



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107328829 A

(43)申请公布日 2017. 11. 07

(21)申请号 201710495782.4

(22)申请日 2017.06.26

(71)申请人 中国农业科学院农业信息研究所
地址 100081 北京市海淀区中关村南大街
12号中国农业科学院农业信息研究所

(72)发明人 李灯华 许世卫 李哲敏 陈威
张超

(74)专利代理机构 北京品源专利代理有限公司
11332

代理人 孟金喆

(51) Int. Cl.
G01N 27/26(2006.01)

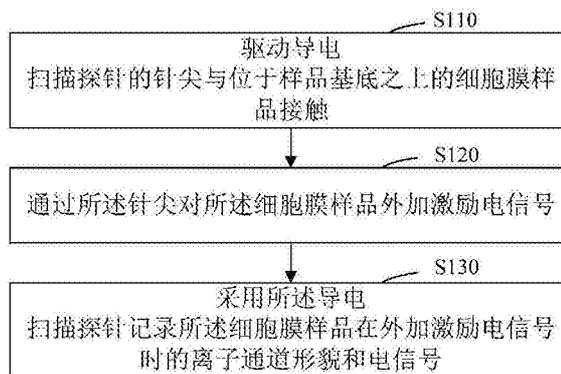
权利要求书2页 说明书6页 附图3页

(54)发明名称

一种基于扫描探针的细胞电生理探测系统和方法

(57)摘要

本发明公开了一种基于扫描探针的细胞电生理探测系统和方法。该系统包括：导电扫描探针；微悬臂，固定所述导电扫描探针，用于驱动导电扫描探针的针尖进行扫描和探测；微悬臂运动检测装置及反馈回路，连接所述微悬臂，用于对微悬臂的运动进行检测和控制；压电陶瓷扫描管，插接所述微悬臂，用于控制微悬臂驱使所述导电扫描探针对细胞膜样品进行扫描和探测；终端控制与图像采集系统，用于对细胞膜样品的电生理信息进行成像并进行分析处理。本发明能同时探测细胞膜离子通道电特性和离子通道纳米尺度三维形貌，并且不破坏样品结构和性质。



1. 一种基于扫描探针的细胞电生理探测系统,其特征在于,该系统包括:

导电扫描探针,用于对细胞膜样品外加激励电信号,使得所述细胞膜样品获得电特性响应,导电扫描探针的针尖用于探测细胞膜样品的电生理特性;

微悬臂,固定所述导电扫描探针,用于驱动导电扫描探针的针尖进行扫描和探测;

微悬臂运动检测装置及反馈回路,连接所述微悬臂,用于对微悬臂的运动进行检测和控制;

压电陶瓷扫描管,插接所述微悬臂,用于控制微悬臂驱使所述导电扫描探针对细胞膜样品进行扫描和探测;

终端控制与图像采集系统,连接所述微悬臂、微悬臂运动检测装置及反馈回路和压电陶瓷扫描管,用于对细胞膜样品的电生理信息进行成像并进行分析处理。

2. 根据权利要求1所述的系统,其特征在于,该系统还包括样品室,所述细胞膜样品、导电扫描探针和样品基底均位于所述样品室;所述样品室包括湿度控制模块、温度控制模块和药物控制模块。

3. 根据权利要求2所述的系统,其特征在于,所述湿度控制模块与水气泵相连,可将水蒸气泵入样品室中调节所述样品室的湿度。

4. 根据权利要求2所述的系统,其特征在于,所述温度控制模块内部安装控温元件。

5. 根据权利要求2所述的系统,其特征在于,所述药物控制模块包括给药系统。

6. 一种基于扫描探针的细胞电生理探测方法,其特征在于,该方法由权利要求1-5任一项所述的系统来执行,包括:

终端控制与图像采集系统驱动所述针尖与位于样品基底之上的细胞膜样品接触;

终端控制与图像采集系统通过所述针尖对所述细胞膜样品外加激励电信号,使所述细胞膜样品获得电特性响应;

终端控制与图像采集系统采用所述导电扫描探针同步记录所述细胞膜样品在外加激励电信号时的离子通道形貌和电信号。

7. 根据权利要求6所述的方法,其特征在于,通过所述针尖对所述细胞膜样品外加激励电信号具体包括:通过所述针尖对所述细胞膜样品外加激励电压,此时所述细胞膜样品的离子通道产生膜电流信号;或通过所述针尖对所述细胞膜样品注入激励电流,此时所述细胞膜样品的离子通道产生膜偏压信号。

8. 根据权利要求6所述的方法,其特征在于,采用所述导电扫描探针同步记录所述细胞膜样品在外加激励电信号时的离子通道形貌和电信号具体包括:采用所述导电扫描探针同步扫描探测所述细胞膜样品在外加激励电信号时的离子通道形貌和各离子通道电信号;

采用所述导电扫描探针同步记录所述细胞膜样品在外加激励电信号时的离子通道形貌和电信号之后,还包括:根据离子通道形貌生成细胞膜样品的离子通道形貌图,根据各离子通道电信号生成细胞膜样品的电信号分布图。

9. 根据权利要求6所述的方法,其特征在于,终端控制与图像采集系统采用所述导电扫描探针同步记录所述细胞膜样品在外加激励电信号时的离子通道形貌和电信号之后,还包括:终端控制与图像采集系统根据所述细胞膜样品的离子通道形貌和电信号,驱动所述导电针尖定位于细胞膜样品的离子通道定点,改变所述外加激励电信号,记录细胞膜样品的离子通道定点的局域电信号。

10. 根据权利要求6所述的方法,其特征在於,终端控制与图像采集系统采用所述扫描探针记录细胞膜样品在外加激励电信号时的离子通道形貌和电信号之后,还包括:

终端控制与图像采集系统改变细胞膜样品环境,记录细胞膜样品在外加激励电信号时的离子通道形貌和电信号与细胞膜样品环境的关系;或

终端控制与图像采集系统根据所述细胞膜样品的离子通道形貌和电信号,驱动所述导电针尖定位于细胞膜样品的单个离子通道,改变细胞膜样品环境,采用扫描探针观测细胞膜样品的单个离子通道电信号变化与细胞膜样品环境的关系。

一种基于扫描探针的细胞电生理探测系统和方法

技术领域

[0001] 本发明实施例涉及细胞电探测技术领域,尤其涉及一种基于扫描探针的细胞电生理探测系统和方法。

背景技术

[0002] 生物电在植物生长生命活动中发挥重要作用,电信号对植物的许多生理活动都会产生重要影响,如细胞的形变、气孔运动、溶质运输、保持细胞渗透平衡、细胞信号传导等。细胞间通过电信号传导信息是植物信息传导的基本方式之一。细胞膜的离子通透性对作物产量与品质有重要影响。科学家在生物电产生机制的研究中发现了细胞生物膜对离子通透性的变化。离子通道由细胞产生的特殊蛋白质构成,它们聚集起来并镶嵌在细胞膜上,中间形成水分子占据的孔隙,这些孔隙就是水溶性物质快速进出细胞的通道。离子通道的活性对实现细胞各种功能具有重要意义。细胞膜上离子通道的功能,除了可以调节细胞内外的渗透压,也是维持细胞膜电位的重要分子,而细胞要进行电讯号传导,便是靠离子的进出以造成膜电位的变化。目前对细胞膜蛋白电特性和离子选择通透性仍然缺乏一套完整详细的分子作用机制,原因在于缺乏获取膜蛋白三维结构的技术方法,缺乏同时获取细胞膜生物电信号和细胞膜蛋白高精度结构的技术手段。

[0003] 传统研究细胞膜电特性和离子通道性能的方法包括:膜片钳技术、通道蛋白分离纯化等生化技术、人工膜离子通道重建技术及一些物理和化学技术。应用膜片钳技术可以直接观察和分辨单离子通道电流及其开闭时程,但是无法实时探测细胞膜纳米结构形貌,不能同时获取细胞膜纳米尺度的结构信息和电特性。其他一些通道蛋白分离纯化、人工膜离子通道重建技术等生化技术材料制备繁杂,且需要借助其他技术手段探测细胞膜电特性和离子通透性。

发明内容

[0004] 本发明提供一种基于扫描探针的细胞电生理探测系统和方法,以实现在样品表面探测纳米尺度形貌的同时,实时获取细胞膜的通道电流及电学特性,并且不破坏样品结构和性质。

[0005] 第一方面,本发明实施例提供了一种基于扫描探针的细胞电生理探测系统,该系统包括:

[0006] 导电扫描探针,用于对细胞膜样品外加激励电信号,使得所述细胞膜样品获得电特性响应,导电扫描探针的针尖用于探测细胞膜样品的电生理特性;

[0007] 微悬臂,固定所述导电扫描探针,用于驱动导电扫描探针的针尖进行扫描和探测;

[0008] 微悬臂运动检测装置及反馈回路,连接所述微悬臂,用于对微悬臂的运动进行检测和控制;

[0009] 压电陶瓷扫描管,插接所述微悬臂,用于控制微悬臂驱使所述导电扫描探针对细胞膜样品进行扫描和探测;

[0010] 终端控制与图像采集系统,连接所述微悬臂、微悬臂运动检测装置及反馈回路和压电陶瓷扫描管,用于对细胞膜样品的电生理信息进行成像并进行分析处理。

[0011] 优选地,该系统还包括样品室,所述细胞膜样品、导电扫描探针和样品基底均位于所述样品室;所述样品室包括湿度控制模块、温度控制模块和药物控制模块。

[0012] 优选地,所述湿度控制模块与水气泵相连,可将水蒸气泵入样品室中调节所述样品室的湿度。

[0013] 优选地,所述温度控制模块内部安装控温元件。

[0014] 优选地,所述药物控制模块包括给药系统

[0015] 第二方面,本发明实施例还提供了一种基于扫描探针的细胞电生理探测方法,由第一方面所述系统来执行,该方法包括:

[0016] 终端控制与图像采集系统驱动所述针尖与位于样品基底之上的细胞膜样品接触;

[0017] 终端控制与图像采集系统通过所述针尖对所述细胞膜样品外加激励电信号,使所述细胞膜样品获得电特性响应;

[0018] 终端控制与图像采集系统采用所述导电扫描探针同步记录所述细胞膜样品在外加激励电信号时的离子通道形貌和电信号。

[0019] 优选地,通过所述针尖对所述细胞膜样品外加激励电信号具体包括:通过所述针尖对所述细胞膜样品外加激励电压,此时所述细胞膜样品的离子通道产生膜电流信号;或通过所述针尖对所述细胞膜样品注入激励电流,此时所述细胞膜样品的离子通道产生膜偏压信号。

[0020] 优选地,采用所述导电扫描探针同步记录所述细胞膜样品在外加激励电信号时的离子通道形貌和电信号具体包括:采用所述导电扫描探针同步扫描探测所述细胞膜样品在外加激励电信号时的离子通道形貌和各离子通道电信号;

[0021] 采用所述导电扫描探针同步记录所述细胞膜样品在外加激励电信号时的离子通道形貌和电信号之后,还包括:根据离子通道形貌生成细胞膜样品的离子通道形貌图,根据各离子通道电信号生成细胞膜样品的电信号分布图。

[0022] 优选地,终端控制与图像采集系统采用所述导电扫描探针同步记录所述细胞膜样品在外加激励电信号时的离子通道形貌和电信号之后,还包括:终端控制与图像采集系统根据所述细胞膜样品的离子通道形貌和电信号,驱动所述导电针尖定位于细胞膜样品的离子通道定点,改变所述外加激励电信号,记录细胞膜样品的离子通道定点的局域电信号。

[0023] 优选地,终端控制与图像采集系统采用所述扫描探针记录细胞膜样品在外加激励电信号时的离子通道形貌和电信号之后,还包括:

[0024] 终端控制与图像采集系统改变细胞膜样品环境,记录细胞膜样品在外加激励电信号时的离子通道形貌和电信号与细胞膜样品环境的关系;或

[0025] 终端控制与图像采集系统根据所述细胞膜样品的离子通道形貌和电信号,驱动所述导电针尖定位于细胞膜样品的单个离子通道,改变细胞膜样品环境,采用扫描探针观测细胞膜样品的单个离子通道电信号变化与细胞膜样品环境的关系。本发明提供的基于扫描探针的生理探测细胞膜电特性和离子通道的系统和方法,可以直接在样品表面探测纳米尺度形貌的同时,实时获取细胞膜的通道电流及电学特性,并且不破坏样品结构和性质。

附图说明

[0026] 图1是本发明实施例一中的一种基于扫描探针的细胞电生理探测系统结构示意图；

[0027] 图2是本发明实施例一中的另一种基于扫描探针的细胞电生理探测系统中样品室内的结构示意图；

[0028] 图3是本发明实施例三中的一种基于扫描探针的细胞电生理探测方法流程图；

[0029] 图4是本发明实施例四中的一种基于扫描探针的细胞电生理探测方法流程图；

[0030] 图5是本发明实施例五中的一种基于扫描探针的细胞电生理探测方法流程图。

具体实施方式

[0031] 下面结合附图和实施例对本发明作进一步的详细说明。可以理解的是，此处所描述的具体实施例仅仅用于解释本发明，而非对本发明的限定。另外还需要说明的是，为了便于描述，附图中仅示出了与本发明相关的部分而非全部结构。

[0032] 实施例一

[0033] 请参考图1-2，图1-2是本发明第一实施例提供的一种基于扫描探针的细胞电生理探测系统的结构示意图。如图1和图2所示，该系统包括：

[0034] 导电扫描探针2，导电扫描探针2用于对细胞膜样品6外加激励电信号，使得所述细胞膜样品6获得电特性响应，导电扫描探针的针尖用于探测细胞膜样品6的电生理特性；所述细胞膜样品6位于所述样品基底7上；

[0035] 微悬臂3，固定所述导电扫描探针2，用于驱动导电扫描探针2的针尖进行扫描和探测；

[0036] 微悬臂运动检测装置及反馈回路4，连接所述微悬臂3，用于对微悬臂3的运动进行检测和控制；

[0037] 压电陶瓷扫描管5，插接所述微悬臂3，用于控制微悬臂3驱使所述导电扫描探针2对细胞膜样品6进行扫描和探测；

[0038] 终端控制与图像采集系统1，连接所述微悬臂3、微悬臂运动检测装置及反馈回路4和压电陶瓷扫描管5，用于对细胞膜样品的电生理信息进行成像并进行分析处理。

[0039] 具体的，导电扫描探针2的针尖的本体结构为二氧化硅或氮化硅材料，针尖涂覆导电层，导电层为金膜、铬、钛、铂铱复合薄膜等。

[0040] 导电扫描探针2在终端控制与图像采集系统1的控制下移动，与细胞膜样品接触，对细胞膜样品外加激励电信号，使得所述细胞膜样品获得光电特性响应，记录细胞膜样品在外加激励电信号下的离子通道形貌和电信号，并将所述离子通道形貌和电信号信息传输至终端控制与图像采集系统1，图像采集系统1对细胞膜样品的电生理信息进行成像并进行分析处理。

[0041] 本实施例的基于扫描探针的细胞电生理探测方法，能同时探测细胞膜离子通道电特性和离子通道纳米尺度三维形貌，并且不破坏样品结构和性质。

[0042] 在上述技术方案的基础上，该系统还包括样品室8，所述细胞膜样品6、导电扫描探针2和样品基底7均位于所述样品室8；所述样品室8包括湿度控制模块、温度控制模块和药

物控制模块。所述湿度控制模块、温度控制模块和药物控制模块分别连接所述终端控制与图像采集系统1。

[0043] 具体地,所述湿度控制模块与水气泵相连,可将水蒸气泵入样品室中调节所述样品室的湿度。所述样品室7与水气泵相连,所述水气泵可将水蒸气泵入所述样品室7。所述样品室7为带水汽出口和水汽入口的密封装置,水汽入口与水气泵3相连,水气泵3可将水蒸气泵入样品室7中调节湿度,保持待测细胞膜样品的生物活性。

[0044] 所述温度控制模块内部安装控温元件,控温元件可为半导体制冷元件,控制细胞膜样品温度保持在10度以下的低温环境中,保持待测细胞膜样品的生物活性。

[0045] 所述药物控制模块包括给药系统,可以给细胞膜样品施加特定的药物,观测细胞膜样品在不同药物环境下的电生理性能。

[0046] 通过控制样品室样品环境,包括温度、湿度、药物等,以观测单个通道开放和关闭的电流变化,可直接得到各种离子通道开放的电流幅值分布、开放几率、开放寿命分布等功能参量,并分析它们与膜电位、离子浓度等之间的关系。

[0047] 实施例二

[0048] 图3为本发明实施例二提供的一种基于扫描探针的细胞电生理探测方法的流程图,本实施例可适用于细胞电特性和离子通道探测的情况,例如,水稻叶片细胞电学特性和离子通道探测,小麦根系细胞电学特性和离子通道探测等,该方法可以由实施例一所述的基于扫描探针的细胞电生理探测系统来执行。如图3所示,该方法包括:

[0049] 步骤S110、终端控制与图像采集系统驱动导电扫描探针的针尖与位于样品基底之上的细胞膜样品接触。

[0050] 其中,细胞膜样品位于样品基底之上,扫描探针位于细胞膜上方,驱动扫描探针的导电针尖与细胞膜样品的与样品基底相对的一侧接触。

[0051] 步骤S120、终端控制与图像采集系统通过所述针尖对所述细胞膜样品外加激励电信号,使得所述细胞膜样品获得电特性响应。

[0052] 其中,通过所述导电针尖对所述细胞膜样品外加激励电信号,使得所述细胞膜样品获得电特性响应,细胞膜样品的离子通道通的打开/闭合程度发生改变,导致离子通道形貌和电信号发生变化。

[0053] 通过所述导电针尖对所述细胞膜样品外加激励电信号具体包括:通过所述导电针尖对所述细胞膜样品外加激励电压,此时所述细胞膜样品的离子通道产生膜电流信号;或通过所述导电针尖对所述细胞膜样品注入激励电流,此时所述细胞膜样品的离子通道产生膜偏压信号。

[0054] 例如,通过所述导电针尖对所述细胞膜样品外加激励电压,使得所述细胞膜样品获得电特性响应,外加激励电压可以为-10V到+10V,施加电压的分辨率为mV级。正常植物细胞,当施加100mV偏压时,离子通道电流为50pA,而对细胞经过Na⁺通道阻断剂河豚毒素(TTX)处理后,当施加100mV偏压时,电流为5pA。对爪蟾卵母细胞施加100mV偏压,离子通道电流达到1uA。外加激励电压大小的选择取决于细胞膜样品电阻大小和离子通道的离子通透性,本领域技术人员可以根据需要进行选择。本发明对激励电压不作具体限定。

[0055] 通过所述导电针尖对所述细胞膜样品注入激励电流,使得所述细胞膜样品获得电特性响应,激励电流可以为1pA到1nA。外加激励电流大小的选择取决于细胞膜样品电容大

小和离子通道的离子通透性,本领域技术人员可以根据需要进行选择。本发明对激励电流不作具体限定。

[0056] 步骤S130、终端控制与图像采集系统采用所述导电扫描探针同步记录所述细胞膜样品在外加激励电信号时的离子通道形貌和电信号。

[0057] 其中,采用所述扫描探针记录所述细胞膜样品在外加激励电信号时的离子通道形貌和电信号具体包括:采用所述扫描探针扫描探测所述细胞膜样品在外加激励电信号时的离子通道形貌,采用所述扫描探针探测所述细胞膜样品在外加激励电信号时的离子通道电信号。

[0058] 此外,为了能更准确地记录离子通道的电信号,还可以将离子通道的电信号通过前置放大器放大再进行记录。

[0059] 优选地,采用所述扫描探针记录所述细胞膜样品在外加激励电信号时的离子通道形貌和电信号之后,还包括:根据离子通道形貌生成细胞膜样品的离子通道形貌图,根据各离子通道电信号生成细胞膜样品的电信号分布图。

[0060] 本实施例的基于扫描探针的细胞电生理探测方法,能同时探测细胞膜离子通道电特性和离子通道纳米尺度三维形貌,并且不破坏样品结构和性质。

[0061] 实施例三

[0062] 请参考图4,图4是本发明实施例三提供的一种基于扫描探针的细胞电生理探测方法的流程图。本实施例以上述实施例方案为基础,进行了优化改进,特别是提供了定点探测的具体方案。如图4所示,该方法包括:

[0063] 步骤S210、终端控制与图像采集系统驱动导电扫描探针的针尖与位于样品基底之上的细胞膜样品接触。

[0064] 步骤S220、终端控制与图像采集系统通过所述针尖对所述细胞膜样品外加激励电信号,使得所述细胞膜样品获得电特性响应,。

[0065] 步骤S230、终端控制与图像采集系统采用所述导电扫描探针记录所述细胞膜样品在外加激励电信号时的离子通道形貌和电信号。

[0066] 步骤S240、根据所述细胞膜样品的离子通道形貌和电信号,驱动所述导电针尖定位于细胞膜样品的离子通道定点,改变所述外加激励电信号,采用扫描探针记录细胞膜样品的离子通道定点的局域电信号。

[0067] 其中,改变所述外加激励电信号,采用扫描探针探测细胞膜样品的离子通道定点在不同的外加激励电信号下的形貌和局域电信号,从而根据在不同的外加激励电信号下的局域电信号,获得细胞膜样品的离子通道电特性曲线。

[0068] 例如,采取曲线扫描方式,通过导电针尖对细胞膜样品施加一系列设定速率变化偏压,然后对细胞膜样品进行通道电流探测,可以获得膜蛋白离子通道电流电压曲线。

[0069] 本实施例采用的是接触式扫描和定点探测相结合的探测模式。接触式扫描,利用导电针尖扫描探测细胞膜样品离子通道形貌和电信号;定点探测,根据离子通道形貌和电信号,利用针尖定位于扫描的样品中的离子通道定点,对离子通道的局域电流进行测量和成像。从而可以直接在样品表面探测纳米尺度形貌的同时,实时获取细胞膜的通道电流及电学特性,并且不破坏样品结构和性质。

[0070] 实施例四

[0071] 请参考图5,图5是本发明实施例四提供的一种基于扫描探针的细胞电生理探测方法的流程图。本实施例以上述实施例方案为基础,进行了优化改进,特别是提供了改变样品环境进行扫描探测或定点探测的具体方案。如图5所示,该方法包括:

[0072] 步骤S310、终端控制与图像采集系统驱动导电扫描探针的针尖与位于样品基底之上的细胞膜样品接触。

[0073] 步骤S320、终端控制与图像采集系统通过所述针尖对所述细胞膜样品外加激励电信号,使得所述细胞膜样品获得电特性响应。

[0074] 步骤S330、终端控制与图像采集系统采用所述导电扫描探针记录所述细胞膜样品在外加激励电信号时的离子通道形貌和电信号。

[0075] 步骤S340、终端控制与图像采集系统改变细胞膜样品环境,记录细胞膜样品在外加激励电信号时的离子通道形貌和电信号与细胞膜样品环境的关系;或

[0076] 终端控制与图像采集系统根据所述细胞膜样品的离子通道形貌和电信号,驱动所述针尖定位于细胞膜样品的单个离子通道,改变细胞膜样品环境,采用扫描探针观测细胞膜样品的单个离子通道电信号变化与细胞膜样品环境的关系。

[0077] 其中,改变细胞膜样品环境包括药物、湿度、或温度等,一方面,通过导电针尖扫描探测细胞膜样品在不同环境条件下的光电响应电信号变化,生成不同环境条件下的离子通道形貌图像和光电响应电信号图像,此时获得的是细胞膜样品整体或某个区域的离子通道形貌图像和光电响应电信号图像;另一方面,驱动所述导电针尖定位于细胞膜样品的单个离子通道,以观测单个离子通道在不同环境条件下的光电响应的电信号变化,此时获得的是细胞膜样品单个离子通道光电响应电信号变化。

[0078] 通过各离子通道开放的电信号,可直接得到各离子通道开放的电信号幅值分布、开放几率、和开放寿命分布等功能参量,在此基础上还可以并分析功能参量与膜电位、离子浓度等之间的关系。

[0079] 本实施例采用的是接触式扫描和定点探测相结合的探测模式,可以直接在样品表面探测纳米尺度形貌的同时,实时获取细胞膜的通道电流及电学特性,并且不破坏样品结构和性质。

[0080] 上述产品可执行本发明任意实施例所提供的方法,具备执行方法相应的功能模块和有益效果。

[0081] 注意,上述仅为本发明的较佳实施例及所运用技术原理。本领域技术人员会理解,本发明不限于这里所述的特定实施例,对本领域技术人员来说能够进行各种明显的变化、重新调整和替代而不会脱离本发明的保护范围。因此,虽然通过以上实施例对本发明进行了较为详细的说明,但是本发明不仅仅限于以上实施例,在不脱离本发明构思的情况下,还可以包括更多其他等效实施例,而本发明的范围由所附的权利要求范围决定。

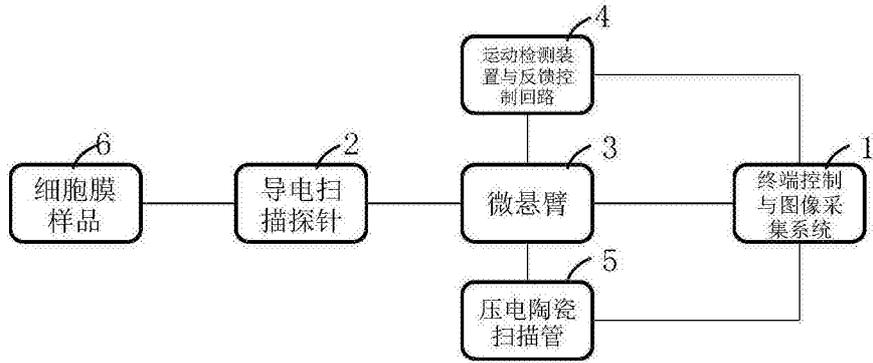


图1

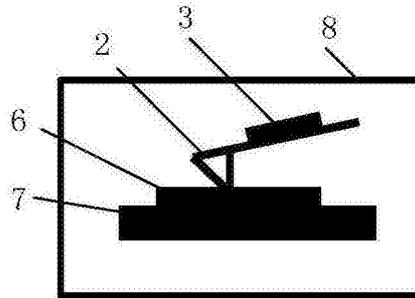


图2

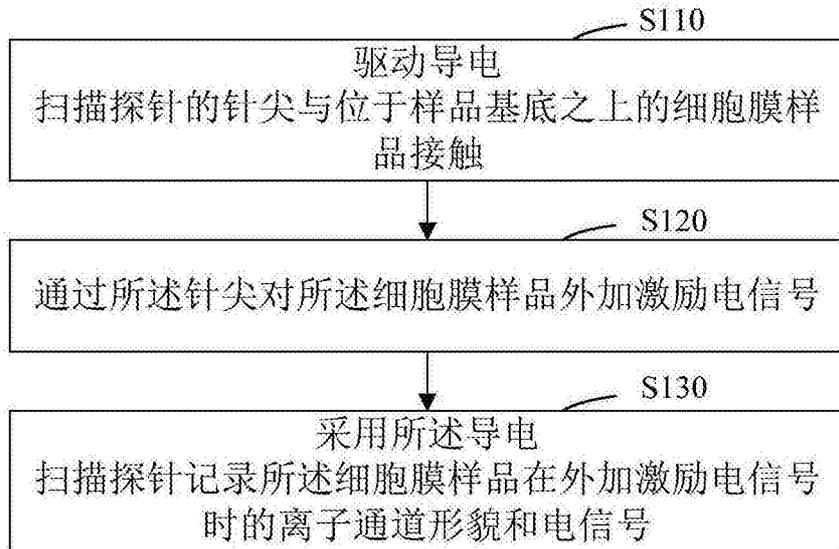


图3

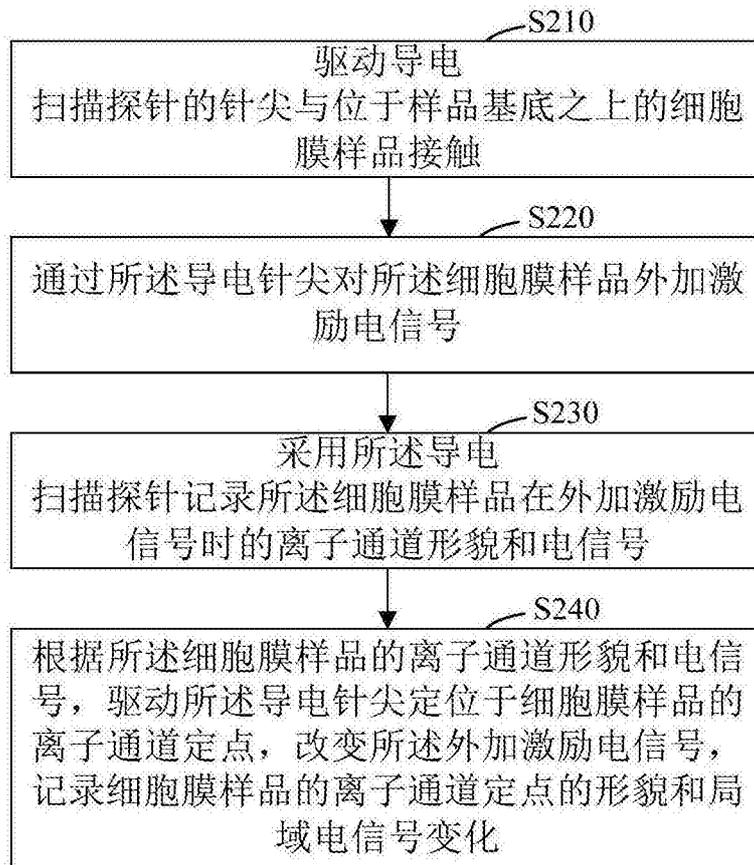


图4

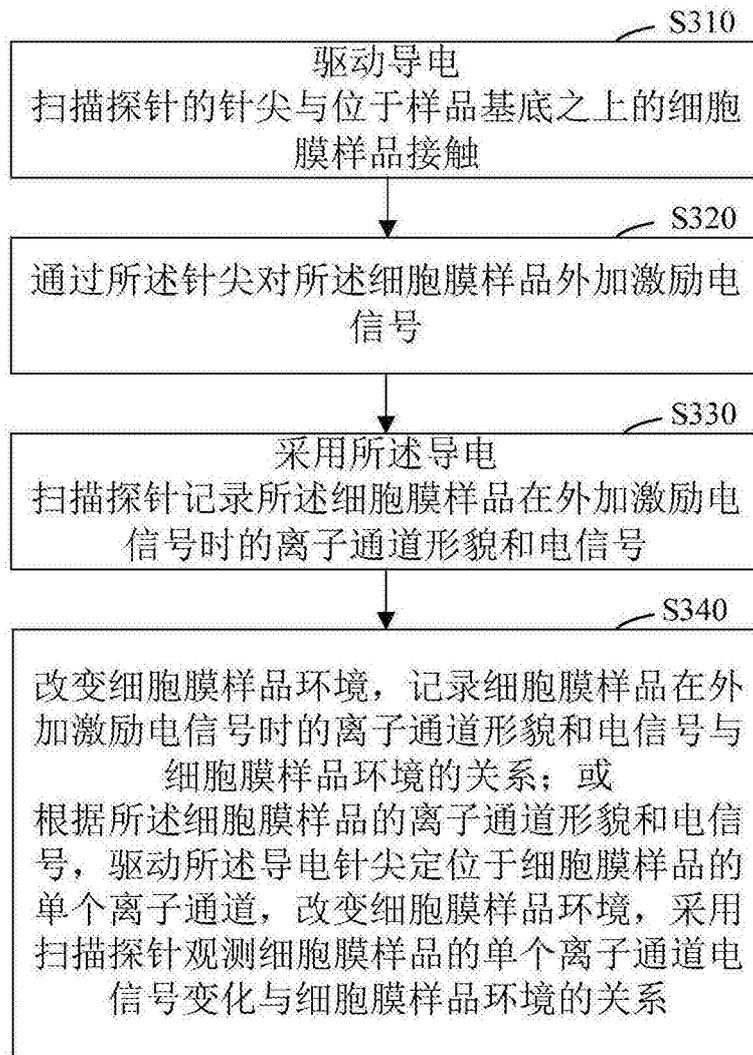


图5