AFM 的使用与实际应用探究

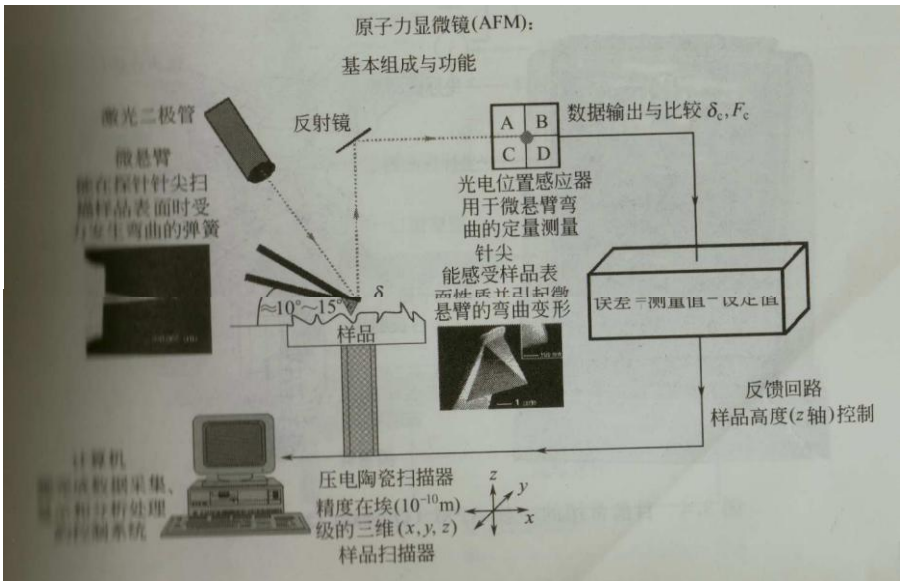
杜恺 06300190003

【摘要】原子力显微镜 AFM，作为扫描隧道显微镜家族中的一员，因其具有高分辨率，观测条件广，样品制作简便，可直接输出成像等诸多优点，在生物细胞和分子学水平上的研究已获得了广泛的应用，并且具有巨大的发展空间。本文简要介绍了一款原子力显微镜 **easyScan E-AFM** 的基本原理与使用操作，扫描给出了几种标准样品的结果。简述了 AFM 在生物研究中的应用，并初步尝试探究了其对血红蛋白结构的扫描，并最后对此给出了一些改进建议与设想。

【关键词】原子力显微镜　AFM 原理与操作　AFM 的生物研究应用　血红蛋白结构

easyScan E-AFM 基本原理

本实验中选用的 **easyScan E-AFM** 原子力显微镜采用的是激光反射式，恒力非接触模式扫描。当微悬臂和探针接近样品时，所产生的很弱的范德华力使得悬臂弯曲，偏转激光，在感应器上接收到被偏转的信号，从而利用扭矩测微这一原理实现了对样品的高精度成像。其原理示意图如图一所示。



easyScan E-AFM 的扫描范围和分辨率：

X-Y 最大扫描范围：60-80um

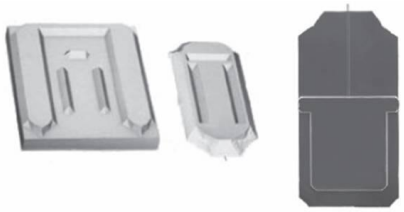
Z 方向最大范围：20um

XY 平面分辨率：1.7nm

图一：原子力显微镜原理示意图

easyScan E-AFM 使用操作与标准样品扫描

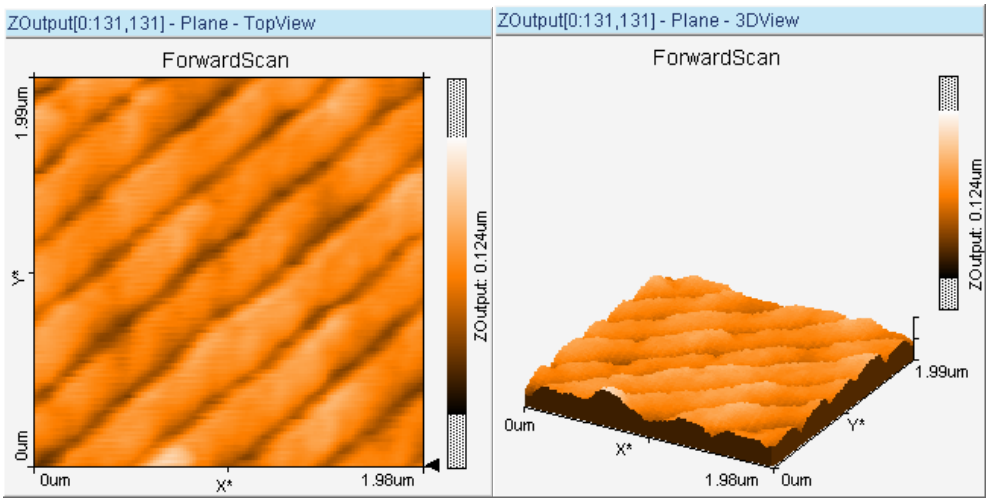
1. 探针感应片的安装(横线上部伸出安装台，探针位于正中可使信号接通，安装到位)



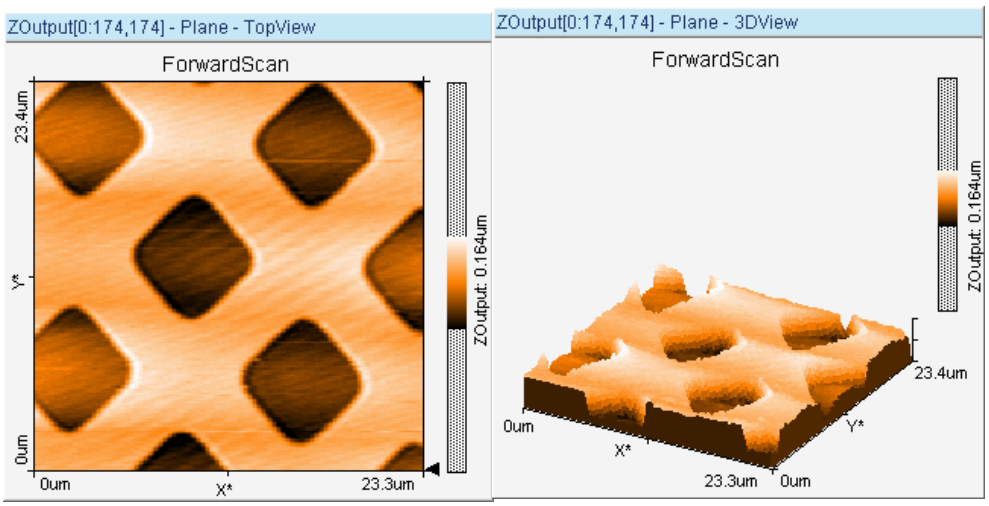
图二：easyScan E-AFM 使用的探针

2. 进针（先手动进针，时刻观察避免撞针，再自动完成进针）
3. 调节波形水平（无法完全调平时，注意清洁吹干样品，并注意控制室内湿度）
4. 标准样品扫描结果

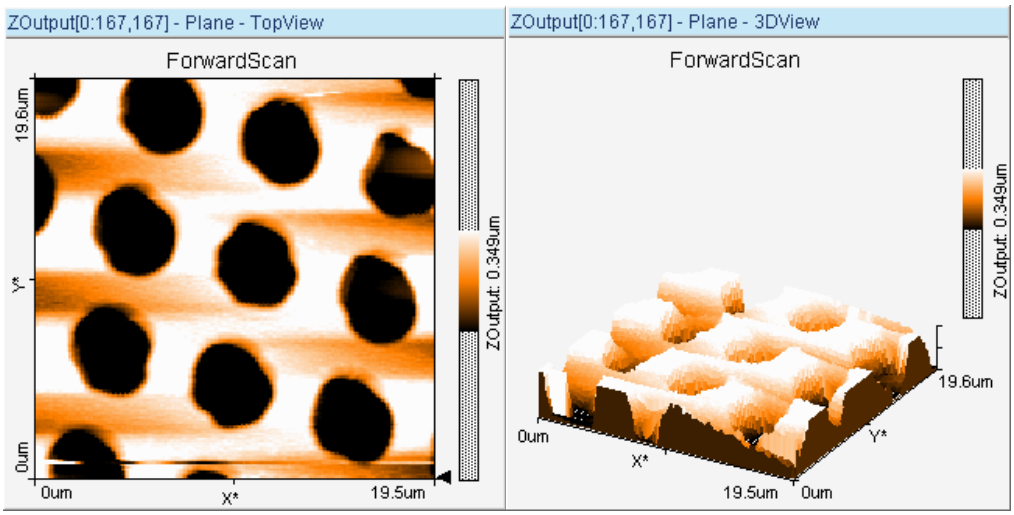
一维标准样品



二维标准方格样品



二维标准圆形样品



AFM 的特性与生物研究中的应用

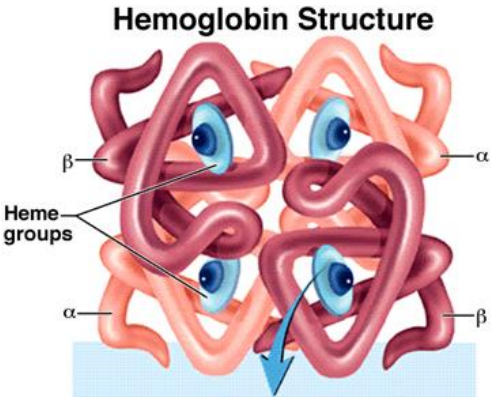
AFM 由于分辨率高、样品制备要求低、适用范围广等众多优点，已经开始在生命科学研究中发挥着重要的作用和广泛的应用。这主要得益于原子力显微镜的样本可以是生理状态的各种物质，在大气条件或溶液中都能进行，因而只需很少或不需对样品作前期处理，这样，就使 A FM 能观察任何活的生命样品及动态过程（1）。

最早 AFM 对肺表面活性脂蛋白、钙调蛋白、精子膜蛋白、脱铁铁蛋白等多种膜蛋白进行了研究，并且在分子水平对结晶过程进行定量分析。随 AFM 探针技术的发展，最近对蛋白质这种生物大分子的研究已达到可以同时对多种参数进行计量和测算的程度。AFM 还成功地观察了肌动蛋白、血纤维蛋白原、免疫球蛋白等游离蛋白质分子（2）。

此外，更为精良的 A FM 还具有对标本的分子或原子进行加工的力行为，例如：可搬移原子，切割染色体，在细胞膜上打孔等等（1）。

AFM 扫描血红蛋白结构的初步探究

针对以上特性，考虑到血红蛋白在人体血氧输运中的重要地位，并且其尺度同样在纳米量级上，所以尝试通过 AFM 扫描血红蛋白的结构，从而直接观测研究其与氧的结合位点、携氧状况、携带一氧化碳的状况等诸多有实际指导意义的过程，将是一项有重要研究和应用价值的工作。



图三：血红蛋白结构示意图

图四：实验选用的血红蛋白干粉

（分子量 64000，二条α 链和β 链及四分子亚铁血红素组成）

实验中选取了图四所示的血红蛋白样品进行了初步探究和扫描。但是直接对干粉样品进行扫描，仍然面临着一些困难和挑战：

1. 血红蛋白颗粒分散，且不均匀，不易找寻进针位置。扫描的可能是杂乱重叠的蛋白结构。
2. 样品质量较轻，稳定性不佳，易受环境干扰，进针扫描时可能会带动样品产生位移。
3. 血红蛋白干粉较软，有可能应力不足，扫描时可能会有一定的形变。

考虑以上原因，可提出以下设想解决方案进行尝试：

1.试剂溶解血红蛋白，均匀涂抹在载玻片，吹干析出后扫描，提供均匀的蛋白层。这样析出的蛋白与载玻片有一定的结合力，可改善稳定性,一定程度上起了样品固定的作用。

2.低温冷冻等方法处理蛋白样品，促使其有足够的硬度。

3.改进选用其他精良的 AFM 设备：采用轻敲模式，减小对样品可能的损伤（3）；进行液相 AFM 扫描，可以得到均匀的样品图样（4、5）。

结语

本文简要介绍了 **easyScan E-AFM** 的基本原理与使用操作，扫描给出了几种标准样品的结果。简述了 AFM 在生物研究中的应用，并初步尝试探究了其对血红蛋白结构的扫描，并最后对此给出了一些改进建议与设想。希望可以是一次有益的尝试，并且相信只要据此思路继续不断探索，加之随着 AFM 技术的不断发展，一定可以在这项工作上取得进展和应用。

【参考文献】

1. 王黎明，李楠，周春喜；显微镜家族的新成员——原子力显微镜；《军医进修学院学报》1999 年 9 月，20（3），P237-238
2. 朱杰；生物纳米结构成像与纳米操纵的原子力显微镜研究；《显微与测量》2005 年 6 月，第 2 卷第 3 期，P42-46
3. 朱杰，孙润广；原子力显微镜的基本原理及其方法学研究；《生命科学仪器》2005 年，第 3 卷第 1 期，P22-26
4. 伏霞,刘超,章海军；气/液两用型原子力显微镜及其应用研究；《光学仪器》2008 年 10 月，第 30 卷第 5 期，P61-64
5. 张天彪,党国全,关一夫；原子力显微镜在液相条件下的成像分析；《电子显微学报》2008 年 10 月，第 27 卷第 5 期，P395-399