

# 探索微纳米世界的手 —— 原子力显微镜<sup>1)</sup>

李航宇 聂鹏程 关东石<sup>2)</sup>

(中国科学院力学研究所, 非线性力学国家重点实验室, 北京 100190)

(中国科学院大学工程科学学院, 北京 100049)

**摘要** 显微镜的发展让人类看到了真实的微纳米世界, 原子力显微镜的出现则让我们进一步直接接触并感知其中的力学相互作用。借助这只微纳尺度的手, 原子力显微镜技术越来越多地帮助我们探索和理解微纳米世界, 甚至是生命世界。本文介绍了显微镜的发展, 原子力显微镜的力学测量原理, 以及在活细胞力学研究中的应用。

**关键词** 原子力显微镜, 微纳米尺度, 弹性模量, 细胞力学

中图分类号: Q233 文献标识码: A doi: 10.6052/1000-0879-20-480

## A HAND OF EXPLORING THE MICRO- AND NANO-SCALE WORLD — ATOMIC FORCE MICROSCOPE<sup>1)</sup>

LI Hangyu NIE Pengcheng GUAN Dongshi<sup>2)</sup>

(The State Key Laboratory of Nonlinear Mechanics, Institute of Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China)

(School of Engineering Science, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

**Abstract** The development of microscopes makes it possible to observe the physical world at the micro- and nano-scales. The invention of the atomic force microscope (AFM) enables us to directly contact the microscopic world and measure the interactions. With the help of this micro- and nano-scale hand, the AFM technique, is increasingly used for exploring and understanding the physical world and even the living world at micro- and nano-scales. This paper reviews the development of the microscope, the working principle of the AFM and its application in studying cell mechanics.

**Key words** atomic force microscope, micro- and nano-scales, Young's modulus, cell mechanics

自有文明以来, 人类就没有停止过对自然世界的探索。视觉和触觉是人类探索世界最重要的两种感官, 当一个小宝宝刚刚降生下来, 他很快就会睁开双眼去观察周围的世界, 并通过嘴和手指不停地去触摸探索周围的环境。这种与生俱来的认识基础也导致人类在很长的一段时间内, 对世界的探索被限制在了“看得见摸得着”的范围之内。通常情况下, 在 25 cm 的明视范围内, 可被人裸眼辨识到的最小

尺度大约是 50  $\mu\text{m}$ , 相当于头发丝粗细的一半, 而手指对纹理的分辨能力更低。随着对世界的不断认知, 人类逐渐认识到在肉眼无法观测到的尺度下还存在着一个丰富多彩的微纳米世界, 比如: 在微米尺度的各类细胞, 以及在纳米尺度的各种分子, 它们在力的作用下运动、组装, 构成了宏观的大千世界。

显微镜技术的发明和发展, 为我们提供了观测和探索微纳米世界的有效工具。显微镜不但开拓了

2020-11-16 收到第 1 稿, 2020-11-25 收到修改稿。

1) 国家自然科学基金 (11972351) 资助。

2) 关东石, 研究员, 研究方向为微纳尺度流体力学, 软物质和生命物质力学。E-mail: dsguan@imech.ac.cn

**引用格式:** 李航宇, 聂鹏程, 关东石. 探索微纳米世界的手 —— 原子力显微镜. 力学与实践, 2021, 43(5): 806-811

Li Hangyu, Nie Pengcheng, Guan Dongshi. A hand of exploring the micro- and nano-scale world — atomic force microscope. *Mechanics in Engineering*, 2021, 43(5): 806-811

我们的视野，甚至可以像我们的手指一样来感知微纳米世界的相互作用、测量微纳米材料和活细胞的力学信息。本文将简介显微镜的发展，聚焦其中一类特别的显微镜 —— 原子力显微镜，它是帮助我们探索微纳米世界的手。

## 1 显微镜的发展

最早的显微镜是由一个荷兰的眼镜商人詹森 (Zacharias Jansen) 在 1590 年发明的。他在跟儿子玩的时候，把两个凸透镜放到了一个圆筒里，形成了一个最早期的显微镜。这样一个非常偶然的发明打开了微观世界的大门。人们陆续观察到了血液中的红细胞、细菌、海藻等微生物，同时也逐渐意识到光学显微镜的成像并不能被无限放大。1872 年，德国物理学家和数学家阿贝 (Ernst Karl Abbe) 推导出：光学显微镜的分辨率受可见光波长的限制，最高只能到  $0.2\ \mu\text{m}$ ，即最小可见光波长的一半，也被称为阿贝极限。但是科学家们从来没有停止过对极限的探索和挑战，1931 年，电子显微镜接过光学显微镜的火炬，继续向微纳米世界进发。发明者鲁斯卡 (Ernst August Friedrich Ruska) 采用了波长更小的电子束作为显微镜的“光源”，显微镜的分辨率可以达到  $0.1\sim 0.2\ \text{nm}$ <sup>[1]</sup>。

无论是光学显微镜还是电子显微镜，它们都像我们的双眼一样用来观测微纳米世界的样貌，却无法像我们的手指一样来感知其中的材料物性和测量力学相互作用。1985 年的一天，瑞士科学家宾尼希 (Gerd Binnig) 躺在沙发上看着凹凸不平的天花板陷入了沉思。他忽然想到了一个细细的针尖接触并扫过天花板的情景，就如一根灵巧的手指抚过表面感受天花板的纹理，宾尼希兴奋地记录下了这个想法。他在实验设计中，用一根固体探针真实地接触材料表面，并通过探针的弯曲起伏来反应表面形貌，在实验室同事的协助下，1986 年 3 月 3 日，原子力显微镜诞生了<sup>[2]</sup>，由此开创出了一种全新的观测方式。

在原子力显微镜中，核心部分是一根带有纳米尖端的悬臂 (探针)，如图 1 所示。利用它像我们更小的手指一样，去触摸样品的表面，在运动过程将探针高度变化的信息通过激光传回位置灵敏接收器，我们就可以得到样品表观的一个形貌，如图 2 所示。一般情况下，原子力显微镜的横向分辨率能达到  $1\ \text{nm}$ ，纵向分辨率为  $0.2\ \text{nm}$ ，各类显微镜分辨率如

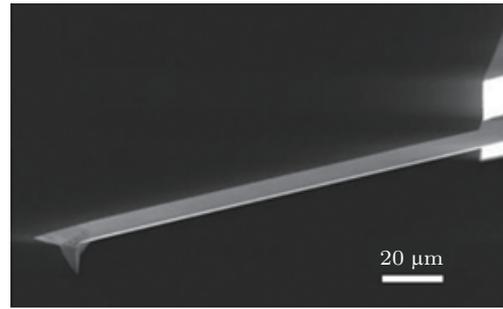


图 1 原子力显微镜探针

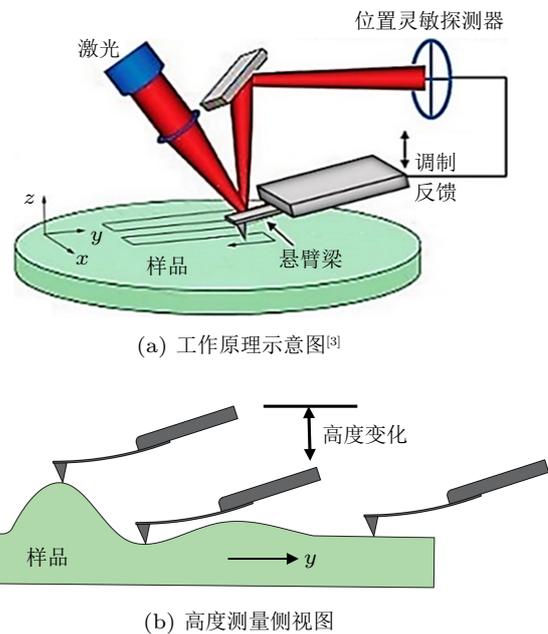


图 2 原子力显微镜示意图

图 3 所示。

不仅如此，由于原子力显微镜测量方法的特殊性，在高分辨率成像的同时，它还拥有了高精度的微观光学测量能力，这更是填补了显微镜在力学测量中的空白。在真实的微纳米世界里，充满了力学相互作用。例如，在人体系统中，细胞和蛋白质等大分子会在力的作用下进行非常活跃的运动：红细胞通过水动力在血管内非常快速地流动；白细胞通过表面配体与血管壁上的特异性受体相结合粘附在血管壁运动；输送物质的分子马达消耗 ATP 拉拽着分子“货物”沿着细胞中的微管做步进运动，其步长约为  $10\ \text{nm}$ ，拖拽力约为  $4\ \text{pN}$ 。原子力显微镜如同一只微纳尺度的手，让我们能直接接触并感受微观世界的力学信息。

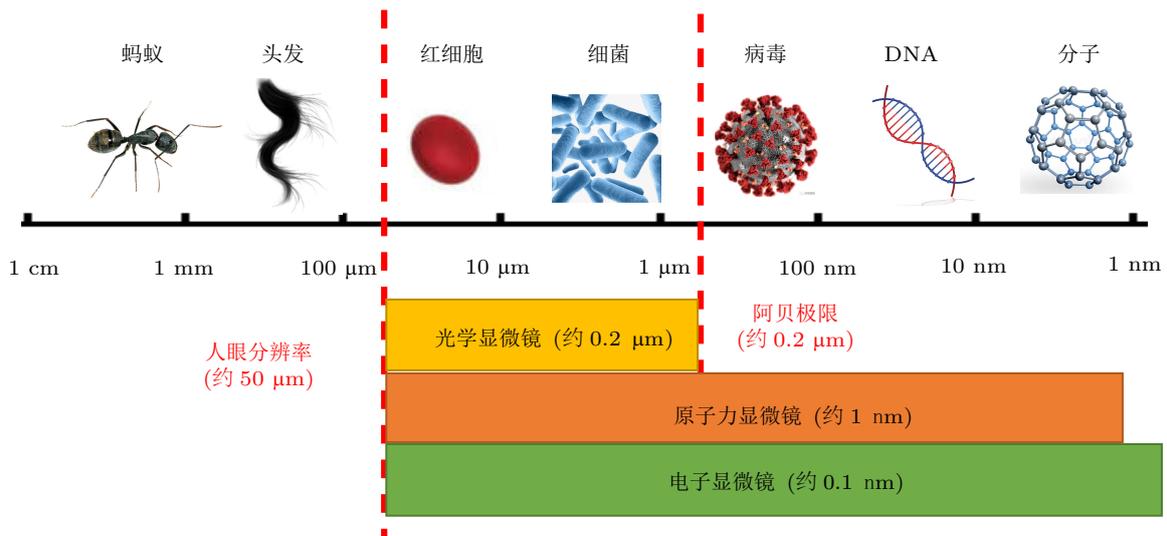


图3 人眼及显微镜分辨率

## 2 原子力显微镜的力学测量

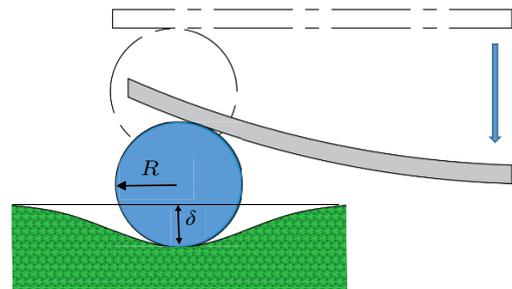
使用原子力显微镜进行力学测量时, 作用于悬臂尖端的力可用胡克定律简单地描述

$$F = kz \quad (1)$$

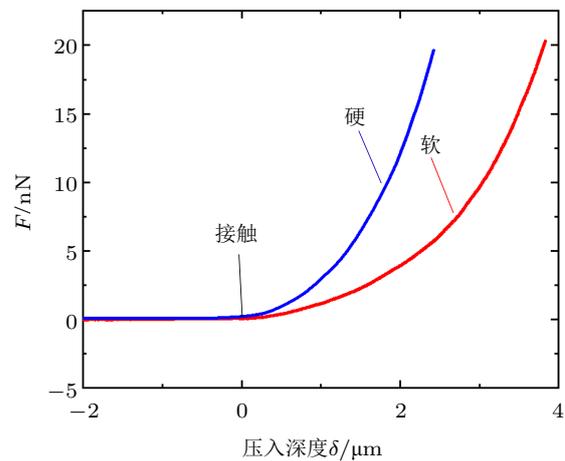
其中  $z$  是悬臂尖端纵向的形变,  $k$  是悬臂的弹性常数。通过测量纵向形变  $z$ , 乘以探针的弹性系数  $k$ , 就可以得到作用在探针上力的大小, 其力学分辨率能达到 1 pN。发展至今, 原子力显微镜在微纳米尺度的力学研究中已被应用于测量纳米材料表面和探针之间各种相互作用力, 如范德华力<sup>[4]</sup>、电磁力<sup>[5]</sup>、光力<sup>[6]</sup>、毛细力<sup>[7-8]</sup>等。

利用原子力显微镜, 还可以测量各种材料力学性质<sup>[9-10]</sup>, 以及生命物质的力学特性<sup>[11-13]</sup>等。在测量过程中, 通过记录原子力显微镜悬臂的位移和力的关系, 就能得到材料的软硬程度等力学信息, 如图 4(a) 所示, 在实验中, 通常会将一个直径为微米尺度的球形颗粒粘接于悬臂末端, 组装成一个胶体探针。胶体探针增大了尖端曲率半径, 减小了作用于表面局部的压强, 增大了探针与样品的接触面积, 可对接触面积范围内的力学性质的不均匀性进行平均。用胶体探针靠近材料表面过程中, 当探针接触材料时, 在下表面弹性的作用下, 探针会向上发生形变, 通过胡克定律, 原子力显微镜可以测量出该弹性力的大小。

如图 4(b) 所示, 当按压一个比较硬的材料, 力会随着按压深度发生比较快的变化; 而按压一个比



(a) 胶体探针



(b) 软硬两种材料的力曲线

图4 胶体探针力压痕实验

较软的材料, 在相同力的作用下, 它的形变会更大。该实验的结果可以由赫兹模型定量描述<sup>[14]</sup>

$$F = \frac{4}{3(1-\nu^2)} ER^{1/2} \delta^{3/2} \quad (2)$$

其中,  $E$  为衡量材料软硬程度的物理量, 即弹性模量;  $R$  代表球形颗粒的半径;  $\delta$  是压入深度的大小;  $\nu$  为泊松系数。实验中通常只有弹性模量  $E$  是未知的, 通过测量力随着按压深度的变化曲线, 就可以通过拟合实验结果得到材料弹性模量的大小。

### 3 活细胞的力学性质

作为人体最小的生命单元, 活细胞的力学性质与人体的健康状态密切相关。有研究者发现, 癌细胞的弹性模量会小于正常细胞, 这使得癌细胞更容易发生迁移<sup>[15]</sup>。因此, 微纳尺度的力学检测, 或许会提

供一种潜在的生物医疗诊断的方法, 在健康和医疗领域有着潜在的应用。

图 5 展示了不同材料的弹性模量, 可以看到图中金属的弹性模量是最大的, 在 GPa 量级, 橡胶会软一些, 在 MPa 量级, 而活细胞是非常软的, 弹性模量只有 kPa 量级。不仅如此, 与金属、橡胶的材料相比, 活细胞力学性质十分复杂, 这是由其内部力学结构十分复杂造成的。如图 6 所示, 图中红色线条表示肌动蛋白骨架, 绿色代表细胞质, 蓝色小球代表肌球蛋白, 这些复杂的生命物质成分共同决定了细胞的力学性质。

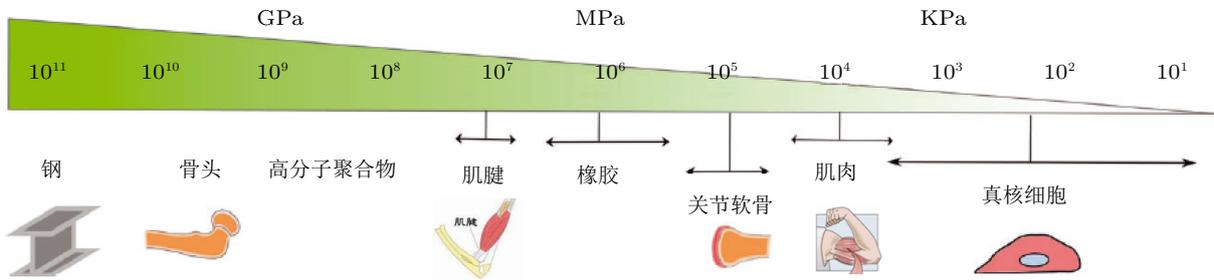


图 5 不同材料的弹性模量

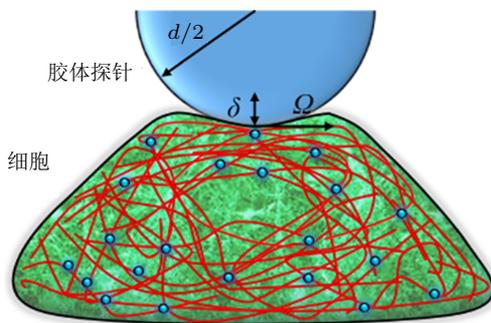


图 6 活细胞按压式力学测量

利用上节所述的原子力显微镜结合胶体探针技术, 通过力压痕实验, 可以测量单细胞的弹性模量。该技术基于材料各向同性假设, 将研究细胞作为一个整体进行力学表征, 可以用于大部分细胞弹力学性质的表征, 然而某些细胞具有力学各向异性及不均一性的特点, 这就需要我们改进探针的结构以及测量方法, 来对其进行更精确的力学表征。

研究中, 我们通过在探针的尖端组装一个微米尺度的微棒<sup>[9]</sup>, 形成一个“鱼竿”型的长针型探针, 如图 7 所示。测量时我们需要把微棒的一端浸入到液体里, 靠近细胞并做周期性振荡, 这样的设计

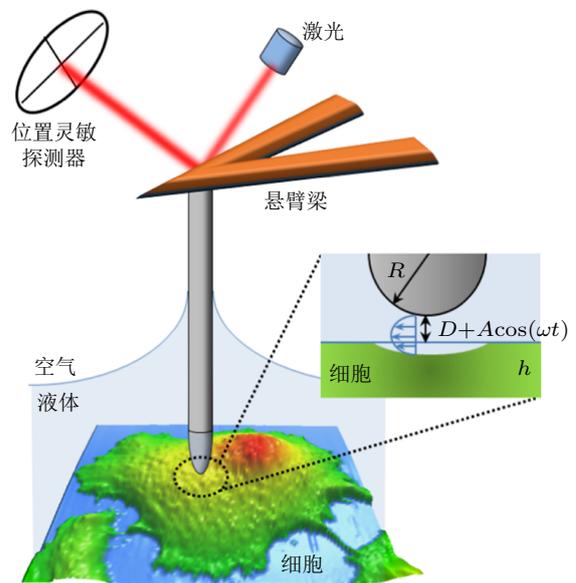


图 7 活细胞非接触式力学测量<sup>[3,13]</sup>

不仅可以极大地减小悬臂梁在液体中运动所受到的阻尼力, 提高测量精度, 还能更精准地表征细胞的局部力学性质。图 7 中的放大图显示了探针尖端和细胞表面间隙区域的液体流动的几何结构, 通过活细胞的力学反馈, 我们可以非接触式地获得关于活细

胞的多种物理量,以及它们随时间的动态变化。

利用该技术,我们可以测量活细胞在分裂过程中细胞的形态和力学性质在分裂过程中的动态转变。图8中,第一行是用光学显微镜所看到的细胞形貌;第二行是由原子力显微镜所扫描到的活细胞的三维形貌(黄色代表厚度高,浅蓝色代表厚度低);第三行是它的弹性模量的分布(黄色代表弹性模量高,浅蓝色代表弹性模量低)。实验发现,细胞表层弹性模量的分布与细胞的状态密切相关。对一个分裂间期的细胞,它的软硬程度的分布是不均一的。当进入有丝分裂期,它的力学性质发生了巨大转变:首先在形貌上它变成了一个球状,另外它的弹性模量在空间分布上也变得均一了(较为均匀的颜色)。而在

分裂过程中细胞的力学性质又会逐渐演化,最终恢复到弹性模量不均匀的分布。对于一个母细胞来说,处于各向均一的力学状态至关重要,只有这样,它才能在分裂过程中将内部的染色体、蛋白质等物质均匀地分配到两个子细胞中去。相反,如果母细胞处于各向异性状态,极易造成染色体分配异常,导致遗传疾病。

随着对微纳米世界的不断探索,人类逐渐认识到生命系统中的微纳尺度力学与自身健康息息相关。如何结合、改进现有技术,探究力学性质的转变和调控与人类重大疾病的关联并为疾病的预防和治疗提供参考将成为一个新的挑战!原子力显微镜技术的发展帮助人类开启了微纳米力学世界的大门。

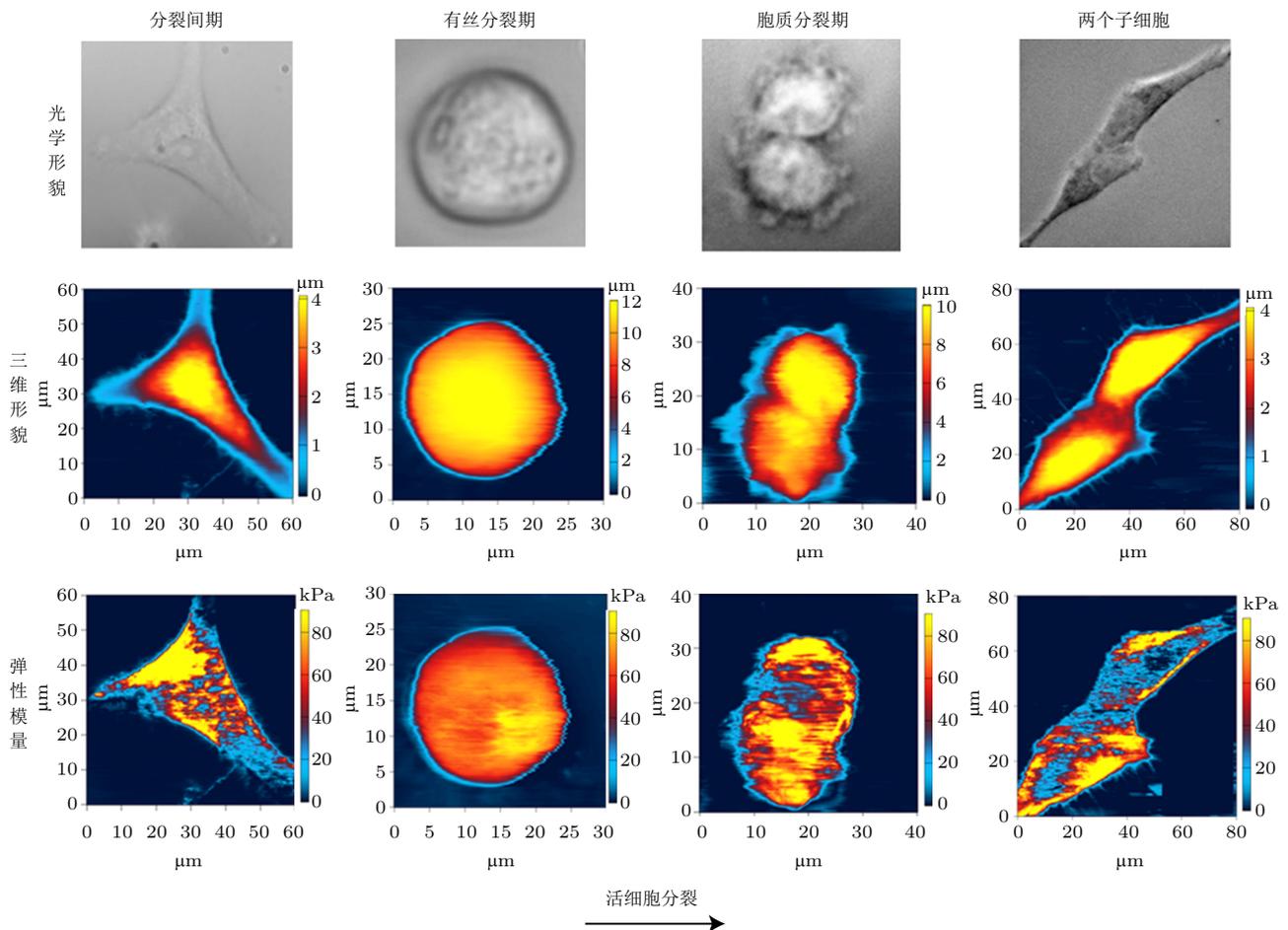


图8 活细胞形貌及弹性图像在分裂过程的转变<sup>[13]</sup>

## 参 考 文 献

- 1 章效锋. 显微传: 清晰的纳米世界. 北京: 清华大学出版社, 2015
  - 2 Binnig G, Quate CF, Gerber C. Atomic force microscope. *Physical Review Letters*, 1986, 56(9): 930-933
  - 3 关东石, 李航宇, 童彭尔. 原子力显微镜的生物力实验方法和研究进展. *实验流体力学*, 2020, 34(2): 57-66
- Guan Dongshi, Li Hangyu, Tong Peng'er. *Experimental*

- methods and recent progress in biomechanics using atomic force microscopy. *Journal of Experiments in Fluid Mechanics*, 2020, 34(2): 57-66 (in Chinese)
- 4 Cappella B, Dietler G. Force-distance curves by atomic force microscopy. *Surface Science Reports*, 1999, 34(1-3): 1-104
- 5 Wang YJ, Xu Z, Sheng P, et al. Electric-field-induced forces between two surfaces filled with an insulating liquid: the role of adsorbed water. *European Physical Journal Applied Physics*, 2014, 66(3): 31301
- 6 Guan D, Hang ZH, Marcet Z, et al. Direct measurement of optical force induced by near-field plasmonic cavity using dynamic mode AFM. *Scientific Reports*, 2015, 5: 16216
- 7 Guan D, Wang YJ, Charlaix E, et al. Asymmetric and speed-dependent capillary force hysteresis and relaxation of a suddenly stopped moving contact line. *Physical Review Letters*, 2016, 116(6): 066102
- 8 Guan D, Wang YJ, Charlaix E, et al. Simultaneous observation of asymmetric speed-dependent capillary force hysteresis and slow relaxation of a suddenly stopped moving contact line. *Physical Review E*, 2016, 94(4): 042802
- 9 Guan D, Chloé B, Charlaix E, et al. Noncontact viscoelastic measurement of polymer thin films in a liquid medium using long-needle atomic force microscopy. *Langmuir*, 2017, 33(6): 1385-1390
- 10 Shu YW, Chan HN, Guan D, et al. A simple fabricated thickness-based stiffness gradient for cell studies. *Science Bulletin*, 2017, 62(3): 222-228
- 11 Shen Y, Guan D, Serien D, et al. Mechanical characterization of microengineered epithelial cysts by using atomic force microscopy. *Biophysical Journal*, 2017, 112(2): 398-409
- 12 Zeng ML, Chen XD, Guan DS, et al. Reconstituted postsynaptic density as a molecular platform for understanding synapse formation and plasticity. *Cell*, 2018, 174(5): 1172-1187
- 13 Guan D, Charlaix E, Qi RZ, et al. Noncontact viscoelastic imaging of living cells using a long-needle atomic force microscope with dual-frequency modulation. *Physical Review Applied*, 2017, 8(4): 044010
- 14 Hertz H. On the contact of elastic solids. *Journal für die rein und angewandte Mathematik*, 1882, 92: 156-171
- 15 Cross SE, Jin YS, Rao J, et al. Nanomechanical analysis of cells from cancer patients. *Nature Nanotechnology*, 2007, 2(12): 780-783

(责任编辑: 胡漫)