

原子力显微镜与磷脂双层膜作用实验结果理论分析

刘艳辉¹, 胡林¹, 王文波¹, 张碧程², 张婧²

1. 贵州大学理学院; 光电子技术与应用省级重点实验室, 贵阳 550025
2. 贵州大学生命科学学院, 贵阳 550025

摘要 利用原子力显微镜研究生物膜力学性质, 已经成为研究生物膜稳定性的重要技术。通常, 原子力显微镜探针和磷脂双层膜相互作用力谱曲线包括非线性部分和线性部分, 其中线性部分的物理机制仍不完全清楚。将磷脂双层膜看作弹性半空间, 基于相互作用原理, 系统地研究了原子力显微镜探针与磷脂双层膜相互作用过程, 理论结果包含了能够表征磷脂双层膜稳定性的重要参数: 杨氏模量和泊松系数, 以及原子力显微镜探针尖端半径。不仅合理地揭示了 H. J. Bütt 的实验结果曲线中线性部分的物理机制, 还指出, 通过增加离子浓度, 磷脂双层膜的杨氏模量增大和泊松系数减小, 从而导致原子力显微镜探针与磷脂双层膜之间的相互作用力随着离子浓度增加而增加。

关键词 膜生物物理学; 相互作用原理; 磷脂双层膜; 力谱曲线; 原子力显微镜

中图分类号 Q61

文献标识码 A

文章编号 1000-7857(2010)12-0048-04

Theoretical Analysis of the Experimental Results of Interaction of the Atomic Force Microscopy with the Lipid Bilayers

LIU Yanhui¹, HU Lin¹, WANG Wenbo¹, ZHANG Bicheng², ZHANG Jing²

1. Key Laboratory for Photoelectric Technology and Application of Guizhou Province; College of Science, Guizhou University, Guiyang 550025, China
2. College of Life Sciences, Guizhou University, Guiyang 550025, China

Abstract To determine the mechanical properties of lipid bilayers at nanoscale by atomic force microscopy has become an important technique for investigating the stability of lipid bilayers. Generally, the force spectroscopy involves the interaction between the atomic force microscopy and lipid bilayers, which consists of a linear part and a nonlinear part. So far, the mechanism about the linear part is not totally clear. Taking the lipid bilayers as a half elastic space, the interaction of the atomic force microscopy with the lipid bilayers is analyzed systematically based on the reciprocal theorem. The theoretical results contain Young's module and Poisson's ratios, as important parameters for lipid bilayers, which are related to the ion concentration of solution. Young's module and Poisson's ratios increase and decrease, respectively, with the increase of the ion concentration of the solution. So the theoretical results not only give a reasonable explanation of the linear part of the experimental results obtained by H. J. Bütt, but also indicate how the ion concentration affects the stability of lipid bilayers. The radius of atomic force microscopy tip enters also the theoretical consideration with its square root as a parameter, which reasonably explains the increase of the force between the atomic force microscopy and lipid bilayers with the increase of the radius of atomic force microscopy tip in H. J. Bütt's experimental results.

Keywords membrane biophysics; reciprocal theorem; lipid bilayers; force spectrum; atomic force microscopy

收稿日期: 2010-03-09

基金项目: 《科技导报》“博士生创新研究资助计划”(kjdb20090101-8); 贵州大学引进人才研究项目(贵大人基合字(2009)001号); 贵州省社科公关项目(黔科合 OZ 字[2009]2); 贵州省科技基金项目(2010); 高层次人才特助基金(TZJF-2006-008)

作者简介: 刘艳辉, 副教授, 研究方向为与 DNA、生物膜相关的生物物理学, 电子信箱: ionazati@itp.ac.cn

0 引言

生物膜主要由脂类(其中磷脂最为丰富),蛋白质组成。脂类不仅为蛋白质提供了宿主基质,还表现出独特的力学性质^[1-2]。细胞膜的许多性质,如弹性^[3-6],都是通过磷脂双层膜表现出来,因此磷脂双层膜可以作为细胞膜的可靠简化模型^[7-8],通过研究磷脂双层膜相关性质可以揭示细胞间的相互作用过程的物理机制。很多实验组在这方面做了大量的实验工作,国内孙润广等^[9-12]开展了在原子力显微镜探针作用下磷脂双层膜稳定性的实验研究,特别是 Max-Planck 研究所 H. J. Bütt 实验组给出了大量的实验数据^[13]。实验是在室温条件下,150mmol/L NaCl 和 5mmol/L KH₂PO₄ 的缓冲液(已用 KOH 滴定, pH 值为 7.4)中进行的。实验利用 3 种磷脂分子,采用以下 3 种不同的作用方式:

1) 只在衬底云母片上吸附磷脂双层膜,然后原子力显微镜探针逐渐向磷脂双层膜靠近,得到只发生一次跳跃的力谱曲线(文献[13]图 1 的 A、B、C)。

2) 衬底云母片上和原子力显微镜探针尖端分别吸附磷脂双层膜,在原子力显微镜探针向磷脂双层膜靠近的过程中得到发生两次跳跃的力谱曲线(文献[13]图 1 的 D、E、F)。

3) 只在原子力显微镜探针尖端吸附磷脂双层膜,也得到只有一次跳跃的力谱曲线(文献[13]图 1 的 G、H、I)。

这 3 种情况利用的磷脂分子分别为 DOPC、DOPS 和 DOTAP。由文献[13]的图 1 可以看到,力谱曲线包括两部分:原子力显微镜探针逐渐接近磷脂双层膜过程中的非线性部分和原子力显微镜探针接触到磷脂双层膜后,压缩磷脂双层膜过程的线性部分。同时,由文献[13]的图 6 还可以发现,随着缓冲溶液中离子浓度的降低,力谱曲线中非线性部分的衰减长度逐渐增加。这是因为非线性部分是由静电相互作用和范德瓦尔斯相互作用引起的^[14],但原子力显微镜探针接触到磷脂双层膜后,压缩磷脂双层膜过程的机制还不清楚,本文将磷脂双层膜看作弹性半空间,研究原子力显微镜探针与磷脂双层膜的相互作用过程。

1 原子力显微镜探针与磷脂双层膜相互作用模型

将磷脂双层膜看作弹性半空间,原子力显微镜探针下压过程如图 1 所示, $f(x, y)$ 为原子力显微镜探针尖端曲面与原点之间的距离, $g(x, y)$ 为原子力显微镜探针尖端和磷脂双层膜凹面之间的间隙, $u_z(x, y, 0)$ 是磷脂双层膜凹面到原点的垂直距离,三者之间的关系为

$$g(x, y) = u_z(x, y, 0) - f(x, y) \quad (1)$$

在原子力显微镜探针尖端和膜凹面接触的区域为 A , 非接触区域为 $\bar{A}$, 所以在区域 A 内有

$$u(x, y, 0) = f(x, y)$$

在 $\bar{A}$ 区域,

$$u(x, y, 0) > f(x, y)$$

对于无摩擦接触问题,要求在 $x, y, z=0$ 情况下, $\sigma_{zx} = \sigma_{zy} = 0$, 接

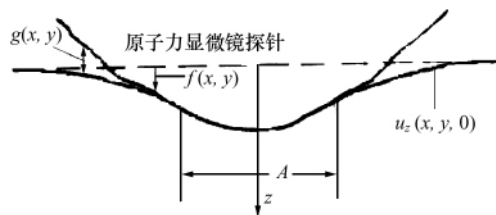


图 1 原子力显微镜探针与弹性半空间相互作用的几何示意图

Fig. 1 Illustration of the interaction between atomic force microscopy and elastic half space

触压力为

$$p(x, y) \equiv -\sigma_{zz}(x, y, 0) \quad (2)$$

所以在 A 区域,有

$$p(x, y) > 0 \quad (3)$$

在 $\bar{A}$ 区域,有

$$p(x, y) = 0 \quad (4)$$

限定接触区域 A 后,有

$$P(A) = \iint_A p(x, y) dx dy \quad (5)$$

利用相互作用原理,下面来确定 $P(A)$ 。

作为弹性体的磷脂双层膜,厚度 d^* 一定,为原子力显微镜探针从与磷脂双层膜接触到贯穿膜所经过的位移,由相互作用原理,有

$$\iint_A p(x, y) d^* dx dy = \iint_A p^*(x, y) f(x, y) dx dy \quad (6)$$

由于 d^* 为恒量,所以,

$$P(A) \equiv \iint_A p(x, y) dx dy = \frac{1}{d^*} \iint_A p^*(x, y) f(x, y) dx dy \quad (7)$$

因此,在这个接触问题中,只要确定 $p^*(x, y)$ 即可。

由 Fabrikant 近似结果^[14-15]可知,任意平面的接触压力为

$$p^*(r, \theta) = \frac{4\mu d^* a(\theta)}{(1-\nu)L\sqrt{a^2(\theta)-r^2}} \quad (8)$$

其中, $a(\theta)$ 为极坐标系中接触区域 A 的边界, ν 为磷脂双层膜的泊松系数, $L = \int_0^{2\pi} a(\theta) d\theta$, 由于原子力显微镜探针与磷脂双层膜的接触面 A 的边界为圆形, 所以有 $L = 2\pi a(\theta)$, 同时, $\mu = \frac{E}{2(1+\nu)}$, E 为杨氏模量, 将这些量代入式(8), 则有

$$p^*(r, \theta) = \frac{E}{\pi(1-\nu^2)} \frac{d^*}{(a^2(\theta)-r^2)^{1/2}} \quad (9)$$

代入式(7), 有

$$P(A) = \frac{E}{\pi(1-\nu^2)} \iint_A \frac{f(r, \theta)}{(a^2-r^2)^{1/2}} r dr d\theta \quad (10)$$

实验中,原子力显微镜探针尖端半径 R_c (100~250nm) 远大于磷脂双层膜的厚度 (4~5nm), b 为原子力显微镜探针尖端由球面向锥面转变时的径向距离。如图 2 所示, 可以确定式(10)中的相互贯穿函数 $f(r, \theta)$, 由于接触面的边界为圆形, 故 $f(r, \theta)$ 与 θ 无关, 有

$$f(r) = \delta - h^* \quad (11)$$

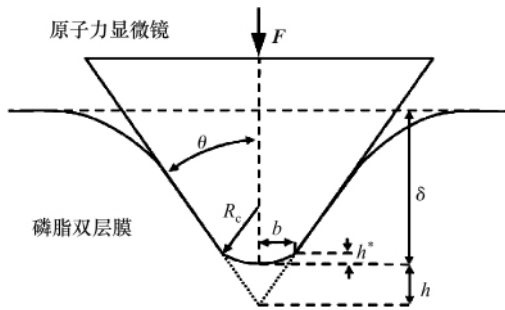


图2 原子力显微镜探针与磷脂双层膜作用示意图

Fig. 2 Illustration of the interaction between atomic force microscopy and lipid bilayers

$$h^* = R_c - \sqrt{(R_c^2 - b^2)} = R_c \left[1 - \left(1 - \frac{b^2}{R_c^2} \right)^{1/2} \right] \quad (12)$$

将 $\left(1 - \frac{b^2}{R_c^2} \right)^{1/2}$ 泰勒展开, 有

$$\left(1 - \frac{b^2}{R_c^2} \right)^{1/2} \approx 1 - \frac{1}{2} \frac{b^2}{R_c^2} \quad (13)$$

代入式(12), 有

$$h^* \approx \frac{b^2}{2R_c} \quad (14)$$

这里只考虑 $0 \leq a(\theta) < b$ 情况, 因此有

$$f(r) = \delta - \frac{r^2}{2R_c} \quad (15)$$

代入式(10), 有

$$P(A) = \frac{E}{\pi(1-\nu^2)} \iint_A \frac{\delta - \frac{r^2}{2R_c}}{(a^2 - r^2)^{1/2}} r dr d\theta \quad (16)$$

积分则有

$$P(A) = \frac{1}{\sigma} R_c^{1/2} \delta^{3/2} \quad (17)$$

其中 $\sigma = \frac{3}{4} \frac{1-\nu^2}{E}$ 。式(17)为原子力显微镜探针与磷脂双层膜间相互作用力与位移的关系, 其中包含着对生物膜很重要的两个参数: 磷脂双层膜的杨氏模量 E 和泊松系数 ν 。

2 理论结果

将实验的力谱曲线 (F - z 曲线) 表示为压电位移 z 和原子力显微镜悬臂的偏转程度 d :

$$F = k_2(d - d_{off}) \quad (18)$$

式中 k_2 为原子力显微镜悬臂的弹性系数。同时,

$$\delta = z - z_c - (d - d_{off}) \quad (19)$$

式中 z_c 为接触点。由式(17)和式(19), 可以得到

$$k_2(d - d_{off}) = \frac{1}{\sigma} R_c^{1/2} [z - z_c - (d - d_{off})]^{3/2} \quad (20)$$

所以有

$$F = \frac{1}{\sigma} R_c^{1/2} \left[z - z_c - \frac{F}{k_2} \right]^{3/2} \quad (21)$$

采用文献[13]中的数据, 原子力显微镜探针尖端半径 R_c 为 100~150nm, 弹性系数 k_2 为 2~2.5nN/nm^[16], 这里令 $x = z - z_c$, 由实验数据可知, 其值为 1~5nm。代入式(21), 可得出其曲线。定义磷脂双层膜面为原点, 由图3可知, 在 0~4nm 范围内, 力的变化范围为 4.5~14nN, 与文献[13]的实验数据 B、C 中的线性部分符合得很好。

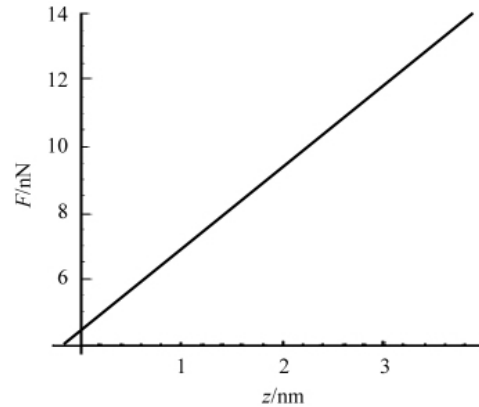


图3 线性部分的理论曲线

Fig. 3 Theoretical results of the linear part

3 讨论

原子力显微镜探针与弹性体之间的相互作用, 与二者的杨氏模量 E 、泊松系数 ν 均有关, 一般来说, σ 应该满足^[17]

$$\sigma = \frac{3}{4} \left(\frac{1-\nu_1^2}{E_1} + \frac{1-\nu_2^2}{E_2} \right)$$

式中, $E_{1,2}$ 和 $\nu_{1,2}$ 分别为弹性体与原子力显微镜探针的杨氏模量和泊松系数。但对于原子力显微镜探针与磷脂双层膜之间相互作用, 力仅与磷脂双层膜的杨氏模量、泊松系数和原子力显微镜探针尖端半径 R_c 3 个参数密切相关, 即在式(17)

中, $\sigma = \frac{3}{4} \frac{1-\nu^2}{E}$, 没有出现原子力显微镜探针的杨氏模量和泊松系数, 主要是由于原子力显微镜探针的杨氏模量远大于磷脂双层膜的杨氏模量, 而泊松系数均小于 1, 从而导致 $1-\nu_1^2/E_1$ 可以被忽略。实验结果表明, 原子力显微镜探针与磷脂双层膜之间的相互作用力, 随着原子力显微镜探针尖端半径的增大而显著增加, 由式(21)可知, 应力与 $\sqrt{R_c}$ 成正比; 实验表明随着离子浓度增加, 原子力显微镜探针与磷脂双层膜间相互作用力明显增大, 这主要是由于磷脂双层膜的稳定性取决于疏水碳氢链之间的范德瓦尔斯相互作用以及磷脂分子极性端的偶极-偶极相互作用^[18-19], 随着离子浓度的增加, 排空力^[20]增加, 使疏水碳氢链更加紧致, 同时极性端的排斥作用减弱^[18], 从而使磷脂双层膜的杨氏模量 E 增加, 泊松系数 ν 减小。杨氏模量、泊松系数与实验条件密切相关的, 根据相应的实验条件, 调整磷脂双层膜的杨氏模量、泊松系数、原子力显微镜探针尖端半径 3 个参数, 同样可以得到其他实验条件下的线性部分。



4 结论

基于相互作用原理,合理地揭示了原子力显微镜探针与磷脂双层膜相互作用实验结果曲线中性部分的物理机制,二者之间相互作用力仅取决于磷脂双层膜的杨氏模量、泊松系数和原子力显微镜探针尖端半径。磷脂双层膜的杨氏模量、泊松系数受到溶液离子浓度的影响,从而改变原子力显微镜探针与磷脂双层膜间相互作用力。

参考文献 (References)

- [1] Ouyang Z C, Helfrich W. Instability and deformation of a spherical vesicle by pressure[J]. *Physics Review Letters*, 1987, 59(21): 2486-2488.
- [2] Fan T S, Federov A G. Analysis of hydrodynamic interactions during AFM imaging of biological membranes[J]. *Langmuir*, 2003, 19(4): 1347-1356.
- [3] Ouyang Z C, Helfrich W. Bending energy of vesicle membranes: General expressions for the first, second, and third variation of the shape energy and applications to spheres and cylinders [J]. *Physical Review A*, 1989, 39(10): 5280-5288.
- [4] Natio H, Okuda M, Ouyang Z C. Counter example to some shape equations for axisymmetric vesicles [J]. *Physical Review E*, 1993, 48(3): 2304-2307.
- [5] Natio H, Okuda M, Ouyang Z C. New solutions to the helfrich variation problem for the shapes of lipid bilayer vesicles: beyond delaunay's surfaces[J]. *Physics Review Letters*, 1995, 74(21): 4345-4348.
- [6] Ouyang Z C. Anchor ring-vesicle membranes [J]. *Physical Review A*, 1990, 41, 4517-4520.
- [7] Uehara M, Sakane K K. Physics and biology: Bio-plasma physics[J]. *American Journal of Physics*, 2000, 68(5): 450-455.
- [8] 杨福愉. 生物膜[M]. 北京: 科学出版社, 2005.
Yang Fuyu. Biomembrane[M]. Beijing: Science Press, 2005.
- [9] 孙润广, 张静. 用 X 射线散射法研究 HF, HCl, H₂SO₄ 和 HAC 对磷脂酰乙醇胺液晶结构影响的机理[J]. 物理学报, 1993, 42(3): 360-367.
Sun Runguang, Zhang Jing. *Acta Physica Sinica*, 1993, 42(3): 360-367.

- [10] 孙润广, 张静, 齐浩. 脂双层膜表面结构与稳定性的原子力显微镜研究[J]. 化学学报, 2002, 60(5): 841-846.
Sun Runguang, Zhang Jing, Qi Hao. *Acta Chimica Sinica*, 2002, 60(5): 841-846.
- [11] 孙润广, 齐浩, 张静. 脂质体结构特性的原子力显微镜研究 [J]. 物理学报, 2002, 51(6): 1203-1207.
Sun Runguang, Qi Hao, Zhang Jing. *Acta Physica Sinica*, 2002, 51(6): 1203-1207.
- [12] 张静, 孙润广. 液晶态油酸脂质体与生物膜相互作用的理化特性[J]. 物理学报, 1994, 43(9): 1495.
Zhang Jing, Sun Runguang. *Acta Physica Sinica*, 1994, 43(9): 1495.
- [13] Pera I, Stark R, Kappl M, et al. Using the atomic force microscopy to study the interaction between two solid supported lipid bilayers and the influence of synapsin I[J]. *Biophysical Journal*, 2004, 7(4): 2446-2455.
- [14] Fabrikant V I. Flat punch of arbitrary shape on an elastic half-space[J]. *International Journal of Engineering Science*, 1986, 24(11): 1731-1740.
- [15] Barber J R, Billings D A. An approximate solution for the contact area and elastic compliance of smooth punch of arbitrary shape [J]. *International Journal of Engineering Science*, 1990, 32(12): 991-997.
- [16] Wohler J, Edholm O. The range and shielding of dipole-dipole interactions in phospholipid bilayers [J]. *Biophysical Journal*, 2004, 87: 2433-2445.
- [17] Landau L D, Lifshitz E M. Theory of elasticity[M]. Oxford: Butterworth-Heinemann, 1999.
- [18] 刘艳辉, 胡林, 许锋, 等. 磷脂双层膜稳定性理论分析[J]. 中国医学物理杂志, 2008, 25(6): 916-920.
Liu Yanhui, Hu Lin, Xu Feng, et al. *Chinese Journal of Medical Physics*, 2008, 25(6): 916-920.
- [19] Starke-Peterkovic T, Clarke R J. Effect of headgroup on the dipole potential of phospholipid vesicles [J]. *European Biophysics Journal*, 2009, 39(1): 103-110.
- [20] Phillips R, Kondev J, Theriot J. Physical Biology of the cell[M]. Oxford: Garland Science, 2009.

(责任编辑 朱宇)

本期好玩的数学——细绳算时间答案

可以遵循以下的规则制定出一个极为巧妙的方案。

规则一:每个学生都先确定出自己前面所有人戴的白帽子的奇偶性。

规则二:从左边第一个学生开始,如果自己看到的白帽子数是偶数,那么,他可以把自已头上的帽子喊为黑色(声音要大到其他人都能听到)。反之,则喊为白色。

规则三:每当听到自己身后有学生报出白时,都要改变一次自己的决定。

我们以下面的一种情况为例,说明一下这种方案的有效性(如下图所示,我们以白圆圈表示白帽子,以黑圆圈表示黑帽子)。

○ ○ ● ● ○ ● ● ○ ○ ●

最左边的人可以数出自己前面的白帽子数为偶数,因此他喊出“黑”。他报错了。

第2个人可以数出自己前面的白帽子数为奇数,因此他要喊出“白”。他报对了。注意,根据规则三,在听到第2个人喊出“白”后,剩下的那些人都要在自己心中改变一次最初的决定。

第3个人可以数出自己前面的白帽子数为奇数,按最初的决定他应喊出“白”,但因为第2个刚喊了“白”,因此他要把决定改变一次,喊出“黑”。他报对了。

以此类推到第10个人,可以得到结论:不管学生的人数有多少,按照这种办法总有结果:除最左边的一个可能报错(其报对的概率是50%)外,其他人都能报对。