

由新型激光衍射法测量结果推算红细胞膜弹性模量*

严宗毅 尚俊杰 山慧贤** 文宗曜**

(北京大学 力学与工程科学系 100871 **北京联合大学 应用文理学院信息科学系 100083)

(***北京医科大学 医学物理教研室血液流变学中心 100083)

文宗曜教授等近年提出的新型激光衍射法与传统激光衍射法的差别在于：把红细胞悬浮在低粘度介质中，测量它们在突然停止剪切之后的动态松弛过程，由快慢两个时相的数据分别得到红细胞的小变形指标 (DI)_d 和取向指标 (DI)_{or}。本文由这一小变形指标 (DI)_d 出发，通过对于红细胞的受力分析，推算出红细胞膜的剪切弹性模量 E。红细胞膜的本构方程指出 $T = E/2(\lambda^2 - 1/\lambda^2)$ ，这里 T 是细胞膜小微元受到的张力， λ 是细胞膜小微元的拉伸比。如果我们在平均意义上把上述关系用到红细胞整体，近似地把 λ 取作变形后扁球形红细胞半长轴长度 C 与变形前圆盘形红细胞的半径 C_0 之比，那么很容易由测量到的 (DI)_d 的值算出 λ 的值。如果再能设法估算出细胞膜上张力 T 的大小，就可以推算出红细胞膜的弹性模量 E。我们用两种办法来估算张力 T，一种假设红细胞表面的流体应力与未扰动的剪切流中一样，另一种则采用体内奇点分布法求解低雷诺数剪切流中扁椭球表面的应力分布，沿剪切平面的边界积分计算。前者得到了解析表达式，后者则导出了拟合公式。我们的实验表明，只要保持切变率小于 $150s^{-1}$ ，由上述两种办法算出的男女健康人红细胞膜弹性模量都与国际文献中引用的正常值一致。进一步实验发现，这样算出的弹性模量值，能够正确而敏感地反映出钙离子通道、胰蛋白酶、吗啡等对于红细胞膜的影响，对于基础与临床研究有重要价值。(* 国家自然科学基金资助项目)

BSA 和胶原的竞争性吸附与细胞粘附

应佩青 王战会 靳刚 陶祖莱

(中科院力学研究所微重力室 北京 100080)

细胞在材料表面的粘附是贴壁依赖型细胞生长的前提，细胞只有在表面以一定的粘附力发生粘附并铺展后，细胞才能生长。当细胞与表面的粘附力较强时，有利于细胞生长，而当粘附力较弱时，则有利于细胞分化。现在普遍认为细胞粘附过程由细胞表面的受体对细胞外基质 (ECM) 蛋白的特异性识别所调节。胶原等细胞外基质影响细胞的形态和功能，并提供细胞分化和增殖的信号。而培养介质是复杂的溶液，它们中许多有血清或添加的蛋白和表面活性物质。因而细胞在材料表面的粘附受蛋白质竞争性吸附所调节，包括基底预处理、培养基以及细胞分泌等许多不同来源的蛋白质竞争吸附。基底亲水性可影响蛋白在表面的吸附，因而研究蛋白在材料表面的吸附及疏水性对吸附的影响，有助于研究细胞-材料表面相互作用，并为组织工程中构建有利于细胞粘附和生长的生物材料提供有用信息。

本文在经过预处理而得到的亲水和疏水两种表面上，研究了 BSA 和胶原的吸附，并利用偏光显微成像系统观察。结果表明，在单组分溶液中，胶原在疏水表面的吸附量比亲水表面的吸附量大，但在亲水表面的吸附速率比在疏水表面的吸附速率高。而当 BSA 和胶原共存时，胶原优先在亲水表面吸附，而 BSA 则较多吸附于疏水表面上。为了进一步研究蛋白质竞争性吸附与细胞粘附的关系，进行了细胞粘附实验。采用 NIH3T3 细胞，当培养基中不含血清及蛋白质时，细胞在亲水表面和疏水表面上的粘附区别不大。但当培养基中加入 BSA 和胶原，在亲水表面的粘附多于在疏水表面的粘附细胞。在含血清培养基中也发生类似现象，说明在含血清培养过程，血清中含有的多种蛋白质在表面的竞争性吸附是导致细胞在不同表面粘附不同的主要原因。

毛细管微包被法控制细胞粘附和生长

张毅奕 高宇欣 陶祖莱

(国家微重力实验室 中科院力学所 北京 100080)

细胞在基质表面上的定位粘附和生长是组织工程以及基于细胞的生物芯片和生物传感器等新兴生物工程领域的核心技术。由于哺乳动物细胞的平均直径约为 $10\mu m$ ，这种定位必须是微米尺度上的定位。目前有几种技术手段包括光刻法、光化学法和分子自组装单层法可用于达成这个目的，这些手段实际上均为传统

半导体工业中光刻技术的延伸。然而,对于生物学工作者来说,这三种方法均存在一定局限,或者需要昂贵的专业设备(光刻与光化学法),或者牵涉到专业的化学合成技术(分子自组装单层法)。在此,我们报道另外一种基于光刻技术的表面化学性质修饰技术,即毛细管微包被法。该法利用商业来源的聚二甲基硅烷(PDMS)印章和聚羟乙基异丁烯酸酯(Poly-HEMA)为基本工具,其余环节均可为生物学家轻易控制。

方法 PDMS 印章含模式结构(50 μm 圆的阵列)一面向下置于培养皿表面,施加适宜压力以形成紧密接触,即可在界面上生成毛细管微通道。在印章一端滴加一滴 Poly-HEMA 溶液,溶液即可借助毛细作用自发充填毛细管通道。静置或置于真空容器中。乙醇挥发完毕后, Poly-HEMA 即包被于培养皿表面。紫外照射灭菌后,以 2×10^5 cells/ml 密度接种大鼠成骨肉瘤细胞 ROS17/2.8。部分实验培养基中含丝裂霉素 C 以抑制细胞增殖,藉此满足生物传感器或生物芯片对单细胞信号检测的要求。结果 毛细管微包被法可成功实现基质表面微米尺度化学性质修饰。Poly-HEMA 包被忠实再现 PDMS 印章表面模式,其厚度随所用浓度增加而增加,抑制细胞粘附能力也随之增强,8%浓度包被可完全抑制细胞在包被区域的粘附。细胞仅在未包被区域粘附并生长。丝裂霉素 C 处理导致 DNA 合成受到抑制,在长达 7 天的实验期内,ROS17/2.8 细胞呈现单细胞粘附,并维持生存。结论 毛细管微包被法简便易行,可用于微米尺度的表面化学性质修饰,诱导细胞的定位粘附和生长,形成组织工程研究所需要的模式化结构生长。结合使用丝裂霉素 C,还可实现单个细胞的长期粘附并维持其生存,表明该技术在基于细胞的生物芯片或生物传感器中具有潜在的应用前景。

细胞粘附强度与细胞活力的关系

张毅奕 高宇欣 陶祖莱

(国家微重力实验室 中科院力学所 北京 100080)

在细胞骨架的三种成分中,微丝和中等纤维可产生张力,这也是悬浮细胞呈现球形的原因。细胞贴壁后铺展的过程因而也是对抗内部张力并产生形态变化的过程。在这个过程中起作用的因素主要是微管的抗压性质和局部粘附(focal adhesion)的形成。事实上,这些力的平衡状态与细胞的迁移、增殖、分化等生理过程密切相关。另一方面,诸如血管内皮细胞、心肌细胞、成骨细胞、骨细胞、软骨细胞、上皮细胞等力敏感(mechanosensitive)细胞在外力作用下产生的诸多变化如形态和细胞骨架的重排、第二信使分子的生成、基因表达的上调或下调、蛋白质分泌行为的改变等均与细胞力平衡状态的改变有关。当新的平衡建立以后,细胞可获得某种信号筛选机制,从而改变细胞对外力的应答活动。血管内皮细胞对流体剪应力作用的适应就是一个极好的例子。基于这些观点,我们可以合理地推断,细胞的力学性质是其功能的重要调节因素。

为了验证我们的假说,首先需要设法控制细胞的力学性质。细胞的力学性质可以在不同的水平上用众多的参数加以描述,如细胞水平上的粘弹性或粘附强度、亚细胞水平上细胞骨架的刚性、分子水平上 DNA 的刚性。我们选择细胞的粘附强度来描述细胞的力学性质,以期建立细胞力学性质与功能间的联系。

粘附强度至少部分地与细胞的粘附面积和形状相关。借助微制作技术,我们在基质表面上制备了微米尺度的支持细胞粘附的区域,又称粘附小岛。这种粘附小岛仅支持单个细胞的粘附。通过对粘附小岛尺寸和形状加以控制,可以控制细胞最终的尺寸和形状。我们检测了形态相同而粘附面积不同以及粘附面积相同而形态不同两种条件下细胞的凋亡指数和 DNA 合成状况,并利用平行板流动腔检测了不同条件下的细胞的粘附强度。结果表明,细胞的粘附强度与细胞生死或 DNA 合成状况明显相关。

川芎嗪阻断 ICAM-1/LFA-1 介导的白细胞粘附的研究*

庄逢源 赵红 李秀峰** 董晔 朱承***

(中日友好医院-临床医学研究所 血液流变学研究室 北京 100029)

(**北京工业大学-生物医学工程中心 北京 100022 中国)

(***美国乔治亚理工学院机械工程系 亚特兰大 30332-0405)

川芎嗪(TMP-四甲基吡嗪)是中草药川芎的提取物,其化学合成的盐酸川芎嗪注射液已广泛在中国应用于临床心脑血管病的治疗。然而,其效应的分子机理还不清楚。本研究目的是测定 TMP 是否和怎样影