

# 免疫膠體金技術於電子顯微鏡學之應用

報告人：郭舒亭 助理研究員（生物研究組）

## 壹、緒言

本室在於觀察檢體等例行性業務中，僅能將觀察到的病毒顆粒分類至不同的科別，如能將免疫膠體金技術應用於電子顯微鏡的觀察，必能提高觀察結果之特異性，以利後續診斷及研究之進行。免疫膠體金技術是以膠體金作為示蹤標誌物應用於抗原抗體的一種新型的免疫標記技術。膠體金可以和蛋白質、DNA、抗體等各種大分子物質結合，在免疫檢測分析技術中，習慣上將膠體金結合蛋白質、DNA、抗體的複合物稱為金探針。此探針與特異性的標地物結合後，在電子顯微鏡的觀察下，很容易被清楚的辨識出來。免疫膠體金測定法操作原理與 ELISA 極為相同，方法敏感、特異，不需要使用放射性同位素，或有潛在致癌物質的酵素顯色底物，也不要螢光顯微鏡，所以廣泛的應用於光學顯微鏡或電子顯微鏡檢測中。

## 貳、材料與方法

### 電顯負染色法處理：

送檢檢體經過檢體前處理後取適量做超高速離心  $90,000 \times g$  離心 10 分鐘，去除上清液。加入適量中性蒸餾水，充分溶解沉澱物。加入等量 2% PTA (phospho-tungstic acid；磷鎢酸) 染色劑充分混合，取  $10 \mu L$  混合液滴在鍍有碳及膠膜 (collodion) 的銅網片上。再以 Hitachi-600 穿透式電顯加以觀察。

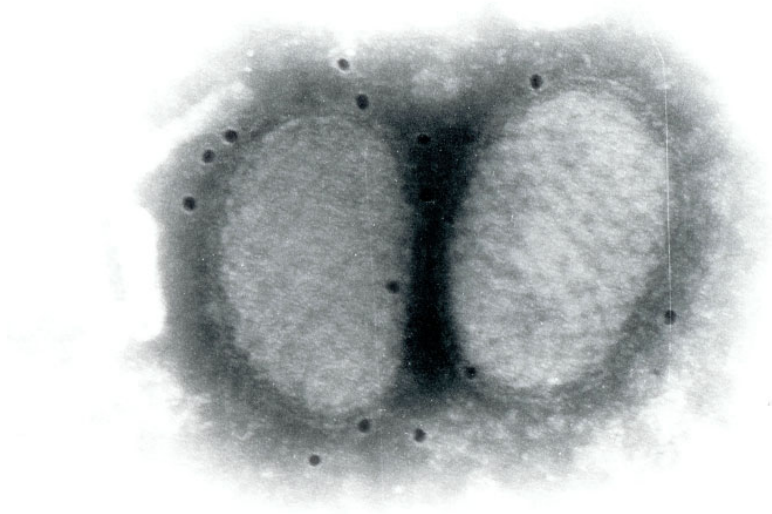
### 電顯免疫膠體金技術處理：

檢體與特異之抗血清於  $37^{\circ}C$  作用 1 小時後，放置  $4^{\circ}C$  作用至隔日。作用後之檢體以 0.1 M PB + 5% BSA (bovine serum albumin；牛血清白蛋白) 洗 3 次，再與蛋白質 A 膠體金或蛋白質 G 膠體金於  $4^{\circ}C$  作用 4 小時，最後依照電顯負染色法處理，再以 Hitachi-600 穿透式電顯加以觀察。

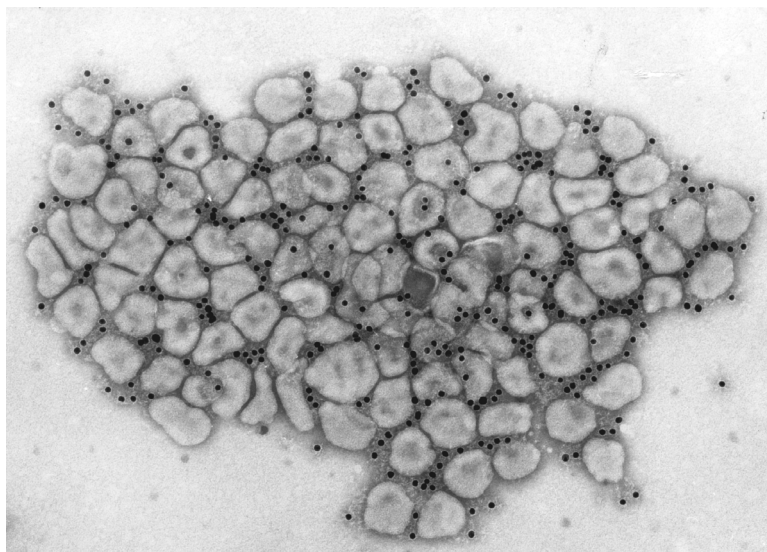
## 參、結果與討論

本室目前已嘗試建立三種不同病原免疫膠體金技術，分別為羊傳染性膿皰症（圖一）、傳染性胃腸炎（圖二）、假性狂犬病（圖三），實驗結果即如附圖所示，未來將繼續修正免疫膠體金之實驗設計

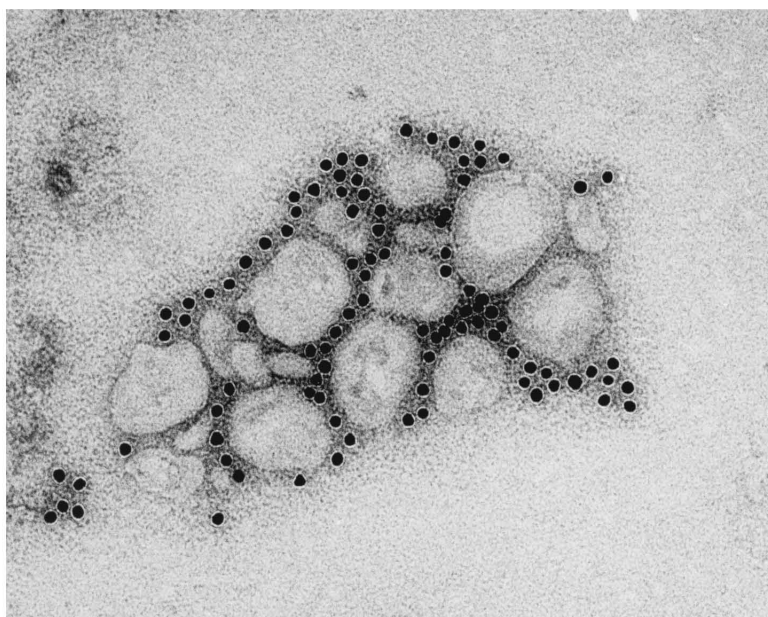
及操作流程，希望能將此技術熟練並能獲得穩定之實驗結果，以期能儘早將此技術納為平日例行性的檢定業務檢測項目中。



圖一、羊傳染性膿胞症病毒(免疫膠體金負染色法)



圖二、傳染性胃腸炎病毒(免疫膠體金負染色法)



圖三、假性狂犬病病毒(免疫膠體金負染色法)