

进一步地研究来阐明其增殖、定向分化的分子机理。

(2001年6月15日收到)

李志琴 博士生,中国医学科学院基础医学研究所细胞生物
室,北京 100005

章静波 研究员,中国医学科学院基础医学研究所细胞生物
室,北京 100005

- 1 Watt F.M., et al. *Science*, 2000; **287**(25):1427-1430
- 2 Evans M.J., et al. *Nature*, 1981; **292**:154-156
- 3 Thomson J. A., et al. *Science*, 1998; **282**:1145-1147
- 4 Shambloot M.J., et al. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1998; **95**:13726-13731
- 5 Martin G. R., et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1975; **72**(4):1441-5
- 6 Svendsen C. N., et al. *Trends Neurosci.*, 1999; **22**(8):357-364
- 7 Munsie M.J., et al. *Curr. Biol.*, 2000; **10**(16):989-992
- 8 Pesce M., et al. *Cells Tissues Organs*, 1999; **165**(3-4):144-52
- 9 Prella K., et al. *Cells Tissues Organs*, 1999; **165**(3-4):220-36
- 10 Martin G. R. *Science*, 1980; **209**:768-776
- 11 Ernst M., et al. *J. Biol. Chem.*, 1996; **271**(47):30136-43
- 12 Burdon T., et al. *Cells Tissues Organs*, 1999; **165**(3-4):131-43
- 13 Nakamura T., et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1998; **248**(1):22-7
- 14 Matsuda T., et al. *EMBO J.*, 1999; **18**(15):4261-9
- 15 Niwa H., et al. *Genes*, 1998; **12**(13):2048-60

- 16 Dani C. I., et al. *Dev. Biol.*, 1998; **203**:149-162
- 17 Niwa H., et al. *Nat. Genet.*, 2000; **24**(4):372-6
- 18 Gottlieb D. I., et al. *Cells Tissues Organs*, 1999; **165**:165-17
- 19 Rohwedel J., et al. *Cells Tissues Organs*, 1999; **165**:190-202
- 20 Liu S., et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000; **97**(11):6126-6131
- 21 Lee S. H., et al. *Nature Biotechnology*, 2000; **18**:675-679
- 22 Brütte O., et al. *Science*, 1999; **285**(5428):754-6
- 23 Arnhold S., et al. *J. Neurosurg*, 2000; **93**:1026-1032
- 24 Kawasaki H., et al. *Neuron.*, 2000; **28**:31-40
- 25 Hynes M., et al. *Neuron.*, 2000; **28**:11-14
- 26 Deacon T., et al. *Experimental Neurology*, 1998; **149**:28-41
- 27 Kelly D.L., et al. *Mol. Reprod. Dev.*, 2000; **56**(2):113-23
- 28 Hancock, C. R., et al. *Biochemical and Biophysical Research Communication*, 2000; **271**:418-421
- 29 Barinaga M. *Science*, 2000; **287**(25):1421-1423
- 30 McDonald J. W., et al. *Nature Medicine*, 1999; **5**(12):1410-1412

Embryonic Stem Cells and Their Applications in Nervous System Disorders

Li Zhi-qin, Zhang Jing-bo

Doctor and Professor, Department of Cell Biology, Institute of Basic Medical Sciences, CAMS, Beijing 100005

Key words embryonic stem cells, directed differentiation, nervous system disorders

光学蛋白质芯片

靳刚 王战会 (中国科学院力学研究所)

关键词 椭圆偏光学成像技术 蛋白质芯片

本文介绍一种新型光学蛋白质芯片技术.它通过表面格式化、表面改性和配基固定形成多元生物活性感应表面;借助蛋白质的特异结合性和高分辨率的生物光学显微成像技术达到识别和检测蛋白质的目的.它是一种非标记的多元蛋白质定量分析方法.

一、蛋白质芯片的意义

生物芯片技术具有集成、并行、快速和自动化分析的优势,它是融生物学、物理、化学和信息科学以及微制造技术为一体的交叉新科技,具有广泛的应用前景.生物芯片技术包括:基因芯片即DNA芯片、蛋白质芯片或叫做生物分子芯片、细胞芯片和组织芯片等技术.蛋白质芯片的发展将会为“蛋白质组研究”提供强有力的工具,推动疾病诊断、药物筛选和个性化的药物输运等革新.

蛋白质是构成生命体的最小活性单位.按目前的认

识,人体中存在着10万种以上的蛋白质,它们在肌体中分别承担不同任务,发挥着各自的作用.了解人体的健康状况、诊断和治疗,都需要识别和检测蛋白质,并认识其生理功能,这是非常艰巨和繁重的工作.

蛋白质的组成具有多样性和可变性.蛋白质的表达受多种因素的调控,在生命发育不同阶段的蛋白质的种类和构成是不一样的.不同的组织细胞表达的蛋白质也有很大的差异.在病理或治疗过程中,细胞蛋白质的组成及其变化与正常过程中不同.因此,蛋白质研究是在一个更加深入、在贴近生命本质的层次上去探讨和发现生命活动的规律和重要生理、病理现象的本质.

光学蛋白质芯片系统是探测和研究蛋白质的新技

术^[1]. 此方法将高分辨率的生物光学显微成像技术和集成化多元蛋白质芯片技术相结合, 发展形成了新型的并行、快速生物分子识别和检测技术. 它不需要任何标记物, 对生物活性无影响, 还可以检测生物分子反应的动力学参数^[2]. 为一些尚无答案的生物医学理论问题提供解答. 其应用不仅局限于科学研究, 也可直接为医学诊断提供一种常规检查的新手段, 使以往难以观察的生物分子相互作用过程以直观的图像显示出来, 为识别和检测生物分子, 即时地观察生物分子之间的相互作用和认识生物分子功能提供了可能性, 从而获得很多传统技术难以提供的信息, 广泛地用于生物医学研究、健康预测、临床诊断、新药的筛选和鉴定以及生物工业流程中的活性监测等.

二、光学蛋白质芯片性能特点

蛋白质芯片的结构和功能是根据分析对象而设计制造的. 常用的分为两类, 即生物活性探针和多元生物分子芯片. 它们能够分别对单一生物活性和多种生物活性进行分析和检测.

生物活性探针的结构如图 1 所示. 在固体的基片上制备一层表面改性层, 用以定向地装配上一层具有生物活性的单分子层, 使分子活性部位暴露于外侧, 而形成感应表面.



图1 活性探针

当此感应表面放入待测的生物分子溶液中时, 如果溶液中的生物分子与表面上的生物分子之间存在特异结合性, 即会生成生物分子复合物, 使表面的单分子感应膜层变成生物分子复合物膜层. 此变化能够被具有高分辨能力的光学成像技术显示出来. 例如如图 2 所示, 芯片表面上固定的感应分子层是人的血浆白蛋白, 复合膜层是血浆白蛋白和它的抗体. 光学图像显示出三个灰度区, 由暗到亮分别对应基片表面、血浆白蛋白单分子感应膜层和复合分子膜层; 三维图形清楚地显示出不同膜层所形成的阶梯.

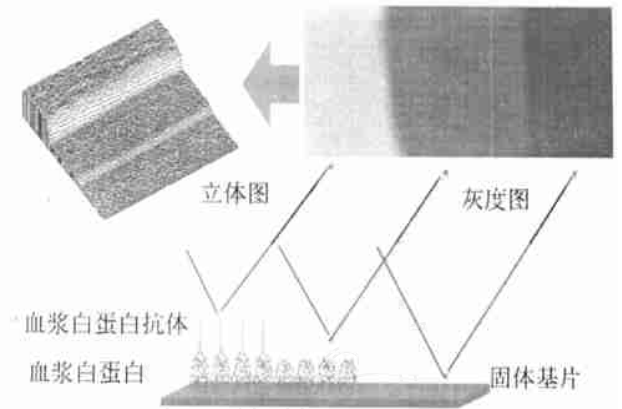


图2 血浆白蛋白及血浆白蛋白与其抗体的复合膜层

在多元生物分子芯片的不同区域内, 固定上不同的生物活性探针(配体), 如图 3. 当此芯片浸入含有多元分析物的溶液时, 如果分析物与芯片上的配体之间发生结合, 就会形成生物分子复合物, 改变芯片表面的形貌, 达到同时检测多元分析物的目的.

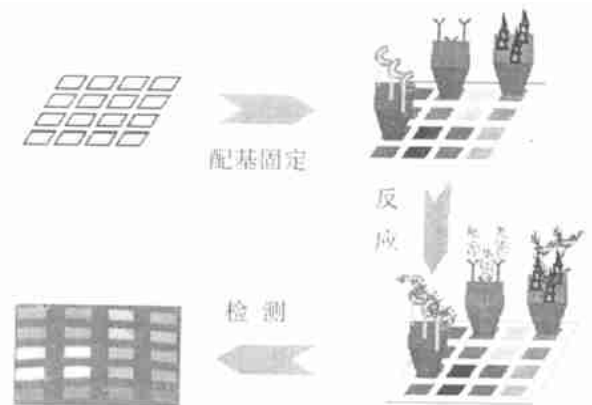


图3 多元蛋白质芯片模型

图 4(a) 是多元蛋白质芯片表面的三维成像, 含有 10 个单元. 其中, 两两成对的单元分别制备了人血清白蛋白(HSA)、免疫 G 蛋白(IgG)、纤维蛋白原(Fib)和牛血清白蛋白(BSA), 另有两个基底单元作为对照; 将该芯片插入含有免疫 G 蛋白抗体的血清中(浓度约 0.1 mg/ml), 浸泡 30 min 以上, 即得到图 4(b). 与图 4(a) 对比, 可以看到含有 IgG 的两个单元的膜层厚度明显地提高了, 而其他单元的膜层厚度保持不变, 即为免疫 G 蛋白抗体的检测.

此类芯片表面膜层的变化可以由光学显微成像观察出来, 并通过计算机以图像的形式显示和专业生物图像分析软件处理, 并与数据库进行信息交换, 以提供进一步的定量分析. 配体的专一性可以保证分析物在混合物中(如: 血清、组织培养液、细胞或细胞膜抽提液), 甚

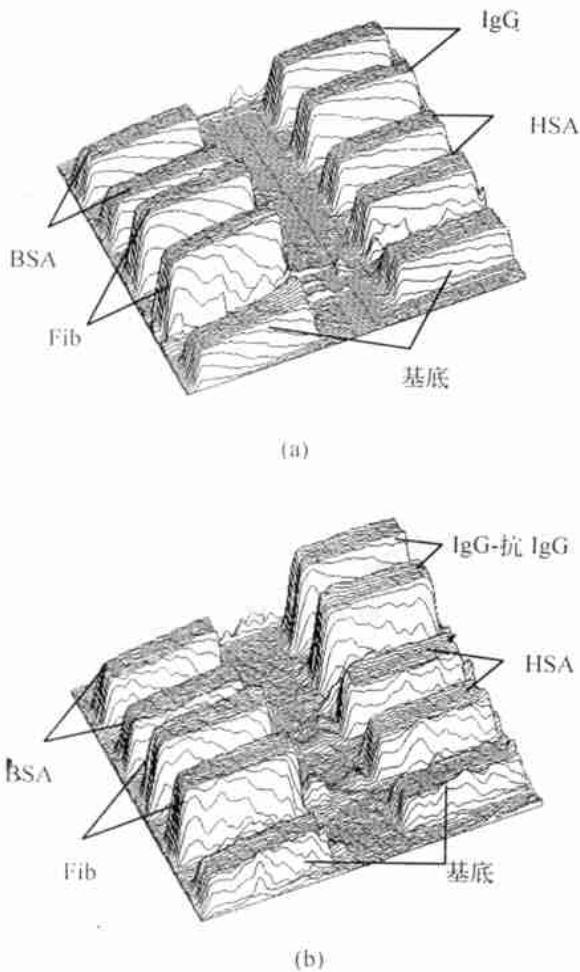


图4 多元蛋白质芯片成像

至可以结合在磷脂囊、病毒、细菌和真核细胞表面作直接分析,而不需要预先处理或纯化.电子摄像机的快速摄取图像能力,为生物分子动力学研究提供了可能,甚至多元分子之间的相互作用过程也可实时地显示出来.几小时内所获得的信息,可能是多种传统技术同时工作数天,甚至更长时间的分子复合物综合分析.此技术的操作简便和可重复性,大大降低了试剂的用量、测试时间和劳动强度.

此系统的技术特点如下:

(1) 直接测量非纯化分析物

在进行生物分子的特异性结合研究时,可以直接测量非纯化分析物.

(2) 多元样品同时检测

由于采用多元面观测,所以能够用于多元样品检测,在同一表面上可以同时观察几个、几十个、上百个以至更多样品单元.此技术可以同时检测体液中的多种蛋白质,可以同时测量多对生物分子:包括蛋白质、核酸、多糖、磷脂、甚至生物小分子,以及候选药物的分子间相

互作用的情况.它提供了同时分析多元分子溶液综合信息的手段.

(3) 样品用量少

采用了可以达到次单分子膜层分辨能力的光学成像技术和集成蛋白质芯片技术,配基用量仅在微升量级.

(4) 样品无需任何标记物

直接测量生物分子的特异性结合所形成的生物分子复合物,并不需要像酶联免疫或放射免疫法那样对生物分子作标记,不会对待测生物分子活性造成任何扰动和损伤.

(5) 检测速度快,实时检测生物分子相互作用的动态过程

电子图像采样具有快速摄取图像的能力,为生物分子动力学研究提供了可能.可以实时测量多对生物分子的分子间相互作用过程.如分子间是否存在特异性结合、结合的强度和速度、解离的快慢以及结合部位的分析,可以获得生物分子反应的动力学信息.

(6) 具有分辨和排除干扰信号能力

矩阵式多元芯片测量的每个单元又由多像元显示,相互参照和对比,具有分辨和排除干扰信号能力.

(7) 定性和定量测量

直观输出的图像便于定性观测;数字图像形式为定量测量提供了条件^[3].

三、发展前景

利用此芯片系统已经开展了一些生物医学应用.如:多种抗原-抗体相互作用研究;鉴定治疗肝癌的单克隆抗体药物,其中所测量的肝癌细胞裂解液成分复杂,是其他免疫学方法所不能测量的;研究了配体和受体的特异结合(白介素6);进行了内分泌激素的测定尝试^[4];乙型肝炎表面抗原的检测实验;以及蛋白质的竞争吸附和细胞粘附的研究等.蛋白质芯片还用来研究了生物分子相互作用过程,获得生物分子反应动力学信息.

此蛋白质芯片系统为蛋白质组研究、医学诊断、药物筛选和生物工业等应用,开辟了新的途径.由此获得其他方法无法提供的信息,有望为一些尚无答案的生物医学理论问题提供解答.广泛的应用前景也为未来的产业化提供了市场条件,其产品的开发将主要包括三方面内容:光机电一体化系统——椭圆光学生物传感器;

根据需求,供应针对各种分析和检测对象所设计制造的光学蛋白质芯片系列;由上述衍生的药物筛选、医

学诊断和蛋白质分析的专家系统,而造福于社会.

(2001年4月29日收到)

靳刚 研究员,中国科学院力学研究所,北京 100080

王战会 博士生,中国科学院力学研究所,北京 100080

1 Jin G, Jansson R, Arwin H. *Rev. Sci. Instrum.*, 1996; **67**:2930-6

2 王战会,靳刚. *生物工程学报*, 2000; **16**(4):429-432

3 靳刚,孟永宏,邢建华. *测试技术学报*, 1998; **12**(3):166-171

4 Zhao Z. Y., Jin G., Wang Z. H. *Proceedings of the 20th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*, 1998; **20**(2):590-593

ety, 1998; **20**(2):590-593

Optical Protein Chip

Jin Cang, Wang Zhan-hui

Research Professor, Ph. D. Candidate, Institute of Mechanics, CAS, 100080

Key words imaging ellipsometry, protein chip

超声波在中草药化学成分提取中的应用

项昭保 霍丹群 任绍光 (重庆大学生物工程学院生物力学与组织工程教育部重点实验室)

关键词 超声波 中草药 化学成分 提取 应用

中草药是我国医药学的一个重要组成部分,利用中草药治病是我国独有的方法,并且在治疗方面具有特效、安全等优点.但是中草药中所含成分复杂,不仅含有有效成分,还含有无效成分,甚至有毒成分.为了提高中草药的治疗效果,必须提取分离出中草药的有效成分.常规提取法虽有许多种,但均有耗时长、提取率低、溶媒用量大等不足之处.伴随着新技术在药材成分提取中的研究和应用,新提取方法不断出现,本文介绍了一种新的中草药化学成分提取方法——超声提取法.

一、中草药化学成分提取现状

中草药是我国医药学的一个重要组成部分,利用中草药治病是我国独有的方法,它不但能根除病根,而且无不良反应,故自古至今广为国人所喜用.但是中草药中所含成分复杂,不仅含有有效成分,还含有无效成分,甚至含有有毒成分.因此必须对药材进行去其糟粕,取其精华的提炼过程.故此,很早以来人们就开始利用各种提取方法,从药材中提取有效成分.目前,无论是国内还是国外,提取中草药化学成分的方法主要采用常规提取法:热提取法(煎煮法、回流提取法)和浸泡提取法(渗漉法、冷浸法),但是这些常规方法均有许多不足之处,如回流法虽然提取较完全,但是需要加热,耗时较长;煎煮法虽然可以方便地进行工业化生产,但是提取率较低,溶媒用量很大,耗时长;渗漉法虽然不用加热,提取效率也较高,但是耗时很长;冷浸法则是最原始的提取方法,溶媒用量大,耗时太长,提取率也很低.因此利用不断出现的新技术、新方法提取中草药化学成分是目前中草药研究领域的一大热点.

二、超声波及超声发生器

超声波是指频率在声频以上,即超过人耳所能感受的频率——20 kHz的弹性波,超声波的频率也有上限,一般认为是 5×10^6 kHz.超声波是一种在弹性介质中的机械振荡.它在介质中主要产生两种形式的振荡,即横向振荡(横波)和纵向振荡(纵波).前者只能在固体中产生,而后者可在固、液、气体中产生.此外,超声波波型中还有表面波及板波.超声波具有频率高、方向性好、穿透力强、能量集中等特性,已在机械制造、化学、冶金、医疗、轻工业、农业、动力工程等方面广泛应用,但用在中草药化学成分提取方面,国内还是近几年才有报道的.

超声波发生器是超声波的波源,通常有3种类型,即机械系统、磁致伸缩振荡器和电致伸缩振荡器.机械式超声波发生装置是以高速气体或液体作为介质,通过机械装置产生谐振的系统.其发生的超声频率一般较低,通常为20~30 kHz.磁致伸缩振荡器是利用磁性材料的磁致伸缩现象的电-声波转换器.通过对线圈输入交变电流,使作为“铁芯”的磁致伸缩材料产生振动,发出