

蛋白质微阵列检测抗原-抗体相互作用*

谢文章¹⁾ 王东⁴⁾ 杜宏武²⁾ 程京^{1, 2, 3) **}

(¹⁾清华大学生物科学与技术系, ²⁾生物芯片北京国家工程研究中心,

³⁾清华大学生物膜与膜工程国家重点实验室, ⁴⁾清华大学精密仪器系, 北京 100084)

摘要 为了制备蛋白质微阵列和研究芯片表面抗原-抗体的相互作用, 研究了如何在玻片表面固化蛋白质和用荧光染料 (Cy3, Cy5) 对蛋白质进行标记. 结果表明, 在醛基修饰的玻璃表面, 通过共价偶联的方法将抗原或抗体固定到芯片表面, 能使二者保持其特异性结合能力. 同时, 荧光标记后的抗原或抗体仍然具有特异性结合能力. 蛋白质微阵列是通过机械手在玻片表面排阵制作的. 芯片上的荧光信号获取采用了激光共焦荧光扫描系统. 用不同浓度的抗原探针阵列, 对其相应的抗体靶分子的特异性结合进行了分析和研究. 此外, 还通过在玻片表面固定兔 IgG 和固定鼠 IgG, 对羊抗兔和羊抗鼠抗体与其相应抗原的特异性相互作用进行了检测.

关键词 蛋白质芯片, 固定化, 荧光标记, 抗原-抗体相互作用

学科分类号 Q819

20 世纪 80 年代末发展起来的生物芯片作为一个技术平台, 已广泛应用于基因表达研究、功能基因组学、疾病诊断、药物筛选等多个领域^[1~5]. 微阵列生物芯片的技术基础主要有两个方面, 一个是微阵列制作技术, 另一个是激光共聚焦荧光扫描技术. 这两种关键技术的进步, 使得微阵列生物芯片技术获得了迅速的发展. 具备规模化、集成化、高密度及高通量特性的 DNA 芯片技术使得系统研究一个生物体系的基因表达及单核苷酸的多态性成为可能. 生物芯片技术的出现, 将革命性地改变生物医学检验与疾病诊断. 利用生物芯片的高通量特性, 系统地研究生物体系表达的蛋白质功能及其相互作用, 使蛋白质芯片在最近几年有了迅速的发展^[6~8]. 在不久的将来蛋白质芯片将会在蛋白质组学研究、疾病诊断以及药物筛选等领域发挥重要的作用.

尽管传统的蛋白质检测方法如 ELISA、放射免疫方法、蛋白质印迹 (Western blot) 已经成功而有效地在很多领域发挥着重要的作用, 但是它们都具有操作繁杂、同位素污染、难于微型化等诸多局限. 要想通过这些传统的蛋白质检测技术系统地研究一个生物体所表达的整个蛋白质体系将是繁杂、困难和难以实现的. 在过去的 10 年里, 用分子生物学技术建立的基因文库, 为用 DNA 芯片技术研究基因的表达与基因转录的调控, 提供了大量的样品材料, 为 DNA 芯片的发展奠定了基础. 随着高通量生物学技术的进步, 与疾病诊断及药物筛选相关的细胞、蛋白质、多肽、多糖及中药分子库

等的建立也将为蛋白质芯片的发展提供重要的样品资源.

剑桥大学的 de Wildt 等^[8]在膜上建立的抗体阵列可以高通量地筛选分析抗原抗体的相互作用. 哈佛大学 MacBeath 等^[9]用 TeleChem 公司的 SuperAldehyde 玻片对蛋白质进行了固定. 由于多数蛋白质表面具有赖氨酸及肽链 N 端的 α 氨基, 所以蛋白质能以多种不同的方位结合到玻片表面, 然后再进一步通过各种不同的侧面与溶液中的其他蛋白质或小分子反应, 对蛋白质与蛋白质、酶与底物及蛋白质与小分子的相互作用进行检测.

我们用醛基修饰的玻片表面 (silylated slides, CEL Associates Inc. USA) 对蛋白质阵列进行了固定化, 并对蛋白质的固定化效果、能否保持结合活性以及抗体-抗原的特异性相互作用进行了检测.

1 材料与方法

1.1 仪器设备

液体样品机械分配手 (Arraver, 清华大学). 激光共聚焦荧光扫描系统 (ScanArray4000, General Scanning Inc., USA); 真空烘箱、摇床.

1.2 试剂

Cy3、Cy5 标记羊抗鼠抗体, Cy3、Cy5 标记羊

* 国家自然科学基金项目 (39888001) 资助.

** 通讯联系人.

Tel: 010-62772239, E-mail: jcheng@tsinghua.edu.cn

收稿日期: 2001-07-13, 接受日期: 2001-07-25

抗兔抗体和 Cy3、Cy5 抗体标记试剂盒 (Amersham & Pharmacia Biotech Inc., USA); 鼠 IgG 及兔 IgG 为国产纯化试剂; BSA, 戊二醛, 甘油等其他试剂为国产分析纯; Silylated Slides (CEL Associates Inc., USA).

1.3 蛋白质的荧光标记

将抗体 (1 mg) 溶于 50 mmol/L (pH 7.3) (1 g/L) PBS 中; 用 1ml 抗体溶液与 Cy5 双功能活化脂 (biofunctional NHS-ester) 耦联溶液充分混合 (30 min). 用分离层析柱除去剩余的荧光染料分子; 收集被标记抗体的第一颜色峰. 计算标记到抗体上的荧光 (Cy5) 分子数与抗体分子数的摩尔比, 将标记好的蛋白质溶液稀释到最大紫外吸收值, 使其位于 0.5~1.5 AU 的范围之内. 根据紫外吸收值可以计算出荧光染料及蛋白质的摩尔浓度; 从荧光染料分子与蛋白质分子的摩尔浓度之比可以得出每个蛋白质分子上标记的荧光分子数.

1.4 Cy3、Cy5 标记羊抗鼠抗体的固定化

为了制作蛋白质芯片, 首先要将蛋白质固定到固体的表面, 并且要保持其构象和结合能力. 通过机械手排阵和化学偶联方法可使蛋白质固定到固体的表面上. 然后让荧光标记的靶蛋白质与之相互作用便可通过荧光检测观察到实验结果. 生物样品不能与玻璃或塑料表面的硅醇基 (silanol group) 直接结合, 为将生物样品固体在固体表面, 其表面需化学修饰或功能化. 有机硅烷化试剂是用于玻璃表面化学修饰的有效方法.

将蛋白质样品溶解在 60% PBS (pH 7.4) 和 40% 甘油的缓冲液中. 通过高精度机械分配手上所带的开缝钢针样品分配头, 将蛋白质样品点滴到玻片表面上, 点样用的机械手精度为 10 μm , 点的直径为 150~200 μm . Cy3 标记羊抗鼠抗体的氨基与玻片表面的醛基通过 Schiff 碱偶联. 点样过程的温度为室温 (25 $^{\circ}\text{C}$), 湿度为 30%~40%. 点样完成后, 将玻片放入湿盒中进行 37 $^{\circ}\text{C}$ 水合温浴 4 h. 用 1% BSA (质量体积比, 溶于 PBS (pH 7.4), 含 0.1% Tween 20 (体积比)) 作为封闭液. 将玻片放入封闭液反应 1 h, 用以封闭未反应的醛基, 并可减低玻片表面对蛋白质的非特异性吸附. 用 PBST (PBS 中含 0.1% Tween 20) 清洗 3 遍, 然后用 PBS 清洗 1 min. 再用硼氰化钠还原 Schiff 碱形成更稳定的单键结构.

1.5 玻片表面抗原-抗体的相互作用

在醛基修饰的玻片表面上的抗原-抗体相互作用

有两种方式: 一种是将抗体固定到玻片表面, 将抗原标记上荧光作为靶分子与玻片表面的抗体相互作用; 另一种方式是将抗原固定到玻片表面, 对抗体进行荧光标记并与玻片表面的抗原进行反应. 用 PBS (pH 7.4) 含 0.1% 的 Tween 20 (体积比) 和 1% BSA (质量体积比), 将荧光标记的靶蛋白质稀释成浓度为 2 mg/L. 加 2 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$ 到芯片阵列的表面, 用盖玻片压匀. 在湿盒中 37 $^{\circ}\text{C}$ 反应 30 min, 取出用 PBST (PBS 中含 0.1% Tween 20) 清洗 3 遍, 然后用 PBS 清洗 1 min. 用 ScanArray4000 扫描分别检测 Cy3 和 Cy5 两个波长阵列的荧光强度.

2 结果

2.1 抗原、抗体的荧光标记

2.1.1 抗体的荧光 (Cy5) 标记: Cy5 荧光染料分子在波长 650 nm 处的摩尔消光系数为 $250 \times 10^3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$; 蛋白质分子 (抗体) 在波长 280 nm 处的摩尔消光系数为 $170 \times 10^3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. 而对于不同的蛋白质分子的摩尔消光系数会有所不同. 计算中由于荧光染料分子 Cy5 在 280 nm 处的吸收值约为在 650 nm 处吸收值的 5%, 所以需要做一个 5% 的修正.

$$[\text{Cy5 dye}] = (A_{650}) / 250 \times 10^3$$

$$[\text{antibody}] = [A_{280} - (0.05A_{650})] / 170 \times 10^3$$

$$(\text{D/P})_{\text{final}} = [\text{dye}] / [\text{antibody}]$$

$$(\text{D/P})_{\text{final}} = [0.68(A_{650})] / [A_{280} - (0.05A_{650})]$$

紫外吸收测量结果: $A_{650} = 1.12$, $A_{280} = 0.14$; 计算结果 $(\text{D/P}) = 8.9$; 其标记结果处于比较合适的标记范围. 如果蛋白质被标记的荧光分子过多, 会影响到它的结合能力; 反之, 如果蛋白质被标记的荧光分子过少, 其荧光强度又会很弱. 蛋白质较佳的被标记的范围约在 $(\text{D/P}) = 4 \sim 12$ 的范围之内.

2.1.2 抗原的荧光标记: 用 Cy3 双功能活化脂 (biofunctional NHS-ester) 标记抗原, 其方法与标记抗体相同. 只是在计算标记到抗原上的荧光 (Cy3) 分子数与抗原分子数的摩尔比时的参数略有不同. Cy3 荧光染料分子在波长 552 nm 处的摩尔消光系数为 $150 \times 10^3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$; 蛋白质分子 (抗原) 在波长 280 nm 处的摩尔消光系数为 $170 \times 10^3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. 计算中由于荧光染料分子 Cy3 在 280 nm 处的吸收值约为在 552 nm 处吸收值的 8%, 所以需要做一个 8% 的修正.

$$[\text{Cy3 dye}] = (A_{552}) / 150 \times 10^3$$

$$[\text{antibody}] = [A_{280} - (0.08A_{552})] / 170 \times 10^3$$

$$(D/P)_{\text{final}} = [\text{dye}] / [\text{antibody}]$$

$$(D/P)_{\text{final}} = [0.68(A_{552})] / [A_{280} - (0.05A_{552})]$$

紫外吸收测量结果: $A_{552} = 0.8$, $A_{280} = 0.25$; 计算结果 $(D/P) = 4.86$; 其标记结果处于比较合适的标记范围。

2.2 不同浓度抗原阵列对抗体的检测

将鼠抗原 (IgG) 样品固定到醛基玻片表面, 使用的玻片是 CEL 公司的醛基玻片. 将鼠抗原 (IgG) 样品稀释成如下系列浓度: 0.01、0.02、0.05、0.1、0.2、0.5、1.0、5.0 g/L. 每个浓度的样品在 CSS 芯片上点滴 4 (2×2 点阵) 个点, 用对每个浓度样品的 20 个点的读数进行平均. 结果表明 (图 1, 图 2), 在荧光标记的靶抗体浓度不变的情况下, 荧光信号随着所应用的抗原浓度的增加而增高, 其固定的较佳浓度应该大于 1 g/L.

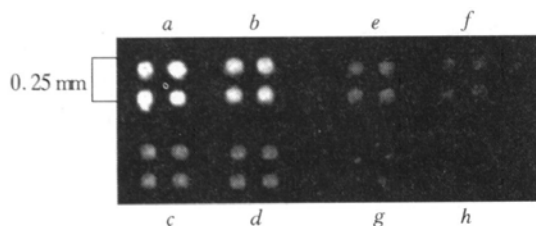


Fig. 1 Detecting antigen-antibody interactions on glass slides
Mouse IgG was spotted in quadruplicate on aldehyde slides. The concentrations of quadruplicate spots of a, b, c, d, e, g and h were respectively 5, 1, 0.5, 0.2, 0.1, 0.05, 0.02 and 0.01 g/L. The Cy3-goat anti-mouse IgG was used at a concentration of 2 mg/L.

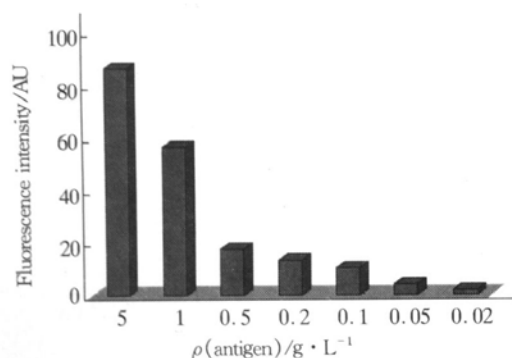


Fig. 2 The arbitrary fluorescence intensity against the concentration of antigen immobilized on the glass surface

The Cy3-goat anti-mouse IgG was used at a concentration of 2 mg/L.

2.3 不同浓度抗体阵列对抗原的检测

用蛋白质芯片可以检测蛋白质-蛋白质之间的相互作用. 通过固定在芯片表面的抗原阵列, 可以对抗体进行检测; 反之, 用芯片表面的抗体阵列可以检测荧光标记的抗原. 图 3 所示为将不同浓度梯度的兔抗羊抗体 (0.125、0.25、0.5、1.0、2.0、

4.0 g/L) 固定到玻片表面后, 与用 Cy5 标记的羊 IgG 发生特异性结合. 用激光共聚焦荧光扫描系统 633 nm 波长的激光去激发, 在 670 nm 波长的位置接收时测得的曲线.

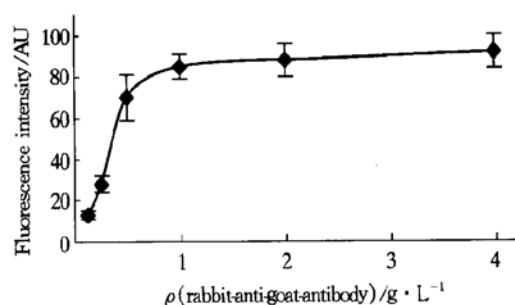


Fig. 3 Detecting the specific interaction of antigen-antibody on glass slides

The rabbit-anti-goat IgGs with different concentrations of 0.125, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 g/L were immobilized on the glass slide. The target was Cy5-goat IgG (2 mg/L).

图 4 的图案中间五个小方框内的 5×5 小阵列固定的是兔 IgG 抗原 (1 g/L), 其余的小方框内固定的是鼠 IgG (浓度为 1 g/L). 用 Cy5 标记的羊抗兔抗体溶液 (2 mg/L) 与整个阵列发生反应后, 用激光共聚焦荧光扫描系统 633 nm 波长的激光去激发, 在 670 nm 波长的位置接收时, 我们会看到图 4 中的阵列图案. 从图 4 中可以看出, Cy5 标记的羊抗兔抗体会与兔 IgG 阵列发生很强的特异性相互作用, 而与鼠 IgG 的阵列不发生反应, 其非特异性的信号也很低. 从图 4 中的信噪比可以看出其信号的可靠性, 另外, 125 个点的重复性好, 固定在格子上的阵点也较均匀.

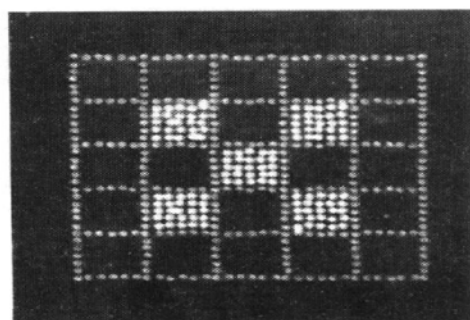


Fig. 4 The Cy5-goat anti-rabbit IgG (1 g/L) was immobilized on the lattice of the pattern

Rabbit IgG (antigen, 1 g/L) was immobilized in five arrays (5×5) in the middle of pattern. Mouse IgG (antigen, 1 g/L) was immobilized in small arrays (5×5) in the rest panes. The Cy5-goat anti-rabbit (2 mg/L) was used as target. To visualize fluorescence pattern, the slide was scanned using a fluorescence scanner (ScanArray4000) with excitation set at 633 nm.

3 讨 论

制备蛋白质芯片的主要困难之一是需要保持蛋白质的活性。首先,在荧光标记蛋白质的时候,对反应体系中被检测的蛋白质需要进行适度的荧光标记。如果每个蛋白质分子上标记的荧光分子过少,则会影响到芯片检测蛋白质的灵敏度;但如果每个蛋白质分子上标记的荧光分子过多,则可能影响蛋白质的活性。其次,在固定化的过程中,需要选择最佳的方案,使蛋白质保持最好的结合能力。影响因素包括偶联化学、缓冲液、制备蛋白质阵列和固定时所用的温度、湿度等。最后,在芯片表面抗原-抗体进行相互作用反应时所用的温度、湿度及探针蛋白质与靶蛋白质的浓度等也会影响其反应效率。

在蛋白质分析中,既可以用抗原阵列去检测抗体,也可以用抗体阵列来检测抗原,还可以将ELISA这样的免疫检测方式,用到蛋白质芯片的免疫检测中。用醛基玻片制备蛋白质芯片,只是一种可行的方法。另外也还有其他一些比较好的蛋白质固定化方法可以被用到蛋白质芯片的制备中来,如用巯基修饰玻片或通过蛋白质A等对抗体进行固定化。

蛋白质芯片的高密度和高通量等特性,使得它在免疫检测、疾病诊断、药物筛选和蛋白质组研究等方面具有较大的应用潜力。

4 结 论

在蛋白质芯片的制备过程中,将蛋白质固定于醛基修饰的玻片表面,蛋白质仍然可以保持其构象及结合能力。对蛋白质进行荧光标记,可以将标记

蛋白质分子的荧光分子数控制在一个适当的范围内,以不影响蛋白质的结合能力为适度。通过对芯片表面抗原-抗体相互作用的检测表明,我们所制作的蛋白质芯片特异性、重复性和可靠性都较好。要在芯片表面对蛋白质实现高通量的定量检测,其检测灵敏度还有待进一步提高。芯片制备过程的条件尚需进一步优化和改进。

用蛋白质芯片对抗原-抗体相互作用进行检测可以实现高密度和高通量,并且节约样品。用ELISA方法可以进行的检测,大部分都可以在芯片上实现。而对于高通量的检测,芯片的方法要比ELISA方法以及任何形式的传统方法都有优势。

参 考 文 献

- 1 Schena M, Shalon D, Davis R W, *et al.* Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science*, 1995, **270** (5235): 467~ 470
- 2 Hacia J G, Brody L C, Chee M S, *et al.* Detection of heterozygous mutations in BRCA1 using high density oligonucleotide arrays and two-color fluorescence analysis. *Nat Genet*, 1996, **14** (4): 441~ 447
- 3 DeRisi J, Penland L, Brown P O, *et al.* Use of a cDNA microarray to analyze gene expression patterns in human cancer. *Nat Genet*, 1996, **14** (4): 457~ 460
- 4 Kozal M J, Shan N, Shen N, *et al.* Extensive polymorphisms observed in HIV-1 clade B protease gene using high-density oligonucleotide arrays. *Nat Med*, 1996, **2** (7): 753~ 759
- 5 Scangos G. Drug discovery in the postgenomic era. *Nat Biotechnol*, 1997, **15** (12): 1220~ 1221
- 6 Lueking A, Horn M, Eichhoff H, *et al.* Protein microarrays for gene expression and antibody screening. *Anal Biochem*, 1999, **270** (1): 103~ 111
- 7 Emili A Q, Cagney G. Large-scale functional analysis using peptide or protein arrays. *Nat Biotechnol*, 2000, **18** (4): 393~ 397
- 8 de Wildt R M, Mundy C R, Gorick B D, *et al.* Antibody arrays for high-throughput screening of antibody-antigen interactions. *Nat Biotechnol*, 2000, **18** (9): 989~ 994
- 9 MacBeath G, Schreiber S L. Printing proteins as microarrays for high-throughput function determination. *Science*, 2000, **289** (5485): 1760~ 1763

The Analysis of Antigen-antibody Interactions on Protein Microarrays*

XIE Wen-Zhang¹⁾, WANG Dong⁴⁾, DU Hong-Wu²⁾, CHENG Jing^{1, 2, 3)}**

⁽¹⁾ Department of Biological Sciences and Biotechnology, Tsinghua University;

⁽²⁾ National Engineering Research Center for Beijing Biochip Technology; ⁽³⁾ State Key Laboratory of Biomembrane Biotechnology;

⁽⁴⁾ Department of Precision Instruments and Technology, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract The probing proteins were immobilized onto the surface of glass slides modified by aldehyde. The target proteins were labeled by either Cy5 or Cy3 for specific cases. A high-precision robot was designed to print protein samples onto glass slides to form the microarrays. The activity and the specific affinity interaction of the proteins were not compromised after fluorescent dye labeling process and covalent immobilization. To detect the antigen, arrays of antibodies attached to the glass substrate was used. Likewise, for the assessment of the

property of antibody, antigen-based array was utilized. The concentration of the proteins immobilized onto slides is an important factor for determining the sensitivity in detecting the interaction of antigen-antibody. The interactions of goat-anti-mouse and goat-anti-rabbit antibodies with their corresponding antigens were proven specific as revealed by the results generated from the present protein arrays.

Key words protein microarray, immobilization, fluorescence labeling, antigen-antibody interaction

* This work was supported by a grant from the National Natural Sciences Foundation of China (39888001).

** Corresponding author. Tel: 86-10-62772239, E-mail: jcheng@tsinghua.edu.cn

Received: July 13, 2001 Accepted: July 25, 2001

真核生物染色质隔离子

章波 刘昕

(第三军医大学分子遗传学教研室, 重庆 400038)

真核生物的基因组较原核生物复杂, 其基因包含在染色质中, 基因的表达调控十分精细。真核生物的染色体由一系列结构与功能独立的单元组成, 各个单元的基因表达情况各不相同。各单元间的结构称为边界元件, 它使一侧的基因免受另一侧调控元件的影响。这就是限定染色质转录功能区的染色质隔离子 (chromatin insulator)。染色质隔离子是顺式作用的 DNA 序列, 它参与更高层次上的基因表达调控。

1 染色质隔离子的发现及生物学功能

早在 1985 年, 人们就在果蝇的染色体 87A7 的两侧发现了 *scs* 和 *scs'*。Kellum 等作了关于染色质隔离子的最早研究报告。他们将卵黄蛋白-1 的增强子, *hsp 70* 启动子和 *lacZ* 编码区构建为嵌合基因, 然后将隔离子插入在增强子与启动子之间, 检测 LacZ 蛋白的表达。结果发现 *scs* 及 *scs'* 能阻断增强子转录激活活性。

染色质隔本身对基因的表达强度没有增强或者减弱的作用。它是染色体上相邻转录功能区的边界序列, 使基因的表达免受邻近转录功能区调控元件的作用。与增强子和沉默子相似的是, 染色质隔离子也通过与之相结合的蛋白质来发挥作用。现在已经发现了很多染色质隔离子, 它们在 DNA 一级结构没有任何相似性, 与之结合的蛋白质也多种多样。染色质隔离子有两个基本功能: 其一是增强子阻断活性, 其二是位置效应保护作用。

当染色质隔离子的位置介于增强子与启动子之间, 则增强子的转录激活活性被阻断, 而位于增强子和启动子的外侧时就没有此作用。更有研究显示, 染色质隔离子不在增强子与启动子间同样能阻断增强子的转录激活作用。有意思的是, Muravyova 和 Cai 的研究显示, 染色质隔离子的拷贝数及位置对其增强子阻断活性密切相关。当在增强子与启动子间插入 2 个染色质隔离子时, 不能阻断增强子转录激活作用, 而在启动子或者增强子的两侧都插入染色质隔离子时, 增强子的转录激活活性被更有效地阻断。

许多观察到的位置效应异质性 (position effect variegation) 可以解释为邻近调控元件的干扰。在转基因

时, 目的基因整合到染色体上的不同位置而受到明显的位置效应, 表达量的差别很大, 而在目的基因的侧翼连接上染色质隔离子, 则目的基因往往不受染色体位置效应的影响。

2 染色质隔离子的作用机理及应用

loop 模型是一个较成熟的模型。染色质隔离子结合蛋白与染色质上的 DNA 序列结合后, 可以募集其他的蛋白质结合上来形成一个复合物。这些不同染色质区域上的复合物或者相互结合, 或者与核基质形成 loop 结构。在同一 loop 区内的增强子与启动子可以相互作用, 而当增强子与启动子处于不同区域间时则不能作用。该模型强调染色质隔离子对染色质高级结构的影响, 它可以很好地解释染色质隔离子对增强子或者沉默子的转录调控作用的阻断。目前发现与染色质隔离子结合蛋白相互作用的蛋白质越来越多, 如 Chip, Nipped-B 等。这些蛋白质均参与染色质高级结构的建立与维持。这从侧面说明染色质隔离子的作用发挥涉及多种调节蛋白参与。另一个模型是启动子“欺骗”模型。该模型认为: 染色质隔离子与启动子和增强子一样, 是基因组上的重要调节序列, 其作用是调节启动子与增强子的相互作用, 染色质隔离子结合其相应的调节蛋白后形成类似转录复合物样的结构, 因而可以“欺骗”增强子与之相互作用, 而不与启动子结合。

一方面, 染色质隔离子使人们对基因表达调控有进一步的认识。在基因组测序基本完成的今天, 人们还必需理解各个基因的表达调控。染色质隔离子的研究可以深化基因表达调控的研究。随着研究的深入, 越来越多的染色质隔离子将会在基因组上发现。另一方面, 可以利用染色质隔离子的特性来构建载体。逆转录病毒载体是基因治疗中广泛使用的载体之一。由于逆转录病毒载体所介导的整合是随机的, 因而可将外源基因插入在基因组的任何位置。又由于真核生物染色质位置效应的异质性, 外源基因在宿主基因组上整合后的表达量也各不相同。利用染色质隔离子构建的载体, 可免受宿主染色质结构的影响, 提高外源基因的表达。