CODEX: 高分辨率空间蛋白质组学

序列方舟

# 引言

随着空间转录组技术的发展，其他组学技术也相继涌现，今天我们就来介绍一种新的空间蛋白组技术：CODEX ([1])（CO-Detection by Indexing， 目前以更名为 PhenoCycler ）。CODEX是一种基于将 DNA 条码与抗体结合的多重成像技术， 能够在标准荧光显微镜平台上实现对50 - 100种抗原的空间共检测。

# 技术原理

CODEX的核心技术是将**人为设计**的DNA条形码与抗体结合，样品制备好后与所有的抗体一次性孵育，然后分批次对抗体在空间中的位置进行成像。

DNA条形码的5‘端是突出的，每个循环周期加入A或者G同时加入两种带有荧光标记的U（Cy3）和C（Cy5），没有荧光标记的A/或者G会在DNA聚合酶的作用下加到3‘末端，然后带有荧光基团的U或者C会按照碱基互补配对的方式在3’加入道合成链上，成像后通TCEP（Tris(2-carboxyethyl）phosphine) 将荧光基团从U和C上切下来，这样就可以通过荧光确定抗体在空间中的位置，而且是一次确定两种抗体在空间的位置。

成像后通过 TCEP 将荧光基团切除。下一周期使用不同的index核苷酸和荧光组合来确定另外两种抗体的位置([Figure 1](#fig-01) A)。

此外由于荧光基团是链接到U和C五碳糖的3’羟基上([Figure 1](#fig-01) B)，所以U和C加入后其他碱基就不能再被加入，实现了一个循环只加一个index碱基（没有荧光基团的A或者G）以及一个带有荧光基团的U或者C。

|  |
| --- |
| A  A  B  B  Figure 1: CODEX技术原理。（A）CODEX技术流程示意图。（B）dUTP-ss-Cy5结构图。 |

# 技术验证

## 与 CyTOF 的对比

使用相同抗体组合对 CODEX 与 CyTOF 进行比较。结果显示 CODEX 能检测更多组织细胞类型，如红细胞祖细胞、F4/80巨噬细胞等。

## 信号质量评估

CODEX的平均信噪比达 85:1，荧光清除效率约 98%。每周期荧光信号衰减率仅为 0.79%，背景增加率为 0.06%。此结果提示通过延长index链的长度CODEX能够检查更多的抗原。

# 空间组织与细胞识别

## 组织结构重建

在小鼠脾脏样本中成功识别脾脏四大区域：红髓、B细胞滤泡、PALS、边缘区。且通过 X-shift 聚类识别出 27 个细胞群，涵盖主要与稀有细胞类型。

## 稀有细胞定位

在自身免疫模型小鼠脾脏中发现 CD4⁺MHCII⁺ T细胞与 CD11c⁺ B细胞在特定区域聚集，提示其在自身免疫中的潜在作用。

|  |
| --- |
| Figure 2: 空间组织与结构识别。 |

# 微环境分析：i-niche 概念

## 定义与识别

每个细胞的第一层邻居构成其“i-niche”。使用 K-means 聚类识别出 100 种 i-niche 类型，映射到脾脏不同解剖区域。

## 表型受邻居影响

脾脏中某些细胞膜蛋白（如 B220、CD79b）在不同 i-niche 中表达显著不同。通过构建线性回归模型，发现 i-niche 信息显著提高表型预测能力。

# 疾病进展中的组织重塑

## 自身免疫病小鼠模型分析

在自身免疫疾病的小鼠脾脏中发现红细胞祖细胞显著增加，B细胞与滤泡树突细胞减少。B220⁺ DN T细胞在晚期疾病中大量出现，形成新的 i-niche。

## 细胞交互频率变化

在自身免疫病早期的脾脏中，B细胞与树突细胞交互频率增加，提示B细胞被激活的频率增加。交互频率变化主要由细胞数量变化驱动，而非亲和力改变。

|  |
| --- |
| Figure 3: 微环境分析。 |

# 讨论与展望

CODEX 技术突破了传统荧光成像的通道限制，实现了在组织切片中对数百种抗原的空间共检测。其高保真度与可扩展性使其成为研究免疫微环境、疾病进展与细胞交互的强大工具。未来结合 FFPE 样本与自动化流体系统，CODEX 有望广泛应用于临床病理分析与药物靶点发现。

**本公众号专注与单细胞、空间转录组、空间代谢组、空间蛋白质组以及宏基因组方向个性化分析和方案设计，欢迎大家交流咨询。后续我们还会更新更多空间转录组、空间蛋白质组、空代间谢组以及单细胞方面的内容，欢迎关注交流**。



# 参考文献

[1] [Y. Goltsev, N. Samusik, J. Kennedy-Darling, S. Bhate, M. Hale, G. Vazquez, S. Black, G. P. Nolan, *Cell* **2018**, *174*, 968](https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.07.010).