

PROXIMITY EXTENSION ASSAY

# BIOMARKER UND TRANSLATIONALE PROTEOMIK

Plasma und andere Körperflüssigkeiten spiegeln den pathophysiologischen Status eines lebenden Organismus wider. Ihr intrinsisches Proteinrepertoire kann als reichhaltige und zugängliche Quelle für krankheitsspezifische Biomarker dienen. Die meisten klinischen Labortests basieren auf Proteinen, die im Blutplasma zirkulieren, was die Bedeutung des Plasmaproteoms für die klinische Diagnostik unterstreicht. Die Komplexität und der breite Dynamikbereich von Plasmaproteinen, der mehr als zehn Größenordnungen abdeckt, setzen jedoch den auf Massenspektrometrie (MS) basierenden proteomischen Methoden Grenzen. Den Herausforderungen durch den großen dynamischen Bereich des Proteoms konnte teilweise durch Abreicherung hoch abundanter Proteine, durch gezielte Anreicherung niedrig abundanter Proteine sowie durch verschiedene Fraktionierungsverfahren begegnet werden, stets jedoch auf Kosten der Reproduzierbarkeit und ohne die Analysetiefe wesentlich zu erhöhen.

Trotz der dramatischen Verbesserungen der MS-basierten Technologien in den letzten Jahren [1] und damit einhergehenden vielversprechenden Ansätzen zur Entdeckung krankheitsspezifischer Biomarker [2], gewinnen gezielte Methoden, die auf

der Immundetektion spezifischer Proteine basieren, für die Plasma-Proteomik an Bedeutung. Beispiele für multiplexierte affinitätsbasierte Methoden für das Plasmaproteom-Screening sind die Assays auf Mikrosphärenbasis von Luminex (xMap-Technologie), die elektrochemilumineszierende Detektionstechnologie von MSD, der bead-basierte Nachweis von Cytokinen von Quanterix (Simoa-Technologie) sowie die Verwendung fluoreszenzmarkierter Aptamere für den Nachweis einer großen Anzahl an Plasmaproteinen von Somalogics (SomaScan-Technologie). Der jüngste Durchbruch bei der Entdeckung von Biomarkern ist die von Olink Proteomics (Uppsala, Schweden) entwickelte PEA-Technologie (Proximity Extension Assay). Hier basiert der Nachweis der einzelnen Proteine auf der Bindung zweier verschiedener Antikörper, die mit komplementären Oligonukleotidsträngen gekoppelt sind. In unmittelbarer Nähe hybridisieren die Oligonukleotide, und das Annealing-Produkt wird durch quantitative PCR amplifiziert und in einem Fluid-Chip-System mit hohem Durchsatz multiplexiert nachgewiesen. Die PEA-Technologie überwindet daher die Spezifitätsprobleme von Multiplex-Immunoassays und ermöglicht eine hervorragende Empfindlichkeit



Deutsche Gesellschaft für Proteomforschung e.V.

**KONTAKT**

E-Mail: [dgpf@uni-greifswald.de](mailto:dgpf@uni-greifswald.de)  
[www.dgpf.org](http://www.dgpf.org)

und skalierbares Multiplexing. Derzeit ist das Screening von insgesamt 1.161 verschiedenen Plasmaproteinen mit nur 14 µl Ausgangsmaterial möglich. Der PEA-Einsatz in der Biomarkerforschung ist weitreichend: In den vergangenen fünf Jahren wurden mehr als 360 Artikel veröffentlicht, in denen klinische Daten mit PEA-Messungen korreliert wurden [3]. Seit seiner Gründung an der Universität Uppsala im Jahr 2004 ist Olink Proteomics enorm gewachsen. Es zählt weltweit 15 externe Dienstleisterplattformen (darunter eine am Helmholtz Zentrum München) sowie zwei Hauptsitze in Uppsala und Boston (USA).

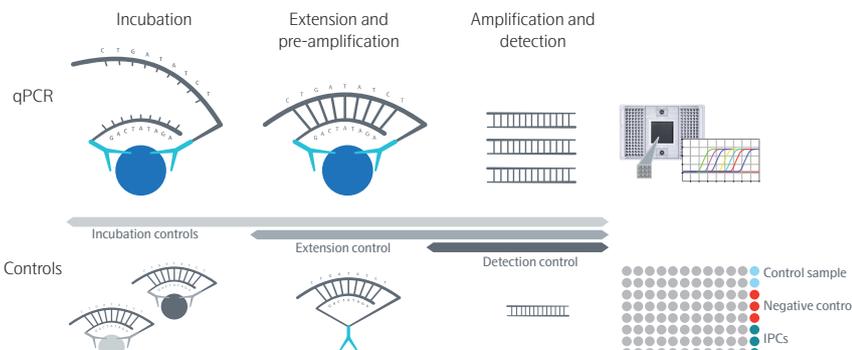
Affinitätsbasierte Methoden können Proteine über das gesamte Abundanzspektrum im Plasma erfassen, während MS-basierte Plasmaproteomik in der Sensitivität limitiert ist, jedoch den Nachweis posttranslativer Modifikationen ermöglicht. Die Kombination komplementärer Methoden wird essentiell sein für die proteinbasierte Biomarkerforschung der Zukunft.

**Dr. Stefanie Hauck, Abt. Proteinanalytik und Core Facility Proteomics, Helmholtz Zentrum München, Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH)**

[1] Geyer PE, Kulak NA, Pichler G, Holdt LM, Teupser D, Mann M. Plasma Proteome Profiling to Assess Human Health and Disease. *Cell Syst.* 2016;2:185-95.

[2] Mazzara S, Rossi RL, Grifantini R, Donizetti S, Abrignani S, Bombaci M. CombiROC: an interactive web tool for selecting accurate marker combinations of omics data. *Sci Rep.* 2017;7:45477.

[3] [www.olink.com/data-you-can-trust/publications](http://www.olink.com/data-you-can-trust/publications)



**Prinzip der Detektion von Proteinbiomarkern mittels Proximity Extension Assay (PEA).** Die Bindung der komplementären Antikörper an das korrekte Zielprotein (links) ermöglicht ein Annealing der komplementären, an die Antikörper gebundenen Nukleotidstränge (Mitte) und darauffolgend eine Amplifizierung des Signals per qPCR (rechts). Die Signaldetektion findet multiplexiert in einem Fluidic Chip-System unter strikter Kontrolle aller Prozessschritte statt.