

原子力显微镜及其在生物医学领域应用

王燕华¹ 张德添²

(1. 石油大学(北京)材料系 北京 102200)

(2. 军事医学科学院国家医学分析中心 北京 100850)

摘要 本文在简单介绍原子力显微镜(AFM)的基础上,从原子力显微镜对细胞、细胞器及其不同环境条件下细胞变化过程进行时时观察;对生物大分子及其生理生化过程的观察;对生物结构或生物大分子进行力的测量等几个方面的应用作了介绍

关键词 原子力显微镜(AFM) 细胞 生物大分子 动态观察

1 原子力显微镜的发展过程及原理

早在 1982 年, Binning 和 Rohrer 发明了扫描隧道显微镜 (STM), STM 可以在空气中、溶液中、真空中操作。STM 检测的是样品与探针之间的隧道电流。1986 年发明的原子力显微镜 (AFM) 通过检测样品表面与探针之间的作用力, 实现表面观察。继 AFM 之后, 各种扫描力显微镜相继出现。根据样品与探针之间作用力的不同种类, 原子力显微镜可以是电场力显微镜、磁场力显微镜、摩擦力显微镜、热力显微镜、光致显微镜等。

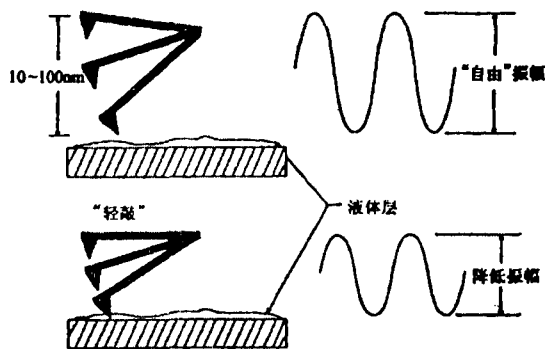


图 1 AFM 轻敲模式原理示意图

根据 AFM 扫描方式的不同 AFM 有恒力模式、位相模式、力调制模式等。由于生物样品很软, 在接触扫描过程中尽管样品与探针之间的作用力只有几个纳牛, 但因探针针尖很尖, 对样品的压强并不小, 使得在接触模式下对生物样品成像难度加大。为了解决这一问题, 利用轻敲(各公司叫法不同如 tapping, dynamic 等)模式对样品进行观测, 此模式下, 力以间歇的方式作用于样品, 在每一点上探针震动几千次, 减小探针与样品的横向作用力。轻敲模式下, 由于不同粘弹性的样品使探针弹起所需的时间及弹起的高度不同, 通过

对这部分信息的记录和分析, 可以进一步提高硬基体上软生物样品的清晰度。图 1 为轻敲模式原理图。

2 在生物医学领域的应用

AFM 不仅在准生态环境条件下对活体生物细胞进行观察, 还能观测生物大分子的结构。通过生物样品在不同环境中的变化, 对机体的生理、生化功能进行研究。AFM 另一个很有应用前景的方面是可以测量生物样品表面对探针的抵抗力、荧光性、以及表面电荷分布等的性能进行动态观察。

2.1 对细胞和细胞器的观察

AFM 最重要的特点是, 在接近自然生理条件下, 可以在原子和分子水平研究生物组织结构; 测量表面的粘弹性、摩擦力等, 因此, 可以获得更多信息。利用相应的软件, 对得到的图像进行量化分析处理, 可以得到细胞细胞器的厚度、宽度、表面积、体积及其特征比较等量化参数。

通常细胞可以很好的吸附在基底上, 不会被探针推走。到目前为止 AFM 观测细胞的分辨率一般为 20 ~ 50nm, 虽不足以分辨出细胞表面的蛋白, 但可以观测到质膜的重排、骨架的移动¹⁻³等, 在 cryo-AFM 的情况下分辨率可以达到 2 ~ 3nm⁴。

2.2 对细胞形态变化的动态观察

AFM 能够对活细胞在生理、病理条件下, 跟踪形态结构的变化, 进行动态观察。改变活细胞溶液的环境, 如 pH 值、离子浓度等参数, 引发细胞形态结构的改变, 利用 AFM 进行动态观察。例如, 对于饱和 PC 双层膜, 少量的 tris 可以产生波纹相, 证明了溶液中的分子是细胞波纹相存在的重要因素。而在此之前, 一般认为波纹相是磷脂脂质体固有的性质⁵。

2.3 生物大分子超微细结构的观察

AFM 成像的意义,不仅能够了解分子水平的大分子形态,更重要的是在成像的基础上,用原子力对生物大分子的其它性能进行研究,如抗原—抗体之间的作用力,生物膜的亲疏水性等的研究^{6,7}。

2.4 生物大分子的生理、生化过程观察

AFM 广泛应用于蛋白质、核酸等大分子的形态和功能,生理、生化方面的动态研究^{8,9},因为它在基因转录和调节中起的重要作用,引起了医学研究者的广泛兴趣,在此基础上,还可以进行分子水平的热力学和动力学研究。配备环境气氛室 AFM 对这方面的研究起到很好的推动作用。

2.5 对生物分子力的测量

利用修饰过的针尖,可以将毛细蛋白质的两端分别粘在基板和针尖上,进行拉伸实验,测定蛋白质在药物处理前后的弹性¹⁰。AFM 还能够在分子水平对溶液中的生物分子表面的各种相互作用力进行测量。由于力对样品表面性质非常敏感,所以,根据检测力的变化,获得样品表面丰富的信息,这些信息为解释生物大分子的功能,从而开展微小机械的研究奠定基础。

3 用于生物医学观察的原子力显微镜的发展趋势

由于原子力显微镜的原理相同,各家功能、所能达到的精度基本相同。原则上说,只要配备有溶液池,就可以做基本的生物观察,如:MultiMode、BioScope(美国 DI 公司),SPM-9500J2(日本岛津公司),MAC-Mode(美国 MI 公司)等。

为了更加适应生物医学研究的需要,可控温度、湿度、气氛的环境气氛原子力显微镜,成为生物医学领域原子力显微镜发展的一个方向。现有

日本岛津公司的 WET-SPM。

另外,为了更加充分的利用原子力显微镜与样品直接作用的特点,实现微小机械,也已经有了测量蛋白质弹性等的软件。

4 小结

当光学显微镜首先被用于生物医学样品的观察时,把我们的眼界从宏观带到微观。原子力显微镜的发明,使我们对微观生物体的观察进入更深的层次,而且由于原子力显微镜与样品之间有力的直接作用,所以除了形貌信息之外,更可以得到样品性能方面的信息,因此,在大大扩大视野的同时,为我们从不同角度认识微观世界提供了工具。

参考文献

1. Scheuring, S.; Muller, D. J.; Ringler, P.; Heymann, J. B.; Engel, A. J. *J. Microsc.* 1999, 193: 28 ~ 35
2. E. Henderson, P. G. Hayelton and D. S. Sakaguchi. *Science*, 1992, 257: 1944 ~ 1946
3. J. Hoh and C. Schoenenberger. *J. Cell Sci.*, 1994, 107: 1105 ~ 1114
4. W. Han, U. Mou, J. Sheng, J. Yang and Z. Shao. *Biochemistry*, 1995, 34: 8215 ~ 8220
5. A. Tardieu, V. Luzzati and F. C. Reman. *J. Mol. Biol.* 1973, 75: 711 ~ 733
6. Tanaka, T.; Nakamura, N.; Matsunaga, T. *Electrochim. Acta* 1999, 44: 3827 ~ 3832
7. Allen S.; Davies, J.; Davies, M. C.; Dawkes, A. C.; Roberts, C. J.; Tendler, S. J. B.; Williams, P. M. *Biochem. J.* 1999, 341: 173 ~ 178
8. K. E. van Holde. *Chromatin*. Springer-Verlag, New York. 1989
9. H. G. Hansma, K. Browne, M. Bezanilla and T. Bruice. *Biochemistry*, 1994, 33: 8436 ~ 8441
10. 日经产业新闻 2000 年 11 月 1 日

The Applications of Atomic Force Microscope in the Field of Biomedicine

Wang Yanhua¹ Zhang Detian²

(1. China Petroleum University Beijing 102200)

(2. Electrom Microscope Laboratory of National Center of Biomedical Analysis 100850)

Abstract Based on a simple introduction of atomic force microscope (AFM), this paper described the applications of AFM in dynamic observation of cells, and their change in different environment and conditions. Observations of big biological molecules and their physiological and bio-chemical process, and mechanical measurement between the tip of AFM and sample.

Key words Atomic Force Microscope (AFM) cell big biological molecule dynamic observation