

纳米生物技术及其应用

姜忠义 王艳强

(天津大学化工学院, 天津 300072)

摘要:以生物学为中心的交叉学科(Bio-X)逐渐成为研究热点,纳米生物技术就是其中的典型代表。纳米生物技术属于纳米材料科学、物理学和生物技术的交叉,在化学与生物纳米结构的构建以及生物大分子结构与功能关系的研究方面具有重要作用。介绍了纳米生物技术的3个主要组成部分:基于生物矿化原理制备的纳米生物材料,将能量转化为可控运动的生物发动机与纳米机器、具有特异性识别能力的生物芯片与纳米探针的研究进展和发展动态。

关键词:纳米生物技术;纳米生物材料;生物发动机;生物芯片;纳米探针

中图分类号:TQ03-39;TQ033;Q81

文献标识码:A

Nanobiotechnology and its application

JIANG Zhong-yi, WANG Yan-qiang

(School of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China)

Abstract: The interdisciplinary science with biology as central part (Bio-X) has gradually become hot issue through the whole world, nanobiotechnology is a typical representative among them. Nanobiotechnology, which combines nanomaterial science, physics and biotechnology into a compact entity, will play an important role in the fabrication of chemical and biological nanostructures and in the investigation of the structure-function relationship. The recent developments and future prospects of the three key parts in nanobiotechnology area: nanobiomaterials manufactured by biomineralization, biological motors and nanomachines operated by conversion the energy into controllable movement, biochips and nanoprobes with ultrahigh recognizing ability are briefly described and analyzed.

Key words: nanobiotechnology; nanobiomaterials; biological motors and nanomachines; biochips and nanoprobes

自然界的分子组装水平远远超出人类现有的加工技术所能够达到的最高水平。例如,一个直径约为 $1\ \mu\text{m}$ 的大肠杆菌细胞的存储容量就相当于一张高密度软盘的存储容量;一个核糖体分子能够以 50 多种蛋白质为前驱体进行有序自组装;真核细胞指导核苷酸合成 DNA 的出错概率仅有 10^{-11} ;绿色植物所转化的能量和合成的有机化学品的量比世界上现有化工厂的总生产能力还要多。模仿生物系统的能力来转化和传输能量,合成专用有机化学品,创造生物质,储存信息,实现特异性识别和感觉,发送和传导信号,进行有序和可控运动、自组装和复制反映着未来的研究方向,也构成了现代生物技术——纳米生物技术的内涵^[1]。

纳米生物技术属于纳米技术和生物技术的交叉,在化学与生物纳米结构的构建与应用中具有重要作用,与传统的结构过程相比,这些新颖的过程具有高精度、高度灵活性和低成本等突出优点,因而将广泛应用于生物医学、电子学、材料学等领域^[2]。

1 纳米生物材料

生物体系所具有的独特能力可用来控制无机晶体的结构、相态、取向和纳米结构拓扑学^[3,4]。最近,研究者们开始把生物识别的原理用在电子、半导体和磁性材料制作。组合噬菌体展示技术已经用于识别能够结合到 III-V、II-VI 类半导体(如 ZnSe、GaAs)上以及能够结合到磁性材料以及碳酸钙和磷

收稿日期:2001-12-04

基金项目:国家自然科学基金(20176039)和一碳化工国家重点实验室建设基金资助项目

作者简介:姜忠义,男,1966年生,博士,副教授,主要研究方向为酶和蛋白质工程、膜和膜分离过程。

酸盐上去的肽类^[5]。肽具有很高的晶面专一性,它能够区分结构非常相似的半导体合金,如 GaAs、Al-GaAs,由此可调控纳米粒子和非均相结构。类似的组合技术已经用于制造肽包囊化 CdS 纳米团簇和金结合蛋白质。此外,已经知道一些菌株能够耐受贵金属如银等甚至可以在细胞壁上将银累积到生物量干重的 25%,从而显示了其在从矿物中回收银的潜在应用价值。从银矿中分离出来的 *Pseudomonas stutzeri* AG259 菌株能够累积具有确定组成、大小和形状的银单晶^[6]。含银的晶体附着在细菌的有机基质中,形成的复合物在薄膜和表面涂覆技术中会有重要用途。类似地,两种聚氧金属螯合物,高钨酸盐 $H_2W_{12}O_{42}^{10-}$ 和十钒酸盐 $V_{10}O_{28}^{6-}$ 通过包埋在病毒粒子的中心完成矿化过程,通过 pH 值的调节可以控制病毒粒子孔的开启与关闭^[7]。

生物大分子的可重复特性和可识别部分都能够用来构建非常精细的纳米导线。现有的计算机芯片的特征尺寸(250 nm)主要受光印刷和蚀刻剂的极限大小决定。如果能够设计出分子规模装置的制作和定位的合适原型,那么芯片的大小可以减小到几纳米。近来,科学家通过在 DNA 的表面覆盖金属原子的培植方法,合成了导电的 DNA 链。Jeremy Lee 等人发现通过 pH 值的适当调控, DNA 可以稳定地把锌、钴、镍等金属离子并入其双螺旋中心,并找到了在高 pH 值等基本条件下,稳定 DNA 含有金属离子的状态,并仍然保持选择性地结合其他分子的能力,由此获得了新的 DNA 导体^[8]。还有,将 DNA 接在两个金电极之间,将银离子交换到表面上,最后将银离子还原为银,就成为直径在 100 nm 左右、长度可达微米级的银线^[9]。由于 DNA 独特的识别能力、物理化学稳定性、机械稳定性及过程中的高精密度,作为超分子工程中理想的构建材料将得到越来越多的重视与应用^[10]。类似于 DNA,作为生物体中蛋白质机器的天然组装体^[11],核糖体也会在纳米生物结构的构建中发挥重要作用。

细菌细胞表面层(S层)的显著特点是内外两面之间的结构形态、表面电荷和疏水性的不对称性,可以在固态表面、空气/水界面和液膜表面自组装成大规模的二维晶体排列。通过深度的 UV 辐射定型,然后在硅微制作中把 S 层开发成为高分辨率保护层。另外, S 层还可以作为生物分子固定化载体,或在纳米电子和非线性光学材料的加工过程中起到模板作用^[12]。最后,这种系统也许可以代替目前广泛使用的在脂膜中起稳定和支撑作用的“高分子软

垫”。

近来,无遮蔽光制版技术已经作为把生物分子定型在表面上的一种新颖手段而被引入。例如,通过用来自 UV 激光的干扰模具进行光生物素的光印刷结合可以产生微米大小的碳表面隔离区域,这样就可以在碳表面的一些区域内构建氧化还原酶活性位点的微序列,而在另外的区域内,未衍生位点则可用以促进调节子的电子转移反应。既兼顾了保持最高酶活性,又满足了氧化还原调节子灵敏度最佳的要求^[13]。

激光辅助沉积(LAD)现已成功地用于制作纳米薄膜材料。该技术提供了通过组装体在固体薄膜的物理升降而把它组装成特定结构的可能性。LAD 技术已经用在了把葡萄糖氧化酶沉积在 SDS(十二烷基苯磺酸钠)上、把核黄素沉积在磷脂上、光敏性的细菌视紫质(bR)沉积在脂 *L*- α -甘油二硬脂酸酯-磷脂胆碱上。类似地,激光引发的光强度(力)能够用于指导生物或电子材料以微米级精度(0.1 ~ 10 μm)沉积在固体表面。该技术的潜在应用包括产生三维细胞结构用于组织工程、构建杂化的生物/电子装置和传感器以及生物排列制作,例如纳米书写。另外,扫描探针显微镜(SPM)在纳米生物技术中的应用价值不可低估,因为它是为数不多的能够同时实现可视化和在原子规模移动目标的高新技术中的一个,有可能用于制“纳米铅笔”和“纳米钢笔”^[14]。

2 生物发动机与纳米机器

将能量转化为可控运动在生物体系中如肌肉纤维、鞭毛、纤毛和微管等起到重要作用。分子生物学、材料科学和纳米制作方面的进展预计在杂化纳米机械系统如集成生物发动机中具有潜在的应用价值^[15~17]。生物发动机包括线性推进和旋转式两大类。

旋转式生物发动机工作时,类似于定子和转子之间的旋转运动,比较典型的旋转式发动机有 F_1 -ATP 酶(F_1 -ATPase)。ATP 酶是一种生物体中普遍存在的酶,它由两部分组成:一部分结合在线粒体膜上,另一部分在膜外。当质子流经 ATP 酶时产生力矩,从而推动了 F_1 -ATP 酶的 γ 亚基的旋转。 F_1 -ATP 酶直径小于 12 nm,能产生大于 100 pN 的力,无载荷时转速可达 17 r/s。将 ATP 酶与纳米机电系统组合成为新型纳米机械装置。目前,研究较多的是 F_1 -ATPase 中 γ 亚基的转动。Noji 等人^[18]将荧光标记的肌动蛋白丝作为一种标志物和 γ 亚基结合,此 γ

亚基位于 3 个 β 与 3 个 α 亚基组成的六聚体中。 F_1 -ATPase 和埋在膜内的 F_0 (质子运送单元) 组成 H^+ -ATP 合成酶, 在细胞呼吸和光合作用中可逆地将跨膜质子流与 ATP 合成与水解偶联起来。在有 ATP 时, 从膜上方可观察到荧光标记的肌动蛋白丝逆时针方向可转动 100 次以上。Adachi 等人^[19] 又详细地分析了单个荧光基团 Cy3 标记于膜上的运动, 进一步说明旋转是分步进行的, 每步转 120° , 证明这种分步运动是 F_1 -ATPase 的固有性质, 也就是每个 ATP 分子水解驱动 γ 亚基转动, 而且这种运动与 γ 亚基上的负载无关。生物发动机方面的一个新进展是将 DNA 用于纳米机械装置制成 DNA 发动机^[20]。2000 年 8 月, Bell 实验室和牛津大学的研究者开发了第一个 DNA 发动机。据预测, 用 DNA 发动机技术可制造比当今快 1 000 倍的计算机。在制作 DNA 发动机时, DNA 既是结构材料, 也可作为“燃料”。

3 生物芯片与纳米探针

生物芯片是在通过微加工获得的微米结构上装配一种或集成多种生物化学活性物质, 仅用微量生理或生物采样即可以同时检测和研究不同的生物细胞、生物分子和 DNA 的特性以及它们之间的相互作用, 从而获得生命微观活动的规律。生物芯片可以分为蛋白质芯片和 DNA 芯片等类型。

蛋白质芯片是一种在高密度的方格上含有各种微量纯化的蛋白质, 并能够高通量地测定这些蛋白质的生物活性, 以及蛋白质与生物大分子之间的相互作用。由于蛋白质芯片具有高通量、微型化及自动化等优点^[21], 所以该技术已经逐渐被引入到蛋白质组学研究上来。当前蛋白质芯片主要包括 3 种形式: 普通玻璃载玻片 (plain-glass slide); 多孔凝胶覆盖芯片 (porous gel pad chip); 微孔芯片 (microwell chip)。其共同特点是将生物分子作为配基, 以单一或点阵或序列式固定在固体芯片表面或表面微单元上。利用生物分子间的特异性, 待测分子与配基分子在芯片表面会形成生物分子复合物。然后, 检测此复合物的存在与否, 达到对蛋白质的探测、识别和纯化的目的。

DNA 芯片, 它是根据 DNA 双螺旋原理发展起来的核酸链间分子杂交的技术: 将已知的 DNA (探针) 和未知的核酸序列之间的一方以有序的阵列固定到芯片上, 通过 PCR (聚合酶链反应) 扩增技术将数量放大, 再与荧光标记的另一方进行杂交。当荧光标

记的一方在 DNA 芯片上发现互补序列时即发生杂交, 杂交的结果以荧光和模式识别分析来检测。DNA 芯片技术可以快速分析大量的基因信息, 但目前存在的问题主要有: 芯片的特异性不够高; 样品制备和标记操作较复杂; 信号检测灵敏度低; 集成化程度低。

现在用生物大分子制作纳米探针已越来越受到重视。Elghanian 等人^[22] 将直径约 13 nm 的金微粒粘附上 DNA 链, 当在溶液中这些 DNA 链和互补的碱基序列结合后就形成 DNA 链的网络, 使其中的微粒间距减小, 由于金粒的表面等离子体共振, 体系的颜色从红色变成蓝色。用这种方法检测病原体简便而价廉。Kasianoviez 等人^[23] 将一种细菌的离子通道 (α -溶血素) 组装在人工双分子层脂质膜上, 在膜两侧加上电压使通道打开, 同时在电场作用下单链的 DNA 或 RNA 分子通过 1.5 nm 宽的离子通道, 由于不同碱基的理化特性不同以及通道内电荷分布对离子通量的影响非常显著, 因而在核酸链通过通道的过程中随碱基序列的不同可以记录到单通道电流随时间改变的不同形式。这种全新的纳米探测技术, 目前的速度已达每毫秒 1 个碱基。

研究者们正在研制的遗传畸变探测生物传感器, 类似于其他的 DNA 探测传感器。在此传感器上装配所要探测的特制 DNA 序列 (DNA 链是导电的)。杂交 DNA 所引起的删除或变化, 均起阻碍电流的作用, 通过测量电导的变化可以识别 DNA 的异常状态。这种生物传感器还能用于鉴别混合物, 如: 环境毒素、毒品或蛋白质等, 当这类分子结合到金属 DNA 上, 将把金属离子排斥出来, 导致电流中断, 由于信号强度的减少正比于污染物的浓度, 所以能够很容易地确定环境毒素的量。

由于纳米探针具有高选择性和高灵敏度, 可以用来探测很多细胞物质、监控活细胞的蛋白质和其他生化物质。纳米探针还可以探测基因表达和靶细胞的蛋白质生成, 用于微量药物筛选等。

纳米生物技术在国内的研究刚刚起步^[24], 但作为一个新领域无疑将会得到越来越多的研究与开发。随着化学、物理学、生物学、材料学等领域的不断进步, 纳米生物材料、生物发动机与纳米机器、生物芯片与生物探针迅速发展的同时, 纳米生物技术的一些新领域也会出现并得到不断提高与完善。

参考文献

[1] Lowe C R. Nanobiotechnology: The fabrication and applications of chemi-

- cal and biological nanostructures[J]. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2000(10):428 ~ 434
- [2] Greig I M, Philip D. Applying biological principles to the assembly and selection of synthetic superstructures[J]. *Chem Soc Rev*, 2001, 30:287 ~ 302
- [3] Sarikaya M. Biomimetics: materials fabrication through biology[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96:14183 ~ 14185
- [4] Service R F. Building the small world of the future[J]. *Science*, 1999, 286:2442 ~ 2444
- [5] Spreitzer G, Whiting J M, Wright D W. Combinatorial approaches to peptide encapsulated CdS nanoclusters[J]. *Proc Symp Mat Res Soc*, 1999, 599:550 ~ 556
- [6] Klaus T, Joerger R, Olsson E, et al. Silver-based crystalline nanoparticles, microbially fabricated[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96:13611 ~ 13614
- [7] Douglas T, Young M. Host-guest encapsulation of materials by assembled virus protein cages[J]. *Nature*, 1998, 393:152 ~ 155
- [8] 靳刚, 应佩青. 纳米生物技术[J]. *自然杂志*, 2001, 23(4):211 ~ 214
- [9] Niemeyer C M. Self-assembled nanostructures based on DNA: Towards the development of nanobiotechnology[J]. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2000(4):609 ~ 618
- [10] Seeman N C. DNA engineering and its application to nanotechnology[J]. *TIBTECH*, 1999, 17(11):437 ~ 443
- [11] Ban N, Nissen P, Hansen J, et al. Placement of protein and RNA structures into a 5 Å-resolution map of the 50 s ribosomal subunit[J]. *Nature*, 1999, 400:841 ~ 847
- [12] Pum D, Sleytr U B. The application of bacterial S-layers in molecular nanotechnology[J]. *TIBTECH*, 1999, 17(1):8 ~ 12
- [13] Whitesides G M, Mathias J P, Seto C T. Molecular self-assembly and nanochemistry: A chemical strategy for the synthesis of nanostructures[J]. *Science*, 1991, 254:1312 ~ 1319
- [14] Odde D J, Renn M J. Laser-guided direct writing for applications in biotechnology[J]. *TIBTECH*, 1999, 17(10):385 ~ 389
- [15] Stock D, Leslie A G W, Walker J E. Molecular architecture of the rotary motor in ATP synthase[J]. *Science*, 1999, 286:1700 ~ 1705
- [16] Drexler K E. Building molecular machine systems[J]. *TIBTECH*, 1999, 17(1):5 ~ 7
- [17] Montemagno C, Bachand G, Stelick S, et al. Constructing biological motor powered nanomechanical devices[J]. *Nanotechnology*, 1999, 10:225 ~ 231
- [18] Noji H, Yasuda R, Yoshida M, et al. Direct observation of the rotation of F1-ATPase[J]. *Nature*, 1997, 386:299 ~ 302
- [19] Adachi K, Yasuda R, Yoshida M, et al. Stepping rotation of F1-ATPase visualized through angle resolved single-fluorophore imaging[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97:7243 ~ 7247
- [20] Mao C, Sun W, Seeman N C, et al. A nanomechanical device based on the B-Z transition of DNA[J]. *Nature*, 1999, 397:144 ~ 146
- [21] 宋鑫, 曹业. 蛋白质点阵/芯片技术的新进展[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2001, 28(6):819 ~ 821
- [22] Elghanian R, Storhoff J J, Mucic R C, et al. Selecting colorimetric detection of polynucleotides based on the distance-dependent optical properties of gold nanoparticles[J]. *Science*, 1997, 277:1078 ~ 1081
- [23] Kasianowicz J J, Brandin E, Branton D, et al. Characterization of individual polynucleotide molecules using a membrane channel[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93:13770 ~ 13773
- [24] 张志鸿. 新世纪推动生物科学发展的“Bio-X”[J]. *生物物理学报*, 2001, 17(1):1 ~ 9

(上接第4页)

新建,以免将来又形成更多的闲置生产能力,给国家造成基本投资浪费和潜在的人员下岗隐患。

我国已有生产燃料乙醇的技术,尤其是乙醇脱水技术十分先进,应该优先利用,而不必花费大量外汇购买国外相关的技术和设备(例如,对引进美国所谓先进的分子筛技术要作仔细的论证),以降低建厂的投资成本;同时,应该组织国内的科研力量进行乙醇生产过程的技术创新,以便进一步改造工艺、提高产率、减少能耗、降低生产成本,在逐步减少政府补贴的情况下,因地制宜、适度发展燃料乙醇是可行的。

考虑到粮食安全问题,每年可用多少万吨粮食来生产燃料乙醇,国家必须统筹安排,长远考虑。除生产玉米外,可以有选择地在不缺水的地区或不宜种植高产粮食作物的地区,因地制宜,通过发展高产、高糖或耐旱、耐盐碱的代粮含糖作物(如南方的

甘蔗、木薯等,北方的甜高粱等)就地生产燃料乙醇,这些作物既不与粮食争地、争水,又能很好地解决当地农民就业问题,增加农民的收入。

发展燃料乙醇的研究和生产需要得到政府在政策上的扶持。到目前为目,甚至相当长时间内,所生产的燃料乙醇在价格上无竞争优势,靠国家补贴。

虽然有以上不少的不利因素,乙醇汽油的价值并没有因此丧失。其意义主要体现在综合的社会效益上,为粮食产品转化和增值提供渠道,政府通过调整乙醇产量调控粮食市场;乙醇汽油的环保价值将可节省一笔可观的环境治理费用。由于这两项优势并不体现为直接的经济价值,因此需要政府对推广乙醇的油制定扶持政策,主要利用税收杠杆,并适当采取财政补贴手段,补偿生产商和供应商因推广混合燃料遭受的损失,形成利益驱动;同时,在油价制定上,应使乙醇汽油的价格低于普通汽油的价格。