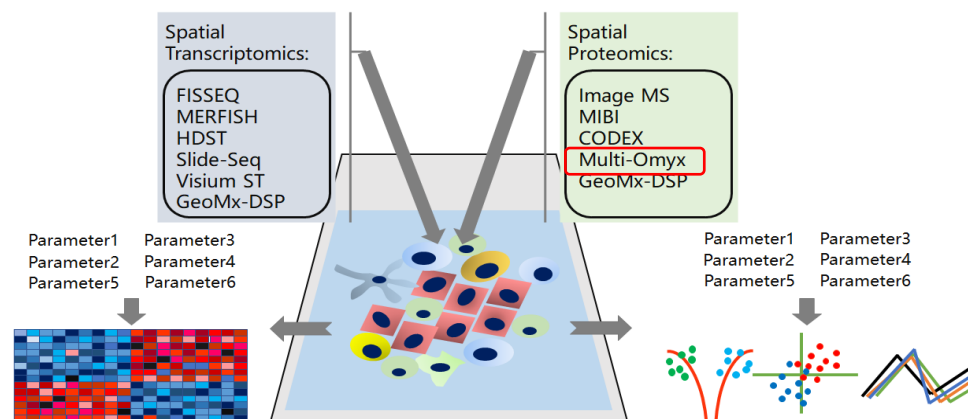
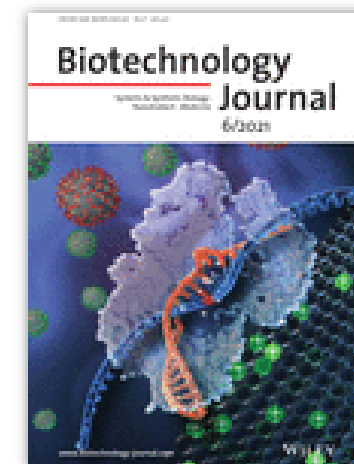
Nan Wang | Xia Li | Rongshui Wang | Zhiyong Ding 

Fynn Biotechnologies Ltd., Mills Institute for Personalized Cancer Care, Jinan City, Shandong Province, P. R. China

Correspondence
Zhiyong Ding, Mills Institute for Personal-

Abstract

The tumor microenvironment (TME) harbors heterogeneous contents and plays critical roles in tumorigenesis, metastasis, and drug resistance. Therefore, the deconvolution of the TME becomes increasingly essential to every aspect of cancer research and



Cancer Immunotherapy has evolved over time and deeper understanding the complicated tumor microenvironment requires advanced analytical tools to fulfill the goals. In this mini-review we provided a comprehensive summary of many cutting-edge spatial transcriptomic and proteomic technologies developed in recent years. In particular, we elaborated on some technologies available in our laboratory providing real-world testimonials on their application potential and holding forwards-looking comments on spatial biology.



非因生物Mills中心发表国内第一篇DSP研究文章

DSP揭示不同新辅助治疗对结直肠癌肿瘤免疫微环境的影响

针对MSS-CRC病人，深度剖析新辅化疗联合免疫对肿瘤免疫微环境重塑的效果及预后生物标志物挖掘

frontiers
in Bioengineering and Biotechnology

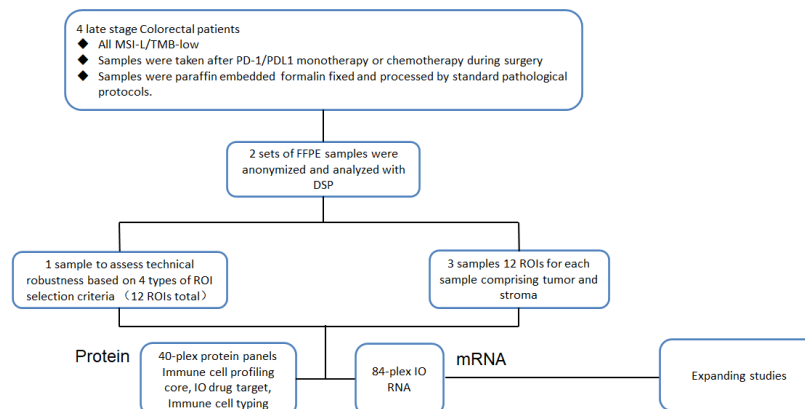
BRIEF RESEARCH REPORT
published: 28 October 2021
doi: 10.3389/fbioe.2021.757378



Tumor Microenvironment Profiles Reveal Distinct Therapy-Oriented Proteogenomic Characteristics in Colorectal Cancer

Nan Wang¹, Rongshui Wang¹, Xia Li¹, Zhentao Song¹, Lingbo Xia¹, Jue Wang², Li Zhang³, Aiwu Wu⁴ and Zhiyong Ding^{1*}

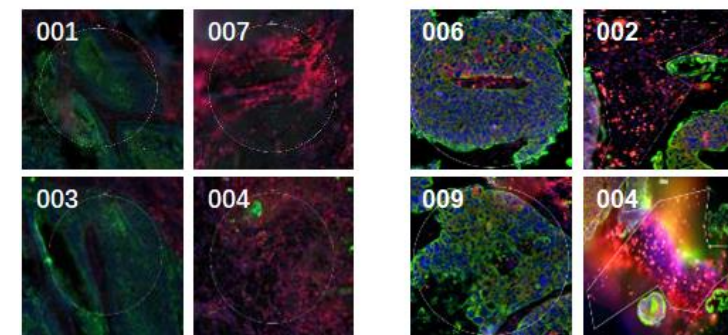
¹Mills Institute for Personalized Cancer Care, Fynn Biotechnologies Ltd., Jinan, China, ²Department of Oncology, Shandong Provincial Hospital Affiliated to Shandong First Medical University, Jinan, China, ³Department of Pathology, Beijing Cancer Hospital, Beijing, China, ⁴Key Laboratory of Carcinogenesis and Translational Research (Ministry of Education), Department of Gastrointestinal Surgery, Peking University, Beijing, China



Chemo

Patient 1

Patient 2



Tumor

Stroma

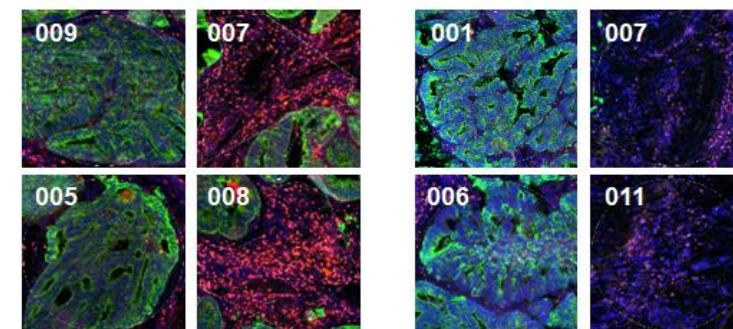
Tumor

Stroma

Chemo+Immuno

Patient 3

Patient 4



Tumor

Stroma

Tumor

Stroma

Beta-2-microglobulin, CD11c, CD20, CD3, CD4, CD45, CD56, CD68, CD8, CTLA4, GZMB
Histone H3, Ki-67, PD1, PD-L1, Pan-Cytokeratin, HLA-DR, SMA, Fibronectin, TGF- β , 4-1BB
B7-H4, LAG3, OX40L, Tim-3, VISTA, ARG1, B7-H3, GITR, IDO1, STING, CD45RO, FOXP3
CD34, CD66b, Gamma Delta TCR, CD14, FAPalpha, CD163

Frontiers in Bioengineering and Biotechnology 2021

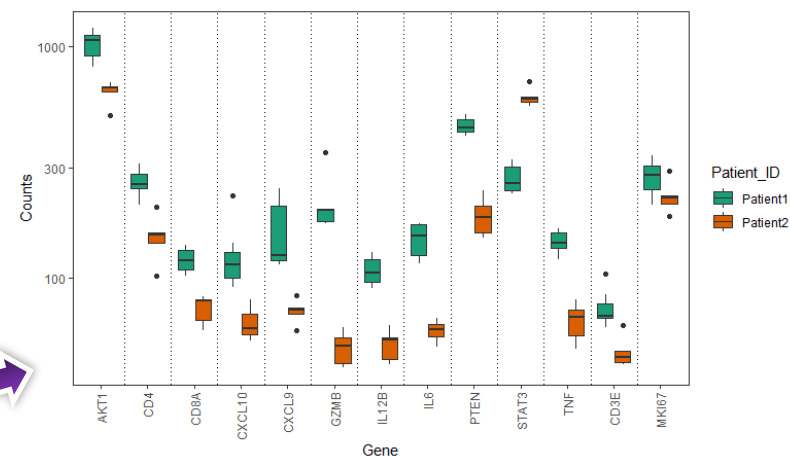
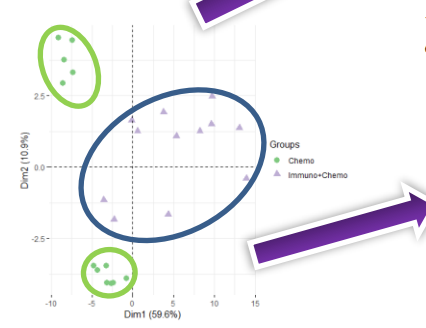
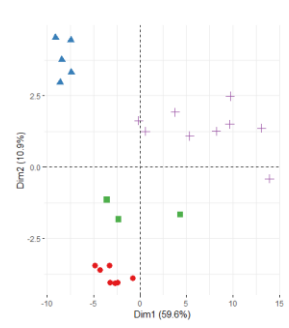
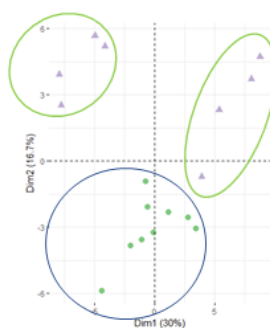
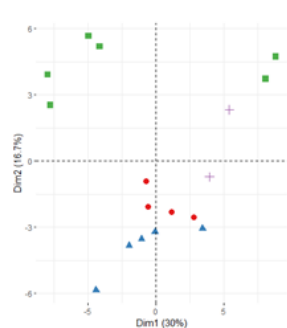
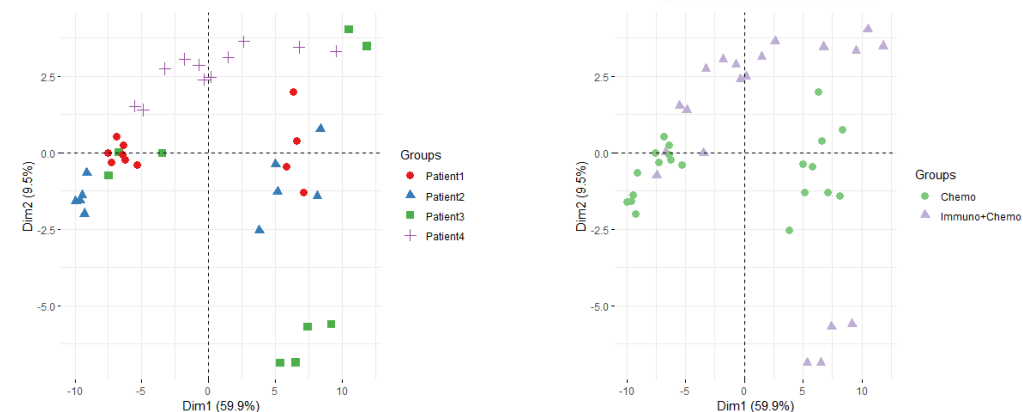
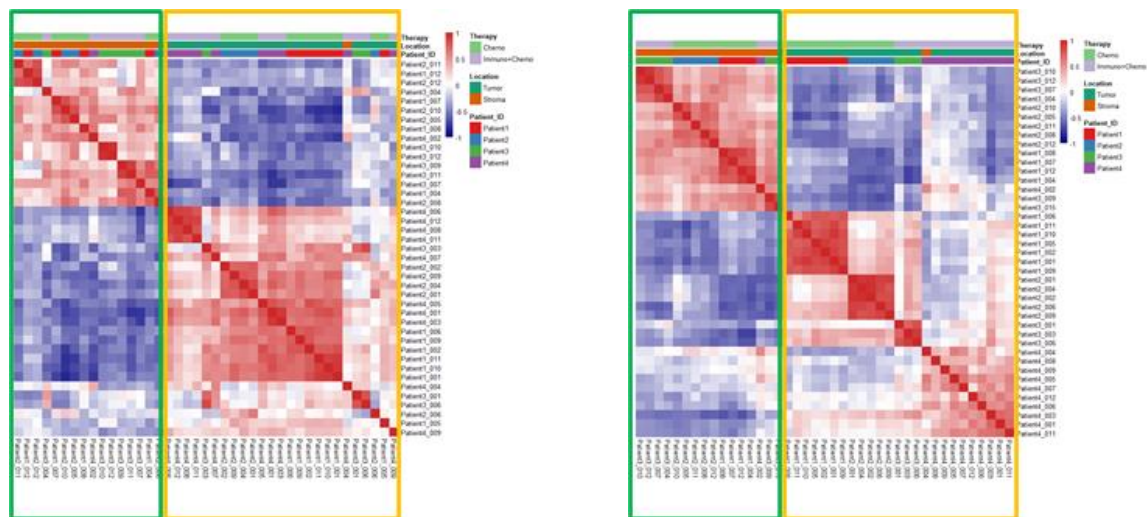


非因生物 新型蛋白组学和空间多组学在癌症研究领域中的应用

DSP深度研究肿瘤微环境RNA和蛋白的表达揭示组间差异

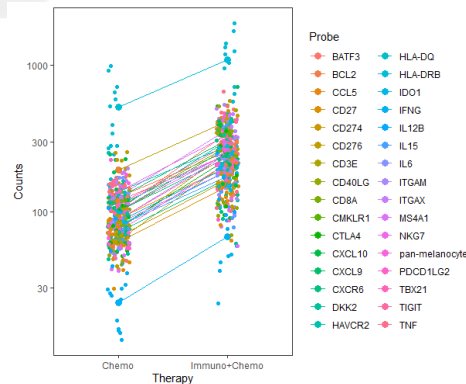
ROI cor-plot
(40 protein)

ROI cor-plot
(84 mRNA)

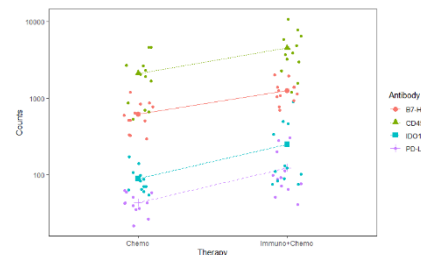


DSP揭示不同疗法预后肿瘤微环境层面RNA和蛋白的差异表达

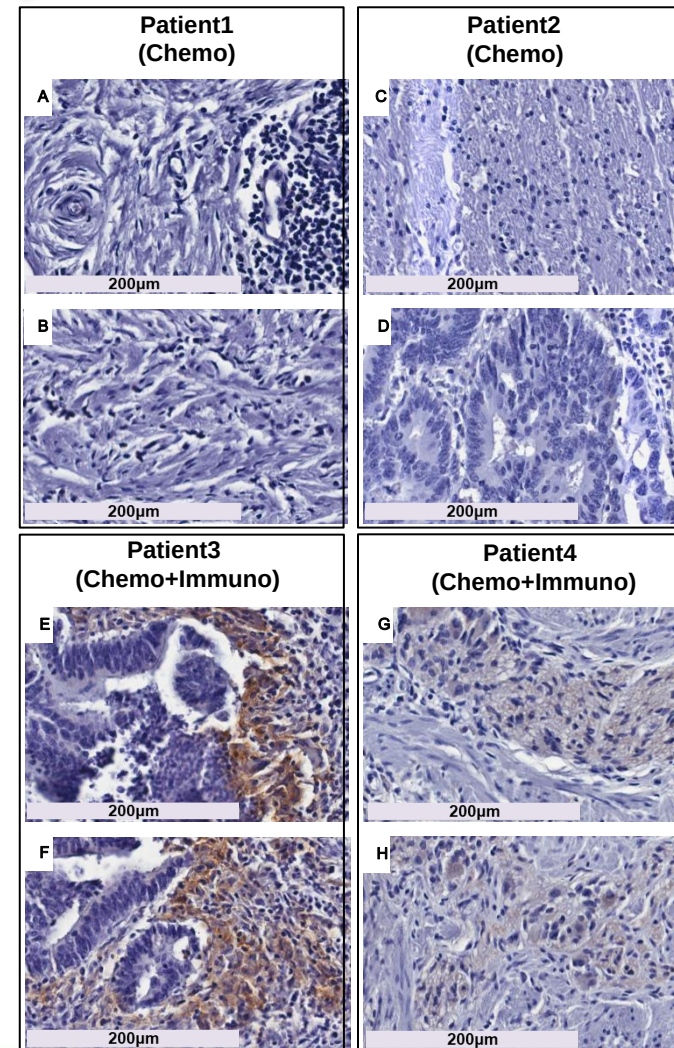
DSP mRNA差异表达



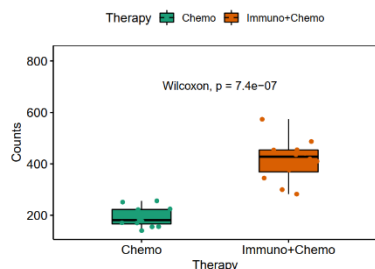
DSP蛋白差异表达



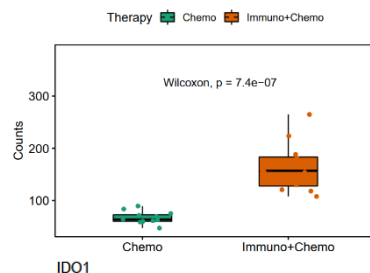
IHC验证



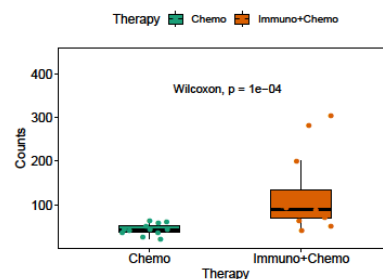
CD276(B7-H3)



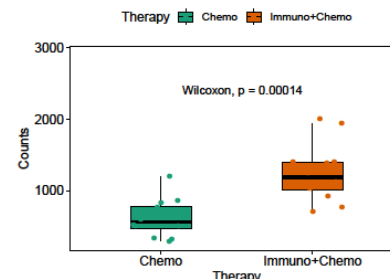
CD274(PD-L1)



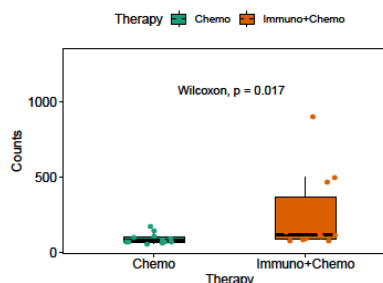
PD-L1



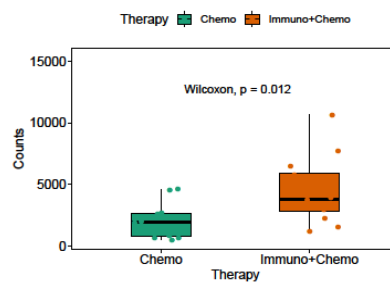
B7-H3



IDO1

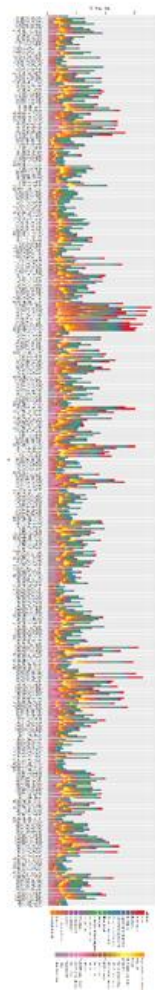
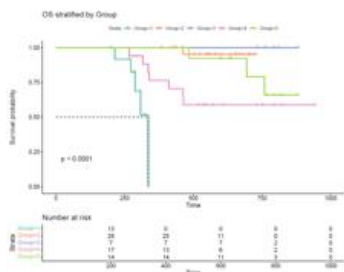


CD45



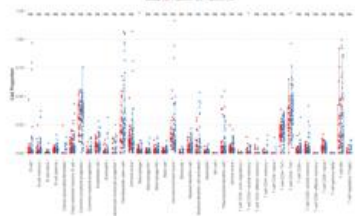
非因案例-----空间组学如何助力转化医学研究

临床样本/匹配数据

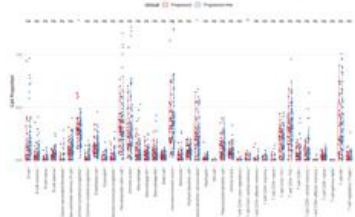


空间转录水平解析TME机制

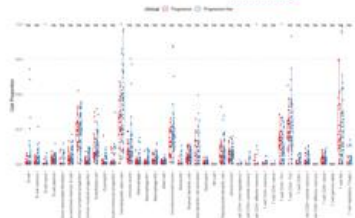
tumor



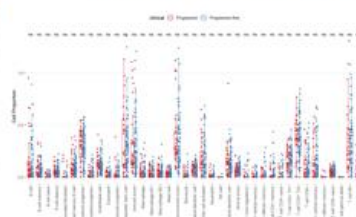
Immune-CD45



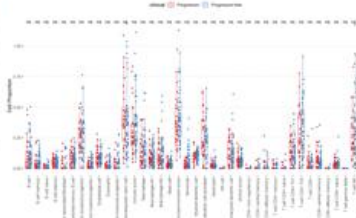
Immune-CD3



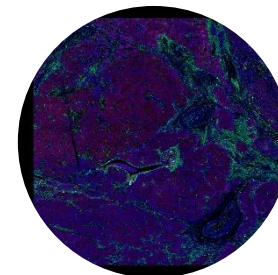
Immune-CD68



CAF



空间表型水平挖掘功能

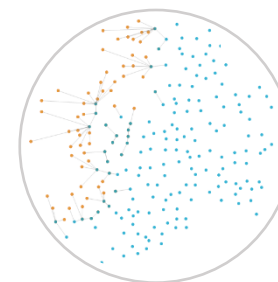


10个biomarker mIF: SOX9, CD44, CD20, CD31, PanCK, CD163, CTNNB1, EGFR, CD4, DAPI

Spatial-Directed
Predictative model
building:

ROI-based
Parameterization: cell
type abundance/marker
gene expression/CN
pattern/distance
measure

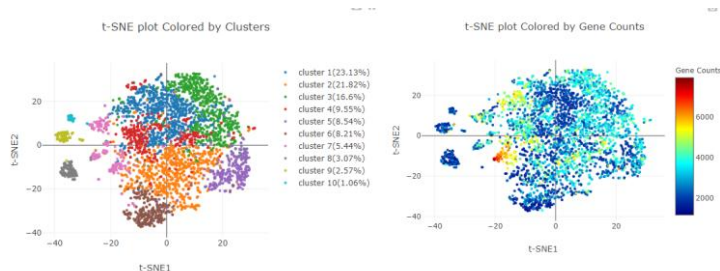
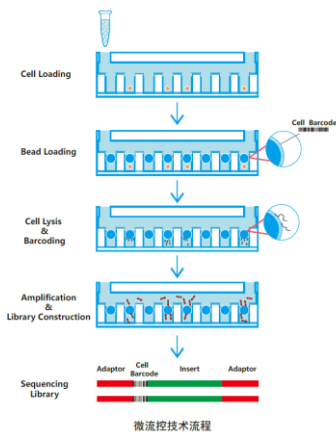
Regression based:
PLSR/Lasso/Ridge
Tree-based:
Raodm
Forest/XGBoost/AdBoost
Deep Learning



内部数据

深入挖掘肿瘤微环境

单细胞转录组 (sc-RNAseq, 肿瘤异质性解决方案的新标准)



空间多组学 (还原肿瘤异质性的真实面貌, 生物标志物挖掘的新策略)

微环境细胞群

DSP 空间全转录组 18000+ 基因

DSP 空间蛋白组 100+ 蛋白

微环境单细胞

单细胞空间蛋白组 60+ 蛋白

单细胞空间转录组 1000+ 基因

RNA Scope
Base Scope
IHC/HE 定制化



OUTLINE 目录

非因生物 专注癌症精准医疗 / 全球领先的蛋白组学·空间多组学技术平台

01| 非因生物简介

03| 空间多组学技术

05| 样本准备要素

02| RPPA蛋白组学技术

04| 非因策略

※ 内部资料请勿转发 最终解释权归非因生物所有

以功能蛋白组学和空间多组学为核心的研究策略

● 解决临床实体瘤样本跨国分析的难题

● 提高药物及生物标志物转化的效率

● 模式系统中的生物机理发掘



非因生物多组学研究策略——RPPA靶点设置

Cancer Signaling Pano-profiler 肿瘤信号全景分析

服务项目名称	服务内容	样本类型	技术特点	主要通路
Cancer Signaling Pano-profiler 肿瘤信号全景分析	380 肿瘤信号通路靶点, MIPCC-RPPA 服务	鲜冻组织, 体外培养细胞, PDX, 动物模型, 类器官 (人, 小鼠)	涵盖几十条肿瘤和药物靶点相关细胞信号通路。为细胞信号转导研究者量身定做。	Cell cycle, Apoptosis, p53 signaling, Adherens junction, Autophagy, PI3K- Akt, Hippo, HIF-1, mTOR, AMPK, VEGF, MAPK, JAK- STAT, cAMP, NF-kb, Wnt, Notch, Hedgehog.....
MIPCC-RPPA Custom Services MIPCC-RPPA 定制服务	MIPCC-RPPA 服务: 根据用户需求进行定制服务。特殊靶点以及特殊修饰。		根据用户进行定制化靶点检测。	

细胞周期 / DNA 损伤修复

细胞凋亡信号

免疫炎症信号

肿瘤侵袭转移信号

代谢核心信号

RPPA 定制靶点分析



非因生物多组学研究策略——RPPA靶点设置

380 靶点 + 用户可选择方案

肿瘤生物学

mTOR
signaling
pathway
29 targets

VEGF
signaling
pathway
19 targets

HIF-1
signaling
pathway
18 targets

Focal
adhesion
26 targets

Apoptosis
43 targets

Ras signaling
pathway
44 targets

Wnt signaling
21 targets

EGFR TKI
resistance
26 targets

ErbB signaling
pathway
28 targets

PI3K-Akt
signaling
pathway
26 targets

Proteoglycans
in cancer
25 targets

MicroRNAs in
cancer
54 targets

MAPK
signaling
pathway
53 targets

NF-kappa B
signaling
pathway
13 targets

Autophagy –
animal
47 targets

Estrogen
signaling
29 targets

FoxO
signaling
pathway
56 targets

Insulin
signaling
pathway
59 targets

Platinum drug
resistance
16 targets



非因生物多组学研究策略——RPPA靶点设置

380 靶点 + 用户可选择方案

病毒感染

Influenza
31 targets

Hepatitis B
26 targets

Human HIV1
infection
25 targets

Hepatitis C
45 targets

Human CMV
infection
26 targets

Coronavirus
disease -
COVID-19
28 targets

HPV infection
69 targets

神经生物学

Alzheimer
disease
52 targets

Long-term
depression
16 targets

Parkinson
disease
13 targets

Neurotrophin
signaling
pathway
47 targets

免疫学

NK cell
mediated
cytotoxicity
27 targets

Leukocyte
transendothel
ial migration
21 targets

B cell
receptor
signaling
pathway
25 targets

Th1 and Th2
cell
differentiation
22 targets

Insulin
resistance
40 targets

Chemokine
signaling
pathway
36 targets

Th17 cell
differentiation
25 targets

T cell receptor
signaling
pathway
37 targets

T cell receptor
signaling
pathway
37 targets

PD-L1
pathway in
cancer
39 targets



非因生物多组学研究策略——RPPA细胞库建设

Lung cancer	Gastric cancer	Breast cancer	Bladder cancer	Cervical cancer	Leukemia	Melanoma	Ovarian cancer	Liver cancer	blastoma	Colon cancer	Prostate cancer	Endo metric cancer	sarcoma	Pancreatic cancer
NCI-H23	MKN-7	T47D	SW780	Hela	HL-60	A-375	SK-OV-3	C3A	KNS-89	HT29	PC-3	EFE-184	U2-OS	MIA PaCa-2
A549	AGS	BT474	UM-UC-3		Jurkat clone E61	COLO 679-Luc	ES-2	HepG2	DBTRG-05MG	SW620	AD300	HEC-1-B		
NCI-H460	SNU-5	MDA-MB-468			SPI-801	COLO 829	OVCAR-3	HuH-7	SNB-19	SW480				
NCI-H128	NUGC-3	HBL-100			TF-1		PA-1	Hep3B	U-87 MG	LOVO-Luc				
SW 900	KATOIII	MCF-7-Luc			AML-193		RKO			SW 1417				
A427	MKN45-Luc	BT-549-Luc			MOLT-4		OVTOKO			LoVo				
HCC-827-Luc	MKN1	MCF-7			CCRF-CEM		OVISE			HCT-116				
SHP-77	NCI-N87				Kasumi-1/7					COLO 205				
	SNU-1				Minami-1/2									
	SNU-16				REC-1									
					Pfeiffer									
					Ramos (RA 1)									

Proteomic profiling of the NCI-60 cancer cell lines using new high-density reverse-phase lysate microarrays

Satoshi Nishizuka*, Lu Charbonneau*, Lynn Young*, Sylvia Major*, William C. Reinhold*, Mark Waltham*, Hosein Kourosh-Mehr*, Kimberly J. Bussey*, Jae K. Lee*, Virginia Espina*, Peter J. Munson*, Emanuel Petricoin III*, Lance A. Liotta*, and John N. Weinstein**††

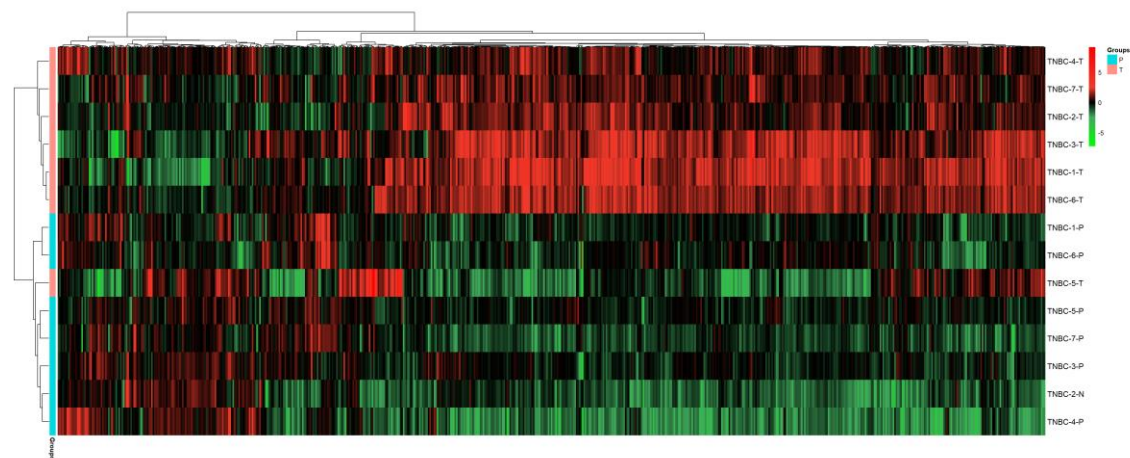
*Genomics and Bioinformatics Group, Laboratory of Molecular Pharmacology, National Cancer Institute, and **Mathematical and Statistical Computing Laboratory, Center for Information Technology, National Institutes of Health, Bethesda, MD 20892; †Department of Health Evaluation Sciences, P.O. Box 800717, University of Virginia School of Medicine, Charlottesville, VA 22908; and ††Tissue Proteomics Unit, Division of Therapeutic Proteins, Center for Biologics Evaluation and Research, Food and Drug Administration, Bethesda, MD 20892



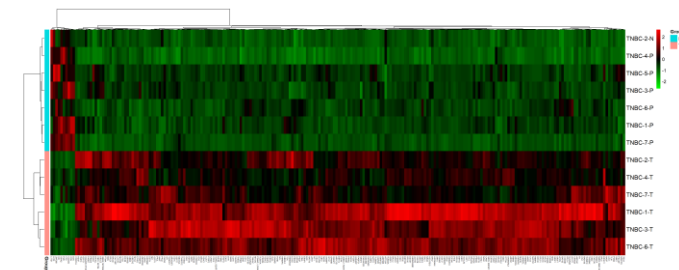
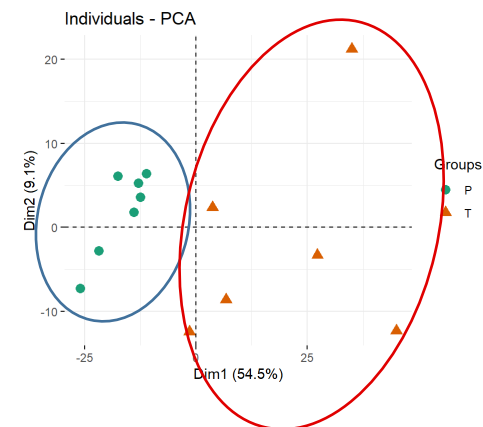
药物靶点用蓝色注释:
Drug bank regular-
updated



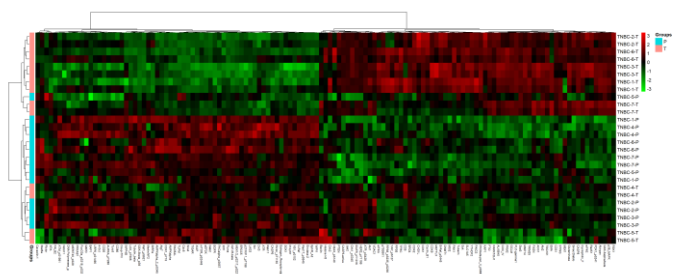
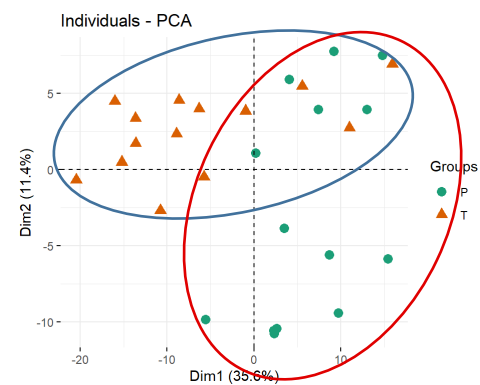
非因生物癌旁，三阴性乳腺癌 MS/RPPA全蛋白组深度挖掘



MS

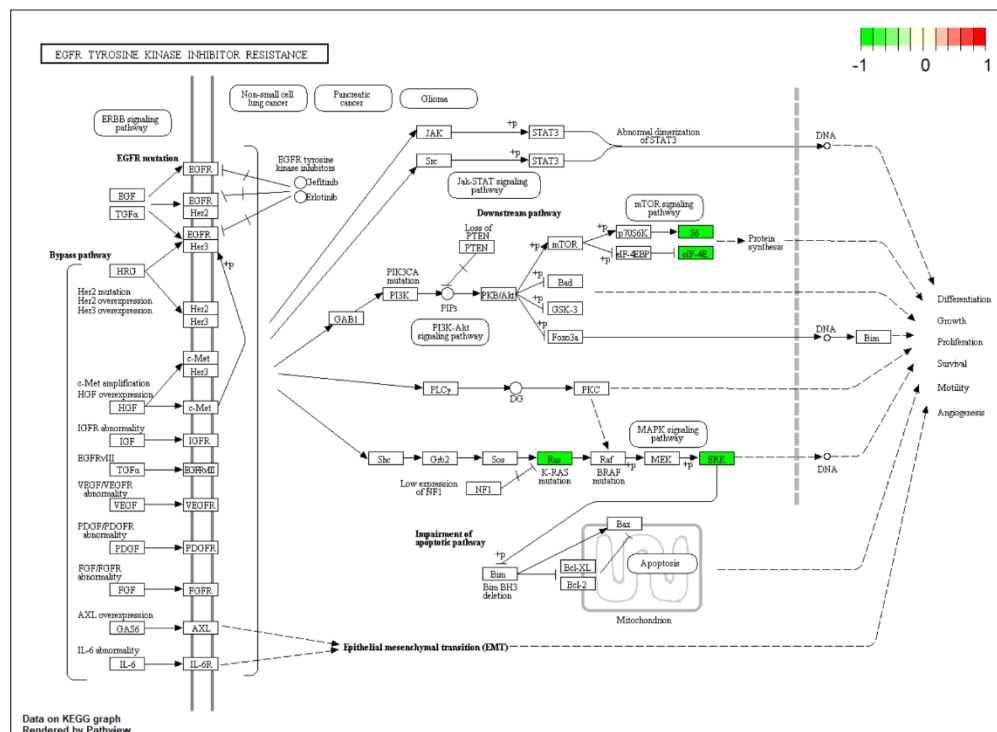


RPPA

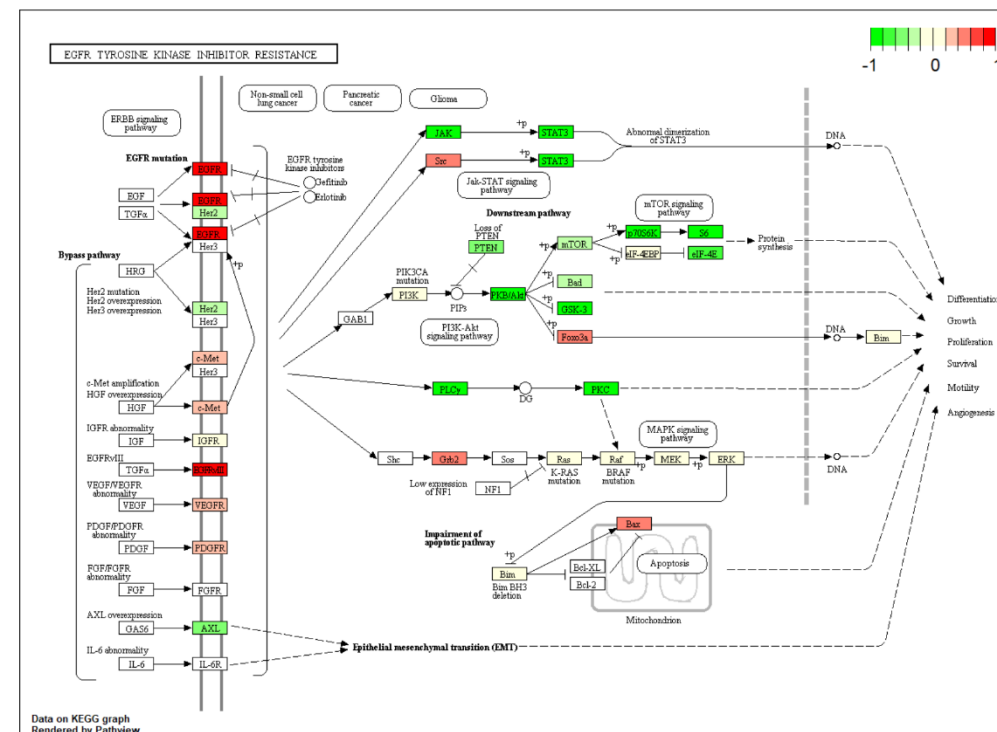


非因生物癌旁，三阴性乳腺癌 MS/RPPA全蛋白组深度挖掘

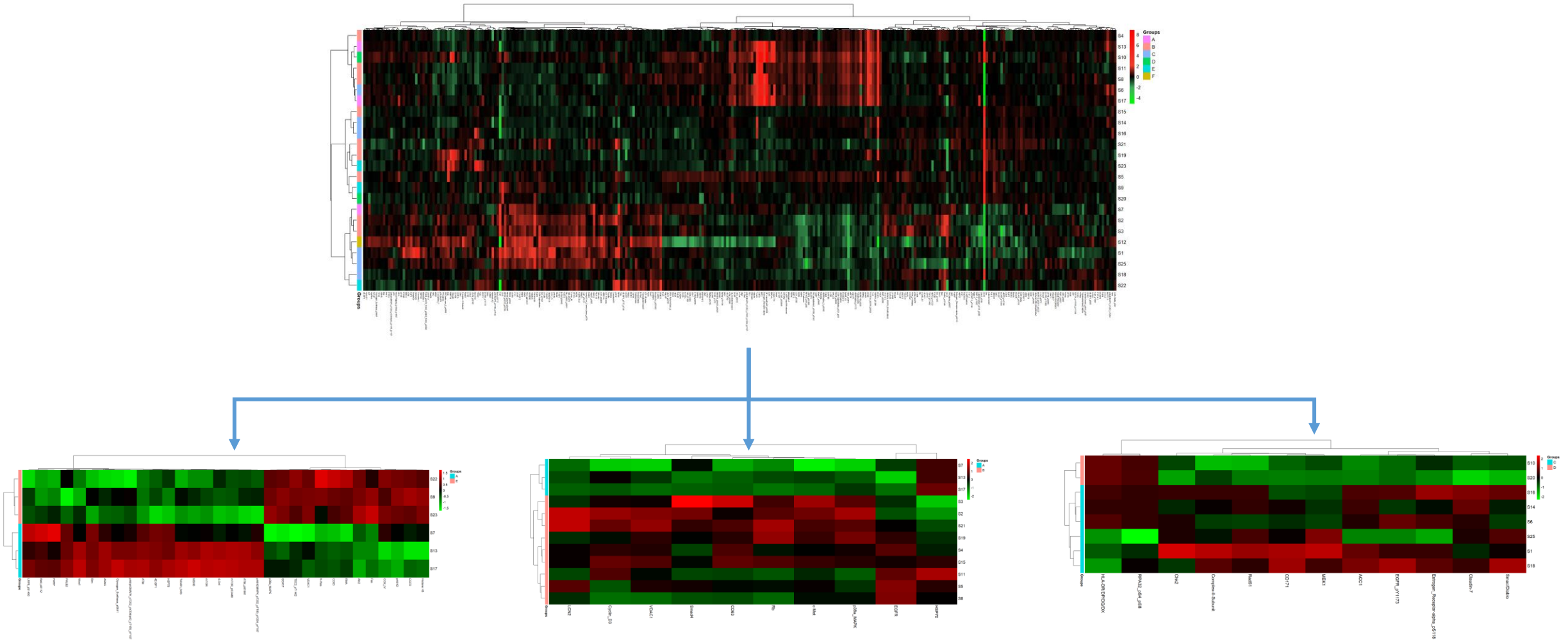
MS



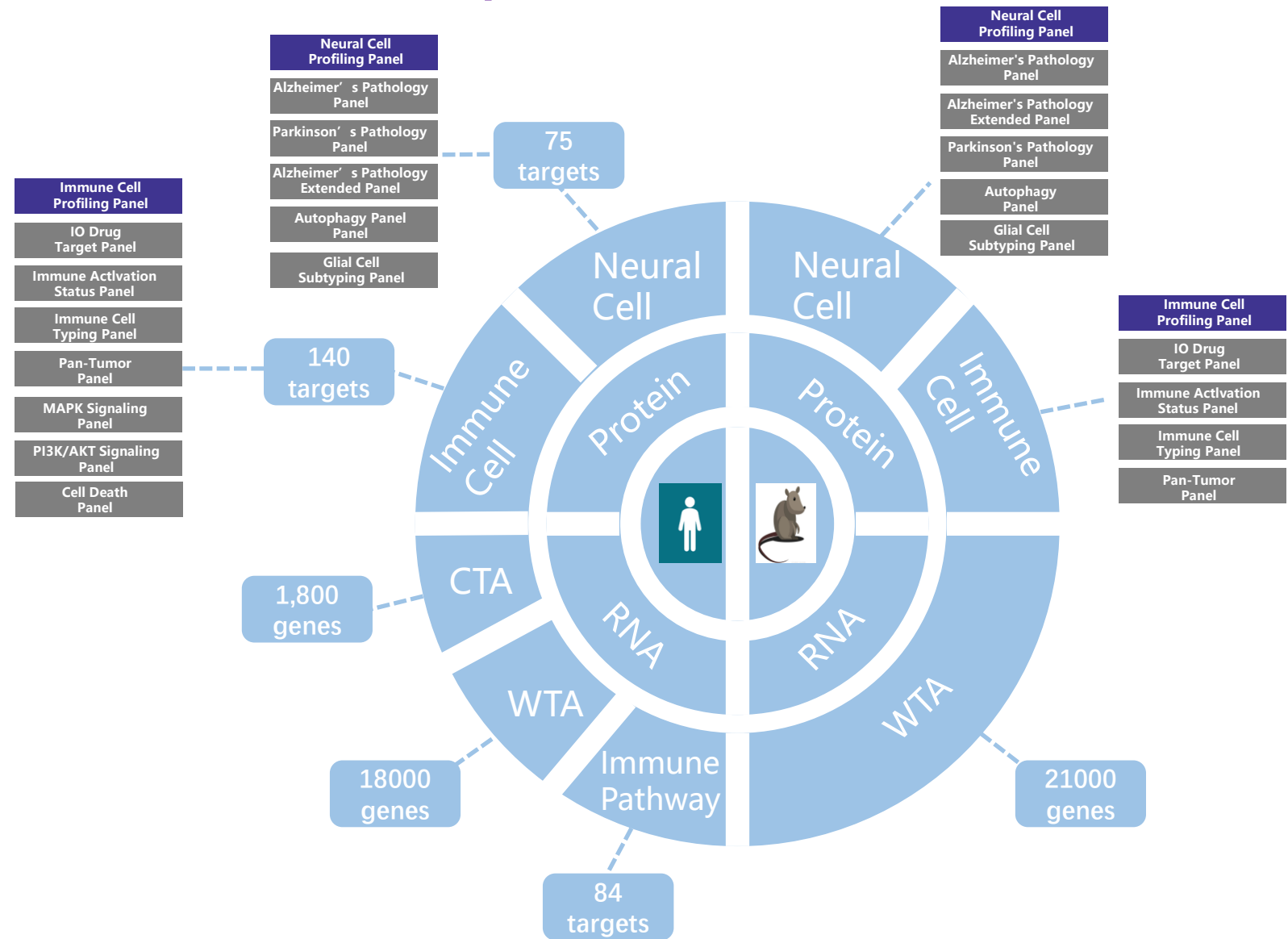
RPPA



非因生物乳腺癌血浆外泌体RPPA蛋白组解决方案

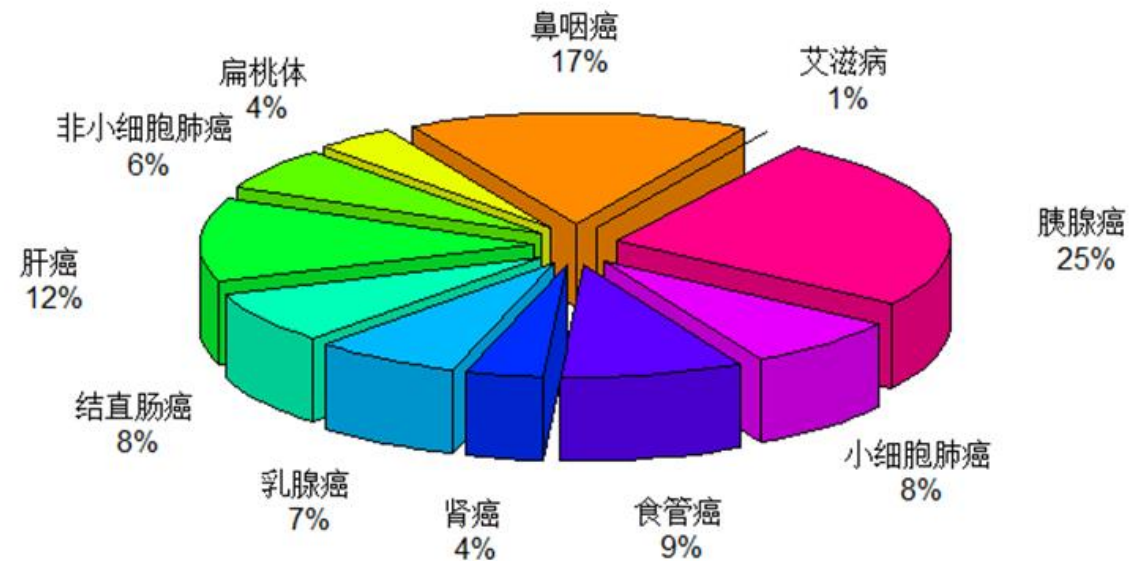


非因生物多组学研究策略——DSPpanel设置 (蛋白/RNA)



非因生物DSP空间组技术实验室概况

- 非因生物Mills中心自2019年下半年建立DSP空间组学实验室，通过自主科研，合作研究，客户服务等方式已经完成近百个项目和数百例样本。样本涵盖多个癌种。
- nanoString全球8大DSP空间组Premier access site之一
- 国内唯一3平台运行服务商
- 180+项目
- 1000+样本开发经验
- 98%以上项目成功经验
- 多癌种验证
- OrganBook国际项目合作方



非因生物空间组学实验室认证



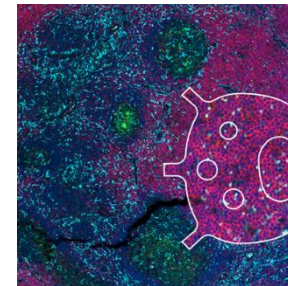
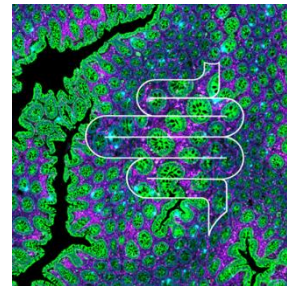
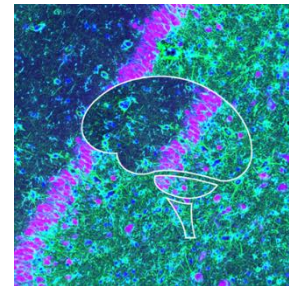
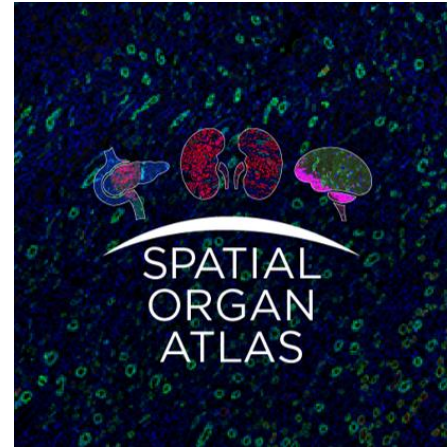
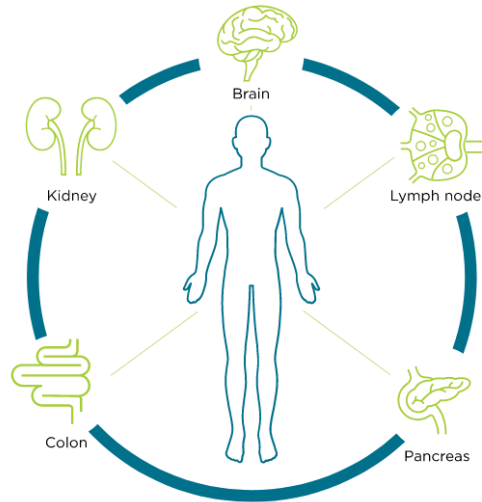
Announced in 2022 ABRF
首批nanoString 官方认证全球服务商（国内唯一）



非因生物空间组学国际合作项目

Select your Organ of Interest

Click on an organ below to explore its atlas of data.



nature

Explore content ▾ About the journal ▾ Publish with us ▾ Subscribe

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

Review Article | Published: 11 August 2021

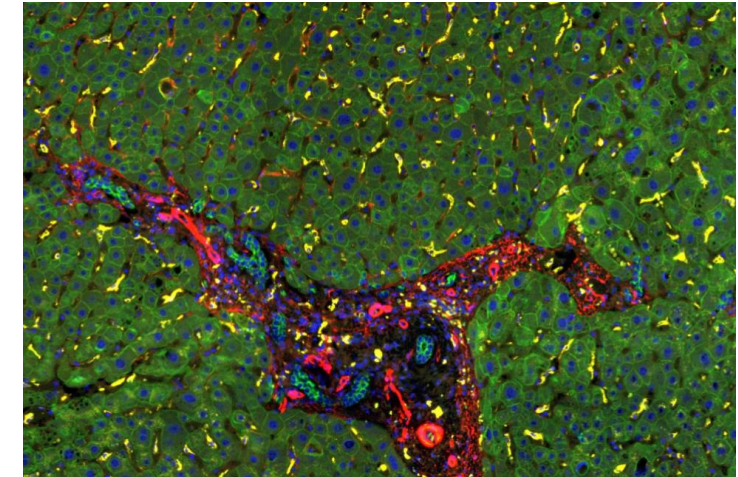
Exploring tissue architecture using spatial transcriptomics

Anjali Rao, Dalia Barkley, Gustavo S. França & Itai Yanai

Nature 596, 211–220 (2021) | [Cite this article](#)

28k Accesses | 184 Altmetric | [Metrics](#)

HCC: CD8/18, SMA, CD68

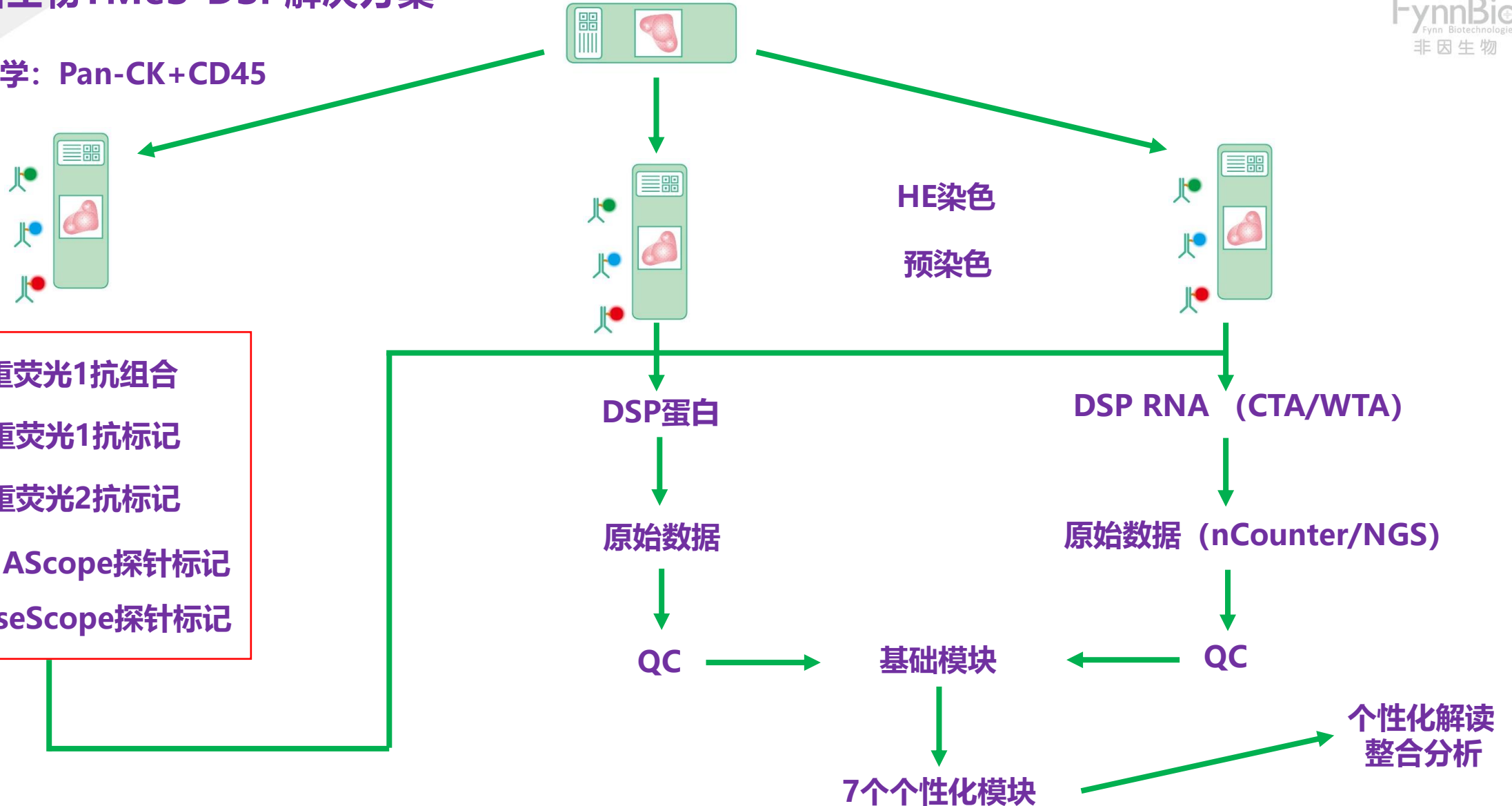


非因作为nanosting唯一的国际合作方在organBook空间转录组上开展合作，非因生物承接了肝癌项目



非因生物TMeS-DSP解决方案

标准形态学: Pan-CK+CD45



非因生物TMeS-DSP——验证靶点列表

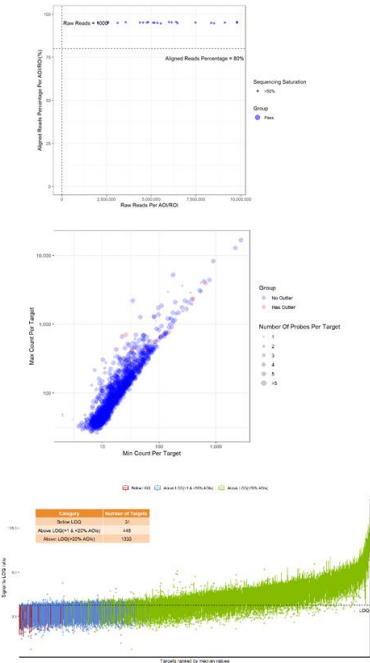
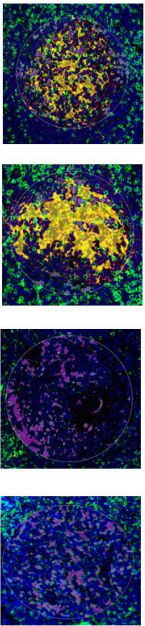


	小细胞肺癌	非小细胞肺癌	淋巴瘤	结直肠癌	乳腺癌	食管癌	肝癌	口腔癌	肾癌	皮肤癌	鼻咽癌
CD45											
Pan-CK											
CK8/18											
CD68											
CD57											
CD3											
CD19											
CD20											
CD4											
TGF-beta											
Epcam											
Alpha-SMA											
CD8											
Vimentin											
HLA-A											
IgA											



非因生物TMeS-DSP——优化的RNA Scope/Base Scope空间转录组蛋白组分析

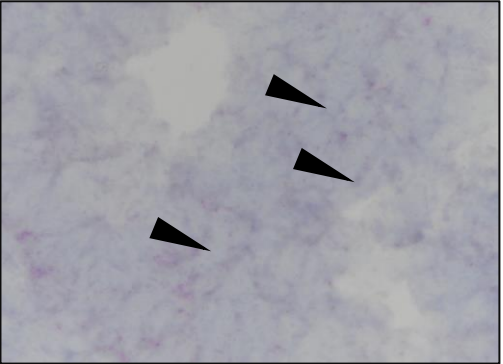
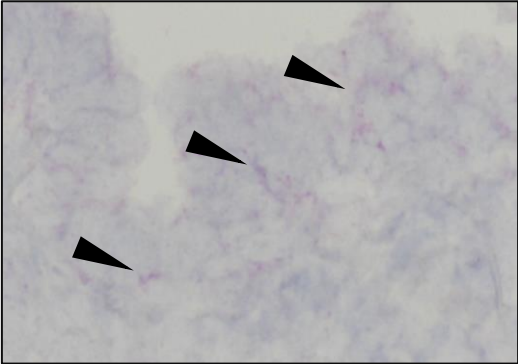
RNA Scope



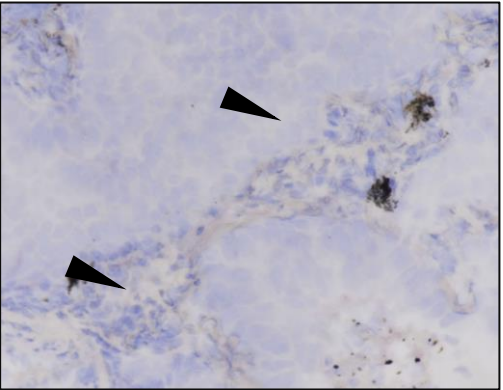
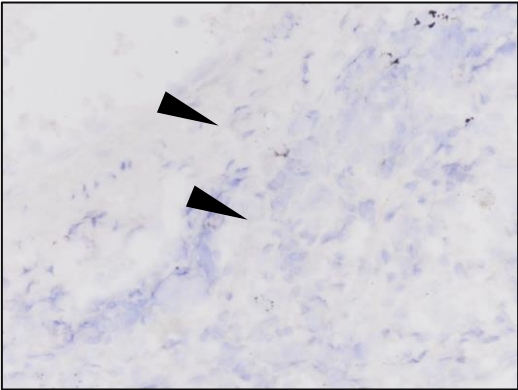
类别	靶点
低于LOQ	31
LOQ (1-20%)	448
高于LOQ (20%)	1333

Base Scope

Amplified HER2



Non-Amplified regions



非因生物多组学研究策略——高标准的靶点验证开发流程

3

DSP

IF空间原位验证

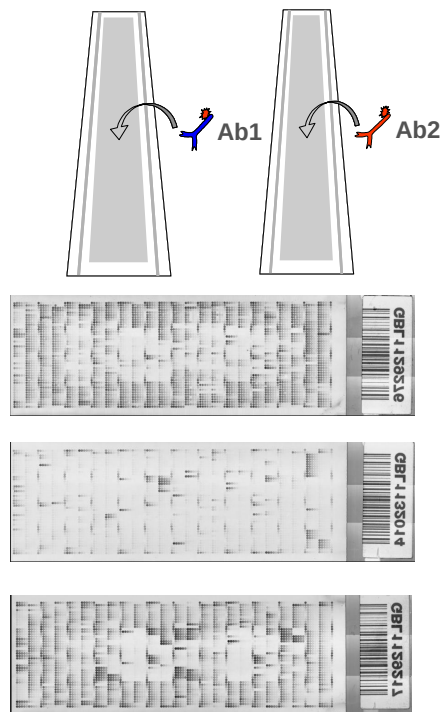


非因生物:
400+经验证的抗体库
800+In-house可验证抗体

1

RPPA

反相蛋白微阵列



Bottom-up

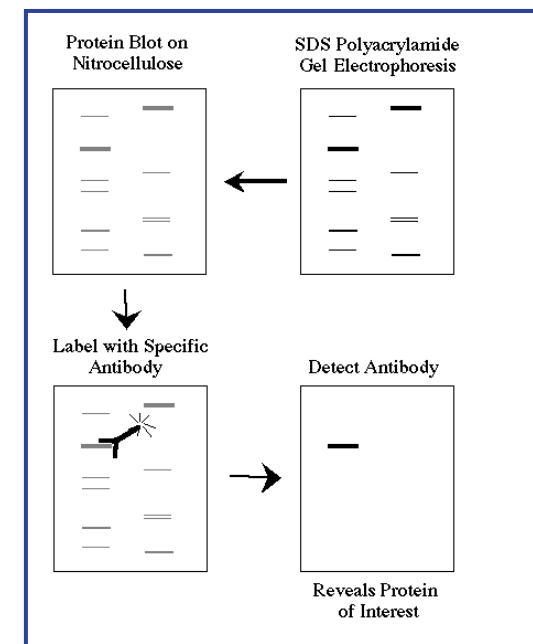
Top-down

1. 只需**一个抗体**进行抗原捕获
2. 短时间高效率进行大量样本平行分析
3. 灵敏度高 (antigen down/特殊检测原理)
4. **特异性好** (在WB初筛的基础上)
5. 样本用量少 (适于微量组织样本检测)
6. 数据量大, **多类样本同时验证**, 细胞系, 组织等

2

WB

蛋白免疫印迹



<http://www.bio.davidson.edu>

非因生物多组学研究策略——助力转化医学研究



药物筛选平台

- 肿瘤细胞系(80+)
- PDC平台
- 分子克隆平台
- 病毒包装
- CRISPER基因敲除

空间多组学平台

- DSP空间组技术
- 超高标空间单细胞技术 (2022 Q1)

靶向蛋白组平台

- RPPA靶向蛋白组技术 (400+ 药物通路和靶点)
- 5个RPPA小panel

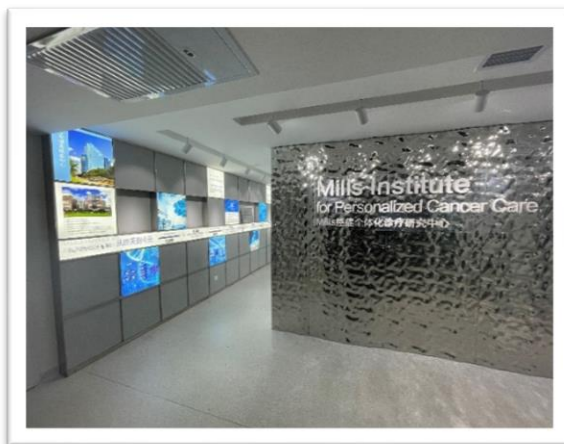
单细胞转录组平台

- GexScope技术 (2022 Q1)

靶向转录组平台

- nCounter技术
- PCR-Array技术





Mills癌症个体化诊疗研究中心



RPPA蛋白组学平台



细胞学平台



分子生物学平台



nCounter及空间生物学平台



空间单细胞表型平台



病理学平台



单细胞转录组平台



OUTLINE 目录

非因生物 专注癌症精准医疗 / 全球领先的蛋白组学·空间多组学技术平台

01| 非因生物简介

03| 空间多组学技术

05| 样本准备要素

02| RPPA蛋白组学技术

04| 非因策略

※ 内部资料请勿转发 最终解释权归非因生物所有

细胞培养物及鲜冻组织样本

一、样本要求

类型	样本量	处理方式
悬浮细胞	不低于 2×10^6 个细胞	低速离心收集, 弃上清; 轻柔加入 2-5ml PBS 将细胞重悬浮, 转入小离心管中, 低速离心收集, 弃上清; 重复 1-2 次, 放入 -80°C 冰箱保存直至样本寄送。
贴壁细胞	不低于 2×10^6 个细胞	胰酶消化后加入 PBS 将细胞重悬浮, 低速离心收集, 弃上清; 轻柔加入 2-5ml PBS 将细胞重悬浮, 转入小离心管中, 低速离心收集, 弃上清; 重复 1-2 次, 放入 -80°C 冰箱保存直至样本寄送。
冷冻切片	切片厚度 10-15 μm , 取 3-5 张连续切片, 每张面积大于 1cm^2	
鲜冻组织	15mg	采集新鲜组织用 PBS 或者生理盐水清洗干净, 切为米粒大小的组织块, 放入 -80°C 冰箱或者液氮内保存直至样本寄送。



体液样本

一、样本要求

类型	最少量
血清 / 血浆	200 μ l
血细胞	2mL
外泌体	血清 / 血浆 : 4mL
尿液	1mL

二、血液样本采集要求

(一) 血浆样本

1. 请用 EDTA 抗凝管采集患者血液，若不能第一时间处理，请于 4℃ 临时保存（不得超过 4h）；
2. 将采集到的血液在 4℃ 下 1500g，离心 20min，去除血液中的细胞；
3. 取上清，4℃ 下 3000g，离心 15min，收集上清（血浆），-80℃ 保存。

(二) 血清样本

1. 使用含凝血激活剂的采血管或普通真空采血管采集血液样品，室温静置 10-60min 使血液凝集；
2. 将采集到的血液在 4℃ 下，离心 20min，去除血液中的细胞，小心转移上清（黄色）至新的 1.5ml 离心管中，枪头不要触碰中间层（白细胞和血小板层）；
3. 取上清，4℃ 下 3000g，离心 15min，收集上清（血浆），-80℃ 保存。



细胞裂解液样本

一、样本要求

1. 蛋白总浓度大于 1.5mg/ml，无需稀释至此浓度，提供原液即可；
2. 样本总体积需大于 120 μ L；
3. 用非因生物提供的 RPPA 专用裂解液提取蛋白。
4. 样本制备完毕可放置 -80 $^{\circ}$ C 保存。

二、运输要求

1. 已保存的样品不要反复冻融；
2. 根据干冰量准备大小适当的泡沫盒，在其中放入干冰和样本（用塑料袋或塑胶手套装好）并用封箱带密封，气温高或者路途远的，要保证运输过程中干冰足量；
3. 泡沫盒须选择较厚的，以免在运输过程中破碎导致样品损失。



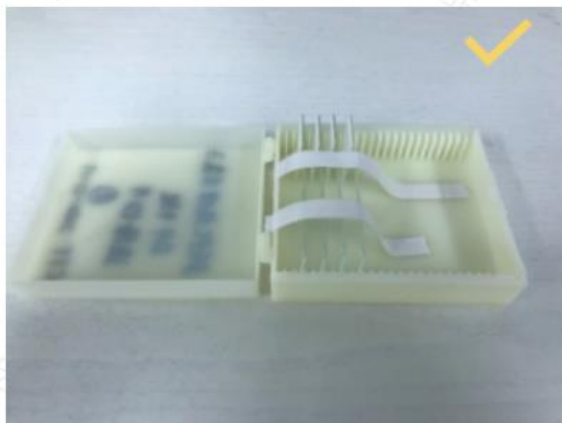
FFPE 样本

一、样本要求

切片厚度为 10–15 μm ，取 3–5 张连续切片，每张面积大于 1 cm^2 。

二、运输要求

使用专用切片盒放置待寄送样本，并使用填充物或固定胶带固定，切片盒外侧需添加填充物，谨防运输过程导致切片盒及样本损坏。一般采用常温运输，如天气炎热，可放入冰袋并与样本隔离放置。



切片固定不易损坏



切片间没有距离容易刮擦



准备前须知

在使用 GeoMx DSP 仪器进行蛋白质和 RNA 分析时，蜡块制备、制片和存储等所有过程均需保持样本的完整性。FFPE 样本的完整性受到多种因素的影响，包括：（1）组织切除后，到固定之前的时间；（2）保存条件；（3）组织类型；（4）标本储存年限。在选择进行 GeoMx DSP 分析的样本时，考虑这些因素至关重要。完整性差的样品的检测信号可能较低，特别是在 DSP 的 RNA 分析实验中。因此，请按照以下操作流程来进行样本处理。

石蜡样本制备

一、FFPE 蜡块选择

为获得最佳的 GeoMx DSP 分析结果，FFPE 蜡块应满足以下标准：

1. 组织在经 $1 \times$ PBS (pH7.0-7.4) 清洗后，需在 10% 的中性福尔马林缓冲液中，室温固定 18 至 24 小时（适用于厚度小于 0.5cm 的组织，如组织较大，可适当延长固定时间）。
2. 为保证最佳实验效果，组织切取后需立即固定，从切取到进行固定，中间的时间最多在常温放置不超过一个小时。
3. 组织在乙醇中彻底脱水，进行石蜡包埋。
4. 室温干燥保存蜡块。
5. 为了获得最佳效果，在选取 DSP 实验样本时，不建议使用超过 10 年的蜡块。

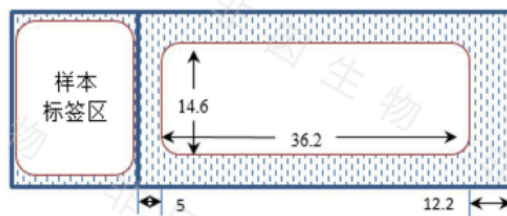


二、FFPE 切片

对于蛋白质和 RNA 检测，重要的是要避免切片上出现任何划痕和褶皱。这些划痕和褶皱在经过 DSP 实验流程后会被进一步放大，进而导致组织损失。为保证取得最佳检测结果，用户可按照如下操作进行切片制备，并建议用户咨询病理科专家以获得不同类型、不同来源组织的最佳操作流程。

1. 切片厚度需设置为 $5\text{ }\mu\text{m}$ 。
2. 蜡块修片的前几片不建议使用。
3. 组织应贴在载玻片的中心，以便为 GeoMx 载玻片架上的垫圈留出空间。
 - 1) NanoString 推荐使用 SuperFrost™Plus 防脱载玻片。
 - 2) 如果每张载玻片贴多个组织，请确保所有组织间至少相距 2–3 mm。

i. 在 SuperFrost™Plus 载玻片上，未染色的组织切片应为 $5\text{ }\mu\text{m}$ 厚。组织必须放置在载玻片中央的扫描区域（如下图所示的 $36.2\text{ mm} \times 14.6\text{ mm}$ 区域内），GeoMx DSP 仪器很可能无法检测扫描区域之外的组织，且可能由于校准区域被遮挡而导致仪器无法正常工作。



新鲜样本制备

一、新鲜冷冻组织块制备

1. 切取的组织可在液氮中快速冷冻。固定前用于清洗或临时储存组织的任何缓冲液都应无核酸酶污染【如 $1 \times \text{PBS}$ (pH7.0-7.4)】。
2. 用 OCT 包埋速冻组织后切片。
3. OCT 包埋的组织块需储存在 -80°C 。

二、鲜冻组织切片

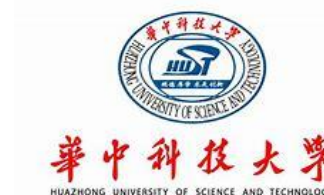
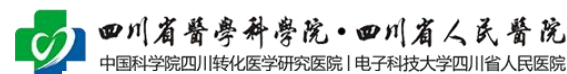
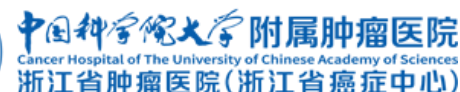
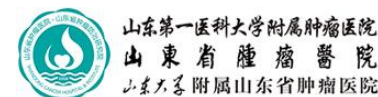
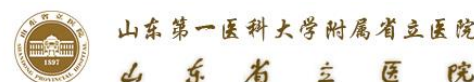
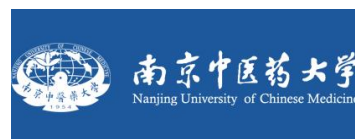
1. 切片需为 $5\mu\text{m}$ 厚，切下后立即贴在 Superfrost™ Plus 载玻片上。
2. 组织需贴在扫描区域，如上图所示。
3. 修片的前几片不建议使用。
4. 切片后，暴露的组织块应用 OCT 封存，以避免样本干燥。

三、冰冻切片样本储存和寄送

1. 玻片在使用前可在 -80°C 下保存数周，建议制备后立即寄出。
2. 玻片应置于干净的 50ml 离心管或者玻片盒内，固定好后，缠好封口膜，足量干冰寄送。



部分合作单位



非因生物 新型蛋白组学和空间多组学在癌症研究领域中的应用



非因生物 专注癌症精准医疗 全球领先的蛋白组学·空间多组学技术平台

☎ 服务热线/400-800-3119

🌐 网址 / www.fynnbio.com

📍 地址 / 济南市高新区未来创业广场 2 号楼 22 层

合作共赢 非因助力



非因生物科技（山东）有限公司
Fynn Biotechnologies Ltd.



非因生物微信公众号