第620次学术讨论会·强磁场与生命健康: 新条件、新问题、新机遇

梯度磁场在生物大分子研究中的应用

刘悦^{1,2†}, 吴子庆^{1,2†}, 刘雅丽^{1,2}, 周雅青^{1,2}, 商澎^{1,2,3}, 尹大川^{1,2,3*}

1. 西北工业大学空间生物实验模拟技术国防重点学科实验室, 西安 710072;

2. 西北工业大学生命学院, 西安 710072;

3. 西北工业大学深圳研究院, 深圳 518057

† 同等贡献

* 联系人, E-mail: yindc@nwpu.edu.cn

2018-09-18 收稿, 2019-01-28 修回, 2018-02-13 接受, 2019-03-05 网络版发表

国家自然科学基金(U1632126)和载人航天预研项目(17430206)资助

摘要 磁场作为一种物理环境, 广泛应用于各行各业. 随着磁体技术的飞速发展, 磁场在科学研究与实践应用中的重要性日趋凸显. 在生物大分子研究方向, 磁场也发挥了重要的作用. 其中, 梯度磁场作为磁场的一种, 由于其提供的资源除磁场外, 还有磁场梯度, 使其具备除常规磁场效应(择优取向、晶体质量改善等)外的其他应用价值(如溶液的对流控制、晶体质量改善、分离纯化等), 因此备受关注. 梯度磁场环境下涉及生物大分子的研究, 主要集中在生物大分子的结晶、分离与纯化, 以及自组装等方向. 充分利用梯度磁场, 可以实现高质量的生物大分子晶体生长、高效低成本的生物大分子分离与纯化等重要应用. 因此, 梯度磁场在生物大分子结构解析技术、生物药物制备技术等方向具有十分重要的价值. 本文将从梯度磁场物理环境对生物大分子溶液体系的基础性影响角度出发, 回顾并讨论梯度磁场在生物大分子研究中的应用, 并对该领域的发展前景进行了预期.

关键词 梯度磁场, 生物大分子, 生物分子, 蛋白质, 模拟微重力, 磁力

磁场作为一种物理环境, 是一种非常有价值的资源, 可以为多个学科研究提供特殊环境, 用以研究该环境下的现象与规律, 及充分利用这些现象与规律, 或服务于实践, 或为基础理论研究提供新的视角. 根据磁场随时间是否变化, 磁场可分为稳恒磁场和时变磁场. 根据磁感应强度分布的具体情况, 稳恒磁场又可分为均匀磁场和非均匀磁场. 其中, 后者在科研、生产实践中更为常见, 这是因为严格意义上的均匀磁场较难实现, 故多数磁场条件下的研究, 通常是在非均匀磁场特别是梯度磁场中进行的. 梯度磁场, 是非均匀磁场中的一种, 指沿着指定方向, 磁感应强度随距离按某种趋势变化的磁场. 科学研究中, 我们使用“梯度磁场”一词, 往往强调的是一种既包括磁场效应, 又包括磁场梯度效应的环境.

近年来, 由于超导磁体技术日趋先进, 推广应用范围迅速扩大, 带动了磁场特别是强磁场条件下的科学研究^[1~7]. 在生物学、医学领域各个研究方向, 磁场也因此获得了广泛的应用^[8~11]. 磁场下的生物学研究中, 梯度磁场的利用是一个重要组成部分. 迄今, 在这个研究方向, 研究者们已开展了从生物分子、细胞乃至整体不同水平的生物学研究. 本文将对梯度磁场在生物分子水平的研究进行回顾与总结, 并对未来的发展进行分析.

1 梯度磁场影响生物大分子溶液体系的理论基础

生物大分子发挥功能时, 均处于水基液态环境

引用格式: 刘悦, 吴子庆, 刘雅丽, 等. 梯度磁场在生物大分子研究中的应用. 科学通报, 2019, 64: 802~814

Liu Y, Wu Z Q, Liu Y L, et al. Applications of gradient magnetic fields in studies of biological macromolecules (in Chinese). Chin Sci Bull, 2019, 64: 802~814, doi: 10.1360/N972018-00956

中. 因此, 梯度磁场下涉及生物大分子的科学研究, 均针对的是生物大分子溶液环境. 为理解梯度磁场对生物大分子行为的影响现象, 澄清梯度磁场对生物大分子溶液体系的影响规律与机理十分必要. 本节回顾了已有的梯度磁场影响生物大分子溶液体系的理论基础, 包括磁场对自然对流、溶液结构、分子扩散系数、黏度和溶解度等方面的影响, 这些影响规律和机理对理解第二节中梯度磁场对结晶、分离和组装的影响现象, 以及对其他类似过程的影响现象, 均有非常重要的基础理论价值.

1.1 自然对流

磁场影响溶液中的自然对流现象, 可以归纳为两种相互作用的结果: 洛伦兹力和磁化力. 原则上, 前者作用于所有磁场中的带电运动物质, 后者作用于梯度磁场中的物质.

在2.1.1和2.1.2节中, 将分别根据洛伦兹力和磁化力的影响来回顾磁场对自然对流的影响.

1.1.1 洛伦兹力的作用

众所周知, 由于洛伦兹力的作用, 静态磁场会影响导电溶液中的自然对流^[12~15]. 这种效应已被用于工业生产. 例如, 自20世纪80年代末以来, 该途径一直被用于高质量单晶硅的商业制备^[15].

对流的抑制效应高度依赖于溶液的电导率. Hartmann数(Ha)通常用于表征磁场对流体对流的影响^[16], 它被定义为

$$Ha = B_0 L \sqrt{\frac{\sigma}{\rho \nu}}, \quad (1)$$

其中, B_0 : 磁感应强度; L : 容器的特征尺寸; σ : 流体的电导率; ρ : 流体密度; ν : 流体的动力学黏度.

当流体(如熔融硅)具备导电性, 其电导率高(熔融硅达到 $1.29 \times 10^6 \Omega^{-1} \text{ m}^{-1}$)^[17]; 而当使用非导电溶液或低导电溶液时, 其电导率相当低(如溶菌酶结晶溶液 $\sim 5 \Omega^{-1} \text{ m}^{-1}$)^[16]. 估算对比10 T条件下溶菌酶结晶溶液和熔融硅熔体的 Ha 数, 可以发现二者存在数量级的差异(取典型值进行估算, 对溶菌酶溶液, $Ha=3.54$; 对熔融硅溶液, $Ha=100\sim 400$, 或更大), 可见, 前者受磁场抑制的效果, 显著弱于后者. 因此, 洛伦兹力抑制对流的效应可能太弱而不能在蛋白质溶液中显现出来, Yin等人^[18]的实验研究证明了这一点.

然而, 数值模拟表明, 如果 Ha 大于10, 就必须考虑洛伦兹力对溶液中对流的影响^[16]. 从均匀磁场

(10 T)减缓蛋白质晶体生长速度的现象来看, 对流确实可能受到强磁场的抑制^[19]. Sasaki等人^[20]的实验证明, 在10 T的静态磁场中, 25 wt% NaCl水溶液中温度驱动对流的速度比0 T时减小了2倍. 这个结果表明, 电解质中的对流可以通过洛伦兹力实现衰减.

1.1.2 磁化力的作用: 磁重力效应

磁化力起源于磁场与原子中自旋电子之间的相互作用, 它在梯度磁场中发挥作用. 磁化力影响对流的作用, 存在两种情况: 即对密度均一以及密度不均一溶液中对流的影响.

(i) 在密度均一溶液中的对流. 在垂直梯度磁场中, 物体受垂直方向磁化力的作用, 在受力环境上与该物体自身重力相增减, 导致出现表观重力的变化(称为磁重力效应). 这里使用术语“表观重力”来表示由物质组成的内部单元之间的相互作用水平. 如, 若物体中任何两个相邻单元均不产生相互作用力, 此时, 该物体所处的状态就是“表观0重力”状态. 换句话说, “表观0重力”代表一种单元与单元之间无压力状态. 如果作用于一个单元的合力(F_{all})来自其周围单元, 那么该单元的表观重力水平(一种加速度) g_{app} 可以定义为

$$g_{\text{app}} = \frac{F_{\text{all}}}{m}, \quad (2)$$

其中, m 为单元的质量.

表观重力水平的变化将影响溶液的行为(包括自然对流), 从而进一步影响溶液中的物理或化学过程. 在梯度磁场中, 体积 V 的物体将受沿磁场梯度方向的磁化力 F_m 的作用, 它与该物体所受的自身重力 F_g 的合力可以写成:

$$F_{\text{all}} = F_g + F_m = \rho V \left\{ -g + \frac{\chi}{\mu_0 \rho} B \left(\frac{dB}{dy} \right) \right\} = \rho V g_{\text{app}}. \quad (3)$$

据上式, 可得:

$$g_{\text{app}} = -g + \frac{\chi}{\mu_0 \rho} B \left(\frac{dB}{dy} \right). \quad (4)$$

表观重力水平因此可以写为:

$$G_{\text{app}} = \frac{g_{\text{app}}}{g} = -1 + \frac{\chi}{\mu_0 \rho g} B \left(\frac{dB}{dy} \right). \quad (5)$$

由上式可见, 表观重力水平可以通过磁场的 BB' 进行调控.

图1示意地给出了在螺线管磁体内部, 抗磁性物体的受力情况. 在磁体的中心(C点)处, 磁感应强度最

大, 但该位置的磁场梯度为 0 T m^{-1} , 则 $BB'=0 \text{ T}^2 \text{ m}^{-1}$, 没有磁化力作用, 因此其表观重力与常重力水平相同. 在磁体中其他位置, 由于 BB' 不为零, 因此磁化力也不为零. 在图1中的U点位置, 抗磁性物体所受的磁化力方向向上, 与重力方向相反, 因此将起到削弱甚至反转表观重力水平的作用, 使该点的抗磁性物体处于低重力、微重力, 甚至反重力状态. 而在L点位置, 由于抗磁性物体所受的磁化力方向向下, 与重力方向相同, 可以增强其表观重力水平. 因此, 该点的抗磁性物体将处于超重重力状态.

为了利用上述机制在地球上实现失重状态, 需要具有大梯度的高场磁体. 随着超导磁体技术的发展, 这种高场磁体已经商业化. 由于超导磁体能耗低、可以长时间(几周到几十年)持续稳定地实现从微重力到超重力的表观重力, 非常适合有长时间需求的研究或生产过程. 图2是安装在西北工业大学的一台超导磁体, 具备抗磁悬浮能力(通常指具备悬浮水滴的能力), 能够模拟微重力状态.

在梯度磁场产生的表观微重力状态下, 密度均一流体中的对流将受到抑制, 情况与空间微重力条件下的类似.

(ii) 在密度不均一溶液中的对流. 当溶液中存在密度不均一现象时(如结晶), 即使在地面上达到了上节所述的表观微重力水平, 依然不能完全抑制对流的发生^[22,23]. 为了实现对流的完全抑制, 需要进一步调整梯度磁场分布. 当磁化力水平适当时, 可以使

密度不均一溶液中的对流受到完全抑制. 该状态与空间环境下溶液的对流受到抑制的状态一致. 即磁化力水平适当, 抑制非均匀溶液对流的效果等效于空间微重力环境的效果时, 该磁化力对应的模拟重力水平可以定义为“等效微重力”.

为了评估梯度磁场对非均匀溶液中对流的影响, 根据溶液不同单元之间的作用力差异(ΔF), 定义“等效重力” g_{eff} 和“等效重力水平” G_{eff} 如下^[22,23]:

$$g_{\text{eff}} = g - \frac{\beta}{\alpha} \frac{BB'}{\mu_0}, \quad (6)$$

$$G_{\text{eff}} = 1 - \frac{\beta}{\alpha} \frac{BB'}{\mu_0}, \quad (7)$$

其中, α 和 β 分别为密度和磁化系数对浓度的线性系数(即: $\rho(C) = \alpha C + \rho_0$; $\chi(C) = \beta C + \chi_0$. 其中, C 为溶液的浓度; ρ_0 为溶剂(水)的密度; χ_0 为溶剂(水)的磁化系数).

如果在溶液中, 作用于不同单元的力相同, 则可以抑制对流. 因此, 当 $G_{\text{eff}}=0$ 时, 从上述等式即可推导出抑制对流的最佳条件:

$$BB' = \frac{\alpha}{\beta} \mu_0 g. \quad (8)$$

实验观察显示, 在磁化力很大的条件下($BB'=-4450 \text{ T}^2/\text{m}$), 蛋白质晶体生长过程中的对流受到完全抑制^[24,25], 该条件被定义为“等效0 g”.

上述研究结果表明, 必须使用大梯度强磁场环境才能实现等效0 g状态. 但在大多数实验室中, 普

图1 (网络版彩色)垂直螺线管磁场中抗磁性物体受力分析示意图. U: 模拟低重力、微重力或反重力; C: 模拟常重力; L: 模拟超重重力^[21]

Figure 1 (Color online) Schematic illustration of the forces on the diamagnetic objects placed in a vertical magnetic field. U: simulated low gravity, microgravity or antigravity; C: simulated normal gravity; L: simulated hypergravity^[21]

图2 (网络版彩色)具备抗磁悬浮能力的超导磁体(JASTEC 16T 50 mm). 该磁体可以模拟空间微重力状态,有效抑制均匀流体中的对流^[21]

Figure 2 (Color online) Superconducting magnet system capable of diamagnetic levitation (JASTEC 16T 50mm). The superconducting magnet can simulate the microgravity condition in the space, and effectively suppress the convection in a uniform fluid^[21]

通超导磁体达不到等效0 g的要求. 不过,数值模拟研究发现,在相对较低 BB' 值的梯度磁场中,对流仍然可以实现有效衰减^[26,27]. 这给利用大梯度强磁场开展对流抑制条件下的研究提供了支持.

1.2 溶液结构

通常,生物大分子溶液在无磁场条件下,会因为热运动作用,导致溶液形成无序的结构. 这也是多数情况下溶液的结构特征. 然而,在存在强磁场的情况下,由于磁场可能通过力学相互作用对溶质或溶液产生影响,可能导致磁场中的生物大分子溶液存在某种结构. Zhong等人^[28]使用双折射技术对蛋白质溶液在磁场下的结构进行了间接研究,发现在磁场为10 T时,溶菌酶溶液的双折射率(Δn)随时间增加,然后达到稳定值. 而在磁体之外时,双折射率则不随时间变化. 从观察结果来看,作者认为,溶菌酶分子在溶液中有可能形成凝胶状网络结构.

由于双折射率变化反映了磁场中存在一些特定结构,但即使是使用远超10 T的最高人造静磁场(45 T)也难以达到影响单分子结构的目的,因此,上述磁场条件下出现的结构,可能是磁场对分子聚集体的作用导致. 我们根据其观察到的结果,结合其实验条件,认为不能排除溶液中出现悬浮微晶或浓液相的可能性. 其中,前者(悬浮微晶)在磁场中会因磁场下的扭矩出现定向排列,从而导致双折射率的显著改

变. 而后者(聚集体)也会因为磁场的扭矩作用,出现一定程度的定向,导致双折射率测量结果出现明显差异. 无论上述哪种情况,溶液受磁场影响而出现特定乃至定向的结构是可能的.

1.3 分子的扩散系数

通过对比磁场内外生物大分子的扩散速度,可以间接获知磁场对生物大分子扩散系数的影响. Yin等人^[29]将液池底部的蛋白质晶体在正温度梯度环境下(上方温度高,下方温度低)进行溶解,此时晶体溶解释放的蛋白质分子的溶质运输途径是扩散. 对比研究确认,磁场能够明显降低蛋白质分子的扩散系数. Yanagiya等人^[19]通过不同的方法对11 T磁场中的晶体溶解进行了研究,发现了相同的趋势. 其机理可能与生物大分子(在溶液中通常带有电荷)受洛仑兹力作用有关: 在磁场中,生物大分子运动路径因洛仑兹力发生偏转,导致其扩散的实际长度增加,扩散系数降低. 此外,磁化力与扭矩亦可能对扩散系数产生影响.

1.4 溶液黏度

在特定条件下,生物大分子溶液黏度会受磁场的影响. Zhong等人^[16]在开展磁感应强度影响溶菌酶溶液黏度研究中发现,当溶液浓度较稀(不易结晶)时,如果利用滤器过滤该溶液,则磁场对黏度影响不大. 如果不过滤该溶液,则黏度随磁场增加而增加. 同时,降低磁场,黏度会降低,且能够在磁场降低到零时恢复到初始值. 当溶液浓度较浓(溶液结晶的条件)时,溶液黏度也将随磁感应强度增加而增加. 如果将溶液短时间(1 h)保持在磁场中,则溶液黏度能够在磁场降至零时恢复初始值,但如在磁场中保持时间较长(3 h)时,溶液的黏度就无法恢复到初始值了. 作者据此得出结论: 随磁场增加,蛋白质溶液黏度增加,其可能的机理是: 在磁场中长时间保持溶液,磁场可能引起溶液结构发生改变,导致黏度值不能恢复.

根据作者的实验结果,我们认为,该现象也可能存在其他机理. 如同1.2节中关于磁场影响溶液结构的机理探讨中指出的悬浮聚集体作用,本节中黏度受磁场的影响现象,有可能也是因溶液中出现聚集体导致的. 例如,溶液中出现悬浮微晶或其他悬浮的组装体、溶液相分离(即液-液相分离,广泛存在于生物大分子溶液体系)的发生等,均可因聚集体在磁场

中受扭矩作用,导致黏度测量小珠移动受阻,从而出现上述现象.此外,洛伦兹力作用在带电分子上,测量用小珠运动时,带动带电分子,使之受到洛伦兹力作用影响,可能也会阻碍测量小珠的运动,从而出现黏度增加的现象.

1.5 溶解度

溶解度是生物大分子溶液体系中的一个非常重要的参数.在研究磁场条件下生物大分子在溶液中的行为时,生物大分子在磁场下的溶解度是非常重要的指标.但实际上,迄今为止,尚没有在强磁场中对溶解度进行直接测量的结果,但有一些间接的研究结果,给出了有倾向性的结果.Yanagiya等人^[19]通过将溶菌酶晶体溶解在盐溶液中研究了磁场对溶解度的影响.在此研究中,他们认为溶菌酶在溶液中的溶解度不会因为磁场的改变而改变.

2 梯度磁场在生物大分子结晶、分离和组装中的应用研究

利用梯度磁场开展的针对生物大分子的科学研究中,主要涉及的内容包括:生物大分子结晶、生物大分子分离与纯化以及生物大分子自组装,以下将分别进行评述.其中,多数情况下,生物大分子分离与纯化研究利用的都是磁感应强度水平较低的永磁体(表面磁感应强度 <1.5 T)或普通电磁体(通常 <2 T).而生物大分子结晶和生物大分子自组装研究,多采用目前日渐普及的超导磁体,磁感应强度水平多在6 T及以上.

2.1 生物大分子的结晶

磁场下生物大分子结晶研究是磁场下生物大分子研究中开展工作最系统的部分^[30-34].开展相关研究的团队主要来自日本、中国、美国、荷兰、西班牙、德国、墨西哥、法国等地.主要开展的工作涉及均匀磁场和梯度磁场对蛋白质结晶的影响研究.其中,利用梯度磁场影响蛋白质结晶过程,其主要目的是获得高质量的蛋白质晶体.具体影响作用体现在对形核和生长过程的影响,并进而影响最终晶体的质量.

2.1.1 梯度磁场下的蛋白质晶体形核

蛋白质晶体的形核是实现结晶的第一步,十分关键.尽管如此,磁场如何影响蛋白质晶体的形核,相关研究较少.特别地,晶体形核主要通过两步形核

过程实现,磁场如何影响两步形核过程(液液相分离,浓液相中形核),尚无研究报道.随着液-液相分离迅速成为当前生命科学领域前沿,开展相关研究尤为重要.迄今,已有的一些侧面研究,可以间接得到梯度磁场影响形核过程的一些规律.

Sazaki等人^[35,36]发现,磁场能够减少形核的机会.但是,Wakayama等人^[37]报道了另一个结果,认为均匀磁场不影响溶菌酶晶体的形核数量,但梯度磁场却能明显影响晶体的数量.他们发现,在 BB' 大约为 -64 T² m⁻¹时,晶体数量减少;而 BB' 大约为 64 T² m⁻¹时,晶体数量增加.之后,Okada等人^[38]利用更强的磁场,证实了类似的现象,即在没有磁场的情况下,晶体在6天内出现,而在磁场中的悬浮位置(即表观微重力位置, BB' 约为 -1370 T² m⁻¹),即使在32天后也未发现晶体.但与上述结果相反,Gavira等人^[39]报道了在超导磁体磁场中形核增加的观察结果.

当然,上述有争议的结果可能来自于具体实验条件的差异.据报道,Wakayama等人^[37]使用的是1 T左右的永磁体,而Sazaki等人^[35]使用的是10 T的超导磁体.Moreno等人^[36]使用的是7和10 T的超导磁体,Okada等人^[38]使用的是16 T具备抗磁悬浮能力的超导磁体,而Gavira等人^[39]则使用来自NMR的7 T磁体.样品在磁场中的准确位置存在差异、实际结晶条件(如实际温度、起始浓度、溶液组成等)也存在差异等,由于形核过程对环境条件十分敏感,可能会导致结晶结果的明显差异.具体的影响规律及机理,特别是从两步形核过程的角度,重新审视磁场影响蛋白质晶体的形核过程,找到梯度磁场影响形核的真相,是非常必要的.

2.1.2 梯度磁场下的蛋白质晶体生长以及无容器悬浮条件下的蛋白质结晶

关于磁场下的蛋白质晶体生长过程研究,已有的报道内容主要涉及的是均匀磁场的影响,其中包括磁场影响晶体生长速率^[18,19]、晶体择优取向^[35,39-45]、晶体的形貌、惯习面和生长动力学^[35,39,46]等方面的研究.梯度磁场下的晶体生长过程实验研究,则少有涉及.但有一些利用数值模拟讨论梯度磁场特别是模拟微重力影响蛋白质晶体生长过程的研究.梯度磁场影响蛋白质晶体生长研究,主要的兴趣在于模拟微重力或低重力条件实现某种程度的对流抑制,进而改善晶体的质量.其中一个比较特别的实验研究,是利用模拟微重力条件,实现无容器失重条

件下的蛋白质结晶. 如前所述, 利用大梯度强磁场超导磁体设施, 可以实现表观零重力条件. 在该条件下, 一个液滴可以悬浮起来, 并同时处于表观零重力状态^[35,47].

悬浮液相可以用于无容器加工^[48-52], 以帮助获得高质量的材料. 例如, 无容器环境下获得的晶体可能表现出较低的内应力和较少的缺陷^[53]. 此外, 有研究表明, 无论梯度磁场还是均匀磁场, 晶体的质量都可以得到改善. 甚至, 在磁体内生长的晶体, 其可稳定维持完美晶格结构的时间远超磁体外生长的晶体. 因此, 利用超导磁体实现的无容器悬浮条件, 可以同时提供模拟微重力、无容器和强磁场等有益于改善晶体质量的多重条件, 有望对获得高质量晶体提供帮助. 为此, Lu等人^[54]利用自制的悬浮装置, 首次成功地在无容器和失重条件下开展蛋白质晶体生长和溶解研究. 图3显示了在悬浮液滴中生长的溶菌酶晶体的图片. 可以看出, 晶体在整个结晶过程中保持彼此的相对位置, 表明液滴中的流体流动较弱, 显然对改善晶体质量有帮助.

悬浮和无容器条件的另一个可能优势是通过减小镶嵌度来改善蛋白质晶体的质量. 由于高磁场可以使具有磁化系数各向异性的材料对齐, Sato等人^[55,56]认为晶体退火可能有助于通过强磁场的定向效应改善晶体质量. Nakamura等人^[57]也观察到具有择优取向的晶体比未取向晶体和对照晶体表现出更好的衍射质量. 在普通的结晶溶液中, 晶体通常附着

图3 (网络版彩色)无容器悬浮模拟失重条件下的蛋白质结晶液滴及其内部生长的蛋白质晶体^[54]

Figure 3 (Color online) The crystallization droplet and the protein crystals grown inside under the containerless and weightless condition^[54]

在容器壁上, 因此当晶体未沿磁场方向取向时, 磁场的这种取向效应可能没有任何用途. 但当晶体悬浮在无容器液滴中时, 晶体可以自由移动并转向沿磁场排列. 在这种情况下, 取向效应可能发挥作用并可通过退火改善晶体质量. 因此, 当晶体在悬浮和无容器条件下生长时, 预计晶体质量可以得到改善. 最近, Cao等人^[58]系统地比较了在模拟微重力无容器悬浮液滴中获得的7种蛋白质晶体与在凝胶、油和对照物中获得的同类蛋白晶体的质量, 证实抗磁悬浮液滴中获得的蛋白质晶体质量更好.

2.1.3 梯度磁场下的蛋白质晶体质量

如上所述, 蛋白质晶体的质量可以在无容器失重条件下得到明显改善, 这是梯度磁场条件影响蛋白质晶体质量的一个案例. 其他在有容器情况下, 也存在类似的现象.

最早发现梯度磁场影响蛋白质晶体质量的研究发表于2000年^[55,59]. 在该年度, 几乎同时发表了两篇文章, 其中一篇是均匀磁场改善蛋白质晶体质量的影响^[55], 另一篇是梯度磁场影响晶体质量的报道^[59]. 后者比较了表观低重力0.7~0.8 g与表观超重力1.3 g条件下蛇形肌果糖-1,6-二磷酸酶晶体和人雌激素17 β -羟基类固醇脱氢酶晶体的质量, 发现表观低重力条件下得到的晶体比表观超重力条件下得到的晶体质量更好.

上述两篇文章发表后, 人们陆续开展了更多的工作^[36,45,56-58,60-66], 获得了更多的证据, 这些结果均表明: 均匀磁场和梯度磁场均有利于改善晶体质量. 关于梯度磁场的影响, 有3个值得一提的工作. 一个是Ataka团队^[63]采用磁-阿基米德悬浮原理, 利用顺磁盐GdCl₃的作用, 实现了在空气-液体界面处生长溶菌酶晶体, 并获得了溶菌酶晶体质量提高的证据. 另一个工作是Yin等人^[62]利用大梯度强磁场条件, 首次实现模拟微重力水平(即表观重力水平为0 g, 11 T)下蛋白质结晶并进行了晶体质量与超重力(表观重力1.8 g, 11 T)、常重力(表观常重力1 g, 15 T与磁场外常重力1 g, 0 T)条件下的对比, 不仅证实了均匀磁场有利于改善晶体质量, 同时也首次实验证明模拟微重力能够改善蛋白质晶体质量(见图4). 最后一个工作是上述已经提及的Cao等人^[58]的工作. 他们首次比较了无容器悬浮模拟微重力(0 g, 12 T)条件下得到的蛋白质晶体与其他3种条件(胶体无容器、油滴无容器, 以及常规有固态界面的液滴对照)下获得的晶体之间

图4 (网络版彩色)大梯度强磁场条件下生长的蛋白质晶体质量对比^[62]. 磁体内模拟微重力(μ g, 11 T)和常重力(1 g, 15 T)条件均比磁场外常重力条件(1 g, 0 T)下的晶体质量高

Figure 4 (Color online) Quality comparison of protein crystals grown under large gradient high magnetic field^[62]. The crystal quality is better in both simulated microgravity (μ g, 11 T) and high magnetic field (1 g, 15 T) than in the normal gravity outside the magnetic field (1 g, 0 T)

的质量对比, 证明在0 g, 12 T无容器悬浮条件下得到了最佳的晶体质量。

根据已有的研究结果, 我们可以比较明确地说, 在均匀磁场或梯度磁场条件下得到的蛋白质晶体, 其质量通常优于(或不差于)磁场外的对照晶体的质量。关于梯度磁场改善晶体质量的原因, 可能的机理包括: (1) 磁场本身的作用。磁场条件下, 晶体会沿着磁场方向定向^[55-57,67]。已有的观察已经证实, 磁场中定向的晶体往往质量更好, 其机理可能与更容易形成有序结构有关; 此外, 磁场可能帮助减少分子构向的不稳定性^[55,56,66], 从而帮助改善晶体质量; (2) 磁场梯度的作用。一方面, 梯度磁场特别是模拟微重力位置的梯度磁场, 能够有效抑制对流^[22,55,56,59,67,68], 从而改善晶体质量。另外, 梯度磁场可以实现无容器悬浮条件下的结晶^[54,58,63,69], 不仅有利于实现磁场下的晶体自由定向, 而且可以消除固态界面对晶体质

量的不良影响。此外, 采用空气-液面界面的方式^[63], 可以避免晶体的沉降, 也有助于改善晶体质量。

2.2 生物大分子的分离

梯度磁场在生物大分子研究中的另一个非常有价值的应用是生物大分子的分离与纯化^[70]。生物大分子的分离纯化在实际应用中的需求越来越迫切, 特别是生物类药物领域出现了强劲的需求, 但目前以传统层析技术为基础的生产手段越来越难以满足需要。此背景催生了大量以非层析技术为主的生产技术研究(即生物药物生产领域正在发生的ABC(anything but chromatography)趋势: 具体技术包括磁分离、双水相分离、沉淀及结晶等)。其中, 生物大分子的磁分离技术是非常重要的手段, 也是众多ABC趋势技术中研究最广泛的途径之一, 同时也是最类似传统层析技术但又可以巧妙避免传统层析技术缺点(如通量小、设备昂贵、效率低等)的一种技术。该技术可以追溯到20世纪70年代^[71], 其核心内容是采用修饰了能够与目标生物大分子(主要是蛋白质和核酸(DNA、RNA))实现选择性结合的基团的磁性颗粒。将该颗粒结合目标生物大分子, 然后利用梯度磁场聚集磁性颗粒, 使目标分子与其母液分离, 从而实现目标分子的分离与纯化。图5为一个典型的磁分离过程示意图。

该过程由于充分利用了磁场的性质, 能够避免传统技术中使用的离心、层析、浓缩、过滤等工艺, 可以非常高效、快速地实现目标生物大分子的分离与提纯, 且过程十分简单、成本低廉、对目标生物大分子的活性影响小, 有望成为下一代的生物大分子工业生产的核心技术之一。因此, 21世纪以来, 受其他领域需求的推动, 该技术受到广泛关注, 目前已成为生物大分子分离纯化研究中的热点方向。在该方向研

图5 (网络版彩色)典型的生物大分子磁分离过程示意图。该过程使用 Ni^{2+} 特异结合His标签蛋白, 使之与其他蛋白分离实现纯化^[72]

Figure 5 (Color online) Schematic illustration of typical magnetic separation processes of biological macromolecules. His-tagged protein molecules are selectively bound to the magnetic beads with Ni^{2+} on the surface, so that the target protein molecules can be separated from the other protein species^[72]

究中, 关注焦点是分离介质材料. 此外, 在实际应用过程中, 为了实现规模分离, 磁分离设备的研发也是十分关键的任务.

2.2.1 磁分离介质材料研究

实现生物大分子的磁分离, 首先需要找到一种固态介质, 该介质材料需要至少具备两个功能: (1) 能够选择性且可逆地结合目标生物大分子; (2) 具备在梯度磁场下的响应性(实现吸引聚集). 此外, 还往往需要一些其他功能, 例如, 具备良好的分散性, 避免自发聚集; 具备大的比表面积, 可提供更大的面积用以结合更多的目标分子; 容易制备, 便于工业化生产; 性能稳定, 重复利用度高; 环境友好; 成本低廉等.

多数情况下, 满足上述需求的分离介质材料, 通常制备成核壳结构, 分别由“核”“壳”执行不同的功能, 共同完成分离任务. 其中的“核”, 往往是超顺磁(纳米、微米)颗粒, 用以实现磁响应性功能. 超顺磁颗粒多选择 Fe_3O_4 颗粒, 因其磁响应性好、无毒无害、容易制备、成本低廉.

上述核壳材料的“壳”, 则多种多样. 例如, 可以先在“核”上包覆一层能够牢固结合带有巯基螯合剂的金属材料(金、银、铂等), 然后在金属膜表面再修饰螯合剂, 之后在螯合剂的表面再修饰能够与生物大分子特异相互作用的功能化基团. 为了实现良好的特异性, 与蛋白质之间实现吸附-解吸附行为的功能化基团种类很多, 研究最多的是面向His标签蛋白的功能化基团, 如 Ni^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} 等离子. 此外, 其他的修饰基团及其对应的生物大分子有: 抗体或抗体模拟物(如Affitins、单链片段、抗原结合片段等)对应抗原^[73]、重组蛋白Protein A/G对应抗体如IgG, Au或氧化石墨烯GO对应单链DNA^[74]、磁响应表面活性剂对应特定蛋白质^[75]、分子印迹聚合物对应印迹分子^[76,77]等. 除了上述这些增强特异吸附的途径外, 介质材料研究还需重视对非特异蛋白质吸附的抑制. 这是因为很多材料均具备吸附蛋白质的能力, 是非特异性的吸附, 显然不利于目标生物大分子的选择性吸附.

综上, 磁分离介质多数是以超顺磁磁性核及其表面修饰能够实现可逆结合生物大分子的壳组成. 核壳之间, 为了保证良好的结合、在溶液中的分散性及其可重复性使用率, 往往还需要不同的材料进行过渡连接. 例如, 一种磁分离介质材料, 其从“核”到

“壳”的结构, 可以是这样的: 磁性颗粒(如 Fe_3O_4)+中间体(如巯基、多巴胺DA等)+金属膜(如Au, Ag, Pt等)+巯基化螯合剂(如次氨基三乙酸NTA)+金属离子(如 Ni^{2+} , Co^{2+} 等).

当然, Schwaminger等人^[78,79]的研究中, 完全不使用核壳结构, 而是直接使用超顺磁颗粒, 如 Fe_3O_4 , NiFe_2O_4 , CoFe_2O_4 等颗粒, 直接利用其与谷氨酸残基的特异相互作用, 选择性捕获Glu₆标签蛋白, 或利用颗粒表面分布的 Ni^{2+} , Co^{2+} , 选择性捕获His₆标签蛋白, 从而实现分离与纯化. 与其他需要表面修饰的技术相比, 由于其成本非常低廉, 近年来也受到了较多的关注.

2.2.2 磁分离设备的研发

针对生物大分子的磁分离, 已有多年的研究. 特别是近年来, 研究报道非常多. 尽管实验室研究给出了鼓舞人心的结果, 表明磁分离技术用于生物大分子分离纯化前景光明, 潜力巨大. 但是, 迄今磁分离技术尚未真正在工业生产中实际应用于生物大分子的分离与纯化. 出现这种现象的原因之一是: 目前市场尚缺乏成熟的满足工业级别的磁分离流水线设备. 因此, 磁分离流水线生产设备的研发, 成为磁分离技术走向实际应用的重要突破口^[80]. 磁分离生产设备要求其具备足够强的梯度磁场、梯度磁场可控(可开关控制)、分离设备能够实现流水线生产、产品质量监控体系完备等等. 面对这些需求, 相关研究尚较少. 不过, 目前这种现状正在发生改变. 最近, 德国已研发了第一款符合商业cGMP标准的专用磁分离设备(“转子-定子”高磁场梯度分离设备), 目前正在进行蛋白质分离纯化测试应用研究, 初步测试结果已给出了积极正面的结果^[80]. 鉴于基于磁分离技术的其他过程如水处理等, 已经在工业生产中得到实际应用, 可见其实际推广应用不存在技术上的障碍. 随着新的面向生物大分子纯化的磁分离设备的成功研发, 显而易见, 生物大分子磁分离技术离进入实际生产应用已经不远.

2.2.3 磁分离工艺研究

生物大分子磁分离研究中, 除了上述介质材料、自动化设备研究外, 关于磁分离的工艺研究, 也是一个值得重视的内容. 磁分离过程使用的溶液, 其成分、浓度、pH、温度、离子强度、洗脱剂等, 均对最终的纯化效果产生影响, 因此, 具体的工艺研究也十分重要. 此外, 纯化后的成品质量检验, 也是值得重

视的内容.

生物大分子磁分离技术的进一步拓展,还可以发展到细胞层次目标物(如巨噬细胞、T/B/NK细胞、内皮细胞、纤维母细胞等)的分离与纯化.

2.3 生物大分子的自组装

生物大分子自组装是指以生物大分子为基本构成单元,通过非共价键相互作用自发构建具有稳定结构的过程.从广义上讲,本文前述的生物大分子结晶,也是生物大分子组装的一种类型.因此,理论上讲,本文上述关于磁场影响生物大分子结晶过程中的一些基本规律,如磁场对溶液性质、过程等的影响,同样适用于生物大分子自组装过程.

已有文献中,关于磁场下的生物大分子自组装现象,相关报道并不多,且多数内容为与磁场方向相关的定向现象.如早在20世纪80年代,就有关于胶原蛋白在自组装成纤维过程中发生定向现象的报道^[81].此后相关的研究,多与有序结构、择优取向结构有关.如Sun等人^[82]发现,磁性生物分子(金属硫蛋白结合顺磁性离子,如 Mn^{2+} , Cd^{2+})在外磁场作用下可以形成有序的自组装图案结构,有望在生物传感等方面得到应用.此外,利用磁性纳米颗粒在磁场下的响应,可以引导与磁性纳米颗粒共轭结合的蛋白质自组装形成具有周期性结构的微管^[83],有望在分子输运、新型仿生材料等方面得到应用.除沿磁场方向取向相关的生物大分子自组装现象外,也有关于梯度磁场影响自组装过程的报道,例如Glade等人^[84]发现在抗磁悬浮模拟微重力条件下,微管蛋白自组装过程会受到明显抑制,使自组装过程与磁场外的情况存在明显差异.

总体上,根据已有文献,磁场影响生物大分子自组装过程的研究,并不系统深入.特别是,相关磁场影响生物大分子自组装过程,多聚焦于均匀磁场对自组装结构择优取向的作用.而梯度磁场对自组装过程的影响,研究极少,尚未成为研究的主要内容.鉴于梯度磁场对蛋白质结晶存在明显效应,可以预见,梯度磁场对生物大分子的自组装亦将产生明显影响(个别研究已证实了这一点,但深入研究明显缺乏),这是值得关注的一个未来待发掘的研究主题之一.

3 结论与展望

梯度磁场对生物大分子体系及其过程的作用研究,主要集中在其对生物大分子结晶、分离、纯化、高灵敏度检测、自组装等方面的影响规律、机理或应用研究.在生物大分子结晶方面,大量研究已充分证实,梯度磁场可以作为一种改善生物大分子晶体质量的一种有效途径.因此,该环境可以为获得高质量生物大分子晶体做出贡献,从而进一步应用于晶体生长理论研究、高精度分辨率结构解析等方面.在生物大分子(蛋白质、核酸等)分离纯化方面,利用梯度磁场的磁分离技术具有十分突出的优势,能够显著加快分离纯化的速度、提高分离效率、降低成本.在生物大分子自组装研究方面,相关研究相对较少,但作为与生物大分子结晶本质上相似的过程,生物大分子自组装受梯度磁场的影响是确定的,与之相关的研究,非常值得挖掘.另外,在开展磁场影响生物大分子结晶或组装研究中,磁场对具体形核机理特别是对两步形核过程的影响,是非常值得重视的基础理论问题,也是值得深度探索的研究要点之一.尤其是最近,关于生物大分子相分离(形核过程关键环节)的研究已经成为目前生命科学前沿热点问题,利用磁场作为外加物理场,影响相分离过程,将有利于拓展生命科学领域相分离研究的方向,对解读外加物理场对生命活动过程的影响机制,以及发展新的疾病干预手段,均具有重要意义.

作为一种特殊环境,梯度磁场在与生物大分子相关的实际应用潜力方面,尚未得到充分发掘.但近年来日趋增多的研究已逐步凸显出其重要价值,特别是在生物大分子分离、纯化、高灵敏度检测、蛋白质类药物稳定储放等方面,已经表现出巨大的应用潜力,且正在开始向实际应用转化,预期将在实践生产中获得十分重要的应用.

此外,充分利用梯度磁场操控生物分子的能力,可以在生物分子药物的靶向递送(磁性纳米颗粒结合治疗药物分子,在外部梯度磁场作用下实现靶向递送)、疾病诊断(分子标志物如一些生物大分子的捕获、富集及其分析)等方面获得重要应用.这些方面的研究,亦将具有十分重要的科学与实际价值,未来预期将能产出更多有价值的成果.

参考文献

- 1 Kardjilov N, Manke I, Woracek R, et al. Advances in neutron imaging. *Mater Today*, 2018, 21: 652–672
- 2 Yao L, Xu S J. Detection of magnetic nanomaterials in molecular imaging and diagnosis applications. *Nanotechnol Rev*, 2014, 3: 247–268
- 3 Scheunert G, Heinonen O, Hardeman R, et al. A review of high magnetic moment thin films for microscale and nanotechnology applications. *Appl Phys Rev*, 2016, 3: 011301
- 4 Vulusala G V S, Madichetty S. Application of superconducting magnetic energy storage in electrical power and energy systems: A review. *Int J Energ Res*, 2018, 42: 358–368
- 5 Noh S H, Moon S H, Shin T H, et al. Recent advances of magneto-thermal capabilities of nanoparticles: From design principles to biomedical applications. *Nano Today*, 2017, 13: 61–76
- 6 Jha P K, Xanthakis E, Jury V, et al. An overview on magnetic field and electric field interactions with ice crystallisation: Application in the case of frozen food. *Crystals*, 2017, 7: 299
- 7 Otero L, Rodriguez A C, Mateos M P, et al. Effects of magnetic fields on freezing: Application to biological products. *Compr Rev Food Sci F*, 2016, 15: 646–667
- 8 Zhang H, Liu X L, Zhang Y F, et al. Magnetic nanoparticles based cancer therapy: Current status and applications. *Sci China Life Sci*, 2018, 61: 400–414
- 9 Zheng L, Chen L G, Huang H B, et al. An overview of magnetic micro-robot systems for biomedical applications. *Microsyst Technol*, 2016, 22: 2371–2387
- 10 Mai T, Hilt J Z. Magnetic nanoparticles: Reactive oxygen species generation and potential therapeutic applications. *J Nanopart Res*, 2017, 19: 253
- 11 Srinoi P, Chen Y T, Vittur V, et al. Bimetallic nanoparticles: Enhanced magnetic and optical properties for emerging biological applications. *Appl Sci Basel*, 2018, 8: 1106
- 12 Galindo V, Gerbeth G, Ammon W V, et al. Crystal growth melt flow control by means of magnetic fields. *Energ Convers Manage*, 2002, 43: 309–316
- 13 Shiraishi Y, Takano K, Matsubara J, et al. Growth of silicon crystal with a diameter of 400 mm and weight of 400 kg. *J Cryst Growth*, 2001, 229: 17–21
- 14 Series R W, Hurle D T J. The use of magnetic-fields in semiconductor crystal-growth. *J Cryst Growth*, 1991, 113: 305–328
- 15 Ganapathysubramanian B, Zabarar N. Control of solidification of non-conducting materials using tailored magnetic fields. *J Cryst Growth*, 2005, 276: 299–316
- 16 Zhong C W, Wakayama N I. Effect of a high magnetic field on the viscosity of an aqueous solution of protein. *J Cryst Growth*, 2001, 226: 327–332
- 17 Qi J W, Wakayama N I. The combined effects of magnetic field and magnetic field gradients on convection in crystal growth. *Phys Fluids*, 2004, 16: 3450–3459
- 18 Yin D C, Inatomi Y, Kuribayashi K. Study of lysozyme crystal growth under a strong magnetic field using a mach-zehnder interferometer. *J Cryst Growth*, 2001, 226: 534–542
- 19 Yanagiya S, Sazaki G, Durbin S D, et al. Effects of a magnetic field on the growth rate of tetragonal lysozyme crystals. *J Cryst Growth*, 2000, 208: 645–650
- 20 Sazaki G, Durbin S D, Miyashita S, et al. Magnetic damping of the temperature-driven convection in NaCl aqueous solution using a static and homogeneous field of 10 T. *Jpn J Appl Phys*, 1999, 38: L842–L844
- 21 Yin D C. Protein crystallization in a magnetic field. *Prog Cryst Growth Ch*, 2015, 61: 1–26
- 22 Ramachandran N, Leslie F W. Using magnetic fields to control convection during protein crystallization-analysis and validation studies. *J Cryst Growth*, 2005, 274: 297–306
- 23 Poodt P W G, Heijna M C R, Christianen P C M, et al. Using gradient magnetic fields to suppress convection during crystal growth. *Cryst Growth Des*, 2006, 6: 2275–2280
- 24 Helliwell J R, Chayen N E. Crystallography: A down-to-earth approach. *Nature*, 2007, 448: 658–659
- 25 Heijna M C R, Poodt P W G, Tsukamoto K, et al. Magnetically controlled gravity for protein crystal growth. *Appl Phys Lett*, 2007, 90: 264105
- 26 Poodt P W G, Heijna M C R, Christianen P C M, et al. A comparison between simulations and experiments for microgravity crystal growth in gradient magnetic fields. *Cryst Growth Des*, 2008, 8: 2200–2204
- 27 Wang L B, Wakayama N I. Dependence of aspect ratio on magnetic damping of natural convection in low-conducting aqueous solution in a rectangular cavity. *Int J Heat Fluid Fl*, 2002, 23: 92–95
- 28 Zhong C W, Wang L B, Wakayama N I. Effect of a high magnetic field on protein crystal growth—Magnetic field induced order in

- aqueous protein solutions. *J Cryst Growth*, 2001, 233: 561–566
- 29 Yin D C, Inatomi Y, Wakayama N I, et al. An investigation of magnetic field effects on the dissolution of lysozyme crystal and related phenomena. *Acta Crystallogr D*, 2002, 58: 2024–2030
- 30 Pareja-Rivera C, CuéllarCruz M, Esturauescofet N, et al. Recent advances in the understanding of the influence of electric and magnetic fields on protein crystal growth. *Cryst Growth Des*, 2017, 17: 135–145
- 31 Yan E K, Zhang C Y, He J, et al. An overview of hardware for protein crystallization in a magnetic field. *Int J Mol Sci*, 2016, 17: 1906
- 32 Tsukui S, Kimura F, Kusaka K, et al. Neutron and X-ray single-crystal diffraction from protein microcrystals via magnetically oriented microcrystal arrays in gels. *Acta Crystallogr D*, 2016, 72: 823–829
- 33 Klara S S, Saboe P O, Sines I T, et al. Magnetically directed two-dimensional crystallization of OmpF membrane proteins in block co-polymers. *J Am Chem Soc*, 2016, 138: 28–31
- 34 Rodriguez-Romero A, Esturau-Escofet N, Pareja-Rivera C, et al. Crystal growth of high-quality protein crystals under the presence of an alternant electric field in pulse-wave mode, and a strong magnetic field with radio frequency pulses characterized by X-ray diffraction. *Crystals*, 2017, 7: 179
- 35 Sazaki G, Yoshida E, Komatsu H, et al. Effects of a magnetic field on the nucleation and growth of protein crystals. *J Cryst Growth*, 1997, 173: 231–234
- 36 Moreno A, Quirozgarcia B, Yokaichiya F, et al. Protein crystal growth in gels and stationary magnetic fields. *Cryst Res Technol*, 2007, 42: 231–236
- 37 Wakayama N I, Ataka M, Abe H. Effect of a magnetic field gradient on the crystallization of hen lysozyme. *J Cryst Growth*, 1997, 178: 653–656
- 38 Okada H, Hirota N, Matsumoto S, et al. Development of a protein crystal formation system with a superconducting magnet. *IEEE Trans Appl Supercon*, 2013, 23: 370010439
- 39 Gavira J A, Garcia-Ruiz J M. Effects of a magnetic field on lysozyme crystal nucleation and growth in a diffusive environment. *Cryst Growth Des*, 2009, 9: 2610–2615
- 40 Yanagiya S I, Sazaki G E N, Durbin S D, et al. Effect of a magnetic field on the orientation of hen egg-white lysozyme crystals. *J Cryst Growth*, 1999, 196: 319–324
- 41 Rothgeb T M, Oldfield E. Nuclear magnetic resonance of heme protein crystals. *J Biol Chem*, 1981, 256: 1432–1446
- 42 Sakurazawa S, Kubota T, Ataka M. Orientation of protein crystals grown in a magnetic field. *J Cryst Growth*, 1999, 196: 325–331
- 43 Astier J P, Veesler S, Boistelle R. Protein crystals orientation in a magnetic field. *Acta Crystallogr D*, 1998, 54: 703–706
- 44 Tanimoto Y, Yamaguchi R, Kanazawa Y, et al. Magnetic orientation of lysozyme crystals. *B Chem Soc Jpn*, 2002, 75: 1133–1134
- 45 Numoto N, Shimizu K, Matsumoto K, et al. Observation of the orientation of membrane protein crystals grown in high magnetic force fields. *J Cryst Growth*, 2013, 367: 53–56
- 46 Yin D C, Wakayama N I, Wada H, et al. Significant effects of magnetic and gravitational fields on the morphology of protein crystals (orthorhombic lysozyme crystals grown using NiCl_2 as crystallization agent). *J Phys Chem B*, 2003, 107: 14140–14144
- 47 Maki S, Tanimoto Y, Udagawa C, et al. *In situ* observation of containerless protein crystallization by magnetically levitating crystal growth. *Jpn J Appl Phys*, 2016, 55: 035505
- 48 Hamai M, Mogi I, Tagami M, et al. Crystal growth of ammonium chloride in magnetic levitation conditions. *J Cryst Growth*, 2000, 209: 1013–1017
- 49 Yu J D, Koshikawa N, Arai Y, et al. Containerless solidification of oxide material using an electrostatic levitation furnace in microgravity. *J Cryst Growth*, 2001, 231: 568–576
- 50 Mathiak G, Egry I, Hennet L, et al. Aerodynamic levitation and inductive heating—A new concept for structural investigations of under-cooled melts. *Int J Thermophys*, 2005, 26: 1151–1166
- 51 Notthoff C, Franz H, Hanfland M, et al. Electromagnetic levitation apparatus for investigations of the phase selection in undercooled melts by energy-dispersive X-ray diffraction. *Rev Sci Instrum*, 2000, 71: 3791–3796
- 52 Santesson S, Nilsson S. Airborne chemistry: Acoustic levitation in chemical analysis. *Anal Bioanal Chem*, 2004, 378: 1704–1709
- 53 Motokawa M, Mogi I, Tagami M, et al. Magnetic levitation experiments in Tohoku university. *Phys B*, 2001, 294: 729–735
- 54 Lu H M, Yin D C, Li H S, et al. A containerless levitation setup for liquid processing in a superconducting magnet. *Rev Sci Instrum*, 2008, 79: 093903
- 55 Sato T, Yamada Y, Saijo S, et al. Enhancement in the perfection of orthorhombic lysozyme crystals grown in a high magnetic field (10 T). *Acta Crystallogr D*, 2010, 56: 1079–1083
- 56 Sato T, Yamada Y, Saijo S, et al. Improvement in diffraction maxima in orthorhombic HEWL crystal grown under high magnetic field. *J Cryst Growth*, 2001, 232: 229–236
- 57 Nakamura A, Ohtsuka J, Miyazono K I, et al. Improvement in quality of protein crystals grown in a high magnetic field gradient. *Cryst Growth Des*, 2012, 12: 1141–1150

- 58 Cao H L, Sun L H, Li J, et al. A quality comparison of protein crystals grown under containerless conditions generated by diamagnetic levitation, silicone oil and agarose gel. *Acta Crystallogr D*, 2013, 69: 1901–1910
- 59 Lin S X, Zhou M, Azzi A, et al. Magnet used for protein crystallization: novel attempts to improve the crystal quality. *Biochem Bioph Res Co*, 2000, 275: 274–278
- 60 Hirose R, Hayashi S, Watanabe Y, et al. Development of a superconducting magnet for high magnetic force field application. *IEEE Trans Appl Supercon*, 2007, 17: 2299–2302
- 61 Saijo S, Yamada Y, Sato T, et al. Structural consequences of hen egg-white lysozyme orthorhombic crystal growth in a high magnetic field: Validation of X-ray diffraction intensity, conformational energy searching and quantitative analysis of B factors and mosaicity. *Acta Crystallogr D*, 2010, 61: 207–217
- 62 Yin D C, Wakayama N I, Harata K, et al. Formation of protein crystals (orthorhombic lysozyme) in quasi-microgravity environment obtained by superconducting magnet. *J Cryst Growth*, 2004, 270: 184–191
- 63 Maki S, Oda Y, Ataka M. High-quality crystallization of lysozyme by magneto-Archimedes levitation in a superconducting magnet. *J Cryst Growth*, 2004, 261: 557–565
- 64 Kinoshita T, Ataka M, Warizaya M, et al. Improving quality and harvest period of protein crystals for structure-based drug design: Effects of a gel and a magnetic field on bovine adenosine deaminase crystals. *Acta Crystallogr D*, 2003, 59: 1333–1335
- 65 Sato T, Hara S, Matsui T, et al. A unique dye-decolorizing peroxidase, DyP, from *thanatephorus cucumeris* Dec 1: Heterologous expression, crystallization and preliminary X-ray analysis. *Acta Crystallogr D*, 2010, 60: 149–152
- 66 Tu J L, Chin K H, Wang A H, et al. The crystallization of apo-form UMP kinase from *xanthomonas campestris* is significantly improved in a strong magnetic field. *Acta Crystallogr F*, 2007, 63: 438–442
- 67 Ataka M, Wakayama N I. Effects of a magnetic field and magnetization force on protein crystal growth. Why does a magnet improve the quality of some crystals? *Acta Crystallogr D*, 2002, 58: 1708–1710
- 68 Poodt P W G, Heijna M C R, Tsukamoto K, et al. Suppression of convection using gradient magnetic fields during crystal growth of $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. *Appl Phys Lett*, 2005, 87: 214105
- 69 Yin D C, Lu H M, Geng L Q, et al. Growing and dissolving protein crystals in a levitated and containerless droplet. *J Cryst Growth*, 2008, 310: 1206–1212
- 70 Iranmanesh M, Hulliger J. Magnetic separation: Its application in mining, waste purification, medicine, biochemistry and chemistry. *Chem Soc Rev*, 2017, 46: 5925–5934
- 71 Dunnill P, Lilly M D. Purification of enzymes using magnetic bio-affinity materials. *Biotechnol Bioeng*, 1974, 16: 987–990
- 72 Zhang Y, Li D, Yu M, et al. $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PVIM-Ni}^{2+}$ magnetic composite microspheres for highly specific separation of histidine-rich proteins. *ACS Appl Mater Inter*, 2014, 6: 8836–8844
- 73 Fernandes C S M, Santos R D, Ottengy S, et al. Affitins for protein purification by affinity magnetic fishing. *J Chromatogr A*, 2016, 1457: 50–58
- 74 Zhou Z, Hao N, Zhang Y, et al. A novel universal colorimetric sensor for simultaneous dual target detection through DNA-directed self-assembly of graphene oxide and magnetic separation. *Chem Commun*, 2017, 53: 7096–7099
- 75 Brown P, Bromberg L, Rialhermida M I, et al. Magnetic surfactants and polymers with gadolinium counterions for protein separations. *Langmuir*, 2016, 32: 699–705
- 76 Liu Y J, Wang Y Z, Dai Q Z, et al. Magnetic deep eutectic solvents molecularly imprinted polymers for the selective recognition and separation of protein. *Anal Chim Acta*, 2016, 936: 168–178
- 77 Chen F F, Zhao W F, Zhang J J, et al. Magnetic two-dimensional molecularly imprinted materials for the recognition and separation of proteins. *Phys Chem Chem Phys*, 2016, 18: 718–725
- 78 Schwaminger S P, Blank-Shim S A, Scheifele I, et al. Design of interactions between nanomaterials and proteins: A highly affine peptide tag to bare iron oxide nanoparticles for magnetic protein separation. *Biotechnol J*, 2018: e1800055
- 79 Garcia P F, Brammen M, Wolf M, et al. High-gradient magnetic separation for technical scale protein recovery using low cost magnetic nanoparticles. *Sep Purif Technol*, 2015, 150: 29–36
- 80 Ebeler M, Lind O, Norrman N, et al. One-step integrated clarification and purification of a monoclonal antibody using protein A mag sepharose beads and a cGMP-compliant high-gradient magnetic separator. *New Biotechnol*, 2018, 42: 48–55
- 81 Torbet J, Ronzière, M C. Magnetic alignment of collagen during self-assembly. *Biochem J*, 1984, 219: 1057–1059
- 82 Sun K W, Chang C C. Patterned self-assembly of magnetic biomolecules on semiconductor substrates. *J Phys Chem Solids*, 2007, 68: 1211–1214
- 83 Hoffmann C, Mazari E, Gosse C, et al. Magnetic control of protein spatial patterning to direct microtubule self-assembly. *ACS Nano*, 2013, 7: 9647–9654
- 84 Glade N, Beaunon E, Tabony J. Ground-based methods reproduce space-flight experiments and show that weak vibrations trigger microtubule self-organisation. *Biophys Chem*, 2006, 121: 1–6

Summary for “梯度磁场在生物大分子研究中的应用”

Applications of gradient magnetic fields in studies of biological macromolecules

Yue Liu^{1,2†}, Ziqing Wu^{1,2†}, Yali Liu^{1,2}, Yaqing Zhou^{1,2}, Peng Shang^{1,2,3} & Dachuan Yin^{1,2,3*}¹ Key Laboratory for Space Bioscience and Biotechnology, Northwestern Polytechnical University, Xi'an 710072, China;² School of Life Sciences, Northwestern Polytechnical University, Xi'an 710072, China;³ Shenzhen Research Institute of Northwestern Polytechnical University, Shenzhen 518057, China

† Equally contributed to this work

* Corresponding author, E-mail: yindc@nwpu.edu.cn

As a kind of physical environment, magnetic fields are widely used in many different fields, ranging from scientific research to industrial production. With the rapid development of magnetic technology, the importance of magnetic fields in scientific research and practical applications has become increasingly prominent. One notable research field is the application of magnetic fields in the research of biological macromolecules. In this research field, gradient magnetic fields, as one kind of magnetic fields, have attracted much attention and have been widely used in various research fields because they can induce effects caused not only by a magnetic field but also by a magnetic field gradient. This feature makes magnetic fields applicable in many research areas, except for those directly related to the magnetic field itself. So far, the application-based research of gradient magnetic fields involving biological macromolecules has mainly focused on the crystallization, separation and purification as well as the self-assembly of biological macromolecules.

Since biological macromolecules usually need to complete various processes in their solution state, the influence of gradient magnetic fields on biological macromolecules is mainly realized through their influence on the solution system. It has been found that a gradient magnetic field can affect convection in biological macromolecular solutions through Lorentz forces and magnetization forces; in practice, partial or even complete suppression of convection can often be observed. In addition, other conditions or parameters of solutions are significantly affected by the gradient magnetic field. For example, in a gradient magnetic field, the following phenomena may occur: (1) superparamagnetic particles in the solution are strongly attracted by the magnetization force, and quick clustering of these particles can happen; (2) the solution itself may have some kind of solution structure; (3) the aggregation of biological macromolecules may show a preferred orientation in the magnetic field direction; (4) the diffusion coefficient of biological macromolecules in the solution will decrease; (5) the solution's viscosity will increase, and so on. As a result of these effects, the following phenomena can be observed: during the crystallization of biological macromolecules, a preferred orientation of the crystals and crystal quality improvement of the biological macromolecules can happen; in the process of separation and purification of biological macromolecules, high-purity and highly bioactive macromolecules can be obtained rapidly and efficiently; and, in the process of the self-assembly of biological macromolecules, abnormal behaviours can occur. Based on these specific effects, the utilization of gradient magnetic fields can be further explored in more professional applications. Currently, the most common applications include the utilization of gradient magnetic fields for obtaining high-quality protein crystals and the achievement of highly efficient and low-cost separation and purification of biological macromolecules. It is obvious that gradient magnetic fields have very important application value in biological macromolecular structure analysis technology, biological drug preparation and preservation technology, theoretical studies involving biomolecular phase separation and nucleation processes, and many other directions.

In this paper, the fundamental effects of the gradient magnetic field on the solution of biological macromolecules are reviewed, the applications based on the effects are discussed, and the future prospects in this field are anticipated.

gradient magnetic field, biological macromolecules, biomolecules, protein, simulated microgravity, magnetic force

doi: 10.1360/N972018-00956