

磷脂酶C而促进4,5-二磷酸磷脂酰肌醇分解产生甘油二酯(DG)和三磷酸肌醇(IP₃);由它们作为第二信使分别使PKC激活和胞内Ca²⁺浓度升高;PKC与Ca²⁺协同作用激活c-myc等“获能基因”,使细胞获得进入S期的潜能;再通过诱导与细胞周期调节有关的蛋白质表达及一系列尚不清楚的机制使细胞进入S期。

参 考 文 献

- 1 Macara I G. *Am J Physiol*, 1985; 248:C3
- 2 赵桐茂主编. HLA 分型原理和应用. 上海: 科学技术出版社, 1984; 259
- 3 Koch J, Kølvrå S, Bolund L. *Nucl Acid Res*, 1986; 14: 7132

- 4 Krönke M, Leonard W J, Depper J M *et al.* *J Exp Med*, 1985; 161: 1593
- 5 Chromczynski P, Sacchi N. *Anal Biochem*, 1987; 162:156
- 6 Chan V T W, Fleming K A, McGee J O D. *Nucl Acid Res*, 1985; 13:8083
- 7 Gregersen N, Koch J, Kølvrå S *et al.* *Clin Chim Acta*, 1987; 169:267
- 8 Metcalfe J C, Hesketh T R, Smith G A *et al.* *J Cell Sci Suppl*, 1985; 3:199
- 9 Neckers L M, Bauer S, McGlennen R C *et al.* *Mol Cell Biol*, 1986; 6: 4244
- 10 Grausz J D, Fradelizi, D, Dautry F *et al.* *Eur J Immunol*, 1986; 16: 1217
- 11 Klaus G G B. *Immunol Today*, 1988; 9:157

单克隆抗体酶联免疫吸附测定数据的微机分析

邹岳奇

(河北省科学院生物研究所, 石家庄 050051)

邹翔

(河北工学院机械二系, 天津 300132)

关键词 单克隆抗体, 酶联免疫吸附测定法, 数据分析, 计算机软件

单克隆抗体酶联免疫吸附测定法(McAb-ELISA)是一种具有高特异性、准确性和敏感性的酶免疫测定技术。随着单克隆抗体技术的发展, 针对各种抗原, 尤其是酶和激素等蛋白抗原的微量McAb-ELISA相继建立并获得越来越广泛的应用。但是, 人工处理McAb-ELISA测定数据比较费时费力, 还可能掺杂主观因素。所以欧美发达国家在生物研究中已普遍引入计算机技术^[1-3]。近年来, 国内生物学工作者也陆续采用微机来分析实验数据^[4-6]。

本文报道用高级BASIC语言开发的微机程序, 该程序可快速准确地把McAb-ELISA测得的数据转换成抗原物质的实际浓度。它不仅适用于我们建立的检测促卵泡激素(FSH)的McAb-ELISA, 对其它生物物质的McAb-ELISA检测也具有一定的通用性。对大量样品的检测尤为适用。

1 McAb-ELISA 测定

测定参照文献[7,8]进行。图1显示McAb-ELISA检测FSH的主要步骤。

我们以中国科学院动物研究所激素组提供的牛FSH为标准品, 自制的两个抗牛FSH单克隆抗体分别作为包被抗体(McAb A)和辣根过氧化物酶标记

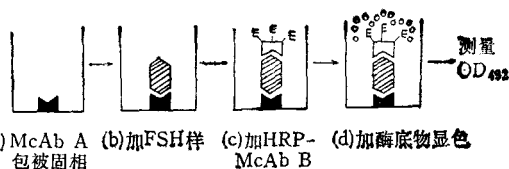


图1 McAb-ELISA 检测 FSH 流程图

表1 McAb-ELISA 对 FSH 的测定

FSH ng/ml	0	1	2	5	7.5	10	15	20
A_{492}	0.139	0.179	0.221	0.299	0.422	0.497	0.663	0.815
FSH ng/ml	30	40	50	60	70	80	90	100
A_{492}	1.063	1.280	1.435	1.550	1.647	1.718	1.763	1.800

抗体(HRP-McAb B), 以邻苯二胺为显色底物, 在492nm波长上读出光密度(A_{492})值。经预试验后, 在FSH 0—100ng/ml范围内设16种浓度。检测进行3

次,每次各种浓度均设 3 份,最后求得和 16 种 FSH 浓度对应的 A_{492} 均值(见表 1)。

2 微机编程及运算

通过 McAb-ELISA 测出 m 组数据,以 A_{492} 为 x 值,FSH 浓度为 y 值,设测试数据的拟合曲线方程为

$$F(x) = a_0 + a_1x + a_2x^2 + \dots + a_nx^n$$

要使此曲线最接近测试数据点,必须使方差 (S)

$$S = \sum_{i=1}^m [F(x_i) - y_i]^2$$

$$= \sum_{i=1}^m [(a_0 + a_1x_i + a_2x_i^2 + \dots + a_nx_i^n) - y_i]^2$$

为最小。根据微积分学,最佳值应满足 $\frac{\partial S}{\partial a_k} = 0 (k = 0, 1, \dots, n)$ 。例如,对于 a_0 , 令

$$\frac{\partial}{\partial a_0} \left(\sum_{i=1}^m [F(x_i) - y_i]^2 \right)$$

$$= 2 \cdot \sum_{i=1}^m \{ [(a_0 + a_1x_i + a_2x_i^2 + \dots + a_nx_i^n) - y_i] \} = 0$$

整理得

$$\sum_{i=1}^m (a_0 + a_1x_i + a_2x_i^2 + \dots + a_nx_i^n) = \sum_{i=1}^m y_i$$

或

$$m \cdot a_0 + a_1 \sum_{i=1}^m x_i + a_2 \sum_{i=1}^m x_i^2 + \dots$$

$$+ a_n \sum_{i=1}^m x_i^n = \sum_{i=1}^m y_i$$

而取 a_n 的偏导数有

$$a_0 \sum_{i=1}^m x_i^n + a_1 \sum_{i=1}^m x_i^{n+1} + \dots + a_n \sum_{i=1}^m x_i^{n+1}$$

$$= \sum_{i=1}^m x_i^n y_i$$

类似地,求出其它各个方程式,联立求解

$$\sum_{j=0}^n a_j \sum_{i=1}^m x_i^{j+k} = \sum_{i=1}^m y_i \cdot x_i^k \quad (k=0, 1, \dots, n)$$

可解得系数 $a_j (j = 0, 1, \dots, n)$ 。

将上述方程组,用高级 BASIC 语言编制程序。表 1 列出的 16 组数据作为计算输入量。其数据精度, A_{492} 要求精确到小数点后第三位; FSH 浓度要求精确到小数点后第二位。拟合曲线方程的系数将精确到小

数点后第三位。程序运行后,屏幕显示出的拟合曲线方程为一个九次十项式:

$$F(x) = -4.114 + 30.470x - 8.466x^2$$

$$+ 3.525x^3 + 16.762x^4 - 18.107x^5$$

$$+ 9.222x^6 - 1.972x^7 - 0.750x^8$$

$$+ 0.548x^9.$$

通过行式打印机将测试数据规定范围(0.140—1.800)内的各个 A_{492} 及其对应的 FSH 浓度值以表格形式打印出来,供 McAb-ELISA 测试人员使用。

3 应用一例

对 6 个牛血清样品进行 FSH 含量的 McAb-ELISA 测定。检测进行 3 次,每次各血清均设 3 份。测得 A_{492} 后,从计算机打印的表格中查出相应的 FSH 浓度值(见表 2)。经统计学计算,批内变异系数(CV)为 2.5%—12.7%,平均 6.8%,批间 CV 为 4.3%—15.1%,平均 10.8%,说明检测具有较高的准确性和可重复性。

表 2 牛血清 FSH 含量的 McAb-ELISA 测定¹⁾

血清号	A_{492} 均值	FSH 浓度 ng/ml
1	0.551	46.04
2	0.795	77.28
3	0.805	78.68
4	1.220	148.36
5	0.840	83.68
6	0.438	33.04

¹⁾ 全部血清均以 1:4 稀释

参 考 文 献

- 1 Munson P J. In: Langone J J ed, *Methods in enzymology*, New York: Academic Press, 1983; 92:543
- 2 Ritchie D G, Nickerson J M, Fuller G M. In: Langone J J ed, *Methods in enzymology*, New York: Academic Press, 1983; 92:577
- 3 Matthews H R. In: Walker J M ed, *Methods in molecular biology*, Clifton: Humana Press, 1984; 1:127
- 4 陈定南,刘布鸣,樊亦军.生物化学与生物物理进展,1988; 15(4):293
- 5 张维波,刁云程.生物化学与生物物理进展,1988;15(4):299
- 6 金丕焕.上海医科大学学报,1990;17(3):237
- 7 Voller A. In: Maggio E T ed, *Enzyme-immunoassay*, Boca Raton: CRC Press, 1980; 181
- 8 Kuo C Y, Chen K W, Fu J et al. *Biochemistry and applied biochemistry*, 1989; 11:89