

文章编号:1000-582X(2008)03-0251-04

一种弹性膜细胞拉伸加载装置的研制

申晓东^{1,2}, 宋关斌², 罗庆²

(1. 重庆工学院 工商管理学院, 重庆 400054; 2. 重庆大学 生物工程学院, 重庆 400030)

摘要:介绍了一种基于圆形基底膜形变原理的力学拉伸加载装置的研制,该装置运用单片机进行控制,LED显示,参数易于控制。刺激频率范围为0.1~1 Hz,刺激大小范围为2%~15%,刺激时间人工调节。该装置能满足细胞拉伸加载实验的要求。

关键词:细胞力学;拉伸;圆形基底膜拉伸

中图分类号:R318.01

文献标志码:A

Design of One Kind of Stretching and Loading Equipment for Cell Experiment Based on the Theory of Stretch of Rounded Membrane

SHEN Xiao-dong^{1,2}, SONG Guan-bin², LUO Qing²

(1. College of Business Administration Chongqing Institute of Technology, Chongqing 400054, P. R. China;
2. College of Bioengineering, Chongqing University, Chongqing 400030, P. R. China)

Abstract: One kind of stretching and loading equipment is designed based on the theory of stretch of rounded membrane. This equipment is controlled by a SCM, and it is displayed by LED. Its parameters of operation can be controlled and adjusted easily. For this equipment, the frequency of stimulation is from 0.1 Hz to 1 Hz, and the intensity of stimulation is from 2% to 15%, and the time of stimulation is controlled with manipulator. It is a sort of good experiment equipment for cell experiments.

Key words: biologic mechanics; stretch; stretch of rounded membrane

细胞力学是现代生物力学发展的前沿领域,其研究基础和关键是细胞加载技术。由于体内环境异常复杂,人体细胞的大小在十几到几十个微米之间,细胞膜的厚度仅有几个纳米到几十个纳米,常规的宏观力学加载方法和实验技术无法直接使用。因此,体外分离细胞和建立合适的加载培养模型是细胞力学面临的首要问题。早在1939年,科学家就在体外培养细胞的力学加载方面进行了开拓性的研究。经过多年改进和发展,已研制出多种体外培养细胞的力学加载装置。大致可分为单细胞加载装置^[1-6]、压力传导加载装置^[7-9]、离心力加载装置、流

体剪切力加载装置^[10-11]和基底形变加载装置^[12-16]。

基底形变加载技术开始于弹性细胞培养膜的问题。以弹性膜作为基底材料,通过机械拉伸矩形基底,或利用气压、液压和机械接触引起弹性底面的形变,使附着于该底面的细胞受到牵张力,并可附加一些调节加力周期的机械装置,这种加载装置加力方式较为合适,且不限实验周期,目前是一种较为理想的实验装置,可用于各种细胞的体外力学加载,主要用于研究牵张力对体外培养细胞增殖和代谢等的影响。其加载技术主要有矩形基底拉伸、圆形基底拉伸等,其中圆形基底的拉伸更为常见,通常有以下

收稿日期:2007-12-19

基金项目:国家自然科学基金资助项目(10372121)

作者简介:申晓东(1979-),男,重庆大学硕士,主要从事干细胞的增殖分化调控研究。宋关斌(联系人),男,重庆大学教授,(Tel)023-65102507;(E-mail) song9973@tom.com。

几种方式:

1) 在基底膜与基座之间的封闭腔中注入液体或气体产生压力达到基底变形,通过调节压力大小来改变弹性底面的垂直形变量,最终控制细胞受力的大小。实验的拉伸加载装置正是基于这一种方式的圆形基底拉伸。

2) 通过一根与基底膜接触的压杆或顶杆。机械牵动压杆或顶杆使基底膜产生向下或向上的变形,使细胞受到拉伸作用。

3) 利用封闭腔抽真空产生的负压使弹性基底膜发生形变。

1 拉伸加载装置的原理与研制

1.1 拉伸加载装置的力学原理

装置的力学原理是基于圆形基底膜形变拉伸,属于基底形变加载装置的一种(见图1)。通过液压接触引起弹性底面的形变,使附着于该底面的细胞受到牵张力。其力学原理如图2所示。

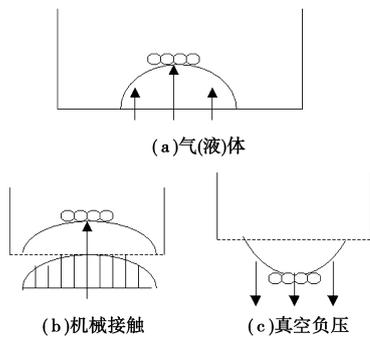


图1 圆形基底拉伸

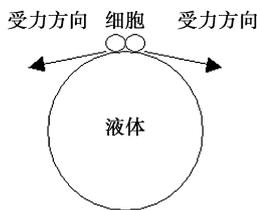


图2 拉伸的力学原理图

1.2 拉伸加载装置控制电路的研制

设备控制电路以 89S51 微控制器为控制核心,LED 和键盘组成人机界面。LED 显示仪器产生的中断次数,用户可以通过键盘改变中断次数。微控制器通过自身的定时器为继电器提供准确的开关波形,输出到功率放大电路再供给继电器,让继电器在设定的频率下对电磁阀进行开关操作,从而实现所需的特定频率改变,达到对力学加载单元的控制。该控制电路原理如图3所示。

整个电路主要由电源部分和控制显示部分

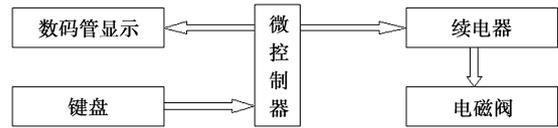


图3 控制电路原理图

构成。

1.2.1 电源部分

电源部分主要有 2 个作用,分别是将电压稳压为 +5 V 和 +15 V 输出。

1.2.2 控制显示部分

控制显示部分包括单片机,LED 显示仪,键盘输入(加减电路)以及其他单片机辅助电路组成,具体电路如图4-8所示。通过键盘输入电路,改变单片机输出频率,从而改变电磁阀工作频率。单片机通过 output 输出波形,通过功放,驱动电磁阀工作。

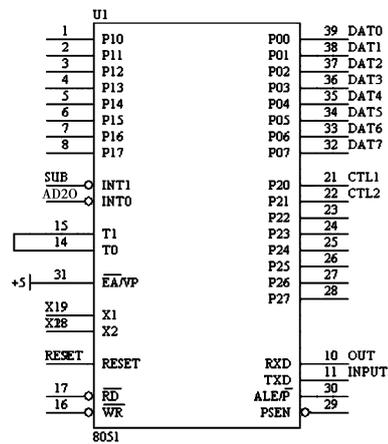


图4 单片机引脚定义

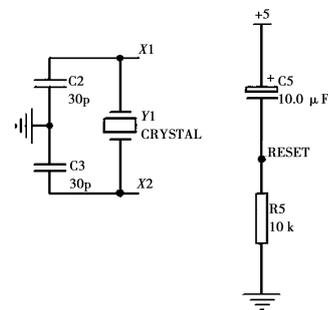


图5 单片机辅助电路(晶振和复位电路)

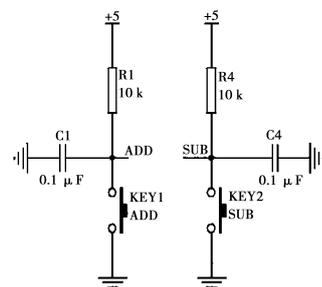


图6 键盘输入电路(加减电路)

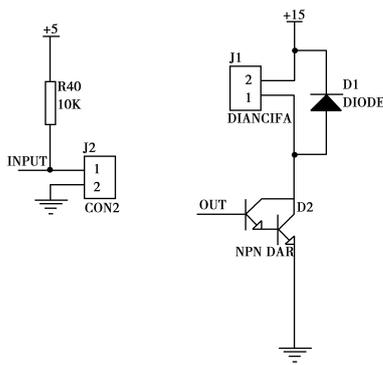


图7 单片机辅助电路(input and output 电路)

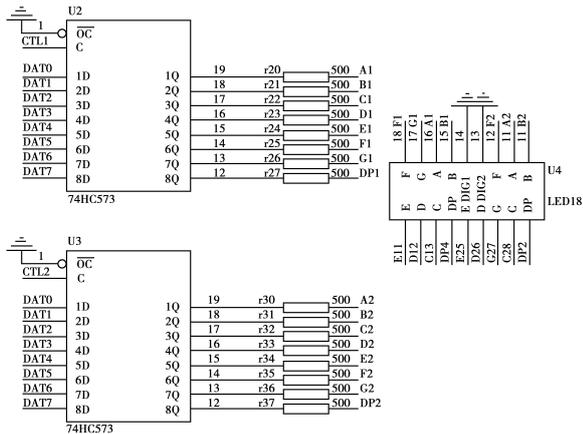


图8 LED显示电路

2 拉伸加载装置的工作原理

拉伸加载装置结构如图9所示。

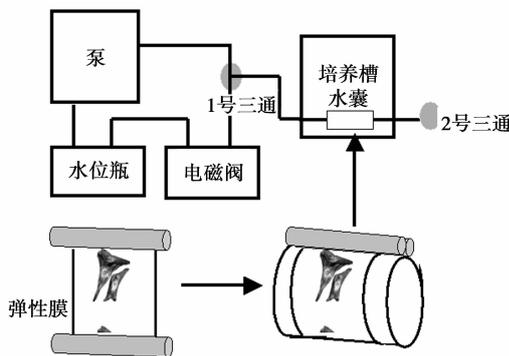


图9 弹性膜周期加载装置结构图

弹性膜周期加载装置由细胞培养单元、力学加载单元、控制电路单元3个部分组成。其工作原理为:加正压,蠕动泵转动,将水位瓶中的水泵出,经过粗管流向1号三通,然后流入培养槽硅胶管,打开2号三通排气后关闭,此时,液体经过1号三通过电磁阀,由电磁阀上的弹簧片开合来控制培养槽中水囊的舒张(弹簧片下压,液体从细管流入水位瓶,弹簧片上顶,此回路不通,液体流向水囊),从而使紧贴在硅胶管上的弹性膜膨胀,拉伸生长在弹性膜上的

细胞。弹性膜伸长比: $\lambda = (D_{max} - D_0) / D_0 \times 100\%$, 实验中以此伸长比大小作为刺激大小,作为刺激条件参数。

3 拉伸加载装置的主要性能和测试结果

拉伸加载刺激的大小、持续时间和频率在对细胞生长的调节中扮演十分重要的角色,不同的刺激条件诱导细胞可能得到完全不同的结果。从现有文献来看,小应变量、短持续时间、高频率机械刺激对细胞的增殖有利;而大应变量、长持续时间、低频率机械刺激对细胞的分化有利。因此结合具体条件,初步设定高刺激频率为1 Hz,刺激时间15、30、60 min,刺激大小为2%、4%、6%、8%;而低刺激频率为0.1 Hz,刺激时间6、12、24 h,刺激大小8%、10%、12%、15%。

3.1 高频率下蠕动泵转速与膜伸长比的关系

对膜分左中右3处进行测试,每点测试3次,取平均值,测试蠕动泵转速控制与膜伸长比的关系,结果表明,在高频率下,基底膜形变大小所对应的蠕动泵转速如表1所示。

表1 高频率下蠕动泵转速与膜伸长比的关系

刺激大小	2	4	6	8
蠕动泵转速/(r · min ⁻¹)	30 ~ 35	50 ~ 60	70 ~ 80	90 ~ 100

3.2 低频率下蠕动泵转速与膜伸长比的关系

测量方法如前,结果表明,在低频率下,基底膜形变大小所对应的蠕动泵转速如表2所示。

表2 低频率下蠕动泵转速与膜伸长比的关系

刺激大小	8	10	12	15
蠕动泵转速/(r · min ⁻¹)	20 ~ 30	30 ~ 40	40 ~ 50	60 ~ 70

通过测试,可以初步认为膜伸长比与流量成正比,与频率成反比。

4 结束语

现有的圆形基底拉伸装置一般采用模拟电路进行控制,拉伸频率、刺激大小范围有限,且装置设计完成后,相关参数不易更改,适用面有限。而文中设计的弹性膜周期加载装置采用数字电路进行控制,拉伸频率、大小、时间控制更为方便,只需更改单片机程序就可对参数进行更改,适用范围更广。

通过测试和实验,可以初步认为该拉伸加载装置的研制是成功的,能实现0.1 ~ 1 Hz的拉伸频率的变化,拉伸大小2% ~ 15%,膜伸长比与流量成正比,与频率成反比。该设备成本较低,易于操作,适用性较广。

从测量情况看,在1 Hz控制频率下,由于使用硅胶管内径限制及蠕动泵本身参数影响,液体流量

受到一定限制,膜难以达到 10% 以上的伸长比。要解决此问题,必需增大通过硅胶管的流量或者降低控制频率。

参考文献:

- [1] 周向东,龙勉. 采用细胞微管吸吮系统对细胞粘附性的单细胞定量测定[J]. 生物技术, 1996,6(1):35-36.
ZHOU XIANG-DONG, LONG MIAN. Monocellular Quantitative Analysis of Cell Adhesion by a Micromanipulation Technique[J]. Biotechnology, 1996,6(1):35-36.
- [2] 龙勉,吴泽志,王红兵,等. 肝细胞粘弹性实验研究[J]. 生物物理学报,1996,12(1):169-173.
LONG MIAN, WU ZE-ZHI, WANG HONG-BING, et al. Experimental Investigation on Viscoelasticity of Hepatocytes [J]. Acta Biophysica Sinica,1996,12(1):169-173.
- [3] 吴泽志,张钢,龙勉,等. 秋水仙素和长春花碱对肝癌细胞粘弹性的影响[J]. 生物物理学报,1998,14(1):167-171.
WU ZE-ZHI, ZHANG GANG, LONG MIAN, et al. Effect of Colchicine and Vinblastine on the Viscoelastic Properties of Hepatocellular Carcinoma Cells[J]. Acta Biophysica Sinica, 1998,14(1):167-171.
- [4] 吴泽志,张钢,王宪航,等. 肝细胞粘弹特性及其与细胞骨架结构的相关性研究[J]. 生物医学工程学杂志,1997,14(2):111-114.
WU ZE-ZHI, ZHANG GANG, WANG XIAN-XHANG, et al. Investigation on the Viscoelastic Properties of Hepatocytes and Their Relevances to Cytoskeleton Structure[J]. Journal of biomedical Engineering, 1997,14(2):111-114.
- [5] 张婷,薛亚梅,屈谦,等. 长春新碱对肺癌细胞粘弹特性的影响[J]. 中国肺癌杂志,2003,3(4):272-275.
ZHANG TING, XUE YA-MEI, QU QIAN, et al. The Effect of Vinblastine on the Viscoelastic Properties of Lung Cancer Cells[J]. Chinese Journal of Lung Cancer, 2003,3(4):272-275.
- [6] 张西正,匡震邦,蔡绍哲,等. 人、Wistar 大鼠、昆明小鼠成骨细胞粘弹性的测量[J]. 北京生物医学工程,2002,21(1):40-43.
ZHANG XI-ZHENG, KUANG ZHEN-BANG, CAI SHAO-XI, et al. Osteoblastic Viscoelastic Measurement for Human Being, Wistar Rats and Kunming Mice[J]. Beijing Biomedical Engineering, 2002,21(1):40-43.
- [7] PARKKINEN JJ, LAMMI MJ, INKINEN R, et al. Influence of short term h · rostatic pressure on organization of stress fibers in cultured chondrocytes [J]. Ortho PRes, 1995,13(4):495-499.
- [8] BURTON-WURSTER N, VERNIER-SINGE RM, FARQUHAR T, et al. Effect of compressive loading and unloading on the synthesis of total protein, proteoglycan and fibronectin by canine cartilage explants[J]. Ortho PRes, 1993,11(1):717-720.
- [9] TORZILLI PA, GRIGIENE R, HUANG C, et al. Characterization of cartilage metabolic response to static and dynamic stress using a mechanical explant test system [J]. Biomech, 1997,30(2):1-5.
- [10] HEIMEKE BP, THAKKER DB, GOLDMAN RD, et al. Spatiotemporal analysis of flow-induced intermediate filament displacement in living endothelia cells[J]. Biophys, 2001,80(2):184-187.
- [11] JACOBS D R, YELLOWLEY CE, DAVIS BR, et al. Differential effect of steady versus oscillating flow on bone cells[J]. Biomech, 1998,31(2):969-1000.
- [12] BOTTLANG M, SIMNACHER M, SCHMIDT H, et al. A cell strain system for small homogeneous strain applications[J]. Biomech, 1997,42(8):305-309.
- [13] HUNG CT, WILLIAMS JL. A method for inducing equibiaxial and uniform strains in elastomeric membranes used as cell substrates[J]. Biomech, 1994,27(9):227-231.
- [14] 张惠静,蔡绍哲,卢晓,等. 机械拉伸下人肺上皮细胞增殖及整联蛋白再分布[J]. 生物化学与生物物理学报,2002,34(6):748-752.
ZHANG HUI-JING, CAI SHAO-XI, LU XIAO, et al. Effects of Mechanical Strain on the Proliferation of Pulmonary Epithelial Cells and Reorganization of Integrins [J]. Acta Biochimica Et Biophysica Sinica, 2002,34(6):748-752.
- [15] 张惠静,杨力,蔡绍哲,等. 机械拉伸下人肺上皮细胞增殖及整联蛋白再分布[J]. 第三军医大学学报,2003,25(14):1254-1257.
ZHANG HUI-JING, YANG LI, CAI SHAO-XI, et al. Effects of mechanical strain on the proliferation of human pulmonary epithelial cells and reorganization of integrins [J]. Acta Academiae Medicinae Militaris Tertiae, 2003,25(14):1254-1257.
- [16] 王红兵,卢晓,黄岂平,等. 基底膜拉伸应变对培养的大鼠血管平滑肌细胞形态的影响[J]. 中国应用生理学杂志,2000,16(1):37-40.
WANG HONG-BING, LU XIAO, HUANG QI-PING, et al. The Effect of Membrane Cyclic Tension Strain on the Morphology of Rat Vascular Smooth Muscle Cells in Vitro [J]. Chinese Journal of Applied Physiology, 2000,16(1):37-40.

(编辑 陈移峰)