

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

整合表面膜漿共振技術與石英晶體微天平技術建立分析特
定生物分子間交互作用之技術平台

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC93-2622-B-029-001-CC3

執行期間：93年05月01日至94年04月30日

執行單位：東海大學化學系

計畫主持人：龍鳳娣

報告類型：精簡報告

處理方式：本計畫為提升產業技術及人才培育研究計畫，不提供公開查詢

中 華 民 國 94 年 8 月 2 日

國科會補助提升產業技術及人才培育研究計畫成果精簡報告

一、學門領域：醫學工程

二、計畫名稱：整合表面電漿共振技術與石英晶體微天平技術建立分析特定生物分子間交互作用之技術平台

三、計畫編號：NSC93-2622-B-029-001-CC3

四、執行期間：93年05月01日至94年04月30日

五、執行單位：東海大學化學系

六、主持人：龍鳳娣

七、參與學生：(1) 姓名：李婉菁

(2) 年級：碩士班

(3) 發表論文：李婉菁, 中國醫藥大學營養所碩士論文, 2005.

(4) 工作內容：

1. 固相胜? 合成, 合成反應條件測試。

2. 應用高效能液相層析儀純化胜?。

3. 應用生醫檢測器分析合成胜? 與蛋白質之交互作用。

八、合作企業：(1) 合作企業名稱：亞新科技股份有限公司

(2) 計畫聯絡人：陳億菁

(3) 資本額：1,830 萬元

(4) 產品簡介：精密儀器批發業

(5) 網址：ant.tech@msa.hinet.net

(6) 電話：(02) 2752-0930

九、中文摘要

生物感測器技術具有高靈敏度、可快速分析及操作簡單等優點，因此，於近年來被廣泛地應用於生物分子間交互作用之分析。本篇研究中，應用石英晶體微天平(quartz crystal microbalance；QCM)及表面電漿共振(surface plasmon resonance；SPR)技術分析 Grb2 SH2 區塊與合成胜? (peptide 1：Fmoc-Glu-Tyr-Aib-Asn-NH₂ 及 peptide 2：Glu-Tyr-Aib-Asn-NH₂)之間的交互作用。首先，利用胺類偶合方式(amine coupling)將抗 GST 之抗體(anti-GST Ab)固定於感應晶片表面，接著利用 anti-GST Ab 捕捉 GST-Grb2 SH2，而後再分別注入序列稀釋後不同濃度之合成胜?，以進行 GST-Grb2 SH2 與合成胜? 間之親和性分析(affinity analysis)。研究結果顯示，以 SPR 技術測得之 Peptide 1 之 K_A 為 1.14×10^8 (1/M)， K_D 為 8.79×10^{-9} (M)；peptide 2 之 K_A 為 3.24×10^4 (1/M)， K_D 為 3.09×10^{-5} (M)，在相同實驗條件下，利用 QCM 技術測得之 Peptide 1 之 K_A 為 1.75×10^8 (1/M)， K_D 為 5.71×10^{-9} (M)；peptide 2 之 K_A 則為 3.69×10^4 (1/M)， K_D 為 2.71×10^{-5} (M)，比較結果證實這二項技術於生物分子之檢測上具有高度的一致性。因此，本研究建立之方法，可明確地監測生物分子間交互作用時，結合與解離的情形，並作為日後研發胜? 藥物之快速評估方法，更可廣泛的應用於開發臨床之生醫檢測方法。

關鍵詞：Grb2 SH2 區塊、合成胜?、表面電漿共振技術、石英晶體微天平技術。

十、英文摘要

Biosensor technology has been applied for analyzing biomolecular interactions in recent years for its advantages of high sensitivity, rapid analysis and experimental simplicity. In this study, the technology of quartz crystal microbalance (QCM) and surface plasmon resonance (SPR) were applied for analyzing interactions between Grb2 SH2 and synthetic peptides. Anti-GST antibodies were immobilized on the surface of sensor chip using standard amine coupling method to capture the GST-Grb2 SH2. Followed by the injection of various concentrations of synthetic peptides 1 and 2 (Fmoc-Glu-Tyr-Aib-Asn-NH₂ and Glu-Tyr-Aib-Asn-NH₂, respectively), the peptide-Grb2 SH2 interactions were detected and analyzed by SPR-based and QCM-based method. SPR results indicated that for peptide 1, $K_A = 8.79 \times 10^{-9}$ (M) and $K_D = 1.14 \times 10^8$ (1/M) and for peptide 2, $K_A = 3.24 \times 10^4$ (1/M) and $K_D = 3.09 \times 10^{-5}$ (M). QCM results indicated that for peptide 1, $K_A = 1.75 \times 10^8$ (1/M) and $K_D = 5.71 \times 10^{-9}$ (M) and for peptide 2, $K_A = 3.69 \times 10^4$ (1/M) and $K_D = 2.71 \times 10^{-5}$ (M). Comparison of results obtained by SPR-based and QCM-based methods demonstrated the good correlation between these two methods, and the potential of established biosensor-based methods for analyzing biomolecular interactions, screening peptide inhibitors of Grb2 SH2, and developing clinical biomedical methods.

Keywords : Grb2 SH2 domain 、 synthetic peptide 、 Surface plasmon resonance (SPR) technology 、 Quartz Crystal Microbalance (QCM) technology

十一、人才培育成果說明：

- (1) 線狀胜? 之設計、合成、純化及鑑定(固相胜? 合成技術及 HPLC 操作)。
- (2) 蛋白質之製備、純化、純度分析及濃度測定(SDS-PAGE 及 UV-vis 操作)。
- (3) 感測晶片之設計與製備、生物感測器操作(SPR 技術及 QCM 技術)。

十二、技術研發成果說明：

- (1) 應用固相胜? 合成技術完成所設計之胜? ，並且完成 HPLC 純化及 FAB-MS 分子量鑑定。
- (2) 完成 Grb2 SH2 protein 的製備、純化，以及純度、濃度測定。
- (3) 建立應用 SPR 及 QCM 技術製備具 anti-GST Ab 感測晶片之最適條件及方法。
- (4) 應用 SPR 及 QCM 技術分析 Anti-GST 抗體與抗原 GST-Grb2-SH2 之間，以及 Grb2 SH2 與以 SPR 方法篩選出具抑制力之胜? (Fmoc-Glu-Tyr-Aib-Asn-NH₂)之間交互作用情形。
- (5) 比較 SPR 及 QCM 兩種偵測方法之實驗結果的一致性，並評估以這兩種偵測方法所測得數據的再現性、實驗方法的可重複性。

十三、技術特點說明：

以 SPR 為基礎所建立之偵測方法及相關實驗設計，技術轉移至 QCM 生物感測器，以建立跨平台之分析技術，開發具專一性、穩定性、及更經濟型之生物感測晶片(固定 Anti-GST 抗體之感測晶片)。

十四、可利用之產業及可開發之產品：

應用生物感測器所建立之方法，可明確地監測任何 GST fusion protein 與其待分析物間交互作用時，結合與解離的情形，可作為日後研發胜? 藥物之快速評估方法，未來更可廣泛的應用於開發臨床之生醫檢測方法。