
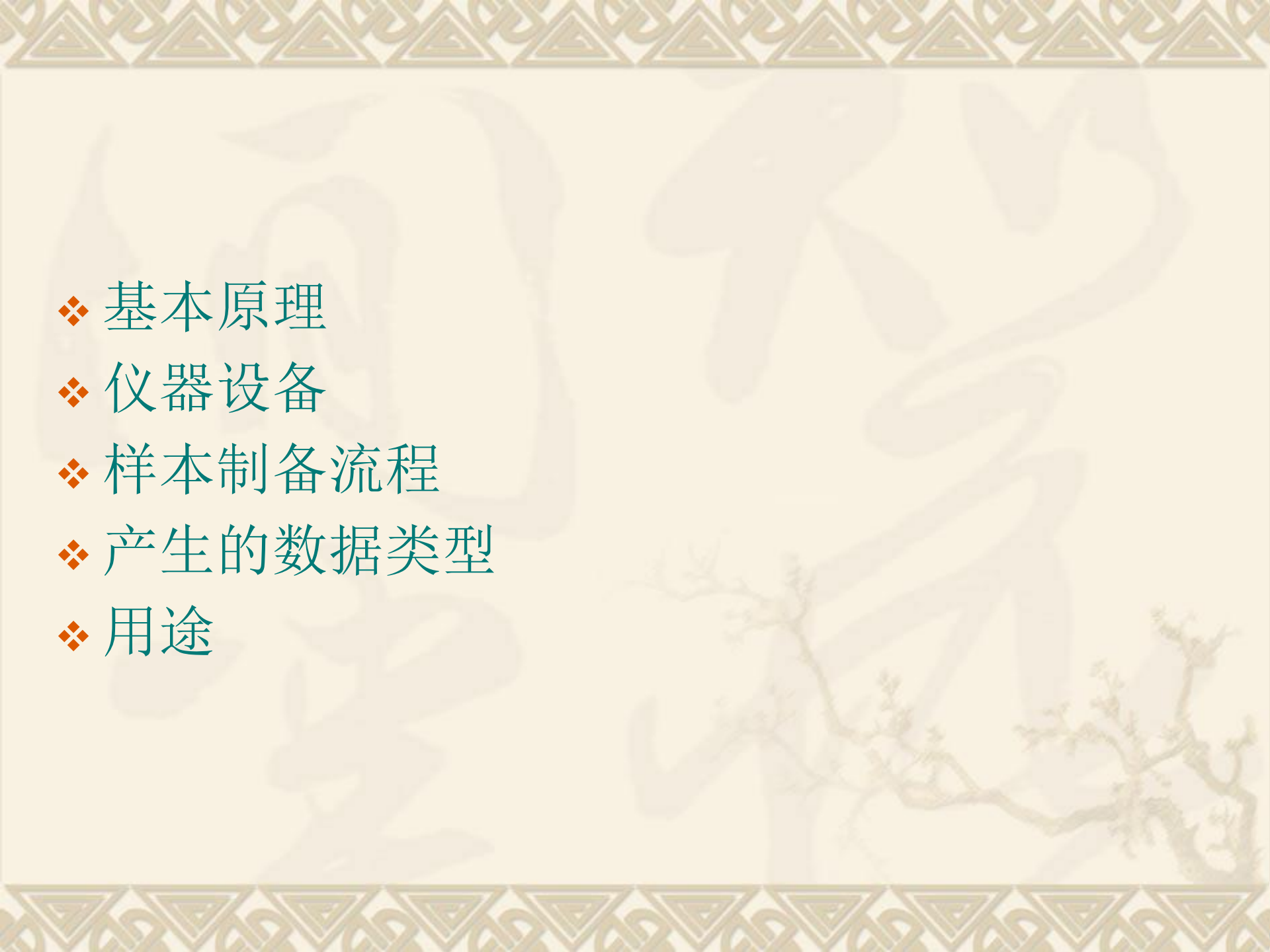




# 蛋白质芯片

肖之夏

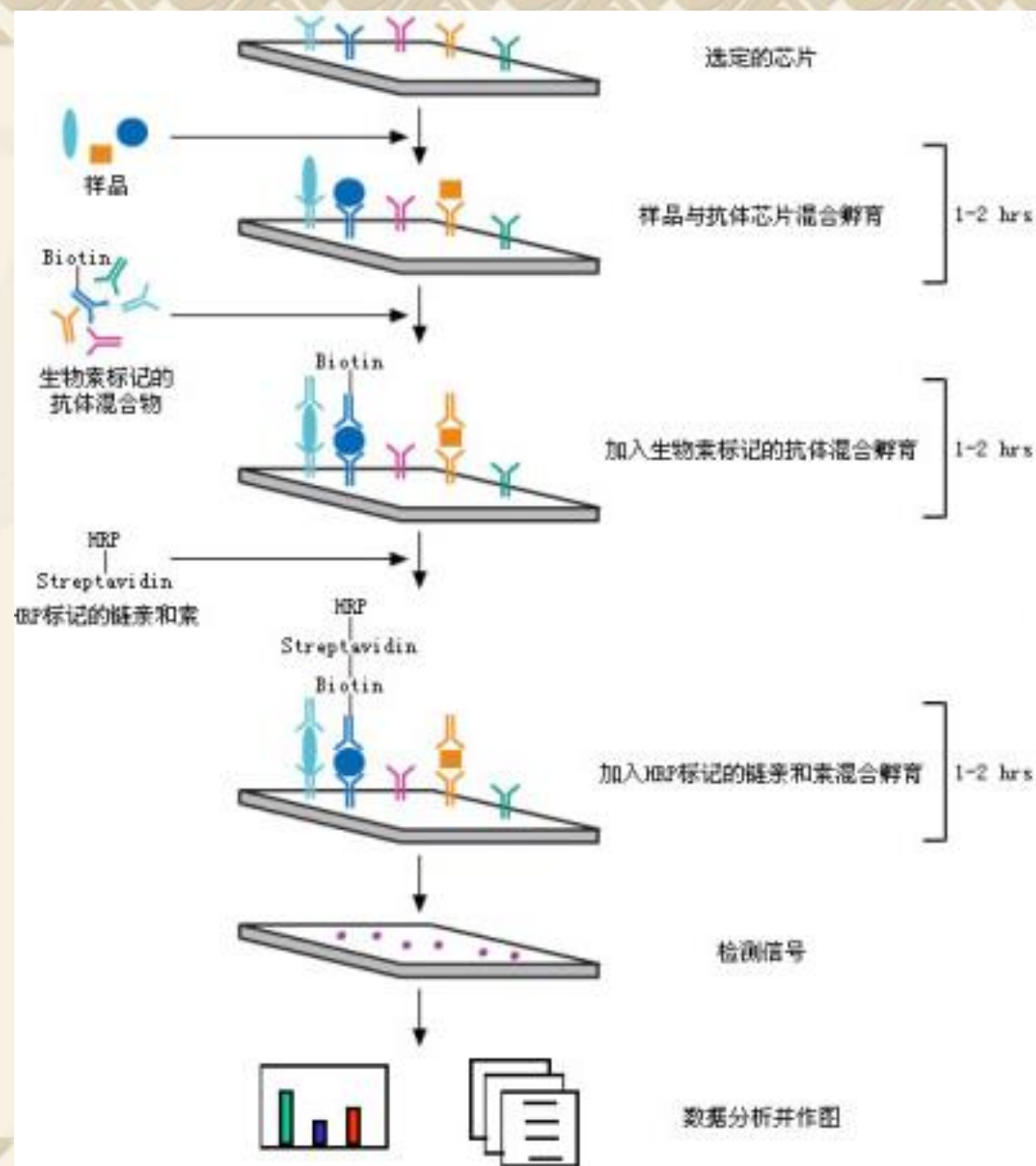


- 
- 
- ❖ 基本原理
  - ❖ 仪器设备
  - ❖ 样本制备流程
  - ❖ 产生的数据类型
  - ❖ 用途

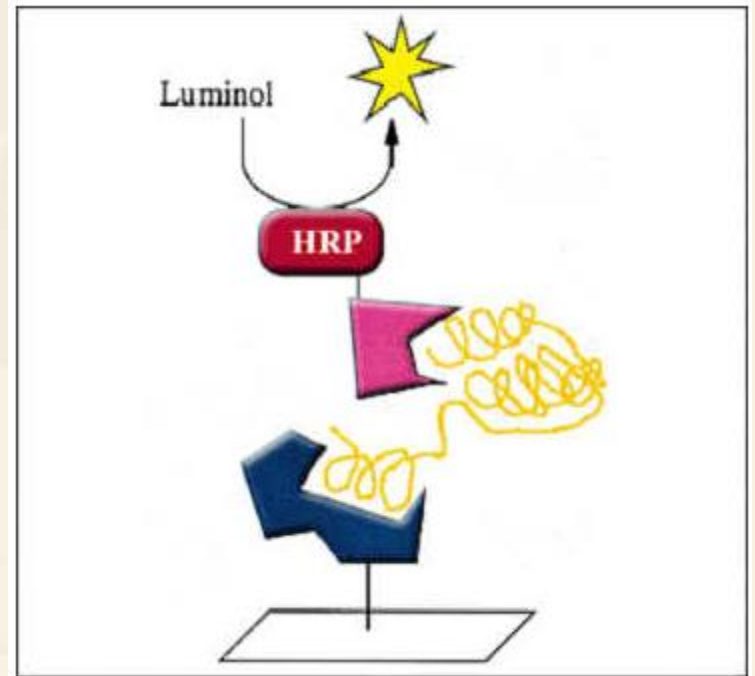
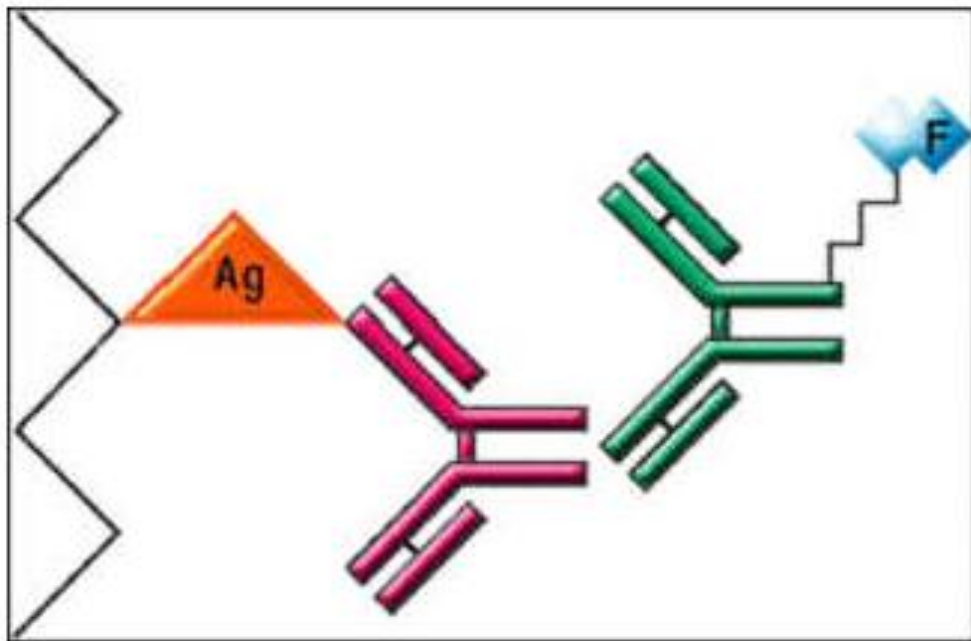
- ❖ 目前蛋白质芯片主要分两种：
- ❖ 一种类似于**DNA**芯片，即在固相支持物表面高密度排列的探针蛋白点阵，可特异地捕获样品中的靶蛋白，然后通过检测器对靶蛋白进行定性或定量分析

# 基本原理

- ❖ 类似于基因芯片，是将蛋白质点到固相物质上，然后与要检测的组织或细胞等进行“杂交”，再通过自动化仪器分析得出结果。这里所指的“杂交”是指蛋白与蛋白之间如(抗体与抗原)在空间构象上能特异性的相互识别。







多种结合方式和反应体系

- ❖ 另一种就是微型化的凝胶电泳板。在电场作用下，样品中的蛋白质通过芯片上的孔道分离开来，经喷雾直接进入质谱仪中进行检测，以确定样品中蛋白质的分子量及种类。
- ❖ 如SELDI(Surface-enhanced Laser Desorption / Ionization)芯片

- ❖ SELDI芯片技术是利用系列设计的具有不同化学表面修饰的芯片，使之能选择性地富集一组蛋白质，在添加能量吸收分子以后，送入阅读机，以MALDI(Matrix--assistant Laser Desorption / Ionization)飞行时间质谱检测和测定被富集到8至24个样品点上的所有蛋白质。蛋白质芯片系统通过测定被分析物分子的“飞行时间”，检测并且迅速计算出化合物的质量。

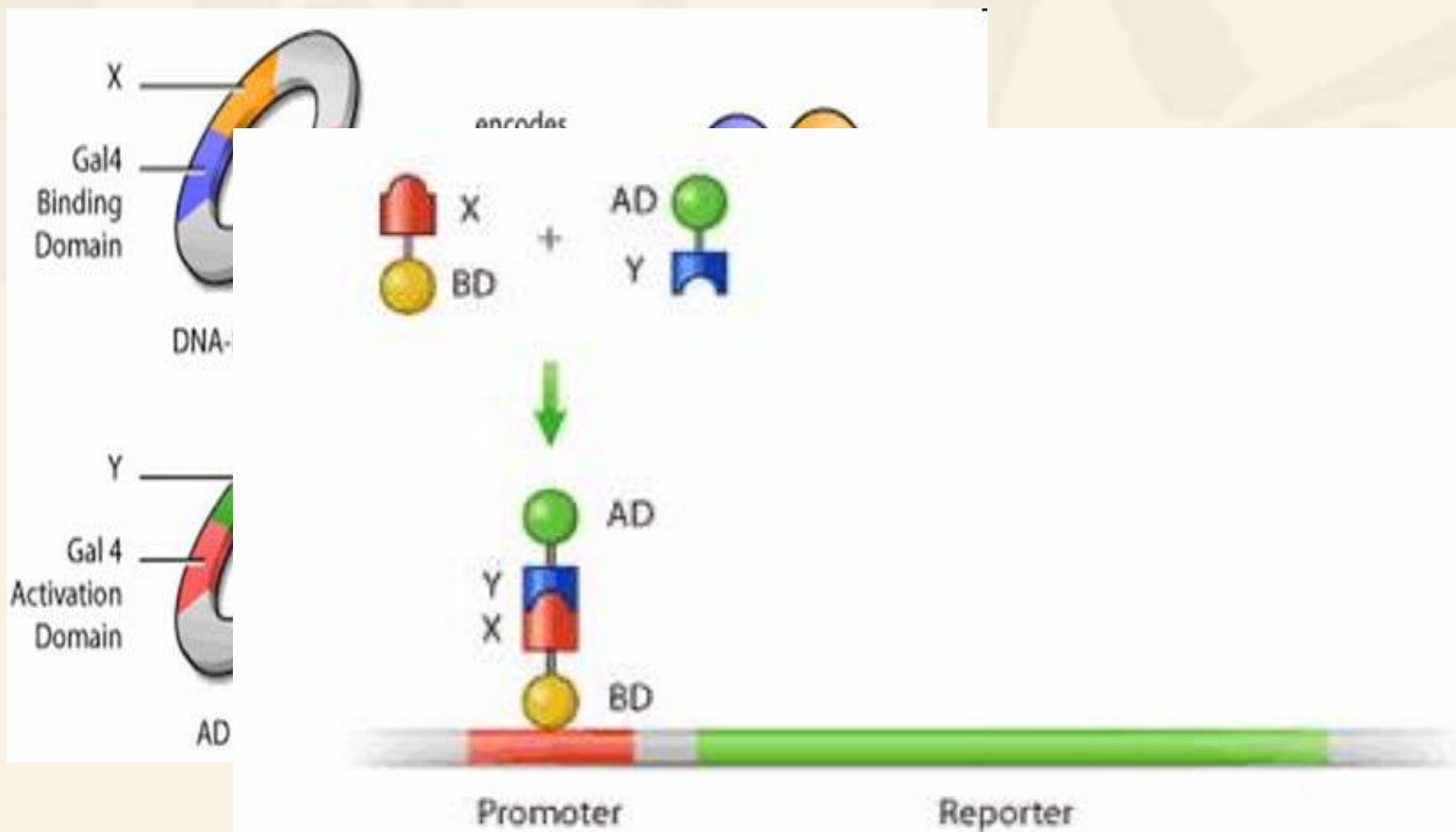


❖ 它可直接检测不经处理的尿液、血液、脑脊液、关节腔滑液、支气管洗出液、细胞裂解液和各种分泌物等，从而获得样品中目标蛋白的分子量、pI、糖基化位点、磷酸化位点等参数。

# 优点

- ❖ 高通量
- ❖ 高灵敏度（ng级别）（老美）
- ❖ 高度的准确性

- ❖ 我们研究蛋白质与蛋白质之间的相互作用还常规方法是酵母双杂交系统



# 双杂交系统的弱势

- ❖ 假阳性
- ❖ 研究范围



- ❖ 另外蛋白质芯片能够用于现在其它方法不能检测到的，如蛋白质-药物、蛋白质-脂质之间的相互作用
- ❖ 蛋白质组芯片还可用于检测蛋白与小分子物质的作用，例如蛋白质与DNA，RNA分子等

# whatman公司生产的FAST Slides蛋白质芯片片基



- ❖ 表面包被了一层硝酸纤维素基质，它们可与蛋白质产生可定量的非共价结合，并且可采用传统杂交方法进行检测
- ❖ 经过修饰的表面基质对蛋白质结合力非常好，这一性质为抗体提供了非常好的灵敏度（抗原浓度可低至1pg/mL）

## 用于蛋白质生物芯片的明胶基基质

申请专利号	200480020968
专利申请日	2004-07-14
公开(公告)号	1826528
公开(公告)日	2006-08-30
类别	G01N 33/543、B01J 19/00、C07K 17/00
申请(专利权)人	伊斯曼柯达公司
地址	美国纽约州
发明(设计)人	T·A·乔、T·L·彭纳、H·W·仇、G·W·罗思
摘要	<p>一种蛋白质微阵列元件，包括：<b>a</b> ) 支持物；<b>b</b> ) 含有能够结合生物探针的官能团的明胶层；以及插入到支持物和明胶层之间的<b>c</b> ) 能够保持与支持物和与明胶层接触的粘合夹层。</p>

# *SpotArray 72 Instrument Module*



*SpotArray™ 72*





# 贝克曼 A2 蛋白质芯片系统



# 基本流程

- ❖ 构建高品质的蛋白质库
- ❖ 蛋白质库的质量评估
- ❖ 激酶或抗体的表达
- ❖ 芯片的点制
- ❖ 芯片的质量检测
- ❖ 杂交检测
- ❖ 数据处理

## 检测流程



1

加样品



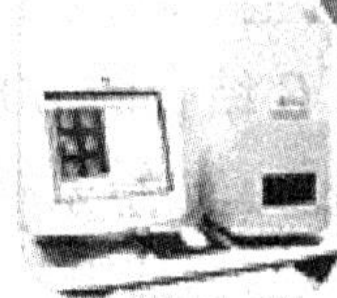
3

加检测液



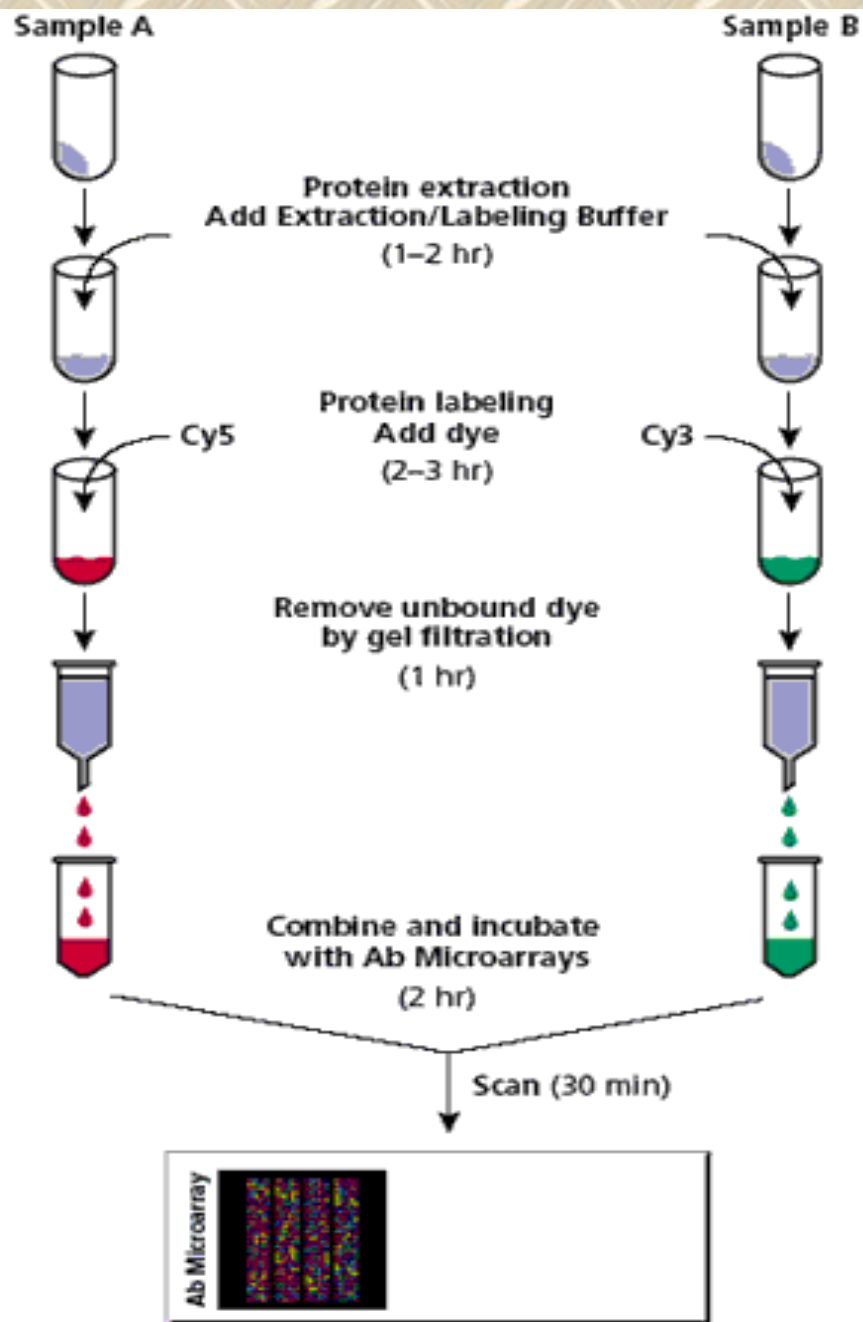
2

洗涤



4

信号分析  
并打印检  
测报告





- ❖ 得到数据后，每个点得到4个数据Rf、Rb、Gf、Gb，分别表示红色荧光和绿色荧光的前景荧光强度和背景荧光强度。
- ❖  $R=Rf-Rb$      $G=Gf-Gb$
- ❖ 对数差异比  $M=\log_2 (R/G)$
- ❖ 对数强度  $A=1/2\log_2 RG$

## ❖ 数据预处理

背景校正、弱信号处理、数据的对数转换、重复数据的合并、缺失数据的处理

## ❖ 数据的归一化

Cy5的荧光强度都系统地高于Cy3的荧光强度

# 应用领域

- ❖ 蛋白组学
- ❖ 临床医学
- ❖ 药理学

# 蛋白功能

- ❖ **MacBeath** 和 **Schreiber** 用蛋白质芯片来研究蛋白质-蛋白质，蛋白质-小分子以及酶-底物之间的相互作用，并且讨论了这种方法的可行性。**Zhu** 等用酵母蛋白质芯片对酵母蛋白质的活性进行全分析，发现了新的钙调蛋白结合蛋白和磷脂结合蛋白，同时发现了许多钙调蛋白结合蛋白共同存在一个潜在的键合域。他们还应用该蛋白质芯片观察了蛋白与药物之间的相互作用，并测定了后转录修饰。

# 临床诊断

- ❖ Rosty等同样利用蛋白质芯片和SELDI 技术在胰腺癌患者胰液中发现了肝癌-小肠-胰腺/胰腺炎相关蛋白I（HIP/PAP-I），表明通过对胰液中HIP/PAP-I 的检测将有助于胰腺癌的诊断。



# 药物发掘

- ❖ **Reilly** 等应用高密度芯片研究了给予中毒量醋氨酚的大鼠肝脏中基因表达的调节，发现编码细胞周期调节蛋白，转录因子**LRG-21**，细胞信号转导因子（**SOCS**）-2-蛋白，血浆酶原活化抑制分子-1（**PAI-1**）等多种蛋白的基因表达增多了两倍多，提示它们在增加或阻止进一步的肝脏毒性作用中具有潜在的重要性。



Thanks!!!