

原子力显微镜在生物领域的应用

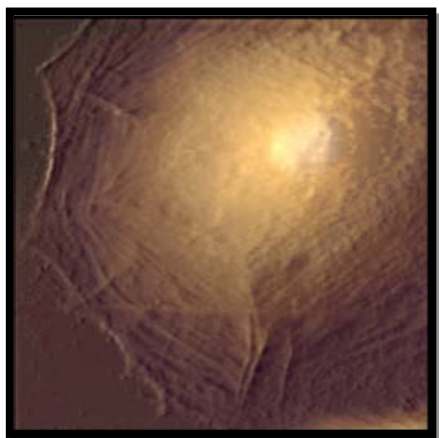
在 AFM 诞生最初的一段时间主要应用于电化学、材料科学等领域。近些年，人们逐渐探索着运用 AFM 对生物样品进行纳米水平的观测及显微操作等。与其它显微镜相比，AFM 的纳米量级的高空间分辨率尤为突出，横向分辨率可达 $0.1 \sim 0.2\text{nm}$ ，纵向分辨率高达 0.01nm 。此外，它不但能够对生理状态下的样品成像，而且可以实时动态地研究样品结构和功能的关系。故而，AFM 成为纳米尺度上研究物质结构、特性和相互作用的有力手段。

1. 形态结构

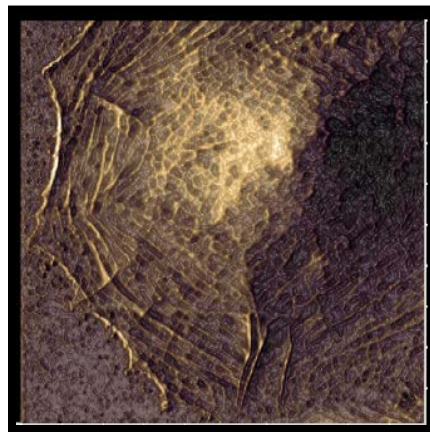
作为新兴的形态结构成像技术，AFM 实现了对接近自然生理条件下生物样品的观察。这主要由于它具备以下几个特点：（1）与扫描电镜和透射电镜这些高分辨的观测技术相比，样品制备过程简便，可以不需染色、包埋、电镀、电子束的照射等处理过程；（2）除对大气中干燥固定后样品的观察外，还能对液体中样品成像；（3）可以根据观察者的要求，调节样品所处的温度、湿度、大气、真空等观察条件。目前，AFM 已广泛地应用于细胞及蛋白、多糖、核酸等生物大分子结构的研究中。对一个细胞而言，AFM 不但能够提供长度、宽度、高度等形态方面的信息，还可以满足人们对膜上的离子通道、丝状伪足、细胞间连接等细微结构的研究，甚至还可清楚地观察到膜身的骨架结构。

天美（中国）科学仪器有限公司
TECHCOMP (CHINA) LTD.

中国北京朝阳区天畅园 7 号楼 1、3 层
TEL:010-64010651
FAX:010-64060202
E-MAIL:techcomp@techcomp.cn



形貌像



微分像

液体中癌细胞的测量（HHS AFM）

2. 力学特性

由于利用 AFM 可对扫描各点高度及作用力的测量，这就意味着我们不仅可以获取生物样品的表面形态和三维结构，还可以得到其表面硬度、粘弹性、摩擦力等力学特性的表面图谱。例如 AFM 在扫描样品时，探针尖端作用样品可使样品产生可测量的凹陷。当应力与应变力成线性关系时，样品发生的变形属弹性变化，即撤销力时样品可恢复原有形态。我们利用凹陷的深度数据就能够获取有关样品局部的弹性信息。

3. 分子间力

将很高的空间分辨率与敏感且准确的力学感应性相结合，是 AFM 的一个极为显著的特点。通过将探针连接在弹性系数很小的悬臂上，AFM 对力的测量敏感性可达到 pN 水平。到目前为止，AFM 已经广泛地运用于测量溶液中生物分子间相互作用如与生物反应有关的水合力的研究。利用这些研究结果还有助于对生物分子结构和机械性能进行分析。例如，蛋白质依靠多种非共价作用而保持其结构稳定，通过机械或化学的方法将蛋白伸展后，可以利用 AFM 直接测量稳定蛋白结构的作用力，并进一步探究这些力对蛋白结

天美（中国）科学仪器有限公司
TECHCOMP (CHINA) LTD.

中国北京朝阳区天畅园 7 号楼 1、3 层
TEL:010-64010651
FAX:010-64060202
E-MAIL:techcomp@techcomp.cn

构的影响。

4. 显微操作

通过在纳米级水平调控探针的位置和施加力，AFM 可以实现对生物分子进行物理操作如切割生物结构，转移分子至特定位置。在一定的范围调整施加力，AFM 在成像的同时即可对样品进行操作。施加力的范围主要由悬臂的力学常数和探针粗细决定。与标准显微切割技术相比，AFM 对目标区域切割、提取等操作具有更准确的特点。

5. AFM 在染色体研究方面的进展

AFM 的高分辨成像和简便的样品制备过程吸引了众多学者利用它对染色体结构进行研究。但早期由于镶嵌于 30nm 蛋白质层的 RNA 吸附在染色体的表面，同时盐、细胞残渣等随同染色体滴片时吸附于玻片上，妨碍染色体表面更细微的结构成像。近来随着染色体制备方法的改善和 AFM 成像技术的提高，该方面的研究得到进一步的发展。染色体经胃蛋白酶、RNA 酶依次作用后，置于溶液中观察，不仅去除了表面的蛋白质层，而且再次水化后染色体体积增大 5~7 倍，能够分辨出样品表面的染色质纤维所形成的环状结构。最近利用该方法使染色体成像横向和纵向分辨率分别可达到 1nm、0.1nm，并且发现染色质纤维是由放射状排列染色质环与盘绕的螺旋管状结构共同组成。