

· 论 著 ·

椭圆光蛋白芯片定量检测免疫球蛋白抗体

朱 伟¹ 赵子彦¹ 靳 刚² 齐 财² 王战会²

【摘要】 本实验利用椭圆光蛋白芯片检测系统,在光学硅片上装配人类免疫球蛋白 G 作为感应层,利用能与其抗体特异性结合的特性,对样品中人类免疫球蛋白 G 抗体进行定量检测,证实利用该系统具有对蛋白质进行定量检测的能力,探索该系统在临床检验方面应用的可行性。

关键词 椭圆光成像 蛋白芯片 免疫球蛋白 G 抗体

【文献标识码】 A **【文章编号】** 1680-6115(2005)02-0121-02

Quantitative detection of anti-IgG by imaging ellipsometric protein chip

Zhu Wei, Zhao Ziyang, Jin Gang, et al.

The Institute of Medical Sciences of Shandong Province, Jinan 250062.

【Abstract】 We assembled human IgG as a sensitive layer on silicon bio-chip for detecting anti-IgG by the specific affinity between the antigen and its antibody. The visualization of the binding by imaging ellipsometry. The quantitative measurements of anti-IgG showed that this technique is capable of quantitative detections and can be used clinically in the future.

Key words imaging ellipsometry silicon bio-chip anti-IgG

随着人类基因组测序工作的完成,人类进入了蛋白质组时代,如何快速研究各种蛋白成了本时期重要问题,蛋白芯片以其高通量研究的特点成了解决这一问题的方法。1995年,靳刚和 H. Arwin 在瑞典合作时提出了光学椭圆成像生物传感器概念,所发展的光学芯片技术,是一种新型的光学生物分子分析技术^[1],这种技术利用生物分子的特异性结合和一个具有表面增强生物分子特异亲和性捕获功能的多元蛋白芯片和高通量的椭圆成像技术相结合,显示出在芯片表面上有生物分子相互作用引起的蛋白薄层的厚度分布和变化。此技术将多元生物分子相互作用的过程和结果,通过大面积的椭圆分析与快速电子摄像技术定量的显示,形成具有高空间分辨率、快速取样和操作简单等优点的生物分子分析技术^[2,3]。本实验利用这一蛋白分析系统,进行定量检测人免疫球蛋白(IgG)抗体(Anti-IgG)的尝试,以探索椭圆光蛋白芯片检测系统在临床应用的可行性。

1 材料与方 法

1.1 材料与器材 椭圆光蛋白芯片分析系统及软件、微流控芯片加样系统(均由中科院力学所研制),单晶硅片(洛阳单晶硅片厂),human IgG 及 anti-IgG(多克隆抗体)为 sigma 公司产品。

1.2 芯片处理 将单晶硅片切割成1cm×2cm大小,经过物理和化学洗涤,用硅烷和戊二醛使硅片表面醛基化,用磷酸盐缓冲液(PBS)保存备用。

1.3 芯片制作 将硅片用去离子水冲洗,氮气吹干,固定于微流控加样器上,选取6个加样点,每点加入0.1mg/ml IgG 10 μ l,流速1 μ l/min×10min;去离子水50 μ l冲洗10 μ l/min×5min,然后用1mg/ml牛血清白蛋白(BSA)10 μ l封闭(1 μ l/min×10min),再用去离子水50 μ l冲洗(同前)。

1.4 样品反应 将 anti-IgG 稀释成200,100,50,20,10 μ g/

L,每种浓度样本取100 μ l依次加入各点(最后一点为空白对照),1 μ l/min×100min,50 μ l PBS 冲洗(同前),以清除非特异性结合的蛋白。

1.5 观测芯片与数据处理 椭圆光蛋白芯片系统观测图像、采取、分析数据信息。以空白点图像灰度值作为零点,减去零点灰度值后即为其余各点灰度值。用 SPSS 统计软件处理实验数据。

本实验重复5次。

2 实验结果

用单因素方差分析结果显示5次重复实验之间数据差异无显著性($F = 0.769, P > 0.05$),用 LSD 法检验, $F = 0.732, P > 0.05$,用双变量相关分析所得相关系数为97.7%。

2.1 检测成像及其灰度值 实验图像显示随着被测样品中 anti-IgG 浓度的增加,其相应灰度值相应增加,反应单元亮度随之增加(见图1)。

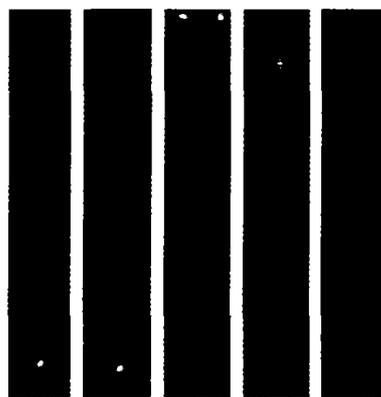


图1 椭圆光蛋白芯片电子图像

2.2 检测 Anti-IgG 的标准曲线 以各浓度样品5次试验的平均值作横坐标,各浓度样品5次实验对应的反应单元灰度值作纵坐标,做成浓度灰度标准曲线(如图2)。

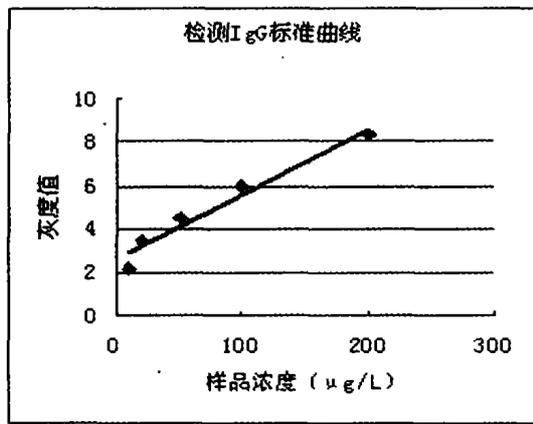


图2 椭圆蛋白芯片检测 IgG 抗体标准曲线

3 讨论

统计分析样品浓度与对应的灰度值相关系数接近于1,可以看出两者之间关系接近于线性关系,从 Anti-IgG 浓度灰度曲线也可以看出这一关系,此结果与 Wang Z H 报道一致^[4]。统计分析5次重复的实验结果显示,相同的IgG

浓度在反应单元的灰度值差异无显著性,说明用椭圆蛋白芯片检测系统检测 IgG 具有较好的稳定性和可重复性。从实验数据中可以看出,有个别同一浓度的样品所对应的反应单元图像灰度值差别较大,可能与微流控加样系统不同流道之间样品运行不够均匀有关系。

结论:利用椭圆蛋白芯片分析系统可以定性或定量检测蛋白分子,并且不需要对待测样品做任何标记。

参考文献

- 1 G Jin, P Tengvall, I Lundstrom, et al. Optical biosensor based on imaging ellipsometry for visualization of biomolecular interactions. *Biosensors and Bioelectronics*, 1996, 11(5), 14.
- 2 靳刚,王战会.蛋白芯片和其他生物芯片技术.见马立人,蒋中华主编,生物芯片.第二版.北京:化学工业出版社,2002,212-213.
- 3 孟艳丽,王战会,靳刚. A 蛋白定向固定抗体用于椭圆光学生物传感器免疫检测. *生物工程学报*, 2004, 20(1), 111-114.
- 4 Wang Z H, Jin G. A label-free multisensing immunosensor based on imaging ellipsometry. *Anal Chem*, 2003, 75(22):6119-6123.

(收稿日期:2004-12-01) (编辑 李 梁)

·病例报告·

利凡诺引产致陈旧性后穹隆裂伤 1 例

初 群 杜银凤

【文献标识码】 D 【文章编号】 1680-6115(2005)02-0122-01

1 病历摘要

患者,女,34岁。因陈旧性后穹隆裂伤于2000年11月1日入院。患者于18岁时未婚先孕17周,来我院行引产手术。住院后,行羊膜腔注射利凡诺100mg。术后病人自动出院。术后72h,在家自然流产。当时出血较多,未治自愈。28岁结婚。婚后怀孕3次,均在孕50~60天时自然流产。2000年4月,第三次自然流产后因不全流产来我科行清宫术时,诊为陈旧性后穹隆裂伤。要求住院治疗。查体可见:患者女性,身体健康,查体无异常。妇科检查:外阴陈旧性I°裂伤,阴道正常,子宫前位,正常大小,双附件无异常。消毒后窥阴器暴露子宫颈及后穹隆,可见宫颈光滑,后穹隆可见一横向伤口,长约1cm,距宫颈外口约1.5cm,伤口边缘外翻,呈红色,酷似糜烂之宫颈。宫腔探针可自宫口及后穹隆伤口同时达宫腔。住院后,甲硝唑擦洗阴道,每日2次,共3天。11月4日上午9时,在腰麻下行后穹隆修补术。切除伤口外缘疤痕组织,以外科无创肠线缝合伤口,

宫颈管内置一无菌橡皮导尿管。术后3天,拔除尿管,术后5天出院。嘱其3个月内禁性生活。1个月后复诊,可见后穹隆处愈合良好,宫口内可放置5号宫颈扩张棒。

2 讨论

利凡诺引产,在临床应用已多年,疗效确切,副作用少,作用平稳。只要注意观察产程,及时处理各种异常情况,很少留后遗症。但是,个别病例,对药物比较敏感,用药后可引起强烈的宫缩。该病人孕17周,宫颈较硬,宫内口紧,不易开放。加之新生儿较小,对宫口的压迫扩张作用不够,在强力宫缩作用下,子宫峡部变薄,而宫颈管不扩张,胎儿胎盘便自后穹隆处排出,造成后穹隆裂伤。这种情况往往出血较多,需及时处理,否则很难自然愈合。该病例在流产时流血较多,未治自然止血,但后穹隆处伤口却不能自然愈合,怀孕后,宫内口已不起自然保护作用,妊娠至一定时间时,宫腔内张力增大,便自破口处自然流产。所以,在施行手术时,应严密观察产程进展情况,发现并发症及时处理,避免发生意外。

作者单位:261500 山东省高密市人民医院产科

(收稿日期:2004-12-11) (编辑 李 梁)