

# 非损伤微测技术在细胞生物学研究中的应用

## 系列讲座(一)——技术简介

旭月(北京)科技有限公司, 美国扬格非损伤技术中心  
(北京市海淀区苏州街 49-3, 盈智大厦 601, 邮政编码 100080)

**摘要** 非损伤微测技术是一种选择性微电极技术, 可以不损伤样品而获得进出样品的离子和分子信息, 具有非损伤性、长时间、多电极、多角度测量等优势。本文介绍非损伤微测技术原理和技术特点及其在细胞生物学不同领域中的应用。

**关键词** 非损伤微测技术; 离子和分子选择性微电极; 活细胞测量

非损伤微测技术(non-invasive micro-test technique, NMT)或称无损微测技术, 是一种选择性离子和分子检测技术, 诞生于 1990 年<sup>[1]</sup>。非损伤微测技术因其独有的测量方式逐渐应用到生命科学的诸多领域。

### 1 非损伤微测技术简介

非损伤微测技术是由电脑自动控制离子和分子选择性微电极, 在不接触活体样品的情况下, 获得进出样品的各种离子和分子浓度、流速及其三维运动方向的信息。图 1 展示了一套完整的非损伤微测系统。

目前, 非损伤微测技术可以测量  $H^+$ 、 $Ca^{2+}$ 、 $K^+$ 、 $NH_4^+$ 、 $Al^{3+}$ 、 $Na^+$ 、 $Cd^{2+}$ 、 $NO_3^-$ 、 $Cl^-$  以及  $O_2$ 、 $CO_2$ 、 $NO$ 、氨基酸等五十多种离子和分子, 为获得生物样品离子和分子信息提供了良好的实验平台<sup>[2,3]</sup>。被测样品可以是单细胞、细胞层、组织、器官甚至整个生物体。测量方便、快捷、三维和实时, 对样品不会产生任何伤害, 从而获得其他技术

难以测到的生理特征和生命活动规律, 在理论研究和应用领域方面产生前所未有的重大突破。

非损伤微测技术具有非损伤性、长时间、多电极、多角度测量等优势。值得一提的是, 非损伤微测技术是目前世界上唯一能够按照研究人员的设定, 以手动或编程的方式, 从任意角度(相对于样品表面)对样品进行测量的系统。

### 2 非损伤微测技术原理

图 2 是离子选择性电极工作原理示意图。离子选择性电极由玻璃微电极、 $Ag/AgCl$  导线、电解质及液态离子交换剂(liquid ion exchanger, LIX)四部分组成。该电极在待测离子浓度梯度中已以已知距离  $dx$  进行两点测量, 并分别获得电压  $V_1$  和  $V_2$ 。两点间的浓度差  $dc$  则可以从  $V_1$  和  $V_2$  以及已知的该电极的电压/浓度校正曲线计算获得。 $D$  是离子/分子特异的扩散常数(单位:  $cm^2 \cdot s^{-1}$ ), 将它们代入 Fick 第一扩散定律公式:  $J_o =$

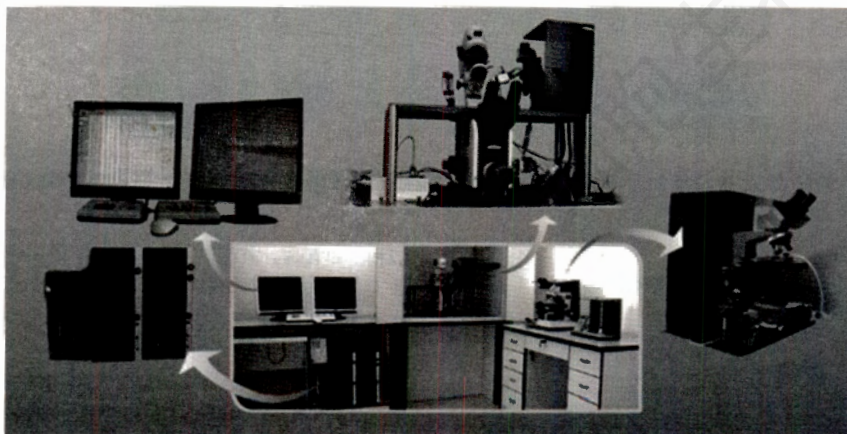


图 1 非损伤微测系统(non-invasive micro-test system, NMS)

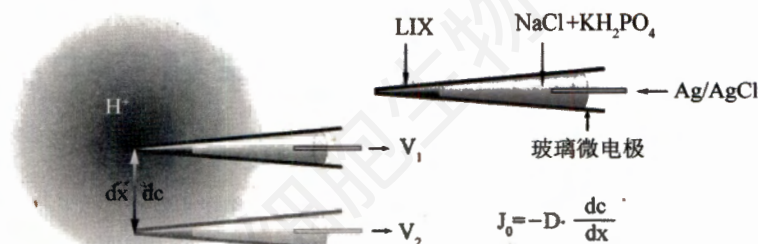


图2 以  $H^+$  浓度梯度和  $H^+$  电极为例说明非损伤微测技术的物理学及数学原理

$-D \cdot dc/dx$ , 可获得该离子的移动速率(单位:  $\text{pmol} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ), 即每秒通过一平方厘米的该离子/分子摩尔数。

### 3 非损伤微测技术的应用

非损伤微测技术能在细胞和组织水平上的功能鉴定方面以及跨膜生物信息传递机制等方面发挥重要的作用<sup>[3]</sup>。例如, 葡萄牙里斯本大学 Feijó 实验室<sup>[4]</sup>使用激光共聚焦显微镜测细胞内  $Ca^{2+}$  的同时利用非损伤微测技术测量外部的  $Ca^{2+}$ 。由图3可以看到, 当融合开始时, 非损伤微测技术测得一个明显的  $Ca^{2+}$  内流, 直接验证了胞内  $Ca^{2+}$  的增加主要是由于吸收胞外  $Ca^{2+}$  而非内源钙释放引起。因此, 非损伤微测技术在直接获得细

胞或组织外部离子和分子信息方面, 具有明显的优势。

目前在生物医学领域使用非损伤微测技术的部分机构有: 美国麻省州立大学, 美国肯萨斯州立大学, 加拿大 Montreal 大学, 加拿大 McMASTER 大学, 葡萄牙里斯本大学, 德国慕尼黑大学, 澳大利亚悉尼大学, 新西兰农业草地研究所, 中科院植物所, 中科院遗传与发育生物学研究所, 北京大学生科院, 中国农业大学动物医学院, 广东暨南大学医学院等。

非损伤微测技术在可兴奋细胞、细胞凋亡、上皮细胞和内皮细胞研究及神经系统、胚胎发育、新陈代谢、毒理学、肿瘤研究等领域具体应用实例将在随后五期里分别介绍。

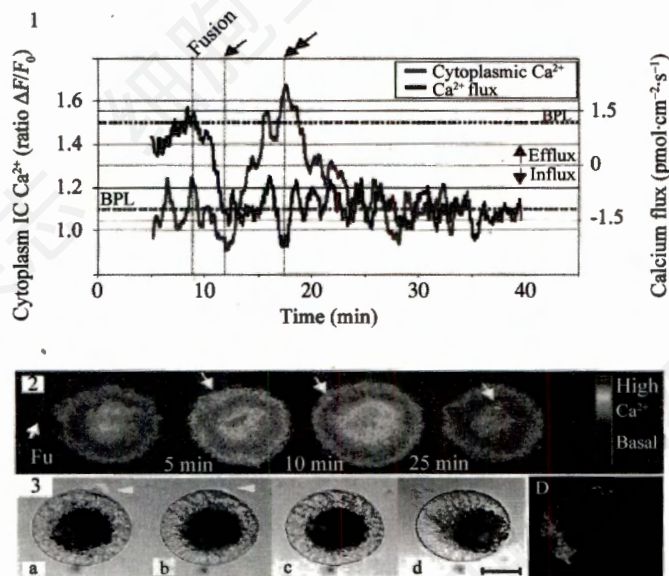


图3 使用激光共聚焦显微镜测细胞内  $Ca^{2+}$  的同时利用非损伤微测技术测量外部的  $Ca^{2+}$ <sup>[4]</sup>

联系人: 宋瑾. Tel: 010-82622628, Fax: 010-82622629, E-mail: jin@youngerusa.com, http://www.xuyue.net

### 参考文献

- [1] Kuhlreier WM, Jaffe LF. Detection of extracellular calcium gradients with a calcium-specific vibrating electrode. *J Cell Biol*, 1990, 110(5): 1565-1573
- [2] 印莉萍, 上官宇, 许越. 非损伤性扫描离子选择电极技术及其在高等植物研究中的应用. *自然科学进展*, 2006, 16(3): 262-266
- [3] 丁亚男, 许越. 非损伤微测技术及其在生物医学研究中的应用. *物理*, 2007, 36(7): 548-558
- [4] Antoine AF, Faure JE, Dumas C, Feijó JA. Differential contribution of cytoplasmic  $Ca^{2+}$  and  $Ca^{2+}$  influx to gamete fusion and egg activation in maize. *Nat Cell Biol*, 2001, 3(12): 1120-1123