

基于原子力显微镜研究 I 型胶原-抗体的结合位点及作用力

朱杰^{1,2}, 龙勉^{2*}

1. 西北农林科技大学 生物物理研究所, 心血管生物力学实验室, 陕西杨凌 712100;

2. 中国科学院 力学研究所, 生物力学与生物工程中心, 北京 100190

E-mail: mlong@imech. ac. cn, cardioclabs@gmail. com

胶原蛋白 (collagen) 是脊椎动物体内含量最丰富的一种天然蛋白质, 约占个体蛋白质总量的 25% ~ 35%。作为胶原蛋白行使其生理功能的基本形态, 胶原纤维可在生物体内交织成富有机械强度和弹性的网状结构, 是细胞外基质 (extracellular matrix) 的主要组分。心肌组织中的胶原蛋白以 I 和 III 型为主, 并与糖蛋白和蛋白多糖等交联分子聚合成胶原微纤维, 是肌内膜 (endomysium) 的主要成分, 约占肌肉组织总重的 1% ~ 2%。胶原蛋白的不溶性 (insolubility) 一直是研究单体胶原的最大障碍; 但随着原子力显微镜 (AFM) 和 X 射线纤维衍射 (XRFD) 技术的发展, 研究者们已经逐渐获得更多有关胶原结构的原位信息, 这些信息将有助于人们更好地了解胶原蛋白结构影响细胞-细胞、细胞-基质相互作用的途径, 以及胶原蛋白在组织生长、发育、病变和修复/再生过程中所起的作用。

本文首先研究了胶原纤维在空气中干燥时其精细结构随时间变化的规律, 发现在云母片上固定的胶原纤维的 D 单元长度在干燥的过程中并无显著变化, 基本稳定在 66.67 nm, 因而该方法适于研究胶原纤维的精细结构。接着研究了抗 I 型胶原蛋白抗体标记的胶原纤维的表面超微结构, 发现纯粹的胶原纤维的精细结构与天然的纤维并无差别, 但不同抗体作用时间对应的纤维样品的金纳米颗粒的密度有较大差别, 抗体作用时间为 2h 的金纳米颗粒密度与标准的结合密度很接近。在此基础上, 实验研究了抗 I 型胶原蛋白抗体在胶原纤维上的结合位置, 分析高分辨的 AFM 图像发现, 与抗体结合的金颗粒主要分布在胶原纤维的重叠区, 力学分析其单体结合力约为 250 pN^[1]。但基于 AFM 设备的分辨率和稳定性, 限制了本研究采用更小尺寸的金纳米颗粒的标记来提高图像的分辨率从而影响了抗体结合位点检测精度的提高。如能搭建更高分辨率和稳定性的 AFM 系统, 将有助于确定抗 I 型胶原蛋白抗体在重叠区更为精确的结合位点及其相互作用力^[2] (中国博士后科学基金(20100481372), 中央高校基本科研费(QN2011123))。

参考文献:

- [1] 朱杰. 心肌纤维与 I 型胶原纤维的超微结构及生物力学特性研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学博士学位论文, 2010
- [2] Jie Zhu (朱杰), Tanya Sabharwal, Lianhong Guo, Jenny Lee, Lin Wang and Guodong Wang. Effects of probe pollutants on morphological and mechanical measurements of muscle and collagen fibers using atomic force microscopy. *Scanning*, 2010, 32(3): 113-121