

微纳结构分析技术研发部

提供材料的表面结构及性质，测粒度及粒度分布等服务

网址：<https://kyzx.gmu.cn/jsyfb/wnjgfxjsyfb.htm>

地址：第五实验楼615、613、208

负责人：张汉强：15959644883

技术骨干：赖 蕾：18270795878 (负责日常事务管理)

主要仪器介绍

地点：第五实验楼六楼、208



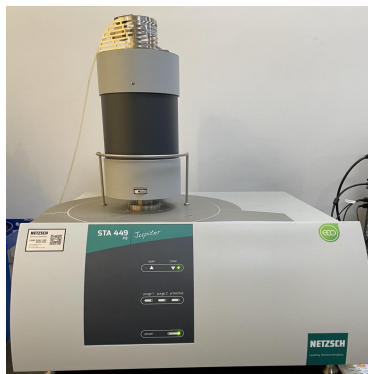
原子力显微镜

利用原子间相互作用力，研究固体材料的**表面结构及性质**。



纳米颗粒追踪分析仪

采用颗粒跟踪分析技术（NTA），可测量纳米颗粒**粒径、浓度**。



热分析仪

利用程序控温，测量**物质的物理性质与温度之间的关系**。



纳米粒度仪

采用动态光散射技术测**粒度及粒度分布**；采用电泳光散射测**Zeta电位**。

基于原子力显微镜的生物医学应用研究



原子力显微镜简介



研究对象和方法



在生物医学的应用研究



第一部分 | 原子力显微镜简介

- 来源及家族
- 基本原理

扫描探针显微镜 (SPM) —— 打开微纳米世界的大门



nature nanotechnology | VOL 1 | OCTOBER 2006 |

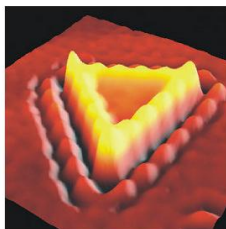
How the doors to the nanoworld were opened

CHRISTOPH GERBER AND HANS PETER LANG

are at the National Competence Center for Research in Nanoscale Science, Institute of Physics, University of Basel, Klingelbergstrasse 82, 4056 Basel, Switzerland.
e-mail: Christoph.Gerber@unibas.ch

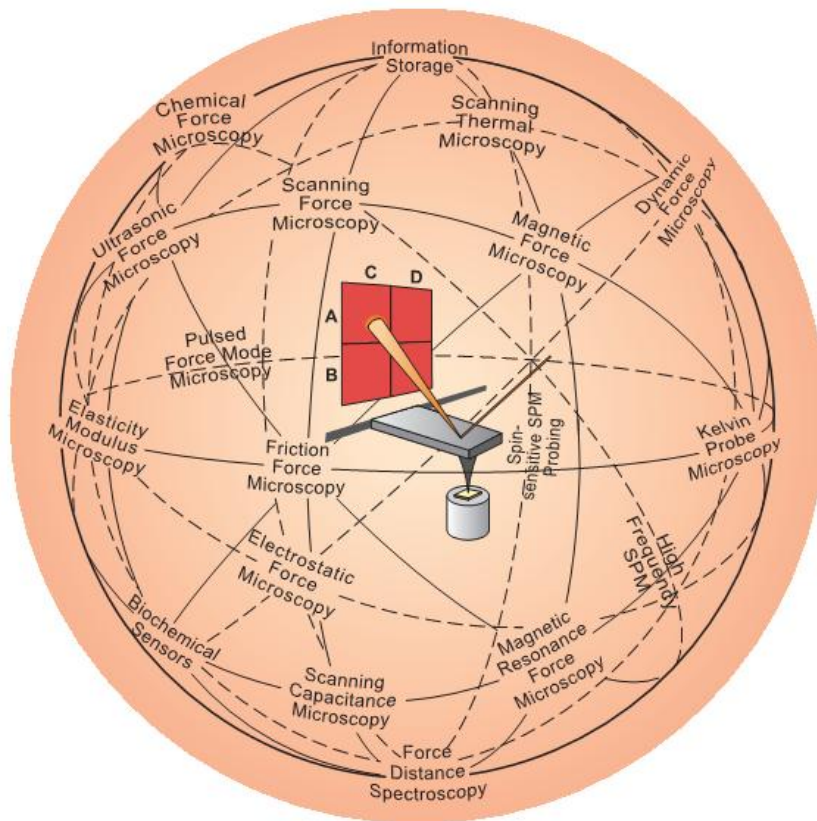
The invention of the scanning tunnelling microscope 25 years ago, followed by the arrival of the atomic force microscope five years later, were crucial events in the history of nanoscience and nanotechnology. As the recent International Conference on Nanoscience and Technology in Basel made clear, scanning probe microscopes based on these discoveries are still having a tremendous impact on many areas of research.

In March 1981 a new type of microscope made its debut. Unlike traditional microscopes, however, the scanning tunnelling microscope (STM) did not use lenses. Instead, a sharp tip was moved close enough to a conductive surface for the electron wavefunctions of the atoms in the tip to overlap with the wavefunctions of the surface atoms. When a voltage was applied, electrons started to 'tunnel' through the vacuum gap, causing a current to flow from the foremost atom of the tip into the surface. Quantum tunnelling had been studied theoretically before, but had never been demonstrated so elegantly as in these experiments at the



accepted, so the experiment would not give any new insight, the other report described the work as "extraordinary" and a "technical jewel", but this referee said that whether such technological work should be published in this particular physics journal was an editorial decision. Eventually the results were published in another leading journal, *Applied Physics Letters*, in January 1982.

In terms of science, the real breakthrough for the STM came in 1983 with the experimental observation of one of the most intriguing phenomena in surface science at that time: atom-by-atom imaging of the 7x7 surface reconstruction



Gerd Binnig

1/4 of the prize



Heinrich Rohrer

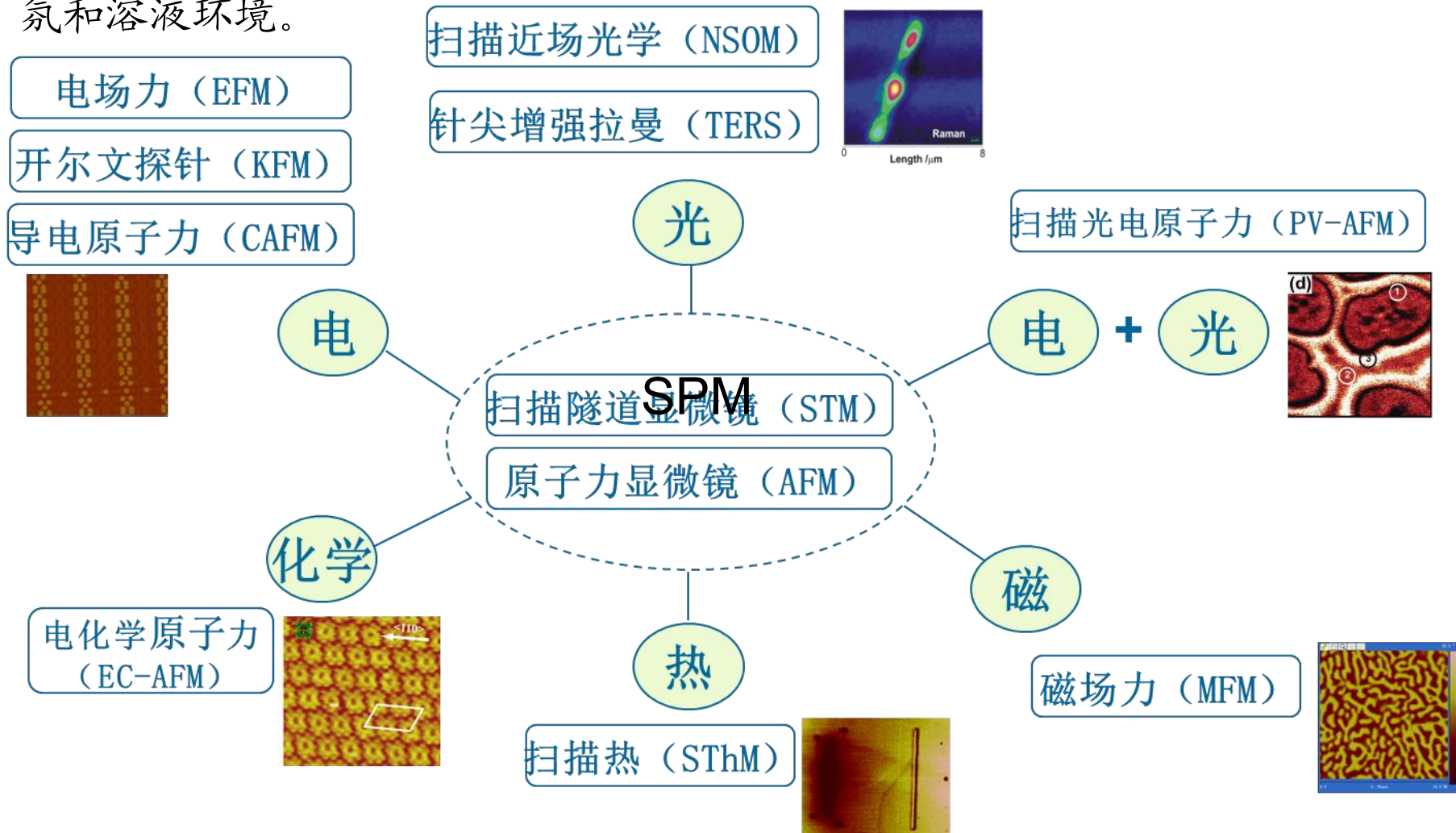
1/4 of the prize



The Nobel Prize in Physics 1986

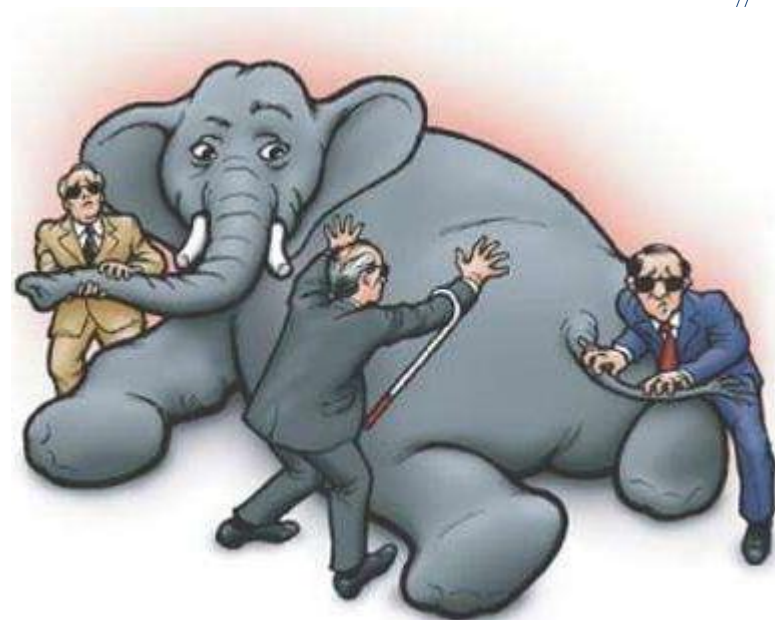
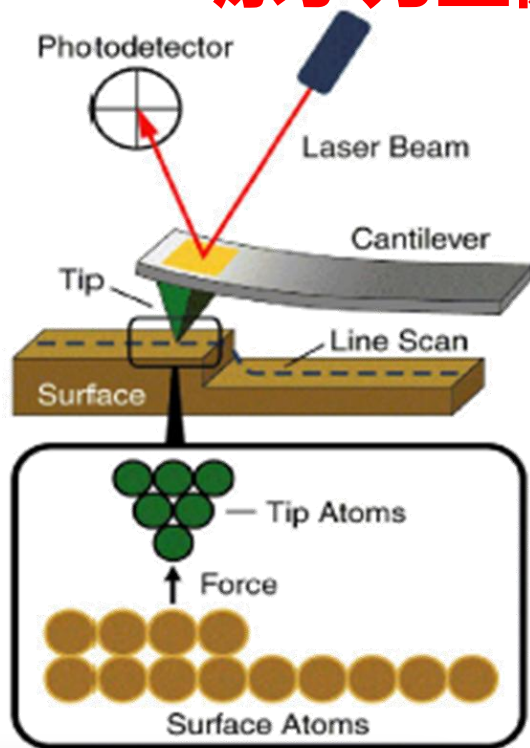
扫描探针显微镜 (SPM) 大家族

扫描探针显微术作为最重要的纳米表征手段之一，逐渐从单一的结构、形貌检测到表征各种局域力、电、光、热、磁性质及化学反应等，并可应用于气氛和溶液环境。



原子力显微镜 (AFM)

AFM 原理



功能特点

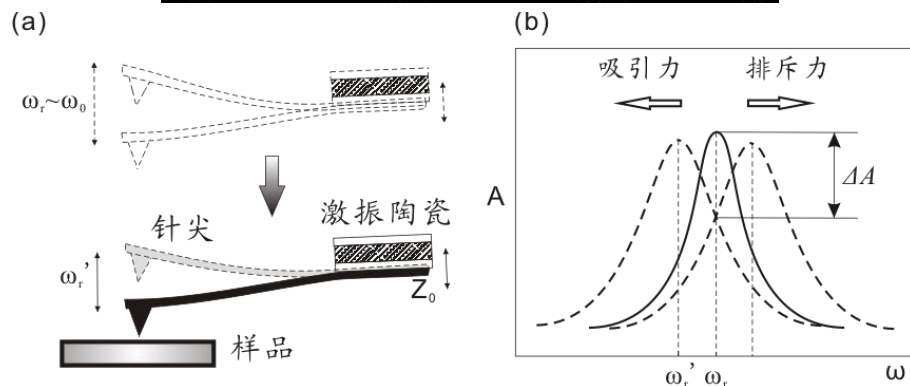
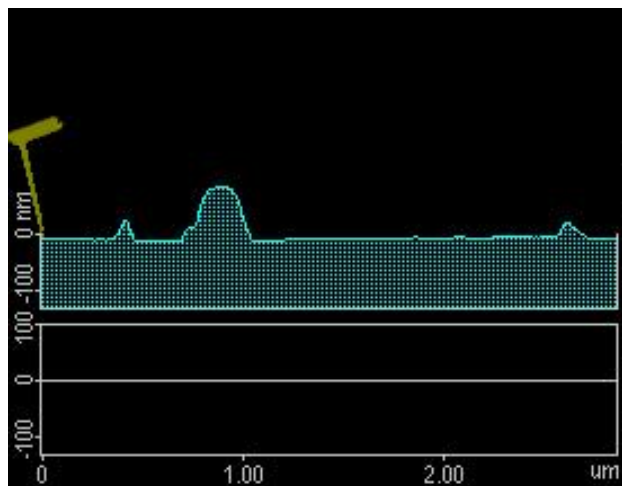
- **微纳米成像**：探测样品局域的形貌、电学、磁学、力学、热学和光学特性。
- **微纳米操控**：对待测样品在纳米尺度进行**移动**、**切割**、**组装**

优点

- **高空间分辨率**：纵向 $<0.1\text{nm}$ ；横向： $0.1\text{-}10\text{ nm}$
- **广泛的实验对象**：导体、半导体和绝缘体，覆盖物理、化学、生物、材料、医学等诸多领域
- **制样简单**：
- **多种环境**：大气、气氛、液体、真空

AFM的两种主要工作模式

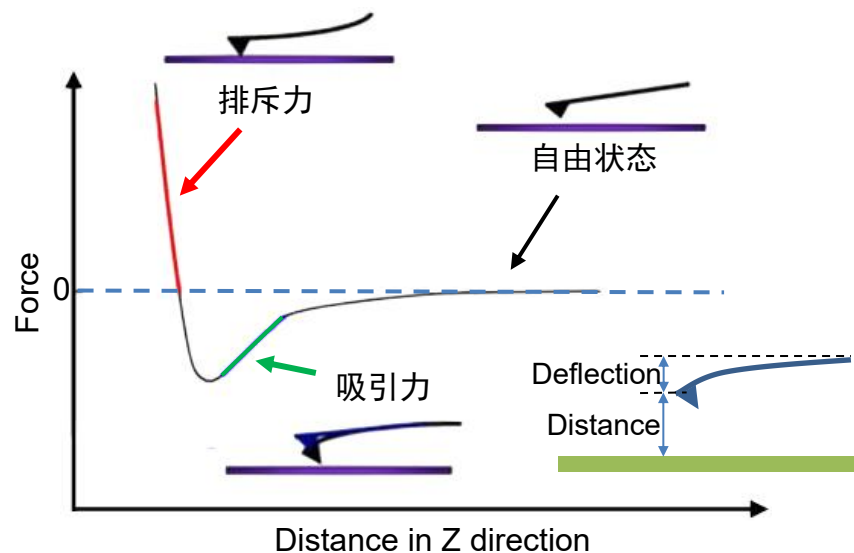
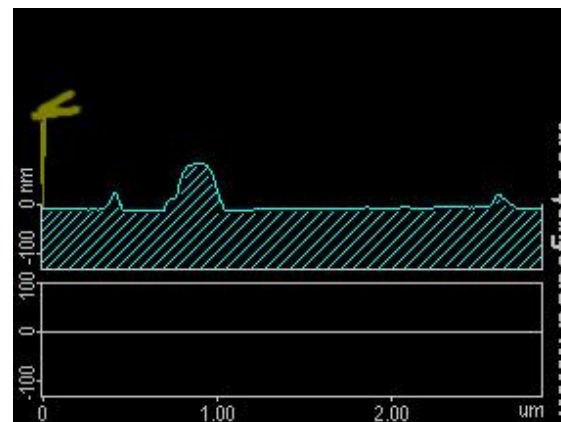
轻敲模式(Tapping)



振动三要素：频率，振幅和相位

- 振幅随距离变小而减小

接触模式(Contact)



- 悬臂的弯曲随距离变小而增大

轻敲式 VS 接触式



	轻敲式	接触式
优点	样品损伤小；受表面粘附力，摩擦力的影响小；图像分辨率高。	扫描速度快，常用于电学测量。
缺点	比接触式扫描速度慢，样品表面粘性较强,容易粘针尖导致共振	易受样品表面吸附液层的影响，降低图像空间分辨率；易损坏软质样品或变形，易移动颗粒。
应用范围	适于软、易碎、或一定胶粘性样品，不会损伤其表面。	适合表面强度较高、结构稳定的样品
图像信息	高度图，相位图	高度图，deflection error



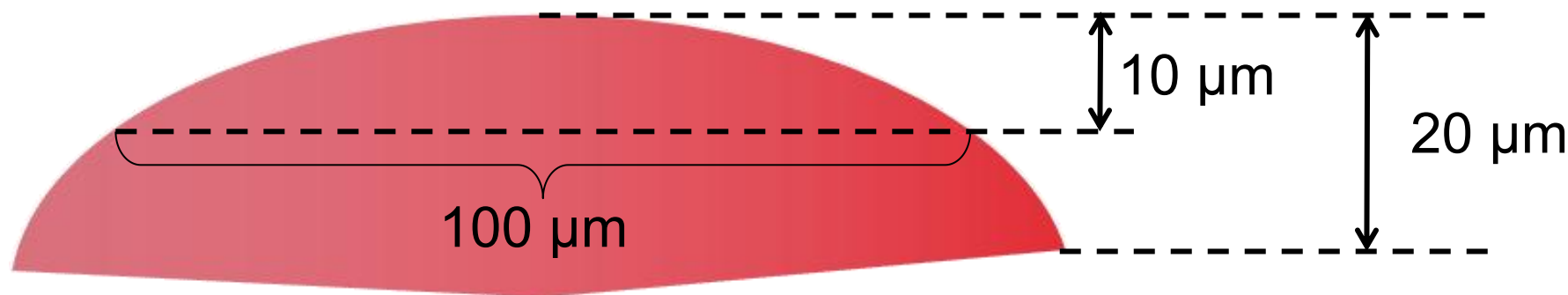
第二部分 | 研究对象和方法

- 研究对象
- 研究方法

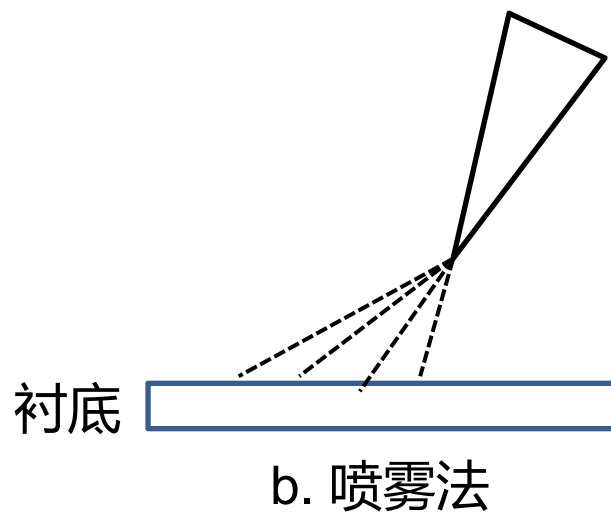
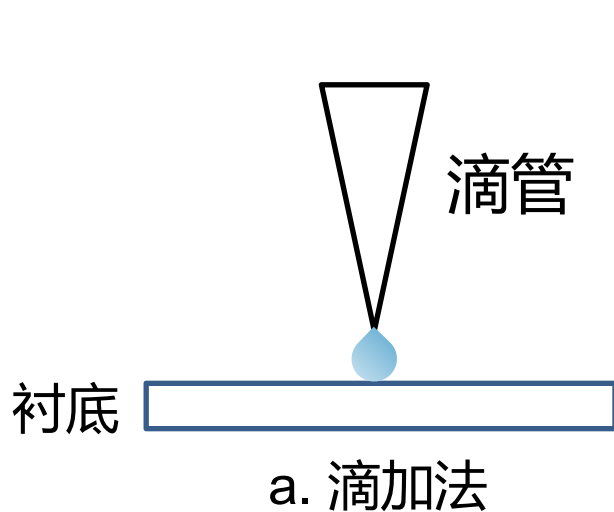
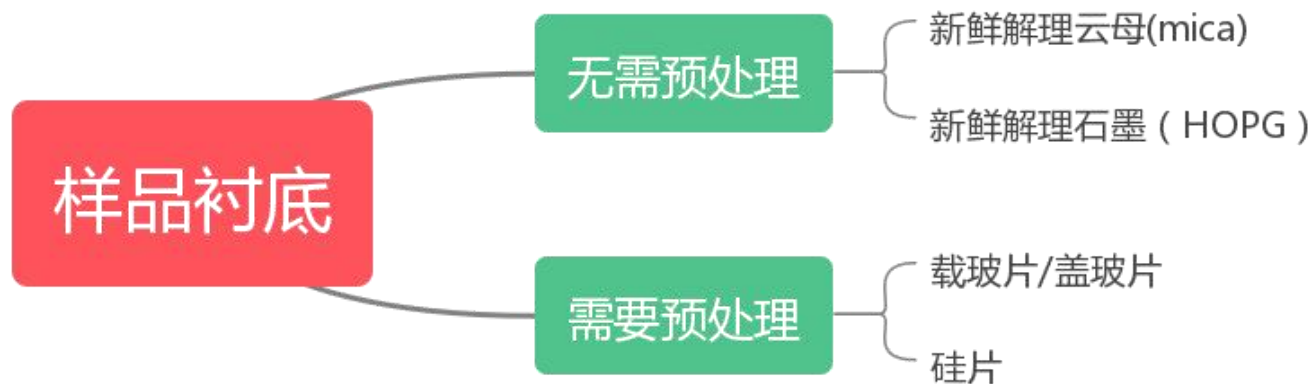
AFM研究对象



- **研究对象**：能**稳定存在**于载体表面具有**固定形态**的物质，包括无机物、有机固体、聚合物、细胞以及生物大分子等。
- **样品衬底**：云母片、玻璃片、石墨、硅片、金膜和某些生物膜等，其中最常用的是新剥离的云母片。
- **成像范围**：100 μm 以内。
- **样品高度**：10 μm 以内。



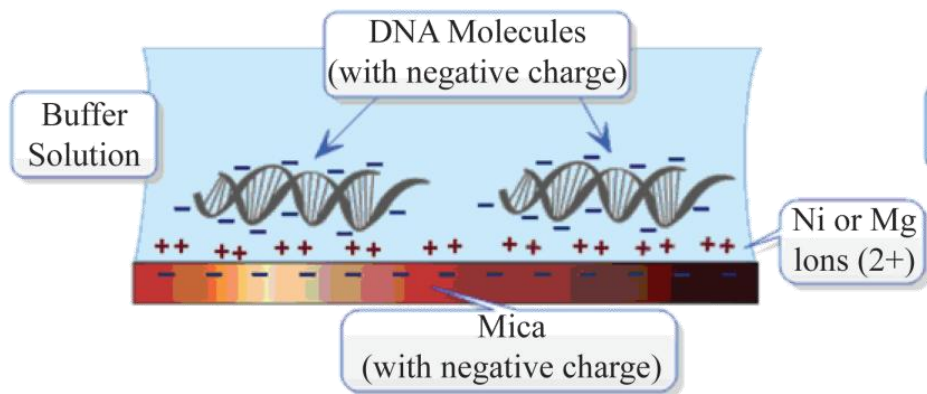
AFM制样方法



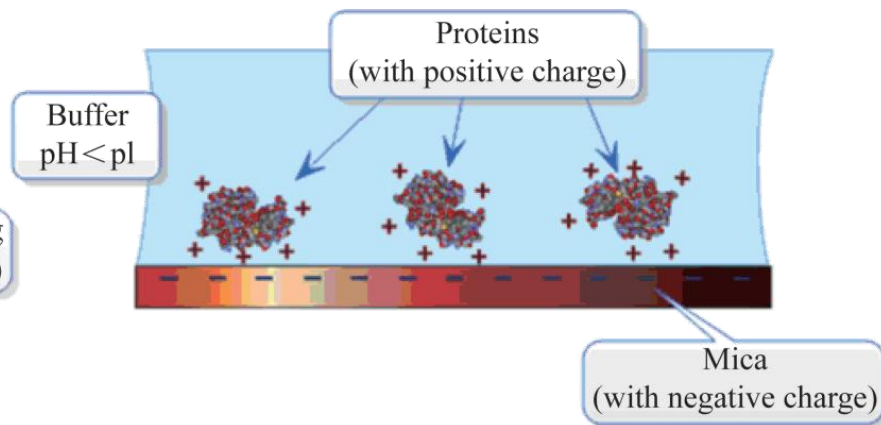
几种常见生物样品的制样方法



DNA 制样示意图

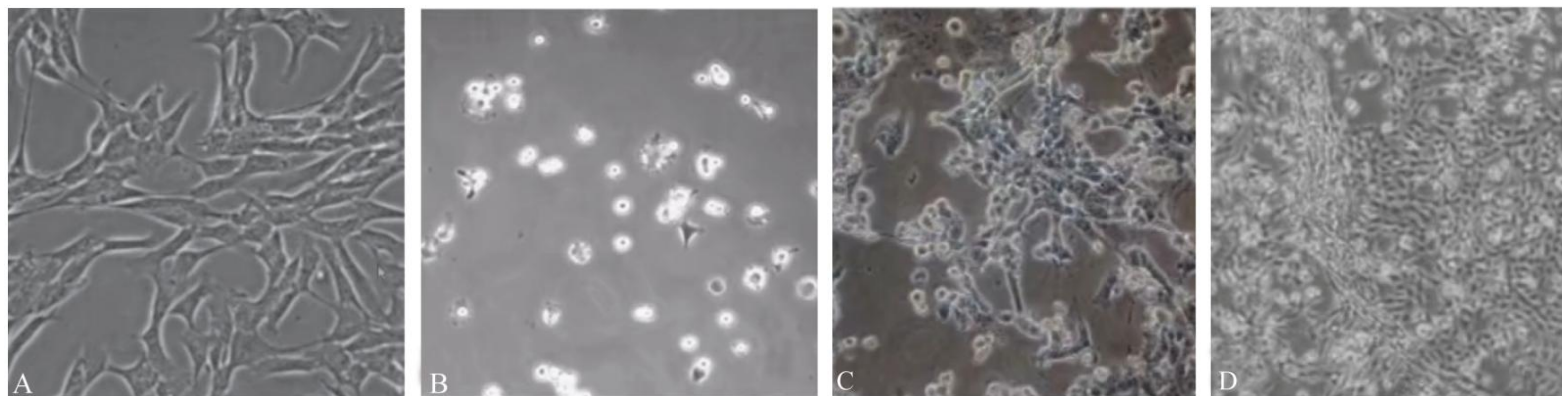


蛋白质制样示意图



细胞制样

覆盖率 50% -70%; 贴壁



A:理想的细胞制样; B-D:需改善的细胞制样

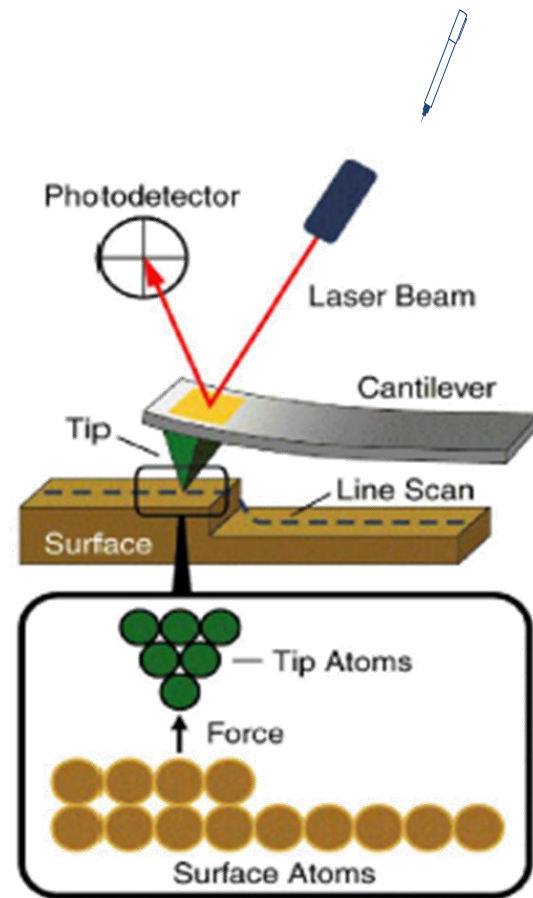
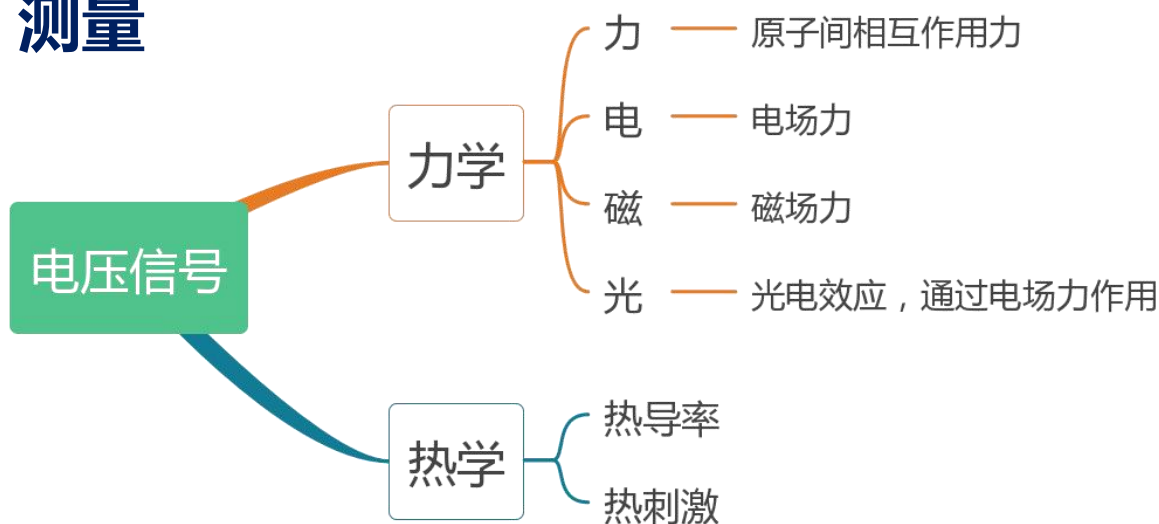
AFM在生物医学研究方面的独特优点



- **低破坏性制样**：样品制备简单，无需对样品进行特殊处理，其破坏性较电子显微镜要小得多。
- **高分辨形貌**：高横向分辨率和纵向分辨率，提供生物分子和生物表面的分子/亚分子分辨率的三维形貌。
- **生理环境成像**：生物分子可在生理条件下直接成像，也可对活细胞进行实时动态观察。
- **分子级加工**：单分子操纵、染色体切割、细胞膜打孔。
- **单分子/细胞物理特性研究**：局部的电荷密度和物理特性，测量分子间（如受体和配体）的相互作用力。
- **互补性**：获得的信息与其它分析技术和显微镜技术具有互补性。

AFM研究方法

测量



操纵:

- 搬运、剪切、纳米刻蚀等。
- 应用于生物医学研究中，可从染色体中提取DNA用于基因分析、去除细胞表层膜实现对膜蛋白结构的观察、对蛋白构象进行操纵、施加各种刺激（力、电、光、热、磁）等。

原子力显微镜 (AFM) 在生物医学中的应用

形貌

光

力

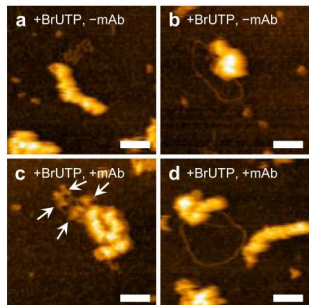
热

电

磁

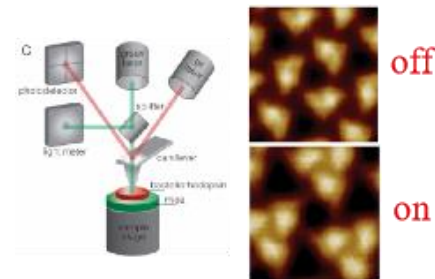
AFM

研究病毒RNA合成



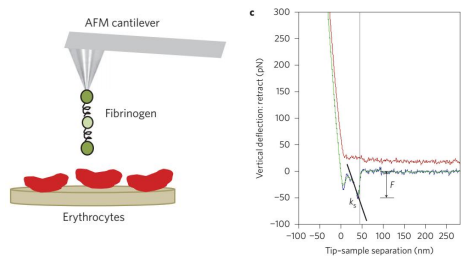
Commun. Bio., 2021, 4, 858

视紫红质形态光学调控



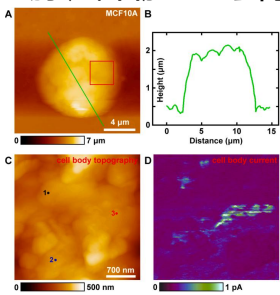
Nat. Commun., 2021, 12, 7225

纤维蛋白原和红细胞相互作用



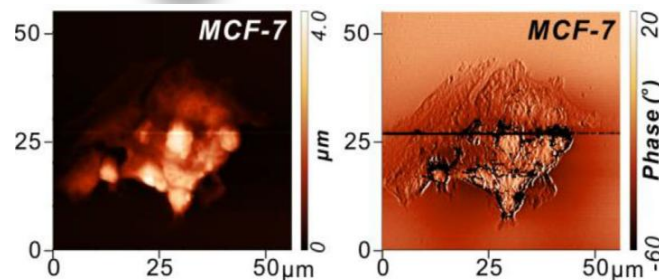
Nat. Nanotech., 2016, 11(8), 687

乳腺癌细胞电导特性

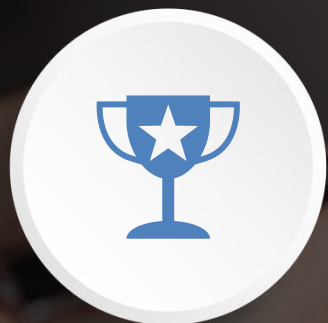


Ultramicroscopy, 2022, 237, 113531

乳腺癌细胞的AFM形貌和磁响应图



Biotechnol. J. 2018, 13, 1700625



第三部分 | 在生物医学方面的应用研究

- 从研究对象：细胞、病毒、蛋白质、DNA
- 从生物医学研究领域：心脑血管、组织工程、干细胞、肿瘤、阿尔兹海默、免疫、遗传

宏观研究方法——常规医学影像设备



X光机
~1毫米



超声
~1毫米



CT
~0.5毫米



核磁共振
~0.1毫米



光学显微镜
~1微米



微纳医学研究方法——原子力显微镜

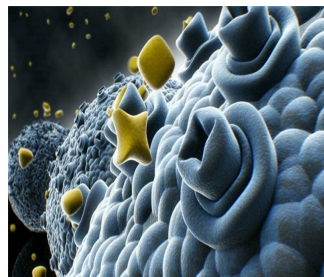


基于原子力显微镜打开 **100 μm** 以下微观生命世界。



Bruker JPK nanowizard4

细胞



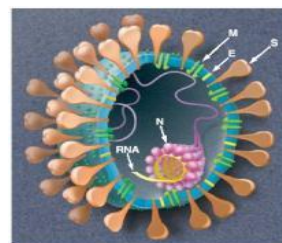
6~200 μm

红血球



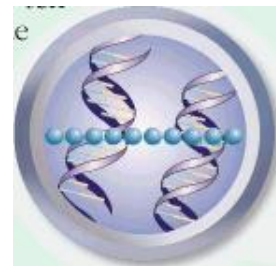
~1 μm

冠状病毒



100 nm

DNA分子



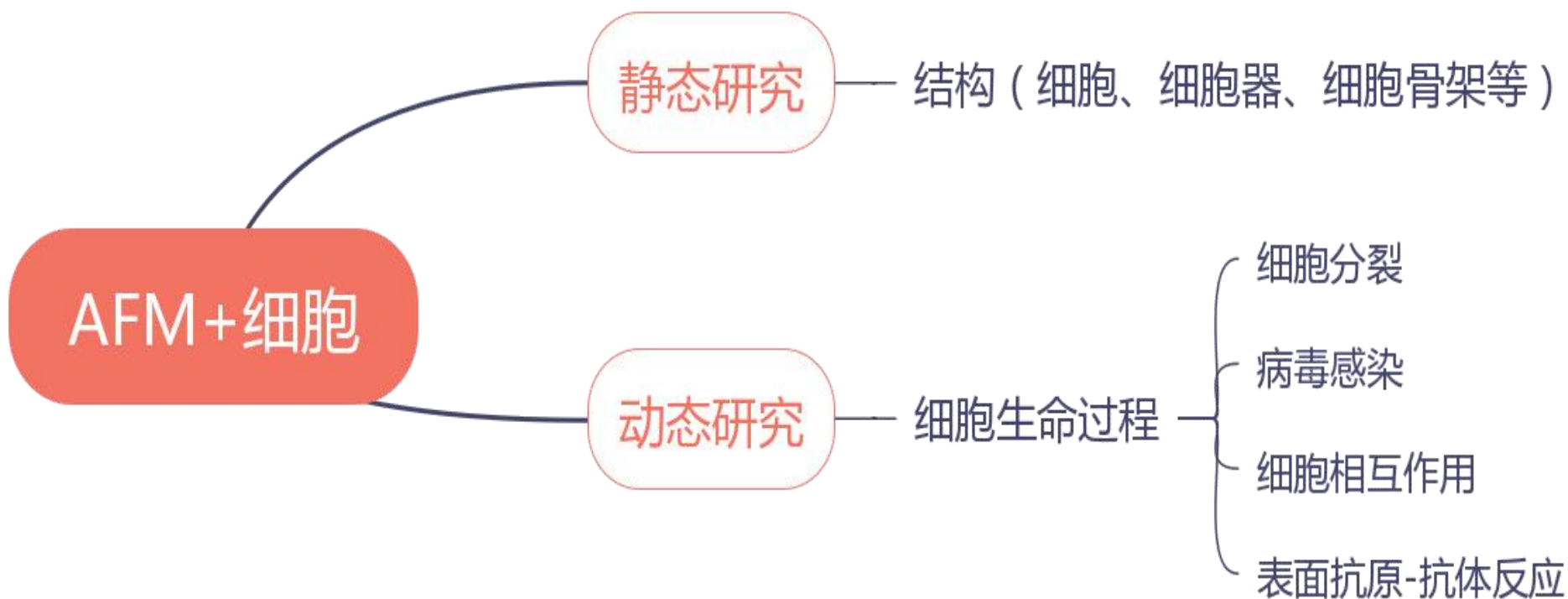
2 nm

氢原子

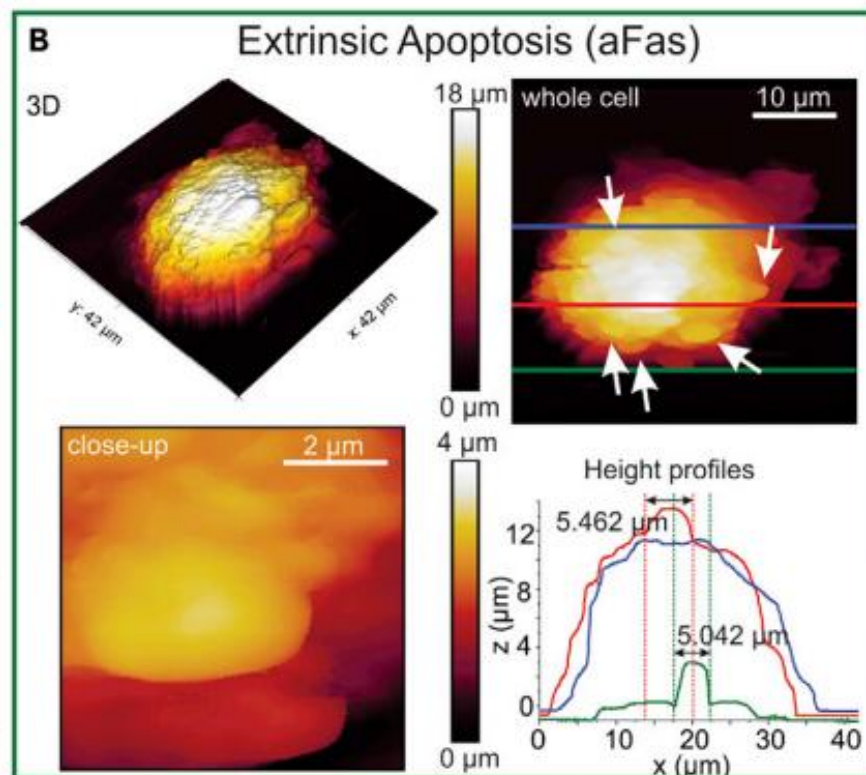
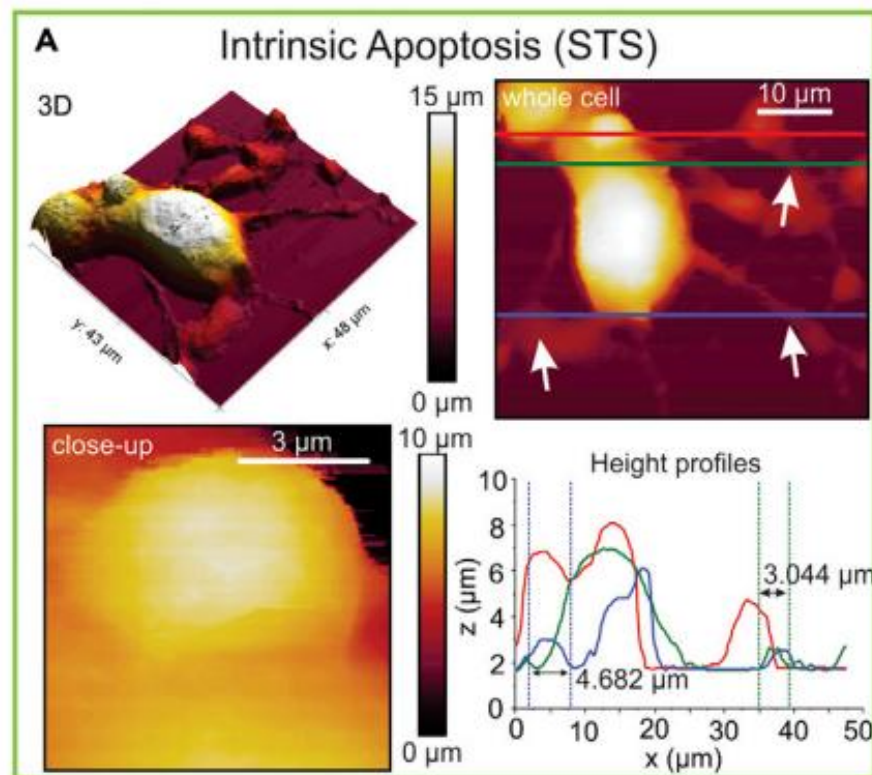


0.1 nm

从研究对象——细胞



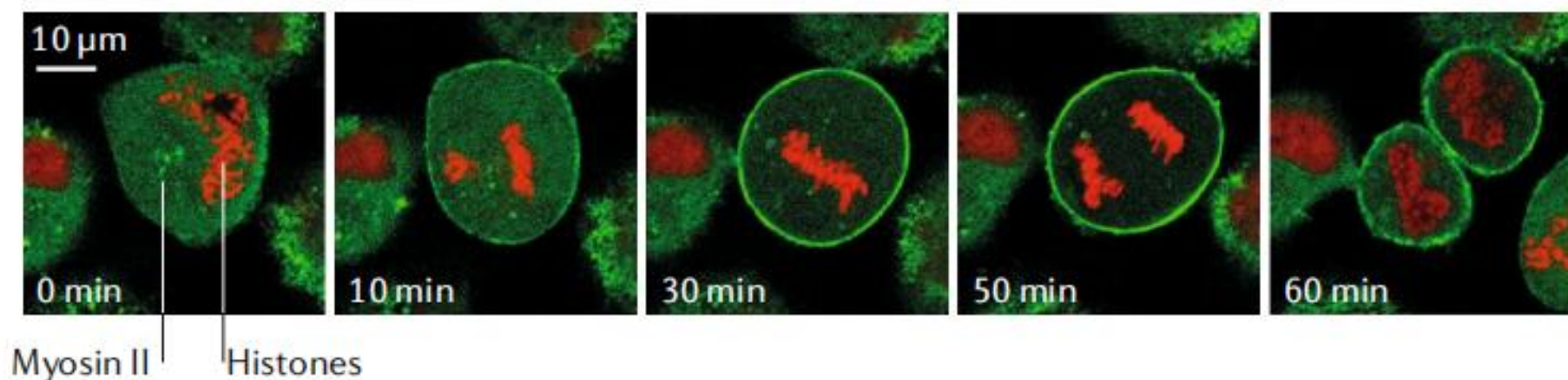
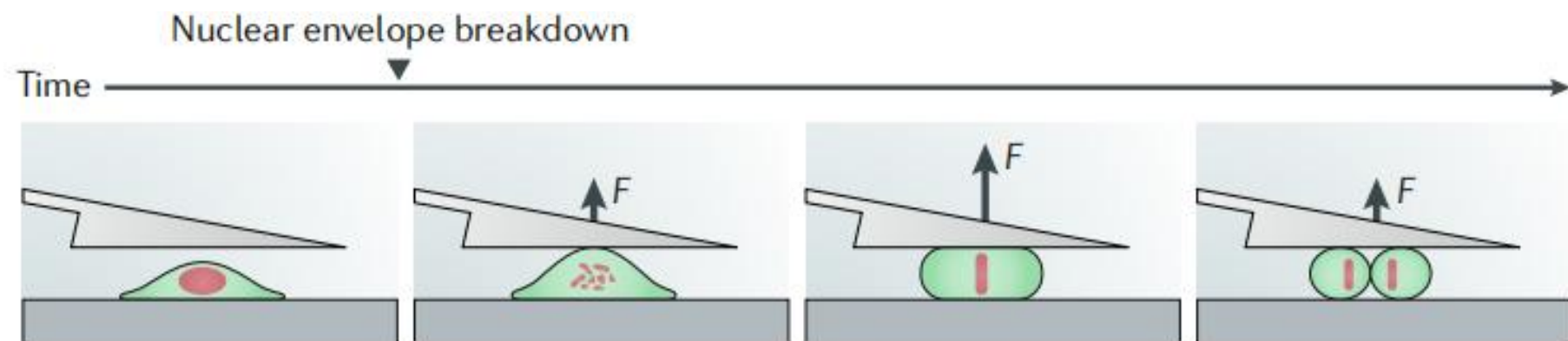
从研究对象——细胞



L929小鼠纤维肉瘤细胞的内源性凋亡和外源性凋亡特征

iScience, 23, 101816(2020)

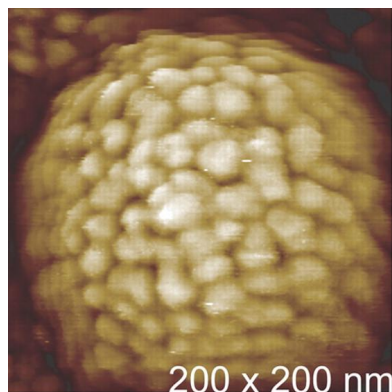
从研究对象——细胞



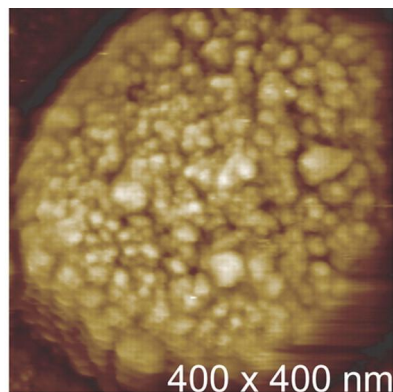
HeLa细胞的有丝分裂过程及力学特性

Nature Reviews Physics, 1, 41 (2019)

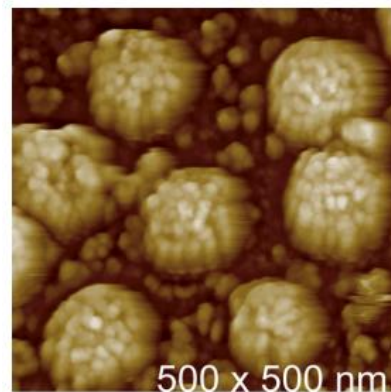
从研究对象——病毒



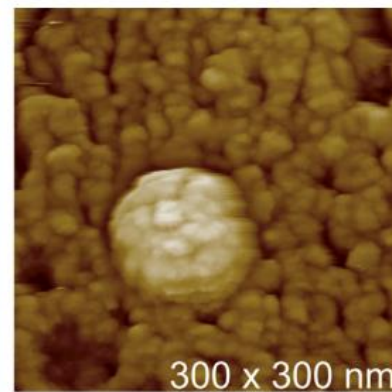
a



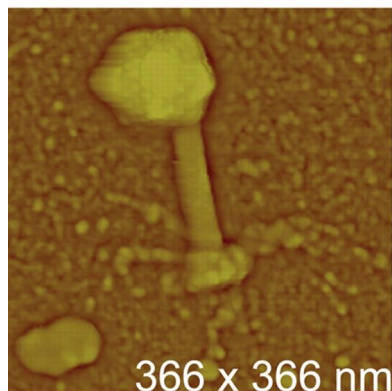
b



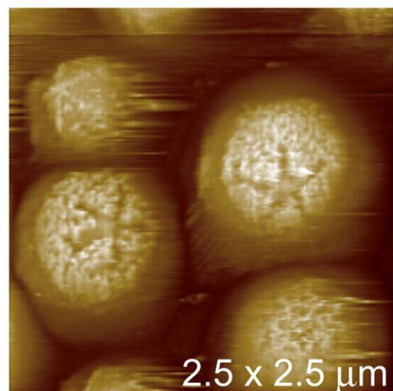
a



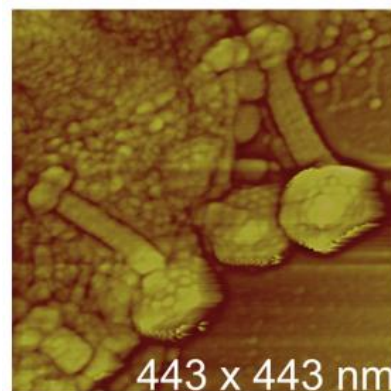
b



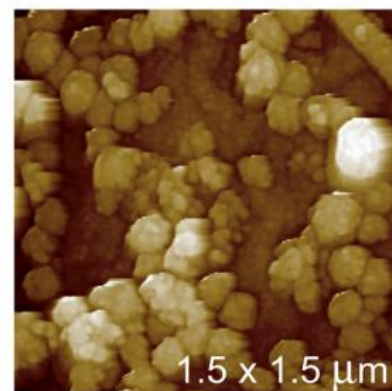
c



d



c



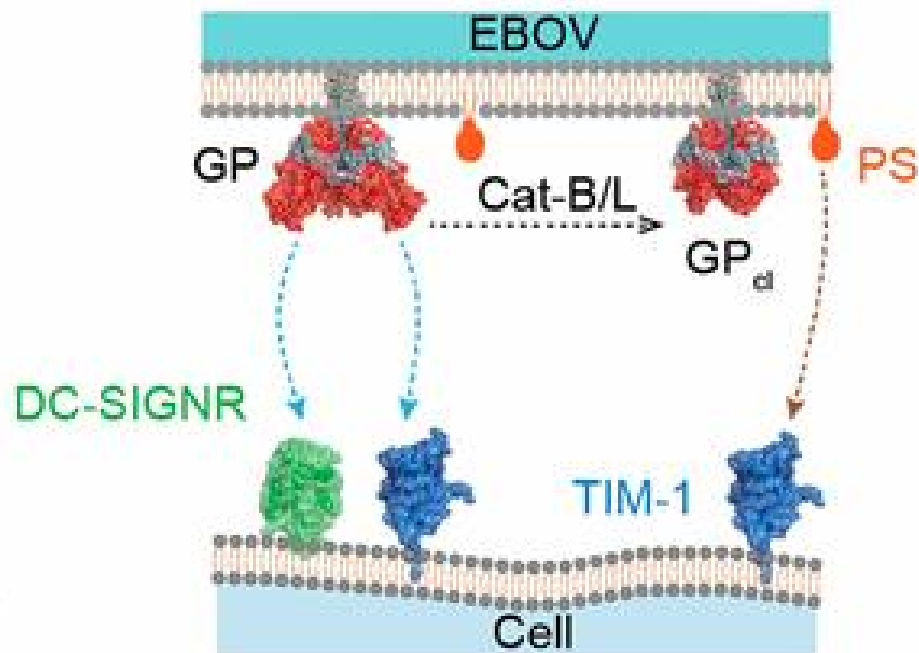
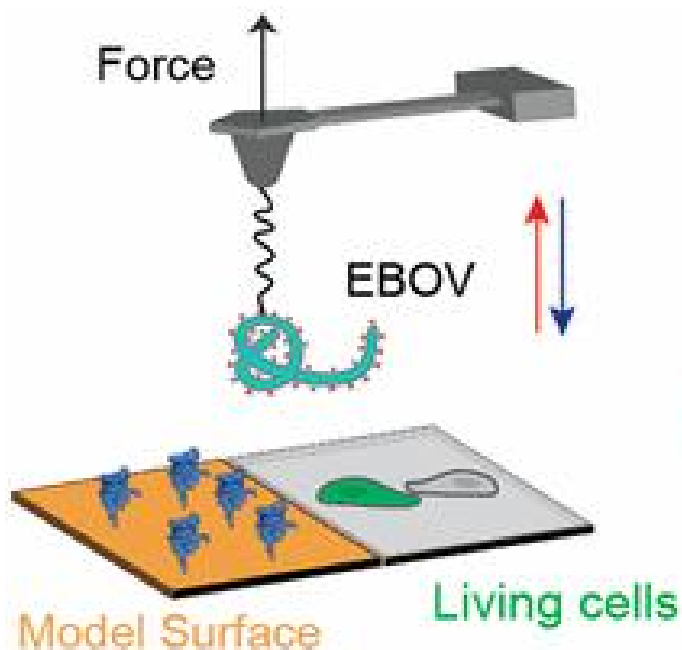
d

Moloney鼠白血病毒、痘苗病毒粒子、噬菌体、拟菌病毒形貌

病毒入侵细胞后，从细胞内长出

MMBR, 75(2), 268 (2011)

从研究对象——病毒



AFM研究磷脂酰丝氨酸 (PS) 受体 (TIM-1) 和 C 型凝集素受体 (DC-SIGNR) 和埃博拉病毒 EBOV 糖蛋白 (GP) 之间的结合力，观察到两种受体都以高亲和力特异性结合 GP。由于 TIM-1 也可以在单分子水平上直接与 PS 相互作用，证实了 TIM-1 可作为 EBOV 的双功能受体。

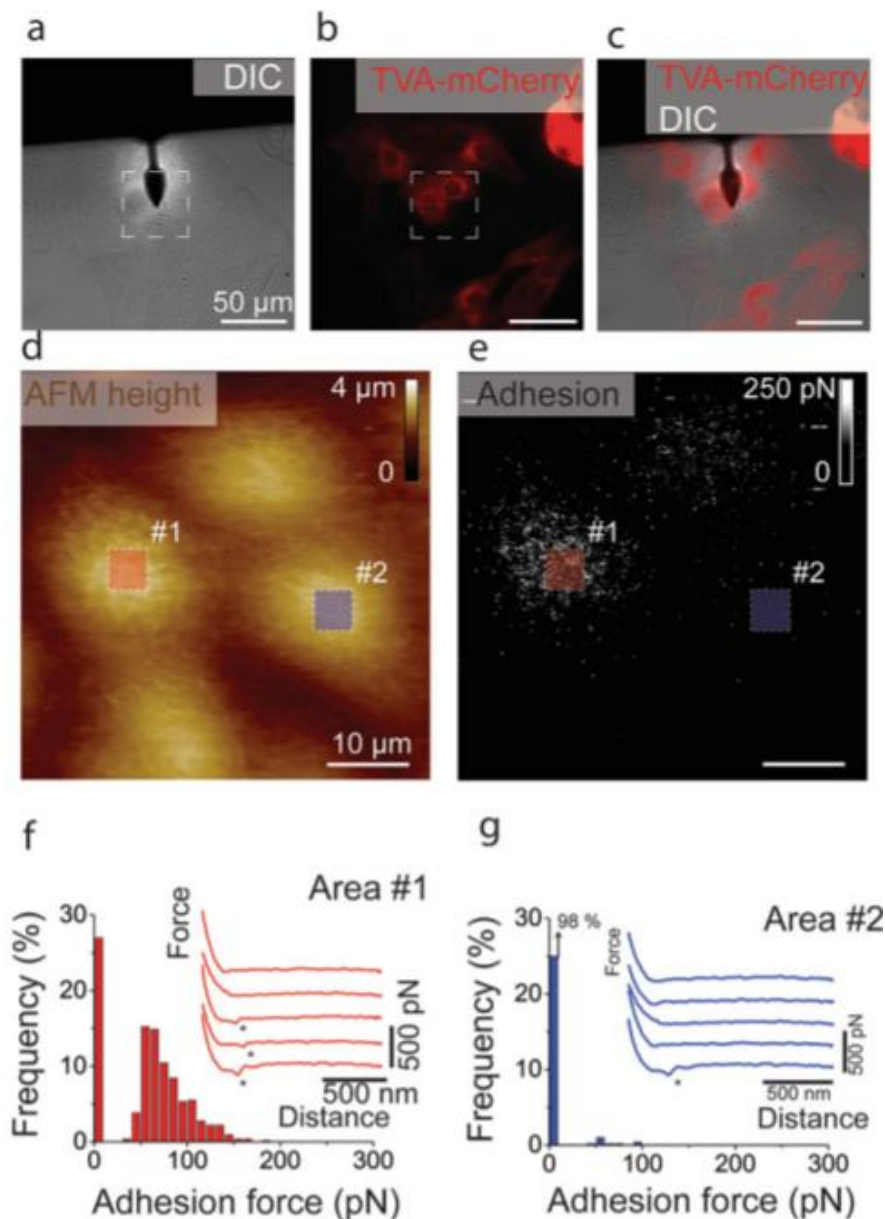
Nano Letters, 22(4), 1641(2022).

从研究对象——病毒



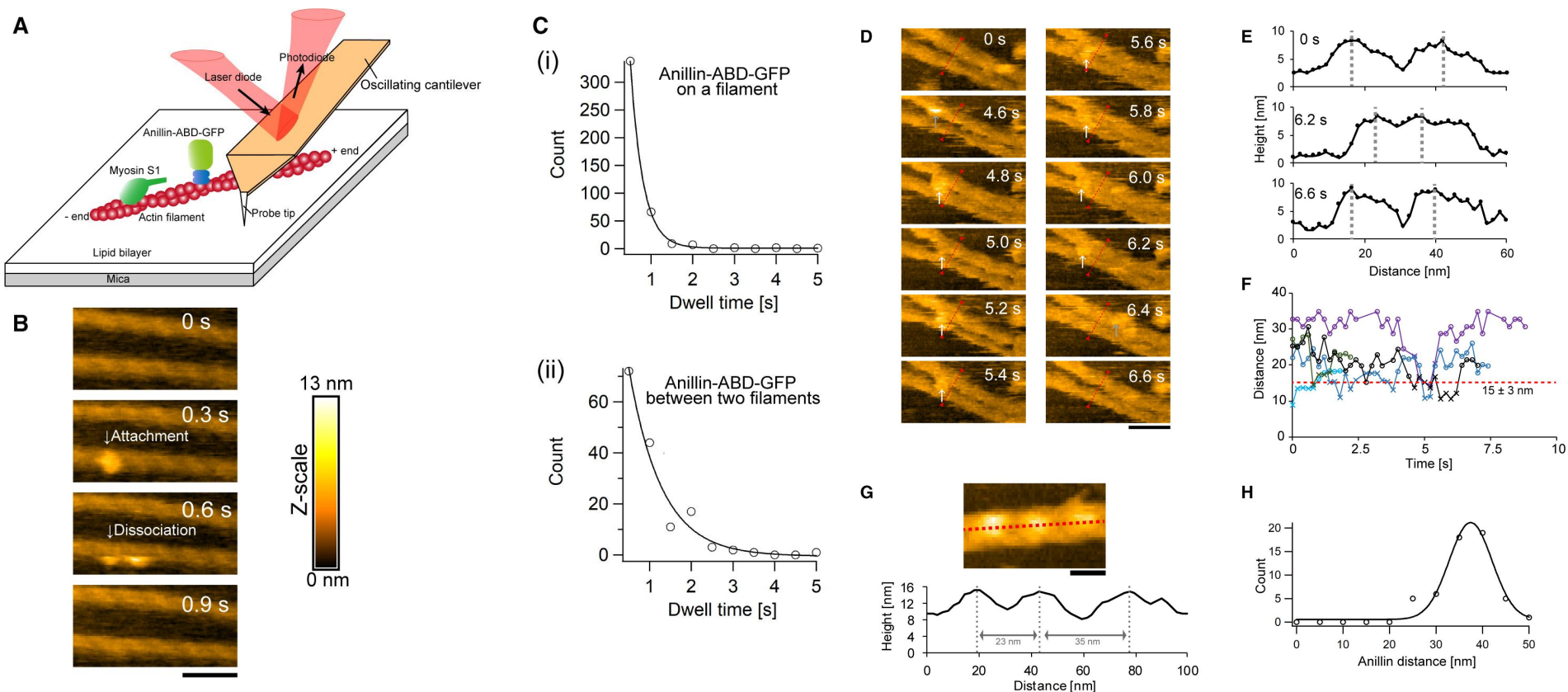
AFM研究病毒与活哺乳动物细胞的结合位点的力学特性。

(d, e) AFM height image and adhesion map of cells recorded in the dashed square shown in (a, b).
(f, g) Distribution of adhesion forces measured between the virus-derivatized AFM tip and two areas of cells highlighted in (d, e).



Nanoscale Imaging, 1814, 483(2018)

从研究对象——蛋白质/多肽

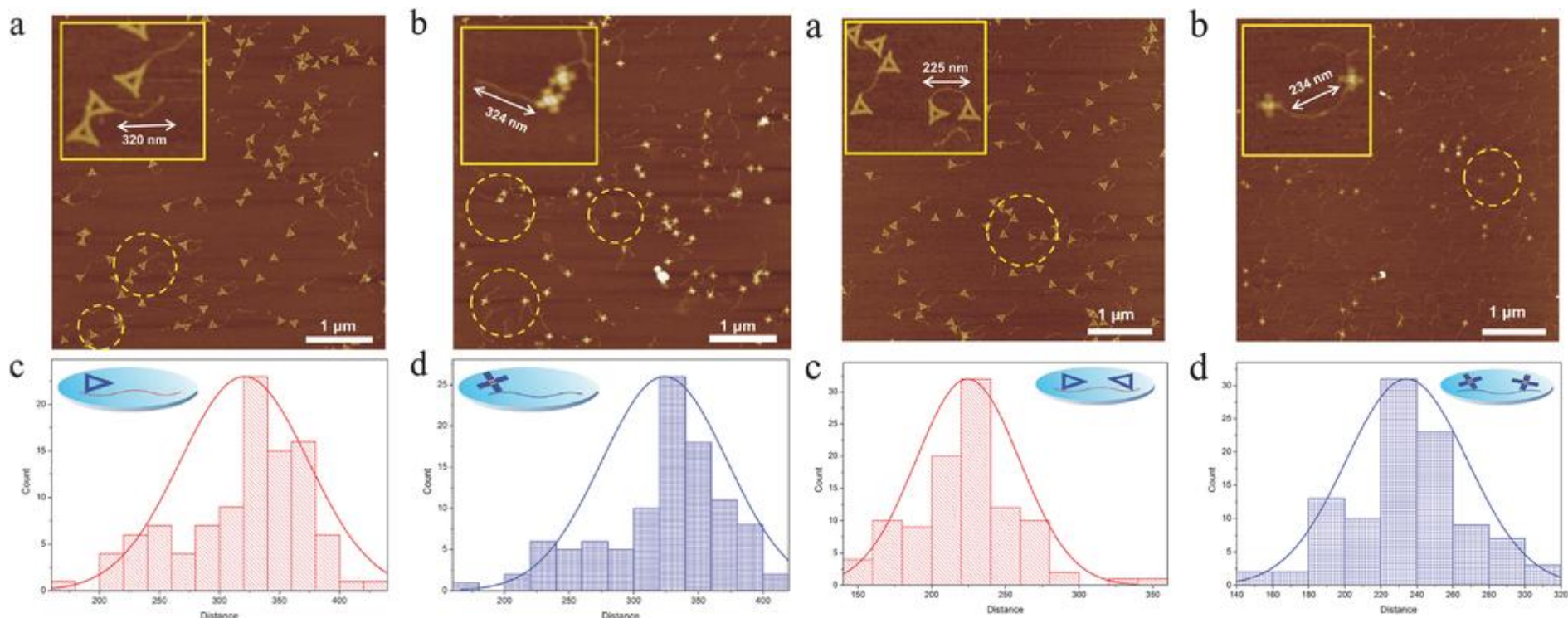


AFM揭示肌动蛋白 - 苯胺相互作用的肌动蛋白动态交联过程。肌球蛋白S1(绿色)和结合在肌动蛋白细丝(红色)上的Anlin-Abd-GFP(蓝黄色)，**亚秒级**时间分辨率观察了苯胺驱动的肌动蛋白交联过程，并量化了交联极性和距离。

FEBS letters, 594(8), 1237(2020)

立德立行 求是求新

从研究对象——DNA/RNA



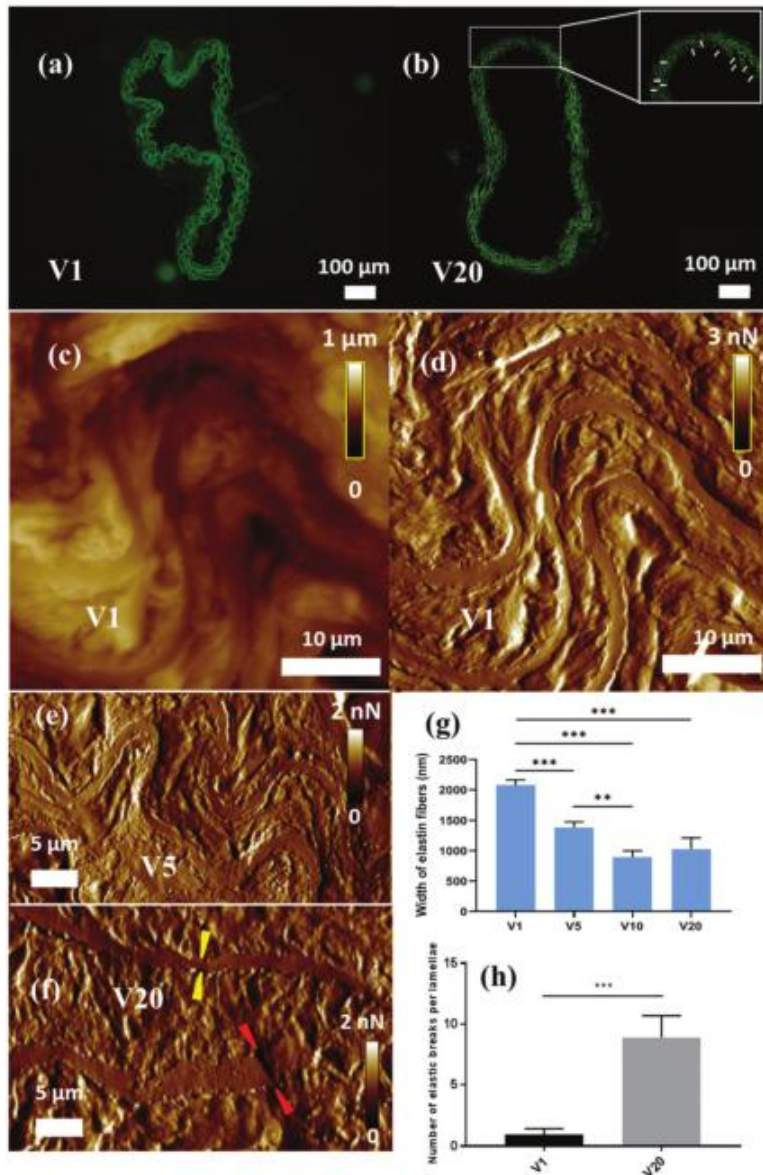
用单、双个DNA折纸形状ID进行乙型肝炎病毒 (HBV) 的基因分型试验。
三角形 ID 与目标模板特异性杂交并鉴定出基因型 C；十字形 ID 识别基因型 B。

Small, 14(6), 1701718 (2018)

从生物医学研究领域——心脑血管



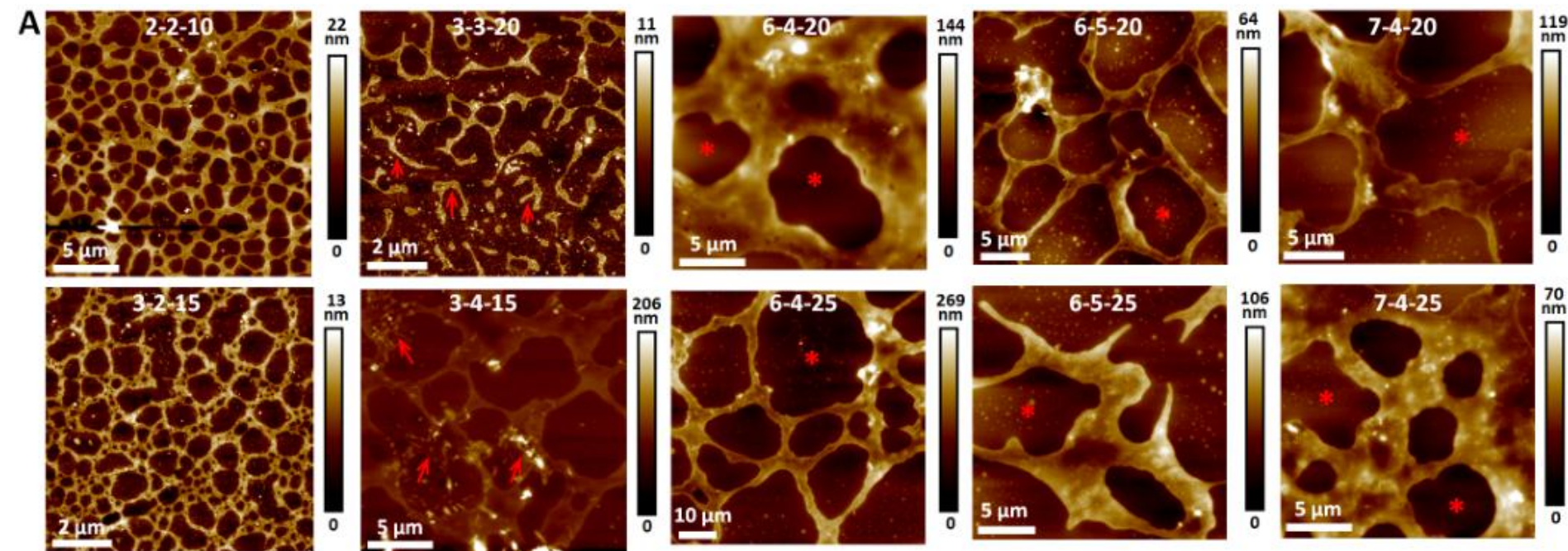
AFM评估1、5、20月小鼠动脉纤维老化过程中弹性纤维断裂和宽度。



Fluorescence imaging of aorta sections from (a) V1 specimen, and (b) V20 specimen. (c) AFM topographical image of aorta section from V1 specimen and (d) associated AFM PeakForce error image of aorta section from V1 specimen; (e) AFM PeakForce error image of aorta section from V5 specimen and (f) AFM PeakForce error image of aorta section from V20 specimen. (g) Histogram of the width of the elastic fibers taken from PeakForce images for the different conditions. (h) Quantification of the elastic breaks per lamella. Thick and homogeneous elastin fibers parallel to each other with very little extracellular matrix in between can be seen in V1.

Nanoscale, 13, 1124 (2021)

从生物医学研究领域——组织工程



应用AFM研究不同成分配比构建水凝胶支架的多孔性和力学性能，以及水凝胶支架降解过程中的纳米级微观结构和力学动力学特性，获得性能最优的配比方案。

IEEE TRANSACTIONS ON NANOBIOSCIENCE, 18(4), 597(2019)

从生物医学研究领域——干细胞

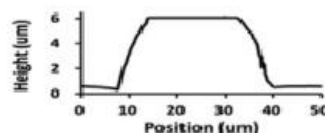
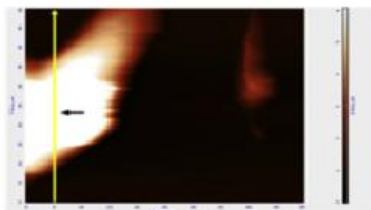
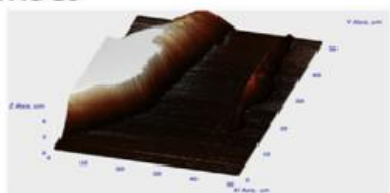


Topography

2D image

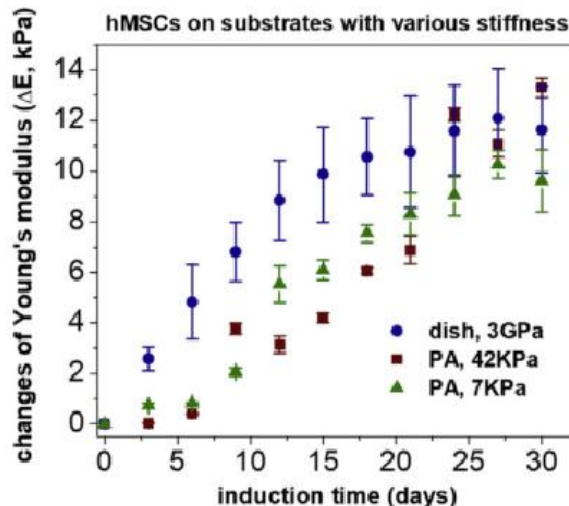
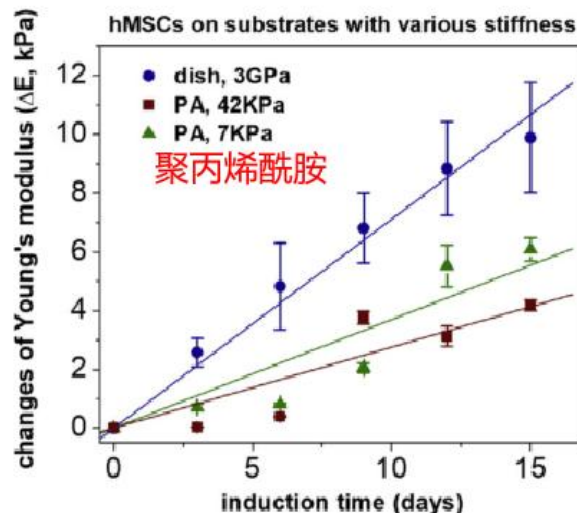
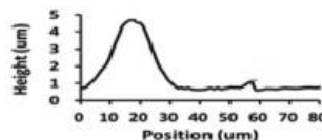
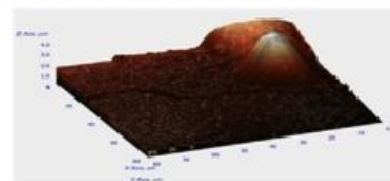
Height profile

MSCs



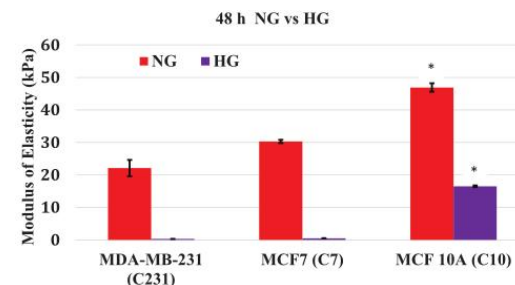
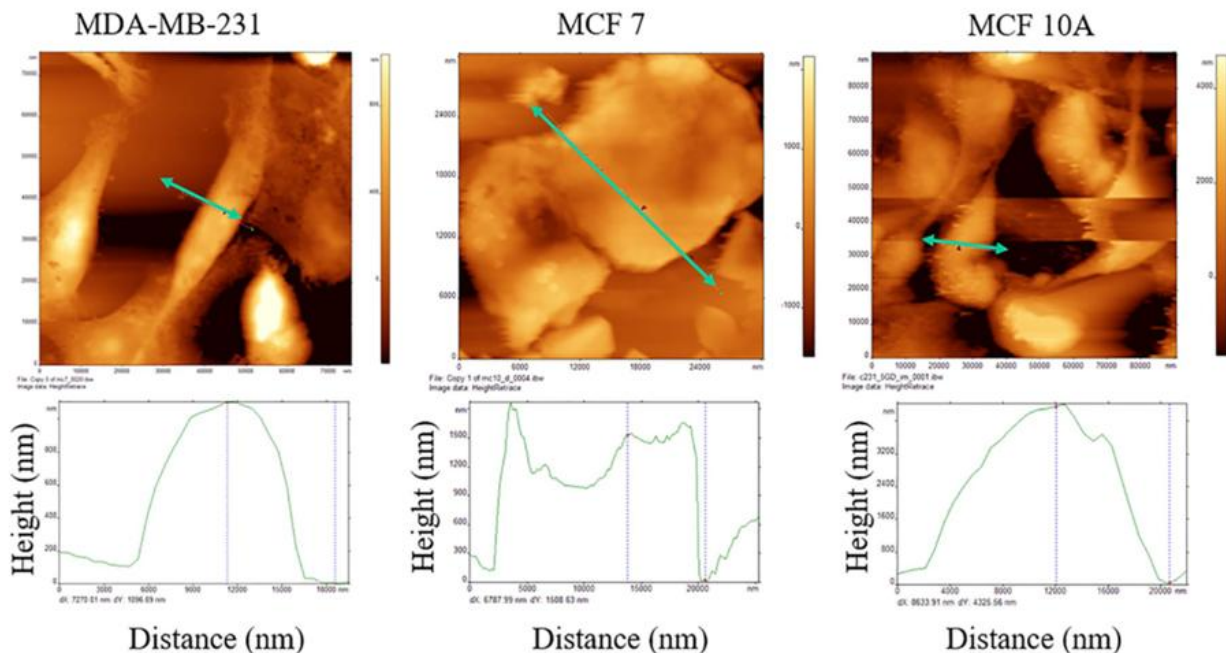
成骨分化下骨髓间充质干细胞 (MSCs) 的AFM形貌图

Differentiated MSCs



不同刚度基质上培养的成骨分化间充质干细胞的杨氏模量随诱导时间的变化。

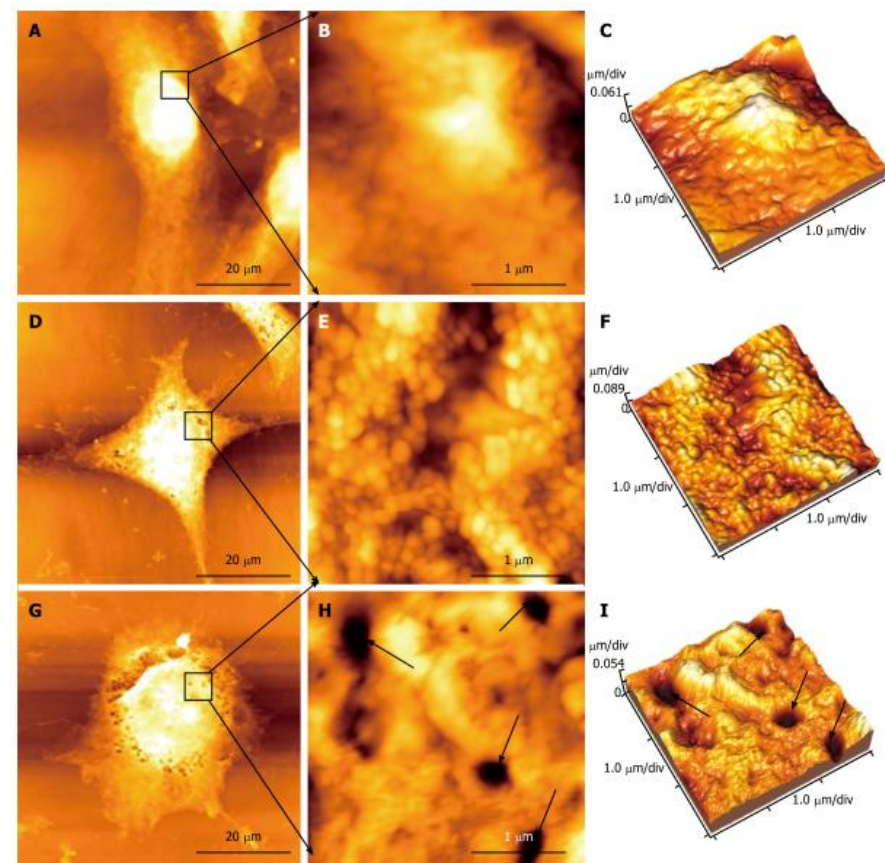
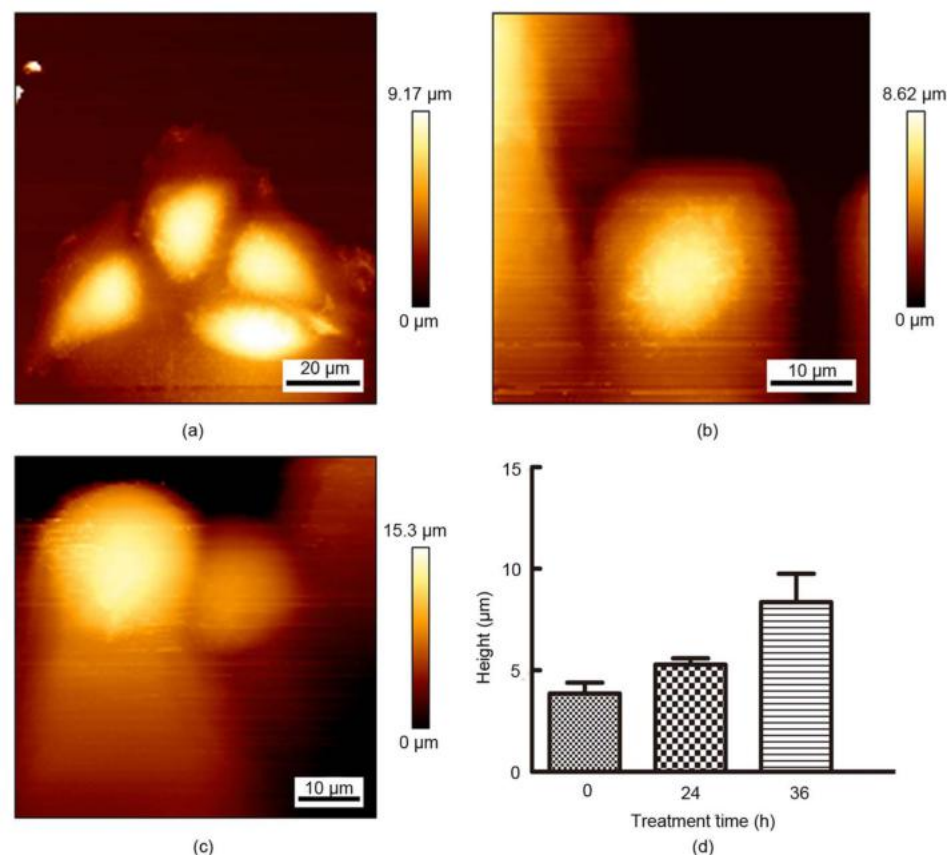
从生物医学研究领域——肿瘤



正常乳腺上皮细胞(MCF-10A)、非浸润性乳腺癌细胞(MCF-7)和浸润性乳腺癌细胞(MDA-MB-231)。

正常血糖条件下，良性细胞(MCF-10A)的杨氏模量高于恶性细胞；在高糖的情况下，癌细胞表现出完全的弹性丧失。

从生物医学研究领域——肿瘤



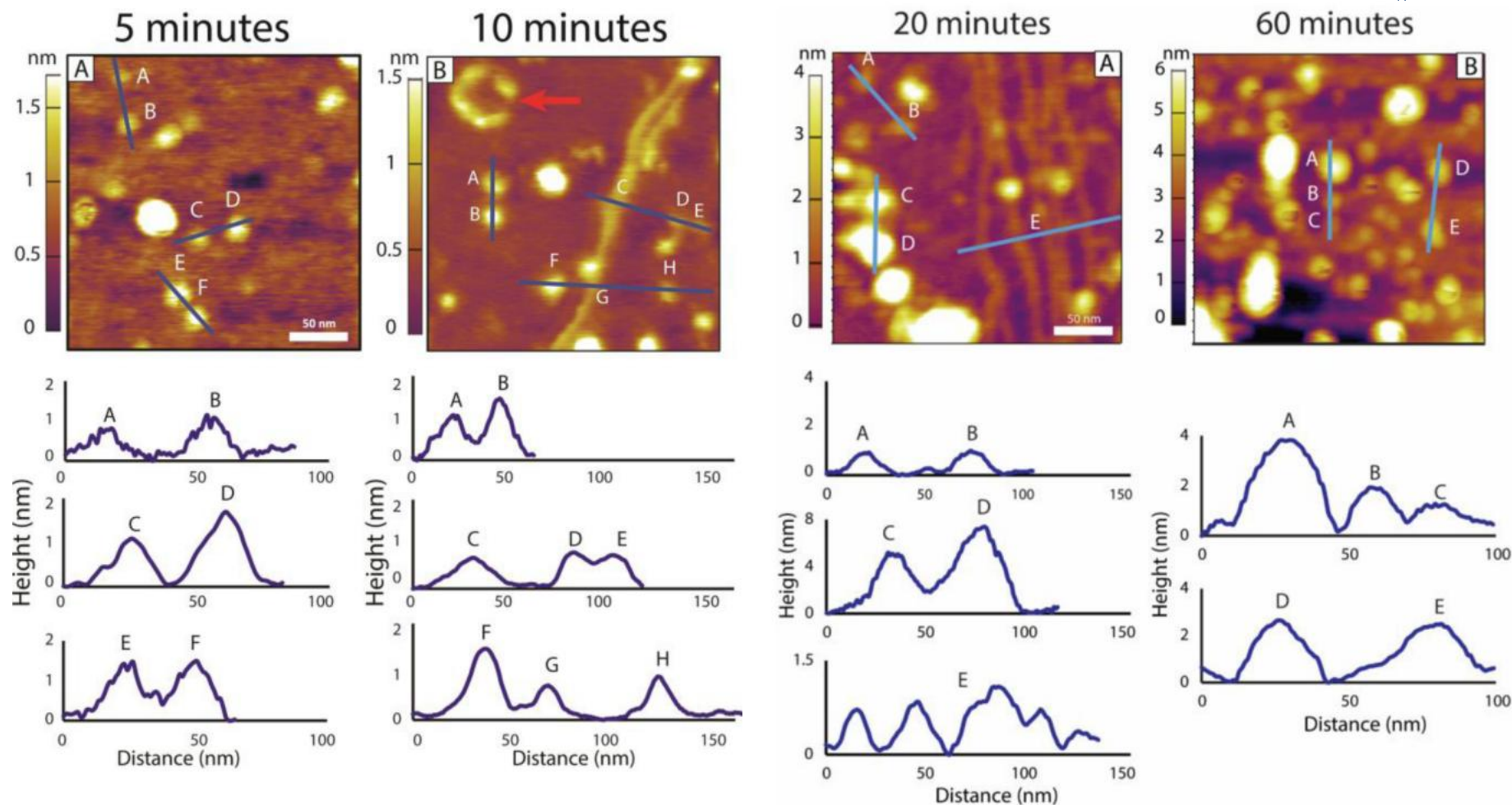
- 西洋参根水提取物(AGRWE)处理肝癌细胞(SMMC-7721)后, 其AFM形貌随时间的变化。

Micron, 104, 1(2018);

- 不同浓度华蟾素处理人肝癌细胞(HepG2)形态和超微结构的变化。

WJG, 21(3), 854(2015)

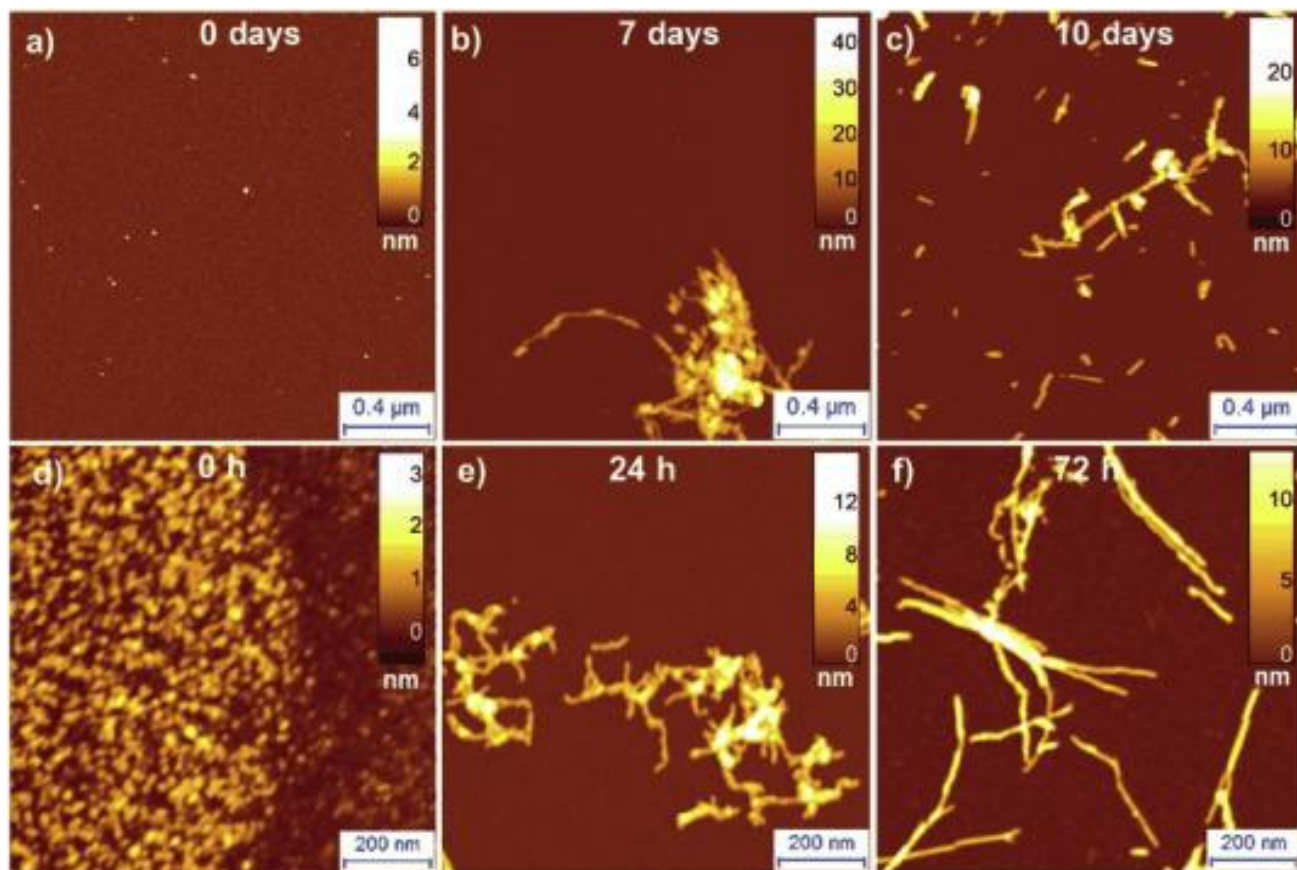
从生物医学研究领域——阿尔兹海默症



利用AFM研究了A β 42和A β 40的动态聚集过程，发现A β 42的六聚体和十二聚体是形成有毒神经纤维的种子。

JACS, 138, 1772 (2016)

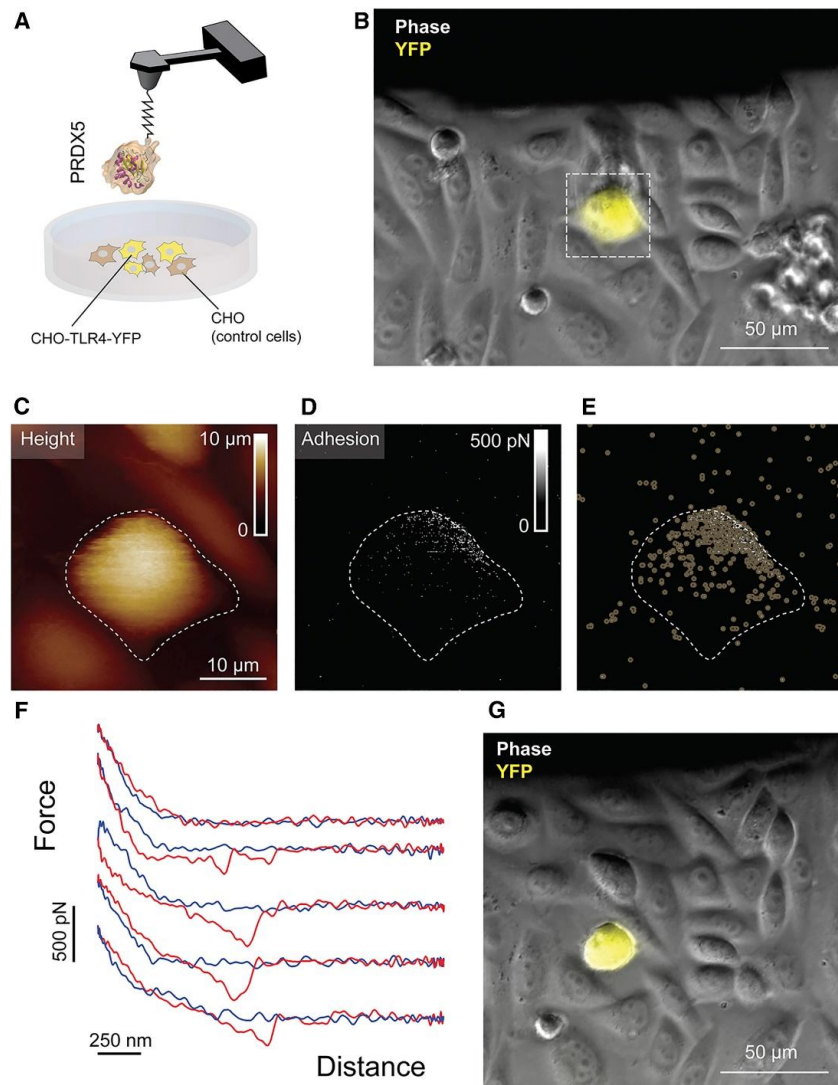
从研究对象——阿尔兹海默症



蛋白质聚集的单分子表征: AFM对 α -突触核蛋白(a-c)和A β 淀粉样蛋白(d-f)纤维形成过程。

Archives of biochemistry and biophysics, 664, 134(2019)

从生物医学研究领域——免疫学



荧光显微镜和 AFM 结合揭示 PRDX5 与 CHO-TLR4-YFP 细胞的结合

(A) Wild-type [CHO](#) cells were grown for 3 days before transfection with TLR4-YFP plasmid producing CHO-TLR4-YFP cells expressing TLR4-YFP (yellow).

(B) Superimposition of phase image and YFP channel showing a confluent layer of CHO cells with sparsely distributed CHO-TLR4-YFP cells.

(C) AFM height image recorded in the dashed square shown in (B).

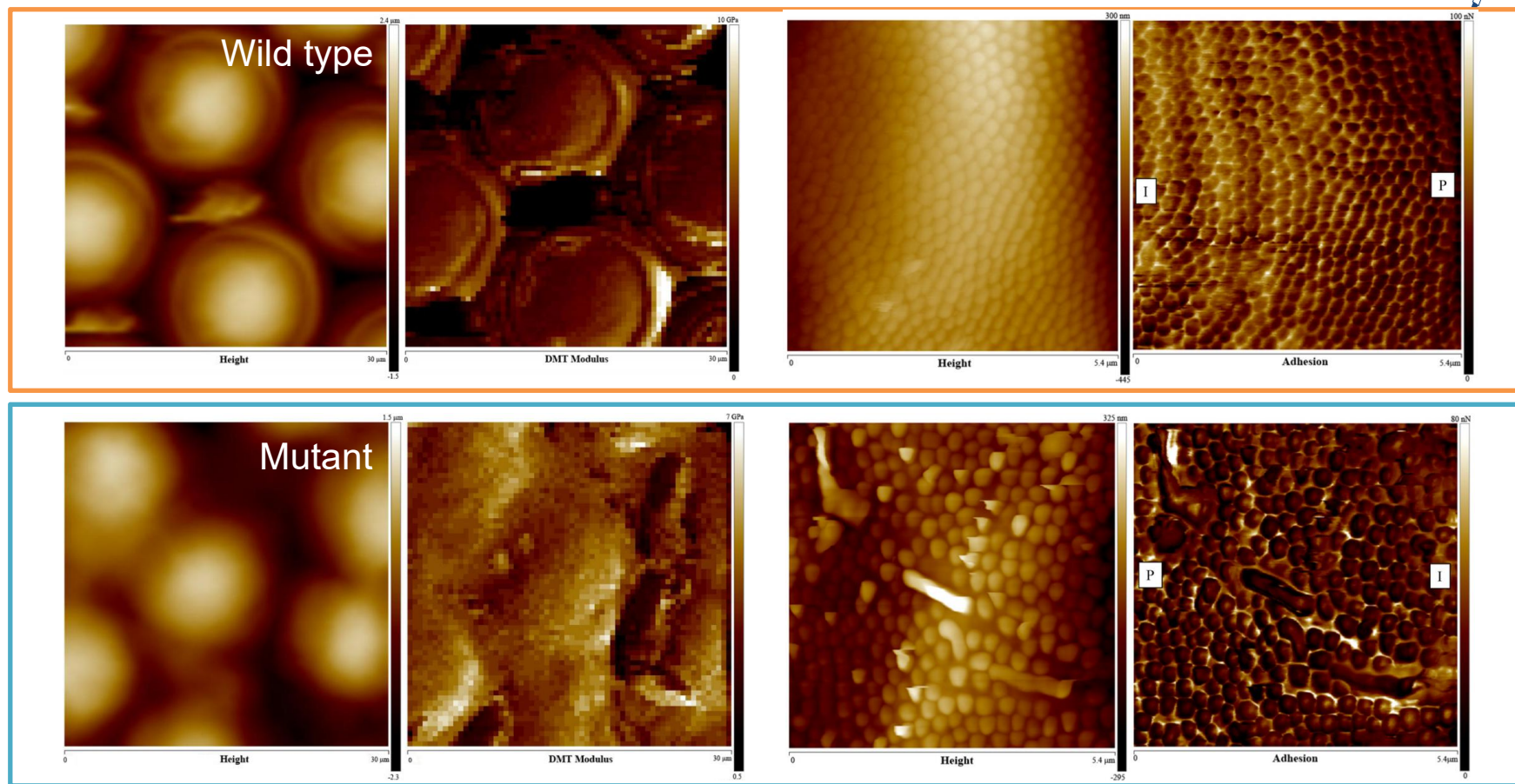
(D and E) Adhesion image with adhesive pixels enlarged in (E). Vertical color scales are given in the upper right corner.

(F) Representative FD curves recorded from CHO-TLR4-YFP cell.

(G) Superimposition of phase image and YFP channel recorded at the end of the FD-based AFM imaging. Experiments were reproduced ten times.

Cell Chemical Biology, 25, 5(2018)

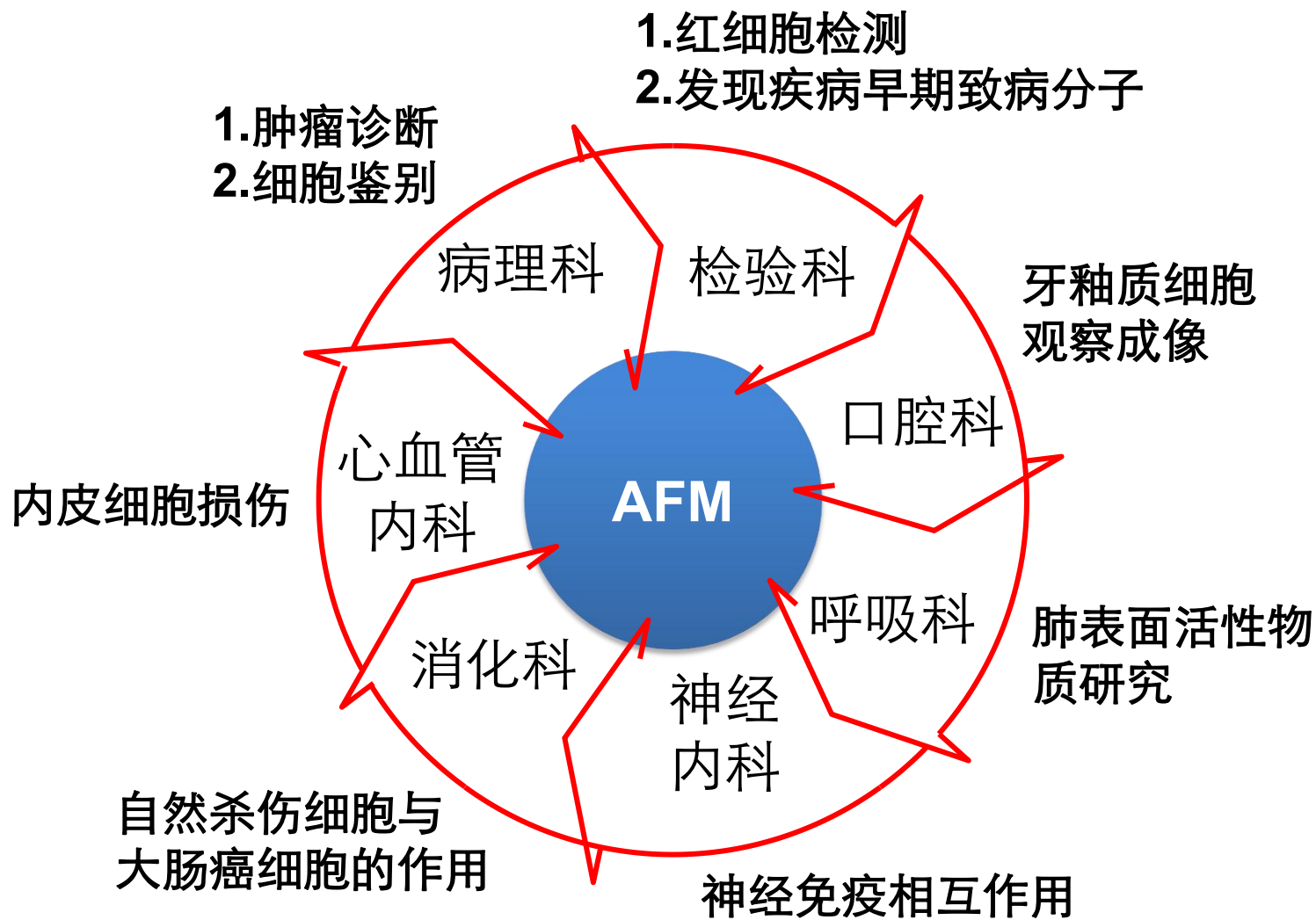
从生物医学研究领域——遗传学



利用AFM通过力学特性来量化黑腹果蝇rough eye表型。
利用AFM研究野生型和突变型黑腹果蝇复眼的形貌和粘附力分布，
以区分由于黑腹果蝇眼中的基因修饰产生的物理变化。

Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, 53(2016)

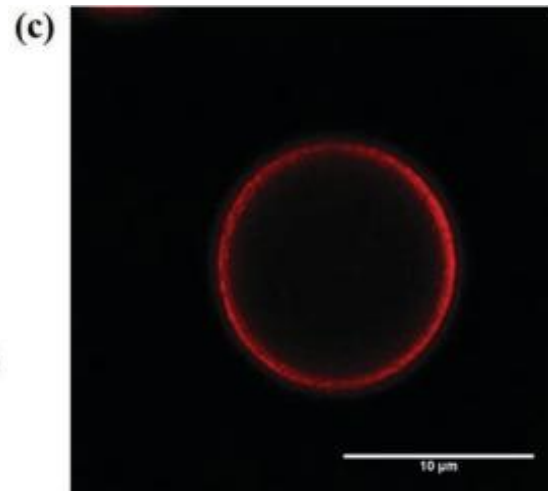
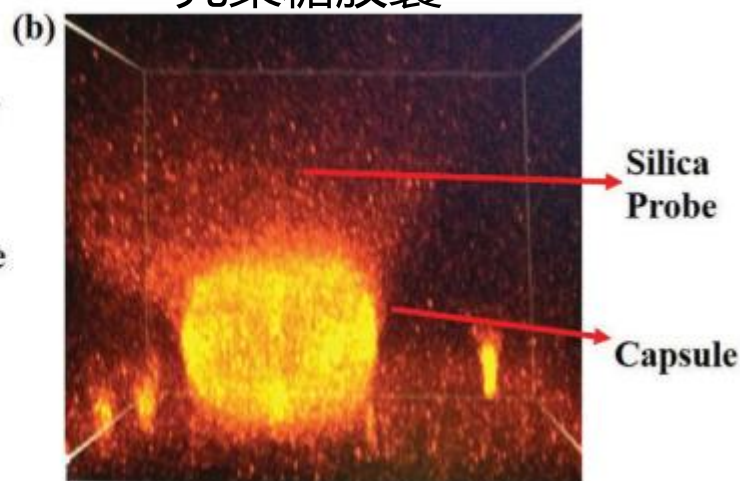
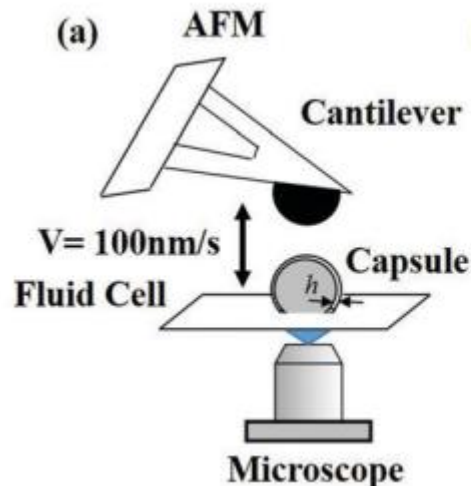
AFM与临床医学



AFM高级研究手段—AFM+荧光



壳聚糖胶囊



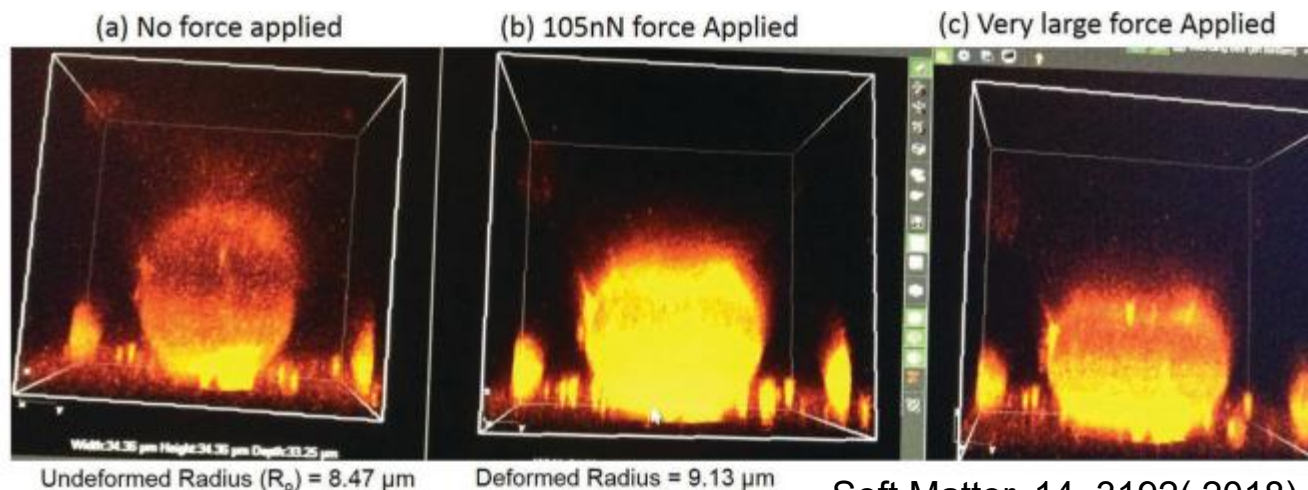
普通荧光：200nm分辨率。
共聚焦：150nm横向分辨率；300-500nm轴向分辨率。

可实现功能：

- 荧光显微镜自身功能
- AFM+荧光：
 - ✓ 目标定位
 - ✓ 放大荧光特性区域
 - ✓ 物理刺激下的荧光效应

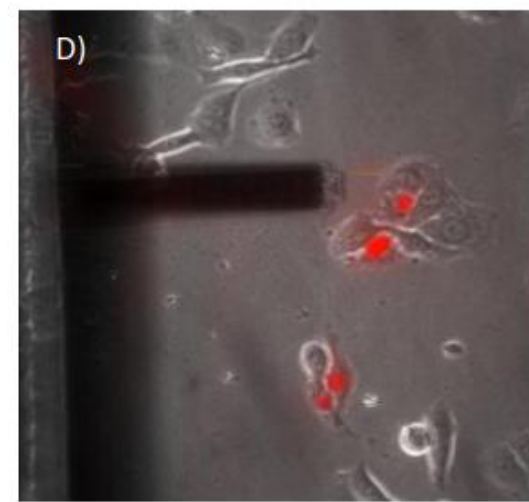
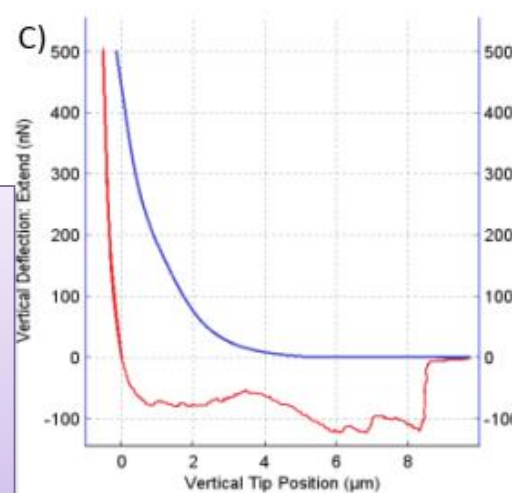
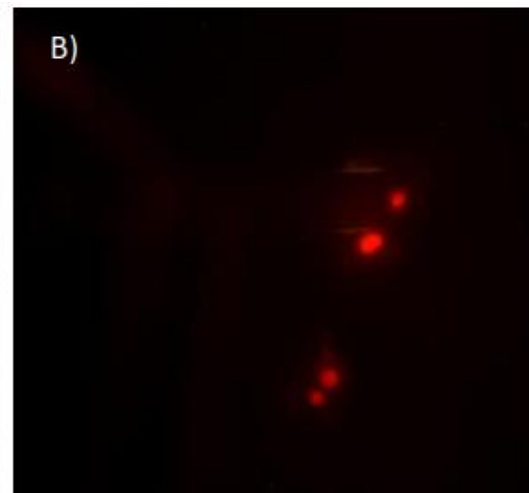
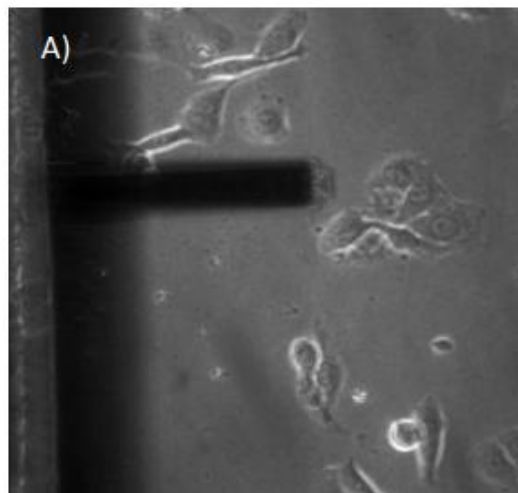
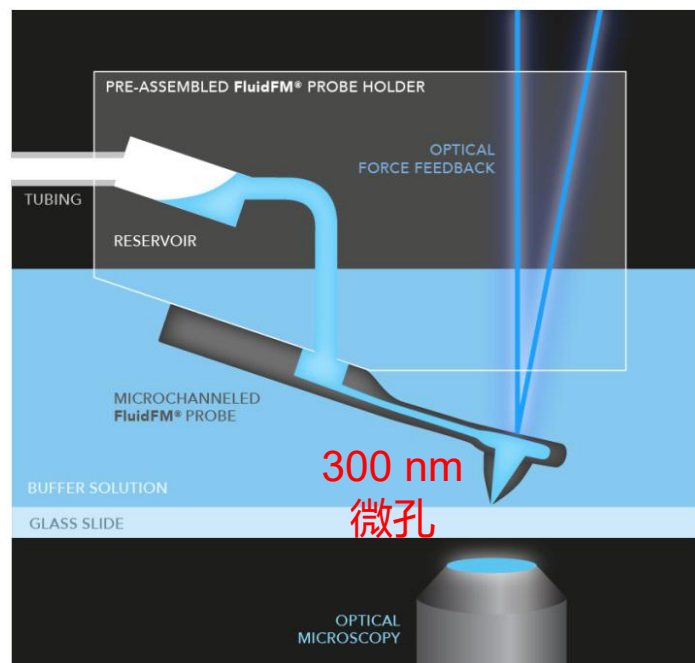
激光扫描三维图

激光扫描二维图



Soft Matter, 14, 3192(2018)

AFM高级研究手段—AFM+微流通道+荧光



可实现功能：

- 纳米操纵：力学
- 单细胞注入：生物化学、药物输送、基因编辑
- 单细胞内容物提取：PCR扩增
- 纳米打印：生物传感

碘化丙啶纳米注入细胞进行DNA染色

AFM高级研究手段—AFM+Raman

恶性胶质瘤细胞U87-MG

Raman特点:

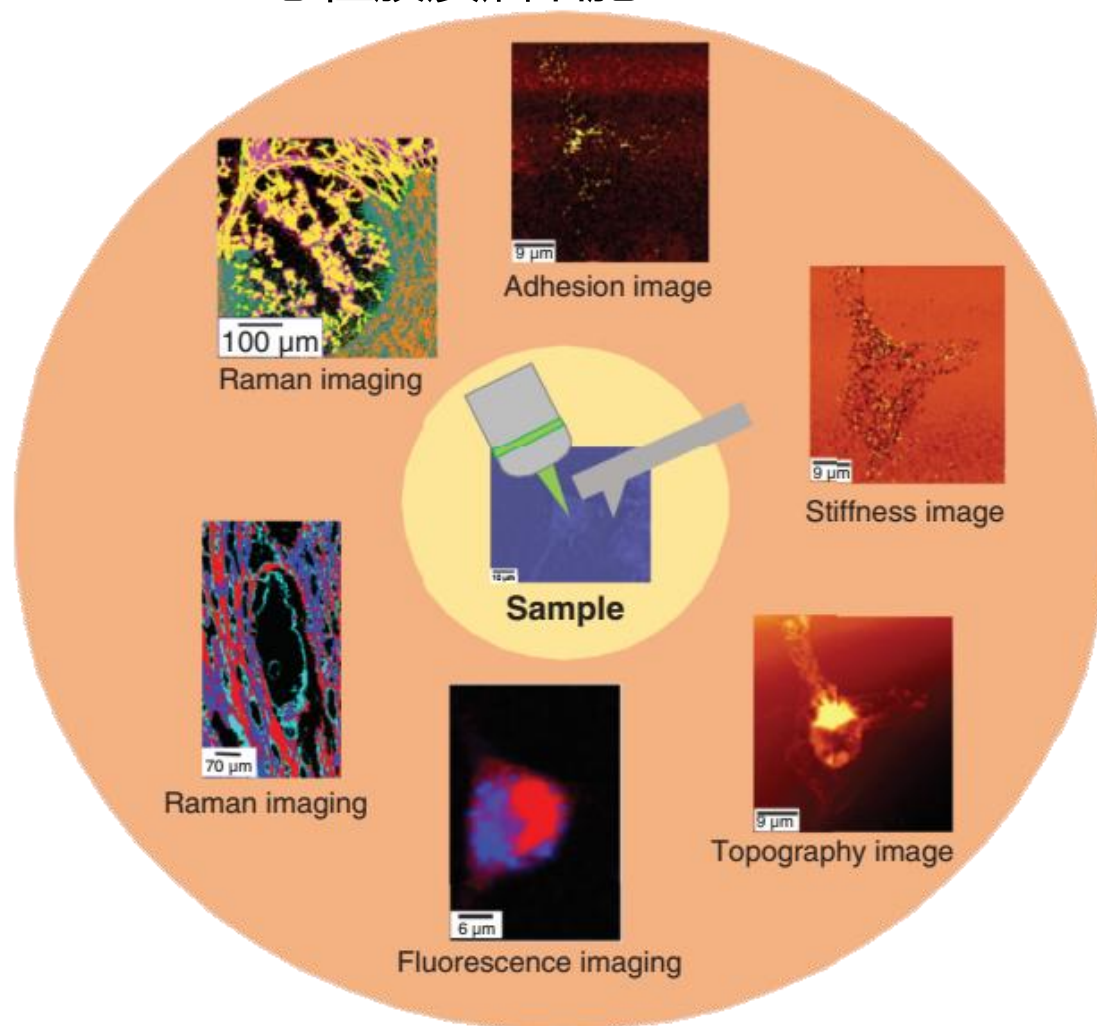
- 0.5-1 μ m分辨率。
- 无损
- 无需标记

AFM:

- 形貌
- 硬度
- 粘附力

Raman

- 化学成分
- 结构

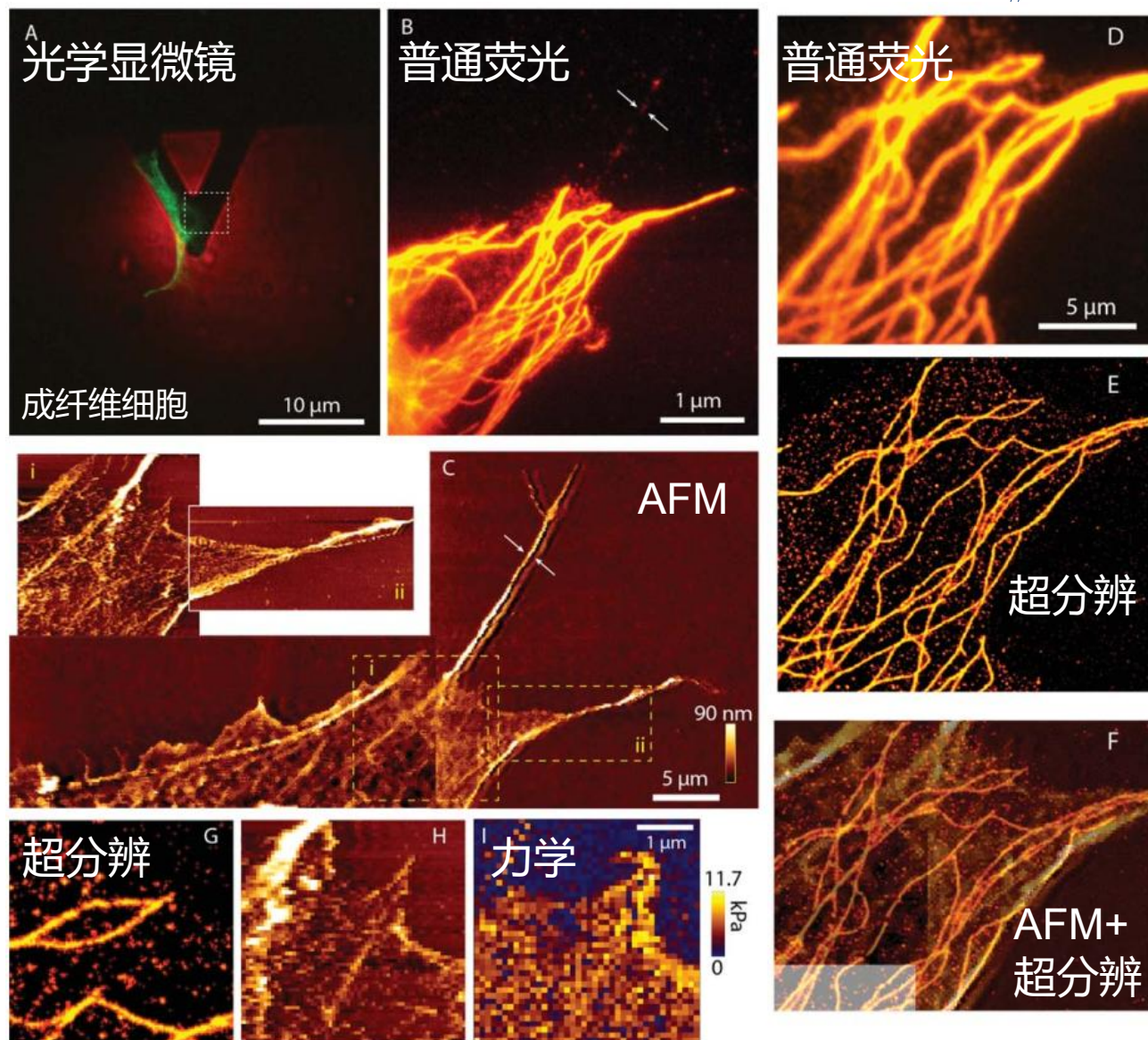


AFM高级研究手段—AFM+超分辨显微镜

20nm横向和50nm轴向分辨率，从分子层面揭示生命过程的微观机制成为可能

成纤维细胞：

- AFM:
 - ✓ 形貌、力学、电学、.....
- 超分辨显微镜:
 - ✓ 静态：细胞微管、线粒体、突触等
 - ✓ 动态：分子相互作用、细胞分裂、蛋白质聚合等



Cytoskeleton (Hoboken). 70(11):729-40, 2013.



优势互补，携手创新
谢谢！