

## 基于表面等离子激元共振技术的辐射生物剂量计初探

王帅南 张晓红 胡晓丹 张海黔

(南京航空航天大学 南京 210016)

**摘要** 研究小鼠经过不同剂量 Co-60  $\gamma$ -射线全身辐照后血清内缝隙连接蛋白 Connexin43(CX43)的含量变化,探究其作为生物剂量计的可行性。利用表面等离子激元共振(SPR)生物传感器探测小鼠血清内 CX43 的含量,并采用 Western Blot 方法对该蛋白进行定性和检验。SPR 结果显示, CX43 对辐射敏感, 0.6 Gy 的辐照即可引起小鼠血清内 CX43 蛋白含量的明显增加。1.2 Gy 剂量照射后小鼠血清内的 CX43 蛋白含量随时间呈先升高后降低的趋势, 在 3 h 左右达到最高峰。此时 0~2.4 Gy 区间内 CX43 含量与剂量成线性相关。继续增加剂量后 CX43 含量反而开始下降。Western Blot 结果显示, 1.2 Gy 照射组净光密度强于 0.6 Gy 照射组, 并且二者的净光密度均明显强于对照组, 与 SPR 结果一致。实验结果表明, 基于 SPR 技术的 Connexin43 蛋白检测方法有望成为一种新的生物剂量计。

**关键词** 电离辐射, 生物剂量计, 表面等离子激元共振(SPR), Connexin 43

**中图分类号** Q691, TL72

**DOI:** 10.11889/j.1000-3436.2015.rj.33.020201

进入 21 世纪以来,核安全依然面临着巨大的挑战。各种大大小小的辐射事故仍频频出现。在这些突发核辐射事件中,早期快速地对受照射人员进行剂量评估,以便更高效地进行临床诊断治疗是必不可少的一个步骤。生物剂量计在这方面具有物理剂量计不可替代的作用<sup>[1]</sup>。经过多年的努力,人们发展出了形形色色的生物剂量计,比如染色体畸变分析, DNA 损伤和突变分析等,但是这些方法有的操作比较繁琐、复杂,有的分析耗时,均有一定的局限性<sup>[2-3]</sup>。蛋白质层面上的生物剂量计近来被人们关注<sup>[4]</sup>。Britten 等<sup>[5]</sup>研究了高 LET 照射条件下生物体血清里表达异常的蛋白标志物。焦旸等<sup>[6]</sup>探究了高迁移率族蛋白 B1 作为生物剂量计的可行性。间隙连接蛋白 43(CX43)对辐射敏感,其与辐射的关系近年来被广泛关注。CX43 是细胞间隙连接蛋白成员之一,分子量 43 KD,在调节细胞增值与分化、细胞新陈代谢和控制内环境稳态等方面中具有很重要的作用,是新发现的辐射敏感基因<sup>[7]</sup>。Azzams 等<sup>[8]</sup>发现, CX43 对辐射高度敏感, 0.16 cGy 的 $\alpha$ 射线或者 0.5 Gy 的 $\gamma$ -射线即可引起其在人正常二倍体成纤

维细胞里的高表达。Glover 等<sup>[9]</sup>也发现, 0.5 Gy  $\gamma$ -射线照射后,正常人纤维上皮细胞的 CX43 基因表达水平显著上调。故 CX43 有可能作为新的分子靶标用于辐照人员的剂量评估<sup>[7]</sup>。

目前, CX43 蛋白的检测方法主要是免疫法,如 Elisa<sup>[10]</sup>和 Western Blot 等。表面等离子激元共振(SPR)技术自上世纪 80 年代初引入到传感器领域,发展十分迅猛。SPR 生物传感器技术是利用抗体抗原相结合的原理,在预先固定好特定抗体的金膜表面捕捉抗原,导致金膜表面的折射率发生变化,进而记录这种特异性结合反应。它具有实时、快速、灵敏、无需标记、所需样品量少等优点<sup>[11-12]</sup>。SPR 技术在检测抗体抗原等生物分子相互作用研究方面应用广泛,国内外都可见有很多报道<sup>[13-14]</sup>。以往 CX43 与辐射诱导的关系多在离体细胞进行,且量效关系也只是初步的认识。CX43 在血清中微量存在<sup>[10]</sup>,血清提取方便,满足生物剂量计易于提取的要求。并且 CX43 基因的诱导表达剂量低,响应迅速,利用 SPR 技术检测实时快速,可尽快对受照射人员进行剂量评估。本研究将小鼠暴露于一定剂量

基金资助: 国防基础科学研究项目(B2520133007)、国家自然科学基金(31400721)、江苏省自然科学基金(BK20131355)和江苏省研究生教育创新资助项目(CXLX12-0145)资助

第一作者: 王帅南, 男, 1988 年 4 月出生, 2011 年毕业于南京航空航天大学核科学与技术系, 核技术专业, 2012 年于南京航空航天大学核科学与技术系读研, 研究生, 从事生物剂量计的研究, E-mail: wsn.good@163.com

通讯作者: 张海黔, 博士, 教授, E-mail: zhanghq@nuaa.edu.cn

收稿日期: 初稿 2014-10-20; 修回 2015-01-29

范围 $\gamma$ -射线,建立动物辐射损伤模型。提取血清后利用 SPR 生物传感器进行目的蛋白的实时检测。探究基于 SPR 技术的 Connexin43 蛋白检测方法作为生物剂量计的可行性。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

#### 1.1.1 实验动物

小鼠由南京江宁青龙山实验动物中心提供,清洁级,22–25 g,小鼠品系 ICR,在实验室喂养 2 周后用于实验;

#### 1.1.2 实验仪器与试剂

表面等离子共振仪,型号 BI2000(Biosensing Instrument Inc, USA); BK5 金膜片,上海基因公司;甘氨酸、吗啉乙磺酸(MES),分析纯,国药集团化学试剂有限公司;羧甲基葡聚糖、半胱胺、乙醇胺(EA)、EDC、NHS,分析纯,美国 SIGMA 公司;小鼠 Connexin43 抗体,美国 SANTA CRUZE 公司;Connexin43 标准品,美国 BD 公司;吐温 20(分析纯)、Western Blot 相关仪器耗材等,南京生兴生物。

### 1.2 小鼠辐照与样品提取

#### 1.2.1 小鼠辐照

小鼠随机分为正常对照组和照射组 1–6 组。1–5 组,每组 3 只,照射剂量依次为 0.6、1.2、1.8、2.4 和 3 Gy;第 6 组 24 只,照射剂量 1.2 Gy;正常对照组小鼠 6 只。照射源为加拿大 Nordion 公司生产  $^{60}\text{Co}$  放射源,活度约为  $7.4 \times 10^{11}$  Bq,源靶距 50 cm,剂量率为 0.2 Gy/min。

#### 1.2.2 样品提取

对照组以及 1–5 组小鼠在辐照后 3 h 进行眼眶取血来采集外周血,用经高温高压消毒后的一次性 5 mL 离心管收集,3000 r/min 离心 10 min 取上清。第 6 组小鼠分别在照后 2、3、4、8、12、24 和 48 h,以及一周(1 w)每次 3 只,重复以上步骤取血并标记。

### 1.3 SPR 自组装膜的制备以及抗体的修饰

#### 1.3.1 CM-Dextran 膜的制备

将裸金膜片浸入 10 mmol/L 的 Cys 水溶液中,室温避光过夜,然后高纯水冲洗,氮气吹干。金膜表面滴加 CM-Dextran (10 mg/mL)和 NHS/EDC (0.1 mol/L/0.4 mol/L)的混合液,组装 4 h 后高纯水冲洗,氮气吹干。置于 4 °C 冰箱保存。

#### 1.3.2 抗体的修饰

将组装好的 CM-Dextran 膜固定在 SPR 传感仪上,系统缓冲液采用加入了质量分数为 0.05% Tween20 的 PBS 缓冲液(PBST, pH=7.4)。设定流速为 40  $\mu\text{L}/\text{min}$ ,通入 NHS/EDC (0.1 mol/L /0.4 mol/L)的 MES 溶液(pH=5.6)100  $\mu\text{L}$ ,活化 CD 膜表面的羧基。接着取 30  $\mu\text{L}$  抗体(200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ),加入一定量的 PBS 缓冲液,稀释后缓缓注入样品环。通过氨基羧基共价结合作用将抗体组装在 CD 膜的表面。最后注入 1 mol/L 的 EA(pH=8.5)封闭未反应的羧基。Connexin43 传感芯片组装完成,配套软件可实时显示反应过程(图 1)。

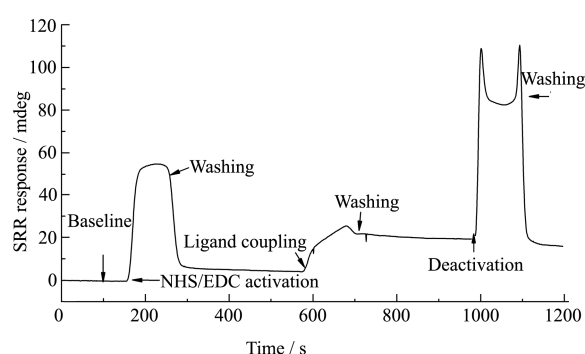


图 1 CX43 抗体在 CM-Dextran 膜上的固定过程  
Fig.1 Sensorgram showing immobilization of CX43 antibody on modified gold chip

### 1.4 标准品以及样品的检测

#### 1.4.1 标准品的检测

将 CX43 标准品用稀释液分别稀释为 80、40、20、10 和 5 ng/L。依次用移液器移取 100  $\mu\text{L}$  标准品注入 BI2000 样品环内,在注射器的推动下流经 CX43 传感芯片并与其上的抗体发生特异性反应,通过软件可实时观察反应结果。每个浓度梯度组测量三次。一定强度的酸或碱可以使与抗体特异性结合在一起的蛋白解离,使得芯片再生。本实验使用甘氨酸-盐酸缓冲液(pH=2.0)进行芯片的再生。最终得到标准品浓度与 SPR 信号之间的关系。

#### 1.4.2 样品的检测

将提取到的小鼠血清用 PBST 稀释后进行检测。步骤同标准品。芯片再生使用 pH=2.0 的甘氨酸-盐酸缓冲液。样品中 CX43 的浓度( $C_{\text{样品}}$ )根据标准品与 SPR 信号( $y$ )之间的关系反推并乘以稀释倍数  $n(30)$ 而得。

$$C_{\text{样品}} = \frac{y - 0.987}{0.217} \times n \quad (1)$$

## 1.5 Western Blot 检测

对照组、0.6 Gy 和 1.2 Gy 血清样品经过相同倍数稀释后用高精度移液器各取 20  $\mu\text{L}$ ，与上样缓冲液混合后于沸水中煮 5 min 使蛋白变性，加足够的电泳液后上样。浓缩胶以 80 V 电泳，进入分离胶后以 120 V 电泳，电泳至溴酚蓝刚跑出为止，终止 10% SDS-PAGE 电泳。蛋白电转移 100 V 250 mA 1.5 h 至 PVDF 膜。3% BSA 的 TBST 缓冲液封闭 1 h，加 CX43 抗体 4℃ 孵育过夜，TBST 室温下摇床脱色洗涤 4 次，每次 10 min，与辣根过氧化物酶标记的 IgG 孵育 1 h 后，用 TBST 洗涤。经化学发光检测试剂盒试剂（美国 Pierce）作用后放射自显影于 X 光胶片上。

## 2 结果

### 2.1 SPR 芯片检测 CX43 的灵敏度以及重复性

对经稀释液稀释的 CX43 标准品(0–80 ng/L)进行 SPR 检测。检测结果如图 2 所示。进样后样品在注射泵的推动下缓缓流至芯片表面，与表面固定的 CX43 抗体进行特异性抗原抗体结合。改变了芯片表面的折射率，引起 SPR 信号的改变。并且信号改变的大小与样品的浓度呈正相关。实验结果表明，SPR 的响应大小与 CX43 标准品的浓度有线性关系，拟合得到的信号-浓度关系式为  $y=0.217x-0.987$ ，线性相关系数约为 0.995。最低检测限(LOD)为 5 ng/L。每个浓度均在同一条件下重复测量三次，计算平均值以及标准差。

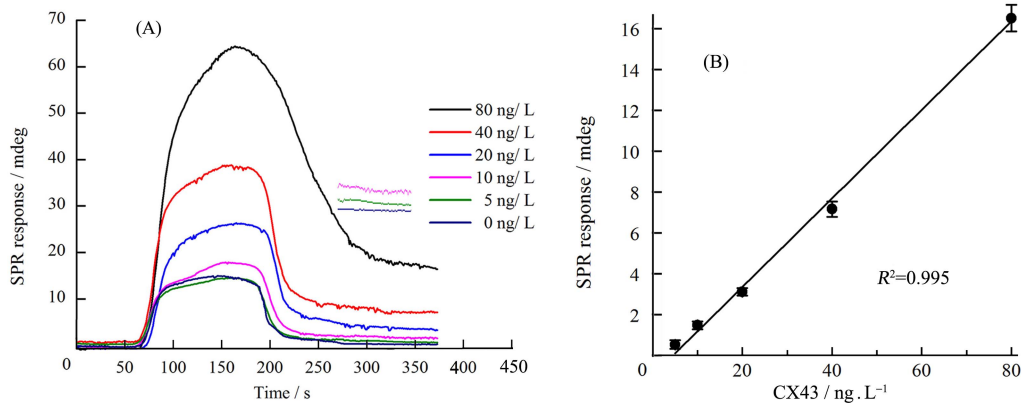


图 2 CX43 标准品在 SPR 芯片上与抗体反应的实时监测(A)与 SPR 响应值与 CX43 浓度的关系 0–80 ng/L(B)  
Fig.2 Real-time detection of CX43 standard with SPR sensor(A) and CX43 concentration dependency of SPR sensor in the range of 0–80 ng/L(B)

### 2.2 样品的 SPR 检测

#### 2.2.1 1.2 Gy 剂量辐照后小鼠血清中 CX43 含量与时间的关系

如表 1 所示，辐照后小鼠血清中 CX43 的含量在前 3 h 内开始增加，在 3 h 左右达到顶峰。接下来 CX43 含量开始迅速下降，并在 24 h 后至一周时间趋于稳定。我们选择 CX43 浓度最高的时刻，即 3 h 来探究小鼠血清内 CX43 含量与辐射剂量之间的依赖关系。

#### 2.2.2 0–3 Gy 样品 CX43 含量与剂量的关系

在辐照后 3 h 探究样品中 CX43 含量与剂量的关系。结果见表 2 和图 3 所示。小鼠血清中的 CX43

含量随照射剂量增加存在着先升高后降低的趋势。在 0–2.4 Gy 范围内，CX43 的含量随剂量的增加而升高，不同剂量之间差异有统计学意义。拟合得到的线性方程为， $y=111.64x+292.3$ ，其相关系数为 0.992。但是当剂量继续升高至 3 Gy 时样品中 CX43 含量出现下降趋势。同样在辐照后 3 h 时刻样品中，Western blot 检测到分子量约 43 KD 的 CX43 蛋白。结果显示，辐照后，小鼠血清中 CX43 含量明显增多。1.2 Gy 照射组净光密度强于 0.6 Gy 照射组，并且二者的净光密度均明显强于对照组（图 3 A），与 SPR 结果一致。

表1 小鼠辐照后血清内 CX43 含量与时间的关系  
Table 1 The relationship between the concentration of CX43 in mice serum and the time after irradiation

| 时间 / h<br>Time                                       | 对照<br>Control | 2         | 3         | 4         | 8         | 12        | 24        | 48        | 168       |
|------------------------------------------------------|---------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| SPR 响应值 / mdeg<br>SPR signal                         | 1±0.09        | 1.52±0.03 | 1.97±0.20 | 1.22±0.03 | 1.14±0.23 | 0.67±0.16 | 0.50±0.09 | 0.47±0.09 | 0.36±0.07 |
| CX43 浓度 / ng · L <sup>-1</sup><br>CX43 concentration | 283±13        | 359±4     | 424±29    | 315±4     | 302±33    | 234±24    | 209±14    | 204±13    | 189±11    |

表2 小鼠辐照后 3 h 血清内 CX43 含量与剂量的关系  
Table 2 The relationship between the concentration of CX43 in mice serum and the dose 3 h after irradiation

| 剂量 Dose / Gy                                         | 0         | 0.6       | 1.2       | 1.8       | 2.4       | 3         |
|------------------------------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| SPR 响应值 / mdeg<br>SPR signal                         | 1.06±0.12 | 1.69±0.04 | 2.04±0.14 | 2.58±0.13 | 3.02±0.12 | 2.54±0.12 |
| CX43 浓度 / ng · L <sup>-1</sup><br>CX43 concentration | 282±16    | 370±6     | 432±19    | 492±18    | 554±17    | 488±17    |

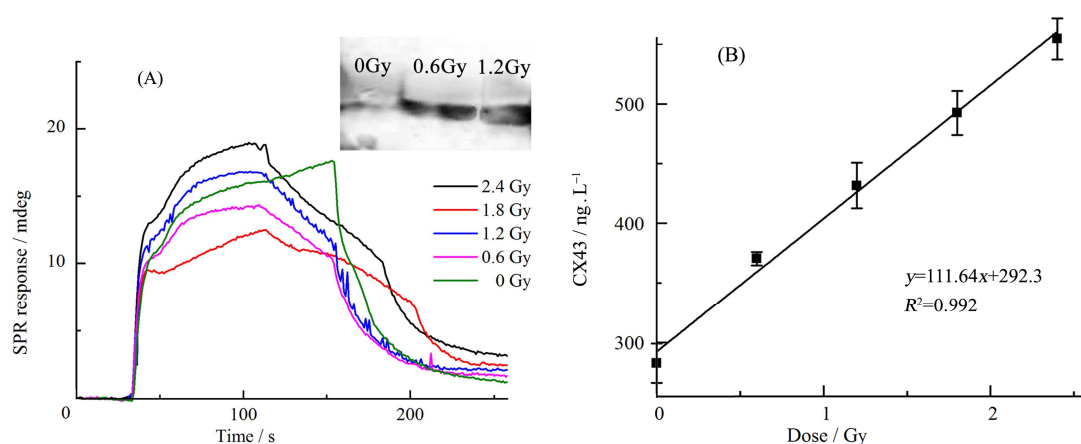


图3 辐照后 3h 样品在 SPR 芯片上与抗体反应的实时监测图及对应时刻对照组和 0.6、1.2Gy 照射组 Western Blot 图(A)与样品中 CX43 浓度与剂量的线性关系 0-2.4 Gy (B)

Fig.3 Real-time detection of samples with SPR sensor and the corresponding moment Western Blot (A) and the linear correlation of the concentration of CX43 in mice serum and the irradiation dose in the range of 0-2.4 Gy (B)

### 3 讨论

本实验以全身照射小鼠为模型, 利用表面等离子共振共振技术研究了 Co-60  $\gamma$ -射线辐射对小鼠血清内 CX43 蛋白含量的变化影响, 探究其作为生物剂量计的可行性。实验结果表明, 小鼠辐照 3h 后, 在 0-2.4 Gy 剂量范围内, CX43 含量与剂量成线性关系, 线性相关系数 0.992, 剂量-效应关系良好。而当剂量继续升高至 3 Gy 时样品中 CX43 含量出现下降趋势, 这可能与小鼠的组织损伤以及细胞间隙通讯功能的负反馈有关<sup>[7]</sup>。

时间-效应结果表明, 照射后, 小鼠血清内 CX43 蛋白的含量随时间呈先升高后下降的趋势, 在 3 h 左右达到顶峰, 在 12 h 后降至正常对照水平以下。有研究表明, CX43 含量减少, 可能是导致心脏疾

病发生的原因之一<sup>[15]</sup>。这也为辐射可导致心脑血管疾病提供了一个间接的证据, Borghin 等<sup>[16]</sup>发现, 0.5 Gy 剂量照射下, 10 年后有约 1% 的受照射人员发生心脑血管疾病。因此应做好辐射暴露人员在心脑血管疾病方面的防护工作<sup>[17]</sup>。CX43 作为细胞间隙连接通讯功能(GJIC)结构中的重要蛋白, 在辐射反应中具有很重要的作用。通过控制这种细胞间通讯引起的旁效应等作用, 也许可以为将来癌症放射治疗提供帮助并且降低低剂量辐射致癌的风险<sup>[18]</sup>。然而目前, 辐射诱导 CX43 表达变化的更详细的调控机制及生物学意义等还未被揭开<sup>[7]</sup>。

实验结果显示, SPR 检测 CX43 标准品批内变异系数 CV 值均小于 10%, 说明 SPR 检测 CX43 蛋白的重复性良好。Western Blot 结果与 SPR 检测结

果符合良好,表明 SPR 在检测蛋白方面的可靠性高。CX43 对辐射响应迅速,诱导表达剂量低。利用 SPR 技术检测灵敏、实时、快速,平均一个样品检测仅需 5–10 min。随着光纤 SPR 技术的发展以及 SPR 仪器的高通量和便携化发展,甚至可以在事故现场进行检测。因此本方法有望作为生物剂量计在辐射事故发生早期对可疑照射人员、伤员等进行快速的筛选和诊断评估。然而,遗传和疾病等因素也会影响 CX43 等蛋白在机体中的表达,使得不同个体间的含量值波动较大,尤其是在低剂量照射情形下<sup>[19]</sup>。并且不同的蛋白标志物被辐射活化的剂量阈值不同,选择单一的蛋白指标来衡量剂量也是有所欠缺的。选择一组对辐射敏感的蛋白对所受到的辐射剂量进行指示才会更加可靠<sup>[4]</sup>。SPR 的高通量化等发展<sup>[20]</sup>将会为蛋白质组学在这一方面的研究提供更好的平台。事实上,目前还没有一个能够完全符合生物剂量计要求的剂量计<sup>[21]</sup>。大多生物剂量计在实际应用中还需进一步优化。寻找更理想的生物剂量指标和方法也是辐射安全领域人员一直在努力研究的重要方向。

## 参考文献

- Swartz H M, Williams B B, Nicolalde R J, *et al.* Overview of biodosimetry for management of unplanned exposures to ionizing radiation [J]. *Radiation Measurements*, 2011, **46**: 742-748.
- 闵锐. 电离辐射生物剂量研究现状 [J]. 国外医学·放射医学核医学分册, 2004, **28**(3): 121-127.  
MIN Rui. Current progress in research of ionizing radiation biodosimetry [J]. *Foreign Medical Sciences (Section of Radiation Medicine and Nuclear Medicine)*, 2004, **28**(3): 121-127.
- 宋秀军, 何蕊, 江其生. 核事故中辐射生物剂量计的应用 [J]. 放射免疫学杂志, 2012, **25**(1): 29-31.  
SONG Xiujun, HE Rui, JIANG Qisheng. Application of radiation biological dosimeter in nuclear accident [J]. *Journal of Radioimmunology*, 2012, **25**(1): 29-31.
- 李明娟, 张庆芝, 闵锐. 辐射生物分子剂量计研究现状 [J]. 生命的化学, 2010, **30**(4): 644-648.  
LI Mingjuan, ZHANG Qingzhi, MIN Rui. Current progress in research of radiation biodosimeter [J]. *Chemistry of Life*, 2010, **30**(4): 644-648.
- Britten R A, Mitchell S, Johnson A M, *et al.* The identification of serum biomarkers of high-LET radiation exposure and biological sequelae [J]. *Health Physics*, 2010, **98**(2): 196-203.
- 焦旻, 朱巍, 王利利, 等. 高迁移率族蛋白 B1 作为电离辐射生物剂量计的初探[J]. 中华放射医学与防护杂志, 2010, **30**(6): 647-649.  
JIAO Yang, ZHU Wei, WANG Lili, *et al.* Preliminary study on high mobility group box 1 as a biological dosimeter of ionizing radiation [J]. *Chinese Journal of Radiological Medicine and Protection*, 2010, **30**(6): 647-649.
- 龙贤辉, 周平坤. 缝隙连接蛋白 43 基因及其辐射诱导表达反应[J]. 国外医学·放射医学核医学分册, 2005, **29**(6): 269-271.  
LONG Xianhui, ZHOU Pingkun. Connexin43 gene and its irradiation-induced expression [J]. *Foreign Medical Sciences (Section of Radiation Medicine and Nuclear Medicine)*, 2005, **29**(6): 269-271.
- Edouard I A, Sonia M T, John B L. Expression of CONNEXIN43 is highly sensitive to ionizing radiation and other environmental stresses [J]. *Cancer Research*, 2003, **63**(21): 7128-7135.
- Glover D, Little J B, Lavin M F, *et al.* Low dose ionizing radiation-induced activation of connexin 43 expression [J]. *International Journal of Radiation Biology*, 2003, **79**(12): 955-964.
- 张军毅, 安金斗, 梁芳, 等. 野百合碱致右心衰竭幼鼠 CX43 的变化及卡托普利和坎地沙坦的干预作用 [J]. 实用儿科临床杂志, 2011, **26**(1): 28-31.  
ZHANG Junyi, AN Jindou, LIANG Fang, *et al.* Changes of Connexin43 in juvenile rats with right heart failure induced by monocrorotiline and intervention effects of captopril and candesartan. [J]. *Journal of Applied Clinical Pediatrics*, 2011, **26**(1): 28-31.
- 李远红. 表面等离子体谐振技术及其生物传感器研究 [J]. 武汉职业技术学院学报, 2003, **2**(3): 59-61.  
LI Yuanhong. Surface plasmon resonance technology and its biosensors [J]. *Journal of Wuhan Technical College*, 2003, **2**(3): 59-61.
- Hana V, Vitor M, Allen D, *et al.* Comparative study of SPR and ELISA methods based on analysis of CD166/ALCAM levels in cancer and control human sera [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2009, **24**: 2143-2148.
- Neha Ghosh, Nidhi Gupta, Garima Gupta, *et al.* Detection of protective antigen, an anthrax specific toxin in human serum by using surface Plasmon resonance [J]. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 2013, **77**(1): 14-19.

- 14 陈曦, 姜英, 饶凯敏, 等. 表面等离子体共振技术快速筛检人血清蛋白质表达的方法应用 [J]. 环境与职业医学, 2010, 27(5): 261-265.  
CHEN Xi, JIANG Ying, RAO Kaimin, *et al.* Application of Surface Plasmon Resonance Technology in Screening Protein Expression of Human Serum Samples [J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2010, 27(5): 261-265.
- 15 Calder M D, Caveney A N, Smith L C, *et al.* Responsiveness of bovine cumulus-oocyte-complexes (COC) to porcine and recombinant human FSH, and the effect of COC quality on gonadotropin receptor and Cx43 marker gene mRNAs during maturation in vitro [J]. Reproductive Biology and Endocrinology, 2003, 1(1): 1421-1249.
- 16 Borghini A, Luca Gianicolo E A, Picano E, *et al.* Ionizing radiation and atherosclerosis: Current knowledge and future challenges [J]. Atherosclerosis, 2013, 230(1): 40-47.
- 17 陈伟, 何颖, 沈先荣, 等. 低剂量辐射对小鼠血清蛋白差异表达的影响[J].辐射研究与辐射工艺学报, 2014, 32(1): 010203(5).  
CHEN Wei, HE Ying, SHEN Xianrong, *et al.* Effects of low dose radiation on differential expression of serum protein in mice [J]. Journal of Radiation Research and Radiation Processing. 2014, 32(1): 010203(5).
- 18 Kevin M P, Joe M O. Radiation-induced bystander signalling in cancer therapy [J]. Nature Reviews Cancer, 2009, 9(5): 351-360.
- 19 闵锐. 低剂量/低剂量率电离辐射生物效应 [J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 2014, 32(6): 060101(9).  
MIN Rui. Biological effects induced by low dose/low dose rate ionizing radiation [J]. Journal of Radiation Research and Radiation Processing. 2014, 32(6): 060101(9).
- 20 刘星, 黄庆. 表面等离子共振生物传感器的研究进展及发展趋势 [J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(3): 341-343.  
LIU Xing, HUANG Qing. Research advance and developing tendency of surface plasmon resonance biosensor [J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2011, 32(3): 341-343.
- 21 姚波, 蒋本荣, 艾辉胜. 辐射生物剂量计的临床应用与研究现状 [J]. 军事医学院院刊, 2007, 31(3): 294-297.  
YAO Bo, JIANG Benrong, AI Huisheng. Present research status and clinical application of radiation biological dosimeter. [J]. Bulletin of the Academy of Military Medical Sciences, 2007, 31(3): 294-297.

## Study on mice serum CX43 as biodosimetry using surface plasmon resonance technique

WANG Shuainan ZHANG Xiaohong HU Xiaodan ZHANG Haiqian

(Nanjing University of Aeronautics and Astronautics, Nanjing 210016, China)

**ABSTRACT** The aim is to investigate the changes of Connexin43(CX43) in mice serum after Co-60  $\gamma$  irradiation and its practicability as a biodosimetry. The content of CX43 protein in mice serum was detected using surface plasmon resonance (SPR) technique. Western Blot method was also used as reference. Expression of Connexin43 is sensitive to  $\gamma$  radiation. Obvious up-regulation of CX43 expression was observed by  $\gamma$ -rays doses as low as 0.6 Gy. CX43 protein in mice serum first increased and then decreased with the increasing time after mice were irradiated at dose of 1.2 Gy. The highest level of CX43 appeared 3 h after irradiation. At this moment, the content of CX43 showed a linear correlation with the  $\gamma$ -rays doses in the range of 0–2.4 Gy, however, it began to reduce when the dose continued to increase. Western blot results showed that, the fluorescence intensity of the 1.2 Gy group is higher than that of the 0.6 Gy group, and both of them were significantly higher than that of the control group. Detection of Connexin43 protein in mice serum using SPR technique is expected to be a new biodosimetry.

**KEYWORDS** Ionizing radiation, Biodosimetry, Surface plasmon resonance (SPR), Connexin43 (CX43)

**CLC** Q691, TL72