

新技术讲座

生物分子相互作用分析技术应用实例（四）

——实时监测分子生物学过程

沈 平

(发玛西亚生物技术(中国)有限公司北京代表处, 北京 100086)

摘要 利用 BIA 技术来观察 DNA 之间的任何相互反应, 包括: DNA 的延长、连接和退火等, 无需任何标记并可测定相互作用的动态参数.

关键词 分子生物学, DNA, DNA 动力学

前几篇 BIA 技术的应用主要集中在蛋白质-蛋白质, 蛋白质-DNA 之间的相互作用. 然而 BIA 技术也适用于核酸间的相互作用. 实时追踪核酸反应的全过程, 这是任何其他技术无法比拟的. 下面的应用实例显示可用 BIA 技术来追踪分子生物学的一些主要过程, 包括: 基因装配、DNA 的合成延伸、内切酶对双链 DNA (dsDNA) 的特异切割^[1].

1 基因装配

图 1 显示一个 69bp 的双链 DNA 可在传感片上装配.

2 DNA 合成与延伸

当 69 bp DNA 装配并如图 1 形成单链后进一步进行引物主导的合成 (图 2).

3 酶 切

图 2 合成的 69 bp DNA 含有 Xho I 内切酶位点. 图 3 显示当 Xho I 酶加入此 DNA 后, 此 DNA 可被剪切. 传感图中信号在样品加入起始时的增加表明内切酶与 DNA 的结合. 当内切酶加完后 (约 45 min), RU 信号的降低表明 DNA 已被剪切.

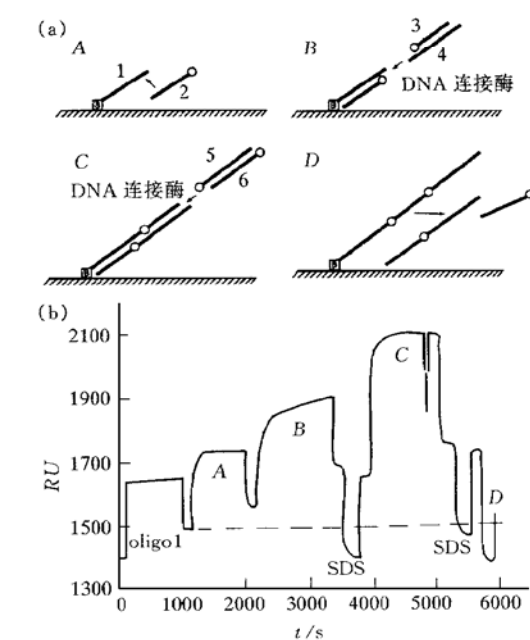


图 1 利用退火和联接进行 DNA 装配

(a) 每一步骤示意图, 空心圈代表 5' 磷酸化基团.

(b) 基因装配实验传感图. A: 先将 Oligo1 以生物素-抗生物素方法偶联于传感片上, 然后加入 Oligo2, 它与 Oligo1 退火, 传感图上 RU 的增加表明形成 DNA 双链. B: Oligo3 和 4 在试管中退火形成双链后与连接酶一起加入传感片, 随后用 SDS 液洗脱连接酶, 传感图显示两 DNA 片段已连接. C: 重复步骤 B. D: 加入碱液以变性 DNA 并将装配的反义 DNA (未偶联于传感片上) 洗脱.

收稿日期: 1997-07-17, 修回日期: 1997-08-18

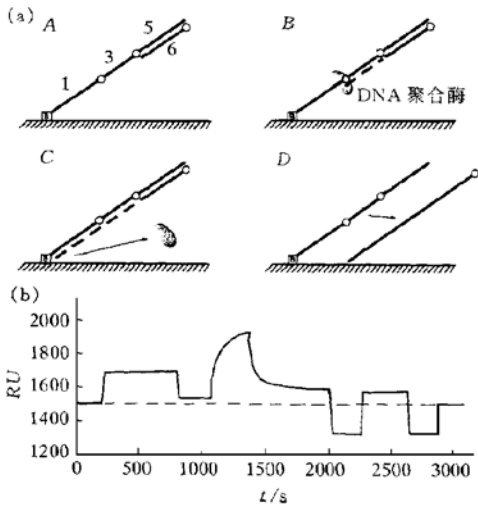


图2 DNA引物的延伸

(a) 延伸合成过程示意图。空心圈代表5'磷酸化基团。(b) 合成实验的传感图。A: Oligo6与偶联的DNA退火作为引物。B: 加入T7 DNA聚合酶和4种dNTP混合液。C: 加入SDS液以除去结合在DNA上的聚合酶, RU信号的增加表明引物DNA得到合成延伸。D: 用碱液将DNA变性并将引物合成的单链DNA洗脱。

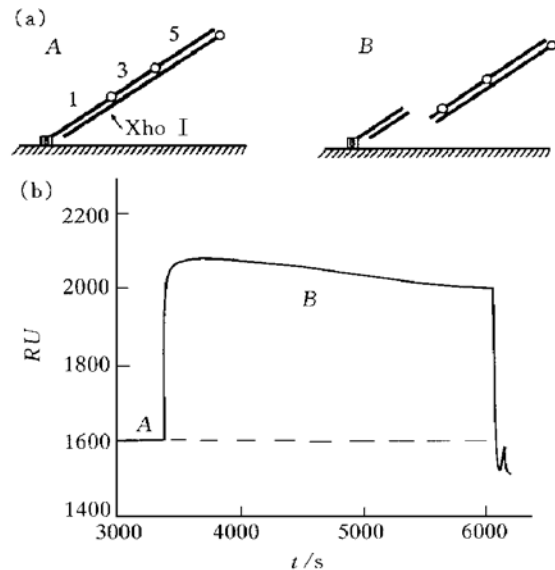


图3 dsDNA的酶剪切

(a) 酶切过程示意图。空心圈代表5'磷酸化基团。(b) 酶切实验的传感图。

4 杂 交

从DNA杂交的传感图中可得到杂交过程

的动态信息。从一17碱基DNA杂交的结合常数和解析常数的变化可区分点突变的位置(图4)。

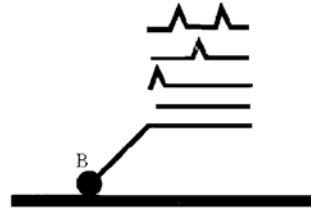


图4 杂交示意图

5 结 语

关于生物分子相互作用分析技术(BIA技术)的系列介绍将于此告一段落。限于篇幅原因不可能将所有的应用实验呈现给大家。应用此新技术而发表的文献已多达600篇以上,几乎包括了现代生物学的各领域。从分子生物学、免疫学、病毒学、细胞学、神经生物学到蛋白质工程、药物筛选。所有这些文献都可从电脑网络中得到,地址为:“<http://www.biocore.com>”。

衷心希望BIA技术的介绍能为读者带来些新概念,新信息。为我国的科研工作带来帮助。

参 考 文 献

- 1 Nilsson P, Persson B, Uhlen M *et al.* Real-time monitoring of DNA manipulations using biosensor technology. *Analytic Biochemistry*, 1995, **224**: 400~408

Research Application Using Biomolecular Interaction Analysis Technology: Observing Molecular Biology Process in Real Time. SHEN Ping (*Pharmacia Biotech (China) Ltd. Beijing 100086, China*).

Abstract BIA technology is used here to monitor the key processes in molecular biology including gene assembly; DNA elongation; specific cleavage and hybridization. No labelling of the DNA or nucleotides is required, and the kinetic parameters may be estimated for the interaction processes.

Key words molecular biology, DNA process, DNA kinetic