

## 专论与综述

## 电场对细胞影响的研究进展\*

钟方丽 曹宏斌 李鑫钢

(天津大学化工学院化学工程研究所 天津 300072)

**摘要:** 概述了近年国内外在电场对细胞影响领域的研究成果, 阐述了由电场引起的细胞定位、特性运动、向电生长等电特性的机理及其在生物细胞工程中的应用。

**关键词:** 电场, 细胞, 电特性

**中图分类号:** Q93-3 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2001) 04-0077-05

近年来, 彼此似乎无缘的电场技术与生物工程技术之间发生了日益紧密的联系, 这一动向不仅开拓了电场技术的新领域, 也为生物工程技术提供了新的研究手段。电生物效应已涉及到种子萌发、幼苗生长、作物增产、果蔬保鲜、微生物发酵和食品消毒等领域; 对其作用机制的研究也由宏观开始向微观发展, 由植株器官水平向细胞甚至分子水平转移。这一发展趋势必然使电场作用机制更清楚, 并为电场技术拓展应用领域提供更翔实的理论依据。目前, 该课题已经成为当前研究的热点之一。本文将从细胞水平阐述国内外在电场作用机制研究领域所取得的一些成果与进展。

## 1 电场对细胞定位特性的影响

到目前为止, 关于电场作用下, 引起细胞的一些特性运动及定位方式的研究已较为深入。Iglesias等<sup>[1]</sup>研究了死酵母细胞在交变电场中的定位方式及转换频率(使细胞定位方式发生改变的频率)后发现, 这种细胞主要有两种定位方式: 一种是沿最长轴平行于外加电场(与活细胞定位方式相同); 另一种在相对高频和低导电性条件下垂直于外加电场, 如图1所示。由图还可以看出, 当电场频率较低时, 无论基质电导率高低, 死细胞都表现为平行定位。

当电场频率超过1.6MHz, 部分细胞开始表现为垂直定位, 随着频率继续增大表现为垂直定位的细胞所占比例不断增大。基质电导率增大, 细胞也主要由垂直定位转向平行定位。

Suga等人<sup>[2]</sup>研究了均匀电场作用下酵母细胞(近似柱状)的定位及特性运动。各

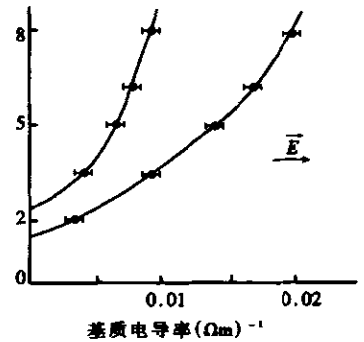


图1 死酵母细胞的定位方式

\* 国家自然科学基金资助项目 (No. 29976030)

Project Granted by Chinese National Natural Science Fund (No. 29976030)

收稿日期: 2000-01-14, 修回日期: 2000-05-23

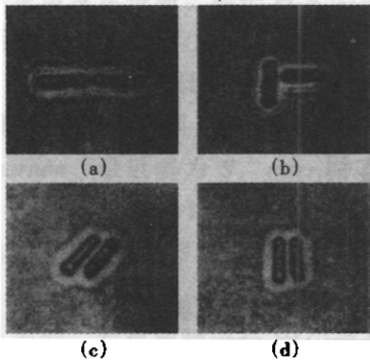


图2 两个细胞接触时的运动方式

a 当平行于电场方向的两个细胞接触时, 呈链状排列, b 当平行于电场的 A 细胞与垂直于电场的 B 细胞接触时, B 细胞以一定的角速度旋转, 而 A 细胞则不动, 直到 B 细胞旋转到与电场方向成 45° 时, A 细胞才以一定的角速度旋转, 直到与 B 细胞平行, 表现为 c 或 d 的排列方式。

种原生生物、红细胞、细菌、离体植物细胞及酵母细胞都表现出平行或垂直于电场方向的定位特性; 他们观察到的均匀电场下死酵母细胞的转换频率比以往 Iglesias 等人<sup>[1]</sup>在交变电场下观察到死酵母细胞转换频率要高。Suga 等人<sup>[2]</sup>还首次发现了柱状酵母细胞具有两个转换频率; 一个为 15MHz, 另一个为 65MHz; 当两个活的柱状细胞接触时, 它们的特性运动较接近第一个转换频率, 其运动方式如图 2 所示。

Miller 等人<sup>[3]</sup>研究了人和驼羊椭圆型红细胞的电定位特性, 并简单描述了两种红细胞在转换频率附近的运动情况。他们观察到驼羊和人的红细胞定位方式虽略有不同, 但两种红细胞均呈现向阴极运动的趋势。科研工作者根据不同细胞在外加电场下转换频率的不同, 进行有用细胞的分离、选别。

电场作用下细胞为什么会呈现垂直或平行电场的定位特性? 专家学者对此作了不同的解释: 有人曾引用液晶的电特性原理来解释这一现象, 即液晶的各向异性信号在介质分散作用范围内, 随着外加电场频率的提高, 将从正向转为负向。从而, 液晶的正向定位也将转变成负向定位。但人们普遍认为, 这一原理不适用于生物细胞, 因为生物细胞具有各向同性的介电常数。Schwarz 等人<sup>[4]</sup>利用能量原理, 阐述了当非球形体有介电损失时, 尽管周围和整体的介电是各向同性的, 它还是趋向于各向异性定位; Saito<sup>[5]</sup>在此基础上又提出“一个具有外壳的各向同性的椭圆形粒子介电损耗”的解释, 他利用最小能量原理得到结论是: 当外加电场频率改变时, 由于介电损耗, 使原来稳定的方向突然发生 90° 的偏转。Hatakeyama 和 Asencor 分别用不同的细胞定位实验验证了 Saito 的理论。Suga<sup>[2]</sup>在 Saito 等人的理论与实验基础上, 提出了外加电场下细胞平行和垂直两方向的能量方程。

$$U_i = A_i + \frac{B_i}{K_i^2 + \epsilon_i^2 \omega^2} \quad (i = a, b)$$

式中:  $U_a$ 、 $U_b$  分别表示细胞平行和垂直外加电场方向的能量。式中各参数作者均作了相应的定义, 由于定义表达式较多而且结构复杂。这里不一一列举。此方程从理论上解释了细胞的定位趋势: 若  $F_1$  为某一细胞的转换频率, 在低于  $F_1$  的频率范围内, 作者又按一定理论划分出正向 (平行于电场方向) 和负向 (垂直于电场方向) 区域, 若细胞正向范围的  $|U_a - U_b|$  值远大于其负向范围的  $|U_a - U_b|$  值, 那么细胞将表现为正向定位, 反之则为负向定位。该理论计算与实验结果吻合的较好。Suga<sup>[2]</sup>提出的能量方程为细胞定位提供了理论依据, 使人们由原来的感性认识上升到理性认识。但由于对细胞内部的电不均匀性及同类细胞的不同特性还知之甚少, 因此, 这一理论解释还局限在许多的假设前提下, 有待于进一步验证和完善。

除了电场频率, 细胞的外环境也对其定位方式有影响。Zhao 等人<sup>[6]</sup>通过实验得出

结论：在外电场条件下，培养的角膜上皮细胞其定位方式和定向移动与血清有关。正常的上皮细胞产生一个小的直流横向电场，当上皮细胞受损伤时，这一电场遭到破坏，所以阻止了伤口的愈合。当有外加电流通过时，就模拟了上皮细胞本身存在的横向电场，使表皮细胞垂直定位并向阴极迁移，使受损的皮肤得以愈合。而此愈合过程中一个不可缺少的因素便是血清。Collin 等人<sup>[7]</sup>认为：血清刺激细胞迁移的作用远大于它刺激细胞的增殖作用。这一研究成果为电场技术在医疗保健中的应用奠定了基础，目前在损伤组织的愈合和恢复方面几乎离不开电场效应的治疗。

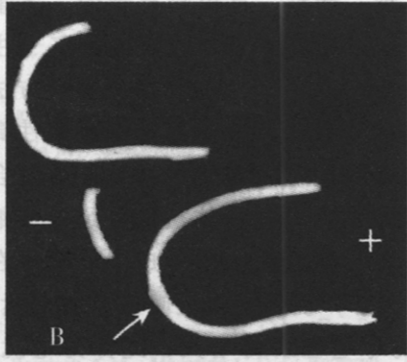


图3 芽孢杆菌细胞的向电生长现象

## 2 细胞的向电生长

真核生物细胞及真核微生物，如成纤维细胞、神经元、藻类、霉菌丝，在相应电场下会直线生长，已为人所知。人们对此机理还不甚不了解，争论的焦点在于这种向电生长是否由肌动蛋白引起？Rajnicek<sup>[8]</sup>针对这一争论，以芽孢杆菌为例，初步探索了外加电场作用下细菌的向电生长机理。通过实验他们发现，芽孢杆菌细胞在电场力和 pH 值作用下，迅速向阳极弯曲生长。他们认为，这种方向性生长并非由于细胞被动弯曲或介质由于电场诱导产生了某些刺激物质，而是由

于细胞向阴极生长速度要快于向阳极生长速度。用乳胶球作示踪剂的实验又表明，同一细胞（非球形细胞）尾端向阳极生长速度要比其向阴极生长速度快，所以表现为躯体向阳极弯曲。观察结果见图3。

## 3 电场技术对细胞增值的影响

研究资料表明<sup>[9]</sup>，电场能够增长中期细胞指数，缩短细胞有丝分裂周期，提高细胞分裂的速度，从而促进生物体的生长速度。对于植物细胞而言<sup>[10]</sup>，正常生长的生物体内部都有一股小而恒定的电流，它影响着植物的生长与演变。被分离出来的原生质体的细胞表面常带有负电荷，当利用外加电场再给植物细胞一个直流电流达到 1mA 时，便可影响细胞的繁殖，外加电场若使细胞带上正电荷则会中和原有的负电荷，对细胞的繁殖有一定的抑制作用；外加电场若使细胞带上负电荷，则会加强细胞表面固有负电荷，从而加速细胞的繁殖。对动物细胞而言<sup>[11]</sup>，清华大学在低频低压交变电场中，进一步探讨了成骨细胞的增殖机理。他们认为，首先，细胞膜是带有电荷极性的，电场的作用可能影响到细胞膜，经电场作用后，细胞膜的流动性减小，细胞膜上的蛋白质，包括一些离子通道蛋白，同时也可能受到影响。实验结果表明，电场作用后，成骨细胞的  $[Ca^{2+}]_i$  有明显的提高，这可能是膜上钙离子通道在电场作用下开放，胞外  $Ca^{2+}$  大量涌入的结果。由于胞内  $Ca^{2+}$  在细胞增殖与分化中有重要的地位，能够单独或与其他信号协同，引起一些细胞事件的发生，启动细胞的复制和细胞周期的运转，因此电场作用于成骨细胞后，引起胞内  $[Ca^{2+}]_i$  变化从而影响细胞周期，促进细胞增殖。人们将电场促使细胞增殖这一机理，广泛应用于医疗保健，在骨伤治疗、牙齿整

形、软组织损伤恢复方面取得了意想不到的疗效。上海交通大学的研究结果表明,采用等离子体电荷注入 $F_{46}$ 薄膜驻极体作成骨愈膜对动物进行试验,以及对骨痂中钙锌含量分析及其拉伸弯曲等力学参数测定发现,它对骨不连和骨延连特别有效。同时,将骨愈膜用于治疗新鲜骨折能缩短愈合时间。北京理工大学用负电性的微孔驻极体治疗软组织损伤也有明显疗效。经软组织细胞学分析的动物实验表明,该驻极体有化痰、活血、消炎以及消肿等功效。

#### 4 电场对细胞融合的影响

利用细胞融合产生的杂交细胞,选育植物的良种、新种,是植物育种的一条重要途径。过去的细胞融合是将植物细胞原生质体化后,利用物理方法(如正离子注入法)、化学试剂法(如PEG法)、病毒法(如灭活的HVJ法)等。这些细胞融合方法各有一定的缺点,正离子注入法不易使细胞形成稳定的凝聚;PEG法不易融合活性高的细胞;HVJ法对细胞有毒性。电场技术为解决上述问题提供了有效的方法。电融合细胞的方法,首先是在原生质体悬浮液中建立一直流电场,原生质体被极化,两个细胞间正、负电荷互相吸引,可使细胞间形成稳定的凝聚,甚至使细胞形成串珠状。在此基础上,再将电场强度提高,在麦克斯韦弹性力作用下,就会使细胞间接触的更紧密。此时给细胞间加上一个强脉冲电压就会使细胞膜的导电性瞬时增大,此称为电扰动,细胞膜的双层分子结构被电场扰乱,局部分子呈无规则排列。这种电扰动主要是由于在电场作用下,绝缘性高的细胞膜被强电场感应扰动;细胞膜内外离子以电泳力冲击扰动细胞膜;细胞间接触点产生的焦耳热使细胞膜流动性变化等原因造成的。由于控制了脉冲电压的峰值和时间,使对细胞膜的扰动是可逆的发生,在恢复过程中,就会发生细胞间融合。电融合细胞的方法,可融合活性高的细胞,有利于膜融合向核融合发展,有利于杂交细胞的培养。电场法融合细胞比利用PEG法可提高融合频率3~5倍。

#### 5 电场技术在灭菌研究中的应用

采用高压电场灭菌是“电场对细胞影响”的又一极具前景的应用<sup>[12]</sup>。对于电场作用致死微生物的机理,一般先假设生物细胞为球形,其双层膜结构为一等效电容。当细胞受到外界低电场作用时,细胞膜内各带电物质在电场作用下按电场力方向移动,此移动现象称为极化。在极短时间内,各带电物质移至膜两侧,膜两壁之间形成一微电场,此微电场中膜两壁之间的电位差称为穿透膜电位差。随着外加电场强度的增大或处理时间的延长,细胞膜极化加剧,刚刚形成的微电场场强也相应增大,膜两侧异性离子之间产生相互吸引的作用力,此作用力相当于使膜受到两侧的挤压力,穿透膜电位差不断增大,这就使得球的两极变薄,阴阳离子积聚度增加和膜抗性降低,到一定程度时细胞膜就出现穿孔现象,若此时将外电场撤除,由于此时细胞尚有生理活性,在自身的修复功能作用下可将刚形成的穿孔“愈合”,细胞尚能存活,此时的细胞破裂称为可逆破裂。细胞融合即是处于这种状态。但当穿透膜电位差值增大到超过某一临界值时,细胞的穿孔破裂就不可逆了,这时的破裂使得细胞膜结构紊乱和通透性大大提高,并使得细胞内含物流失,胞内各生物酶活性亦受到影响,最终导致细胞的彻底

死亡<sup>[13~15]</sup>。但这一理论有待进一步证实和完善。

## 6 结语

目前,国际上,在电场生物效应尤其是电场对细胞影响的研究已取得一定进展,并广泛用于生命科学领域。相比之下,我国在这方面的研究起步晚,还有待广大科研工作者联合起来,尽早地揭示电场对细胞甚至分子的作用机理,为电场技术的应用开拓更广阔的天地,使其服务于我们的国民经济。我们深信:随着研究手段和研究方法的进一步改善,尤其通过不同学科间的广泛合作,电场对细胞影响的理论体系一定会日臻完善。

## 参考文献

- [1] Iglesias F J, Lopez M C. *Biophys J*, 1985, 48: 721 ~ 726.
- [2] Suga M, Hatakeyama T, Isobe M. *Jpn J. Appl Phys*, 1997, 36: 396 ~ 402.
- [3] Miller R D, Jones T B. *Biophys J*, 1993, 64: 1588 ~ 1595.
- [4] Schwarz G, Saito M, Schwaran H P. *J Chem Phys*, 1965, 43: 3562.
- [5] Saito M, Schwaran H P, Schwarz G. *Biophys J*, 1966, 6: 313.
- [6] Zhao Min, Adriana F. *J. Cell. Sci*, 1996, 109: 1405 ~ 1414.
- [7] Collin H B, Anderson J A. *Curr. Eye Res*, 1995, 14: 331 ~ 339.
- [8] Rajnicek A M, Maccaing C D. *J Bacterial*, 1994, 2: 702 ~ 713.
- [9] 李晓玲. 现代静电技术, 1988, 4: 460.
- [10] 贾 慧, 阎 立, 李晓玲. 静电, 1988, 3 (4): 23 ~ 26.
- [11] 汤 青, 赵南明. 生物物理学报, 1998, 14 (2): 331 ~ 335.
- [12] 曾新安, 高大维. 微生物学通报, 1998, 25 (5): 268 ~ 270.
- [13] Bart M, Dirtrich K. *Food Tech*, 1992, 3: 124 ~ 133.
- [14] Dietrich K. *Trends in Food Sci. & Tech*, 1994, 5: 76 ~ 81.
- [15] Manuacal D. *Trends in Food Sci. & Tech*, 1995, 5: 71 ~ 75.