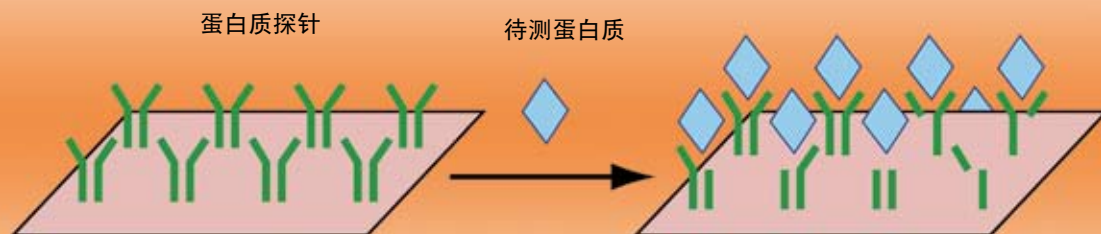


技术方法

纳米管技术给蛋白质芯片产业带来了新机遇

抗体标记的碳纳米管借助表面增强拉曼散射原理可以以极高的敏感度检测蛋白质，这一技术新进展对于蛋白质芯片产业来说称得上是一重大喜讯。

在一块小小的芯片上，以非常高的密度承载了成千上万种不同的蛋白质，就构成了蛋白质芯片。借助蛋白质芯片，科研人员可以方便并快速地同时研究多种蛋白质的功能。现在，蛋白质芯片最常见的用途是用来寻找、发现能与目标蛋白质分子或药物分子相互作用的蛋白质分子。本文着重介绍Chen等人最近的工作。他们将碳纳米管技术（小词典1）与表面增强拉曼分光镜检技术（小词典2）相结合，发明出了一种能高灵敏度检测分子间相互作用的新技术。



蛋白质芯片示意图

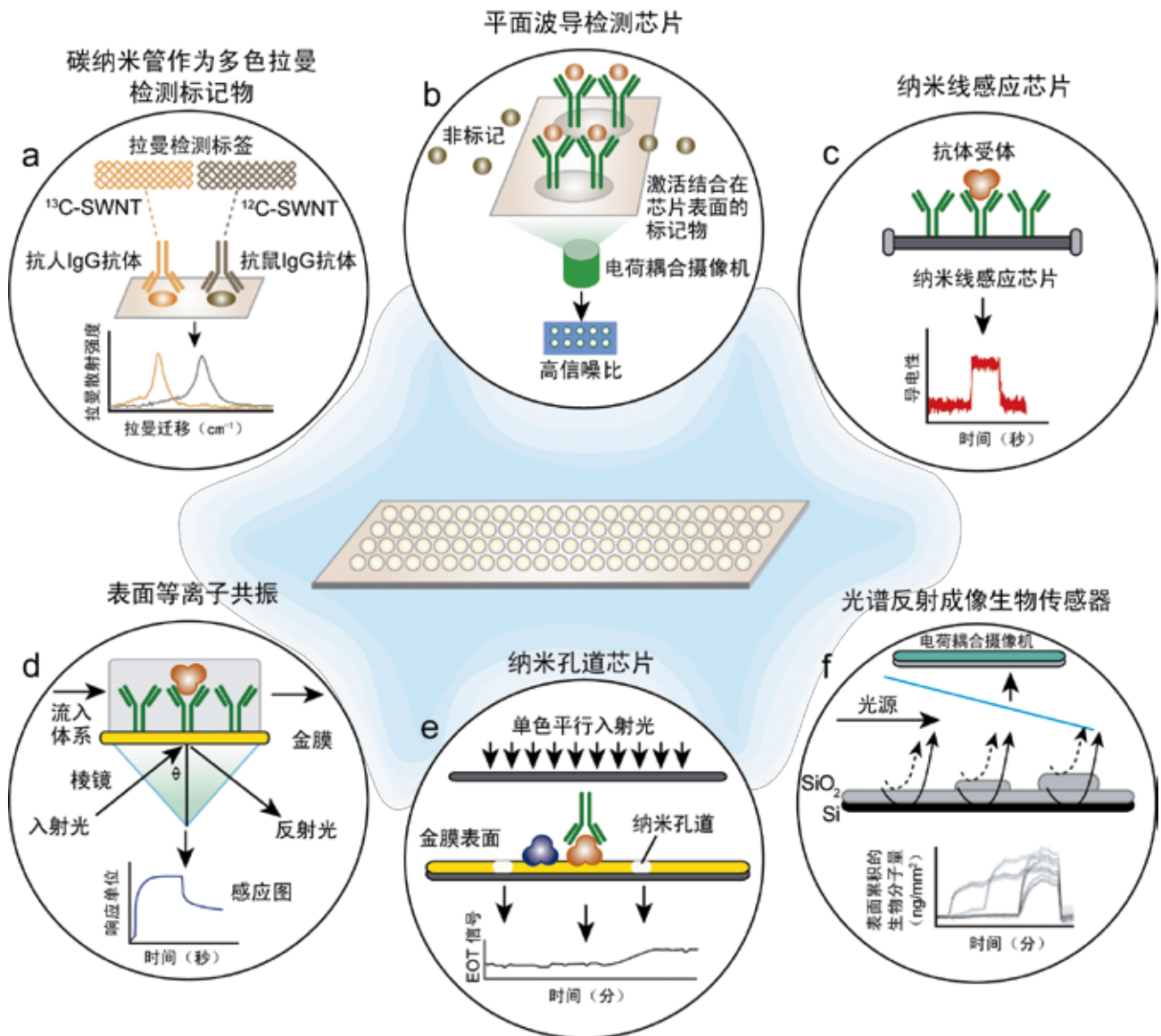


图1 用于检测蛋白质芯片的几种高灵敏度检测方法示意图

a: 使用 ^{12}C 和 ^{13}C SWNT作为拉曼散射标记物进行多路蛋白质检测（经由Chen等人设计改良而成）。光谱图示检测结果。

b: 用于荧光成像检测的平面光导芯片系统。芯片上所有的分子都同时被激光激发，只有固定在芯片表面的荧光标记分子才能发出荧光。图示该方法得到的高信噪比图像。

c: 在纳米线传感芯片中，蛋白质特异性地与其固定在纳米线上的受体结合，导致导电性发生变化。图示在蛋白质分子发生结合的时候，导电性发生变化。

d: SPR技术，检测反射角的变化，固定在金属表面的配体和溶液中的分子发生结合，导致了反射角发生改变，这种变化被实时记录了下来。图示被记录的反射角变化。

e: 使用纳米洞芯片监测透射光强度变化来实时检测多路结合反应。图示芯片和抗体间发生的结合反应。

f: 基于 SiO_2 表面反射光干涉现象的光谱反射成像生物传感器。生物分子间的相互作用会导致光程变化的增加。图示不同抗原抗体间相互作用的动力学变化。

到目前为止，SERS技术用于蛋白质检测还存在很多限制，因为使用的染料存在着拉曼散射跨度小以及强度弱等问题而导致信号检测十分困难。Chen等人使用碳纳米管作为标记进行了试验，看看能否克服这个难题。有一种叫做单壁碳纳米管（single-walled nanotube, SWNT）的碳纳米管有着独特的一维结构，它具有极大的拉曼散射跨度（cross-sections），其共振增强效果和稳定性都比有机拉曼标记物要好得多。Chen

等人将SWNT和抗体相连，用这种功能碳纳米管夺取蛋白质芯片中能与抗体结合的蛋白质。他们的试验结果非常令人振奋，检测灵敏度提高了 $10^7\sim 10^8$ 倍（图1a）。

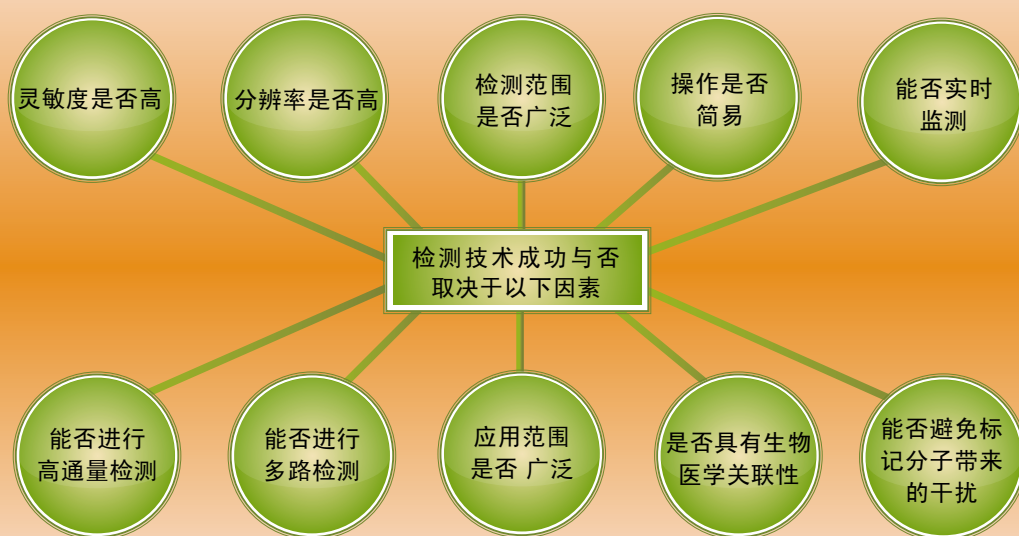
为了得到较高的灵敏度，Chen等人又引入了多种办法，彻底改进了该技术。首先，在结合试验步骤之后，他们在底物上放置了一块金属表面，仅仅是这一改进就将信号强度提高了60倍。其次，为了提高信噪比，他们使用被聚乙二醇修饰过的磷脂（PEGylated phospholipid）覆盖芯片表面，以减少非特异性吸附现象。经过了这些改进，SERS检测技术的敏感度已经提高到了飞摩尔级（femtomolar range），达到了有报道以来的荧光标记检测技术的检测极限和特定平面波导变化检测技术（specialized planar waveguide variation）的检测极限（图1b）。此外，使用不同碳同位素制造出的SWNT可以得到对不同颜色光线敏感的碳纳米管，从而进行多种检测（图1a）。

该技术只是近期出现的几种纳米检测技术之一。碳纳米管和纳米线传感系统（nanowire sensing system）等（图1c）都是基于检测导电性的改变，这些方法的敏感度达到了飞摩尔级（femtomolar，纳米线传感芯片）和渺摩尔级（attomolar，纳米粒子生物条码技术）。目前应用最广泛，也最成熟的纳米检测技术是SPR技术。该技术检测的是待检测分子和固定在金属表面的分

子发生结合后折射光发生的变化（图1d）。作为一种“非标记”策略，SPR技术可以实时监测分子间的相互作用，因此还能够分析分子间的亲和力和结合动力学。改进后的SPR技术——SPR成像（SPR imaging）技术可以用于蛋白质芯片检测。SPR成像技术固定一个入射角，依时间点记录整个芯片的反射光。该技术可以同时实时监测超过1000个分子间的相互作用，分辨率可以达到渺摩尔级。

另一个与SPR相关的新兴检测技术是纳米孔道芯片技术，该技术也是一种实时监测的技术，它检测的是透射光的强度。纳米孔道芯片不使用棱镜，而是使用其它装置，例如用高密度传感器来直接检测透射光，使用这种高分辨率的方法可以简化仪器设备，极大提高芯片密度（图1e）。椭圆测量术是另一种基于光偏振改变（light polarization changes）的光学反射检测技术。据报道，该技术也能用于检测未标记的待测生物分子和蛋白质芯片间的相互作用，不过该技术的敏感度不如SPR成像技术高。

最近还报道了一种用于“非标记”策略的干涉量度法——光谱反射成像生物传感器（spectral reflectance imaging biosensor）（图1f）。该技术能检测到由于固相支持物上累积的生物物质所引起的光相位差，敏感度达到了皮摩尔级，也能实现实时动力学分析，多路检测以及蛋白质芯片兼容性检测等。



图片说明：检测技术成功与否取决于以上因素。

尽管没有一项检测技术能完全满足上述所有的要求，但就像本文介绍的Chen等人的工作那样，创造性地将各种现有技术结合起来，也会得到令人惊奇的好结果。大部分的新检测方法面世时，向人们展示的都是检测抗原-抗体间相互作用的试验结果，但如果用于检测比较弱的分子间相互作用，试验结果还会这么优异吗？但无论如何，这些新兴技术的出现对于从事生物医药研究的科学家来说都是一件好事情。

原文检索：

Sanjeeva Srivastava, Joshua LaBaer. (2008) Nanotubes light up protein arrays. *Nature Biotechnology*, 26(11), 1244-1246.



Sanjeeva Srivastava, Joshua LaBaer/原文作者

Sanjeeva Srivastava和Joshua LaBaer均就职于美国马萨诸塞州坎布里奇查尔斯大街320号，哈佛医学院哈佛蛋白质组研究所生物化学及分子药理学部。

小词典

1 碳纳米管 (Carbon nanotubes, CNT)

碳纳米管是指一种重要而有代表性的纳米材料，有“纳米材料之王”的美誉。1991年，日本NEC公司基础研究实验室的电子显微镜专家饭岛 (Iijima) 在高分辨透射电子显微镜下检验石墨电弧设备中产生的球状碳分子时，意外发现了由管状的同轴纳米管组成的碳分子，现在被称为碳纳米管。近年来，碳纳米管在生物学等领域有了越来越多的应用。比如，CNT是一种备受关注的药物输送纳米载体，由于表面可以方便进行功能化，并且能够顺利穿透细胞膜将负载分子输送至细胞内部，所以一些学者、研究团体对功能化CNT向细胞内输送药物分子及生物分子 (蛋白质、核酸) 等作了广泛、深入的研究。另外，CNT具有独特的物理光学性质，例如吸收红外光而升温，可以用于深组织热疗、发射红外光荧光，而且可以用于体内的成像诊断。

2 拉曼散射 (Raman scattering)

拉曼散射是指光通过介质时由于入射光与分子运动相互作用而引起的频率发生变化的散射，又称拉曼效应。1923年，A.G.S.斯梅卡尔从理论上预言了频率发生改变的散射。1928年，印度物理学家拉曼在气体和液体中观察到散射光频率发生改变的现象。拉曼散射遵守如下规律：散射光中在每条原始入射谱线 (频率为 ν_0) 两侧对称地伴有频率为 $\nu_0 \pm \nu_i (i=1, 2, 3, \dots)$ 的谱线，长波一侧的谱线称红伴线或斯托克斯线，短波一侧的谱线称紫伴线或反斯托克斯线；频率差 ν_i 与入射光频率 ν_0 无关，由散射物质的性质决定。每种散射物质都有自己特定的频率差，其中有些与介质的红外吸收频率相一致。拉曼散射的强度比瑞利散射 (可见光的散射) 要弱得多。拉曼散射为研究晶体或分子的结构提供

了重要手段，在光谱学中形成了拉曼光谱学的一分支。用拉曼散射的方法可迅速定出分子振动的固有频率，并可决定分子的对称性、分子内部的作用力等。

表面增强拉曼散射 (surface-enhanced Raman scattering)：当一些分子被吸附到某些粗糙的金属，如金、银或铜的表面时，它们的拉曼谱线强度会得到极大的增强，这种不寻常的拉曼散射增强现象被称为表面增强拉曼散射效应。主要是纳米尺度的粗糙表面或颗粒体系所具有的异常光学增强现象，它可以将吸附在材料表面的分子的拉曼信号放大约 10^6 倍，对于特殊的纳米量级粒子形态分布的基底表面，信号的增强甚至可以高达 10^{14} 倍，因此在探测器的应用和单分子

检测方面有着巨大的发展潜力。已发现能产生表面增强拉曼散射的金属有Ag、Au、Cu以及Pt等少数金属，以Ag的增强效应为最佳，最为常用。此技术具有选择性好和灵敏度高的优点，实际检测限可达 10^{-12} 克级。它还可以区分同分异构体、表面上吸附取向不同的同种分子等，是研究表面和界面过程的重要工具，是定性鉴定化学结构相近化合物的有力手段。可用作液相色谱分析的检测器。在环境化学、生物化学中有机化合物的分析已有广泛应用。

3 介电性能 (dielectric properties)

介电性能是指在电场作用下，表现出对静电能的储蓄和损耗的性质，通常用介电常数和介质损耗来表示。材料应用高频技术时，如实木复合地板采用高频热压时，介电性能是非常重要的性质。

4 光漂白 (photonic bleaching)

光漂白是指在光照条件下使其发生化学反应或是构象改变而失去散发荧光的特性，就是所谓的漂白。它常用于生物体内扩散速率常数的测定。

能增强人体APOBEC介导抗HIV免疫活性的小分子

——RN-18

RN-18通过干扰HIV病毒的Vif蛋白从而提高人APOBEC3G蛋白的抗HIV病毒活性。

在人们寻找新型抗HIV病毒药物的过程中，人类抗病毒蛋白载脂蛋白B mRNA编辑酶催化多肽3G (APOBEC3G, 简称A3G, 小词典1) 和来自HIV病毒的“对手” Vif蛋白都成为了最近的研究热点。本文将详细介绍Nathans等人最新发现的能帮助A3G对抗Vif蛋白、抑制HIV病毒感染的小分子——RN-18。RN-18的发现使人们确信，的确是有针对A3G-Vif途径的小分子存在，这些小分子有助于帮助机体对抗病原体的感染。

