

A human promyelocytic leukemia cell line (HL-60) expressing the carbohydrate ligands was used as a control.

Interactions of selectins and their ligands mediate rolling and tethering of leukocytes to the endothelial wall under flow, which are important to inflammatory response and tumor metastasis cascade<sup>[5,6]</sup>. Following the line of kinetic measurements developed before<sup>[7-10]</sup>, we measured experimentally via a micropipet aspiration assay the binding of P-selectin/PSGL-1 interactions in three categories: 1) A mBFP binds to a HL-60 cell; 2) A mBFP binds to a red cell coated with purified PSGL-1 from neutrophils<sup>[7,8]</sup>; 3) A mBFP binds to a microsphere coated with PSGL-1. Upon the well-developed probabilistic model<sup>[7-10]</sup>, kinetic rates and binding affinities were predicted by fitting the measured data with the model. Comparisons of kinetic parameters were made from the three categories to distinguish the effect of surface microtopology. Force measurements demonstrated that mBFP is the more accurate force transducer compared with RBC itself. We concluded that both microtopology and stiffness impact the interactions of receptors and their ligands. These further the understandings of cell adhesions mediated by adhesive molecules from various microtopological surfaces.

#### References:

- [1] Williams T. E., S. Nagarajan, P. Selvaraj, et al. (2001). *J. Biol. Chem.* 276: 13283-13288.
- [2] Evans E., A. Leung, D. Hammer, et al. (2001). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 98: 3784-3789.
- [3] Evans E., K. Ritchie, and R. Merkel. (1995). *Biophys. J.* 68: 2580-2587.
- [4] Evans E. (2001). *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 30: 105-128.
- [5] McEver R. P. (2001). *Thromb. Haemost.* 86: 746-756.
- [6] Mehta P., R. D. Cummings, and R. P. McEver. (1998). *J. Biol. Chem.* 273: 32506-32513.
- [7] Chesla S. E., P. Selvaraj, and C. Zhu. (1998). *Biophys. J.* 75: 1553-1572.
- [8] Long M., H. Zhao, K.-S. Huang, et al. (2001). *Ann. Biomed. Eng.* 29: 935-946.
- [9] Long M., H. L. Goldsmith, D. F. Tees, et al. (1999). *Biophys. J.* 76: 1112-1128.
- [10] Zhu C, M. Long, S. E. Chesla, et al. (2002). *Ann. Biomed. Eng.* 30: 305-314.

\* Supported by NSFC grants 10072071, 10128205, and 30225027

## 力学环境因素与骨髓间充质干细胞的增殖与分化

孙树津, 后晓南, 龙勉, 陶祖莱

中国科学院力学研究所 国家微重力实验室, 北京 100080, E-mail: sun\_shj@21cn.com

间充质干细胞具有多向分化功能,在体外培养时仍可保持其增殖和分化的能力,可以作为组织工程的一种较为理想的细胞来源。细胞与胞外环境之间以及细胞与细胞之间的相互作用对细胞增殖和分化具有重要影响。对干细胞的研究大多集中于生化因素的影响,而且一般是在静态的常规细胞培养容器中进行。在本研究中,尝试在骨髓间充质干细胞的培养过程中,施加不同的力学环境,考查不同的力学信号刺激对骨髓间充质干细胞增殖和分化的影响。为此采用两种细胞培养系统:(1)运用三维旋转细胞培养系统对骨髓间充质干细胞进行高密度培养,旋转培养器所可以提供一个三维的、低剪切的环境,并能保证充分的物质交换。主要考查该培养系统对骨髓间充质干细胞增殖的影响;(2)运用弹性基底动态加载培养系统,对培养细胞的基底施加不同频率和幅度的动态加载,考查不同水平的应力刺激对骨髓间充质干细胞增殖和分化的影响。目前获得的实验数据表明,在三维旋转细胞培养系统内可以实现骨髓间充质干细胞的高密度培养,在该条件下部分细胞可以三维生长,培养效率得到提高。增殖后的骨髓间充质干细胞其分化能力与常规培养方法获得的细胞无显著差异。应力刺激可以显著地改变骨髓间充质干细胞的铺展形态,并影响细胞增殖与分化的进程。

## 作用力对 TNF- $\alpha$ 抗原/抗体二维反应的影响\*

李宝霞, 叶志义, 龙勉<sup>△</sup>

中国科学院 力学研究所 国家微重力实验室, 北京 100080; <sup>△</sup> E-mail: mlong@imech.ac.cn

TNF- $\alpha$  是一种多功能的细胞因子,具有杀伤或抑制肿瘤细胞,提高中性粒细胞吞噬能力等多种重要的生物学功能;同时也发现各种原因引发的感染性休克、炎症、自身免疫性疾病均表现为 TNF- $\alpha$  表达水平过高。大量的研究结果表明,TNF- $\alpha$  参与诸如脓毒症、感染、自身免疫疾病、移植物排斥、移植物抗宿主病等多种人类疾病。随着 TNF 晶体结构的获得,目前已着手设计治疗策略以抑制或抵消 TNF- $\alpha$  的活性。其中,国内外正在寻找中和 TNF- $\alpha$  的抗体作为抑制 TNF- $\alpha$  活性的手段。

研究作用力对 TNF- $\alpha$  抗原/抗体二维反应的影响,不仅可以从二维反应动力学角度评价 TNF- $\alpha$  抗体的活性,而且可以深入理解 TNF- $\alpha$  抗原和抗体分子相互作用的规律,对于医学上设计小分子 TNF- $\alpha$  抗体药物和评价其活性具有重要的理论指导和实际意义。

原子力显微镜(Atomic Force Microscopy, AFM)可以在皮牛量级测得不同力学条件下抗体/抗原分子间的作用力<sup>[1-4]</sup>,或键的解离力。选取抗 TNF- $\alpha$  鼠源单克隆全抗体( $F_c + F_{(ab)_2}$ )、鼠源单克隆抗体功能片段( $F_{(ab)_2}$ )和人源化单克隆抗体功能片段( $F_{(ab)_2}$ )作为实验对象,前两种抗体为后一种(具有重要临床治疗价值)的对照。实验过程中,分别将 TNF- $\alpha$  抗原和抗体分子物理吸附在云母片和 AFM 针尖上,然后用 1% BSA 缓冲溶液封闭云母片和针尖上未吸附抗原和抗体分子的位点,以减少非特异反应。通过靠近→接触→分离循环的重复实验,可以测得抗原和抗体分子间的成键概率和键的解离力。已经设计了一组空白和阻断实验,实验结果证明了抗原/抗体反应的特异性。

实验结果表明,与选择素/配体解离的情形类似,TNF- $\alpha$  抗原/抗体间的解离力满足正态分布,而非一定值;TNF- $\alpha$  抗原/抗体解离力峰值大于选择素/配体的值,这主要是因为前者的反应亲和性较后者高 3 个数量级。同时,不同进针速率(作用力)、回拉速率和接触时间等影响抗原/抗体反应的成键概率和键的解离力。基于小系统概率动力学模型<sup>[5-10]</sup>,可从成键概率-接触时间曲线得到二维反应动力学常数,从而评价反应亲和性;在相同接触时间和回拉速率下,进针速率对反应动力学常数和键解离力的影响可以反映作用力对抗原与抗体分子结合过程结合能量变化和结合状态的影响;在相同接触时间和进针速率下,回拉速率对键解离力的影响可以反映作用力对抗原与抗体分子解离过程解离能量变化和解离状态的影响。上述结果有助于进一步认识抗原与抗体分子相互作用的规律,其反应亲和性和键解离力的测试和评价方法与抗体同源建模方法相结合,有可能为抗体活性中心的确定、从而为小分子药物设计平台的建立提供方法学基础。

#### 参考文献:

- [1] Dammer U., M. Hegner, D. Anselmetti, et al. (1996). *Biophys J.* 70: 2437 - 2441.
- [2] Raab A., W. Han, D. Badt, et al. (1999). *Nature Biotech.* 17: 902 - 905.
- [3] Ros R., F. Schwesinger, D. Anselmetti, et al. (1998). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 95: 7402 - 7405.
- [4] Allen S., J. Davies, M. C. Davies, et al. (1999). *Biochem J.* 341: 173 - 178.
- [5] McQuarrie D. A. (1963). *J. Chem. Phys.* 38: 433 - 437.
- [6] McQuarrie D. A., C. J. Jachimowski, and M. E. Russell. (1964). *J. Chem. Phys.* 40: 2914 - 2922.
- [7] Chesla S. E., P. Selvaraj, and C. Zhu, (1998). *Biophys. J.* 75: 1553 - 1572.
- [8] Long M., H. L. Goldsmith, D. F. Tees et al. (1999). *Biophys. J.* 76: 1112 - 1128.
- [9] Long M., H. Zhao, K. -S. Huang, et al. (2001). *Ann. Biomed. Engi.* 29: 935 - 946.
- [10] Zhu C, M. Long, S. E. Chesla, et al. (2002). *Ann. Biomed. Engi.* 30: 305 - 314.

\* 本项目得到国家杰出青年基金 A 类(30225027)、B 类(10128205)资助

## 微管在细胞可变形性中的作用——抗拒微丝产生的张力

张毅奕, 陶祖莱

国家微重力实验室, 中科院力学所, 北京 100080, E-mail: zyyrhy@yahoo.com

细胞的形态和力学性质或者说细胞的可变形性,决定了细胞对载荷的敏感程度。例如,剪应力持久作用可导致血管内皮细胞长轴沿流场方向排列,同时伴随细胞弹性模量的显著增高以及作用在细胞表面的剪应力梯度的显著降低。与此相对应,同一剪应力条件不再能诱导重排后的血管内皮细胞产生相应的生物学效应,如细胞膜上牵拉敏感离子通道的开放、胞内  $Ca^{2+}$  浓度和血小板衍生生长因子(PDGF)B 链 mRNA 的转录水平的增高等。这些证据表明,细胞的可变形性是细胞得以分辨其已经适应的和未适应的载荷的一种机制。

细胞的可变形性取决于细胞骨架的三维结构和力学行为,剪应力持久作用诱导的血管内皮细胞重排就是微丝骨架重排的结果。因此,深入理解细胞骨架的力学行为并建立相应的理论框架将有助于阐明细胞功能的力学调控现象。目前广为接受的一类理论框架是细胞的张力模型,认为细胞本身具有由微丝产生的张力,此张力是细胞抗拒变形的主要因素。根据对胞内张力分布以及细胞如何平衡胞内张力的不同看法,此类模型主要分为两种,即弹性皮层-粘性胞质模型(elastic cortex - viscous cytosol)和张力整体模型(tensegrity model)。前者的实验基础是细胞的微管吸吮实验,认为胞内张力主要存在于细胞膜下皮层中的微丝网络,胞内渗透压和胞外粘附位点是其平衡因素,而细胞质表现为粘性液体力学行为,微管漂浮于其中。后者借鉴建筑学中的张力整体模型,认为细胞内存在连续张力元件和非连续压力元件,张力元件主要是微丝网络,其产生的张力连续分布于整个细胞中,而压力元件包括胞外粘附位点和微管,因而细胞质表现为固体力学行为。这两种模型之间的关键差别之一是微管在细胞可变形性中的作用,即微管能否抗拒微