

探析环境检测中现代生物技术的应用

黄春娥

(惠州市环境保护监测站, 广东 惠州 516000)

摘 要: 生物技术对提高环境检测的精度和灵敏度具有重要的意义。通过对几种生物技术进行介绍, 分析其在环境检测中的具体应用。

关键词: 环境检测; 生物技术; 酶; 污染物

中图分类号: X830.2

文献标识码: A

文章编号: 2095-6835 (2014) 11-0154-02

生物技术主要是以 DNA 技术为先导, 包括细胞工程技术、生物酶技术、蛋白质工程技术和生物修复技术等。由于生物技术具有效益高、开发周期短等优势, 因此从 21 世纪 70 年代开始, 就被广泛地应用于高新技术企业、工业和食品行业中。此外, 生物技术在环境检测中也发挥着重要的作用, 是目前我国环境检测中常用的技术手段。

1 PCR 技术及其在环境检测中的应用

PCR 技术指的是聚合酶链式反应, 它能够在体外合成特异性的 DNA 片段, 实现扩充基因 DNA 和 RNA 片段的功能, 是克隆技术的发展和延伸。该技术具有以下几个特点: ①操作非常简单。随着科技的发展, PCR 技术可以利用 DNA 聚合酶在 DNA 扩增仪上进行操作, 整个过程只需加入一次酶便可。②反应非常迅速。在 20~30 个周期内, 目的 DNA 的数量就能成百万倍的扩增, 整个过程只需要几个小时。③灵敏性极高。只需要利用一根头发、单体细胞或者是一个精子就可实现对 DNA 定型。④特异性较强。由于 PCR 技术使用的酶具有耐高温性, 所以其特异性较强。

PCR 技术在环境检测中的应用表现在以下三方面: ①PCR 技术逐渐取代了传统的分离培养检测法, 并能够对外部环境的有害生物和致病细菌进行准确的检测, 提高了环境检测的效率。②对水中的病原微生物进行检测。由于 PCR 技术具有较高的灵敏性, 所以即使在浓度很低的水中, 微生物病原体也能被检测到。③对水中嗜肺军团杆菌的检测。PCR 技术要比传统的检测手段更加标准, 检测的灵敏度也更高。使用 PCR 技术检测的结果可以为水质的评价提供可靠的依据。PCR 技术经过不断的发展和完善, 有可能以其独特的优势取代现有的水细菌学检测方法成为一种常规检测手段。

2 生物传感器在环境检测中的应用

随着科技的发展, 各学科之间的相互融合使得现代生物技术逐渐被应用于环境检测领域, 形成了生物检测技术。生物传感器是一种将生物反应转化成电信号的机器, 它以固定化酶技术和固定化细胞核技术为基础, 并设置相应的生物识别元件对生物反应的过程和规律进行识别, 然后将其转换成可以被人们正常识别的电信号。生物传感器的工作原理就是使生物组分和待测的环境对象发生反应, 并利用电子组分将反应的过程转换为可以被测量的电子信号。

生物传感器使用生物分子识别被测目标, 然后通过信号系统将生物分子所发生的物理或化学变化转化为相应的电信号, 并将电信号输出、放大, 从而得到检测结果。生物传感器技术是建立在固定化细胞和固定化酶技术基础之上的一项技术, 它可以测定水环境中的 BOD、酚、农药残留、 NO_3^- , 大气环境中的 SO_2 、 NO_x 和其他环境检测中的指标, 例如土壤重金属、内分泌干扰物、有机污染物的持久性和水体富营养化等。

3 生物芯片技术在环境检测中的应用

生物芯片是一种微型的生物化学分析系统, 利用微电子技术和微加工技术在固相介质 (例如玻璃片、硅片、凝胶、塑料

片、尼龙膜) 表面固定生物探针分子, 就构成了生物芯片。利用生物芯片可以快速、准确地检测 DNA、蛋白质、细胞等生物的组分。利用生物芯片还能够快速地检测出对环境造成污染的生物和有机化合物, 这对保护环境具有重要的意义。环境检测主要包括对水质、空气质量、食品、药物和添加剂等物质的检测。利用生物芯片可以同时检测出多种对环境造成影响的物质或检测出对人体造成危害的致病细菌。

由于生物芯片技术具有微型化、自动化和智能化等特点, 因此其被广泛应用在环境检测中。生物芯片上有大量的分子微阵列, 能够缩短对大量生物分析的时间。与传统的检测方式相比, 生物芯片技术大大地提升了环境检测的效率。生物芯片有很多种, 可以对不同的环境进行检测。

按照固定探针的不同, 可以将生物芯片分为蛋白质芯片、基因芯片和组织芯片。按照工作原理的不同, 可以将生物芯片分为生物传感芯片、通道型微阵列芯片和元件型微阵列生物芯片。另外, 如果芯片上的固定分子为 DNA, 可以将其称为 DNA 芯片; 如果固定分子是蛋白分子, 可以将其称为蛋白芯片。

4 生物酶技术在环境检测中的应用

生物酶技术也在环境检测 and 环境保护中得到了广泛的应用。生物酶技术包括生物酶抑制技术和生物酶免疫测定技术, 下面具体说明这两种生物酶技术在环境检测中的应用。

生物酶抑制技术是指由于环境污染物对特定的酶具有抑制作用, 因此对其进行检测时, 可以加入酶催化后的显色剂, 通过显色剂有无显色和显色的程度来判断反应酶是否受到抑制或抑制的程度, 这样就能够判断被测环境中是否存在污染物以及存在的量。由于土壤酶的活性会受到重金属的影响, 因此可以利用土壤酶的各项指标对重金属污染进行准确的判断。随着生物技术的发展, 酶的开发、制备技术都已经相当成熟, 成本也在逐渐地降低, 这就给利用生物酶抑制技术进行环境检测提供了良好的条件。另外, 利用生物酶抑制技术能够有效降低检测的错误率, 提升检测的灵敏度。

生物酶免疫技术综合了免疫技术和生物技术的特点, 是一门新兴的技术。该技术依据抗原和抗体之间的相互反应来实现对环境的检测。在环境检测过程中, 将环境中的污染物作为抗原, 并从动物身上提取特异性的抗体, 保证抗体能在动物的体外与抗原发生反应, 然后将特定的酶当作示踪物, 通过酶来反映抗原与抗体之间的反应情况。在生物酶免疫技术中, 酶联免疫吸附测定技术是应用最为广泛的技术, 利用这种测定技术配合先进的光学仪器进行测定, 不仅能够保证测定的准确性, 还大大提高了测定的效率。目前, 国内外已经开发出建立在显色反应基础上的酶片、酶标签等速测产品。其中, 酶片具有便携、易操作的优点, 且能够快速地检测出农作物上的一些农药残留。

5 结束语

随着科技的发展, 生物技术被逐渐应用到各个领域。在环境检测中, 利用生物技术能够准确地反映出环境污染的程度, 对环境保护具有很重要的意义。各学科之间的相互融合使生物



hTERT 在宫颈脱落细胞及宫颈活检中表达

文丽芳¹, 丁进进²

(1.山西医科大学汾阳学院 山西 太原 032200; 2.临汾市人民医院妇产科 山西 临汾 041099)

摘要: 通过检测 HR-HPV 感染的宫颈脱落细胞和宫颈活检中 hTERT 的表达, 并对实验结果进行比较分析, 探讨其与宫颈病变的相关性。对 84 例 HR-HPV 阳性 (宫颈活检结果为正常及慢性炎 12 例、CIN I 20 例、CIN II 20 例、CIN III 20 例、SCC 12 例) 应用荧光原位杂交技术 (FISH 检测), 分别检测患者的宫颈脱落细胞和宫颈活检组织中 hTERT 的表达; 应用受试者工作特征曲线 (ROC 曲线), 分别确立细胞学和组织学中宫颈高度鳞状上皮内病变的最佳界值。实验结果为: ①在正常及慢性炎、CIN I、CIN II、CIN III、SCC 组所对应的宫颈脱落细胞中, hTERT 基因扩增的阳性率分别为 8.33% (1/12)、15.00% (3/20)、80.00% (16/20)、90.00% (18/20)、100% (12/12), 与宫颈病变的恶性程度呈正相关 ($r_s=0.713$, $p<0.001$)。②在正常及慢性炎、CIN I、CIN II、CIN III、SCC 组所对应的的宫颈活检中, hTERT 基因扩增的阳性率分别为 16.67% (2/12)、25.00% (5/20)、80.00% (16/20)、95.00% (19/20)、100% (12/12), 与宫颈病变的恶性程度呈正相关 ($r_s=0.671$, $p<0.001$)。③宫颈脱落细胞中 hTERT 的扩增在预测 \geq CIN II 病变中的敏感度、特异度, 分别为 92.00% 和 82.35%; 宫颈活检组织中 hTERT 预测 \geq CIN II 的敏感度、特异度, 分别为 87.03% 和 83.33%。实验可以得出: hTERT 在 HR-HPV 阳性宫颈病变患者宫颈脱落细胞和宫颈活检组织中的表达具有一致性, hTERT 在预测 HR-HPV 阳性且宫颈细胞学检查为异常的宫颈病变的病理结果中具有重要的意义。

关键词: hTERT; 宫颈; 脱落细胞; 活检

中图分类号: R737.33

文献标识码: A

文章编号: 2095-6835 (2014) 11-0155-02

hTERT (Human Telomerase RNA Component, 人端粒酶 RNA 组成基因) 位于人类 3 号染色体长臂, 其异常扩增可导致肿瘤的发生。目前研究证明, hTERT 在子宫鳞癌或腺癌、食管鳞癌、肺鳞癌等多种恶性肿瘤中存在异常扩增, 与肿瘤的发展密切相关。目前研究显示, hTERT 在宫颈活检和宫颈脱落细胞中的表达与宫颈病变具有一定的相关性。HR-HPV (High-risk Human Papilloma Virus, 高危型人乳头瘤病毒) 感染是宫颈上皮内瘤变和宫颈癌的主要致病原因, 这一点已达成共识, 但在 15%~20% HPV 持续感染病例中, 只有低于 5% 发生宫颈癌。因此, 如何从 HPV 感染者中分流出真正具有癌变风险的人群, 是当前所面临的难题。本研究通过检测 HR-HPV 阳性宫颈脱落细胞和宫颈活检中 hTERT 的表达, 并对实验结果进行比较分析, 探讨其在 HR-HPV 阳性患者宫颈病变中诊断分流的意义。

1 资料来源

选择 2013-07—2014-04 就诊于山西省汾阳医院门诊 HR-HPV 阳性, 且均有宫颈活检结果的宫颈脱落细胞学标本 84 例。患者年龄 27~62 岁, 中位年龄 37 岁, 均为有性生活妇女, 其中宫颈活检结果为正常 12 例、CIN I 20 例、CIN II 20 例、CIN III 20 例、SCC 12 例。用荧光原位杂交技术检测宫颈脱落细胞和宫颈活检组织中 hTERT 基因扩增情况。

2 实验方法

应用荧光原位杂交技术, 按照参考文献分别检测宫颈脱落细胞和宫颈活检中 hTERT 基因拷贝数, hTERT/CSP3DNA 双色

荧光探针 (购自广州安必平科技有限公司)。hTERT DNA 探针作为检测探针, 杂交到 3 号染色体长臂, 荧光信号为红色 (四甲基罗丹明); CSP3DNA 作为对照探针, 杂交到 3 号染色体着丝粒, 荧光信号为绿。正常细胞为单个细胞核中红绿信号各 2 个, hTERT 基因扩增异常细胞为单个细胞核中红信号 >2 个, 绿信号 ≥ 2 个。每张片子随机计数 100 个细胞, 记录阳性信号细胞的个数和信号模式, 绘制 ROC 曲线, 确定高度鳞状上皮内病变 (CIN II/III/SCC) 的阳性界值。本实验宫颈脱落细胞中验临界值为 6%, 宫颈活检中的临界值为 11%, 分别如图 1 和图 2 所示。

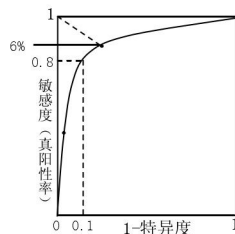


图 1 左上点所对应的界值为 6%

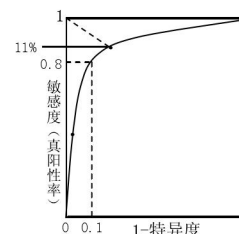


图 2 左上点所对应的界值为 11%

3 统计学分析

采用 SPSS16.0 统计软件进行分析, 比较各级病变中 hTERT 基因的扩增的阳性率; 采用卡方检验, 检验水准 $\alpha=0.05$; 利用 Spearman 秩相关检验, 分析 hTERT 的表达与宫颈病变的相关性。

技术在环境检测中的应用也逐渐向着多元化、智能化方向发展。由于我国环境检测中的生物技术应用还处于起步阶段, 因此还需要广大生物技术人才共同努力, 为我国的环境检测提供有力的技术支持。

参考文献

[1] 郇怀秀. 现代生物技术在环境检测中的应用 [J]. 城市建设, 2013 (14).

(编辑: 王霞)

Analysis of Environmental Monitoring Applications in Modern Biotechnology

Huang Chun'e

Abstract: Biotechnology has important significance to improve the detection accuracy and sensitivity of the environment. Through analyzing several biological technologies are introduced, and its specific application in environmental testing.

Key words: environmental monitoring; biotechnology; enzyme; pollutants