

丝产生的张力。

为了明确微管的作用,我们发展了氧等离子体硫化制作可变形硅胶薄膜培养基底的方法。其基本出发点是,建立能够灵敏反应细胞力学平衡状态偏移的实验体系,通过工具药物选择性地破坏细胞骨架,观察细胞力学平衡的偏移,从而验证特定细胞骨架成分的力学作用。由于薄膜基底刚度很小,细胞与基底间的力学相互作用可使其产生显著的皱褶变形,细胞力学平衡的偏移也可直观地表现为皱褶变化的变化。与 Harris 等人发展的加热硫化法相比,此法制作的硅胶基底具有亲水表面和较高的表面张力,细胞可在 30~60min 内粘附并使基底产生皱褶,因而能够更加客观地显示细胞的力学平衡状态。

利用该体系我们进行了一些初步实验。培养在可变形硅胶基底上的人成纤维细胞和牛主动脉内皮细胞,以细胞松弛素 D 和秋水仙素分别破坏微丝和微管,我们观察到:破坏微丝可使基底的皱褶变形迅速减少并趋于消失,表明基底承受张力的减小;而破坏微管时,基底皱褶变形呈现双时相变化,即初期增强(<20min)和后期减弱(>20min)。初期增强表现为原有皱褶的延长和/或新皱褶的出现,此时细胞铺展面积没有明显变化;后期减弱则表现为基底皱褶逐渐消失,同时伴随细胞铺展面积的减小。对此,我们的解释是,微管确实可以平衡微丝的张力,当微管逐渐破坏时,其承受的张力同步转移到胞外粘附位点,基底皱褶变形因而增强。至于皱褶变形的后期减弱,可以这样解释:胞内张力的转移导致胞外粘附位点承受的应力逐渐增高,达到一定程度后,粘附位点逐渐被拉断破坏,细胞铺展面积因而逐渐缩小,被破坏的粘附位点所承受的张力也回转到细胞内,因而皱褶变形逐渐减弱消失。为了验证这一解释,我们以胰蛋白酶破坏胞外粘附位点,处理初期粘附位点少量减少时,皱褶变形确实显著增强,表明粘附位点承受应力增大可导致皱褶变形的增强,而当大部分粘附位点破坏后即细胞铺展面积显著减小时,基底皱褶逐渐消失,表明张力向细胞内的转移。

这些初步结果表明微管可以平衡微丝产生的张力,与张力整体模型相吻合。

盘基网柄菌 (*Dictyostelium discoideum*) 聚集模式的一种离散模型

赵峰, 陶祖莱

中国科学院力学研究所国家微重力室, 北京 100080, E-mail: fredfzhao@sina.com

盘基网柄菌 (*Dictyostelium discoideum*) 因为其独特的生命周期成为发育生物学特别是生物模式形成广泛研究的模式生物。网柄菌的单倍体细胞从孢子壳中孵化, 像陆地阿米巴一样生活, 并通过细胞有丝分裂无性生殖。当食物供给耗尽时, 阿米巴会在某个区域聚集, 并在其点上集合成蛞蝓 (slug) 状聚集体。而当此蛞蝓迁移到适当的地方, 又将形成植物状的子实体并释放新的孢子细胞。网柄菌的生命周期对于多细胞生命体来说虽然是不典型的, 但是它的一些发育特征却可作为高等真核生物中相似事件如聚集, 细胞分化, 模式形成等的事例进行研究。

盘基网柄菌的聚集主要是由环腺苷单磷酸 (cAMP) 诱导的。饥饿的细胞脉冲发射 cAMP, 将其邻域细胞引诱向一个中央位置。cAMP 信号只能传播大约 6 个跨膜细胞结构距离, 在这个邻域内的细胞的表面受体蛋白检测到信号后将做出两种应答: 向信号发射源以大约 2 个细胞直径每 100 秒的速度迁移; 经过大约 12 秒的延迟后发射自身的 cAMP 信号。这样相当于中心细胞的 cAMP 信号逐步向周围传递开去, 并诱导细胞向中心聚集。

以往对盘基网柄菌的聚集模式的研究主要有两种思路: 连续方法 (建立 cAMP 信号的波动方程和细胞的 (反应) 扩散方程, 求解偏分方程), 半离散方法 (建立 cAMP 信号传播的连续场方程和细胞在其中的离散运动)。其中半离散方法中, 细胞对 cAMP 信号场的反应主要是对其梯度的应答。但是, 很多实验证实, 网柄菌细胞体对 cAMP 信号的应答只对其波前敏感, 也就是说 cAMP 信号只是起到一种诱导“开关”的作用。

本文基于这种诱导“开关”的思想, 将 cAMP 信号的传播也离散化处理, 提出一种完全离散的模型, 并运用元胞自动机 (cellular automata) 方法分析模拟了盘基网柄菌的聚集模式。文中选用四边形元胞, 每个网柄菌由网格中的一个元胞表征, 无内部结构。细胞在聚集过程中不增殖、分化、凋亡。

蛋白质吸附和竞争吸附对 ROS 17/2.8 细胞粘附和生长的影响

应佩青, 靳刚, 陶祖莱

中科院力学研究所国家微重力实验室, 北京 100080, E-mail: pqying@imech.ac.cn

细胞在材料表面的粘附是贴壁依赖型细胞生长的前提。普遍认为细胞粘附过程受细胞表面的受体与细胞外基质

(ECM)蛋白的特异性结合所调节。胶原作为含量最丰富的细胞外基质蛋白,常被用于生物材料表面的预吸附,以促进细胞粘附。而培养基中往往含有血清以及其它蛋白和表面活性物质,因而细胞外基质在材料表面的吸附受蛋白质竞争性吸附调节,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性吸附。材料表面亲水性影响蛋白在表面的吸附,从而影响细胞在材料表面的粘附。研究蛋白在材料表面的吸附及亲水性对吸附的影响,有助于研究细胞-材料表面相互作用,并为细胞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。本文以胶原和牛血清蛋白(BSA)为模型蛋白,研究了两者的吸附和竞争吸附对细胞粘附和生长的影响。

在单组分溶液中,胶原和牛血清蛋白在疏水处理的硅片上的吸附分别是亲水表面的3倍。但当胶原和BSA的竞争吸附(胶原和BSA的浓度分别为0.1 mg/ml和1 mg/ml)时,光学偏振成像法和原子力显微镜研究表明胶原优先吸附于亲水表面,而BSA则优先吸附于疏水表面。随着疏水性增加,BSA与胶原竞争吸附的结果是BSA含量增加,而胶原含量降低,在较疏水表面(接触角约80°时),BSA吸附量占所吸附蛋白的90%。

ROS 17/2.8成骨细胞在胶原和BSA竞争吸附表面的粘附表明:在未经蛋白预处理的亲、疏水表面粘附率均不利于细胞粘附,经BSA预处理的表面抑制细胞粘附,胶原在亲水和疏水表面吸附均能促进细胞粘附,而胶原和BSA竞争吸附或培养基中含血清时,亲水表面由于能优先吸附细胞外基质蛋白而促进细胞粘附,而疏水表面由更易吸附BSA或其它非细胞外基质蛋白而不利于细胞粘附。因此蛋白的吸附和竞争吸附是影响细胞粘附的直接原因。

在胶原预吸附表面,ROS 17/2.8细胞呈现长的、相互连结的胞质突起;细胞的增殖期提前,增殖加快;在汇合期细胞的碱性磷酸酶活性是无胶原处理表面的约1.3倍,说明胶原的处理可以促进细胞的部分分化表型。其原因可能是胶原与整合素特异性相互作用诱导的信号传导与生长因子诱导的信号传导共同作用的结果。

Kinetics and Force Dependence of P-selectin/PSGL-1 Interactions Measured by AFM

Zhiyi YE, Baoxia LI, Mian LONG*

NMLC, Institute of Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China

* Correspondence to Dr. Mian Long: mlong@imech.ac.cn

Leukocytes roll along the endothelium of postcapillary venules in response to inflammatory and thrombotic processes. The rolling under hydrodynamic shear forces is a first step in directing leukocytes out of the blood stream into sites of inflammation and is mediated by the selectins, a family of extended, modular, and calcium-dependent lectin receptors^[1,2]. The interactions between P-, E- or L-selectins and their counter ligand P-selectin glycoprotein ligand-1 (PSGL-1) play important a crucial role in the processes. Kinetics of selectin/PSGL-1 was extensively studied by using such the state-of-the-art techniques as flow chamber, micropipette aspiration, and atomic force microscopy (AFM)^[3-6]. A pioneering work found that the dissociation of P-selectin/PSGL-1 bond increased with external force, demonstrating the catch bond existence using an AFM assay^[6]. Here the interactions of P-selectin with PSGL-1 under external forces were further investigated by measuring force dependence of bond dissociation and binding kinetics on the dislodging rate.

P-selectin and PSGL-1 were purified from human platelets and neutrophils, respectively. PSGL-1 was then reconstituted into a supported lipid bilayer, which was formed on a glass coverslip above a polymer cushion^[7,8]. P-selectin was immobilized on a Si₃N₄ tip via the capture antibody S12, which was pre-absorbed on the cantilever tip by overnight incubation followed by incubation in 1% BSA to block nonspecific binding. Experiments were done by repeatedly moving the P-selectin into contact and away from the PSGL-1. Each adhesion test cycle consists of three phases: 1) Approach, 2) Contact, and 3) Retraction, and measurements were reproducible for more than 100 cycles. The probabilities of adhesion and rupture force were simultaneously obtained from such cycles.

Adhesion probability of P-selectin/PSGL-1 interactions was measured at different contact durations and the kinetic parameters were predicted using a small system probabilistic model^[4,5,9]. Rupture force data for P-selectin/PSGL-1 dissociation followed a normal distribution. The peak value of rupture force continuously increased with increase of dislodging rate. Data reported here agreed well with those from previous works^[10,11]. The work provided new insights into biomolecular dynamics of ligand-receptor interactions process.

References:

- [1] Kansas G. S. (1996). *Blood*. 88: 3259-3287.
- [2] McEver R. P., K. L. Moore, and R. D. Cummings. (1995). *J. Biol. Chem.* 270: 11025-11028.
- [3] Alon R, S. Chen, and K. D. Puri. (1997). *J. Cell Biol.* 138:1169-1180.
- [4] Chesla S. E., P. Selvaraj, and C. Zhu. (1998). *Biophys. J.* 75: 1553-1572.
- [5] Long M., H. Zhao, K.-S. Huang, et al. (2001). *Ann. Biomed. Eng.* 29: 935-946.
- [6] Marshall B. T., M. Long, J. W. Piper, et al. (2003). *Nature*. in press.