

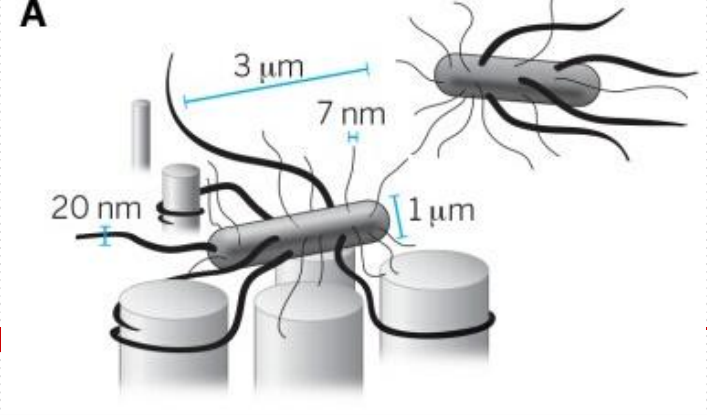
Zooming in to see the bigger picture:

Microfluidic and nanofabrication tools
to study bacteria

讲解人：安玥

组员：胡刚 安玥

Background



- 微流体技术是指在微观尺寸下控制、操作和检测复杂流体的技术，是在微电子、微机械、生物工程和纳米技术基础上发展起来的一门全新交叉学科。
- 自然栖息地的空间结构强烈影响细菌的生命活动，从单个细胞利用表面附着的纳米级别功能特征到推动群体数量水平的微型和毫米级别的化学梯度。
- 将微流体和纳米制造技术相结合，人工合成一个可以观察单一细菌、细菌群体的动态空间生态系统。

Synopsis

□ 单个细菌水平

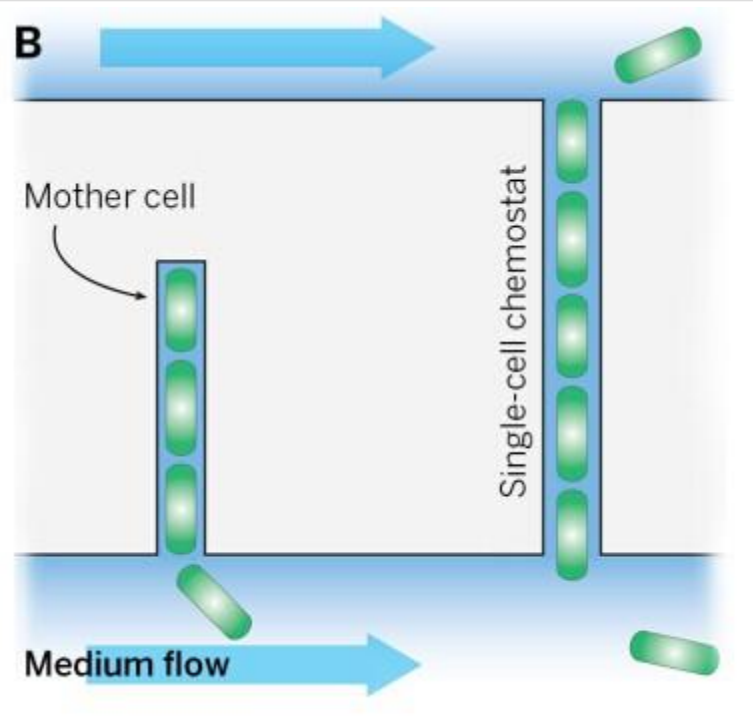
- 细菌的生长和形状
- 细菌的能动力和附着力

□ 细菌群体水平

- 电子传递
 - 细菌密度感知信号
-

单细菌水平——细菌生长研究

- 将细菌固定在宽度和高度与细菌菌体匹配的终端通道上，这个装置是为了将分离开的细菌后代驱赶出来。
- 母细胞固定在一个末端封闭的通道（左）通过生长和分裂将自己的后代推送出来，而母细胞仍停留在原来的位置上。线性菌落生长在两端均开放的通道中。
- 生长通道毗邻一个大的流动通道，这个通道能够将后代细胞冲洗走，并能提供新鲜的营养物质和改变培养基的介质条件。

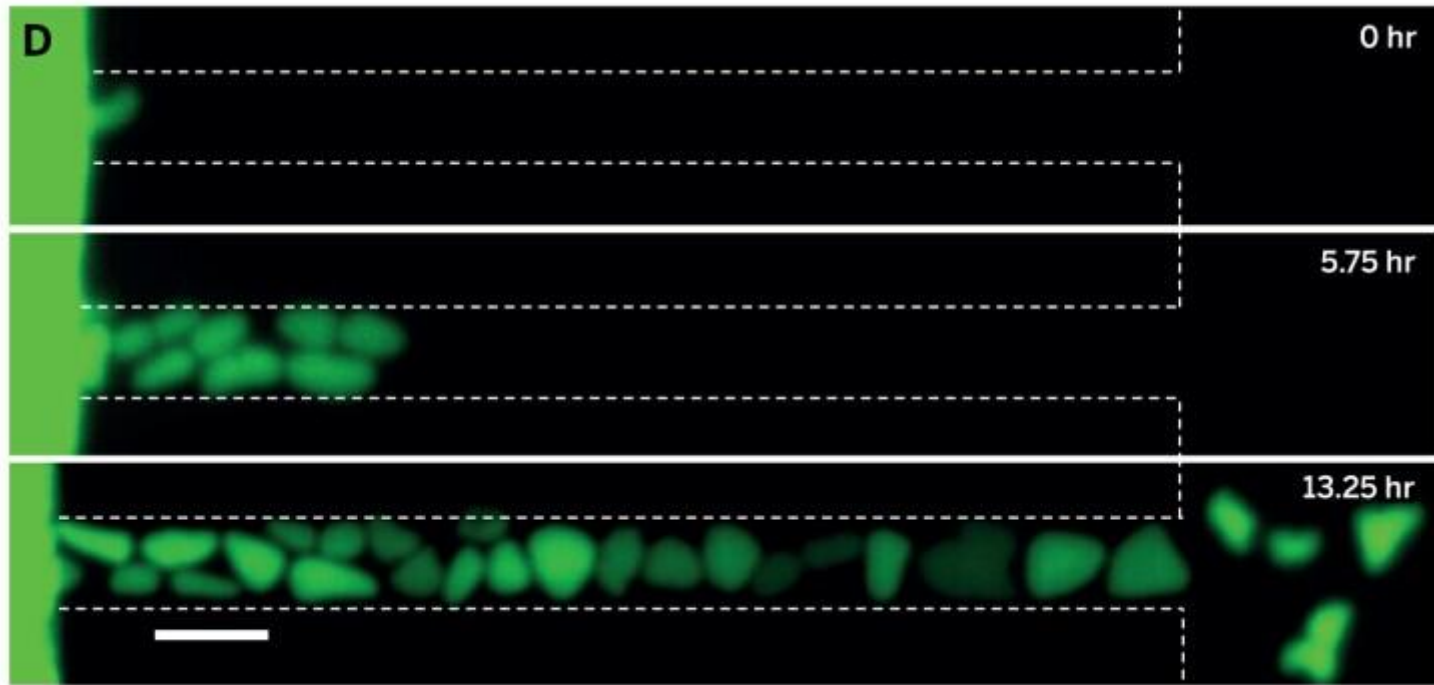


单细菌水平——细菌生长研究

- 克隆的非抗性细菌的一小部分在抗生素实验中能够生存，而抗性细菌的再生细菌对抗生素仍然敏感。表明抗性并非遗传获得。
 - 非抗性的细菌中有一小部分细菌具有抗性的机制仍然没有弄清楚，直到这种现象放到单个细胞水平上研究才得以清楚，它揭示了生长速率的非均质性是关键因素。
-

单细菌水平——细菌形状研究

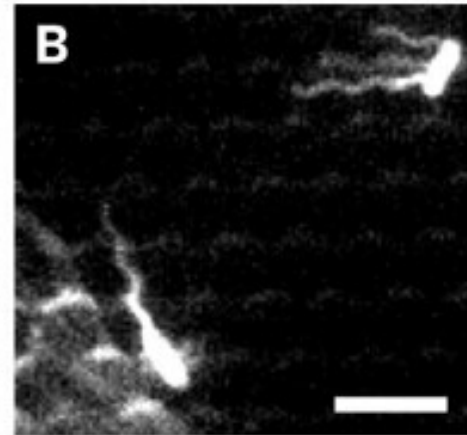
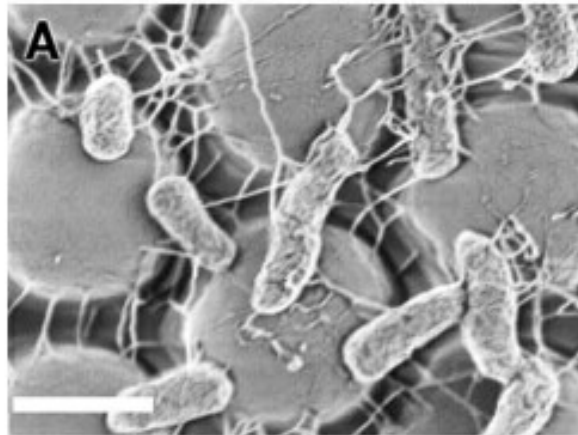
- 在自然环境中，细菌经常回遇到比自己胞体小的纳米微孔和裂缝。
 - 直径大小为**800**纳米到**900**纳米的大肠杆菌能通过只有它自身宽度一般的纳米通道
 - 革兰氏阳性枯草芽孢杆菌不能够穿过比自己包体窄小的通道，这表明革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌在细胞壁的刚性和膨胀压力的差异对他们穿透亚微米的束缚的能力可能存在着某种相关性。
-



大肠杆菌挤进一个300纳米浅的链接两个深腔的纳米通道（50纳米长，5纳米宽），挤进纳米通道的细胞经历了一个形状的改变，在细胞生长和分裂中形成扁平的形状和其他异常的形状。

单细菌水平——能动力和附着力

- 细菌的鞭毛不仅仅在细菌的游动过程中发挥重要的作用，同样可以利用鞭毛抓住一些亚微米东西从而增强表面附着能力。
- 在10到100纳米尺度范围内，表面粗糙能够增强一部分生物的吸附能力，同时也会减弱另一部分生物的吸附能力。



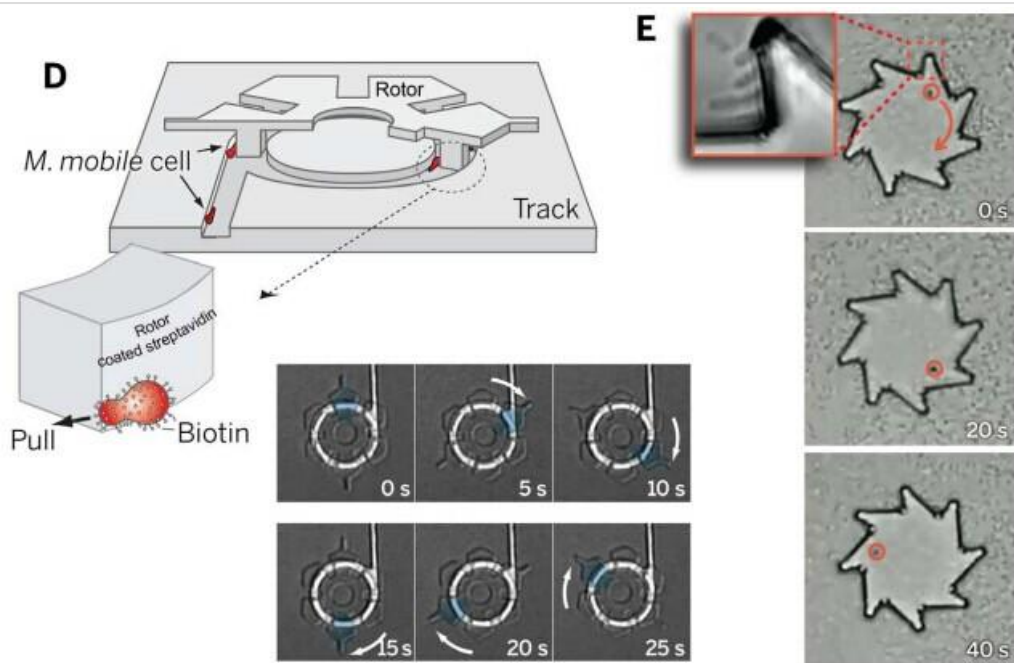
单细菌水平——能动力和附着力

- 利用微流体来创建明确的化学浓度梯度来研究细菌的趋化性，也就是浮游细菌感知和导航化学梯度的能力。
 - 浮游细菌与微结构之间的相互作用中。除了运动，细菌还有许多性能：如自我复制和感受环境的能力，使得他们成为推动或运输微米装置的感兴趣的候选生物。
-

单细菌水平——能动力和附着力

利用细胞的移动使得微转子转动的原理图。游动的细胞吸附在直径为**20**微米的转子上，并在移动的过程中使得转子转动。

游动的细胞通过碰撞不对称的齿轮，让直径为**48**微米的转子转动起来。



群体水平——电子传递

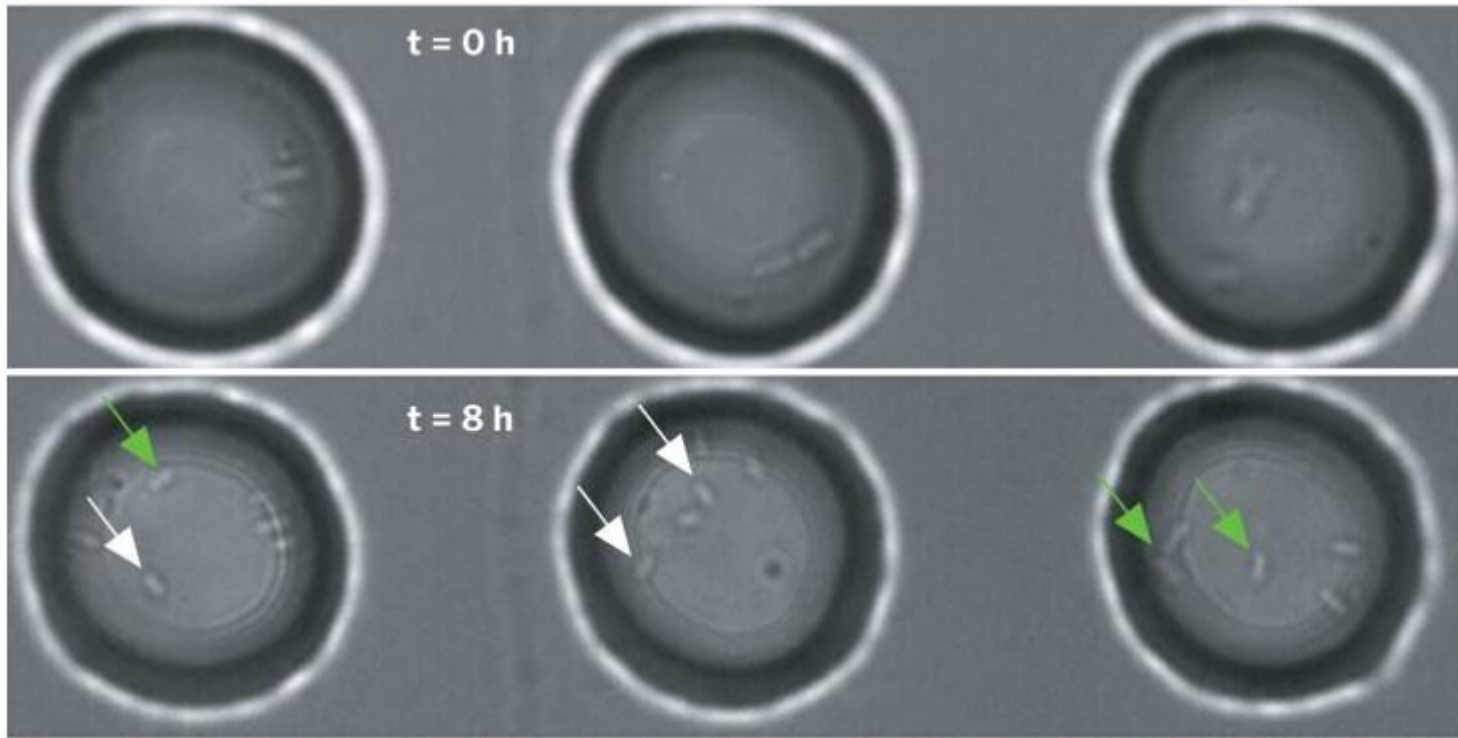
- 溶性氧化还原活性分子可以通过扩散的方式传输电子
 - 位于细胞表面的氧化还原活性分子也许通过接触直接转移电子
 - 生物膜可能通过导电鞭毛形成的触点来促进长距离的传递电子
 - 研究单个细胞发现在电子传递中，鞭毛在沙雷菌中发挥着极小的作用，而在硫还原地杆菌中发现鞭毛对于电子的传递起着至关重要的作用。
-

群体水平——细菌密度感知信号

- 密度制约信号，即，诱导完成一个群体才能完成的代谢活动或生命周期所需的最少细胞数量，避免那些不必要细胞的耗能浪费。
 - 探究为了响应自我感知信号，单个细胞是否会诱导群体感知信号的产生。可以将小群体细胞限定在微微升的液体小滴中来研究这个问题。
 - 两个实验结果都证明了单个细胞能够诱导群体感知信号，这在之前的研究当中观察的都是一个大的，高密度的群体。
-

群体水平——细菌密度感知信号

- 铜绿假单胞菌的小群体被包裹在100微微升的小液滴里，并不是在液滴中的所有细胞都能诱导群体感应现象。(绿色箭头指示能够诱导群体感应现象的细胞，而白色箭头指示不能诱导群体感应现象的细胞)。



其他应用

- 微流体平台不仅能保证研究者在良好的自定义生态环境里操作生态系统实验，而且有利于自然发生的群体特征化。
 - 微流体技术通过从自然样品中分离和分析单个细胞解决了许多不能培养细菌的各种秘密。
 - 微流体和微流控光学的有机结合将有利于直接分离单个目标细胞
-

Conclusion

- 管理单个细胞很简单，但是想要长时间的检测同一个细胞，并精确的掌控其内部的化学环境并非易事，它需要微生物中一个新的强大的工具。
 - 大约在十年以前，有人首次提出设计了芯片上的生态系统来研究细菌群体的空间动态变化的具体细节。纳米制造和微流体技术通过模拟自然生态环境而将这一想法变为了现实。
-

展望

- 从纳米和微流体技术作为一项新的技术来研究微生物起，已经将近10年了。这个发现带动了其他一些技术的发展，在生物学领域中已经取得了一些颇有见解的一些新观点和新思维。然而，至今还有许多问题还没解决，但是随着时间的发展，将微生物，微流体和纳米技术有机结合起来，相信一定会有所突破的。这些技术更进一步的结合将有助于我们更深层次的观察单个细胞的细节，加深我们对单个细胞生活及复杂的群体的理解。
-

About ? ?

□ 启示

- 打破传统研究方法，利用新技术研究生物机理
- 学科融合和交叉的重要性

□ 不足

- 纳米工具和微流体的构建过于抽象化
-

Thank you !
