3　讨论

为了提高压电传感器检测的灵敏度和重复性，金膜表面的修饰和识别分子固定一直是各实验室研究的重点，研究人员尝试采用各种物理化学方法来对晶体进行包被，如早期的物理吸附法及随后发展的巯基自组装法、蛋白A法等，本实验室在巯基化核酸探针自组装及蛋白A抗体固定等方面进行了较深入的研究[4,5]。巯基化合物自组装单分子层（self-assembled monolayer，SAM）技术在寡核苷酸探针固定中应用较成熟，该技术满足了压电传感器识别分子固定几个主要要求，包括和基底的牢固结合、可控制的分子取向有序排列、可控制的外表面性质及可控的厚度等方面，因此可适应不同修饰电极的要求。巯基自组装技术实现的途径主要有两种：一种方法是选择带合适的功能基团（如：－NH，－COOH，－OH 等）的化合物先在金膜上形成单分子层，再通过活性功能基团来进行下一步固定；另一种方法是将核酸探针标记上巯基基团，最后通过自组装来达到固定的效果。本实验采用的亲和素法和巯基法分别代表了巯基自组装技术的两种途径。

适配子与IgE实时反应曲线显示，亲和素法反应曲线圆滑，反应趋势明显，在开始的几分钟内频率下降明显，随后逐渐趋于平缓，反应达平衡后频率稳定在±1 Hz，巯基法反应曲线中间有波动，且频率下降明显小于亲和素法。实验结果显示巯基法明显不适用于适配子探针的固定，表现在低浓度检测信号响应差，1.0 mg/L后随IgE浓度增高频率下降改变不明显，检测的线性范围窄，同时各浓度点检测重复性差，如0.5 mg/L浓度时变异系数达到33.3%。与巯基法相比，亲和素法固定适配子检测IgE在各浓度点都有更高的频率下降，且各浓度点标准差相对较小，相关性分析表明IgE浓度与频率变化呈明显的线性相关，线性范围0.1～2.5 mg/L，最低检出限0.055 mg/L，换算为质量为5.5 ng，达到了传感器微量检测目的，所以选用亲和素法作为适配子固定方法。

本实验所采用的两种探针固定方法在普通核酸探针固定中应用广泛，且固定效果良好[6,7]，巯基法之所以不适用于适配子固定，与适配子检测特殊性有关。适配子本质上为寡核苷酸，但适配子与靶分子间的特异性识别依赖其单链分子形成的三维空间结构，此外本实验适配子的靶分子为蛋白，在检测靶蛋白时需用BSA封闭金膜上蛋白非特异性结合位点。巯基法固定适配子检测结果差与适配子固定后不能形成正确空间构象有密切关系，BSA封闭以及金膜表面空间位阻都可能影响适配子空间构想的形成，而亲和素法固定由于中间铺设了多层分子（DDPA、亲和素、生物素），适配子离开金膜已有几个纳米的距离，大大减小了BSA封闭以及表面空间位阻的影响。

参考文献：

[1] Tombelli S, Minunni M, Mascini M. Analytical applications of aptamers[J]. Biosens Bioelectron, 2005, 20(12): 2424－2434.

[2] Gokulrangan G, Unruh J R, Holub D F, *et al*. DNA aptamer-based bioanalysis of IgE by fluorescence anisotropy[J]. Anal Chem, 2005, 77(7): 1963－1970.

[3] Wiegand T W, Williams P B, Dreskin S C, *et al*. High-affinity oligonucleotide ligands to human IgE inhibit binding to Fc epsilon receptor I[J]. J Immunol, 1996, 157(1): 221－230.

[4] 陈　鸣，府伟灵，张　波，等. 基因传感器表面两种探针固定法的比较[J]. 第三军医大学学报，2002，24(1)：17－19.

[5] 姚春艳，府伟灵. 压电免疫传感器再生能力的试验研究[J]. 中华医院感染学杂志，2005，15(4)：367－372.

[6] Cho Y K, Kim S, Kim Y A, *et al*. Characterization of DNA immobilization and subsequent hybridization using *in situ* quartz crystal microbalance, fluorescence spectroscopy, and surface plasmon resonance[J]. J Colloid Interface Sci, 2004, 278(1): 44－52.

[7] Tombelli S, Mascini M, Turner A P. Improved procedures for immobilisation of oligonucleotides on gold-coated piezoelectric quartz crystals[J]. Biosens Bioelectron, 2002, 17(11－12): 929－936.

（编辑　汪勤俭）

参考文献中英文作者名的著录方法

医学期刊的论文中，引用英文文献的比例很高，但有不少作者将英、美人的姓名搞错，以至用光盘核对时出现错姓、错名或姓名全错。英、美人姓名的习惯写法是：名-名-姓，“名”可以有1个、2个或3个，但“姓”只有1个。因此，从书籍或期刊中的姓名转录到文献时，要将次序调整为姓-名-名。姓是不可以简写的；“名”可以缩写，用第一个字母大写，不用缩写点。数据库在著录作者姓名时，已经调整为姓-名-名，可照录。

例如：John Quincy Public 写为 Public J Q。

本刊编辑部