

纳米生物技术及其应用*

赵强^{1,†} 庞小峰¹ 张怀武²

(1 电子科技大学生命科学与技术学院 成都 610054)

(2 电子科技大学微电子与固体电子学院 成都 610054)

摘要 纳米技术的发展使人们可以观测到纳米量级的介观世界,可以直观地了解生物分子的形态和分子间的相互作用,甚至可以操纵生物大分子,得到不同结构的新的生物分子.运用纳米技术制作的纳米器件可以用作疾病诊断与治疗.由纳米量级的超微粒构成的纳米生物材料具有良好生物相容性和一些独特的纳米效应,主要表现为小尺寸效应和表面或界面效应.纳米生物材料与相同组成的微米材料存在非常显著的差异,体现出许多优异的性能和全新的功能.纳米微粒在癌症的监测、治疗,细胞和蛋白质的分离,基因治疗,靶向和缓释控药物等中都有着广泛的应用.

关键词 纳米科技 纳米生物技术 纳米生物材料 生命科学

The application of nanotechnology in life science

ZHAO Qiang^{1,†} PANG Xiao-Feng¹ ZHANG Huai-Wu²

(1. School of life science and technology, university of electronic science and technology of China, Chengdu 610054, China)

(2. School of micro-electronics and solid-state electronics, university of electronic science and technology of China, Chengdu 610054, China)

Abstract The conformation and interaction of biologic molecules can be observed directly as a result of the development of nanotechnology. A biomolecule can even be manipulated to obtain a new molecule. Nano-apparati are also used in the diagnosis and therapy of diseases. Nanobiomaterials have good biocompatibility and special nano-effects such as small dimension effects and surface effects. The properties of nanobiomaterials are quite different from those of micron size biomaterials. Nanobiomaterials can be widely used in the fields of monitoring and therapy of cancer, separation of cells or proteins, genic therapy, drug target delivery and release, and so forth.

Keywords nanotechnology, nanobiotechnology, nanobiomaterials, life science

1 引言

纳米科技可以定义为在纳米尺度(1nm到100nm之间)上研究物质(包括原子、分子的操纵)的特性和相互作用,以及利用这些特性的多学科交叉的科学和技术.纳米科技的思想最早由物理学家Richard Feynman在1960年提出^[1],他设想可以将原子进行操纵排列,以获得化学家要求得到的分子.纳米科技的基本思想、方法等可引入不同的学科领域,从而发展出许多的新兴领域,如纳米物理学、纳

米化学、纳米电子学、纳米计量学、纳米生物学和纳米医学等等.科学家预言,纳米科技是21世纪信息技术、材料、医药等发生革命性变革的关键所在.

纳米科技在生命科学中的应用,主要体现在两个方面:一是应用纳米技术在纳米尺寸对生物分子进行观测,操纵生物分子、制作纳米生物器件等方面;二是纳米材料在生命科学中的应用,包括纳米无

* 国家自然科学基金(批准号 90306015)资助项目

2005-06-15 收到初稿 2005-10-10 修回

† 通讯联系人. Email: zhaoliang@sohu.com

机生物材料、纳米生物高分子材料和纳米复合生物材料等。

2 纳米技术在生命科学中的应用

现代科技的发展,使人们可以借助仪器观测到自然环境下纳米量级的微观世界。通过对生物分子的观测,人们可以更直观地了解生物分子的形态和分子间的相互作用,分析蛋白质和 DNA 的结构与功能。采用特殊的手段,人们甚至可以操纵生物大分子,得到不同结构的新的生物分子,了解大分子的功能与特性。运用纳米技术制作的纳米器件,可以用作疾病诊断与治疗,为现代医学诊疗增加了一个强有力的工具。

2.1 观测和操纵生物分子

运用现代纳米技术,使人们突破了检测环境的限制,可以直接对生物分子在其生命环境中进行检测,获得更真实和详尽的信息。扫描探针显微镜(SPM)是研究生物大分子的有力工具,它包括扫描隧道显微镜(STM)、原子力显微镜(AFM)、力调制显微镜(FMM)、相位检测显微镜(PDM)、静电力显微镜(EFM)、电容扫描显微镜(SCM)、热扫描显微镜(SthM)和近场光隧道扫描显微镜(NSOM)等各种系列显微镜。例如原子力显微镜(AFM)是通过探针与样品原子间斥力梯度信息成像的,它不受样品导电性的影响,被测试样表面可以是绝缘体,其样品制备简单,不需染色和金属包覆就能在样品自然表面测量,因而可以用于生物物质微结构或形貌的观察测量。扫描近场光隧道扫描显微镜用光纤制成微小的探针,能沿样品表面逐点扫描,得到样品表面的光学信息。这种光纤既作光源又作探测器的巧妙设计,能对样品进行动态观测,是对生物大分子进行观测研究的有力工具。

透明质酸(HA)是一类多糖类物质,存在于结缔组织细胞的分子基质中。它的特点为高度亲水,切变粘度高,在关节中起润滑作用。组织中HA形成的网可以作为一个筛子,允许小分子通过,与组织内水溶物和营养运输有关。HA分子对湿度、pH值很敏感,在固、液态形状大不相同,难以用X射线、EM、NMR等常规方法进行研究。I. Jacoboai用AFM对HA进行研究^[2],把水合状态的样品沉浸于亲水的云母和疏水的石墨基板上,展现HA分子的形象,发现HA分子信息,此项研究对网状结构的力学原理

和网的成因提供了线索。对于复杂的脂蛋白大分子系统,尤其是在丰度较低时进行毫微尺寸的结构研究,可用相对简单的多种方法进行。用TEM结合AFM成像研究髓鞘质,可以产生特殊的三维信息。用AFM可观测整个细胞的电镜切片,同时避免了针尖对样品的损伤。用AFM还可以研究单个分子间的相互作用。AFM可在空气和流体的环境中,在纳米尺度上研究染色质结构。Michael J. Allen用AFM得到了核小体中心颗粒精细结构的图像。F. M. Ohnesorge等运用AFM对痘病毒和活细胞进行研究,在数小时内多次从活的感染细胞重复扫描,得到活细胞感染的整个过程。用AFM在仍然活着的细胞内来观察子代病毒,在分子水平进行分离并得出准有序的纳米尺度的详细结构。Grauw等用AFM在染色体组织的各个不同阶段找出致密染色质高度有序的方式。

拉曼光谱学技术结合携带纳米金的病毒可用来研究活细胞^[3]。当激光从一些物质表面反射时,其拉曼光谱会由于物质中某些分子具有独特的振荡特性,波长发生变化。根据此特性可以描绘出细胞的大致图形。然而拉曼光谱是很微弱的,导入金纳米微粒后,由于纳米微粒表面电子的相互作用可使拉曼信号增强5倍以上。细胞总是要迅速清除金纳米微粒这些外来物质,若使金纳米微粒进入病毒体,则可有效地逃避细胞的清除作用。研究人员用雀麦属镶嵌病毒的可感染大麦的病原体,采用病毒重组技术,导入直径仅5nm的金纳米微粒。当病毒在模拟细胞质的培养液中时用绿色激光照射,病毒外壳上的某些氨基酸会发射出独特的拉曼光谱信号,并由金纳米微粒增强,这就能在显微镜下看到一个单独的病毒。由于拉曼光谱信号依病毒环境的pH值或离子强度而变化,采用这项技术还可以描绘细胞的化学特性,这种图像具有与病毒直径相当的约30nm的清晰度。

低能量的激光不仅能“镊住”微粒,还能“镊住”生物大分子,并且在几秒钟内不会伤害生物分子,实现对生物大分子的直接操纵。如果在微粒上联结生物大分子,用激光镊子移动微粒,又可间接实现对生物大分子的操纵。中国科学院上海原子核研究所和德国萨尔大学合作,成功地用单个DNA分子链写出“DNA”三个字母。科研人员利用原子力显微镜观察、针尖操作等纳米操纵技术,将凝聚缠绕在一起的、呈双螺旋结构的单个DNA分子链,完整地拉直并构成二维的网状结构,将呈网状的单个DNA分子链切割、弯曲、推拉,在非常平整的云母表面写出

“DNA”三个字母.用这种方法可以测定DNA分子的弹性、RNA酶在转录时对DNA分子间的作用力等.低能量的激光同样可对生物大分子进行切割,清除特定的碱基等.

2.2 纳米生物技术与器件

纳米生物技术是纳米技术和生物技术相结合的产物.例如更加复杂的生物芯片技术,是将纳米技术引入生物芯片,主要包括两方面:一方面是纳米复合材料在生物芯片制备方面的应用,增强核酸、蛋白质与片基之间静态与动态的粘附力,促进小型化、高分辨率与多功能化;另一方面,拓宽生物芯片的应用范围,如植物药有效成分的高通量筛选、癌症等疾病的临床诊断,还可作为细胞内部信号的传感器.结合微电子磁技术,生物芯片已应用于单细胞分离、单基因突变分析、基因扩增与免疫分析.在微小的硅材料表面,制造出能够对微量样品进行变性、分离、纯化、电泳、PCR扩增、加样、检测等微小结构,把过去在一个实验中的各个步骤,微缩于一个芯片上.

纳米级的生物器件可以在体内自由转运,到达特定的部位.利用纳米级微小探针技术,在体内不同的部位植入纳米传感器,可将体内生物信息反馈于体外装置从而达到不同的诊断和监测目的.具有超高灵敏性的激光单原子分子探测术,可以通过人的排泄物或血液发现体内只有亿万分之一的各种致病或带病的游离分子.瑞士苏黎世研究室研究的纳米DNA装置,将一个DNA链固定到超微固体上,超微固体上的DNA链能与相应的DNA分子形成互补,用以在分子水平上识别癌细胞,达到早期诊断的目的.美国康纳尔大学的科学家利用ATP酶作为分子马达,研制出了一种可以进入人体细胞的纳米机电设备^[4].该设备共包括3个组件:2个金属推进器和1个与金属推进器金属杆相连的生物分子组件.其生物分子组件可将人体内的ATP转化为机械能,使得金属推进器的运转速率达到每秒8圈.这种技术有可能起到在人体细胞内发放药物等作用.

纳米生物传感器是一种尺寸为1—100nm的生物传感器,利用纳米技术和光纤技术可以制成各种分子传感器和探测器以及纳米光纤生物传感器,例如荧光光纤生物传感器,免疫纳米光纤传感器,DNA纳米光纤传感器和无转换器的细胞生物传感器以及利用纳米颗粒膜的巨磁阻效应研制的高灵敏度磁传感器.Kopelman在1992年制作了基于荧光的纳米光纤传感器,用于检测微环境中的pH值.该纳米传

感器响应时间大约为300ms,比传统的光纤传感器的响应时间缩短1%以上,而pH浓度检测下限精度比传统传感器提高了6个数量级,适宜于对单个细胞和亚细胞结构的检测.Barker等人制作出了一种胶体金NO纳米传感器,该传感器头部直径为200nm,在头部包被了能与NO相结合的亚铁细胞色素C和相应的荧光染料.用此传感器检测了小鼠巨噬细胞内NO水平.荧光纳米光纤传感器具有荧光分析特异性强、敏感度高等优点,而且还具有不用参比电极、使用简便、体积微小等诸多优点,有广泛的应用前景.Dinh等人研制出用于检测BPTC(benzopyrenetetrol,一种与暴露于致癌物质苯并芘相关的DNA损伤的生物标志物)的免疫纳米光纤传感器,该传感器的最低检测限是10—21mol.如此高选择性和高灵敏度的纳米传感器能用于探测多种细胞内物质,监控活细胞中的蛋白质等的相互作用等.Kopelman等人还研制了一种新型的局部生物性包埋的胶囊样探针传感器.它是一种纳米级的球状聚合物,其内含有用化学惰性基质包裹的纳米级传感分子(一种或多种特异性荧光染料,这些染料包埋于惰性基质的孔隙中),它能测量单细胞内pH值.Kopelman等人还在一个探针传感器内同时包埋多种不同的荧光染料,用一种荧光染料为参比标准,校准特异性荧光染料在细胞内不均匀分布所引起的测量错误.于是可直接用于测定体内物质.

3 纳米材料在生命科学中的应用

应用于生命科学中的纳米材料可称之为纳米生物材料,它是指由具有纳米量级的超微粒构成的、具有良好生物相容性的功能材料.由于纳米材料结构上的特殊性,使纳米生物材料具有一些独特的效应,主要表现为小尺寸效应和表面或界面效应.纳米材料与相同组成的微米材料在性质上有非常显著的差异,它有其特殊的生物学效应^[5,6],可以应用于多个方面.如纳米金属的毒性低,传感特性和弹性模量接近生物组织,细胞可在其表面生长,并可修复病变组织.纳米羟基磷灰石人造骨材与生物骨质的成分相近,强度和密度也相近,因而能与人体骨折部分完全融合,可替代不锈钢材料用于人体矫正手术.纳米微粒在癌症的监测、治疗,细胞和蛋白质的分离,基因治疗,靶向和缓释控药物等中都可发挥重要作用.

3.1 纳米无机生物材料

纳米陶瓷材料:传统的氧化物陶瓷是一类重要的生物材料,在临床上已用于人工骨、人工关节、人工骨钉、人工齿,以及种植牙、耳听骨修复等。此外还用作负重的骨杆、锥体人工骨、修补移植海绵骨的充填材料、不受负重影响的人工海绵骨及兼有移植骨作用的髓内固定材料等。常规陶瓷由于气孔、缺陷的影响,存在着低温脆性的特点,它的弹性模量远高于人骨,力学相容性欠佳,容量发生断裂破坏,强度和韧性都还不满足临床上的高要求,使它的应用受到一定的限制。纳米陶瓷是由纳米级水平显微结构组成的新型陶瓷材料,它的晶粒尺寸、晶界宽度、第二相分布、气孔尺寸、缺陷尺寸等都只限于100nm量级的水平。纳米微粒所具有的小尺寸效应和表面与界面效应,使纳米陶瓷呈现出与传统陶瓷显著不同的独特性能。纳米陶瓷已成为当前材料科学、凝聚态物理研究的前沿热点领域,是纳米科学技术的重要组成部分。纳米陶瓷由于晶粒很小,使材料中的内在气孔或缺陷尺寸大大减少,材料不易造成穿晶断裂,有利于提高材料的断裂韧性;而晶粒的细化又同时使晶界数量大大增加,有助于晶粒间的滑移,使纳米陶瓷表现出独特的超塑性。许多纳米陶瓷在室温或较低温度下就可以发生塑性变形,如纳米TiO₂陶瓷和CaF₂陶瓷在180℃下,在外力作用下呈正弦形塑性弯曲。即使是带裂纹的TiO₂纳米陶瓷也能经受一定的弯曲而裂纹不发生扩散,在同样条件下,粗晶材料出现脆性断裂。纳米陶瓷材料的强度、硬度、韧性和超塑性都大为提高,因而在人工器官的制造、临床应用等方面,纳米陶瓷材料都比传统陶瓷有更广泛的应用并具有极大的发展前景。例如羟基磷灰石生物材料已广泛用于人工骨的研制。纳米羟基磷灰石能够模拟骨骼结构,可以取代目前骨科医疗中的合金材料,并且性能远较金属优异。它的主要成分是与聚乙烯混和并经压缩后的羟基磷灰石。羟基磷灰石与骨骼主要成分的性能一致,它的物理特性符合理想骨骼替代物的模数匹配,它的强度数值和密度指数与骨骼相似,它与正常骨骼组织的相容性好,不易产生骨折,将它用作正畸医疗材料有明显优势^[7]。

碳纳米材料:碳基生物材料已在人工心脏瓣膜、人工骨、人工关节、人工齿根等多方面应用^[8]。碳纳米材料主要包括纳米碳纤维和碳纳米管。纳米碳纤维除了具有微米级碳纤维的低密度、高比模量、高比强度、高导电性之外,还具有缺陷数量极少、比表面积大、结构致密等特点。碳纳米管具有优异的力

学和电学性能。它的强度是钢的百倍,还具有毛细管性质,具有高效吸附特性,可将它用于血液的净化系统,清除某些特定的病毒或成分。碳基人工材料的强度、硬度、韧性等多方面性能显著提高,利用纳米碳材料的这些超常特性和它的良好生物相容性,可以在医学领域中广泛的应用。

3.2 纳米生物高分子材料

高分子微粒尺寸减小到纳米量级后,高分子的特性发生了很大的变化,主要表现在表面效应和体积效应两方面。纳米高分子微粒具有普通微米材料所不具有的新性质和新功能,表现为表面积激增,微粒上的官能团密度和选择性吸附能力变大,达到吸附平衡的时间大大缩短,微粒的胶体稳定性显著提高。这些特性为它们在生物医学领域中的应用创造了有利条件。纳米高分子材料在免疫分析、药物控释载体及介入性诊疗等方面都有着广泛应用^[9]。

免疫分析是在特定的载体上以共价结合的方式固定对应于分析对象的免疫亲和分子标识物,并将含有分析对象的溶液与载体温育,然后通过显微技术检测自由载体量,就可以精确地对分析对象进行定量分析,可对蛋白质、抗原、抗体乃至整个细胞进行定量分析。在免疫分析中,纳米高分子微粒,尤其是具有亲水性表面的微粒,对非特异性蛋白的吸附量很小,被广泛地作为新型的标记物载体来使用。

在药物控释领域,纳米高分子微粒也有重要的应用价值。某些药物由于消化道的不稳定性不能口服给药,而且这些药物只有在特定部位才能发挥药效。生物可降解的高分子材料微球或微囊包裹药物可实现控制释放。在微球中应用的高分子材料应具有生物相容性、无生理毒性、有一定机械强度和稳定性。应用的高分子聚合物可分为合成聚合物、天然聚合物或两者结合使用。天然聚合物包括壳聚糖、纤维素及其衍生物、淀粉、多糖、蛋白质、甲壳素等;合成聚合物一般有聚乳酸(PLA)、聚乙交酯丙交酯(PLGA)、聚羟基烷酯(PHA)、聚羟基丁酯(PHB)、聚乙交酯(PGA)、聚内酯(PCL)及其共聚物等。纳米高分子材料制成的药物载体与各类药物,无论是亲水性的、疏水性的药或者是生物大分子制剂,都有良好的相容性,能够负载或包覆多种药物,并可更有效地控制药物的释放速度。

纳米微粒可以在血液中自由运动,通过注入各种对机体无害的纳米微粒到人体的各部位,达到检查病变和进行治疗的目的。载有地塞米松的乳酸-

乙醇酸共聚物的纳米微粒 动脉给药进入血管 ,可有效治疗动脉再狭窄 ;而载有抗增生药物的乳酸 - 乙醇酸共聚物纳米微粒经冠状动脉给药 ,可以有效防止冠状动脉再狭窄 . 载有抗生素或抗癌制剂的纳米高分子微粒可以用动脉给药 ,用于某些特定器官的临床治疗 . 载有药物的纳米球还可以制成乳液进行肠外或肠内的注射 ,也可以制成疫苗进行皮下或肌肉内注射 .

纳米微粒的粒径小 ,比表面积大 ,具有较高的胶体稳定性和优异的吸附性能 ,并能很快达到吸附平衡 ,因而纳米高分子微粒可以直接用于生物物质的吸附分离 . 通过在纳米微粒表面引入羧基、羰基、磺酸基、胺基等不同官能团 ,就可以利用电荷或氢键作用 ,与蛋白质、核酸等生物大分子结合 ,产生共沉降而分离生物大分子 . 若改变条件 ,又可使生物大分子解吸附 ,从而回收生物分子 . 纳米高分子微粒经过表面修饰后带有正电荷 ,与发酵液、匀浆液中带有负电荷的微生物、动植物细胞或细胞碎片产生絮凝作用 ,将它们从体系中清除 .

3.3 纳米复合生物材料

纳米复合材料由两种以上纳米尺寸的晶粒进行复合 ,或两种以上厚薄的薄膜逐层交替铺上 ,或纳米微粒和薄膜复合的复合材料 . 由于纳米微粒具有大的表面能与比表面积 ,使一些通常不互溶的组分有可能在纳米尺度上复合 ,从而形成新型的金属/陶瓷、陶瓷/陶瓷复合材料 . 由于存在的纳米效应 ,可望明显改善复合材料的韧性和耐温性等许多性能 ,拓宽材料的应用领域 . 例如磁性纳米微球可有三种结构形式 (1)核 - 壳结构 ,即由磁性材料组成核部 ,高分子材料作为壳层 (2)壳 - 核结构 ,即将高分子材料作为核部 ,外面包裹磁性材料 (3)壳 - 核 - 壳结构 ,即最外层和核部为高分子材料 ,中间层为磁性材料 . 这三种结构中 ,第一种是以磁性材料为核部 ,可以在高分子外层连接所需携带的药物、抗体等 ;第二种和第三种结构则是以高分子层为核部 ,可在核部结合对生物体内环境反应较敏感的药物等 ,避免其在到达靶部位前与生物环境发生反应 ,而降低疗效或对其他细胞、组织、器官产生毒副作用 . 研究较多的为第一种结构 ,它由两部分组成 :具有磁导向

(靶向性)的核层(磁性材料)和具有一定活性基团和生物相容性的壳层 . 磁性材料主要是由纳米级的金属氧化物 (如铁、钴、镍等的氧化物)组成 ,而壳层由合成高分子或生物高分子纳米包囊而成 . 可通过适当的方法将壳层与核层结合 ,形成具有一定磁导向性和生物活性或反应活性的载体 . 由于磁性生物纳米材料的生物活性、亲和性或反应活性 ,可结合各种功能分子 ,如酶、抗体、细胞、DNA 或 RNA 等 ,因而在靶向药物、酶的固定化、免疫测定、细胞的分离与分类等领域可望有广泛的应用^[10] .

4 展望

纳米科技的研究才刚刚开始 ,已经展现出巨大的发展潜力 . 纳米科技必将促进人们在分子水平上对生命过程的认识和操控 ,提供更多和更好的医疗设备、材料和手段 ,对生命科学的发展起到极大的推动作用 ,从而使人类进一步认识生命的本质 ,提高人类生活质量和医疗水平 .

参 考 文 献

- [1] Feynman R. *Engineering and Science* , 1960 , 23 : 22
- [2] Jacoboai I *et al.* *Journal of structural biology* , 1999 , 126 : 52
- [3] Dragnea B , Chen C *et al.* *Journal of American Chemistry Society* , 2003 , 125(21) : 6374
- [4] Montemagno C *et al.* *Nanotechnology* , 1999 , 10 : 225
- [5] Pang X F , Liu L W *et al.* *Biological Effects of the Carbon Nanotubes*. In : *Abstract Book of 27th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBS)*. Shanghai , 2005 365
- [6] Zhao Q , Pang X F *et al.* *The Biological Effect of Nano-Iron Oxide and its Hydrate*. In : *Abstract Book of China NANO 2005 : China International Conference on Nanoscience & Technology*. Beijing , 2005 , 181
- [7] Liao S S , Cui F Z *et al.* *Journal of Biomedical Material Research* , 2004 , 69 B : 158
- [8] Wang S G , Qing Z *et al.* *Biochemical and Biophysical Research Communications* , 2003 , 311 : 572
- [9] Soppimathk S , Aminabhavi A M *et al.* *Journal of control Release* , 2001 70(12) : 1
- [10] Pankhurst Q A , Connolly J *et al.* *Journal of Physics D : Applied Physics* , 2003 , 36(13) : 167