

活细胞内单个大分子的行为*

陈宜张[†]

(第二军医大学神经科学研究所 上海 200433)

摘要 以往细胞内大分子活动的研究,多数是许多分子活动的一个平均结果,即一种集群平均(ensemble averaging)的结果。随着各种技术,特别是光学及荧光检测技术的成熟,实时视见活细胞内单个大分子的时代已经到来。在现时条件下,有许多方法可供选择,如荧光共振能量转移、原子力显微镜、全内反射显微技术、荧光相关光谱法等等。“活细胞内单个大分子的行为”的研究有可能为了解活细胞内单个分子的活动带来完全新的认识,但目前还存在不少方法学上的局限性,有待进一步提高,如有效的特异标记物、细胞深部荧光的检测、新型显微镜的开发等。

关键词 生物大分子,实时检测,细胞内,活细胞

Behavior of single molecules in live cells

CHEN Yi-Zhang[†]

(Institute of Neuroscience, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

Abstract Previous studies on the activity of bio-molecules in a cell were mostly performed on the basis of ensemble averaging. However, with the advent of new technology, especially optical and fluorescence techniques, it is now possible to visualize the dynamics and kinetics of a single bio-molecule in the living cell in real time. From the methodological aspect, many techniques are now available: fluorescent resonance energy transfer, atomic force microscopy, total internal reflection fluorescence, fluorescence correlation microscopy, and so forth. The investigation of single molecule behavior will probably open a new horizon in the future biological study. However, still many technical limitations existed, for example, the lack of small molecule fluorescent probes and new types of microscope with higher resolution beyond diffraction barrier, the difficulties in visualizing small fluorescent spot in the cell interior.

Keywords biomolecules, real-time visualization, intracellular, live cell

1 引言

活细胞内单个大分子的行为研究的目的是在活体情况(in vivo)下对细胞内单个生物大分子(蛋白质与核酸)的动态(dynamics)以及动力学(kinetics)过程进行研究。本文主要以蛋白质分子为例进行讨论。

1952年,薛定谔(Schrödinger)曾说过:我们决不可能用一个电子、原子或分子做实验。仅仅过了8年,费恩曼(Feynman)就指出:在如何排列原子方

面,并无物理学上的困难。我们可以在原子和分子水平上操纵并控制物质^[1]。1980年代,早期发明的隧道显微镜(STM)方法就实践了对单个原子、分子的观察。到现在,甚至也已经能在活细胞表面、胞液内、细胞核内等条件下进行单个大分子行为的研究了。

1980年代后期及1990年代初期的单分子工作,都是在低温(cryogenic)下做的,后来很快发展到能在常温下观察;人们把分子放在溶液中或涂在固体表面来观察它的行为。有许多方法可用来研究单

* 2007-03-19收到

[†] Email: yzchen0928@yahoo.com

分子,如隧道显微镜、原子力显微镜(AFM)、X射线衍射技术、纳米技术等等。人们对结晶状态的单分子进行了观察,对它的结构有许多新认识。

但是在活体条件下(活细胞,整体)对单个分子的活动进行研究,是从未有过的。如果以活细胞为对象,光学技术最常被选用。这是因为只有光子对被研究分子的扰乱最轻微,因此结果更为可靠和直截了当。在光学技术中,荧光最多被选用,因为它的测量灵敏度高。就活细胞单分子实时视觉(visualization)研究而言,则光学技术在目前几乎是唯一的方法了。

1999年,由欧洲分子生物学组织(EMBO)在法国Tours召集的研讨会上^[2]以及Science杂志(第283卷)以《化学前沿:单分子》(“Frontiers in Chemistry: Single Molecules”)为题的4篇专论中,对单分子研究,特别是它的生物物理学作了系统回顾,其中提到活细胞内单个大分子的研究。2003年,Science(第300卷)出了“前景明亮”的专刊;Nature Cell Biology(第5卷)与Nature Reviews Molecular Cell Biology(第4卷)联合出了《细胞生物学中的成像问题》专刊;Nature Biotechnology(第21卷)出了《光学成像聚焦》专刊。这些专刊强调了成像研究,也就是1999年所提出的光学探查方法,再一次提出了活细胞内单个大分子的问题,也联系了分子影像学问题¹⁾。

国内在2001年和2002年开过两次小型讨论会,不少实验室对此颇有兴趣。

2 为什么要重视活细胞内单个大分子研究

人们总是希望眼见为实,因此很容易理解人们想更直观地看到大分子在细胞内是如何活动的。另外,迄今为止,几乎细胞及分子生物学中的所有重要理论,诸如受体激活、细胞内信号转导、蛋白亚单位的寡聚化、DNA的转录等等,大都是基于生物化学或药理学实验中某种分子的一定浓度变化而作出的,是许多分子活动的一个平均结果,即集群平均(ensemble averaging)结果。集群平均往往会掩盖各个分子的个性,因此很需要从实际的单个分子活动加以验证。因此,为了深入地了解细胞及分子生物学的基本问题,并企望在化学及物理学基础理论的水平上阐明这些问题,人们对活细胞内单个大分子研究寄予厚望。如果做成了单分子水平的实验,至少有

以下一些可见到的好处:

(1)实时看到标记的分子:用荧光标记的方法,有可能记录或演示以前未曾实时看到的大分子动态变化及动力学过程,如大分子的定位、运动轨迹、寡聚体的分子比等等,当然,看到的是一群分子中被标记的一个大分子。

(2)揭露被集群平均掩盖的分子活动特点:单分子研究将可完全排除以前集群平均方法中不同分子处于基态(ground singlet state)、第一激发态(first excited singlet)、最低三重态(lowest triplet state)等三种电子态(图1)而被不合理地平均的情况^[3]。

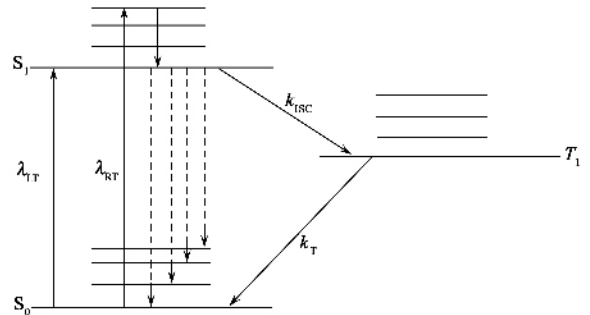


图1 单分子光学研究中电子能量水平结构的图解^[3]

图1中 S_0 为基态, S_1 为受激态, T_1 为最低三重态。每一电子能量水平都可以有几个振动能级水平。典型的低温研究用的波长 λ_{LT} 把 S_0 泵到 S_1 ,而在室温条件下需要更短的波长 λ_{RT} 。系统间交连产率为 K_{ISC} ,其衰减率为 K_T 。荧光发射用带点的虚线表示,它从 S_1 发出,终止于 S_0 的不同振动水平或 S_0 本身。

(3)反映细胞异质微环境:细胞不是一个匀质的系统,细胞浆内有许多细胞器,大分子是在非匀质系统环境中活动的,单分子研究有可能把分子在细胞异质微环境中的行为清晰地揭示出来。以细胞膜为例,上面有“筏(raft)”,有蛋白质的“篱笆(fence)”,以及与细胞骨架(cytoskeleton)的联系^[4],

1) 有兴趣的读者可以参阅(1)Science Vol. 283 :1670 - 1676 ; 1676 - 1683 ; 1683 - 1688 ; 1689 - 1695 (1999) (2) Science Vol. 300 75 ; 76 - 77 ; 78 - 79 ; 80 - 81 ; 82 - 86 ; 87 - 91 ; 91 - 96 ; 96 - 100 ; 100 - 102 (2003) (3) Nature Cell biology Vol. 5 :s1 - 7 ; s7 - 14 ; s14 - 19 (2003) (4) Nature Reviews Molecular Cell biology Vol 4 :ss1 - 5 ; ss6 - 10 ; ss10 - 16 ; ss16 - 21 (2003) (5) Nature Biotechnology Vol 21 :1251 ; 1269 - 1271 ; 1272 - 1273 ; 1303 - 1304 ; 1347 - 1355 ; 1356 - 1360 ; 1361 - 1367 ; 1369 - 1377 ; 1378 - 1386 ; 1387 - 1395 (2003) 又作者校稿时读到2007年5月25日Science及5月29日STKE的“Single Molecule”专辑。

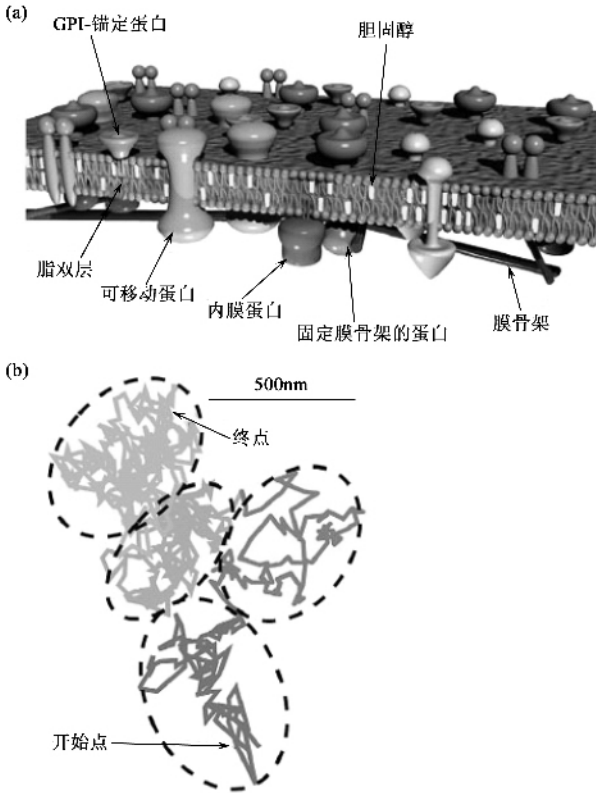


图2 (a)细胞膜结构示意图 (b)膜蛋白移动的轨迹^[4]

因此膜上蛋白质分子或脂质分子的活动是跳动的，而不是通常在溶液情况下的布朗(Brown)运动(见图2)。

图2(a)中,细胞质膜为脂双层结构,埋植有胆固醇和蛋白,有的蛋白可以自由运动,有的可以结合到膜底下以肌动蛋白为基础的细胞骨架网络上,这是不能移动的。即便是能够移动的蛋白,也可能同肌动蛋白细丝有相互作用,蛋白可以是跨细胞的,也可以是糖基磷脂酰肌醇(GPI)锚著的。图2(b)是显微镜下看到的用胶体金标记的膜蛋白CD44颗粒的移动轨迹。每2ms一帧图,按前进方向作出它的轨迹,时间先后是从暗到明亮。带虚线的卵圆形范围提示存在一个可能的区隔,它限制蛋白弥散。某些CD44分子只有相对固定的小范围运动,可能是由于它与底下的肌动蛋白骨架或者其他膜的较大结构联系在一起。

3 1999年以来活细胞内单个大分子研究的重要进展

3.1 重要技术进展与应用

1999年以来,活细胞内单个大分子研究有许多

重要进展。这些进展与新技术的应用有直接关系,其中许多是与光学方法及荧光标记技术的改进相关联的,这些方法是(1)全内反射(TIR)术^[5](图3);(2)绿色荧光蛋白(GFP)的构建(3)荧光共振能量转移(FRET)术(图4)。FRET是指两个非常靠近的发光团分子A和B,当A的发射波长与B的激发波长重叠时,则在A接受激发光时,它的能量转移到B,所以发射的是B的发射波长。例如绿色荧光蛋白(GFP)与另一个黄色荧光蛋白(YFP),又如无机小分子染料Cy3和Cy5都各组成一对可以实现FRET的分子,只要它们之间的距离足够近^[6](4)原子力显微镜(AFM)等。

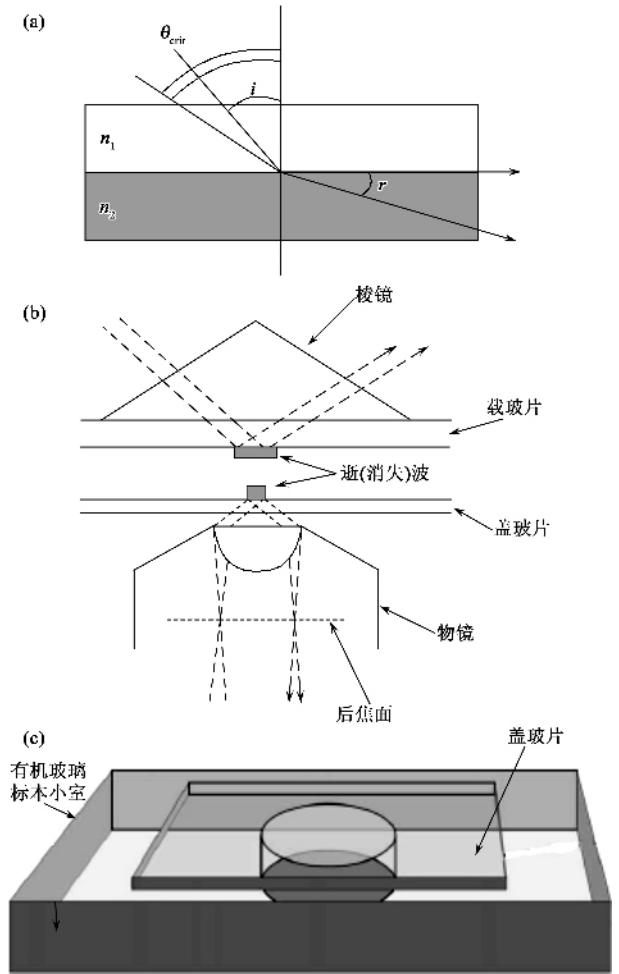


图3 全内反射(TIR)术原理图^[5] (a)光线在两个不同介质中行进时,入射角*i*和出射角*r*的关系(θ_{crit} 为临界角)(b)完成TIR的两种方式:光线可以从显微镜的物镜进入标本,如果入射角达到一定角度时,全部光线都折射回来,这就完成了全内反射。也可以通过一个棱镜把光引导到标本表面,同样可以达到全内反射的效果(c)表示具体做实验时盖玻片下面摆上做实验用的细胞标本

2004年以来,光学显微技术有明显突破,例如

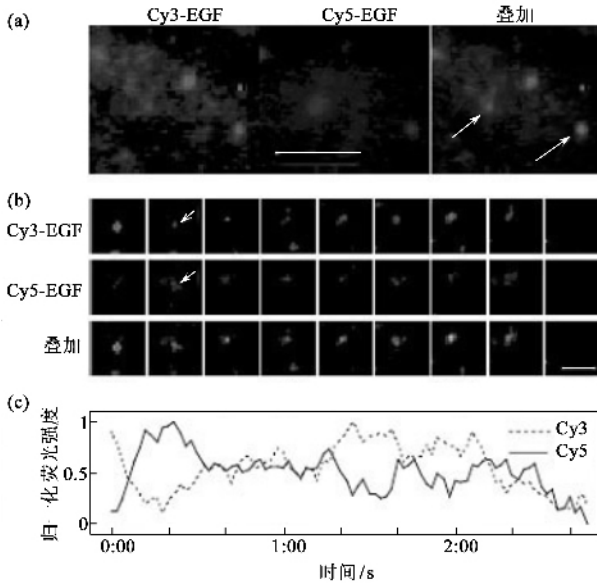


图4 荧光共振能量转移(FRET)实验^[6] (a) Cy3-EGF(EGF为表皮生长因子)和 Cy5-EGF的混合物加到培养的 A431 细胞悬液中. 样本用绿光(532nm)激光束激发,同一观察野中,用 Cy3 通道(565—595nm)和 Cy5 通道(650—690nm)收集荧光像(Cy3 和 Cy5 通道是指两种分子发荧光的波长检测的通道,而 Cy3 和 Cy5 本身是无机小分子染料),Cy5 通道中收集到的荧光点代表 Cy3-EGF 与 Cy5-EGF 之间的 FRET(箭头所指)(b) 三排图显示一段时期内通道 Cy3 及 Cy5 两个通道获得的荧光点(箭头所指处)强度的变化,光点的缓慢移动可能反映了与细胞骨架相关的膜蛋白的缓慢布朗运动(c) Cy3 和 Cy5 两个通道的荧光强度随时间的变化曲线(校正到峰强度的百分比),Cy3 与 Cy5 两个荧光强度的反方向变化表示 FRET 的效果

STED(stimulated emission depletion)方法,把空间分辨率提高了一个数量级^[7](图5).该方法将一个波长位于荧光分子的发射光谱以内,且中心光强为零的环形聚焦光斑(即所谓淬灭光束(depletion beam))叠加在理想的荧光激发光斑之上.该淬灭光束可引起荧光分子的受激发射,从而抑制荧光激发光斑外围的激发效率,使得仅在激发光斑中心极小范围内的荧光得以保存.理论分辨率为无穷小,实际分辨率最高为~20nm.不仅 STED 方法,其他方法也在发展之中.如(1)干涉光路照明超分辨荧光显微术,该方法的特点是采用干涉光路对所观察物体进行照明.以荧光显微成像为例,利用激发光束所形成的干涉条纹对荧光分子进行线性激发,在成像后再对图像解码,可以实现 100nm 级的超分辨图像(2)4Pi 荧光显微术,该方法的特点是采用经高倍透镜聚焦的相向传播的两路光束所形成的驻波场进行荧光激发,在光传播方向可以实现优于 100nm 级的超分辨率(3)非线性干涉光路照明显微术,该方法是

在第一种方法的基础上引入非线性光学效应,即对荧光分子采取饱和激发手段,从而拓宽激发光斑的傅里叶频谱范围,实现超分辨.理论分辨率为无穷小,实际分辨率为 30nm(4)光激发定位显微术,该方法采用对小范围内荧光分子的重复激发与漂白,实现分子尺度的定位.目前可实现的分辨率为 2—25nm,但成像时间过长.光学显微技术不但对活细胞内单分子研究十分重要,对生命科学其他领域也十分重要,这点值得很好注意.

在标记条件下,显微镜下看到的单分子常常是一个个 0.2 μ m 左右的小点.因此这类实验被称为斑点(speckle)分析,可以分析斑点的位置、移动、闪光及灭光的瞬变等等.

3.2 细胞内单个大分子行为的新认识

有关活细胞内单分子研究,代表性的进展如下:

(1)实时视见了标记的单个腺病毒颗粒与细胞膜接触并进入细胞内的动力学过程^[8].

(2)测定、分析了活细胞粘附力及顺应性(compliance)活细胞粘附也是一种受体与配基之间的相互作用,它的动力学分析借助于原子力显微镜(AFM)^[9](图6).

(3)细胞骨架纤维的动态过程:肌动蛋白是成纤维细胞的细胞骨架成分,用 GFP 标记单分子肌动蛋白,可以观察到单个肌动蛋白分子向细胞中心的运动以及它的脱落,由此弄清了肌动蛋白的聚合及解聚的动力学过程.

(4)用 TIRFM 的方法研究细胞表面受体的活动:如对单细胞生物 Dictyostelium 来说,cAMP 是它的激动剂,它促使细胞趋向 cAMP(图7).单分子实验结果表明,当细胞向 cAMP 作趋向活动时,细胞的前沿(趋向那一侧)与后沿的 cAMP 受体与 cAMP 的结合活性是不同的,前沿结合活性高于后沿^[10].

(5)受体的新结合特性:荧光相关光谱法(FCS)是一种研究分子相互作用的有效生物物理学方法,具有很高的特异性.实验中单个染料标记分子在一个很小体积中被一个聚焦的激光光束所激发,这里,荧光强度的波动是由于激光照射体积中分子数目的变动,因此这个体积中的平均分子数目可以由强度相关函数求得.而且,根据相关时间,动态过程如布朗运动可以分析.这个方法在 1970 年代早期已经有了,但是最近它在生命科学中得到更多应用,因为灵敏度大大增加了.所照射的体积一般为 0.2fL.应用 FCS 法分析了甘丙肽(Galanin)与甘丙肽受体的结

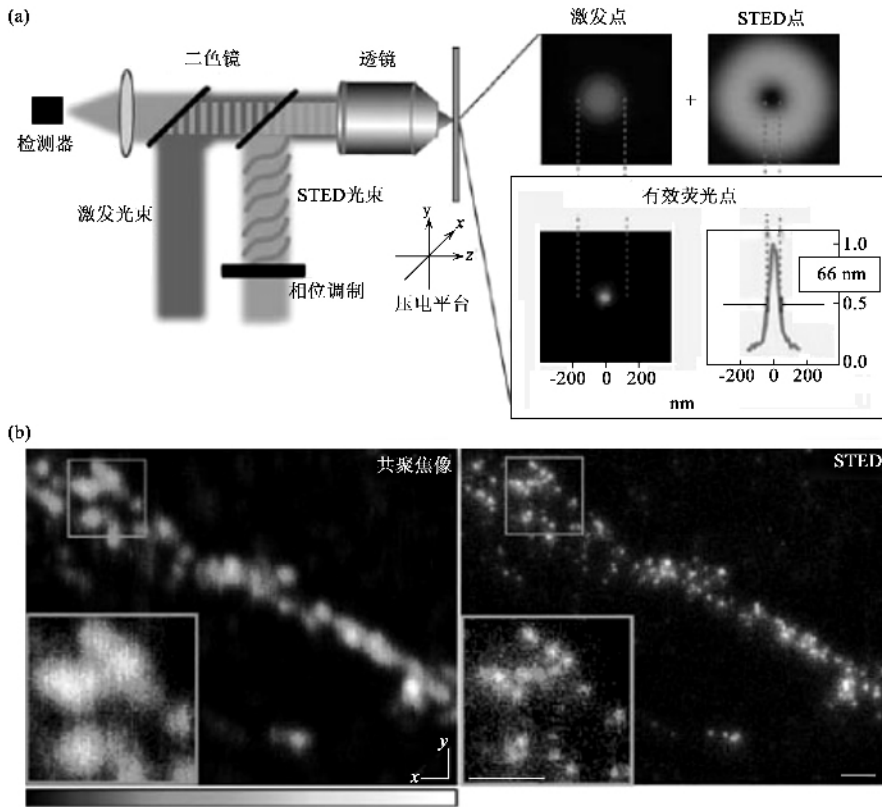


图5 STED显微镜分辨出原代培养海马神经元上个别突触终扣上的突触囊泡^[7] (a)STED工作原理:激发光束聚焦到一个衍射限制的激发点,另一个STED光束能够使分子去激活。STED光束是相位调制的,聚焦形成圆煎饼形,如右上方的正方形中所显示的那样。当这两个聚焦的点重叠在一起时,使得发荧光的区受到了限制,显示于右上方的图中,以上两个聚焦的光点产生了一个有效荧光点,即仅是“圆煎饼”中心位置,它小于衍射极限,显示于右下方左边的正方形中。所有的点的数值都是测得的,并按比例画上去的。有效荧光点的侧面剖示,达到66nm。聚焦面积是激发衍射值的11分之一。(b)神经元突触囊泡中的突触结合蛋白(synaptotagmin)与抗突触结合蛋白抗体相结合,再用Atto-532第二抗体标记后加以显示。左边是共聚焦显微镜的观测结果,右边是同一个样品STED的结果。标尺为500nm

合,由此发现,可能有一种新的结合特性^[11](见图8)。在用FCS方法分析的结果中,有3个弥散时间:0.16ms,22ms,700ms。第一个代表自由弥散,即不结合的那一部分,后两个时间代表甘丙肽与甘丙肽受体可能的两种结合状态,而这是以前所不知道的。近来的工作又把TIRFM与FCS结合起来(TIRFM-FCS)研究膜蛋白的侧向移动^[12]。

3.3 相应的离体(in vitro)研究

目前活细胞内单个大分子视觉(visualization)研究,研究的是色团(chromophore)或其他标记物所显示的大分子的位置或轨迹。要想了解单分子活动所反映的功能,必须同时配以能够显示大分子功能的其他检测方法,实际上已有不少工作。例如(1)把光镊与GFP标记的肌动蛋白联用,观察了肌球蛋白

在肌动蛋白上的移动及移动时的力(2)把膜片钳技术与荧光标记技术相结合,研究了单个电压敏感离子通道的离子电流(3)把原子力显微镜(AFM)、生物膜力探针(BFP)、激光光镊(LOT)应用于单分子间的力的测量,分析力-生存时间(life-time)关系及化学关系。近来把AFM与单分子力谱相结合,测定了细菌视紫红素蛋白的去折叠(unfolding)过程。

4 前景及展望

活细胞单分子行为研究的发展前景非常诱人,它将可能推动整个细胞及分子生物学的发展,成为一个新的研究时代的标识。

有许多工作可以做,但工作首先要结合自己的

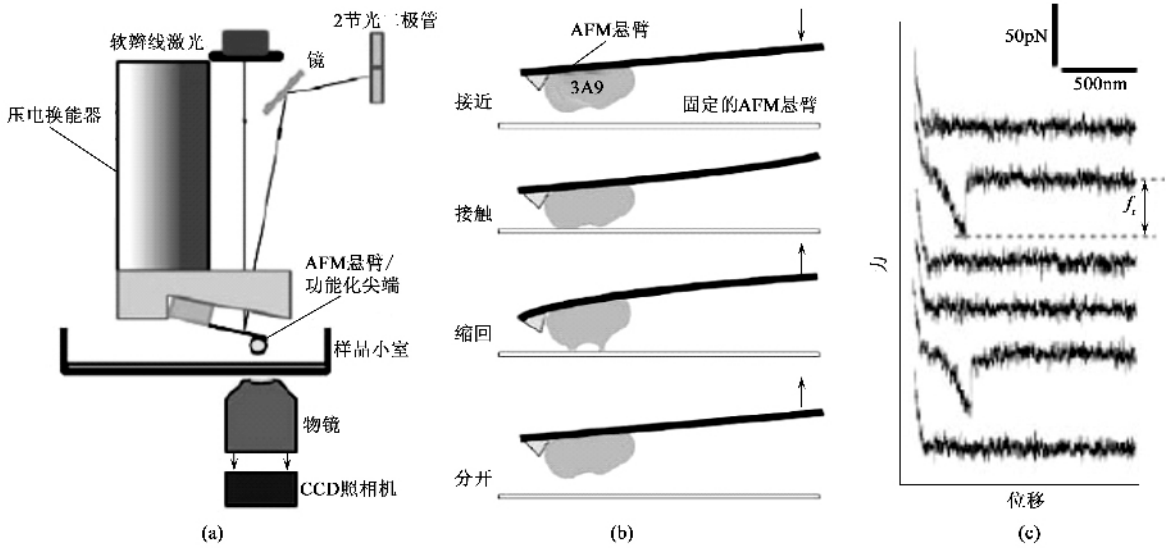


图6 用原子力显微镜测定细胞粘附时的分子力^[9] (a)原子力显微镜组装的各部件 (b)用原子力显微镜测量 3A9 细胞上的白细胞功能相关抗原 1(LFA-1)与玻璃板上的细胞间粘附分子-1(ICAM-1)粘附后被拉开的力。细胞先已粘着在原子力显微镜上的经功能化处理的悬臂上, 第一步是把悬臂靠近底物, 然后依次是细胞与底物相接触, 悬臂回缩, 最后悬臂与底物分离, 箭头表示悬臂运动方向 (c)第二条和第五条曲线显示有粘附, 单个 LFA-1 与 ICAM-1 结合被拉开时的力为 pN 级(图中 f_u 为脱结合力(unbinding force))

基础和争取可能的最好条件。例如：

- (1) 硬件建设, 包括高灵敏度的 CCD 相机等；
- (2) 生物信息技术的应用；
- (3) 多种技术的联用, 如 AFM、电子显微镜、结构生物学技术、膜片钳、光镊的联用；又如纳米技术与量子点技术的联用；
- (4) 四维(三维加时间)记录的建立。

此外, 我认为应抓住两个重点: 一是要做生命科学中最基本的问题; 二是在技术上要有所创新。

(1) 生命科学中的基本问题。例如, 抗原与抗体、配基与受体的相互作用, 两种相关大分子的特异辨认, DNA 的转录等等。试举受体与配基的相互作用为例, 这个反应最基本的表述方式就是 Scatchard 作图, 它来源于化学反应中的质量作用原理(mass action principle), 与酶反应中的米氏方程有类似之处。如果我们把相应于 Scatchard 作图的单分子水平的表述搞清楚, 就应该是一个重大问题。

(2) 基本技术上有所创新。例如：

(a) 特异小分子荧光标记物的创造。GFP 是目前用得最多的标记物, 它的优点的确很多, 最重要的是, 它可以用遗传工程的方法标记所感兴趣的蛋白分子。但它也有缺点, 分子量太大, 含 200 个以上氨基酸, 用它来标记分子量小的分子, 很有问题。所以创造小分子荧光标记物, 实在非常重要。

(b) 辨识来自细胞深部(>200nm)的光源。前面所述的 TIRFM 技术, 仅适用于细胞表面深度不超

过 100—200nm 的分子的显示。但是许多细胞内的反应都发生于细胞深处。所以, 如何检测细胞深部的单分子活动, 已成了一个迫切的问题。

(c) 提高点光源的高定位的分辨。现在已有用反卷积(deconvolution)技术和 PSF(point spread function)原理, 获得点光源的高分辨定位, 我们能否改进与提高。

(d) 克服显微镜光学折射极限。光学显微镜的折射极限是 $0.2\mu\text{m}$, 超过此, 两个点光源即无法分辨。现在国际上已提出 STED(stimulated emission depletion), OCT(optic coherence tomography)等方法。我们能否创造新的光学显微方法, 以求达到更高的分辨。

技术上的创新, 实际上也包括了新型精密仪器的创造与研制。历史上, 重要的技术及仪器创造, 都是得诺贝尔奖的, 例如电子显微镜, X 光显影, CT、核磁共振, 等等。当然, 做到这一点很不容易。我们不能从单分子研究所提出的问题中, 得到一些启发与推动, 研究和解决这些问题, 实在令人心向往之。

5 结束语

为了进一步深入地研究活细胞内单个大分子的行为, 我们应当关注相应的物理学与化学问题, 应当关注分子影像学的发展, 并将它应用于活细胞内单

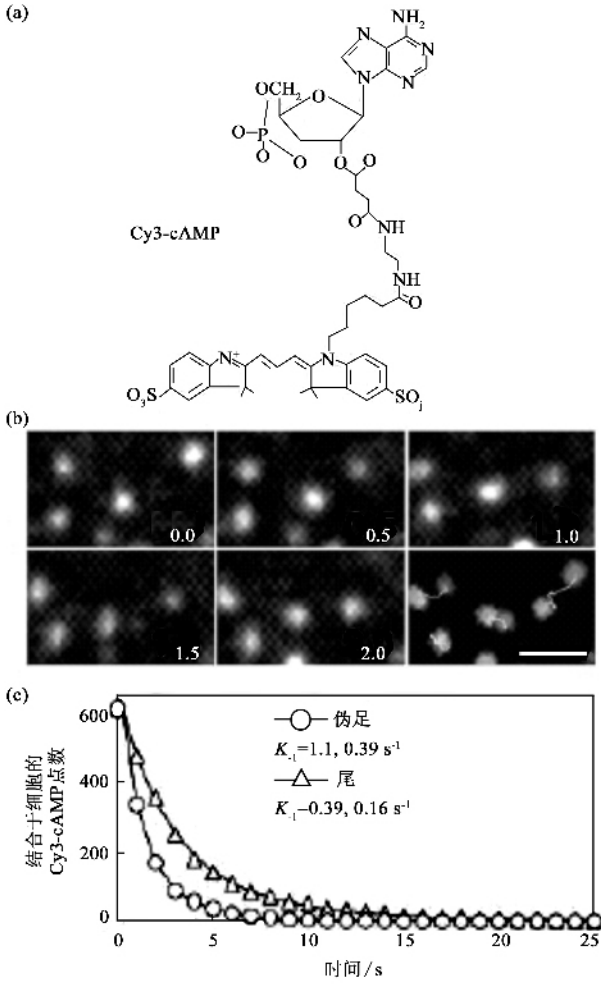


图 7 网柄菌属(dictyostelium)细胞表面受体的侧向运动^[10]

(a)染料分子 Cy3 与 cAMP 结合的化学结构 (b)Cy3 - cAMP 及其受体复合物在细胞表面侧向运动的情况, Cy3 - cAMP 点的移动过程可以看作是从开始到最后的位置, Cy3 - cAMP 点以 33ms 的间隔联起来(右下)。标尺为 1 μ m (c)结合于细胞上的 Cy3 - cAMP 点的数目随时间的改变, 表示在细胞伪足端和尾巴端的结合数目不同(图中 K_{-1} 为速率常数)

个大分子研究. 活细胞内单个大分子的研究离不开单分子的离体研究, 一定会牵涉到许多物理、化学基础问题. 例如, 有关化学键的力学, 单分子事件的统计学表现, 分子间相互作用过渡到单分子细胞生物学行为的变迁等等. 具体说来, 是否可能有如下一些问题:

(1)大分子构象变化及蛋白折叠等的功能意义及过程.

(2)两个单分子相遇(encounter)与结合(binding)的关系和区别; 结合与生物学效应的关系和区别; 化学反应中间步骤的性质; 非共价键(如范德瓦尔斯力)、氢键的性质及特征. 应该说, 结构生物学

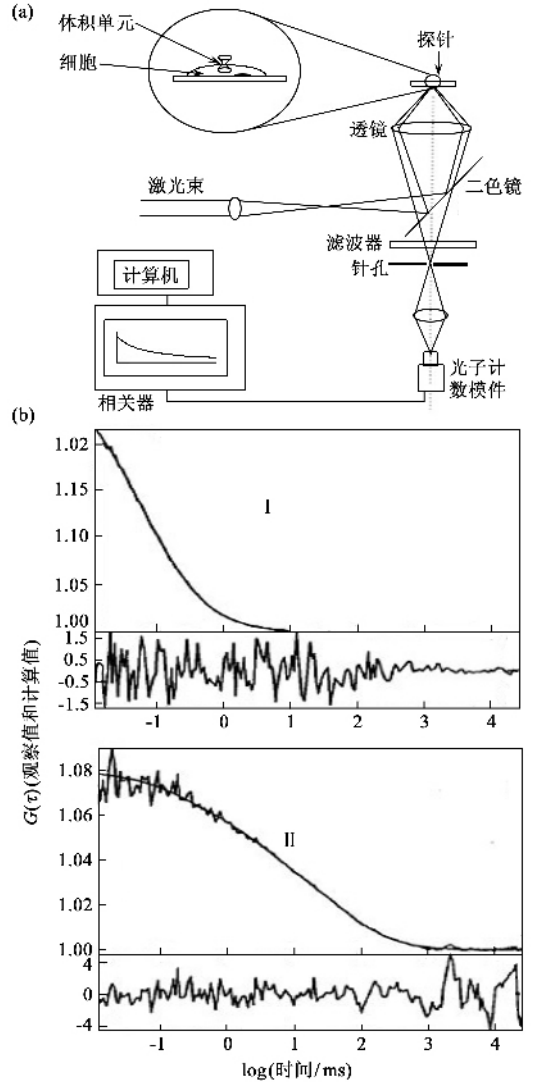


图 8 FCS 的装置及培养细胞膜上谷丙肽受体的多样性^[11]

(a)FCS 装置原理. 激光束经二色镜及透镜投射到铺有单层细胞的小室, 形成一个非常小体积(0.2fL)的激发范围. 配基谷丙肽以罗达明(rhodamine X Rh - Gal)标记. 标记的配基被激活后发射的光通过二色镜, 滤波器及针孔引导激光到光检测器. 待测的样品位置调节到激光束的焦点. 检测到的信号输入至数字信号相关器. 它负责实时作出自相关函数. (b)表示培养胰岛素细胞膜上谷丙肽的结合及其位移, 上图(I)为游离谷丙肽, 下图(II)为结合谷丙肽的 $G(\tau)$. 两组数据经计算后的扩散时间为 ($\hat{O}D$)和相应组分(γ), $\hat{O}D_1$ 为 0.16ms, γ_1 为 35%, $\hat{O}D_2$ 为 22ms, γ_2 为 53%, $\hat{O}D_3$ 为 700ms, γ_3 为 12%, 后两项属于 B, 即结合丙谷胺

已经为上述问题提供了许多宝贵信息与基础, 如果单分子研究的分辨能够达到与结构生物学结果互补的程度, 我们对于生命过程的认识将更深入.

(3)单分子激动水平的标定, 单分子荧光计数的波动、闪烁或随机行为的统计学分析, 比较单分子

与集团平均结果的关系。

与活细胞内单个大分子视觉研究密切相关的另一端是分子影像学^[13]。分子影像学的任务是要在活体(in vivo)情况下和在分子水平对细胞活动进行远程成像。分子影像学并不一定要求研究单个分子,但却十分重要。从基础理论看,它将大大促进对细胞活动的理解。近年来由于慢性植入技术、多光子成像技术和、光纤内镜术(fiber-optic “microendoscopy”)的应用,已能够在大鼠身上连续半个月在体观察仅几个微米尺度的单个树突棘的形态及其变化。从实际应用看,它将可能改变医学诊断、药物筛选等工作的面貌,已有不少研究肿瘤细胞转移的报道,及对具有癌变性质分子的影像学示踪。

致谢 中国科学院上海光学精密机械研究所王桂英和程亚研究员提供光学文献。

参 考 文 献

[1] Gimzewski J K , Joachim C. Science ,1999 ,283 :1683

[2] Single Molecule Biophysics (an EMBO workshop. Tours , France , 1999 , July 8—15)
 [3] Moerner W E , Orrit M. Science , 1999 , 283 :1670
 [4] Ritchie K , Iino R , Fujiwara T *et al.* Molecular Membrane Biology , 2003 , 20 :13
 [5] Mashanov G I , Tacon D , Knight A E *et al.* Methods , 2003 , 29 :142
 [6] Sako Y , Minoguchi S , Yanagida T. Nature Cell Biology 2000 , 2 :168
 [7] Willig K I , Rizzoli S O , Westphal V *et al.* Nature , 2006 , 440 :935
 [8] Seisenberger G , Ried M U , Endre T *et al.* Science , 2001 , 294 :1929
 [9] Wojcikiewicz E P , Zhang X , Moy V T *et al.* Biol. Proced. Online , 2003 , 6 :1
 [10] Ueda M , Sako Y , Tanaka T , *et al.* Science 2001 , 294 :864
 [11] Pramanik A , Olsson M , Lange U *et al.* Biochemistry , 2001 , 40 :10839
 [12] Ohsugi Y , Saito K , Tamura M *et al.* Biophysical Journal , 2006 , 91 :3456
 [13] 唐孝威 陈宜张 胡汛等主编. 分子影像学导论. 杭州:浙江大学出版社, 2005 [Tang X W , Chen Y Z , Hu X *et al.* (eds.). An Introduction to Molecular Imaging. HangZhou : Zhejiang University Press , 2005 (in Chinese)]

· 书评和书讯 ·

科学出版社物理类新书推荐

书 名	作(译)者	定价	出版日期
场论中的路径积分导引(影印)	U. Mosel	45.00	2007年4月
表面物理原理(影印)	F. Bechstedt	58.00	2007年4月
半导体光学(第三版)(影印)	C. F. Klingshirn	118.00	2007年4月
自组织纳米材料(影印)	Motonari Adachi , D. J. Lockwood	56.00	2007年4月
远程通信中的非线性光学(影印)	T. Schneider	68.00	2007年4月
物理学中的拓扑和几何(影印)	E. Bick , F. D. Steffen	65.00	2007年4月
量子光学——降噪,囚禁离子,量子路径和退相干(影印)	M. Orszag	58.00	2007年4月
光学与激光——光纤与光波导(第五版)(影印)	M. Young	79.00	2007年4月
飞秒激光脉冲——原理及实验(第二版)(影印)	C. Rulliere	68.00	2007年4月
薄膜材料——应力、缺陷的形成和表面演化	卢磊	86.00	2007年1月
亚稳金属材料	胡壮麒	160.00	2006年12月
高等原子分子物理学(第二版)	徐克尊	54.00	2006年9月
半导体异质结物理(第二版)	虞丽生	52.00	2006年5月
实验物理中的概率和统计(第二版)	朱永生	72.00	2006年3月
物理学中的群论(第二版)	马中骥	68.00	2006年2月
微分几何入门与广义相对论(上册,第二版)	梁灿彬,周彬	59.00	2005年12月
相互作用的规范理论(第二版)	戴元本	68.00	2005年6月
窄禁带半导体物理学	褚君浩	120.00	2005年5月
物理学家用微分几何(第二版)	侯伯元,侯伯宇	98.00	2005年3月
半导体量子器件物理	傅英,陆卫	50.00	2005年1月
半导体光谱和光学性质(第二版)	沈学础	88.00	2002年7月

凡购书者免邮费,请按以下方式联系我们:

电 话 010-64017957 64033515 电子信箱 mlhukai@yahoo.com.cn dpyan@cspg.net

通讯地址:北京东黄城根北街16号 科学出版社 100717 联系人:胡凯 鄢德平

主页 <http://www.sciencep.com>