

聚苯乙烯活性膜免疫电极的研究

苏 殿 傑

(第一军医大学南方医院免疫室, 广州)

张 黎 亚

(北京军区防疫大队, 北京)

王 志 玲

(北京军区军医学校, 石家庄)

用离子选择电极测定无机离子, 既简便又快速^[1]。由此发展起来的酶电极, 可以测定与酶促反应有关的低分子有机化合物^[2,3]。近来, 免疫电极的研究引起人们的兴趣。免疫电极的基本原理是把抗体或抗原固定在特制的电极上, 由于电极上的抗体或抗原与溶液中对应的配体相互作用, 结果引起电极电位发生变化。从电极电位的变化量反映溶液中抗体或抗原的含量。Solsky 等人^[4]用离子载体二苯并-18-王冠-6 和聚氯乙烯制成的半抗原电极测定了该半抗原的抗体。山本^[5]把抗绒毛膜促性腺激素固定在钛丝上制成抗体电极, 用它测定孕妇尿液中绒毛膜促性腺激素。

我们用共价键交联法把人血清 IgG 或抗-IgG 血清固定在聚苯乙烯薄膜上, 制成 IgG 活性膜电极及抗-IgG 活性膜电极, 用这两种电极分别测定溶液中抗-IgG 和 IgG 的含量。

一、材 料 和 方 法

1. 抗原和抗体 用人血清 IgG 作为抗原, 蛋白含量为 13mg/ml (紫外吸收法), 滴度为 1:256 (琼脂双扩散法)。抗体为北京生物制品研究所生产的马抗人 IgG 血清 (批号 80-1 和 81-10, 蛋白含量为 100mg/ml, 滴度为 1:160)。

2. 电极活性膜的制备 以 30 微米厚的聚苯乙烯薄膜为载体, 参照 Hornby 等人的方

法^[6]。把人血清 IgG 或马抗人 IgG 血清固定在聚苯乙烯薄膜上, 制成电极活性膜。用岛津双波长 910 型扫描光密度计测定活性膜上固定的蛋白量。测定结果如图 1 所示。用溴酚兰染色法也能证实聚苯乙烯膜上固定了蛋白。

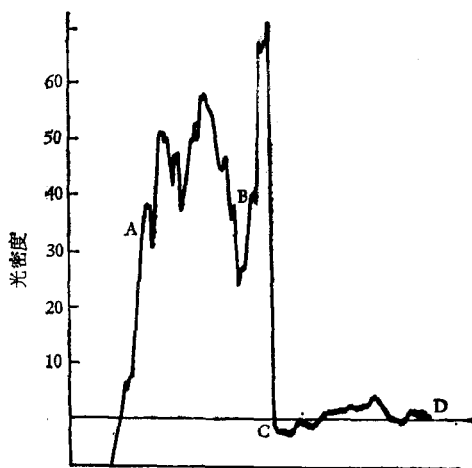


图 1 聚苯乙烯膜上固定的蛋白扫描图

曲线 AB 为蛋白膜的扫描图线,

曲线 CD 为空白膜的扫描图线。

纵坐标表示扫描距离(cm)

3. 电极的制备 把电极活性膜剪成圆形固定在电极壳的头部, 以氯化银饱和的 0.1N 盐酸作为内参液, 银-氯化银丝为内参比电极, 组成指示电极 (图 2)。

4. 测定方法 将指示电极 (例如 IgG 敏感膜电极) 和甘汞电极插入待测液中, 组成测量电

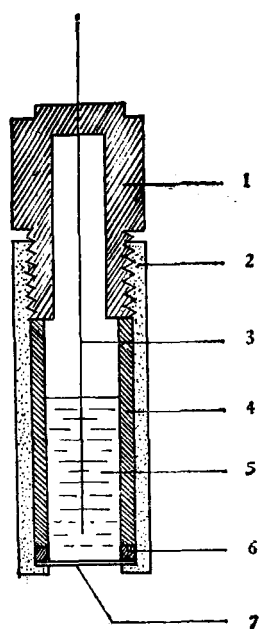


图2 免疫电极结构示意图(纵剖面)

- 1 螺帽 2 外壳 3 内参比电极 4 压筒
5 内参液 6 垫圈 7 活性膜

池,置 20℃ 恒温水浴中。电位测定用国产 PXJ-1B 型数字式离子计。

1) 空白电位测定 电极首先插入 5ml, 0.01M, pH8.10 的磷酸缓冲液(简称空白缓冲液),观察电位变化,直至读数恒定,并连续更换

空白缓冲液,当读数不变时,记下的电位值为空白电位值。

2) 样品电位的测定 将待测血清(例如马抗人 IgG 血清),用空白缓冲液等比稀释成一系列浓度。取 5 ml 稀释血清预热 10 分钟,摇匀,测定样品电位。更换样品或使用完毕,指示电极均须用空白缓冲液清洗。

3) 贮存 IgG 敏感膜电极不用时须保存在 4℃ 冰箱中。

二、结果与讨论

我们用马抗人 IgG 血清活性膜制成电极测定了人血清 IgG, 结果见图 3。用人血清 IgG 活性膜制成电极测定了马抗人 IgG 血清,结果与图 3 相似。两种电极的响应时间为 5 分钟,最大响应电位 5 毫伏左右,测定 IgG 及抗 IgG 的线性范围分别为 1—737 μ g/ml 和 5—86 μ g/ml。我们测定了人血清 IgG 活性膜电极的选择性(图 4)。从图 4 可以观察到人血清 IgG 活性膜电极对马抗人 IgG 血清有较高的响应电位,对同种 IgG 不响应。这表明人血清 IgG 膜电极对马抗人 IgG 血清及同种 IgG 具有较好的选择性。

我们还观察到活性膜在电极上固定得严密

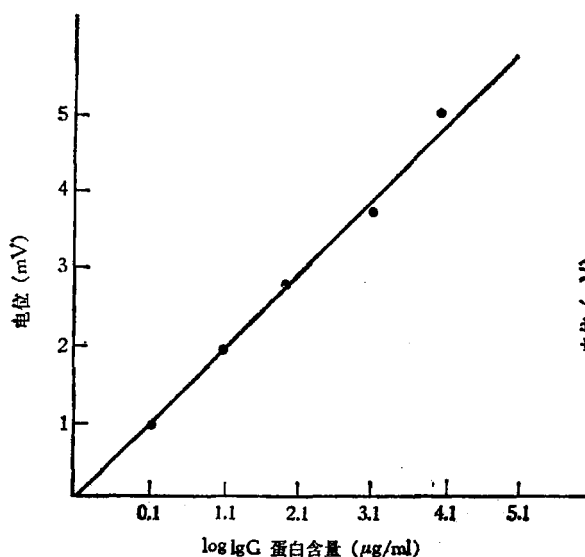


图3 马抗人 IgG 血清活性膜电极测定人血清 IgG 的电位响应曲线

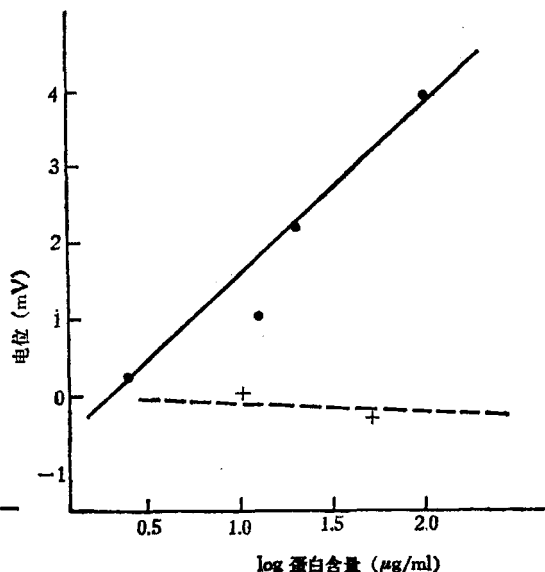


图4 人血清 IgG 活性膜电极的选择性
·——· 马抗人 IgG 血清 +····+ 同种 IgG
(下转第37页)

化,使核酸合成酶和纤维素等酶类的活性提高^[1],引起愈伤组织、多倍体细胞的形成、细胞壁纤维结构松散,可塑性增强、软化,使根瘤菌由变形根毛、根表层细胞和细胞间隙侵入根细胞,到更高倍的多倍体细胞中繁殖并促其分裂,为形成根瘤创造条件。此外还可能兼有大豆凝集素那样的凝集和识别根瘤菌的类似作用和 PEG 的细胞融合作用。

最近试验证明 2,4-D 不但能使瘤细胞,血细胞凝集而且可以使属于不同互接族的根瘤菌细胞凝集,并能使瘤细胞吸附并吞进血细胞,但是否为融合尚待进一步证明。而从吞入后瘤细胞死亡来看,显然与融合,胞饮及真正吞噬作用有别;与一般凝集素的作用也不一样。一般凝集素分子量大,2,4-D 是小分子而且不含糖和蛋白;一般凝集素的细胞凝集作用可被其相应的半抗体抑制,2,4-D 是否也有此特点有待证明。但从 ConA 不凝集正常细胞等现象来分析,2,4-D 的凝集作用可能与一般凝集素有不同的机理。

三、一般凝集素与 2,4-D 作用的某些相似点
凝集素分水溶的和膜上的两类,有促进淋巴细胞有丝分裂,介导细胞间粘着,使细胞识别外界物质等作用,这些作用都是基于糖专一性方面

的^[2]。2,4-D 显然没有这种糖结构的基础,但它也有凝集血细胞、瘤细胞、介导细胞与血细胞粘着(吸附),促进细胞分裂,形成多倍体细胞,凝集和识别某些细菌等类似一般凝集素的作用,以及类似细胞融合的作用,因此在植物激素与动、植物凝集素,以及细胞融合剂和抗血清的抗体抗原等的凝集作用之间,有何联系和机制上的本质区别,似均有深入探讨之必要。

参 考 文 献

- [1] 孙册:《生物化学与生物物理进展》1, 55, 1983.
- [2] 孙册:《生物化学与生物物理进展》3, 15, 1981.
- [3] Nutmann, P. S., 《豆类—根瘤菌的共生关系及其农业利用》,上海科学技术编译馆,102, 1965.
- [4] 聂延富,《自然杂志》5, 326, 1983.
- [5] 耿欣莲等,《兰州大学学报》(自然科学版),18(3), 81, 1982.
- [6] J. M. 劳森特著,上海植物生理研究所固氮研究室译,《根瘤菌实用研究手册》,上海人民出版社,25, 1973.
- [7] 武田胜男著,曹全金等译《癌的秘密》,江西人民出版社,140, 1981.
- [8] 中国科学院动物研究所细胞室编:《细胞》,科学出版社,137, 153, 1978.
- [9] 蒂曼著,陆定安译《细菌的生活》,科学出版社,246, 1966.
- [10] 中国科学院上海植物生理研究所细胞室编译,《植物组织和细胞培养》,上海科学技术出版社,137, 1978.
- [11] 罗士韦等编:《植物激素》,上海科学技术出版社,1, 1963.

[本文于 1984 年 9 月 15 日收到]

(上接第74页)

程度可直接影响电位响应的线性。同时还发现空白电位有漂移现象,有待进一步解决。

在本工作开始之后,我们相继查到 Solsky^[4]和山本^[5]的研究报告。我们的实验结果与他们基本相同。实验结果证实抗体、抗原在电极表面相互作用能够引起电极电位的变化,并且电极电位的变化与溶液中相对应的配体浓度成正比。以往人们根据蛋白质在电场中移动的现象,发展了蛋白质电泳技术。蛋白质等生物大分子在电极表面相互作用的电化学性质,正在引起人们的关注。

免疫电极的发展不仅为免疫测定创造了一个快速方法,而且它能把抗体、抗原相互作用引起的化学变化转变成电信号,为免疫测定自动

化奠定了基础。

致谢: 中国医学科学院基础医学研究所王世中教授、第二军医大学微生物教研室叶天星教授、北京军区军事医学研究所郭时钦所长给予指导;河北医学院苏美昆、张荫芳、魏淑珍同志给予协作;北京军区军医学校张立、何文洲等同志参加部分工作,特此致谢。

参 考 文 献

- [1] 黄德培等:《离子选择电极原理及应用》,第一版,新时代出版社,北京,1982年.
- [2] Mosbach, K.: *Methods in Enzymology* Vol. XLIV, Academic Press, New York, San Francisco, London, 579—618, 1976.
- [3] Rechnitz, G. A.: *Chemistry and Engineering News*, Jan. 27, 1975, 29—35.
- [4] Solsky, R. L. et al.: *Science*, 204, 1309, 1979.
- [5] Yamamoto, N. et al.: *Clin Chem.*, 26(11), 1569, 1980.
- [6] Hornby, W. E. et al.: *FEBS LETTERS*, 9(1), 8, 1970.

[本文于 1984 年 1 月 20 日收到]