

扫描隧道显微术研究脂双层表面结构

苏雅娴 许三多 林克椿

(北京医科大学细胞生物、生物物理教研室)

罗常红 朱传凤 阮理科 黄桂珍 戴长春 陈增治 白春礼

(中国科学院化学所扫描隧道显微实验室)

摘 要

扫描隧道显微术可用于研究生命物质表面结构,为人类认识生物物质的微观世界打开一条新途径。本文探讨国产扫描隧道显微镜直接观测脂双层膜表面分子的排布,以线扫描像和灰度扫描像显示出脂双层膜上磷脂头部的排列。

引 言

扫描隧道显微技术(Scanning tunneling microscopy,简称STM)是80年代发展起来的一种新技术^[1,2]。由于其在探测物质表面精细结构方面的成就与前景获得1986年诺贝尔物理学奖。这一技术也为人们在认识生物物质的微细结构开辟了一条新的途径。然而到目前为止,由于生物材料的导电性较差,因而成功的例子还不多。对于DNA分子已能在水溶液中进行测定,第一次直接显示了这种分子的双螺旋结构^[3]。在生物膜的研究方面,仅有几篇报导如处于 L_p 相的卵磷脂^[4]而且是通过表面复型的方法测出的。

本文用扫描隧道显微术直接探测置放在“不锈钢片”上的卵磷脂脂质体双层膜表面的分子排布。为使生物样品导电性的增强做了新的尝试,并为直接观测卵磷脂分子头部的排布得到新的信息。

材料与方 法

卵磷脂(phosphatidylcholine, PC): 美国Sigma公司。

氯仿: 化学纯, 无离子水: 本校药厂, 不锈钢片: 用不锈钢剃胡刀断裂而成,

旋转蒸发器: ZFQ—85A, 上海医疗器械专机厂,

超声波发生器: CQ250, 上海超声波仪器厂,

扫描隧道显微镜 880: 中国科学院化学所。

实验步骤

1. 磷脂双层膜脂质体的制备^[5]

取2.5毫克卵磷脂溶于1毫升氯仿, 装于小鸡心瓶中, 在旋转蒸发器上旋转, 真空下抽干1小时, 瓶壁上形成薄透明层, 用0.5毫升无离子水水化, 脂膜呈稍混浊悬液, 在超声波发生器的水浴中超声5次, 每次1分钟, 成透明脂质体悬液。取10微升直接滴在经有机溶剂和无离子水处理过的5mm²大小的不锈钢薄片上(一般文献上用钢网), 放入防尘的玻璃皿中自然凉干。

本文由国家自然科学基金重点课题资助

以导电胶将不锈钢片固定在样品架上测试, 温度为 22°C 。

2. 扫描隧道显微镜下测定:

该仪器的垂直分辨率为 0.1\AA , 平面分辨率 $<1\text{\AA}$, 可对膜表面进行分子水平的分辨。X, Y 方向的标度各为 400\AA , 取线扫描像和灰度扫描像。成像条件 Utip 探针的端点电压为 $80-90\text{mV}$, Itip 探针的隧道电流为 1nA 。所得结果用计算机处理。

实验结果与讨论

1. 卵磷脂双层膜表面的线扫描像:

图 1 显示脂质体膜上 PC 卵磷脂双层表面某区域的线扫描像。图中左下有平坦的曲线, 其

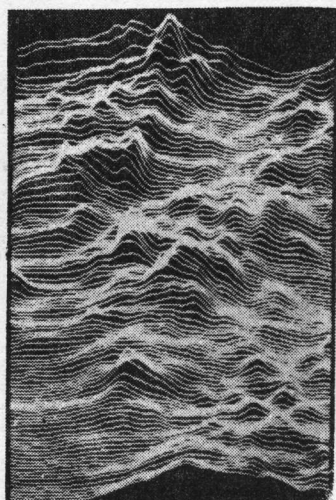


Fig 1 shows a line-plot image of scanning tunneling microscope which expresses the molecular arrangement of the head groups of phospholipids in various orientation on the bilayer of PC liposome. This is a three-dimensional plot.

其它部位分布着凸出的小山峰, 峰的高低不同。这些平坦区域和峰内部位都是一群磷脂头部所占据的空间范围。磷脂头部排列是各种取向的, 平坦区域表示头部与膜的水平面基本平行, 山峰内的头部与膜的水平面呈一定角度是各方向分布的。

图 2 显示脂质体膜上 PC 卵磷脂双层表面的另一部位的线扫描像。图中两侧有平坦的曲

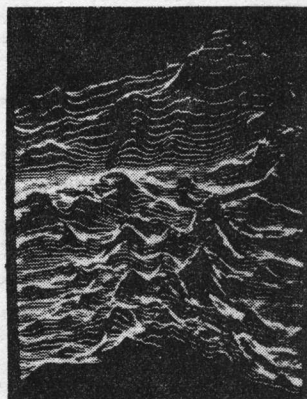


Fig 2 shows a line-plot image of another part on the bilayer of PC liposome, this is a three-dimensional plot.

线,中下部有高低不同的峰,中上有一排较有规律的重复峰。平坦区和峰内均有磷脂头部分布,并是各种取向的。但有规律的一排峰内包含着倒向一方的磷脂头部。

2. 卵磷脂双层膜表面的灰度扫描像:

图3显示PC卵磷脂双层膜表面的灰度像,其与图2的线扫描像相对应。发亮的部位表示凸出膜表面有一定高度,在亮部位之间的暗区表示低于膜表面凹下一定深度。从图中看出PC磷脂头部的分布是不均匀的。



Fig. 3 shows the grey-scale image of scanning tunneling microscope of the same region as fig 2. This is a two-dimensional plot. The bright part shows the head group which is higher than the plane of liposome membrane and the dark between the bright parts in which the PC head is lower than plane of liposomes.

从以上实验结果看出脂双层膜表面分布的PC磷脂头部是各方向取向的,与膜平面所呈角度不一。造成这种状态的原因很可能由于样品经过了干燥,从天然含水状态进入干燥状态时使头部不均匀分布,关于这一点还必须做含水样品才能进一步鉴定。

本文用导电性能较好的不锈钢片作为样品托来加强非导体生物样品的导电性故效果是比较好的,表现在所得图像较精细。说明所获图像的分辨率是相当高的。这主要归功于所制的仪器性能好又有计算机控制之故。

本工作从简单的人工膜卵PC脂质体表面分子头部排列入手研究表面结构,为今后用扫描隧道显微术进一步研究各种因素作用下天然生物膜表面脂类和蛋白分子排列变化与生命活动中膜功能改变之间的关系打下基础。

本文于1989年7月14日收到

参考文献

- [1] G. Binnig and H. Rohrer et al: *Phys. Rev. Lett.* 49, 1982, 57
- [2] G. Binnig and H. Rohrer, *Sci. Am.* 253, August 1985, 50
- [3] Lindsay, *The Arizona Republic*, Tuesday, March 21, 1989, 99th year, No. 306
- [4] Joseph A. N. Zasadzinski et al: *Science*, 239, 1988, 1013-1015
- [5] Christopher J. Kirby and Gregory Gregoriadis. *Preparation of Liposomes in Liposome Technology* vol 1 CRC Press, Inc. Boca. Raton. Florida. 1984, 19-27

THE SURFACE STRUCTURE OF LIPID BILAYER STUDIED
BY SCANNING TUNNELING MICROSCOPY

Su Yaxian Xu Sanduo Lin Kechun

*(Department of Cell Biology, Biophysics, Beijing Medical University, Beijing)*Luo Changhong Zhu Chunfeng Ruan Like Huang Guizhen
Dai Changchun Cheng Zhengbo Bai Chunli*(Institute of Chemistry, Academia Sinica, P. O. Box 2709 Beijing)*

ABSTRACT

Recently, the surface structure of the biological material was studied by scanning tunneling microscopy, which offers a new way to recognize the microscopic world of the biological materials.

In this paper, we probe the arrangement of molecular groups of lipid bilayer surface. The arrangement of phosphatidylcholine head groups on lipid bilayer could be seen by line-plot and grey-scale scanning image.