

纳米生物技术

靳 刚 应佩青 (中国科学院力学研究所,国家微重力实验室)

关键词 生物芯片 分子马达 纳米探针 纳米生物材料

纳米生物技术是纳米技术和生物技术相结合的产物,本文主要从生物芯片、分子马达、纳米探针、纳米生物材料以及其他纳米生物技术等方面介绍了此领域里的重要发展。

一、引言

纳米技术又称为分子纳米技术。诺贝尔奖获得者、物理学家 Richard Feynman 首次提出纳米技术的概念是在 1959 年。Drexler 将纳米技术定义为“分子制造的产品和过程,即基于分子操纵所获得的分子装配所形成的产物及其控制”^[1]。而纳米生物技术是纳米技术和生物技术相结合的产物,它既可以用于生物医学,也可以服务于电子学、材料科学以及其他社会需求。从分子水平装配具有复杂功能的装置和体系,这一点在生物学领域有许多可以借鉴之处。自然界表明了分子本身可以作为机器,生物体就依赖于这些分子机器而生存。例如,酶类作为分子机器可以连接、断裂或重排分子间的键;肌肉的运动通过分子机器拉动纤维来实现。作为数据存储系统的 DNA 将数据指示传递给生产蛋白质的分子机器——核糖体。反之,这些蛋白质分子构成了大部分的分子机器。虽然与自然界的复杂性相比,我们目前装配分子工具、装置和材料的能力还很有限,但芯片技术、分子马达、纳米探针等纳米生物技术已取得了很大的发展。本文就纳米生物技术在这些方面的发展作一介绍。

二、生物芯片技术

生物芯片是不同于半导体电子芯片的另一类芯片。半导体电子芯片是集成具有特定电子学功能的微单元,所形成的电子集成电路;而生物芯片则是在很小几何尺度的表面积上,装配一种或集成多种生物活性,仅用微量生理或生物采样即可以同时检测和研究不同的生物细胞、生物分子和 DNA 的特性以及它们之间的相互作用,从而获得生命微观活动的规律。生物芯片可以粗略地分为细胞芯片、蛋白质芯片(生物分子芯片)和基因芯片(即 DNA 芯片)等几类,都有集成、并行和快速检测的

优点,已成为 21 世纪生物医学工程的前沿科技。

近两年,已经通过微制作技术制成了微米量级的机械手,能够在细胞溶液中捕捉到单个细胞,进行细胞结构、功能和通讯等特性研究。美国哈佛大学的 Whitesides 教授领导的研究小组,发展了微电子工业普遍使用的光刻技术在生物学领域的应用,并研制出效果更好的软光刻方法(soft lithography)^[2,3]。以此制出了可以捕捉和固定单个细胞的生物芯片,通过调节细胞间距等研究细胞分泌和胞间通讯。此类细胞芯片还可以作细胞分类和纯化等。它的功能原理非常简单,仅利用芯片表面微单元的几何尺寸和表面改性,即可达到选择和固定细胞及细胞面密度控制。

蛋白质芯片的发展已经历了约 10 年的时间,现已出现相对成熟的技术,如瑞典的 BIACORE 的单元芯片^[4],中科院力学所的光学多元蛋白质芯片和美国的 SELDI 质谱芯片^[5]等。它们的共同特点是将生物分子作为配基,以单一、或面阵、或序列式固定在固体芯片表面或表面微单元上。利用生物分子间的特异结合的自然属性,待测分子与配基分子在芯片表面会形成生物分子复合物。然后,检测此复合物的存在与否,达到对蛋白质的探测、识别和纯化的目的。以上不同技术的差异仅存在于探测方法上。BIACORE 技术利用表面等离子体共振技术检测芯片,进行单一蛋白质检测;光学多元蛋白质芯片是光学成像法,可以同时检测多种混合的蛋白质;SELDI 技术则采用质谱法,以时间顺序检测序列蛋白质。另外,还有荧光检测的蛋白芯片^[6]等。

随着人类基因工程的发展,基因芯片(即 DNA 芯片)得到迅速的发展^[7-10]。DNA 芯片又称为寡核苷酸阵列或杂交阵列分析,它是根据 DNA 双螺旋原理发展起来的核酸链间分子杂交的技术。它的基本结构类似于面阵型蛋白质芯片,在芯片表面能够制备成千上万的基因单元作为配基,对待测基因进行筛选。通过 PCR 扩增技术将待测基因数量放大,再进行荧光标记,使其在筛选过程

中产生可识别的荧光发射或光谱转移. 此荧光信号被荧光显微检测系统检出, 达到基因识别的目的. 将已知的 DNA (探针) 和未知的核酸序列之间的一方以有序的阵列固定到固体基片上, 再与荧光标记的另一方进行杂交. 当荧光标记的一方在 DNA 芯片上发现互补序列时即发生杂交, 杂交的结果以荧光和模式识别分析来检测. DNA 芯片技术可以快速分析大量的基因信息, 从而使生物学工作者可以研究并收集基因表达和变异信息. 目前国内外已有公司生产并销售的 DNA 芯片有两类: 一类是在芯片上原位合成待测的寡核苷酸, 再与荧光标记的 DNA 探针放在一起, 当 DNA 探针杂交到寡核苷酸阵列上后, 互补序列通过荧光扫描确定. 该寡核苷酸阵列格式可用于检测变异, 在基因中定位目标区域, 和基因表达的研究, 以及确定基因功能. 另一类 DNA 芯片利用微量点样技术在芯片上制作互补 DNA (cDNA) 阵列, 再与荧光标记的 DNA 探针杂交. cDNA 阵列格式用于快速筛选. 如位于美国加州的 Affymetrix 公司生产的基因芯片 (GeneChip[®]) 含高密度的 DNA 探针阵列, 可以用于人类基因组中遗传信息的分析. 具特殊用途的 DNA 探针阵列可以在人类基因组中快速筛选已知的 DNA 序列. DNA 芯片还可用于监测不同的人体细胞和组织基因表达, 以检测癌症或其他疾病所对应的基因的变化.

随着 DNA 芯片及杂交技术的发展, DNA 芯片将有可能直接应用于临床诊断、药物开发和人类遗传研究. 芯片工作程序见封三上图.

三、分子马达

分子马达是由生物大分子构成并利用化学能进行机械做功的纳米系统. 天然的分子马达, 如: 驱动蛋白、RNA 聚合酶、肌球蛋白等, 在生物体内参与了胞质运输、DNA 复制、细胞分裂、肌肉收缩等一系列重要生命活动^[11]. 分子马达包括线性推进和旋转式两大类. 其中线性分子马达是将化学能转化为机械能, 并沿着一条线性轨道运动的生物分子, 主要包括肌球蛋白 (myosin)、驱动蛋白 (kinesin)、DNA 解旋酶 (DNA helicase) 和 RNA 聚合酶 (RNA polymerase) 等. 其中肌肉肌球蛋白是研究得较为深入的一种, 它们以肌动蛋白 (actin) 为线性轨道, 其运动过程与 ATP 水解相偶联. 而驱动蛋白则以微管蛋白为轨道, 沿微管的负极向正极运动, 并由此完成各种细胞内外传质功能. 目前对于驱动蛋白运动机制提出了步行模型, 驱动蛋白的两个头部交替与微管结合, 以步行方式沿微管运动, 运动的步幅是 8 nm. 目前, ATP 水解与肌球蛋白和驱动蛋白的机械运动之间的化学机械偶联的关

系还不清楚. 近来的研究发现它们有相同的中心核结构, 并以相似的构象变化将 ATP 能量转变为蛋白运动^[12]. DNA 解旋酶作为线性分子马达, 以 DNA 分子为轨道, 与 ATP 水解释放的能量相偶联, 在释放 ADP 和 P_i 的同时将 DNA 双链分开成两条互补单链. RNA 聚合酶则在 DNA 转录过程中, 沿 DNA 模板迅速移动, 消耗的能量来自核苷酸的聚合及 RNA 的折叠反应.

旋转式分子马达工作时, 类似于定子和转子之间的旋转运动, 比较典型的旋转式发动机有 F₁-ATP 酶^[13,14]. ATP 酶是一种生物体中普遍存在的酶 (参见封二上右图, 封三中左图), 它由两部分组成: 一部分结合在线粒体膜上, 另一部分在膜外. 当质子流经 ATP 酶时产生力矩, 从而推动了 F₁-ATP 酶的 亚基的旋转. F₁-ATP 酶直径小于 12 nm, 能产生大于 100 pN 的力, 无载荷时转速可达 17 r/s. 将 ATP 酶与其他器件相连, 可以带动其转动. 例如 ATP 酶与纳米机电系统 (nanoNEMS) 的组合, 已成为新型纳米机械装置.

美国康纳尔大学的科学家利用 ATP 酶作为分子马达, 研制出了一种可以进入人体细胞的纳米机电设备——“纳米直升机” (参见封三中右图). 该设备共包括三个组件, 两个金属推进器和一个附属于与金属推进器相连的金属杆的生物分子组件. 其中的生物分子组件将人体的生物“燃料”ATP 转化为机械能, 使得金属推进器的运转速率达到每秒 8 圈. 这种技术仍处于研究初期, 它的控制和应用仍是未知数. 将来有可能完成在人体细胞内发放药物等医疗任务.

四、硅虫晶体管

美国和北爱尔兰的研究者偶然发现了一种活的半导体, 它能够嗅出生物战所用的毒气. 这一发现竟来自科学家为消除计算机芯片生产线上的某些特殊细菌的屡屡失败中. 为消除这些微生物, 研究者试用了从紫外线到强氧化剂, 但是, 细菌仍可幸存. 纽约州立大学的生物学家 Robert Baier 解释了此现象. 在清洗半导体芯片时, 超纯水能够溶解一些半导体材料 (如氧化锗), 而这些半导体材料会围绕细菌结晶, 使细菌在晶体的“家”中存活得极好, 而不会受到损伤. 微生物用半导体材料建立了一个“活”的单元. 此现象提出了广阔的想像空间. 亚利桑纳大学的物理学家 O'Hanlon 和 Baier 认为外面包上硬壳的细菌可以用于制造生物晶体管. 在普通三极管中, 由源极到漏极的电流受门极电压的控制. 而这种细菌半导体晶体恰好可以用作生物晶体管的门极. 当在呼吸和光合作用等产生电子转移的生物过程中, 光照或者

器官的水汽能诱导细菌产生电子,犹如打开了这个生物晶体管.这种精巧的灵敏装置能够探测到生物战毒气.

他们在半导体表面用纯水制作细菌晶体单元,下一步是使它发挥晶体管的功能,并获得更多的应用.

五、纳米探针

一种探测单个活细胞的纳米传感器(参见封三下图),探头尺寸仅为纳米量级,当它插入活细胞时,可探知会导致肿瘤的早期DNA损伤.

为了模仿暴露的致癌物质,将细胞浸入含有苯并吡(BaP)的代谢物的液体中.苯并吡是城市污染空气中普遍存在的致癌物质.在一般暴露情况下,细胞摄取苯并吡,并代谢掉.苯并吡和细胞DNA的代谢反应形成一种可水解的DNA加合物BPT(benzo(a)pyrene tetrol).纳米探针是一支直径50 nm、外面包银的光纤,并传导一束氦-镉激光.它的尖部贴有可识别和结合BPT的单克隆抗体.325 nm波长的激光将激发抗体和BPT所形成的分子复合物产生荧光.此荧光进入探针光纤后,由光探测器接收.Tuan Vo-Dinh和他的同事认为此高选择和高灵敏的纳米传感器可以用于探测很多细胞化学物质,可以监控活细胞的蛋白质和感兴趣的其他生物化学物质.

此传感器还可以探测基因表达和靶细胞的蛋白生成,用于筛选微量药物,以确定哪种药物能够最有效地阻止细胞内致病蛋白的活动.随着纳米技术的进步,最终实现评定单个细胞的健康状况.

六、纳米生物材料

生物材料的种类已是大家熟知的内容,例如:用于制衣、皮带的动物皮革是生物材料;用于镶牙和制作隐形眼镜的材料,尽管不是生物制品,但是被用于生物体内,也可以归于生物材料.纳米生物材料也可以分为两类:一种是适合于生物体内应用的纳米材料,它本身既可以是具有生物活性的,也可以不具有生物活性,而仅仅易于被生物体接受,且不引起不良反应;另一类是利用生物分子的特性而发展的新型纳米材料,它们可能不再被用于生物体,而被用于其他纳米技术或微制造.

1. 活的电线

在很多方面,DNA几乎是构筑纳米尺度结构的理想材料.近来,科学家通过在DNA的表面覆盖金属原子的培植方法,合成了导电的DNA链.然而,由于DNA完全被金属覆盖,仅起一种支架的作用,不再具备选择性地

结合其他生物分子这一很有价值的特性.Saskatchewan大学的研究者逐渐发现了将DNA发展成新一代生物传感器和半导体导线的途径.生物化学教授Jeremy Lee领导的实验室的研究者发现DNA很容易把锌、镍、钴等离子并入其双螺旋中心,并找到了在高pH值等基本条件下,稳定DNA含有金属离子的状态,获得了新的DNA导体.并且,此类金属DNA仍然保持选择性地结合其他分子的能力.正在开发的应用之一是遗传畸变探测生物传感器.类似于其他的DNA探测,在此传感器上装配所要探测的特制DNA序列.在此,DNA链是导电的.杂交DNA所引起的删除或变化,均起阻碍电流的作用,计算机能够简单地通过测量电导变化来识别DNA的异常.

这种生物传感器还能用于鉴别混合物,如:环境毒素、毒品、或蛋白质等,当这类分子结合到金属DNA上,将把金属离子排斥出来,导致电流中断.由于信号强度的减小正比于污染物的浓度,所以能够很容易地确定环境毒素的量.金属DNA还可以用于筛选结合于DNA的抗肿瘤药物,用作微细半导体线路的导线等.

2. 组织工程中的纳米生物材料

材料支架在组织工程中起重要作用,因为贴壁依赖性细胞只有在材料上粘附后,才能生长和分化.模仿天然的细胞外基质——胶原的结构,制成的含纳米纤维的生物可降解材料已开始应用于组织工程的体外及动物实验,并将具备良好的应用前景.国内清华大学研究开发的纳米级羟基磷灰石/胶原复合物在组成上模仿了天然骨基质中无机和有机成分,其纳米级的微结构类似于天然骨基质^[15].多孔的纳米羟基磷灰石/胶原复合物形成的三维支架为成骨细胞提供了与体内相似的微环境.细胞在该支架上能很好地生长并能分泌骨基质.体外及动物实验表明,此种羟基磷灰石/胶原复合物是良好的骨修复纳米生物材料.

七、结 语

随着纳米生物技术的发展,将不仅仅是模仿自然界现有的分子组装,而是实现更深入并有目的地控制分子结构和功能.而纳米技术的发展将使今天的科学幻想成为明天世人普遍接受的实用技术. (2001年4月29日收到)

靳 刚 研究员,博士生导师,中国科学院力学研究所,国家微重力实验室,北京海淀区中关村路15号,北京100080

应佩青 博士生,中国科学院力学研究所,国家微重力实验室,北京海淀区中关村路15号,北京100080

- 1 Drexler K. E. ,Peterson C. ,Pergamit G. *Unbounding the Future: The Nanotechnology Revolution*. New York: Morrow, 1991: 19
- 2 Kane R. S. , *et al.* Patterning proteins and cells using soft lithography. *Biomaterials*, 1999; **20**(23-24): 2363-2376
- 3 Fan H. , *et al.* Rapid prototyping of patterned functional nanostructures. *Nature*, 2000; **405**(6782): 56-60
- 4 Malmqvist M. Biospecific interaction analysis using biosensor technology. *Nature*, 1993; **361**: 186-187
- 5 Merchant M. ,Weinberger S. R. Recent advancements in surface-enhanced laser desorption/ionization-time of flight-mass spectrometry. *Electrophoresis*, 2000; **21**: 1164-1167
- 6 MacBeath G. ,Schreiber S. L. Printing proteins as microarrays for high-throughput function determination. *Science*, 2000; **289**(5485): 1760
- 7 Ramsay G. DNA chips: state-of-the art. *Nature Biotechnology*, 1998; **16**: 40-44
- 8 Lipshutz R. , *et al.* Using oligonucleotide probe arrays to access genetic diversity. *Biotechniques*, 1996; **19**: 442-447
- 9 Schena M. , *et al.* Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science*, 1995; **270**: 467-470
- 10 Schena M. Genome analysis with gene expression microarrays. *Bioessays*, 1996; **18**: 427-431
- 11 王宏发,王金发. 分子发动机研究进展. 生物化学与生物物理进展, 2000; **27**(3): 265-269
- 12 Vale R. D. ,Milligan R. A. The way things move: looking under the hood of molecular motor proteins. *Science*, 2000; **288**(5463): 88-99
- 13 Kinosita K. Jr. , *et al.* F1-ATPase: A rotary motor made of a single molecule. *Cell*, 1998; **93**: 21-24
- 14 Montemagno C. , *et al.* Constructing biological motor powered nanomechanical devices. *Nanotechnology*, 1999; **10**: 225-231
- 15 Du C. , *et al.* Three-dimensional nano-HAp/collagen matrix loading with osteogenic cells in organ culture. *J. Biomed. Mater. Res.*, 1999; **44**(4): 407-415

Nanobiotechnology

Jin Gang , Ying Pei-qing

Research Professor, Supervisor of Ph. D. Candidates, National Microgravity Laboratory, Institute of Mechanics, CAS., Beijing, 100080. e-mail: gajin@imech.ac.cn

Ph. D. Candidate, National Microgravity Laboratory, Institute of Mechanics, CAS., Beijing 100080

Key words biochip, molecular motor, nano-probe, nanobiomaterials

气液驱替法提高燃料电池输出功率初探

徐献芝 (中国科学技术大学力学和机械工程系)

关键词 气液驱替法 气体电极 燃料电池 两相渗流 比表面

本文介绍了多孔电极的一种新的工作方式,在周期性的压力作用下,通过气液两相在多孔电极内的驱替运动,在多孔电极内表面形成有利于气体参与反应的三相界面,并促进反应物的补充和生成物的排泄,使电极能在高电流密度下工作,最终提高燃料电池单位体积的输出功率. 本文论述了这种工作方式的基本原理并给出了估算输出电流的方法.

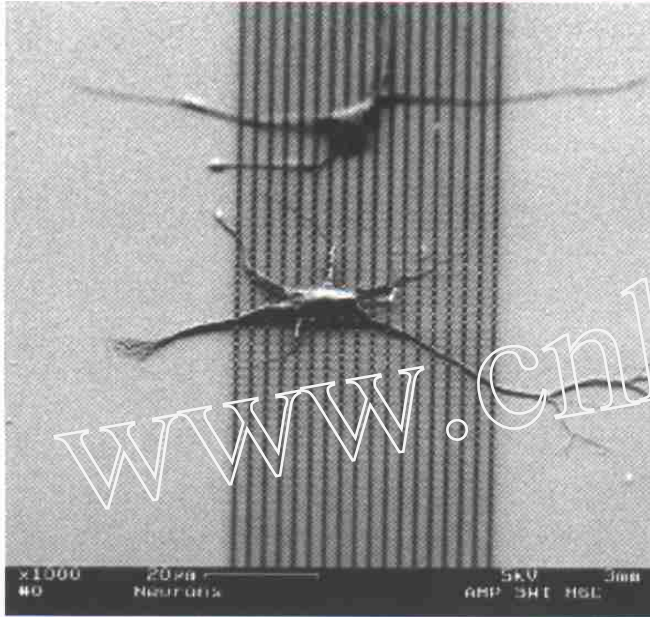
燃料电池将因具有能量转换率高、污染小等特征而成为本世纪最有魅力的能源之一^[1]. 燃料电池是一种化学电池,也是一种新型的发电装置. 燃料电池与一般的原电池和蓄电池不同,它所需要的化学原料不贮存在电池内部而由外部供给. 只要外部不断供给燃料,它就能把燃料的化学能直接而连续地变为电能. 与蒸汽机和内燃机发电相比,燃料电池将化学能直接转变成电能,因此它具备三个特点:首先,不受卡诺循环理论的限制,理论上的能量转换率可达 100%. 事实上,燃料电池最有吸引力的特点正在于此. 其次,因为能量转换率高,其排放远低于蒸汽机和内燃机,对环境造成的污染小. 最后,它没有运动部件,因此噪声小,是理想的洁静动力源.

燃料电池的燃料来源广,可以使用天然气、液化石油气、甲醇、氢、金属等作为燃料. 随着制氢和贮氢技术

的发展,氢氧燃料电池将是人类最理想的电源,因为它彻底解决了环境污染问题,它的排放物是水. 燃料电池技术的应用对提高能源利用效率、改善环境污染有重要意义. 目前,发达国家投入巨资研发绿色汽车和洁净电站,所使用的主要是燃料电池技术. 燃料电池可作为便携式电源而广泛用于军事、航天、工业生产、日常生活等各个领域.

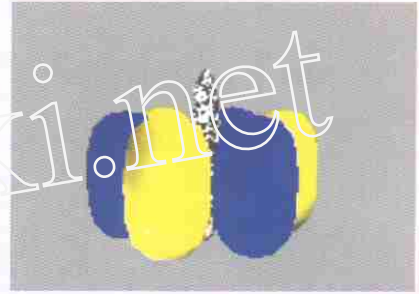
目前,燃料电池输出功率小是阻碍其商业应用的主要原因.

燃料电池的正极采用空气或氧气作为反应物,负极在很多情况下也采用气体作反应物,如氢气、甲烷气等. 因此,气体电极的研究是燃料电池研究领域中的重要方向. 由于气体电极的氧化还原反应仅发生在三相界面上,即导电的固相、电解液和气相同时接触的地方,故气



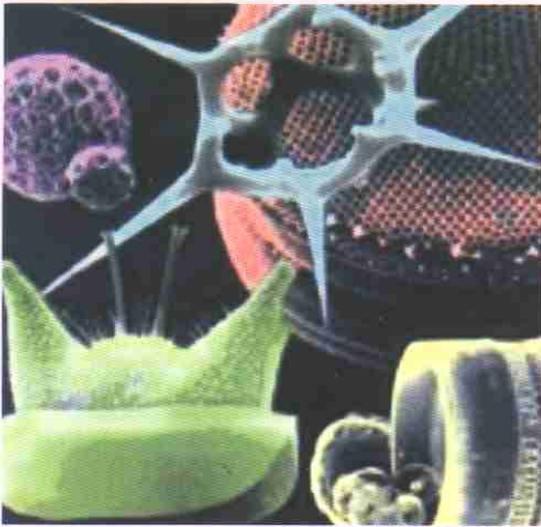
◀ 培养于硅基底上的鼠海马神经细胞扫描电镜图（美国康奈尔大学）

利用纳米生物技术研究表面形貌对中枢神经系统的粘附和生长的影响，以利于改进装置，恢复病人神经功能。



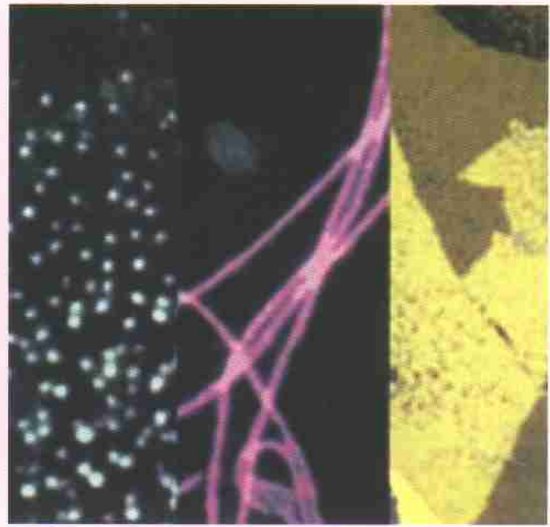
▲ 分子电机

基于单分子ATP酶的微小发动机，与蛋白构成的推进器相连。每秒钟可旋转3~4圈。



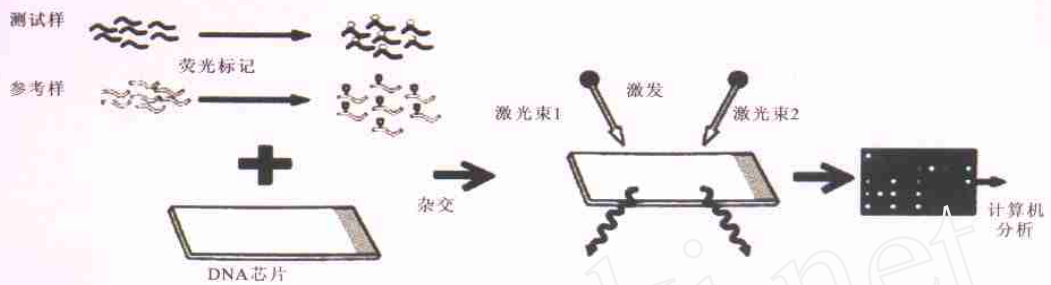
▲ 单细胞微生物的硅壳的扫描电镜图

一些微生物利用模板机理构建起保护作用的硅壳：有机分子沿着细胞膜自组装成更大的结构，再以这些装配体为导向，合成无定形 SiO_2 贝壳。



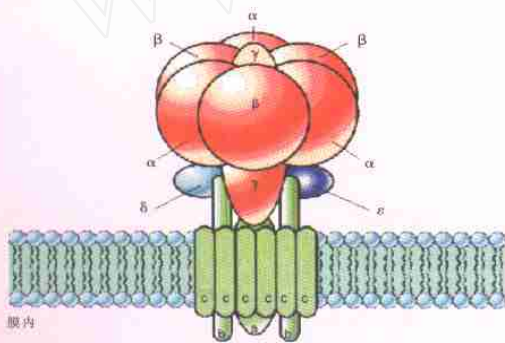
▲ 利用仿生方法合成的硅纳米珠（左）、纳米柱（中）、纳米片（右）

封二、封三参见本期“纳米生物技术”一文

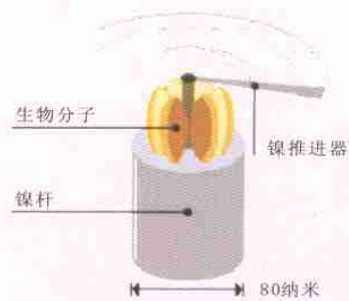


▲ 芯片工作示意图

用不同荧光染料将不同组织或细胞的mRNA分别标记成不同的探针，将探针混合后与芯片上的基因进行杂交。经荧光扫描得到这些基因在不同组织或细胞中的表达图谱。



▲ ATP 酶的结构示意图



▲ 美国康纳尔大学研制成的“纳米直升机”示意图

► 纳米探针

载激光束（蓝色，箭头所指）的纳米传感器探针穿过活细胞，以检测该细胞是否曾置于致癌物

