[Highlight]

doi: 10.3866/PKU.WHXB201612211

www.whxb.pku.edu.cn

氧化石墨烯控制冰晶生长并应用于低温细胞保存

刘忠范

(北京大学化学与分子工程学院, 北京 100871)

低温冷冻保存是20世纪70年代迅速发展起来的一种在低温或超低温条件下保存生物大分子、细胞、组织和器官等生物材料的技术¹,能够有效保证生物材料的遗传和形态稳定性,在生物学、医学、农学等领域具有广泛的应用前景。虽然采用程序控温保证了冷冻过程中产生无定形冰晶,避免了冰晶的伤害;但是在复苏过程中,冷冻保存液、细胞和生物组织内部的冰晶会持续生长损伤保存对象,而冰晶损伤是低温冷冻保存中对保存对象造成的最主要的伤害²。目前主要是通过调整冷冻保存液的组成来尽量减少冰晶的形成和重结晶,比如通过加入甘油、二甲基亚砷等小分子。但是,这些分子抑制冰晶重结晶效率低,而且使用后无法全部去除;高浓度的抑制剂还会改变细胞膜外渗透压导致细胞脱水,对细胞构成很大的危害³。抗冻蛋白是生活于寒冷地区的生物体为适应低温环境而产生的一类能避免冰冻对生物体造成危害的蛋白质⁴;抗冻蛋白能够有效地降低结冰温度,抑制冰晶生长和重结晶⁵。抗冻蛋白的作用机制主要在于这类蛋白的冰吸附面(ice binding face)上亲疏水相间官能团的有序排列⁶,使其表面形成类冰水,能够选择性吸附到冰晶表面,抑制冰晶的生长⁷。

受到抗冻蛋白的启发,中国科学院化学研究所王健君研究员课题组和中国科学院应用物理研究所方海平研究员课题组合作,根据氧化石墨烯(GO)特有的碳骨架结构,开展了GO调控冰晶生长的研究。研究发现GO不但能有效地抑制冰晶生长和重结晶,而且能修饰冰晶形貌。分子动力学的模拟结果显示GO表面具有稳定的类冰水,使得GO更倾向于与固态的冰形成稳定氢键,从而在大量液态水存在的条件下能够选择性吸附到冰晶的

表面。GO吸附到冰晶表面后,在GO间冰晶形成曲面,通过Gibbs-Thompson效应抑制冰晶生长⁸。

他们也首次将GO应用于低温冷冻保存细胞。当选用GO作为冷冻保存剂时,与商业化的抗冻剂相比,GO展现出了非常优异的冷冻保存效果,加入0.01% (w, 质量分数)的GO即可将马精子活力从24.3%提高到71.3%。这一研究发现不但拓展了二维材料的应用领域,而且大大加深了人们对冰晶形成分子层面的理解。该工作发表在 *Angewandte Chemie International Edition* 上⁹。

References

- (1) Rubinstein, P.; Dobrila, L.; Rosenfield, R. E.; Adamson, J. W.; Migliaccio, G.; Miqliaccio, A. R.; Taylor, P. E.; Stevens, C. E. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1995**, 92 (22), 10119. doi: 10.1073/pnas.89.19.8953
- (2) Carpenter, J. F.; Hansen, T. N. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1992**, 89 (19), 8953. doi: 10.1073/pnas.89.19.8953
- (3) Gao, D. Y.; Mazur, P.; Kleinhans, F. W.; Watson, P. F.; Noiles, E. E.; Critser, K. *Cryobiology* **1992**, 29 (6), 657. doi: 10.1016/0011-2240(92)90068-D
- (4) Yeh, Y.; Feeney, R. E. *Chem. Rev.* **1996**, 96 (2), 601. doi: 10.1021/cr950260c
- (5) Raymond, J. A.; Fritsen, C.; Shen, K. *FEMS Microbiol. Ecol.* **2007**, 61 (2), 214. doi: 10.1111/j.1574-6941.2007.00345.x
- (6) Liu, K.; Wang, C.; Ma, J.; Yao, X.; Fang, H. P.; Song, Y. L.; Wang, J. J. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2016**, doi: 10.1073/pnas.1614379114
- (7) Liou, Y. C.; Tocilj, A.; Davies, P. L.; Zongchao, J. *Nature* **2000**, 406 (6793), 322. doi: 10.1038/35018604
- (8) Knight, C. A. *Nature* **2000**, 406 (6793), 249. doi: 10.1038/35018671
- (9) Geng, H. Y.; Liu, X.; Shi, G. S.; Bai, G. Y.; Ma, J.; Chen, J. B.; Wu, Z. Y.; Song, Y. L.; Fang, H. P.; Wang, J. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, doi: 10.1002/anie.201609230