

文章编号:1007 - 4287(2004)01 - 0038 - 02

# 原子力显微镜对 9 种常用液体有形颗粒的观察

马亚敏<sup>1</sup>, 纪小龙<sup>2</sup>, 尹彤<sup>1</sup>, 徐薪<sup>2</sup>, 申明识<sup>1</sup>

(1. 解放军总医院 病理科, 北京 100853; 2. 武警总医院 病理科)

**摘要:**目的 观察 9 种实验室常用液体所含有形颗粒的形态, 找出含颗粒较少的最佳液体。方法 用原子力显微镜观察 9 种液体。结果 10% 甲醛溶液、无水乙醇、蒸馏水中含不规则形的颗粒; 3% 戊二醛溶液、枸橼酸盐缓冲液 (pH = 6.0)、PBS 缓冲液 (pH = 7.2)、生理盐水则含形态特异的颗粒和不规则形颗粒; Tris 缓冲液 (pH = 7.2) 中颗粒少见; 5% 葡萄糖溶液中颗粒罕见。结论 对 AFM 实验室筛选液体, 继续进行医学和生物学研究提供了重要的数据。

**关键词:**原子力显微镜; 液体; 颗粒

中图分类号: R - 331

文献标识码: A

**Nine kinds of common liquids observed by atomic force microscopy** MA Ya-min, JI Xiaolong, YIN Tong, et al (Department of Pathology, General Hospital of PLA, Beijing 100853, China)

**Abstract: Objective** To observe the shapes of granules in nine kinds of liquids which are often used in laboratories and find the best liquids which contain less granules. **Methods** Atomic force microscopy was used to observe nine kinds of liquids. **Results** Irregular granules were seen in 10% formaldehyde solution, absolute alcohol and distilled water. Both Differential granules and irregular granules were found in 3% glutaraldehyde solution, citrate salt buffer (pH = 6.0), PBS buffer (pH = 7.2) and saline. Few granules were seen in Tris buffer (pH = 7.2). Minute quantity of granules were found in 5% dextrose solution. **Conclusion** The results provide important data for AFM laboratory to select the liquids and to do research in both medicine and biology.

**Key words:** Atomic force microscopy; liquid; granule

(Chin J Lab Diagn, 2004, 8: 38)

由 Binnig 等人于 1986 年发明的原子力显微镜 (AFM) 目前已广泛应用于机械学、材料学、电子学以及原子、分子操纵等领域<sup>[1-3]</sup>。其优点在于分辨率可以达到纳米级, 比光学显微镜的分辨率大大提高; 可以在生理状态下成像, 这就比电镜需要的真空环境方便了许多; 样品制备时间短, 且易操作。但是在生物和医学领域的研究中常常需要液体对样本进行稀释、固定和保存, 这就要求这些液体本身含有形颗粒较少, 才不至于影响观察的图像。作者首次用 AFM 对这些实验室常用的液体进行系统观察, 找出含有形颗粒较少的液体, 为 AFM 实验室研究提供了重要的数据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 仪器** 采用北京本原纳米仪器有限公司的 CSPM2000wt 型 AFM, 在大气和室温下对几种液体进行直接观察。最大扫描范围为 55 μm × 55 μm, 大微悬臂长 200 μm, 小微悬臂长 90 μm, 采用接触模式 (contact mode)。图像进行自动平滑处理, 消除低频

噪音。扫描频率为 1 ~ 3 Hz。

**1.1.2 液体** 所观察的液体包括 10% 甲醛溶液, 3% 戊二醛溶液, 无水乙醇, 枸橼酸盐缓冲液 (pH = 6.0), PBS 缓冲液 (pH = 7.2), Tris 缓冲液 (pH = 7.2), 蒸馏水, 生理盐水, 5% 葡萄糖溶液。

### 1.2 方法

样品制备时, 吸取液体 50 μl 滴到新解离的云母片表面, 用滤纸吸去多余液体, 置于室温下风干后进行 AFM 观察。每个样本观察 10 个不同的区域。

## 2 结果

9 种液体在 AFM 下的表现各不相同。10% 甲醛溶液 (图 1)、无水乙醇 (图 2)、蒸馏水 (图 3) 所含颗粒为不规则形。3% 戊二醛溶液风干后颗粒图像为十

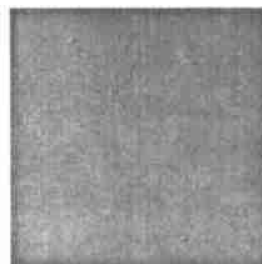


图 1 10% 甲醛溶液图



图 2 无水乙醇

基金项目: 本课题为国家自然科学基金资助 (编号: 30171036)



图3 蒸馏水

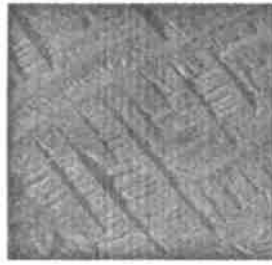


图4 3%戊二醛溶液

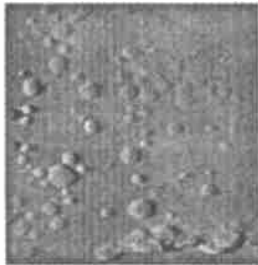


图5 枸橼酸盐缓冲液  
(pH=6.0)



图6 PBS缓冲液  
(pH=7.2)



图7 生理盐水

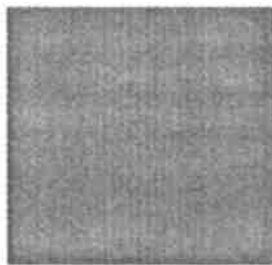


图8 Tris缓冲液  
(pH=7.2)

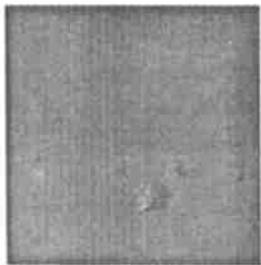


图9 5%葡萄糖溶液



图10 5%葡萄糖溶液

字交叉状,继续分叉为细枝状,另外还可以见到不规则的有形颗粒(图4)。枸橼酸盐缓冲液(pH=6.0)含有圆形颗粒及不规则状颗粒(图5)。PBS缓冲液(pH=7.2)所含颗粒为松枝状,还能见到不规则的大颗粒(图6)。生理盐水中大小不一的有形颗粒,有的类似菱形,其余的形态不一(图7)。Tris缓冲液(pH=7.2)中颗粒少见(图8)。5%葡萄糖溶液中见到极少量的有形颗粒(图9,图10,图10未见到

颗粒)。

利用 AFM 支持软件 CSPM 2000 online 可以对有形颗粒的大小进行测量和三维构图。

### 3 讨论

AFM 可以在液体中对细胞进行扫描<sup>[4]</sup>,但是对这些常见的液体所含颗粒却知之甚少。关于液体所含的结晶方面,有人观察过分子伴侣 GroEL 的二维结晶<sup>[5]</sup>、NaCl 结晶<sup>[6]</sup>及尿液结晶<sup>[7]</sup>,但没有系统观察过液体里有形颗粒的形态。本文是对这几种液体所含有形颗粒形态的首次报道。

本实验应用 AFM 在纳米水平对 9 种液体里的有形成份进行观察,发现 5%葡萄糖溶液中颗粒罕见,Tris 缓冲液(pH=7.2)所含颗粒较少;而 10%甲醛溶液、无水乙醇、蒸馏水则含有不规则颗粒较多;3%戊二醛溶液、枸橼酸盐缓冲液(pH=6.0)、PBS 缓冲液(pH=7.2)、生理盐水含有形态特异的颗粒及不规则形颗粒。因此可以用 5%葡萄糖溶液或 Tris 缓冲液作为生物学和医学样本的基础溶液进行稀释、固定和保存。这就为 AFM 实验室的进一步操作提供了基础的实验数据,为 AFM 应用于实验诊断学和病理学等学科观察细胞表面的形态和结构提供了帮助。

作者简介:马亚敏,女,26岁,硕士研究生,研究方向为肿瘤病理。

#### 参考文献:

- [1]Binnig G, Quate CF, Gerber CH. Atomic force microscopy[J]. Phys Rev Lett, 1986, 56(9):930.
- [2]Willemsen OH, Snel MM, varr-Noort SJ, et al. Optimization of adhesion mode atomic force microscopy resolves individual molecules in topography and adhesion[J]. Ultramicroscopy, 1999, 80(2):133.
- [3]Yves F Dufre  e, Christophe JP Boonaert, Henny C, et al. Probing molecular interactions and mechanical properties of microbialcell surfaces by atomic force microscopy[J]. Ultramicroscopy, 2001, 86:113.
- [4]Ushiki T. Atomic force microscopy and its related techniques in biomedicine[J]. Ital J Anat Embryol, 2001, 106(2 Suppl 1):3.
- [5]Valle F, DeRose JA, Dietler G, et al. AFM structural study of the molecular chaperone GroEL and its two-dimensional crystals:an ideal "living" calibration sample[J]. Ultramicroscopy, 2002, 3(1):83.
- [6]Han W, Mou J, Sheng J, et al. Cryo atomic force microscopy: a new approach for biological imaging at high resolution[J]. Biochemistry, 1995, 34(26):8215.
- [7]纪小龙, 申明识, 尹 彤. 原子力显微镜对人尿液的直接观察[J]. 中国体视学与图像分析, 2002, 7(2):101.

(收稿日期:2003-09-22)