

经特殊处理,使之不吸附蛋白。

分离样品采用模式蛋白细胞色素 C (Cyt. C) 和血红蛋白 (Hb), 离心后加样, 样品流速从 0.1ml/min 到 0.5ml/min, 缓冲液流速从 10ml/min 到 18ml/min。电泳分离后的样品经紫外分光光度计和聚丙烯酰胺凝胶电泳检测。收集样品经分光光度计测定  $A_{280}$  及  $A_{415}$  吸收峰, 根据测得的光密度值绘制分离曲线。多次实验表明, 本装置样品输入过程稳定, 收集系统流畅, 分离效果很好, 操作简单, 功耗低, 成功的完成了地基实验任务, 为空间连续流式电泳装置的设计和优化提供了依据, 并为可能的地面应用发展作准备。

## 流式细胞术分析交变应力作用对植物细胞周期同步化的影响

李涛 侯月霞\* 蔡国友\*\* 沈子威\*\*\* 席葆树\*\* 陶祖莱

(中国科学院力学研究所 国家微重力实验室 北京 100080 \*中国农业大学应用化学系 100094)

(\*\*清华大学工程力学系 100084 \*\*\*清华大学生物科学与技术系 100084)

应用流式细胞术分析烟草细胞在交变应力作用下细胞周期的变化。用特制的强声波发生装置发生频率和强度可调的交变应力场, 研究不同频率和强度的交变应力作用后烟草细胞周期的变化。领

原生质体所用材料为普通三生烟, 从烟草叶肉细胞中提取原生质体后, 取烟草叶肉细胞原生质体  $2 \times 10^6$  个/mL, 实验分二部分 (1) 在一定声强不同频率的声波对烟草细胞原生质体的作用 1h 后, 加入染色液, 用 FCM 检测交变应力对烟草细胞周期的变化; (2) 在不同声强一定频率的声波对烟草细胞原生质体的作用 1h 后, 加入染色液, 用 FCM 检测交变应力对烟草细胞周期的变化。同时设置对照实验。由于植物细胞比动物细胞更容易聚集, 应用 FCM 方法检测困难很大, 这也是同类实验目前还没有报道的主要原因。本实验在染色和加样直至数据分析各环节都克服了很多困难, 成功的得到了各组条件下的细胞周期图谱。

实验结果表明, 交变应力作用下直接影响细胞周期或细胞分裂的同步化, 促进 S 期的 DNA 合成, 有助于细胞有丝分裂。如声波频率在 400Hz 至 800Hz 的强声波作用使得植物细胞 S 期明显增加, 说明声波作为一种信号刺激能使细胞周期同步化, 有利于 DNA 合成促进细胞有丝分裂。但声波频率过大, 如 8000Hz, 则 S 期细胞大大减少。每一种声波频率下, 声波强度从 90db 到 100db, 随声波强度的增大, S 期细胞明显增加, 100db 增加最大。但声波强度过大如 110db 时, S 期细胞增加的幅度明显减小。说明当频率或强度超过一定限度, 声波反而破坏细胞周期同步化, 不利于 S 期的 DNA 合成。目前清华大学已经在植物组织培养中应用了这项研究结果, 并初步取得了较好效果。

## 线性变剪切流槽测定细胞在材料表面的黏附

李涛 胡江 王翠茹 陶祖莱

(中科院力学所 国家微重力实验室 北京 100080)

本文介绍了一种平行板式线性变剪切流槽, 其剪应力的大小沿流槽长度方向线性变化。这是基于两平行板间的 Hele-Shaw 流理论。流槽厚度远小于流槽长度, 而且是小雷诺数二维不可压缩流动, 计算得出, 从流槽入口到出口, 流体剪应力呈线性递减。这样就实现了在一种流动腔中有不同的剪切力作用在细胞上, 而不用改变流槽厚度和流量, 大大提高实验效率。

流槽上下板由有机玻璃制成, 可在相差显微镜下实时观察细胞。4 个 0.1mm 的不锈钢片控制流槽的高度。由双柱塞恒流泵控制流量。可施加的入口最大剪应力范围  $0.33 \text{ dyn/cm}^2 \sim 166 \text{ dyn/cm}^2$ 。对流槽进行了流场显示。

该流槽可用于同时测定不同剪应力的大小对细胞生长的影响和测定细胞在材料表面的黏附强度。通过沿长轴选取 5 个固定点, 计数细胞在剪切作用作用后脱离的百分比, 做剪应力-脱离曲线, 得出使 50% 细胞脱离的临界剪应力来表征细胞在不同表面的黏附强度。

应用该流槽测定了成纤维细胞系 NIH3T3 在由细胞培养级平皿(Costar)和细菌培养级平皿划取的塑料片上的黏附强度。实验结果表明, 细胞培养级平皿上种植成纤维细胞 1 小时后, 其临界剪应力为  $2.6 \text{ dyn/cm}^2$ , 而细菌级平皿上的临界剪应力只有  $0.45 \text{ dyn/cm}^2$ , 相应地, 细胞在细胞培养级平皿中生长良好, 而在细菌培养级平皿中难以铺展生长, 说明细胞在材料表面的足够的黏附强度是细胞生长的前提条件。

用该流槽进一步测定在多聚赖氨酸衣被的可降解材料聚羟基丁酸酯 (PHB) 薄膜和无衣被的薄膜上的

细胞黏附强度,并与细胞培养级的塑料片进行了比较。实验结果表明,多聚赖氨酸衣被有效的促进了细胞在聚合物表面的黏附生长,从而实现在 PHB 多孔三维支架上构建工程组织。

### 温度对血栓形成的影响\*

刘建刚\*\* 钱民全 彭荣蕤 赵笃凤 钱大兴

(\*\*中国中医研究院西苑医院 北京 100091 中国科学院力学研究所 北京 100080)

二十年前,我们提出在测量体外血栓形成时,统一采用 37°C 恒温<sup>[1]</sup>以便于比较。当时的考虑是因为人的体温是 37°C,而血栓在体内也是在体温情况下形成的。

为了深入研究体外血栓形成各种因素的影响,我们研究了温度对血栓形成的影响。

在 37°C 时,测量体外血栓形成已经有许多年的历史,已为临床诊治、药物筛选等作出了一定的贡献。国外许多的文献表明,是在室温下测量人工血栓形成的。我们原来在基金申请时认为,如果形成血栓的有形成分不受温度的影响的话,那么,37°C 和室温的其它相同条件下形成的血栓的重量也是相同的。经我们在 37°C 和室温下人工形成血栓,发现它们是有一定的区别的。如果为比较,大家采用室温形成血栓,也是有可比性。

和我们类似,文献也做过存贮温度对血栓形成的影响,不过他们是以特征血栓形成时间作为指标的,他们发现对于相同存贮时间,温度为 0°C、18°C、37°C,随着温度的提高,特征血栓形成时间逐渐增加。

我们认为,血液形成血栓,血液必须处在血栓形成的激发状态,这时在一定的流动条件下就可能形成血栓。健康人的血液在体内不处于血栓形成的激发状态,所以不会形成体内血栓。对于有血栓的病人,他一定曾处于血栓形成的激发状态。处于血栓形成的激发状态时,在一定的流动条件下,就可形成不可逆的血栓。即使是血栓病人也不是永远处于激发状态的,否则这个人一直形成血栓,也就活不成了。而在体外,在 37°C 和室温条件下,不管任何健康人和血栓病人,都要处于血栓形成的激发状态,所以任何人的血液在 Chandler 圆环中转动以后,都要形成血栓,只不过血栓形成的时间、重量、长度不同而已。人们就用这些参数的不同,来判断健康人和血栓病人患病的状况。

在 0°C 以下的情况下(实验时实际温度为-2~-4°C),我们利用 Chandler 圆环来形成血栓没有成功。对于我们的这一发现,是有其重要的意义的。人们可以用迅速冷冻的方法贮存血液,使用时迅速解冻,这样血液是不会形成血栓的。迅速低温冷冻动物(如鱼类等),以后又迅速解冻,动物可以恢复活性的实验已经成功。联系我们上述的实验,就可以理解这种实验了。也许不久的将来可以对人本身加以冷冻,而解冻后使人重新恢复活力。

如果保证实验时几何相似、动力学相似(温度对血液粘度的改变,调整 Chandler 圆环转动速度,使雷诺数相等等)。我们曾提出用室温代替 37°C 恒温来形成人工血栓,以方便检查并益于推广。

然而实验后发现血栓形成受多种流动条件的影响,更与血液的生化条件有关。为此,我们仍然建议各单位采用统一的实验温度为好,原则上室温也可以采用,但室温国外常采用 15°C,而我国则常采用 20°C 或 25°C,反而又不统一,所以大家采用 37°C 作为统一的实验温度是可取的。(\*国家自然科学基金资助项目 199772061)

### 流速对 Chandler 圆环中形成人工血栓的影响\*

钱民全 彭荣蕤 赵笃凤 钱大兴 刘建刚\*\*

(中国科学院力学研究所 北京 100080 \*\*中国中医研究院西苑医院 北京 100091)

血液在毛细管内与大动脉内的流动速度可以相差 4~5 个量级,它们相应的雷诺数在  $10^{-3}$  到  $10^{-2}$  之间。因此研究血液流动速度对血栓形成的影响无疑是很有意义的。因为人们希望体外血栓形成与在体内形成血栓的流动条件有相似性,将体外流动速度调整到在体流动的速度,从而使其有可比性就是其中的措施之一。

有人将特征血栓形成时间(CTET the characteristic thrombus formation time),或血栓形成时间(The thrombus formation time)和流动凝结时间(The blowing clotting time)作为人工血栓形成的检测指标。对于同一采血时间以后,有人在直径 8.1cm、管内径 2.9mm 的圆环上,做了 5, 15, 50 转/分的人工血栓形成实验,发现它们都能形成血栓随着旋转速度的提高,特征血栓形成时间增加,但不与特征时间成正比。