

一种高效、简便原子力显微镜液体中原位实验方法

张峰 唐琳 徐洪杰 何建华

(中科院上海应用物理所,同步辐射研究室 上海 201800)

摘要 原子力显微镜从1986年发明以来,由于其在显微成像术中的独特优势,受到愈来愈多的来自各个学科领域研究人员的高度关注。目前所报道的有关原子力显微镜原位动态观察的方法在实际操作中需要较高的技巧性。本文介绍一种原子力显微镜的原位成像方法,能够做到在液体中高效、简便观察生物样品。

关键词 原子力显微镜 原位 针尖 云母

引言

1986年, Binnig, Quate 和 Gerber³人基于扫描隧道显微镜(Scanned Tunneling Microscopy, STM)^[1]而发展出一种新型的、具有分子与原子级分辨率显微镜-原子力显微镜(Atomic Force Microscopy, AFM)^[2]。原子力显微镜的基本原理是利用一个非常精细的针尖作为探针,通过一个灵敏的反馈电路使得探针与样品之间保持一个恒定的作用力,探针连带的悬臂由于发生偏折而把入射激光精确的反射到一个4象限的探测器上,从而得到样品表面的拓扑形貌(见图1)。相比透射电子显微镜,获得3维的原子力显微镜图像不仅不需要复杂的样品制备,而且所获得的信息也更加丰富^[3]。

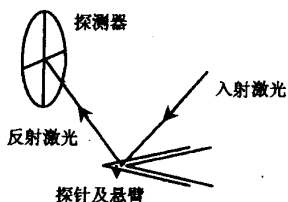


图1 原子力显微镜工作原理示意图

原子力显微镜的一个显著优点就是可以在液体中原位观察样品的动态变化。由于生物化学过程基本在液体环境下进行的,所以受到愈来愈多的生物化学科学家的青睐。但是由于液体环境中的分子布朗运动比空气中更剧烈,溶液与衬底间的界面作用非常频繁,这就使得针尖在样品表面的稳定扫描变得比空气中难。如果观察者需要在这样的条件下做原位过程,就更加困难,特别是对于一些需要在原位过程中对样品做处理的实验,如何找回原位就成为一个实验成功的关键问题。

目前一些针对原位实验重定位的方法也具有较高的定位率^[4, 5],但是在实际操作中对衬底标记的

技术要求较高,而本文以 Veeco 公司的 MultiMode NanoIIIa 原子力显微镜为例,介绍一种在液体环境下,高效、简便的原位实验方法。

1 仪器和材料

原子力显微镜 Veeco 公司 MultiMode NanoIIIa; 佩带可作轻敲模式的液体槽; 针尖采用 Veeco 公司的 DNP-20 C Triangular(Spring constant: 0.32 N/m); 带悬臂的废针尖(力常数大于 40N/m)一个; 水 Milli-Pore; 云母(四川雅安云母有限责任公司); 记号笔一支; 透明薄膜一张(与监视器的屏幕大小相当); 单面刀片、铁片各一个; 双面胶、透明胶各一卷。

2 原位实验

2.1 光学显微镜标记方法(微米大槽)

(1)剪一片(1 mm)的云母片(比铁片稍大一圈),将其用双面胶粘贴到大铁片表面,再用透明胶粘贴到云母的上表面,并小心剥离一层;(2)在新解离的云母上表面用新单面刀片由外到内(云母片中心位置)轻微划下一条微米大槽,并使刀片在尾部的力度渐减至离开云母(见图 2A)。为保证云母表面的洁净,最好用去离子水冲洗表面数次并吹干;(3)放置铁片到原子力显微镜的样品台上,用记号笔标记好铁片与样品台的相对位置(需要在原位过程中拿出样品进行处理的尤其要做好这一步);(4)在监视器屏幕上用双面胶将透明薄膜固定好,用记号笔将云母表面的微米大槽尾端详细地标记在这张透明薄膜上(见图 2B)。

2.2 原子力显微镜标记(纳米小槽)

(1)将废针尖装到液体槽上,调节针尖与样品台的相对位置,从监视器中观察,使得针尖的三角尖端位于云母上表面微米大槽的尾端;(2)降低针尖直到

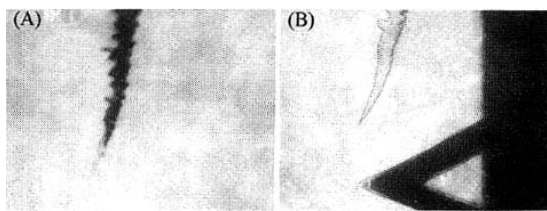


图2 原位标记

(A)单面刀片在云母表面划下的微米大槽末端;

(B)加入液体后针尖与微米大槽间相对位置的标记。

与微米大槽末端相撞,从监视器中废针尖悬臂的反光程度决定针尖与表面力度,一般不要使得悬臂看起来刚好没有全部变“白”为好;(3)旋转控制针尖水平位置的两个旋钮之一,在云母上留下一条纳米小槽(不一定在监视器中可以看到)。

2.3 原位实验

(1)换好新针尖(DNP, C Triangular),调节好针尖与样品间的距离,使得针尖位于云母表面纳米小槽的正下方;加入实验所需的液体。(2)选择合适的共振峰(一般在 9 kHz 附近)进针,调节原子力显微镜到可以稳定扫描后,扩大扫描范围沿着大沟槽寻找废针尖划出的纳米小槽。如果沟槽超出扫描范围可以先抬起针尖,然后借助针尖的水平控制旋钮锁定针尖与纳米小槽间的距离。(3)当找到纳米小槽后,移动扫描中心到小沟槽的末端(使用 Offset 功能),将扫描范围减小到 $1\mu\text{m}$ 以下,观察监视器上针尖悬臂几乎与云母表面相对静止时,在透明薄膜上准确标记好悬臂的位置。

在原位成像过程中,可以使用 Continuous Capture 功能连续保存图像,但是在图 1 的成像过程中,往往会发生漂移现象,所以为了让图像保持原位,最好在几张图像后利用 Offset 命令使得小沟槽的末端始终保持在图像中心(见图 3)。

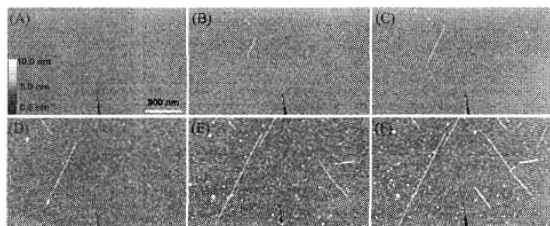


图3 多肽在云母表面自组装过程的长时间原位实验及重定位

从(A)到(F)整个过程持续 213min。从(D)到(F)是在对样品进行处理后,重定位后的原位实验过程,大约又持续 200min。

3 总结

利用原子力显微镜在液体下原位观察,主要的问题在于如何将针尖与样品的相对位置进行标记。而标记的最好方法就是由大尺度到小尺度,范围逐渐缩小直到找到原位。用记号笔标记的铁片与样品台以及针尖悬臂与云母表面的微米大槽末端都可以在大尺度范围内达到初步定位;而用废旧针尖所划的纳米小槽末端则可以达到纳米尺度的定位。借助原子力显微镜配带的光学显微镜,在监视器下可以很容易找到微米大槽末端,再利用原子力显微镜观察可以找到纳米小槽,这样就可以使长时间的原位观察实验顺利完成。

Veeco 公司的 MultiMode NanoIIIa、CP-II 以及 Dimension 系列一般都会配置一个 CCD 监视器系统,这样就使我们可以监视器上很方便的进行标记。但是,也有一些原子力显微镜没有配备单独的 CCD 监视器(如 Seiko 公司的 SPA 400 和爱建纳米公司的 AJ-I、AJ-III),而是利用软件集合到一个电脑显示器中,这样就需要在标记针尖与微米大槽时,还要准确标记 CCD 窗口在电脑显示器中的大小及位置。

这种方法对于液体中的原位实验具有广泛实用性:图 3 显示利用这一方法在液体中进行的肽在云母表面原位自组装的实时过程;再如作者在 2005 年发表的利用盐酸胍变性剂解聚 α -synuclein 蛋白纤维的液体中原位实验^[6];利用这种方法原位研究生理条件下蛋白间相互作用,聚合物在不同溶液条件下的形貌变化,淀粉样蛋白的原位纤维化过程都取得很好的效果。

原子力显微镜的液体原位成像技术已经发展成为一种对于生物化学、医药领域研究的不可多得的重要手段之一。如何使这种方法在科学研究中变得简便、高效,是当前困扰许多研究者的难题,希望本文能给国内的相关科学研究者提供一个原位实验方法的参考。

参考文献

- 1 G. Binnig, H. Rohrer, Ch. Gerber, E. Weibel, Tunneling through a controllable vacuum gap, Appl. Phys. Lett. 1982, 40: 178 ~ 180
- 2 G. Binnig, C. F. Quate, Ch. Gerber, Atomic force microscope, Phys. Rev. Lett. 1986, 56: 930 ~ 933

(下转第 60 页)

位时间内的微波辐射量,不仅方便测定操作,而且适合于科学研究工作。可存储十个工作程序的单板机控制,工作时间为99分99秒,适合于较短时间或更长时间的样品萃取。程序控制条件有:微波功率、温度/压力、运行总时间和恒温/压时间。多个条件控制选择,有利于不同研究工作的应用。

2.2 安全和精确的压力控制系统

微波萃取系统采用无水压力控制方式,无交叉污染,压力控制系统精度高。无金属部件置于微波腔内,安全可靠。微波萃取系统的压力控制 $0 \sim 5\text{MPa} \pm 0.02\text{MPa}$,国内在微波样品萃取和消解系统首先应用精确的设置压力条件,可按 0.01MPa 设置压力值。

2.3 安全和精确的光纤温度控制系统

MSP-100E在国内最先采用光纤温度传感器测量和控制系统,无金属部件置于微波腔内,安全可靠。温度适用范围 $-40 \sim 250\text{ }^\circ\text{C} \pm 1\text{ }^\circ\text{C}$ (或1%精度),控制温度达到 $\pm 1\text{ }^\circ\text{C}$ 的精确度。在一个控制容器上连接压力、温度和安全系统,具有独到的创新。

2.4 挥发性有机试剂检测系统

微波萃取系统应用有机试剂时,有机挥发性试剂的泄漏需要监测,MSP-100E装置寿命长、检测精度达到0.1%的传感器报警,在有机气体体积浓度达到0.5%系统停止微波辐射,有效地保护操作人员的安全和实验室工作环境。微波制样系统装置可燃性有机气体报警系统具有重要的实际应用。

2.5 密闭性和可靠性好的萃取容器

微波萃取系统对样品容器密闭性需要高的要求,密闭程度不仅影响制样效果,而且对制样精度、

实验室环境好坏都有直接关系。MSP-100E微波萃取仪大斜面专利型萃取容器具有好的密闭效果。

2.6 简洁安全的萃取容器固定体系

为在同圆周上安排10套萃取容器,提高同一批次的萃取样品数量,MSP-100E微波萃取仪采用往复转动的托盘上安放容器固定架,不仅样品容器放入取出方便,而且使每个容器在微波场中得到相同的微波辐射。这样代表性的测量和控制容器内的温度或压力基本与其他萃取容器一致(样品和试剂相同)。

2.7 专门排风系统

为排除可能产生的酸雾或有机气体,使微波制样系统保持清洁的腔体,专门的排风系统是需要。不同的微波制样系统均有排风装置,只是不同的制造厂家设计的排风系统功力大小有差异。一些厂家用大排风系统,功力大,排风理想。为更好地达到排风效果,专门分体式排风系统最好,MSP-100E系统采用专门的排风系统。

3 MSP-100E微波萃取仪应用

MSP-100E微波萃取仪是气相色谱(GC)、液相色谱(LC)和质谱仪器、紫外可见分光光度计等分析化学实验室测定用的设备。

参考资料

- 1 郭振库.金钦汉.分析科学学报,2001,17(6):505~509
- 2 金钦汉,戴树珊,黄卡玛.微波化学.北京:科学出版社,1999
- 3 郭振库.现代仪器,2002,4,6~11
- 4 但德忠.分析测试中的现代微波制样技术,成都:四川大学出版社,2003

~207

- 5 M. Su, Z. Pan, V. P. Dravid. A convenient and rapid sample repositioning approach for atomic force microscopy. J Microsc. 2004, 216: 194~196
- 6 F. Zhang, L. N. Ji, L. Tang, J. Hu, H. Y. Hu, H. J. Xu, J. H. He. Structural evidence for α -synuclein fibrils using in situ atomic force microscopy. Acta Biochim Biophys Sin. 2005, 37: 113~8

(上接第58页)

- 3 Atomic Force Microscopy: Biomedical Methods and Applications, edited by Pier Carlo Braga, Davide Ricci, Methods in Molecular Biology/TM (242), Human Press.
- 4 A. Wu, Z. Li, L. Yu, H. Wang, E. Wang. A relocated technique of atomic force microscopy (AFM) samples and its application in molecular biology. Ultramicroscopy. 2002, 92: 201

A highly effective in situ experimental method in liquid by AFM

Zhang Feng Tang Lin Xu Hongjie He Jianhua

(Shanghai Synchrotron Radiation Facility, Shanghai Institute of Applied Physics,
Chinese Academy of Sciences Shanghai 201800)

Abstract Atomic Force Microscopy has been an important research tool and now has been highly considered by more and more scientists from different since the atomic force microscopy has the unique advantages in micro-imaging. However, the reports about the in situ technique in liquid of atomic force microscopy are not seen usually so far. Here a kind of simple and effective in situ technique in liquid of atomic force microscopy is introduced.

Key words Atomic force microscopy In situ Tips mica

作者: [张峰](#), [唐琳](#), [徐洪杰](#), [何建华](#), [Zhang Feng](#), [Tang Lin](#), [Xu Hongjie](#), [He Jianhua](#)
作者单位: [中科院上海应用物理所, 同步辐射研究室, 上海, 201800](#)
刊名: [现代仪器](#) **ISTIC**
英文刊名: [MODERN INSTRUMENTS](#)
年, 卷(期): 2006, 12(2)
引用次数: 0次

参考文献(6条)

1. [G Binnig](#), [H Rohrer](#), [Ch Gerber](#), [E Weibel](#) [Tunneling through a controllable vacuum gap](#) 1982
2. [G Binnig](#), [C F Quate](#), [Ch Gerber](#) [Atomic force microscope](#) 1986
3. [Atomic Force Microscopy Biomedical Methods and Applications](#)
4. [A Wu](#), [Z Li](#), [L Yu](#), [H Wang](#), [E Wang](#) [A relocated technique of atomic force microscopy \(AFM\) samples and its application in molecular biology](#) 2002
5. [M Su](#), [Z Pan](#), [V P Dravid](#) [A convenient and rapid sample repositioning approach for atomic force microscopy](#) 2004
6. [Feng Zhang](#), [Li-Na JI](#), [Lin Tang](#), [Jun Hu](#), [Hong-Yu HU](#), [Hong-Jie XU](#), [Jian-Hua HE](#) [Structural Evidence for \$\alpha\$ -Synuclein Fibrils Using in Situ Atomic Force Microscopy](#)[期刊论文]-[生物化学与生物物理学报\(英文版\)](#) 2005(2)

相似文献(10条)

1. 学位论文 [汪盛](#) [用原子力显微镜\(AFM\)进行蛋白质晶体生长及成核研究](#) 2003

生物大分子(包括蛋白质、核酸和病毒等)对生物体的生命活动起着十分重要的作用,这是由它们具有特殊的空间结构所致。随着生物学领域对精确的生物大分子结构需求的日益增加,尤其是利用单晶X射线衍射法得到的三维结构,使得研究生物大分子晶体的生长越来越受到重视。然而,生物大分子的结晶相当困难,从某种意义上讲这是生物大分子结构测定的限速因素。目前对生物大分子的晶体生长机理、成核的过程、基本的热力学和动力学参数等的认识很少,所以在晶体的缺陷、分子在晶格中的定向力和分子间键连作用以及溶液中传质过程方面的认识也很有限。因此,进行的生物大分子晶体生长的研究就显得非常必要。目前已有一些技术应用于研究生物大分子晶体的生长机理中,如光散射技术(QELS)和原子力显微镜(AFM)等,而迄今为止,AFM仍为进行这一研究的非常重要的工具。 本论文通过AFM实验主要进行了部分蛋白质晶体的生长过程的研究,包括杜仲抗真菌蛋白(Eucommia antifungal protein,简称EAFP)、天花粉蛋白(Trichosanthin,简称TCS)、天麻抗真菌蛋白(Gastrodiae laeta antifungal protein,简称GAFP),并取得了一定进展,有一些新的发现:

1. EAFP在其水溶液中能形成一种环状聚集体,在40mg/ml的高浓度时其直径大小从100nm到300nm左右,而在低浓度(5mg/ml)时只有10-25nm左右,且数量较少。有的形成一个完整的环,有的环正在形成。这说明EAFP分子间本身有着较强的相互作用,能自发地在水溶液中进行聚集,且随溶液浓度变小而聚集能力降低。
2. EAFP晶体的生长速度很快,通常只需要数小时就可长到较大尺寸(约1 μ m),要比普通的蛋白质晶体生长快很多倍,而且沿着晶体学轴向上的生长速率也各不相同,表现出明显的各向异性;且生长的速率还与蛋白质溶液的过饱和度密切相关,过饱和度较高时(大于1.78)生长极为快速,难以进行速率的测量;当过饱和度为1.45时,EAFP晶体的(100)面上的生长速率 b 方向上平均为12nm/s, c 方向上平均为24.2nm/s;当过饱和度为1.15时,其生长速率 b 方向上为4.1nm/s; c 方向上为8.8nm/s,而此时,其生长速率仍与报道的其他蛋白质晶体生长速率基本相当,这些都说明EAFP晶体具有很快的生长速率。
3. 实时原位AFM研究EAFP单斜晶体(100)面的生长过程结果表明EAFP晶体生长并非以单一的生长模式进行,而是随生长条件的变化采取不同的生长特征,有以下因素可能与EAFP的晶体快速生长机制相关:①多重不对称二维岛堆垛生长:②活性的不对称螺旋位错生长源(主要以不对称的双左旋为主,以不断出现的多个无规的右旋为次);③台阶按组生长的动态特性。
4. EAFP在低过饱和度下的螺旋生长过程中会出现台阶的合并,从而表现出单-双的螺旋台阶,在小范围扫描中捕获到了这种现象,使得对螺旋生长台阶的合并过程有了更加深入的认识;并且台阶的生长受到沿晶体学 b 轴方向上的21螺旋对称的控制;当台阶生长至第八到第九层时,螺旋台阶会自动地形成完整的生长层,这充分说明了EAFP分子或分子簇具有良好的自身调节能力,这样在晶体生长过程中,晶体的缺陷减少,晶体质量提高,这也说明EAFP晶体的x射线衍射能力很强的原因。
5. 通过对EAFP晶体中各种相互作用分析表明:一个EAFP分子与周围的相邻分子间有218个残基间的相互作用,其中有18个是强的相互作用,有72个较强作用(间距小于4埃),这些作用大部分与晶体学 c 方向上的作用相关,说明在 c 方向上作用较强。由于这种差别,使得EAFP在结晶过程中,当分子受到不同方向上的作用力时,便形成了表面形貌的不对称,进而影响到晶体的外貌。另外,通过大分子结构分析XPLORE(NIH版)对EAFP在溶液中和在晶格中的分子能量的较为详尽的分析表明,尽管两种状态下的EAFP分子骨架差别不大(主要是侧链Arg残基伸展方向不同),但晶格中的EAFP分子采用较为有利的构象,使结晶过程能够顺利进行;且沿结晶学不同方向上分子间的相互作用能(尤其是氢键能的差别)也不同,沿 c 方向上要比沿 b 方向上强约1/3,这也与AFM结果分析相一致。
6. 发现天花粉晶体所有表面上没有螺旋位错或台阶生长,只在(001)面上发现明显的非对称线性的3D核进行生长。这些线性聚体均沿着晶体学(110)的方向进行排列,而且相互平行,这可说明天花粉分子间在这个方向上有着较强的相互作用,使得分子沿着这个方向容易进行聚集;对于GAFP晶体,原位实时动态的原子力显微成像初步的研究发现在其晶体的(001)表面晶体生长较为缓慢,没有发现台阶和螺旋位错生长现象,而是以分子聚集体的形式,慢慢从溶液中沉积到晶体表面,初步确定为法向生长(normal growth)。由于蛋白质分子本身和蛋白质晶体生长体系的复杂性,本文的工作仅针对研究对象进行讨论,进一步更深入的研究尚在进行中。

2. 学位论文 [廖永贵](#) [PMMA/SAN共混物薄膜表面相分离动力学的原位AFM研究](#) 2004

本文主要借助原子力显微镜(AFM)、X-射线光电子能谱(XPS)等实验手段,纳米尺度上在线原位地研究了高温临界组成PMMA/SAN(50/50,w/w)共混物膜体系,分析并探讨了此共混物膜表面相分离及其超薄膜体系的润湿/去润湿和相分离行为。首先,从敲击式AFM中相位图的成像原理出发,建立了一个高温下用原位AFM定性鉴别不同聚合物的纳米尺寸微区的方法。其次,高温下用原位AFM研究了PMMA/SAN薄膜表面相分离过程,在线观察了相分离的归并过程,定量地得到了临界相分离温度,并给出了其特征波矢对时间依赖关系的标度指数,划分了相分离动力学演变的三个阶段。再次,用阶式降温的AFM和XPS,发现了PMMA/SAN体系原位和离位实验结果存在巨大差别的主要原因之一——润湿温度的存在。最后,高温下原位观察了硅基底上PMMA/SAN超薄膜(膜厚 \sim 10 μ m)的去润湿、相分离过程和PMMA在基底上的润湿过程,以及云母基底上的该体系高温下的稳定润湿行为。

3. 会议论文 [姚楠,熊国兴,盛世善,何鸣元,杨经伦,杨维慎](#) 原位原子力显微镜观察溶胶凝胶中粒子的生长过程 2002

本文发明了原位原子力显微镜观察纳米粒子的方法,该方法能够原位地、真实地反映出纳米粒子的形貌在整个溶胶凝胶过程中随着时间的增长而发生的变化。

4. 学位论文 [钟建](#) 原位AFM研究SLBs与疾病相关蛋白相互作用机理 2007

维生物膜分子结构的“流体镶嵌模型”(fluid mosaic model, 1972)诞生25年后, Kai Simons 在1997年首次提出“功能筏”(或称“脂筏”, lipid raft)概念。其科学性和重要性随即为越来越多的科学实验所证实,已成为流体镶嵌模型理论的重要发展。脂筏是指生物膜脂双层内富含鞘脂、胆固醇和蛋白质的特殊微区结构,与细胞信号转导和物质转运等基本生理过程密切相关。近年来的研究显示,神经退行性疾病如疯牛病(Prion Diseases)和阿尔茨海默氏症(Alzheimer's Disease, AD)等的发生发展同样与脂筏存在密切的关系。同时,作为典型的蛋白质构象病,Prion和AD的病理特征主要表现为关键蛋白因错误折叠而聚集于神经细胞间,并对神经系统造成致命性伤害。因此了解细胞膜与相关蛋白的相互作用机制成为该研究领域的重要课题。

在实验室研究工作的基础上,本论文旨在通过探索膜环境中与疾病相关蛋白的分子行为特征,在分子水平阐述脂筏与病变蛋白质异常行为的关系;同时,利用原子力显微镜技术(AFM),实现溶液环境中“膜-蛋白质”相互作用的实时原位探测,建立复杂体系中生物分子行为研究的新方法。研究主要包括:基于支撑双层膜(supported lipid bilayers, SLBs)的脂筏模型建立,PrP蛋白及片段与SLBs的相互作用,以及A β 片段在SLBs微区上的特征行为为研究等三方面内容。现简述如下: 第一,作为论文工作的基础,我们利用“脂质体融合法”系统构建包含不同脂成分的SLBs(鞘磷脂SM, POPC脂和胆固醇Ch1),经液相AFM检测显示,SM与POPC和Ch1在恰当条件下,可成功诱发基于SLBs的脂筏结构。研究显示SLBs结构对环境因素敏感,但在确定的缓冲体系中结构稳定,适合长时段相互作用研究。

第二,在此基础上,选择PrP κ 、106-126 \rangle 及其它PrP相关片段,系统探索其与SLBs的相互作用方式和行为特征,揭示SLBs筏区与非筏区的功能特点及变化规律。 研究发现,PrP κ 、106-126 \rangle 在与单组分POPC SLB和双组分POPC/Ch1 SLB作用中,主要表现为“致孔”效应(poration),并存在膜孔介导下进入膜疏水核心,快速扩散,因此导致致膜转变并最终形成略高于SLBs的高台区(Flat High-rise Domains, FHDs)。令人惊讶的是膜孔深度大约仅及SLBs高度的一半,为半穿透膜孔(semi-penetrated pores),尚未发现类似报道。动力学研究表明,致孔为整个过程的决速步。

而在含筏区的POPC/SM SLB和POPC/SM/Ch1 SLB体系中,PrP κ 、106-126 \rangle 倾向于与非筏区作用,同样表现为致孔和FHDs的形成,这与筏区由于致密的结构而更加稳定有关;所不同的是膜孔深度可以贯穿整个双层膜,可能原因是多肽与SM分子有更强的亲和力,容易与非筏区上层膜分离的SM,结合形成更稳定的“囊泡”并释放,在此基础上可进一步“侵蚀”下层膜,从而形成贯穿整个SLBs的膜孔。进一步研究发现,PrP κ 、106-126 \rangle 与膜相互作用方式和动力学受多重因素影响。如Ch1可明显加速动力学进程,Ca $^{2+}$ 可极大影响多肽与膜的作用方式等等。但无论是膜脂分子还是无机离子,其影响总是通过调控膜微区稳定性、与肽的亲性和性等来实现的。

另外,研究初步证实PrP κ 、23-231 \rangle , PrP κ 、91-231 \rangle 和融合蛋白GST-PrP κ 、106-126 \rangle 倾向于和SLBs筏区结合,而GST-PrP κ 、23-90 \rangle 没有特异性,实验中未见观察到致孔现象。研究提示PrP κ 、106-126 \rangle 的C端应该是脂筏结合域,而游离的N端可能主要起致孔作用。

第三,选用AD中A β 聚集核心片段Ap κ 、26-35 \rangle ,探索SLBs介导下蛋白质纤维化机理。研究发现:SLBs可诱发A β κ 、26-35 \rangle 在低浓度下发生纤维化并伴随着构象转化(由random coil至 β -sheet);同样条件下,在溶液中没有聚集现象检出。研究提示膜的表面吸附所导致的多肽在界面浓度升高,可能直接促成了纤维化的发生。从动力学角度分析,纤维化过程经历了相对缓慢的延滞期(lag phase)和快速生长期(growth phase),与溶液体系中NDP(Nucleation Dependent Polymerization)动力学模型基本吻合。 进一步研究发现,膜的相态直接影响到多肽与膜的作用方式。在非筏区多肽倾向于形成结构高度规整的原纤维,而主要按单一方向定向排列;而对于筏区,伴随“蜂窝”状结构塌陷的出现和原纤维生长,筏区受到严重侵蚀并逐渐减少。值得注意的是,AFM结果显示筏区的结构变化早于多肽纤维化。初步分析认为,A β κ 、26-35 \rangle 与膜相互作用可能存在不同的机制,非筏区表现为纤维化,但在筏区更可能是因为多肽插膜导致局部生成了交错对插膜(interdigitated membrane)的结果。但无论何种方式的作用,都会对细胞膜的正常功能造成影响。

综上所述内容,论文从构建SLBs微区模型体系出发,在探索膜结构和稳定性影响因素基础上,利用AFM发展了溶液环境下原位在线观察“多肽-SLBs”相互作用的新方法,通过对与疾病相关多肽分子行为的探测,在分子水平揭示了相关疾病中病变蛋白质/多肽与细胞膜可能的作用机理,为了解神经退行性疾病发生发展的分子机制提供了新的思路。

5. 期刊论文 [廖永贵,由吉春,李学,孙昭艳,石彤非,安立佳, LIAO Yong-Gui, YOU Ji-Chun, LI Xue, SUN Zhao-Yan,](#)

[SHI Tong-Fei, AN Li-Jia](#) 相分离高分子共混薄膜退火和准淬火的原位原子力显微镜研究 - 高等学校化学学报

2005, 26 (9)

近年来,高分子共混薄膜在选择性渗透膜、生物材料、润滑剂、粘剂[1]、光敏电阻平板印刷、光电器件及纳米尺寸表面图案化[2]等方面的研究日益受到重视,应用前景也十分可观。

6. 学位论文 [王明锋](#) 表面胶束的形态控制与稳定化途径 2004

两性性分子是一种被广泛研究和应用的具有自组织能力的构筑单元,包括磷脂分子、表面活性剂分子以及嵌段共聚物等。到目前为止,关于两性性分子的研究已从传统的胶体与界面科学拓展到生物膜模拟、催化、药物传输、无机孔材料以及低维功能纳米材料的模板合成等领域。然而,关于表面活性剂分子在液/固界面的自组织行为、结构特征和形态控制规律、自组织结构的稳定性以及功能化等问题还缺乏深入和系统的认识。其中,如何提高表面活性剂分子在液/固界面自组织结构的稳定性,尤其是如何增强表面胶束的稳定性进而实现对其形态结构的调控,已成为亟待解决的问题。

为此,在本论文中,我们分别设计合成了含介晶基团的双头两性性分子以及疏水链尾端可聚合基团的表面活性剂分子,致力于通过胶束内部疏水链之间的 π - π 相互作用或界面原位聚合反应增强表面胶束的稳定性,主要开展了以下两方面的研究: 1. 我们提出了一种在双头两性性分子的疏水烷烃链中间引入介晶基团来获得稳定表面胶束的方法,并以原子力显微镜为主要表征手段深入揭示了双头两性性分子的界面超分子结构和自组织行为。首先设计合成了一种含联苯介晶基团的双头基两性性分子,由于联苯介晶基团之间的 π - π 相互作用增强了胶束内部的分子间相互作用,我们成功地获得了在干燥条件下仍然稳定的柱状表面胶束,提出并证实了该双头基两性性分子的柱状胶束结构模型和在液/固界面的吸附机理,为统计热力学关于胶束的形成及其形态结构的理论研究提供了直接的实验证据。

2. 我们还发展了一种通过 γ 射线引发的界面原位聚合反应来稳定低分子量表面活性剂形成的表面胶束的方法,并用原位AFM为表面胶束聚合前后的形态保持和稳定性提供了直接的实验证据。首先在疏水烷烃链尾端引入丙烯酸酯设计合成了一种可聚合表面活性剂分子,通过 γ 射线引发云母表面的胶束内聚合反应,最终获得了经空气中干燥和溶剂稀释后仍然保持其原来形态结构的稳定的柱状表面胶束。 增强表面胶束的稳定性不仅有利于我们借助各种仪器表征手段深入认识表面活性剂等两性性分子的界面超分子结构和自组织行为,而且这种稳定的、在纳米尺度具有可控形态和尺寸的“软”自组织结构为功能纳米材料的仿生合成以及纳米图案化表面的制备提供了新的模板,对发展胶体与界面科学、材料科学、生命科学以及微电子学等领域有重要研究意义。

7. 期刊论文 [朱明智,蒋庄德,景蔚萱, ZHU Ming-zhi, JIANG Zhuang-de, JING Wei-xuan](#) 原子力显微镜探针原位有效

[参数对线宽测量的修正 - 计量学报](#) 2005, 26 (3)

针对原子力显微镜(AFM)的线宽和轮廓的精确测量,对AFM探针的原位有效参数进行了定义和表征,提出使用AFM探针的原位有效参数对AFM的线宽测量结果进行修正的模型。采用有效半径和半内角表征AFM探针的复合形状,悬臂轴倾角表征探针的安装状态,设计了具有不同梯截面度的两个表征样板,通过对表征样板进行AFM和扫描电子显微镜(SEM)的比对测量获得了探针的原位有效参数。提出了在线宽测量中,当AFM的扫描轮廓线具有不同的斜度时分别采用的不同的修正公式。采用此公式和表征的原位参数对掩模板的AFM线宽测量结果进行了修正。

8. 学位论文 [周建军](#) 原位研究高分子结晶和聚集 2005

高分子形态学是高分子物理学的一个分支,其研究内容包括了高分子结晶和熔融过程中的聚集态形貌、结构等方面的一些基本问题。高分子形态学理论虽然经历几十年的发展已经逐步完善,但是对于高分子结晶过程中一些基本问题仍然有待进一步研究。本论文以研究高分子结晶过程中的基本问题入手,利用AFM、POM、DSC等方法研究了高分子的聚集、结晶和熔化过程中形貌和结构的变化,主要开展了以下几个方面的工作: 1. 聚丙烯薄膜的制备及形貌与光学性能的对立关系 探索了一条从热溶液中制备平整薄膜的方法,为以后利用AFM研究聚丙烯形貌奠定了基础。培养了不同类型的聚丙烯球晶,并利用AFM观察球晶内部的片晶结构。研究表明,片晶结构的分布能很好的解释不同类型球晶光学性能的差异,应用AFM可以在片晶结构上区分不同球晶类型。

2. 原位研究聚丙烯片晶的生长过程 通过AFM对片晶生长过程原位跟踪,发现切片晶从径向片晶分叉的几率随着结晶温度的降低而逐渐增加,并且在可测量的范围内,切向和径向片晶以相同的速率生长。从残余熔体中结晶时,片晶的生长速率明显降低,可以观察到片

晶的早期分叉过程。不同取向片晶(直立和平躺)在相同的温度下具有相同的生长速率。AFM观察到的片晶小角度分叉是由于片晶二次分叉形成的。 α 片晶生长过程中的“花状”结构是由于子片晶取向不同所形成的特殊形貌。结晶过程会伴随着熔体表面高度起伏变化,在靠近生长面的前端由于材料耗尽形成沟壑,并伴随着由于链段向生长前沿扩散和不完善链段向外迁移引起局部厚度增加。

3. 原位研究聚丙烯片晶的熔化过程 利用AFM原位实时研究了聚丙烯 α 和 β 片晶的熔融行为。 α 片晶的熔融行为与片晶生长过程中形成的缺陷有关,片晶的缺陷越多,熔融和重结晶越容易发生。而且,即使在极低过冷度下形成的片晶中也仍然存在着很多缺陷,在升温过程中片晶会发生重结晶或自我完善。我们观察到子片晶和母片晶都同时熔化消失,认为DSC扫描过程中出现的两个熔融峰不能简单的归结于子片晶和母片晶的分步熔融。 β 片晶的熔融行为与处理过程的热历史有关在不同的热处理条件下,片晶会单独熔化或发生 β 到 α 的相转变过程。 β 片晶消失后的熔体仍然部分有序,由于 β 和 α 晶胞中链段的排列方式不同,这种熔体中部分有序的结构不能直接排列到 α 的晶格中。

4. 聚芴的聚集及结晶 原位研究了聚芴的聚集过程。随着温度的升高,聚芴会逐步发生聚集,历经熔融和重结晶过程后,最终形成液晶态。荧光光谱研究表明,从无定形、液晶态到结晶态,随着有序程度的增加,链间聚集程度增加,发射峰发生红移。通过观察片晶从液晶态和各向同性熔体中的生长过程,发现预先存在的液晶相能够大大促进片晶的生长速率,其生长行为(生长方向和生长动力学)受液晶基体的影响。应用Hoffman-Lauritzen理论进行分析,获得了合理的折叠表面自由能和链折叠功的值。从液晶态结晶时,折叠表面自由能和折叠功要比从各向同性熔体中低得多。

9. 期刊论文 [俞春福, 徐久军, 王亮, 许晓磊, 黑祖昆. TiN薄膜腐蚀过程的电化学原子力显微镜原位研究](#) -材料保护

2001, 34(12)

用离子束增强沉积(IBED)技术在1Cr18Ni9不锈钢上制备了TiN薄膜,并用电化学原子力显微镜(ECAFM),从纳米级空间分辨率对其在3%NaCl溶液中的早期腐蚀过程进行了原位研究。结果表明,TiN薄膜在极化电位的阴极区域发生铁氧化物膜的还原溶解;在低阳极极化电位下,发生轻微腐蚀,当阳极极化电位进一步提高,在200~300 mV出现电解抛光现象。可见,电化学原子力显微镜是研究早期腐蚀过程的有效研究手段,可原位观察研究微观腐蚀的过程

10. 学位论文 [姜勇 原位研究高分子的结晶与熔融](#) 2003

高分子的结晶与熔融是高分子科学中的一个重要方向,但仍然存在很多问题尚未解决。该论文主要使用AFM、FT-IR、DSC、POM和ToF-SIMS等工具,研究了高分子在结晶和熔融过程中,形貌、结构和构象上的变化等基本问题。使用DSC研究了BAC10高分子的热行为;利用FT-IR研究了在结晶诱导期内和结晶过程中链段构象的变化,并进行了结晶动力学分析,发现结晶过程涉及了高分子链内的构象变化和分子链间的链段堆积等过程,并且高分子链内的构象变化先于高分子链间的链段堆积;使用AFM系统地研究了BA-C10在 T_g 和 T_m 之间的结晶形貌、片晶结构和动态生长过程,定量地分析球晶生长过程中的片晶生长和片晶分叉,清晰和详细地阐述了高分子从成核到结晶的全过程;进一步利用AFM原位观察了不同条件下形成的BAC10结晶的动态熔融过程,并对熔融的机理进行了探讨;使用AFM和ToF-SIMS研究了PHBV环带球晶的表面性质,发现环带球晶表面性质的不同主要是由片晶取向的不同而造成的,初步利用AFM原位地观察了PHBV的片晶扭转过程,为进一步解释环带球晶的形成机理打下基础。

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_xdyq200602018.aspx

下载时间: 2010年4月13日