

管内皮细胞显得相当重要。以鼠颈总动脉血管为材料,通过用超低温方法处理,完全去除内皮细胞,然后种植异种血管内皮细胞,以进行异种血管移植研究。用超低温方法处理鼠颈总动脉血管后血管的力学性质,尤其是血管的零应力状态和无载荷下血管残余应变的改变是本文所研究的主要问题。

**材料与方法** 取12只Wistar大白鼠,分成二组,一组为对照,另一组用超低温方法处理。将大白鼠用戊巴比妥钠麻醉,取其左颈总动脉,生理盐水冲洗后浸入含15%二甲基亚砷溶液瓶中置4°C环境15~30分钟后在-20°C冷冻8小时,置-169°C液氮瓶中24小时。将血管从液氮瓶中取出,使其在30秒或1分钟内急速融化。将鼠左颈总动脉从0点(即鼠左颈总动脉分支处)以大约0.5~0.8mm长度沿轴向切断成一个圆环,然后沿径向切开,这时圆环变成一个扇形的环状结构,整个过程用CCD录像。通过计算机的图像处理测得鼠左颈总动脉零应力状态和无载荷下血管内外壁周长等数据。

**实验结果** 测定鼠左颈总动脉在无载荷状态下血管内残余应变,通常要测量血管在零应力状态下的血管内、外壁周长。以 $L^{(i)}_{ostress}$ 、 $L^{(e)}_{ostress}$ 表,  $i$ 指内壁,  $e$ 指外壁,同样 $L^{(i)}_n$ 、 $L^{(e)}_n$ 也可表示鼠左颈总动脉在无载荷状态下的血管内、外壁周长。在周向上的Green's应变与相应的周向上的伸长比之间的关系可由下列方程表式 $E_{\theta\theta}$ 为周向上的应变,  $\lambda_{\theta}$ 为伸长比。

$$E_{\theta\theta} = \frac{1}{2}(\lambda_{\theta}^2 - 1)$$

实验结果表明,对照组与实验组的差异不大,说明用超低温方法处理鼠颈总动脉血管后血管的力学性质,尤其是血管的零应力状态和无载荷下血管残余应变没有多大的改变。( \*国家自然科学基金重点资助项目19732003)

## ·细胞力学及血液流变学·

### 成纤维细胞在 PHB 可降解材料上的粘附与生长研究

胡江 李涛 陈娟 陶祖莱

(中科院力学所 北京100080)

聚羟基丁酸酯(PHB)多孔材料可作为组织工程用的支架,然而细胞在此材料表面不易粘附生长,这与粘附蛋白在聚合物材料表面的吸附有关。基于材料表面的粘附与细胞生长、增殖、分化和组织发育密切相关,粘附强度可影响工程组织的最终结构与功能,本文通过对PHB材料进行多聚赖氨酸衣被,有效地实现了在PHB可降解支架上种植细胞来构建工程组织。

用离心法制备厚度为20um的透明PHB薄膜,用多聚赖氨酸衣被,对照组为不衣被的PHB薄膜和玻璃片。接种成纤维细胞系NIH3T3,相差显微镜观察细胞的粘附生长过程。细胞在多聚赖氨酸衣被表面迅速粘附,但铺展较慢,接种6小时后才开始铺展;在玻璃片上粘附较慢,但在接种2小时后即发生铺展;在未衣被的PHB薄膜表面细胞粘附弱,并随时间的延长不断聚集形成逐渐增大的类球体结构。用线性变剪切流槽进一步测定了细胞接种1小时的临界剪应力。该结果表明多聚赖氨酸通过促进细胞的粘附而引发细胞的铺展,其机理不同于细胞在玻璃片上由整合素介导的粘附与铺展过程。

用溶媒投放、颗粒沥滤和层压技术制备PHB多孔泡沫支架,孔径控制在200~400um。对支架进行多聚赖氨酸衣被。细胞接种24小时后,MTT法测定细胞接种效率。经衣被的支架接种率达到60.7%,而在未衣被的支架上只有7.4%。扫描电镜进一步观察了细胞的生长形态,发现细胞在衣被材料上大量铺展生长,而在未衣被的材料上只有少量的细胞且大多数细胞未铺展。

实验表明多聚赖氨酸衣被是一种有效促进细胞在可降解聚合物表面生长的方法。

### 生物素-亲和素系统控制细胞在表面的粘附力

胡江 王战会 应佩青 李涛 陶祖莱

(中科院力学所 北京100080)

粘附作用具有重要的生理学意义。细胞与表面的粘附是产生多种生物效应(包括生长、分化、迁移

等)的基本要素。比如,细胞与表面粘附较强时,细胞通常生长;细胞与表面粘附减弱时,细胞发生分化;而细胞要进行分裂,首要的是先去粘附。粘附可以作为控制细胞行为的手段,这在生物工程方面有重要的应用前景。通过对人工血管的内外表面粘附性质的选择性的控制,可以防止由于血小板粘附造成的血栓,淋巴细胞粘附造成的免疫排斥,而增加宿主其它细胞的粘附,可促进人工血管的整合与重建。因此,研究细胞-表面的粘附作用,具有重要的意义。而其中一个重要的方面是可控制表面的粘附力的大小。

从微观结构看,粘附的本质是细胞表面与其所粘附的表面之间有大量的受体-配体相互结合,其化学键作用形成了粘附力。因此,通过控制单位表面特异性化学键的密度,可以控制细胞在表面粘附力的大小。

生物素(Biotin)-亲和素(Avidin)之间发生特异性的亲和作用,亲和常数为 $10^{15}M^{-1}$ ,且每个亲和素分子有4个生物素结合位点,已广泛应用于生物医学研究中的特异性标记技术。本文探讨通过亲和素的桥联作用而使生物素标的细胞黏附到生物素化的表面上,通过改变表面的生物素密度来控制粘附力的大小。

椭圆偏显微成像技术可显示蛋白分子膜层的几何厚度分布。用该技术来观察生物素标牛血清白蛋白(BSA-b)、亲和素在硅基底表面的吸附与特异性亲和作用。硅片用二氯二甲基硅烷处理,形成单分子自组装层的疏水表面。实验中分别用BSA-b 1mg/ml、BSA-b/BSA(1:9) 1mg/ml和BSA 1mg/ml作用0.5小时后达到饱和吸附,然后用0.5mg/ml的Avidin处理0.5小时,使其与BSA-b发生特异性亲和,最后用0.33mg/ml的BSA-b作用0.5小时。各膜层的几何厚度分布反应了蛋白的结合量,而最后一层的BSA-b结合量间接反映生物素标记的细胞的黏附强度。结果显示,在硅烷单分子层上吸附的第一层(BSA, BSA-b及其混合物)厚度一致,均达到饱和和吸附。第二层的亲和素膜层有明显差异,其厚度是BSA-b 1mg/ml>BSA-b/BSA(1:9) 1mg/ml>BSA 1mg/ml。而且亲和素在BSA上的吸附是非特异性的,因为在溶液中的BSA-b作用下发生脱吸附。亲和素结合的差异影响生物素化牛血清白蛋白的进一步结合,反映在第三层的膜层厚度的差异,即BSA-b 1mg/ml>BSA-b/BSA(1:9) 1mg/ml。该结果显示调节BSA-b与BSA的相对比例,可以改变与其结合的亲和素的量,从而控制表面对生物素标记的细胞的粘附力。

## 用新激光衍射法研究钙离子及离子载体A23187对红细胞流变特性的影响

喀蔚波 王淳怡\*

(北京医科大学物理教研室 北京 100083 \*北京工业大学生物医学中心 北京 100022)

本文用新激光衍射法研究了钙离子、钙离子载体A23187对红细胞流变特性的影响。用不同浓度的钙离子、钙离子载体A23187及不同孵育时间的离子载体A23187处理红细胞后,用新激光衍射法分别测量了各样品的取向指数和小变形指数。结果表明钙离子、钙离子载体A23187处理红细胞后取向指数和小变形指数均有不同程度的降低;而且离子载体A23187较细胞外 $Ca^{2+}$ 浓度对红细胞流变特性的影响更大。这表明离子载体A23187在增加细胞内钙离子浓度上起着重要作用。离子载体A23187浓度增加导致红细胞内钙离子浓度增加,从而导致红细胞变形能力、红细胞膜的机械特性以及红细胞膜的流动性明显降低。

## 新型连续式自由流电泳电流体力学实验台的研制及实验

李涛 张毅奕 高宇欣 陶祖莱

(中国科学院力学研究所 国家微重力实验室 北京 100080)

生物制品分离是空间微重力资源开发利用的一个重要方面,而连续式自由流电泳(CFFE)是最有可能应用于空间生物制品分离的一种方法,西方发达国家自八十年代以来进行过多次地面和空间实验,取得了不少成果也发现了不少问题。我们总结了他人的研究结果,自行设计了新型连续式自由流电泳装置,此装置由电泳分离室、双恒流驱动控制系统、电极室-气液分离流动系统、壁温控制-流动系统、样品收集系统五部分组成。其中样品收集系统为创新性设计,彻底解决了连续流电泳收集管易产生气泡且不易排除的通病,提高了分辨率。双恒流驱动控制系统采用自研制的恒流泵,确保缓冲液和样品的平稳输入,克服了传统蠕动泵脉冲输入的缺点,并能精确控制缓冲液和样品的流量比。电极室-气液分离流动系统采用设计独特的气液分离器,有效的避免了电极表面产生的气泡对分离室产生负面影响。本装置采用聚碳酸酯和石英玻璃两种材料制成,电泳室分离间隙分别为0.5, 1.0, 3.0 mm三种尺寸,收集管道数为23~40,管内表面