

扫描隧道显微术在生命科学研究中的应用

中国科学院化学研究所 教授
扫描隧道显微学研究室 主任

白善洪

扫描隧道显微镜 (STM) 是十年前发明的一种新型表面分析仪器, 发明者因此荣获 1986 年度诺贝尔物理奖。近几年来, 随着仪器的不断改进和完善, 这项新的显微技术在生命科学领域的研究中得到了迅速的发展和运用, 在短短的几年间, 就在核酸结构、蛋白质和酶的结构、生物膜结构以及超分子水平的生命结构的研究中取得了令人欣喜的成果, 显示出扫描隧道显微技术在生命科学领域中的强大生命力。这种生命力源于以下几个扫描隧道显微镜所独具的优点。

1. 扫描隧道显微镜能够在原子级分辨率水平上观察样品的实三维表面结构

在扫描隧道显微镜出现以前, 没有一种显微技术能在横向和纵向都达到原子级分辨率。尽管 (扫描) 透射电镜和场离子显微镜的横向分辨率也比较高, 但 (扫描) 透射电镜要求样品表面镀上导电层或者仅适用于研究非常薄的样品的体相和界面结构, 而场离子显微镜仅能探测吸附在直径小于 1000 Å 的针尖上的样品原子的二维几何结构, 都有一定的局限性。

虽然, 人们利用衍射手段 (诸如 X-射线衍射, He 衍射以及低能电子衍射等) 亦能够获得原子级分辨率的结构信息, 但是所有衍射手段都不是对样品的实空间进行直接观察, 只能得



到间接信息来反推样品的结构。扫描隧道显微镜能够直接获得样品表面的原子结构信息，是这些手段所不可比拟的。

2. 可适用于不同的探测环境

扫描隧道显微镜，不象通常的电子显微镜那样，必须局限在高真空中才能工作，也不像衍射技术那样，样品必须是晶体。它不仅能在高真空下工作，而且能够在低温下，常温常压下，甚至在溶液条件下都能够获得分辨率很高的图象；它不仅能够观察晶体的表面结构，而且能够观察非晶体表面的结构。由于远离生命条件将使生物样品丧失活性状态，无法反映其活性状态下的结构，因此，在生命的天然条件下或准天然条件下（常温、常压、大气下，潮湿条件下或水溶液条件下），对生物样品的结构进行直接观察，是生命科学家们梦寐以求的事情。扫描隧道显微镜正是提供了这种可能性，因而引起广泛的兴趣。

3. 扫描隧道显微镜的可变观测范围，为研究各种不同层次的生命结构提供了可能

目前扫描隧道显微镜的扫描范围（或称视野）可从数 10 埃到 100 微米，这种不同的视野，使得扫描隧道显微镜不仅能在原子水平上研究生物分子的结构，而且能够在分子水平、超分子水平、亚细胞水平乃至细胞水平上揭示生物样品的结构，从而能使人们在不同层次上更全面地揭示生命现象。

4. 操作简便，所需样品量极少，成本低廉

从生物样品的制作方面来讲，通常是以简单的吸附办法，把样品分散到基底上，加以直接观察。稍微复杂一点的办法，通常也只是经基底吸附后再镀上一层导电膜后加以观察。相对于电镜和 X-射线衍射的样品制作来说，所用样品量极少，而且制作简单。

当然，这项新的显微技术应用于生命科学研究时，也存在一些诸如生物样品的柔软性、导电性和样品在基底上的固定情况等影响图象分辨率的问题。但已取得的研究成果为扫描隧道显微镜在生命科学领域中的应用展示了广阔的前景。

核酸的扫描隧道显微术研究

核酸包括 DNA 和 RNA 两大类。其中 DNA 是生命活动的主要遗传物质（只有少数低级生物如一些病毒，以 RNA 为遗传物质），是生命活动的蓝本。在整个生命科学领域里，对 DNA 的结构与功能的研究，处于核心位置。目前，人们对核酸结构的研究，已经积累了大量有意义的结果。但这些成果主要来源于 X-射线衍射、核磁共振、旋光色散、圆二色性分析以及对核酸的一级结构即其顺序的分析。至于核酸在天然活性状态下的三维结构及其执行生命功能时所发生的结构变化，是目前人们最感兴趣的问题，也是解释许多生命现象本质的关键所在。扫描隧道显微镜的出现，为人类在天然或准天然条件下直接观察 DNA 及 RNA 提供了可能。因而用扫描隧道显微镜研究核酸，尤其是 DNA 的结构，成为当前最活跃的研究领域，在短短的几年间就取得了丰硕的成果。

1. 水溶液下的 DNA

由于 STM 的出现，人们实现了在水溶液中直接观察 DNA 的结构及其电化学行为的梦想。利用在水溶液下的 STM 技术，已经获得了一系列有意义的结果。

早期，以超声波处理的小牛胸腺 DNA 作为研究对象，分别获得了聚集态和单个的 DNA 分子的扫描隧道显微图象。在聚集态的 DNA 图象中，可以看到纤维状的 DNA 分子呈现某种类似液晶态的规律性排列，相邻分子之间相距约 20 Å。在单个 DNA 分子图象中，可以看到

DNA 链呈约 20 Å 宽、数 Å 深的下凹图象。

新近,在原有工作的基础上,通过改变参比电极(氯化银电极)与基底工作电极(在新鲜裂解的云母表面外延生长以金膜)之间的电势差,又观察到 DNA 分子在基底表面呈现不同的吸附行为,反映出 DNA 的电化学方面的性质。在电势差为-2.3V 时, DNA 成象随着针尖扫描方向的不同,呈现有规律的可重复变化。这与碱基在负电极上的反应行为相一致。在-1.3V 时,所有 DNA 都呈现平躺并排聚集吸附状态。在-1.0V,可以观察到 DNA 分子是单个分散吸附在基底表面的。在-0.5V 时, DNA 呈现出稳定的高度聚集状态,而这些聚集物由“空白”基底分隔开。这种排列形式可能与基底的结构有关。研究者认为,这些结果表明 STM 可用于研究生物电化学过程。

2. 大气下的 DNA 和 RNA

Beebe 等人首先在大气下观察到 DNA 双链。这一扫描隧道显微学成果,立即引起了科学界的广泛注意。他们所得到的单个 DNA 分子链图象,显示出 DNA 分子的右手螺旋性,并可分辨出大沟和小沟。尽管在他们的图象中, DNA 分子结构有比较大的畸变(螺距 27~50 Å),无法对 DNA 的结构做更细致的研究,但这一成果,显示扫描隧道显微镜能够对导电性很差的生物样品进行直接观察。

目前,在大气下用扫描隧道显微镜观察 DNA 所获得的最高分辨率图象已经可以分辨出磷酸及较浅碱基对的一些结构信息。使用三亚丙啶氧磷把 DNA 固定到金表面上,然后进行观察,在较大视野情况下,可以看到具有右手螺旋特性的 DNA 链。更进一步,研究者获得了一个螺旋周期的高分辨率的 DNA 图象。与已知的分子模型相对照,可推测出骨架上磷酸基团所在的位置。在骨架链之间的位置,可以分辨出小沟中较浅的碱基对的一些结构。DNA 的螺距约 35 Å,而小沟宽为 12~15 Å。

除了上述对 B-DNA 的研究取得了令人欣喜的成果外,人们还对 Z-DNA、A-RNA 以及单链 DNA 等进行了扫描隧道显微研究,也取得了许多很好的结果。

以 poly (rU)、poly (rA) 为研究对象,获得了双链 A 型 RNA 的扫描隧道显微象。在所获得的呈聚集分布的 poly (rA)、poly (rU) 的图象中,可以测知两相邻分子之间的间距为 $24.8 \pm 0.8 \text{ \AA}$,螺距为 $28.7 \pm 1.1 \text{ \AA}$,大小沟间距为 $14.3 \pm 0.4 \text{ \AA}$ 。这些数据表明,他们所获得的 A-RNA 图象较 X-射线衍射结果显得短而粗。研究人员把原因归结为干燥过程中盐离子浓度上升而导致的 RNA 分子压缩。

在以 poly (dG-me³dC)、poly (dG-me³dC) 为对象的研究中,还获得了 Z-DNA 的扫描隧道显微图象。图象显示 Z-DNA 呈左手螺旋结构。对图象中多条 DNA 链的统计结果表明,所获的 DNA 直径为 $23.0 \pm 3.7 \text{ \AA}$,螺距为 42.1 \AA ,与 X-射线晶体衍射结果比较,同样发现了分子压缩现象。通过对并排集聚的 DNA 链图象进行付立叶变换,可以获得 41.5 \AA 、 20.4 \AA 、 14.5 \AA 及 $\sim 7 \text{ \AA}$ 的多层次结构的信息,表明图象确实还反映了 Z-DNA 链的大小沟方面的结构信息。

在单链 DNA 的扫描隧道显微研究方面,获得了一组关于 poly (dA) 的高分辨率图象。从中可以看出相距 10 Å 的 poly (dA) 链自左下往右上平行排列,沿着链的方向,每隔 6 Å 就有一双环结构。其中大环与小环的中心相距为 2.40 \AA ,仅略大于 poly (dA) 中腺嘌呤碱基的啞啞环与咪唑环中心距离 (2.20 \AA)。双环轴线与链轴线夹角约 50° ,并呈下凹状,表明 DNA 链是以其疏水而又平整的碱基环吸附在石墨表面的。研究者在这一基础上建立了单链 poly

(dA) 在石墨表面吸附的分子模型。这项研究成果,表明有可能用 STM 直接分析 DNA 的碱基顺序。

3. 真空中的 DNA

早在 1983 年,人们就在真空条件下获得了第一幅 DNA 的扫描隧道显微图象,最近的研究结果表明人类业已能在原子尺度上观察 DNA 的表面结构。

加州理工学院的 Baldeschwieler 等人以小鼠 B 细胞 V 区约 550 碱基对的 DNA 片段为材料,在真空条件下获得了双链 A 型 DNA 的扫描隧道显微图象。图中显示了 DNA 的四个螺旋周期,大沟小沟清晰可辨。在小沟中,还能分辨出与螺旋轴呈 $+150^\circ$ 夹角的碱基对。图象所显示的数据和 A-DNA 的 X-射线晶体衍射结果吻合良好(见表 1)。通过对图示的位置作剖面线分析,可以看到小沟中碱基对的表面原子已被分辨出来,与 A-DNA 模型标准剖面线吻合也很好。这一结果显示,人类已经能够对核酸表面原子结构进行直接观察。

4. DNA 与蛋白质复合物: recA-DNA 复合物的结构

表 1 Baldeschwieler 等人在真空中获得的高分辨率

A: DNA STM 图象数据与晶体衍射结果的比较

项 目	STM 数据	晶体衍射数据
螺 距	29 Å	28.5 Å
小沟宽	10 Å	11.0 Å
大沟宽	3 Å	2.7 Å
分子宽	23 Å	23 Å
磷酸骨架宽	10 Å	11.6 Å
轴向每两对碱基间距	2.6 Å	2.59 Å
碱基对角	$+18^\circ$	$+19^\circ$

物的结构

用 STM 对 recA-DNA 复合物进行研究,人们在大气下先后获得了铂-碳被膜的 recA-DNA 复合物的聚集,金属被膜的单个 recA-DNA 片段以及裸露的单个 recA-DNA 片段的扫描隧道显微图象。

在铂碳被膜的 recA-DNA 复合物的聚集体的扫描隧道显微图中,能够分辨出大约 100 Å 的周期结构,显示出 recA-DNA 链并列排在一起。另外,还发现更精细的结构,这些结构被认为是 recA 单体。

在金属被膜的和裸露的 recA-DNA 复合体的单链图象中,recA-DNA 链呈典型的右手螺旋结构,在每个螺圈的可见区域,能够分辨出 3~4 个部分,每一部分便是 recA 原体。因为我们只能看见螺旋的一半,所以每周螺旋应包含大约 6 个 recA 原体。在螺旋的局部位置,发现有两个相继的螺旋周期紧密地融合在一起,而在另一些位置上,发现单一螺旋分裂为两个区域。这些特征无论在裸露的还是被膜的图象中都能分辨出,说明这些特征是由 recA-DNA 固有性质决定的。

5. 经变性处理的 DNA 的二级及三级结构

DNA 的结构虽然相对稳定,但并不是一成不变的。天然的双链 DNA 分子,在热变性条件下,被加热的 DNA 分子能够发生解旋而形成单链分子。如果迅速冷却,部分 DNA 将不会重新形成和原来 DNA 一样的双螺旋结构,从而产生许多结构变化。由于这种结构变化是非均一的,可能产生各种结构,因而限制了其它结构研究手段的应用。把这种经过处理的 DNA 溶液滴加在石墨表面,干燥后用 STM 加以观察,可以观察到变性处理引发的各种结构变化,其中包括多种二级结构及三级结构的变化。由于 STM 只能观察样品最表面的结构状态,对于复杂的三维结构的解释有一定的困难,因而许多复杂的结构变化虽然被 STM 观察到,但很难解释。虽然相信被我们称为“无规线团”的结构并非“无规”可循,但在目前的解释水平上,只

好暂时放弃,而去解释一些十分简单而明确的结构变化。

在二级结构方面,我们用自行研制的扫描隧道显微镜研究了 DNA 的变异结构,发现 λ -DNA (Hind III) 能够形成左旋三链结构以及辫状三链结构。而且还观察到在同一双链上既有左旋又有右旋的片段。同时也观察到辫状三链与右旋双链片段的接合结构。封三图 1 是这种三链辫状结构与一右旋双链片段相互衔接的 STM 图象。图 2 是左旋。右旋同时存在于一条双链 DNA 的 STM 图象。左旋、右旋片段相衔接的部位十分简洁,没有造成任何链的扭曲。另外,我们还观察到左旋三链 DNA 的 STM 图象,其链宽大约为 29 Å。它的螺距大约是 67 Å。图象显示这种三链结构不同于三链辫状结构,而是呈左手三链螺旋形式。1974 年有人提出过三链螺旋模型,但和这一模型不同,我们观察到的是左旋而模型是右旋的。在三级结构方面,我们观察到由左旋双链缠绕而成的、螺距约为 27 Å,宽约 60 Å 的左旋“弹簧状”三级结构。另外也观察到两排 DNA 双链互相缠绕成大的“弹簧状”三级结构。这是首次用 STM 获得 DNA 结构变化及未知结构方面的信息,拓宽了人们对 DNA 结构多样性认识,表明 STM 在研究 DNA 结构和变化方面,具有十分广阔的前景。

除了上述有关核酸的扫描隧道显微研究工作外,还有许多研究人员也分别获得了许多关于 DNA 的研究成果。另外, Miles 等人还获得了溴乙锭嵌入 DNA 的扫描隧道显微图象。所有这些成果,无疑将大大推动扫描隧道显微术在核酸结构研究中的应用,也为这一应用的发展打下了基础。

蛋白质的扫描隧道显微术研究

蛋白质是生命结构的构成者,也是基本生命活动的功能执行者。构成蛋白质的基本单位是氨基酸。氨基酸组成肽链后,能够卷曲、折叠,进而形成结构复杂多样、执行绝大部分生命功能的蛋白质。蛋白质又可划分为结构蛋白和功能蛋白两大类。目前,扫描隧道显微术研究已经涉及氨基酸,人工合成多肽,结构蛋白和功能蛋白等主要领域。

1. 人工合成多肽

对人工合成的多聚 γ -苯基-L-谷氨酸 [PBLG] 进行的扫描隧道显微研究表明,PBLG 在各种不同的溶液条件下,可以呈现不同的构象。

(DMF)、氨仿、苯可使得 PBLG 呈现 α -螺旋结构;二氯乙酸 (DCA) 能使 PBLG 形成无规线团结构。McMaster 等人分别获得了 PBLG 在 DCA, 氨仿及 DMF 条件下的扫描隧道显微图象。在 PBLG 溶于 DCA 中后吸附在石墨表面上所获得的图象中,PBLG 呈现没什么规律的团状结构,这与 DCA 的作用效果相符合。而氨仿则使 PBLG 表现出聚集在一起的周期性结构,DMF 则更进一步使 PBLG 形成一种高度有序的,具有强烈螺旋结构的液晶态结构。这一成果,显示扫描隧道显微镜能够真实地反映出多肽乃至蛋白的三维结构。

2. 结构蛋白

迄今为止,在结构蛋白的扫描隧道显微研究方面,主要在对胶原蛋白、细胞骨架蛋白以及 HPI 蛋白等的研究中取得了一定成果。

在对胶原蛋白的研究中先是获得了金属被膜的 IV 型胶原蛋白的网状结构以及单个纤维的扫描隧道显微图,观察到高约 4~5nm 的末端球状区域。最近,在对裸露的 I 型胶原蛋白进行的扫描隧道显微研究中,获得了高分辨的图象,能够看到胶原蛋白链上~9nm 的周期性峰,研究者认为这一周期反映了胶原蛋白单体链的周期性。而图中显示的 3nm 周期性则反映了胶原

蛋白的三体螺旋状态。图象中纤维宽度为 $\sim 1.5\text{nm}$ ，与已知的宽度相符合。

在对细胞骨架的扫描隧显微研究中，已经分别获得了微管蛋白和中等纤维的图象。在微管蛋白的图象中，可以分辨出5~6条约 4nm 粗的原纤维，同时可以分辨出花生状的结构($8\text{nm} \times 4\text{nm}$)，可能是微管蛋白亚基。在中等纤维的图象中，能够分辨出互相缠绕的亚纤维结构。

HPI蛋白是一种细菌 (*Deinococcus radiodurans*) 的表面蛋白，天然状态下就会形成二维蛋白晶体。在对HPI蛋白进行的研究中，分别获得了金属被膜的以及裸露样品的扫描隧道显微图象，除了显示出 18nm 的重复位外，还能看到由于拱形的蛋白层被压平在基底表面所导致的裂缝。由于采用了高偏压、低电流、潮湿样品等方法，使得较厚的裸露样品(多蛋白层时可达 $\sim 20\text{nm}$ ，单层时 8nm)获得了较好的成象。

3. 功能蛋白

把溶菌酶及胰凝乳蛋白酶原A吸附在石墨基底上，用STM研究发现在这两个系统中蛋白质在石墨上都呈现某种规律性排列。在溶菌酶体系中，随着初始溶液浓度的不同，滴在石墨上后溶菌酶体系能够呈现周期从约 40\AA (溶菌酶分子的大小)到 150\AA 的不同的二维排列形式。在胰凝乳蛋白酶原A体系中，研究者同样发现了小范围的二维有序排列。研究者认为，这种二维晶体的形式，除了与蛋白质之间的相互作用有关外，还可能与扫描过程及基底与样品的相互作用有关。这一结果显示可能把STM用于研究蛋白质的外延晶体生长，也有可能用作蛋白的结构测定。

利用Hopping技术，人们已经获得了猪胃蛋白酶的扫描隧道显微图象。无论是裸露的样品还是碳被膜的样品，都分别获得了聚集状态和单个状态的分子图象。裸露的单个胃蛋白酶的图象显示出扫描隧道显微研究结果在分子横向尺度上与已知结果相吻合，但分子高度只有已知结果的 $4/5$ 。图象中分子的表面形貌也与X-射线晶体衍射结果相符合。在覆以碳膜样品的扫描隧道显微图中，发现分子横向尺度稍微偏大，而高度则只有裸露样品的 $1/4$ 。这可能与镀膜过程有关。在镀膜样品的分子表面，发现了非常复杂的结构，这种结构尚不能解释。

我们用自行研制的扫描隧道显微镜获得了猪胰岛素的扫描隧道显微图象，观察到两个胰岛素单体，这一单体图象包含约50个亮点，每个亮点之间相间约 3\AA 。这些亮点被认为是单体表面的残基。把这一单体图象选区放大后与X-射线晶体结构模型相比较，发现基本吻合。但比较扫描隧道显微图与模型图中心区域，发现实验结果在这一位置上有氨基酸残基而模型没有。这可能是样品本身结构与晶体结构有差异的结果。除了单体的图象外，我们还获得了二聚体及聚集态的图象。二聚体的图象显示出两个亚基之间相互作用的情况。这一结果显示在氨基酸残基水平上对蛋白质进行扫描隧道显微结构研究已成为可能。

除了对单一的功能蛋白外，Elings等人还对酶复合物进行了扫描隧道显微研究。研究在肌肉收缩中发挥作用的磷酸化酶激酶及其底物磷酸化酶b所组成的系统，分别获得了两种酶及其复合物的扫描隧道显微图象。磷酸化酶激酶全酶呈蝴蝶状，翅展为 $23.7 \pm 3.2\text{nm}$ ，翅最窄处为 $12.1 \pm 1.4\text{nm}$ 。翅长(与翅边平行测量)为 $21.3 \pm 2.0\text{nm}$ 。分子厚度平均 $1.43 \pm 0.03\text{nm}$ 。这被认为是由16个亚基分为两组后分别构成两个翅膀，然后结合在一起形成全酶，即 $(\alpha_2\beta_2\gamma_2\delta_2)_2$ 。对磷酸化酶b的研究发现有由两个二聚体以共平面的方式组成的四聚体和磷酸化酶b二聚体沿长轴($\sim 11.2\text{nm}$)首尾联结的磷酸化酶链(宽 5.3nm)，以及两个四聚体相连形成八聚体。除了观察到的这两种酶的存在状态外，还观察到半个蝴蝶翅膀(磷酸化酶激酶全

酶的半分子 ($a_2b_2\Gamma_2O_2$)、以及磷酸化酶激酶二聚体并列相连组成的链(约11nm宽)。在磷酸化酶 b 与磷酸化酶激酶形成酶-底物复合物后的扫描隧道显微图中,可见到三条约11nm宽的磷酸化酶 b 链(二聚体并排连接)与磷酸化酶激酶连结在一起。

生物膜的扫描隧道显微术研究

生物膜是与细胞起源、生命本质密切相关的重要结构。它以界面的形式把生命活动的各个区域划分开来,并保持、调节着各区内外环境,使得各区内的生命活动得以正常进行。同时,膜也是绝大多数生化反应的基本场所。认识膜,乃是认识生命现象的一个重要方面。自 Stemmer 等人发表第一个生物膜的扫描隧道显微研究成果以来,虽然在这方面的进展不如 DNA 和蛋白质那么引人注目,但也取得了一些初步的结果,引起了广泛的兴趣。

利用冰冻断裂技术,能把具有一定流动性且不导电的 DMPC (dimyristoylphosphatidylcholine) 膜转化成为刚性的导电良好的复型。对这一复型进行扫描隧道显微观察,获得的图象显示了 DMPC 膜的波纹相,其波纹深为 4.5nm,周期为 13nm。波纹具有一定的不对称性,左侧比右侧显得更陡峭。另外在图中还发现波纹中存在一些尚无法解释的精细结构。

我们把卵磷脂双层膜放在不锈钢基底上干燥后进行扫描隧道显微观察,看到呈岛状排列的结构,其直径约 210 Å,间距 40 Å,每个岛是由大约 170 个脂分子头部聚集在一起形成的超分子结构。在部分区域可以看到脂分子头部在某些区域呈现有序分布,这种有序分布可能是由于干燥前脂分子的有序排列引起的。我们还观察到波纹相结构,波纹周期为 128 Å,是在脂膜相变点温度以下时观察所获得的结果。

将 TE671 细胞膜吸附在高定向热解石墨上加以观察,获得了相应的扫描隧道显微图象。在 TE671 的膜结构中,能够分辨出纤维状结构。在卵细胞膜的图象中,发现了与 TE671 膜同样的纤维结构,而且还能分辨出这些纤维结构(120 Å)中的次一级结构(约 30 Å 亚纤维)。另外在这一样品中还观察到大小不一的丘状结构(平均直径约 50 Å)。虽然不能明确这些结构的成分,但从细胞学角度加以分析,可以推测纤维结构可能是联接着脂膜的细胞骨架成分,而丘状结构可能是膜蛋白与脂的复合体。

Haggerty 等人把富含乙酰胆碱受体蛋白(AChR 蛋白)的 *Torpedo marmorata* 的后突触膜吸附到石墨表面,干燥后在大气下加以观察,获得了该蛋白在膜上分布的 STM 形貌图。该蛋白的环形形状及其排列形式清晰可辨,与电镜结果相比较,除了由于 STM 的局限使分子中央孔洞在 STM 中显示得没有那么清楚外,其它方面吻合良好。与此同时,作者还对这一体系做了隧道谱分析,也获得了很好的结果。STM 和隧道谱的联合使用,可望能够用于分析更复杂的生物膜体系。

大尺度生物样品表面形貌的研究

前面所述的是用 STM 在分子水平上直接观察生物样品。STM 不仅能在这一水平上观察生物样品,而且能在更大的范围观察生物样品的表面形貌。这样,STM 就可以从各种不同层次(从原子水平—亚细胞水平)揭示生物样品的表面结构,从而揭示不同层次的生命组织形式及其功能。

在用 STM 对 *Methanospirillum hungatei* (Mh) 的细胞外鞘进行研究过程中,Jericho 等人首先把 Mh 的外壳稀溶液滴在石墨表面上,吸附 1~2 分钟后用吸水纸吸去多余的溶液,干燥后便可

直接观察。同时也可以做进一步处理,即以金和铂膜蒸镀在样品表面后加以观察。为了减小针尖对样品表面的破坏作用,所用的 STM 的扫描线速度很慢 ($< \sim 1000 \text{ \AA} / \text{sec}$), 隧道电流值也很小 ($\sim 0.1 \text{ nA}$)。为了克服样品导电性较差的弱点,采用了较高的偏压 ($\sim 1 \text{ V}$)。在这些条件下,获得了较有意义的 STM 图象。他们最早获得的是金属被膜的 Mh 完整外鞘的图象。在 Pt 蒸镀 (25 \AA) 的 Mh 图象上,能够分辨出平行 60 \AA 宽的折皱。最近利用 Hopping 技术,不仅观察到了裸露的 Mh 细胞外鞘的表面形貌,还能够进一步分辨出 30 \AA 的最小折皱,说明镀膜的确影响了分辨率。

由于噬菌体展度较大,目前用 STM 成功观察这类样品时都必须事先镀膜。目前人们已经分别获得了 T₇, fd 及烟草花叶病毒等多种噬菌体的形貌图。

对 T₇ 和 fd 噬菌体进行 STM 研究时,样品制备采用把噬菌体吸附在金球表面蒸镀以铂-碳膜,然后加以观察。

完整的 T₇ 噬菌体 STM 图象显示出两个噬菌体头部直径约 700 \AA , 高度约 500 \AA , 尾部观察不到。这与 TEM 的观察结果相符。高度的不足可能是由于样品脱水所至。

把 T₇ 噬菌体在三蒸水中低渗裂解后再进行制样观察,看到左上角两个噬菌体头部相邻,还可分辨出噬菌体头部的小面,两相邻面的夹角约 120 度。在右下方有链状物体从头部伸出,被认为是释放出来的 DNA 和蛋白质聚集体。

另外,在 T₇ 裂解后所得的噬菌体的外壳蛋白颗粒 (55 \AA) 的 STM 图中,它们似乎呈现一定的规律性排列。

扫描隧道显微技术除了在上述的生命科学领域得到应用外,还在其他一些方面得到应用。例如 Rabe 等人利用扫描隧道显微镜观察了吸附在石墨表面的纤维素分子, Miles 等人观察到吸附在石墨表面的甲基苯磺酸脂化了的环状多糖,以及 Masai 等人提出建立免疫扫描隧道显微检测技术并获得了初步结果等等。所有这些成果,无一不显示出扫描隧道显微术在生命科学中应用的强大生命力。尽管目前的研究成果还是初步的,但已经显示出这一新技术将有可能在天然条件和近天然条件下,揭示生命的微观结构,这为揭示活性状态的生命结构及其变化,提供了可能。

(收稿日期: 1991 年 2 月 27 日)

责任编辑 尧汝英