

# 蛋白质生物芯片

靳刚

**内容摘要** 蛋白质芯片是一种新型的蛋白质分析技术，具有平行、快速、自动化检测、识别或纯化多元蛋白质的功能，在蛋白质功能分析、医学诊断，药物筛选和生物工业具有潜在的广泛应用前景。本文仅简要地介绍目前已经发展起来的几项有代表性的蛋白质芯片技术。

**关键词** 蛋白质芯片、生物传感器

## ProteinChip

*JIN Gang*

**Abstract** ProteinChip is one kind of protein analysis techniques with advantages of multi-protein parallel analysis at the same time, high speed of analysis, and automatic analysis, which is available for the detection, recognition and purification of proteins. It has widely potential applications in postgenome study, clinic diagnosis, pharmacy and bio-industry. Several typical techniques of ProteinChip recently developed are briefly presented here.

**Keywords** ProteinChip, Biosensor

随着人类基因组 (genome) 排序工作的完成<sup>1</sup>，人们认识到基因仅仅是遗传信息的载体，而生命活动的执行者是基因的表达产物——蛋白质。由于对细胞周期起控制作用的两种蛋白质 CDK 和 cyclins 的认识，美国的 Leland Hartwell 等三人被授予 2001 年度诺贝尔生理医学奖，可见对蛋白质认识的科学意义和重要性。为了揭示基因所表达的众多蛋白质的作用和相互关系，后基因组 (postgenome) 的研究<sup>2</sup>，即蛋白质组研究，是必然的发展趋势，以揭示基因的功能和在生命活动中的作用。按照目前的认识，人体中存在着十万种以上的蛋白质，各自具有不同的结构和生理功能。同 DNA 分子相比，蛋白质分子的空间结构复杂，其生物活性与空间结构密切相关，使得蛋白质不能被简单地扩增或原位合成，难以利用“拷贝”的方式来提高检测的灵敏度，其次，蛋白质间的相互作用无序列可循，而是类似于抗原-抗体相互作用的特异结合性，另外，在操作过程中，蛋白质很容易变性。因此，发展蛋白质芯片是非常困难的，成为生物芯片领域的挑战。

蛋白质芯片可以在很小的表面积上集成多种蛋白质活性分子(配基)，利用微量生理或生物采样，即可以同时检测和研究不同生物分子之间的相互作用和基因功能的表达，获得各种条件下蛋白质组的变化，以认识生命活动的规律。由于与重大疾病相关蛋白质的发现，对于疾病蛋白质诊断、基因功能研究及新药开发等领域，蛋白质芯片具有其它方法难以比拟的优越性。所以，蛋白质芯片和衍生的生物分子识别的专家系统、分子药物筛选系统和疾病诊断系统等已经成

为生物科学和生物医学等领域的迫切需要。

到目前为止，蛋白质芯片技术已经有所发展。较早出现的是瑞典 PHARMACIA 公司开发的 BIACORE 生物传感器技术，它是基于表面等离子体共振 (SPR) 原理和表面生物分子芯片技术。最初，Nylander<sup>3</sup> 和 Liedberg<sup>4</sup> 分别使用 SPR 发展了气体传感器和生物传感器。瑞典 Pharmacia Biosensor、BIAcore 公司于 1990 年在他们的研究工作的基础上，成功地发展了商业化的 SPR 生物传感器产品。在研究生物分子特异相互作用方面，包括抗原-抗体结合、抗原决定部位定位、吸附动力学、脱吸附动力学，SPR 生物传感器已经获得广泛应用<sup>5-7</sup>。自 1993 年以来，为了快速有效地筛选和识别蛋白质结构的特异结合性，美国威斯康星迈狄逊大学<sup>8</sup>、新墨西哥大学<sup>9</sup> 和法国<sup>10</sup> 的科学工作者根据各自工作的要求和特点，分别发展了高通量的表面等离子体共振成像技术。

近几年来，美国 CIPHERGEN 公司发展了 SELDI (Surface-Enhanced Laser Desorption/Ionization) 质谱技术<sup>11</sup>，将序列式芯片技术与质谱技术相结合，成为一种对于复杂的多种生物分子混合样品进行质谱 (mass spectrometry) 分析的方法。SELDI 芯片系统由蛋白质芯片、蛋白质芯片检测器和软件三部分组成。芯片是用铝制成的，每片蛋白质芯片含有 8 个直径为 2 mm 的蛋白质分析表面。把未加任何处理的蛋白质样品加到芯片表面上充分反应后，用缓冲液冲洗芯片表面，清除未结合在表面上的分子和非特异性结合的分子，降低背景信号。把芯片放入检测器中进行检测。检测器被称作 LDI-TOF-MS，同蛋白质数据库配合使用，来确

定蛋白质片段的分子量。SELDI 蛋白质芯片系统可以被用来监测蛋白质表达谱的变化和发现特殊的可以作为生物标志物的蛋白质分子等。

光学蛋白质芯片技术是基于 1995 年所提出的光学椭偏生物传感器的概念<sup>12</sup>。利用具有生物活性的矩阵式分布的多元蛋白感应表面及生物分子的特异结合性，形成在椭偏光学成像观察下的可以直接测定多种生物分子的蛋白质芯片。并且可以用此方法实时观测含有多元生物分子的混合溶液中的部分或全部种类的生物分子与芯片感应表面上的对应配基分子之间的相互作用过程，以进行生物分子动力学研究和多元生物分子分析。可以无需任何标记物，直接测量非纯化分析物种的待测分子。面阵式芯片单元，可以在单一测量时间内完成多次重复性测量，因此具有分辨和排除干扰信号和局部伪信号的功能。

高通量蛋白质荧光芯片是美国哈佛大学的 Gavin MacBeath 和 Stuart L. Schreiber 两人用载玻片制作出高通量的蛋白质芯片<sup>13</sup>。该蛋白质芯片将 DNA 芯片的高通量点样方法和荧光检测相结合。可用于蛋白质间相互作用研究、识别蛋白酶的底物以及识别小分子的靶蛋白。作为一种可供选择的方法，他们使用纯化的、全长的、正确折叠的蛋白质分子来发展基于高通量蛋白质芯片的分析技术。

最近几年发展的电化学生物传感器<sup>14</sup>，结合了操作相对简单、高灵敏度的电化学技术和具有高选择性和特异性的生物反应芯片。该传感器含有一-次性使用的聚合物改性的印刷电极板。使用电化学免疫传感器完成

免疫分析不仅快速、精确和成本低廉，而且不需要特殊的技能和复杂的培训，室内室外都能够方便地使用。流动池的使用防止了产物在电极上的积累和吸附。电化学免疫传感器已用于各种激素、药物和细菌检测，可以直接检测如牛奶、血样等非纯化样品。

总之，很多研究集中在发展快速原位的蛋白质医学诊断、药物筛选和蛋白质功能分析方法上。具有快速、灵敏、操作简单、体积小和价格低廉的蛋白质芯片技术将具有广泛的应用前景。

## 参考文献

- 1 J. Craig Venter, Mark D. Adams, Eugene W. Myers, et al. *Science* 2001 February 16; 291: 1304-1351;
- 2 Wasinger V C, Cordwell S J, Cerpa-poljak A. *Electrophoresis*, 1995(16):1090;
- 3 Nylander C, Liedberg B, Lind T. *Sensors Actuators* 1982;3:79-88;
- 4 Liedburg, Nylander C, Lundstrom I. *Sensors Actuators* 1983;4:299-304;
- 5 Bondeson K, Frostell-Karlsson A, Fagerstam L, Magnisson G. *Anal Biochem.* 1993; 214: 245-51;
- 6 Fagerstam LG, Frostell A, Karlsson R, et al. *J Mol Recognition* 1990;3:208-14;
- 7 Kooyman RPH, De Brujin HE, Eenink RG, Greve J. *J Mol Struct* 1990;218:345-50;
- 8 Jennifer M. Brockman, Anthony G. Frutos, and Robert M.Corn. *J.Am.Chem. Soc.* 1999, 121, 8044-8051. Claire E.

- Jordan and Robert M.Corn. *Anal.Chem.* 1997,69,1449-1456;
- 9 Michael J. O'Brien, II, Victor H.Perez-Luna, S.R.J.Bruce, Gabriel P.Lopez. *Biosensor & Bioelectronics* 16 (2001) 97-108;
- 10 Philippe Guedon,Thierry Livache,Francoise Martin,et al. *Anal. Chem.* 2000,72,6003-6009;
- 11 T.W.Hutchens , T.-T.Yip, *Rapid Commun.*
- 12 G. JIN, P. Tengvall, I. Lundstrom and H. Arwin, *Anal. Biochem.*, 1995,232, 69-72;
- 13 Gavin MacBeath and Stuart L. Schreiber, *Science* 2000 Sep 8; 289:1760-1763;
- 14 C. Dosoretz, R. Armon, J. Starosvetzky and N. Rothschild, *J. Sol-Gel Sci Techn.*, 7:(1-2), 7-11, 1996.

作者简介： 靳刚.中国科学院力学研究所 北京 100080  
(Institute of Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080)