

表面等离子体共振技术在分子生物学中的应用

杨帆 杨秀荣*

(中国科学院长春应用化学研究所电分析化学开放研究实验室 国家电化学和光谱研究分析中心, 长春 130022)

摘 要 表面等离子体共振 (SPR) 技术可以实时、原位地测定生物分子间的相互作用而无需任何标记, 可以连续监测吸附和解离过程, 并可以进行多组分复合物的相互作用的研究。SPR 技术在 DNA 的复制和转录、DNA 的修复、核酸与药物的作用以及肽库和抗体库的筛选等分子生物学领域的应用研究取得了令人瞩目的进展, 显示了常规技术无法比拟的优越性。

关键词 表面等离子体共振, 生物分子相互作用, 分子生物学

中图分类号 Q68 文献标识码 C 文章编号 1000-3061(2001)04-0375-05

生物分子之间的相互作用是生命现象发生的基础。一切生命过程都是生物分子之间或生物分子和其他物质分子之间进行接触, 相互作用, 发生物理和化学变化所引起的。因此, 研究生物分子之间的相互作用可以阐明生物反应的机理, 揭示生命现象的本质。近年来, 研究分子相互作用的技术不断出现, 其中表面等离子体共振 (Surface plasmon resonance, SPR) 技术引人注目, 基于 SPR 的生物传感技术^[1-4]在生物学以及相关领域的研究应用取得了很大的进展^[1]。

如今, SPR 技术已被广泛地用来分析生物分子如蛋白质-蛋白质、药物-蛋白质、蛋白质-核酸、核酸-核酸之间的相互作用, 所涉及的研究领域包括免疫识别^[5-8]、信号传导^[9-11]、药物筛选^[12, 13]、抗体定性^[14, 15]以及蛋白质构象变化^[16]等。SPR 技术用于分子生物学方面的研究如复制、转录、基因药物的研究、核酸杂交等, 其优越性更是常规分析技术所无法比拟的。本文将对 SPR 技术在分子生物学中的应用作一简要的评述。

1 基本原理

SPR 是一种物理光学现象。当一束平面单色偏振光在一定的角度范围内照射到镀在玻璃表面的金属银或金的薄膜上发生全反射时, 当入射光的波向量与金属膜内表面电子 (称为等离子体) 的振荡频率相匹配时, 光线既被耦合进入金属膜, 引起电子发生共振, 即表面等离子体共振。此时光线提供的能量导致金属膜表面电子发生共振, 电子吸收该能量使被反射光的强度达到最小, 这种最小化发生时的入射光角度称为 SPR 角。SPR 角是随金属表面的折射率的变化而变化, 这一变化又和金属表面结合的生物分子的质量成正比^[4]。

在基于 SPR 原理的生物传感器中, 使用最多、应用范围最广的是 Pharmacia 公司生产的 BIAcore 仪器, 并由此发展出生物分子相互作用分析技术 (Biomolecular interaction analysis, BIA)。在 BIA 的测定中, 待测的一对分子中的一个被固定在传感片的表面, 另一种分子的溶液流过表面, 如果二者有相互作用而结合, 将使传感片表面结合的物质质量发生变化, 导致传感片表面折射率的变化, 从而引起 SPR 角度的变化, 可以通过检测这一变化监测分子间相互作用。从 BIA 分析中可以得到如下信息: 两种分子间是否发生相互作用, 其特异性如何, 结合分子的浓度多大, 相互作用的亲和性, 相互作用的速率及动力学参数, 是否存在协同作用, 不同样品的相互作用模式如何。BIA 技术测定生物分子相互作用的优越性表现在: 反应物无须标记甚至纯化, 反应过程可以实时监控, 多组分反应的每一步可以分别记录, 因此可以进行复合物的分析, 实时记录反应的结合与解离, 提供了反应的动态过程, 这是其他技术无法比拟的。

2 SPR 技术在分子生物学中的应用

Peter Nilsson^[17]对 SPR 技术在分子生物学中应用的潜能作了实验性的描述。他们将末端生物素标记的寡核苷酸片段通过抗生物素蛋白固定在传感片表面, 进行了互补链的特异性结合和解离、杂交动力学以及 DNA 的酶学修饰过程如连接、内切、聚合过程以及 DNA 微测序的研究。

2.1 DNA 复制的研究

DNA 的复制和修复是维持基因组的完整性, 从而使生命延续的保证。对复制和修复过程的研究可以使我们了解生命现象发生和发展的本质和规律, 对于在基因水平上进行疾病的预防和治疗有重要意义。SPR 技术正是研究上述过

程的有力工具。

DNA 聚合酶Ⅲ负责大肠杆菌 DNA 的复制,全酶包括 10 种亚基($\alpha\theta\beta\chi\delta\delta'\gamma\varphi\tau$)。O'Donnell M 的研究小组利用 SPR 技术研究了 DNA 聚合酶Ⅲ全酶各亚基之间的弱相互作用^[18-20],用凝胶过滤层析分析其各亚基间的强相互作用。结果表明: γ 和 δ' 间有相互作用,这是凝胶过滤检测不到的^[18]。 γ 复合物对 β 亚基在 DNA 上的组装是通过 δ 亚基介导的。SPR 实验证明 δ 与 β 间的相互作用不受 ATP 的影响,而 γ 复合物必须在 ATP 存在的条件下才能与 β 结合。这表明 δ 是包埋在 γ 复合物的内部,在 ATP 作用下使其暴露才能与 β 结合^[19]。进一步的 SPR 实验证明: τ 和 γ 与 δ' 和 $\chi\varphi$ 之间的作用具有相似的动力学常数;核心酶 $\alpha\theta$ 对 τ 亚基与 δ' 和 $\chi\varphi$ 的结合有影响,使解离常数变大,但对 γ 亚基的结合无影响^[20]。另一个研究小组在研究 DNA 聚合酶Ⅲ时也使用了 SPR 技术^[21,22]。

Panayotou^[23]等人用缺失催化活力的单纯疱疹病毒 I 型尿嘧啶-DNA 糖基化酶(UDG)的突变体来研究其对底物的识别过程。UDG 是一类高度保守的 DNA 修复酶,催化尿嘧啶从 DNA 链上的删除。他们利用 BIAcore 研究表明:单链尿嘧啶-DNA 比双链尿嘧啶-DNA 与 UDG 结合牢固;G-U 错配比 A-U 碱基配对与突变体酶结合更牢固,证明了碱基对的稳定性决定酶与 DNA 作用的效率,是尿嘧啶而不是 DNA 分子本身被 UDG 所识别。

Babic^[24]等人利用 BIAcore 研究大肠杆菌的 DNA 修复机理。在大肠杆菌中,大约 10 种不同的蛋白质参与了修复过程。他们的研究表明,MutS 蛋白在结合错配区以启动修复时,与单链 DNA 结合松散,与同源双链 DNA 结合解离迅速;MutS 与 DNA 的结合是碱基特异性的,对 G-G 错配的亲和力最大。

2.2 转录调控的研究

转录水平的调控是基因表达调控的主要方式。在真核生物中主要表现为通过转录因子进行调节,在原核生物中典型的表现为操纵子调控。SPR 技术正越来越多地用来研究这些过程^[25-35],其可以实时跟踪复合物多组分间相互作用的特点发挥了重要作用。

Galio^[25]等人研究了转录因子 huGATA-3 与 HIV-1 长末端的 3 个 GATA 调节元件(site1,2,3)之间的相互作用,揭示了用常规方法所不能辨别的相对亲和性的区别。将含有调控位点的 DNA 偶联在传感片表面,通过研究这些位点与含有天然转录调节因子的核提取物的相互作用得到了天然 huGATA-3 的亲和性的半定量结果。

人转录因子 GA 结合蛋白(hGABP)由两个亚基组成, α 亚基和 β 亚基(或 γ 亚基)。Suzuki^[26]等利用 BIAcore 分析亚基间的相互作用,表明 α 亚基和 β 亚基以及 γ 亚基之间的结合力大小相似,hGABP γ 与 hGABP α 的结合稳定了 hGABP α 与其 DNA 结合位点间的相互作用,使其解离变慢。

核受体参与调节细胞分化,可以在外界信号的作用下调节基因表达。雌激素受体(ER)是一类配体诱导型的转录调

节因子,其功能受相应配体的结合所调控。Cheski^[27,28]的研究小组利用 SPR 技术研究发现不同的类固醇激素显著影响着 hER 与特定 DNA 片段的结合,雌二醇的结合加快了受体-DNA 复合物的形成频率,比非配体化的 ER 提高了 50 倍,Cheski 认为是复合物形成的频率而不是稳定性影响了表达水平,这个结果是常规分析方法所不能得到的。Suen^[29]等研究类固醇受体辅激活物 SRC-3 的促转录作用时也使用了 SPR 技术。SRC-3 可以提高雌激素受体 ER α 介导的孕酮受体刺激的基因转录,并且是受体依赖型,但不刺激 ER β 介导的转录。SPR 实验证明 ER α 与 SRC-3 的相互作用亲和力远高于 ER β 与 SRC-3 的亲和力。

RNA 聚合酶 II 转录体系可以由聚合酶和 5 个主要起始转录因子重新构建。Bushnell^[30]等利用 BIAcore 对 RNA 聚合酶 II 与主要转录因子 II B、E、F 和 H 之间的相互作用进行了定量研究,以了解起始反应机理。结果表明在 10 种可能的相互作用中,转录因子 II B、E、F 与 RNA 聚合酶 II 的结合以及转录因子 II E 与 H 的结合是起始复合装配的最重要步骤。

原核生物基因转录调控的最典型的例子是大肠杆菌乳糖操纵子模型。Kare Bondeson^[31]等人利用 BIAcore 研究了乳糖操纵子核酸序列与阻遏物结合的动力学性质,并与电泳迁移率变动分析(EMSA)所得的结果比较。SPR 技术可以实时监控和测定操纵子与阻遏物的结合解离以及在诱导物存在下的结合情况,能够精确测定配体与 DNA 的结合速率和序列特异性。

Stockly^[32-34]等人利用 BIAcore 研究大肠杆菌甲硫氨酸操纵子与阻遏蛋白 Met-J 的相互作用。他们的研究表明,阻遏物的结合确实抑制了转录的起始,但是并不妨碍 RNA 聚合酶的结合,而是稳定了酶与 DNA 的结合。研究者认为,阻遏物的存在是使 RNA 聚合酶以非活性的形式结合到 DNA 上临近启动子的位置,当阻遏物解离时转录的起始速度加快^[32]。

2.3 核酸与药物的作用

与 DNA 结合干扰复制与转录的药物在治疗某些疾病上可能起作用。为了解这些药物与核酸的相互作用,有必要建立一个灵敏、快速的分析方法来分析这些过程。Buckle^[36]等人利用 BIAcore 测定病毒反转录酶与 DNA-DNA、DNA-RNA 杂交分子的结合与解离动力学。他们将模板链固定在传感片上,加入引物和反转录酶,测定反转录作用下的引物延伸过程中,互补核苷酸与模板的结合以及加入聚合反应终止剂 AZITP 后结合的终止来评价药物的效率,结果表明:加入 AZITP 导致了反转录的终止,并加快了酶与模板的解离。

尽管氨基糖苷类药物在治疗 HIV 上具有明显的疗效,但是由于对其作用的 RNA 结构的特异性缺乏了解,阻碍了相关新药的进一步开发。Hendix^[37]等利用 BIAcore 开发了一种全新的分析方法,测定了新霉素 B 以及相关的氨基糖苷类抗生素与 HIVmRNA 反式作用元件的结合特异性,这些小分子(MW < 1000)的抗生素药物可以直接测定无需标记,这样可以测定出真实的作用情况,因为放射性标记会导致被标记

物结构和功能性的变化,影响结合反应的测定。

2.4 SPR 用于分析和诊断

短链核苷酸探针经常用来做分析和治疗的试剂。利用 SPR 技术很容易检测完全互补匹配与单碱基错配的 DNA 探针之间的结合动力学差异,因此可以分辨末端与内部错误。Persson^[38]的工作表明将临床上的 DNA 样品扩增后,利用 BIAcore 仪器和 8 核苷酸探针可以非常快速地检测出其中的点突变。

在反义核酸与基因药物开发方面,肽核酸(PNA)正引起越来越广泛的关注。Jensen^[39]等人把 PNA 固定在 BIAcore 的传感片表面,测定与 DNA 和 RNA 的作用,表明在核酸链的不同位置的错配都将导致结合速率降低,解离速率升高。杂交动力学结果显示,PNA-DNA 复合物比相应的 DNA-DNA 分子稳定性更高。这一类的动力学研究对于反义核酸和诊断探针的评价与改进非常有益。

在分子诊断方面经常要检测 DNA-DNA 杂交结果。Bianchi^[40-41]等利用 BIAcore,只用了一步过程,证明了 PCR 扩增的 HIV-1 基因序列的特异性。此方法重现性非常高,无需放射性标记、凝胶电泳等,在 30min 内即可完成测定(包括 15min 的 PCR)。这种方法也可以用于其它需要进行 PCR 检测的病毒感染等疾病的分子诊断。

2.5 基于噬菌体的肽库与抗体库的筛选

SPR 技术在肽库与抗体库的筛选方面具有非常大的优越性^[42-48]。不仅可以给出结合与否的信息,还可以给出动力学数据,进行结合力大小的比较,结合物还可以回收进行下一步研究。可以利用 SPR 技术直接进行筛选,然后测定靶蛋白与筛选得到的肽或抗体结合的动力学参数。Schier^[42,43]等在利用噬菌体表达的抗体库筛选抗肿瘤抗体使用了 SPR 技术,测定了利用 ELISA 筛选得到的阳性克隆与特定抗原的亲合力,与传统方法相比节省了时间,减轻了工作量。

Houshmand^[44]等人利用 BIAcore 等技术从 T7 噬菌体七肽库中筛选单克隆抗体的抗原结合位点。他们使用的是表达在主要衣壳蛋白上的肽库,测定抗鼠多瘤病毒 T-抗原的单克隆抗体 F4、F5、LT1 的抗原结合部位在多肽链上的位置。他们比较了 CM5、F1、C1 3 种传感片的效果,表明结合都是特异性的。相比之下,F1 和 C1 片更易于噬菌体的接近。他们测定了固定抗体与噬菌体和 T-抗原的结合,并利用相应序列的肽的竞争结合验证筛选结果。通过解离情况比较了 3 种抗体与相应噬菌体的结合稳定性。

在噬菌体肽库和抗体库中常用的噬菌体是 M13,它是丝状噬菌体,表面带有大量的负电荷。Lasonder^[45]等利用 M13 噬菌体 15 肽库筛选抗单纯疱疹病毒糖蛋白的单抗 A16 的结合肽也使用了 SPR 技术,证明 M13 与固定抗体的结合并不受传感片表面的影响,结合是特异性的。通过解离过程可以比较相对亲合力的大小。

3 结 语

SPR 技术在分子生物学研究领域中的应用范围非常广,

除了上述几个方面,在研究基因工程载体与质粒 DNA 之间的相互作用以评价载体效率^[49]、DNA 序列特异性抗体的性质鉴定^[50]等方面,SPR 技术都发挥了重要作用。SPR 技术的应用给分子生物学的研究提供了一种全新的手段,它所具有的实时、免标记、动态的特点正是分子生物学研究所希望的,而又是常规分析手段所不具备的。SPR 技术与其他分析技术的联合应用,必将加速分子生物学的研究进展,使我们对生命现象的了解更加深入。

REFERENCES(参考文献)

[1] WANG L(汪洛),TAO Z L(陶祖莱). Surface Plasmon Resonance and Biomolecular Interaction Analysis. *Progress in Biochemistry and Biophysics*(生物化学与生物物理进展),1996, **6**: 483 ~ 487

[2] SHEN R(沈平). New application for biosensor: biomolecular interaction analysis (BIA) technology. *Progress in Biochemistry and Biophysics*(生物化学与生物物理进展),1997, **1**: 91 ~ 94

[3] Fagerstam L G, Karlsson A F, Karlsson R *et al*. Biospecific interaction analysis using surface plasmon resonance detection applied to kinetic, binding site and concentration analysis. *Journal of Chromatography*, 1992, **597**: 397 ~ 402

[4] Lofas S, Malmqvist M, Ronnberg I *et al*. Bioanalysis with surface plasmon resonance. *Sensors and Actuators*, 1991, **B5**: 79 ~ 84

[5] Seth A, Stern L J, Ottenhoff T H M *et al*. Binary and ternary complexes between T-cell receptor, class II MHC and superantigen *in vitro*. *Nature*, 1994, **369**: 324 ~ 327

[6] Charelier J, Rauffer B N, Van Regenmortel M H V *et al*. Comparative interaction kinetics of two recombinant Fabs and of the corresponding antibodies directed to the coat protein of tobacocomosaic virus. *Journal of Molecular Recognition*, 1996, **9**: 39 ~ 51

[7] Matthew A C, Dudley H W. Kinetic analysis of antibody-antigen interactions at a supported lipid monolayer. *Analytical Biochemistry*, 1999, **276**: 36 ~ 47

[8] CUI X Q(崔小强), PEI R J(裴仁军), YANG X R(杨秀荣). Detection of Antihuman Serum Albumin Antibody Using Surface Plasmon Resonance Biosensor. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*(分析化学), 2000, **8**: 950 ~ 955

[9] Bartkey T D, Hunt R W, Welcher A A *et al*. B61 is a ligand for ECK receptor protein tyrosion kinases. *Nature*, 1994, **368**: 558 ~ 560

[10] Marengere L E, Songyang Z, Gish G D *et al*. SH2 domain specificity and activity modified by a single residue. *Nature*, 1994, **369**: 502 ~ 505

[11] Stitt T N, Conn G M, Lai B J *et al*. The anticogulation factor protein S and its relative Gas6 are ligand for the Tyro3/Ax1 family of receptor tyrosine kinase. *Cell*, 1995, **80**: 661 ~ 670

[12] Taremi S S, Prorise W, Durkin J *et al*. Small molecular drug screening based on surface plasmon resonance technology. *Journal of Molecular Interaction Analysis*, 1996, **3**: 20 ~ 21

[13] Markgren P, Hamalainen M, Danielsen U H. Screening of compounds interacting with HIV-1 proteinase using optical biosensor technology. *Analytical Biochemistry*, 1998, **265**: 340 ~ 350

- practical consideration. *Method*, 1994, **6**: 143 ~ 156
- [15] Ohlin M ,Owman H ,Mach M *et al* . Light chain shuffling of high affinity antibody resulting in a drifting epitope recognition. *Molecular Immunology* ,1996, **33** :47 ~ 56
- [16] Sota H ,Hasegawa Y . Detection of conformational changes in an immobilized protein using surface plasmon resonance. *Analytical Chemistry* ,1998, **70** :2019 ~ 2024
- [17] Nilsson P ,Persson B ,Uhlen M *et al* . Real time monitoring of DNA manipulating using Biosensor technology. *Analytical Biochemistry* , 1995, **224** :400 ~ 408
- [18] Onrust R ,Finkelstein J ,Turner J . Assembly of a chromosomal replication machine :Two DNA polymerase ,a clamp loader and slide clamps in an holoenzyme particle. *The Journal of Biological Chemistry* ,1995 , **270** :13366 ~ 13377
- [19] Naktinis V ,Onrust R ,Fang L *et al* . Assembly of a chromosomal replication machine :Two DNA polymerase ,a clamp loader and slide clamps in an holoenzyme particle. *The Journal of Biological Chemistry* ,1995, **270** :13358 ~ 13365
- [20] Xiao H ,Naktinis V ,O'Donnell M . Assembly of a chromosomal replication machine :Two DNA polymerase ,a clamp loader and slide clamps in an holoenzyme particle. *The Journal of Biological Chemistry* ,1995, **270** :13378 ~ 13383
- [21] Dallmann H G ,Thimmig R L ,McHenry C S . DnaX complex of *Escherichia coli* DNA polymerase3 holoenzyme :physical characterization of the DnaX subunits and complexes. *The Journal of Biological Chemistry* ,1995, **270** :29563 ~ 29569
- [22] Olson M W ,Dallmann H G ,McHenry C S . DnaX complex of *Escherichia coli* DNA polymerase3 holoenzyme :physical characterization of the DnaX subunits and complexes. *The Journal of Biological Chemistry* ,1995, **270** :29570 ~ 29577
- [23] Panayotou G ,Brown T ,Banlow T *et al* . Direct measurement of the substrate of uracil-DNA glycosylase. *The Journal of Biological Chemistry* ,1998, **273** :45 ~ 50
- [24] Babic I ,Andrew S E ,Jiril F R . Muts interaction with mismatch and alkylated base containing DNA molecules detected by optical biosensor. *Mutation Research* ,1996, **372** :87 ~ 96
- [25] Galio L ,Briquet S ,Cot S *et al* . Analysis of interaction between huGATA-3 transcription factor and three GATA regulatory elements of HIV long terminal repeat by surface plasmon resonance. *Analytical Biochemistry* ,1997, **253** :70 ~ 77
- [26] Suzuki F ,Goto M ,Sawa C . Functional interactions of transcription factor human GA-binding protein subunits. *The Journal of Biological Chemistry* ,1998, **273** :29302 ~ 29308
- [27] Cheskis B J ,Freedman L P . Modulation of nuclear receptor inceptor interactions by ligands :kinetic analysis using surface plasmon resonance. *Biochemistry* ,1996, **35** :3309 ~ 3318
- [28] Cheskis B J ,Karathansis S ,Lytle C R . Estrogen receptor ligands modulate its interaction with DNA. *The Journal of Biological Chemistry* , 1997, **272** :11384 ~ 11391
- [29] Suen C S ,Berroddin T J ,Mastroeni R . A transcriptional coactivator steroid receptor coactivator-3 selectively augments steroid receptor transcriptional activity. *The Journal of Biological Chemistry* ,1998, **273** : 27645 ~ 27653
- [30] Bushnell D A ,Bamdad C ,Kornberg R D . A minimal set of RNA polymerase II transcription protein interaction. *The Journal of Biological Chemistry* ,1996, **271** :20170 ~ 20174
- [31] Bondeson K ,Frostell-karsson A ,Fagerstam L *et al* . Lactose repressor-operator DNA interactions :kinetic analysis by a surface plasmon resonance biosensor. *Analytical Biochemistry* ,1993, **214** :245 ~ 251
- [32] Stokley P G ,Bron A J ,Wild C M *et al* . Dissecting the molecular details of Prokaryotic transcriptional control by surface plasmon resonance :the methionine and arginine repressor proteins. *Biosensors and Bioelectronics* ,1998, **13** :635 ~ 650
- [33] Parsons I D ,Stockley P G . Quantitation of the *Escherichia coli* Methionine repressor-operator interaction by surface plasmon resonance is not affected by the presence of a dextran matrix. *Analytical Biochemistry* ,1997, **254** :82 ~ 87
- [34] Parsons I D ,Persson B ,Mekhalifia A *et al* . Probing the molecular mechanism of action of corepressor in the *Escherichia coli* methionine repressor-operator complex using surface plasmon resonance. *Nucleic Acid Research* ,1995, **23** :211 ~ 216
- [35] XIA Z X (夏赞贤) ,AO S Z (敖世洲) . Analysis of interaction between PHO4 and PHO2 protein. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica* (生物化学与生物物理学报) ,1999, **2** :145 ~ 149
- [36] Buckle M ,Williams R M ,Negroni M . Real time measurement of elongation by a reverse transcriptase using surface plasmon resonance. *Proceedings of National Academic Sciences ,USA* ,1996, **93** :889 ~ 894
- [37] Hendrix M ,Priestley E S ,Joyce G F *et al* . Direct observation of a aminoglycoside-RNA interaction by surface plasmon resonance. *Journal of American Chemistry Society* ,1997, **119** :3641 ~ 3648
- [38] Persson B ,Stenhag K ,Nisson P . Analysis of oligonucleotide probe affinities using surface plasmon resonance :a means for mutational scanning. *Analytical Biochemistry* ,1997, **246** :34 ~ 44
- [39] Jensen K K ,Orum H ,Nielsen P E *et al* . Kinetics for hybridization of peptide nucleic acid(PNA) with DNA and RNA studied with the BI-Acore technique. *Biochemistry* ,1997, **36** :5072 ~ 5077
- [40] Bianchi N ,Rutigliano C ,Tomassetti N *et al* . Biosensor technology and surface plasmon resonance for real-time detection of HIV-genomic sequences amplified by polymerase chain reaction. *Clinical and Diagnostic Virology* ,1997, **8** :199 ~ 208
- [41] Kai E ,Sawata S ,Ikebukuro K *et al* . Detection of PCR product in solution using surface plasmon resonance. *Analytical Chemistry* ,1999 , **71** :796 ~ 800
- [42] Schier R ,Bye J ,Apell G *et al* . Isolation of high affinity monomeric human anti-cerbB2 single chain Fv using affinity driving selection. *Journal of Molecular Biology* ,1996, **255** :28 ~ 43
- [43] Schier R ,McCall A ,Adams G . Isolation of picomolar affinity anti-cerbB2 single chain Fv by molecular evolution of the complementarity determining the regions in the center of the antibody binding site. *Journal of Molecular Biology* ,1996, **263** :551 ~ 567
- [44] Houshmand H ,Froman G ,Magnusson G . Use of T7 display peptides for determination of monoclonal antibody specificity and biosensor analysis of the binding reaction. *Analytical Biochemistry* ,1999, **268** : 270 ~ 276

[45] Lasonder E ,Schellekens G A ,Welling G W. A fast and sensitive method for the evaluation of phage clones selected from a surface displayed library. *Nucleic Acid Reserach* ,1994 **22** 345 ~ 346

[46] Reiter Y ,Schuck P ,Boyd L F. An antibody single domain display library of a native heavy chain variable region isolation of function single domain VH molecules with a unique interface. *Journal of Molecular Biology* ,1999 **290** 685 ~ 698

[47] Pini A ,Viti F ,Santucci A. Design and use of a phage display library. *The Journal of Biological Chemistry* ,1998 **273** 21769 ~ 21776

[48] Malmborg A C ,Duenas M ,Ohlin M S. Selection of binder from phage displayed antibody libraries using the BIAcore biosensor. *Journal of Immunological Methods* ,1996 **198** 51 ~ 57

[49] Wink T ,Beer J D ,Hennink W E *et al.* Interaction between plasmid DNA and cationic polymers studied by surface plasmon resonance spectrometry. *Analytical Chemistry* ,1999 **71** 801 ~ 805

[50] LeBlanc J F ,McLane K E ,Paul W H *et al.* Recognition properties of a sequence-specific DNA binding antibody. *Biochemistry* ,1998 **37** : 6015 ~ 6022

Application of Surface Plasmon Resonance in Molecular Biology

YANG Fan YANG Xiu-Rong*

(Laboratory of Electroanalytical Chemistry ,National Analytical Research Center of Electrochemistry and Spectroscopy
Changchun Institute of Applied Chemistry ,Chinese Academy of Sciences ,Changchun 130022 ,China)

Abstract The application of surface plasmon resonance (SPR) in molecular biology was reviewed. The biomolecular interaction can be detected with SPR in real time and in situ without the use of labels ,the association and dissociation can be monitored continuously ,and multi-component complex interaction can be followed step by step. The applications of the SPR in the fields of molecular biology ,demonstrated the advantage of this technique that couldn't achieved by the routine techniques.

Key words Surface plasmon resonance ,biomolecular interaction ,molecular biology

Received :January 15 2001
This work was supported by Grants from National Natural Science Foundation of China (20075027).
* Corresponding author. Tel :86-431-5689278 ,Fax :86-431-5689711 ,E-mail :xyang@ns.ciac.jl.cn

《生物工程学报》编委会名单

主 编	焦瑞身	中科院上海植物生理研究所	研究员		
副主编	莽克强	中科院微生物研究所	研究员		
	范云六	中国农科院生物技术中心	院 士		
	杨开宇	中科院微生物研究所	研究员		
	沈忠耀	清华大学化工系	教 授		
编 委	王惠莲	王骥程	卢景良	叶 敏	刘尔翔
	朱守一	朱相远	李载平	李向辉	伦世仪
	宋后燕	郑幼霞	郑兆鑫	陈受宜	陈章良
	孟广震	杨蕴刘	张树政	张启先	张克旭
	侯云德	施履吉	俞俊棠	洪国藩	陆德如
	郭礼和	黄翠芬	葛锡锐	甄永苏	王 骏 (香港)