

达的结果,可能在这些肿瘤的发生和发展中起重要作用。从而能给正常细胞的生长控制和瘤形成的病因学方面的问题提供重要线索。随着对生长因子受体及其基因结构和功能的认识之深入,有可能对其控制细胞生长、分化机制的研究取得更加令人鼓舞的进展。

本文中关于 FPLC 系统的工作得到本所细胞生物室冯璐同志的热情帮助,特此致谢。

### 参 考 文 献

- 1 Hunter T. The epidermal growth factor gene and its product, *Nature*, 1984; 311: 414
- 2 Downward J, Parker P, Waterfield M D *et al.* Autophosphorylation sites in epidermal growth factor receptor. *Nature*, 1984; 311: 483
- 3 Veale D, Ashcroft T, Marsh C *et al.* Epidermal growth factor receptors in non-small cell Lung cancer. *Br J Cancer*, 1987; 55: 513
- 4 Smith N C, Brush M G, Luckett S. Preparation of human

- placenta villous surface membrane. *Nature*, 1974; 252: 302
- 5 Laemmli U K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 1970; 227: 680
- 6 Buhrow S A, Cohn S, Staros J V. Affinity labeling of the protein kinase associated with the epidermal growth factor receptor in membrane vesicles from A431 cell. *J Biol Chem*, 1982; 257: 4019
- 7 Smith C H, Nelson D M, King B F *et al.* Characterization of a microvillous membrane preparation from human placental syncytiotrophoblast: A morphologic biochemical and physiologic study, *Am J Obstet Gynecol*, 1977; 128: 190
- 8 Maruo T, Mochizuki M. Immunohistochemical localization of epidermal growth factor receptor and *myc* oncogene product in human placenta: implication for trophoblast proliferation and differentiation. *Am J Obstet Gynecol*, 1987; 156(3): 721
- 9 Libermann T A, Nussbaum H R, Razon N *et al.* Amplification, enhanced expression, and possible rearrangement of the EGF receptor gene in primary human brain tumors of glial origin. *Nature*, 1985; 313: 144

## 激光陷阱在显微生物活体研究中的应用\*

李银妹 高成岳 姚焜 郭光灿

(中国科学技术大学物理系,合肥 230026)

### 提 要

利用激光的力学效应设计三维的光学陷阱,在显微镜下能成功地捕获和操纵活的生物体。这种激光光钳技术可为细胞学研究提供一种新的有效的实验手段。

**关键词** 激光陷阱、捕获、生物活体、显微观察

激光陷阱的形成是利用基模(TEM<sub>00</sub>)高斯光束力学效应的原理。一旦微小的粒子(如生物细胞或固体微粒)落入阱中将会被束缚而难逃脱<sup>[1-5]</sup>。

高斯光束在与光轴垂直的横截面上的光强分布为高斯函数。光束中心光强最大,远离光束中心,光强将迅速减弱。当位于光轴附近的微小粒子与高斯光束相互作用时,就受到由于光强梯度分布而产生的力的作用。当透明粒子

的折射率大于周围介质的折射率时,这个梯度力指向光轴,于是便形成一个以光轴为中心的二维光学势阱,粒子将被束缚在光轴上。

由于在光轴方向仍然存在轴向推力,故二维势阱不能完全把粒子束缚在一个点上,粒子在轴向力的作用下将沿着光轴传播的方向运动。在实验上采用强聚焦的高斯光束,使得束

\* 国家自然科学基金资助课题。

收稿日期: 1991-09-25 修回日期: 1991-11-15

腰半径  $w_0$  足够小,在光轴方向也形成一个光强梯度分布,即产生一个指向焦点(束腰  $w_0$ ) 处的强度梯度力。这个力可以抵消粒子所受到的轴向推力,从而在激光焦点附近产生一个稳定的力学平衡点,最终形成一个三维的光学势阱。利用这个激光势阱就能够俘获单个生物活体等微小(宏观)粒子。当粒子被束缚在光阱中时,操纵载物台,可对粒子进行相对移动。因此,这种具有特殊功能的激光势阱又被称为激光陷阱、激光光钳或光学镊子。激光陷阱有许多潜在的用途,尤其可实现对单个活细胞、亚细胞结构进行动态观察,为细胞生物学提供一种新的有效研究手段。

图1为我们研制激光陷阱的实验装置示意图。一个具有 TEM<sub>00</sub> 模的 He-Ne 光束,通过适当的光路耦合射入 44X 普通生物显微镜,经 100 倍油浸物镜的强聚焦作用,在显微镜的物焦平面附近造成一个三维光学陷阱,其激光焦点  $\leq 0.64 \mu\text{m}$ ,把待捕获的样品,如水中悬浮的 3—5  $\mu\text{m}$  直径的脂肪小球、红葡萄球菌以及

### 1 激光陷阱存在的判定

判断阱的存在是首要的问题。其鉴别方法是,先在显微镜视场中,借助“十”字坐标标尺刻度及方位,确定激光光斑的位置。然后切断激光,操纵载物台,把某一生物活体移至焦斑处,此时迅速开启激光,可观察到原来具有一定活动能力的生物不再做自由运动或布朗运动了,而是在激光焦斑处静止不动,或者作无规则“挣扎”。这样便可初步判断激光陷阱已形成,当然证据还不够充分。我们进一步发现,当不做上述有目标靶的捕获时,离激光焦点约几至几十微米处,甚至离得更远的生物活体会自动地并以非常快的速度滑向焦斑处。这实际上是位于激光陷阱边缘的生物活体受到阱的引力的作用而掉落到陷阱中。经过如此反复多次的试验与观察,我们确认激光陷阱业已形成。图2a为激

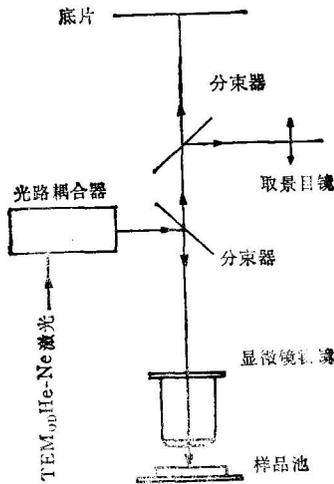


图1 激光陷阱实验装置示意图

鞭毛虫等原生动动物,盛在一个特制的样品池中,置于载物台上。调整好光路参数,便可以进行实验观察和操作。实验结果表明,该装置能够有效地捕获和操纵生物活体。



图2 有无粒子的激光陷阱光场比较

(a) 无粒子空阱光场; (b) 有粒子陷阱光场

光的空阱光场;图 2b 为有生物活体的激光陷阱光场。这种图形不仅鉴别出激光陷阱是否形成,而且还能告诉我们陷阱中是否捉住了生物活体。

特定的光阱是否能捕获到生物活体,还取决于生物本身的光学折射率、吸收系数、形状和体积大小等参数。采用图 1 所示的实验装置可以比较自如地捕获到酵母菌、草履虫等生物活体。

## 2 生物活体在激光陷阱中的存活时间

生物活体无论其透明度多么好,只要有微小的吸收就会受到激光辐射的损伤。利用光的力学效应造成的光学陷阱对被捕获的生物活体的损伤程度,通过初步实验观察表明,生物活体在激光陷阱中的存活时间有几十秒、几分钟或更长时间。我们曾观察到某生物活体在光阱中停留 10min 时活动性没有减弱,直到 20min 后活动性才见减缓。国外曾报道生物活体在激光陷阱中存活时间长达 1 个多小时。可见激光陷阱对生物活体的损伤作用(相对于力学效应)非常小。生物活体禁锢在阱中可保持长的存活时间,这一过程足以让生物学家对它进行各种活体研究和操作。为了使激光陷阱更好地用于生物科学研究,我们正在研制适合于不同生物活体的无损伤的安全激光陷阱。

## 3 激光陷阱对生物活体的操纵

激光陷阱形成之后,我们可用它作为微小的光钳对生物活体进行操纵试验。其方法是,用光钳“夹住”生物体,在视场中接近于激光焦点处找一个可随载物台同步移动的参照物(如盖玻片上的痕迹等),然后缓慢地尽可能均匀地移动载物台,同时要不停地监视视场中的生物活体防止其逸出阱外。我们可用激光束钳住生物活体使之“静止不动”,而只改变参照物与生物活体之间的相对距离;或者让参照物静止不动,而让生物活体在光钳的作用下移动一段距离。如图 3 所示,照片中的条状物为操纵时选定的参照物,椭圆形物为被操纵的生物活体,其

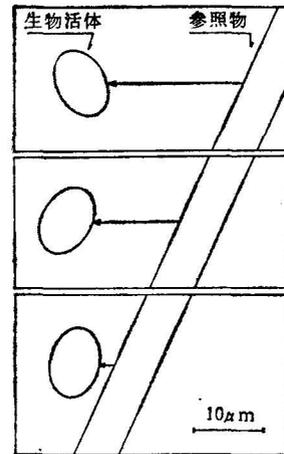


图 3 激光光钳对生物活体的操纵

直径约  $6\mu\text{m}$ ,它在光钳的作用下相对移动了约  $28\mu\text{m}$ 。

激光陷阱能够捕获微小的生物活体,将其束缚于阱中,并且可以把生物活体移动到指定位置,只要操作技术熟练,用光钳“夹住”生物活体可以在垂直于光束方向的物焦平面内的任何方位上进行迁移。

我们的实验表明,由光的力学效应造成的激光陷阱,可以在不影响生物的生态环境下克服生物活体的动能或布朗运动,在短时间内基本上无损伤(根据撤消光阱后的活动性来判断)地将其束缚在光阱中,并且可移动生物活体。因此,利用光阱这种独特的功能,我们可以进行细胞的动态研究,揭示活细胞内的微细结构。例如,对细胞及其局部进行精确定位、移植;对活细胞进行追踪观察以研究其生命过程。用激光陷阱与显微技术相辅,可望对单个活细胞作“光学切片”,实现细胞的三维重建等。

## 参 考 文 献

- 1 Ashkin A. Trapping of atoms by resonance radiation pressure. *Phys Rev Lett*, 1978; 40:729
- 2 Ashkin A, Dziedzic JM, Bjorkholm J *et al*. Observation of a single-beam gradient force optical trap for dielectric particles. *Opt Lett*, 1986; 11: 288
- 3 Ashkin A, Dziedzic JM, Yamane T. Optical trapping and manipulation of viruses and bacteria. *Science*, 1987; 235: 1517

4 李银妹. 激光能俘获粒子吗. 现代物理知识, 1991;(5): 30

5 韩正甫, 郭光灿. 粒子在单束激光势阱中的束缚力. 中国激光, 1992;19(7):517

# 一种适合骨髓瘤、杂交瘤细胞生长的无血清培养基\*

邓辉南\*\* 刘秀梵

(江苏农学院, 扬州 225001)

## 提 要

在基础培养液 DME/F12(1:1) 中加入 10 μg/ml 转铁蛋白(T), 5 μg/ml 胰岛素(I), 10 μmol/L 乙醇胺(E), 10<sup>-9</sup>mol/L 亚硒酸钠(S) 及 1mg/ml 牛血清白蛋白(BSA) 等诸种添加剂成分而构成了本试验的无血清培养基, 定名为 LDSF. 试验表明, LDSF 可取代常规培养基 DMEM (含 10—15% 胎牛血清), 用于骨髓瘤、杂交瘤细胞的长期传代培养, 支持杂交瘤细胞稳定、持续地分泌特异单克隆抗体(McAb), 并可用于细胞融合、冻存和复苏.

**关键词** 无血清培养基, 杂交瘤细胞, 单克隆抗体, 添加剂

目前, 大多数动物细胞的体外培养都不同程度地依赖胎牛血清等天然成分. 然而, 血清成分复杂, 价格昂贵, 含有 500 种不同的蛋白质, 总蛋白量高达 60—150mg/ml<sup>[1]</sup>. 其中一些未知的成分可能会抑制细胞的生长<sup>[2]</sup>, 且存在支原体污染的问题, 给单克隆抗体及其它细胞分泌产物的大规模生产和提纯工作带来了困难; 同时复杂的成分、不同的批号也常干扰实验结果的分析. 为此, 我们参照国内外一些实验室无血清培养的报道<sup>[3,13-15]</sup>, 选用国产试剂为主要添加剂, 进一步降低了无血清培养基的成本. 实验表明, 我们研制的无血清培养基 LDSF 完全可以取代常规有血清培养基用于支持骨髓瘤、杂交瘤细胞的长期生长和传代.

物: 油酸为国产化学纯试剂. 本试验使用了两种不同来源的牛血清白蛋白 (bovine serum albumin, BSA). 一种购自西德 Serva 公司; 一种为国产试剂. b. 人转铁蛋白 (human transferrin), 本试验使用两种不同来源的转铁蛋白. 一种是作者用利凡诺方法<sup>[4]</sup> (rivanol, 一种蛋白沉淀剂) 从正常人血清中 (扬州苏北人民医院惠赠) 提纯人转铁蛋白; 一种购自 Sigma 公司. 这两种转铁蛋白均用四蒸水配制 1mg/ml 贮液. 0.22 μm 滤膜过滤后, 4℃ 避光保存. c. 胰岛素, 本试验使用了两种不同来源的制剂. 一种购自南京生物化学制药厂; 一种购自丹麦 NOVO 公司 (40U/ml, 1mg = 22U). d. 其它试剂: 乙醇胺、亚硒酸钠、丙酮酸钠、β-巯基乙醇、维生素 C、氯化可的松等试剂均为国产分析纯试剂.

## 1 材料与方 法

### 1.1 无血清培养基 LDSF 的配制

1.1.1 基础培养基 DME/F12 购自 Sigma 公司; 配制参照 Tomoyuki 方法<sup>[5]</sup>.

1.1.2 各种添加剂 a. 油酸白蛋白结合

### 1.2 LDSF 中各种添加剂的成分及浓度

\* 国家“七五”攻关项目.

\*\* 中国科学院发育生物学研究所, 北京 100080.

收稿日期: 1991-10-04 修回日期: 1991-11-24