

低氧/厌氧产品案例——人口腔致病菌牙龈卟啉单胞菌研究

文章题目: Protein Functionalized Gold Nanoparticles as Refractometric Nanoplasmonic Sensors for the Detection of Proteolytic Activity of *Porphyromonas gingivalis*

蛋白质功能化金纳米颗粒作为折射纳米等离子体传感器检测牙龈卟啉单胞菌蛋白水解活性

文章出处: ACS Appl. Nano Mater. 2020, 3, 9822–9830. 瑞典林科平大学物理、化学和生物学系生物物理和生物工程部分子材料实验室

工作站使用情况: Concept 400

使用气体 浓度: 厌氧 (80% N₂, 10% CO₂, 10% H₂)

摘要: 牙周炎是一种炎症性口腔疾病, 影响很大一部分成年人, 造成巨大的成本和痛苦。关键病原体牙龈卟啉单胞菌分泌牙龈蛋白酶, 这是一种具有高度破坏性的蛋白酶, 也是该疾病发病机制中最重要的毒力因子。目前, 牙周炎主要通过机械手动探查和造影来诊断, 通常是在疾病已经明显进展的时候。检测牙龈液体中牙龈蛋白酶活性的可能性可以实现早期诊断便于治疗。这里, 作者描述了一种灵敏的基于纳米粒子的纳米等离子体生物传感器, 用于检测牙龈蛋白酶的蛋白水解活性。金纳米粒子在多孔板中自组装成亚单层, 并进一步用酪蛋白或 IgG 修饰。通过监测局部表面等离子体共振(LSPR)峰位置的移动来跟踪蛋白质涂层的蛋白水解降解。使用含有胰蛋白酶和纯化的牙龈蛋白酶(Kgp 和 RgpB 亚型)的模型系统研究传感器性能, 并使用来自牙龈卟啉单胞菌培养物的上清液进一步验证。蛋白水解降解当使用酪蛋白作为底物时, 蛋白酶在缓冲液中的作用导致约 1-2nm 的 LSPR 带的浓度和时间依赖性蓝移。在细菌上清液中, 蛋白质涂层的降解导致存在于将复杂的样品基质转移到纳米粒子上, 这反而引发了约 2 纳米的 LSPR 带红移。仅在具有牙龈蛋白酶活性的样品中观察到显著的 LSPR 频移。传感器显示检测限 < 0.1 µg/mL (4.3 nM), 远低于在严重慢性牙周炎病例中检测到的牙龈蛋白酶浓度(≈50 µg/mL)。这项工作显示了开发基于纳米颗粒的高性价比生物传感器的可能性, 该传感器可用于椅面牙周诊断中蛋白酶活性的快速检测。

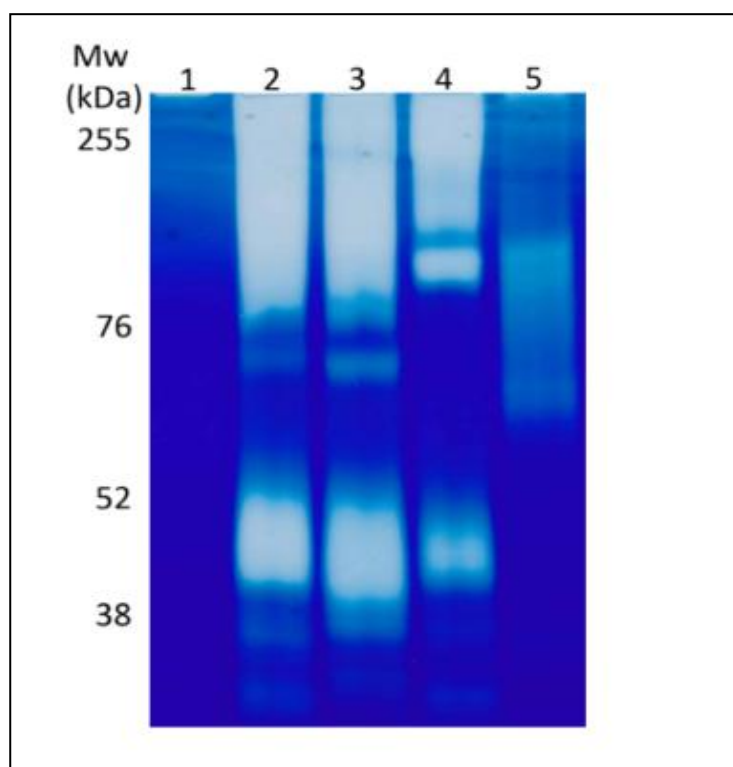


Figure 4. Zymogram with lanes representing (1) *S. mutans*, (2) *P. gingivalis* W50, (3) *P. gingivalis* ATCC 33277, (4) *P. gingivalis* K1A, and (5) *P. gingivalis* E8. All bacterial suspensions contained 1×10^9 cfu/mL

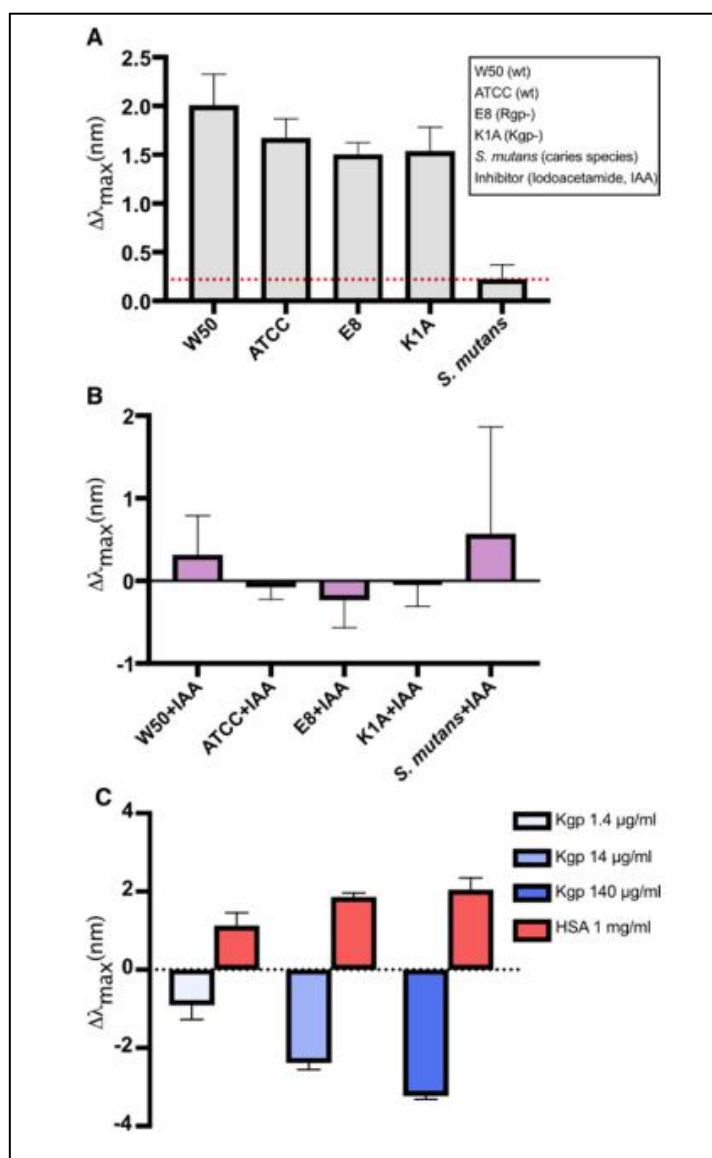


Figure 5. LSPR shift of casein-coated AuNPs after 60min incubation with supernatants from bacterial cultures in the absence (A) and in the presence (B) of an inhibitor, IAA (10mM). (C) Kgp on casein-coated AuNPs followed by HSA adsorption. The red dotted line indicates LOD. Mean (SD), n=5.

牙龈卟啉单胞菌培养条件：80%N₂，10%CO₂，10%H₂的厌氧条件下培养；

龋菌变异链球菌作为阴性对照。酶谱和产酶底物用于验证细菌上清液中的蛋白水解活性。泳道（1）是变异链球菌，（2）牙龈卟啉单胞菌 W50，（3）ATCC 牙龈卟啉单胞菌 33277，（4）牙龈卟啉单胞菌 K1A，（5）牙龈卟啉单胞菌 E8，实验表明变形链球菌没有蛋白水解活性，W50 显示出最高的 Rgp 活性，Rgp 突变体 E8 的活性最低（图 4）；

在无和有抑制剂 IAA(10mM)存在的情况下，酪蛋白包被的 AuNPs 与细菌培养上清孵育 60min 后，LSPR 偏移（图 5），表明在没有 IAA 的情况下，牙龈素（gingipains）对观测到的 LSPR 红移具有调控作用。



北京隆福佳生物科技有限公司
联系电话：010-88693537