

### 台式低电压透射电镜在医药和生物学研究中对于微小颗粒的形态学观测



图1: Delong超小型透射电子显微镜 LVEM5

在医药和生物学研究中对于微小颗粒诸如DNA、RNA、细胞器、外泌体、纳米颗粒、纳米药物等的形态学观测一直是具有刚性的需求。而光学显微镜受到光学衍射极限的限制往往不能够良好的观察小于200nm的微小粒子。因此到目前为止，直接观测纳米尺度的微小颗粒的最佳手段仍然是使用电子显微镜。

Delong公司所开发的LVEM5是专门针对低电压所开发的透射电镜，只需要很少的空间和资源就将其他成像模式，如扫描电子显微镜 (SEM)、扫描透射电子显微镜 (STEM) 或电子衍射 (ED) 结合在一个设备中。另外，所使用的肖特基场发射枪与低电压电子加速相结合，对于有机物来说又十分的友善，能够很好地避免重金属染色属对组织、蛋白、基因、药物、聚合物等有机物的污染和损害，同时保持合理的分辨率 (<2 nm)。

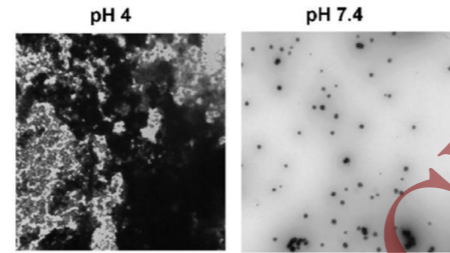


图2: Nimisha Bhattarai 等使用 LVEM5 TEM 模式观察线粒体和生理pH溶液环境下的nanogumbos (有机盐材料) 的形态。

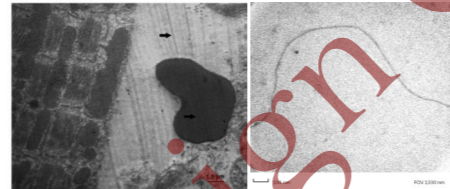


图3: 左: Jana Nebesářová 使用LVEM5对小鼠心肌细胞超微结构的透射电镜观察; 右: 使用LVEM5直接观测未染色的质粒形态

低电压透射电子显微镜具有体积小、易操作、高衬度、良好的成像质量等特性。在近几年中，使用这种电镜进行结构表征的文章也越来越多。相信随着生物分子机制研究的深入和纳米材料、药物的发展，这种小巧而灵活的低压透射电镜将会有更加广泛的应用前景。

作者: 王世强工程师

### 光片显微镜与新型透明方法结合，实现动物整体透明化，构建完整神经网络

通过对各种疾病的观察与研究，我们现在广泛认识到：大部分疾病，起源于身体的一部分，但最终都会影响到整体。这意味着，对于疾病的整体性研究至关重要。传统的组织病理成像的研究方法，更侧重于单个器官、组织的病理形态观察与检测，整体的病理研究需要一种能够完整地保存整个机体的形态并整体成像的方法。接下来我们将介绍Ali Erturk教授开发的vDISCO组织整体透明技术并使用LaVision UltraMicroscope光片显微镜进行动物整体成像。

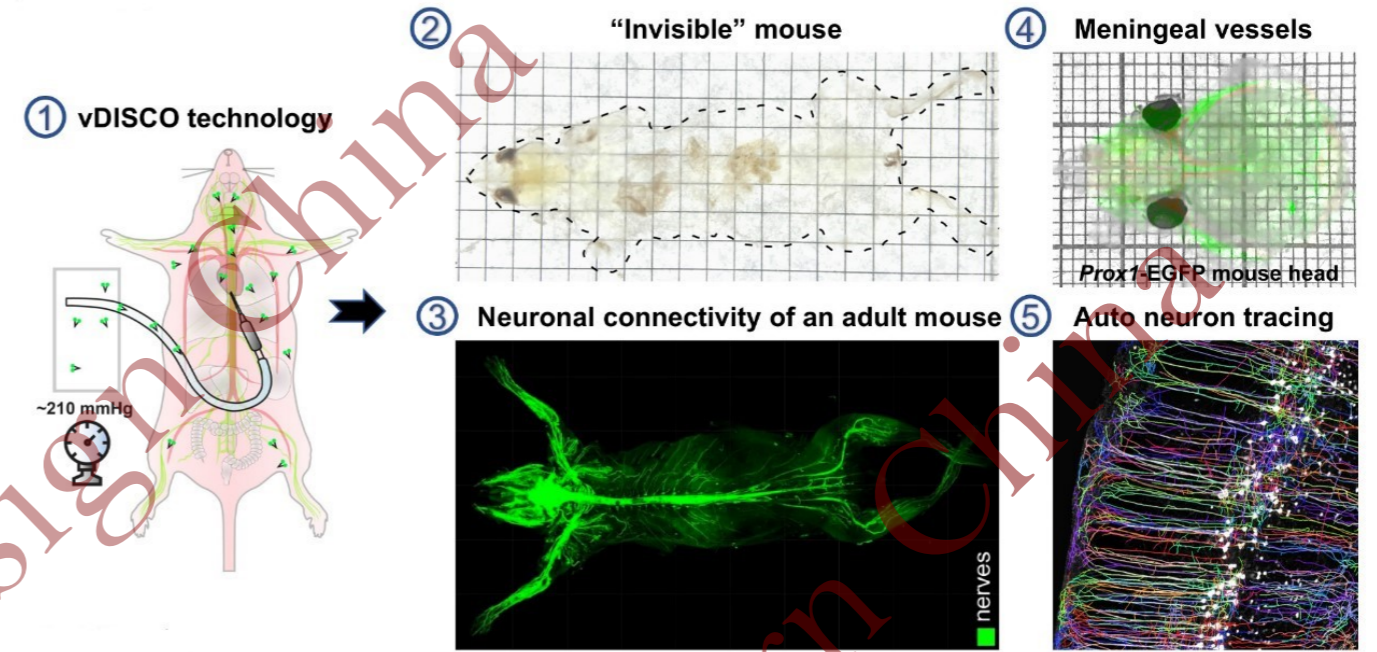


图1: (1) 高压强灌注是vDISCO的核心步骤; (2) vDISCO透明化后，光通过动物体不产生折射; (3) 完整的神经系统; (4) 可以通过透明的颅骨观察到脑膜的血管分布; (5) 整体透明后，单独神经的标记区分可以在整个动物体中进行。

动物整体透明化的难点在于动物内部由于组织厚而密集，透明化程度相对较低，同时荧光标记难以深入组织内部。vDISCO使用高压强的液体来执行心脏灌注，从而更彻底地清除血液等影响透明效果的因素，同时使荧光免疫标记能够达到更深层的组织实现整体均匀标记。

透明化完成后，余下的问题就是应该如何对大组织样本进行整体成像。LaVision UltraMicroscope具有8\*8\*5cm<sup>3</sup>的超大样品腔，可以容纳整个动物进行整体成像。vDISCO的极佳整体透明化效果与LaVision UltraMicroscope光片显微镜的大样品整体成像结合，使得疾病的宏观整体研究不再是水中月。

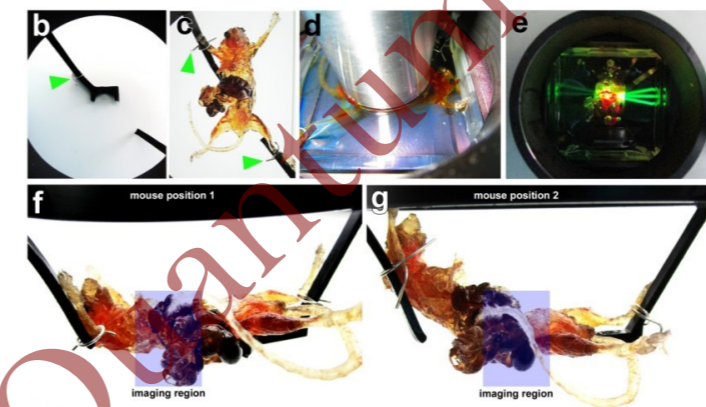


图2: UltraMicroscope光片显微镜可以容纳整个动物进行整体成像

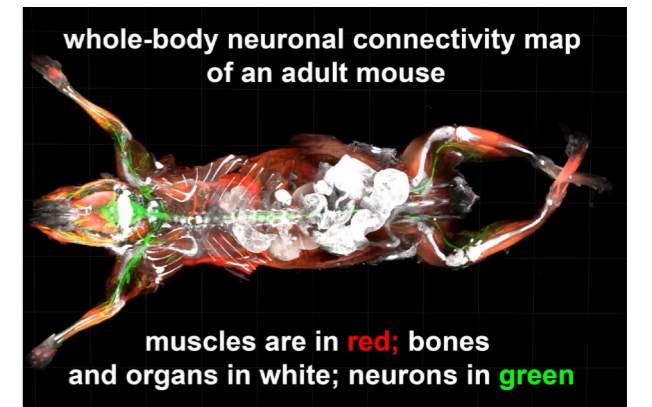
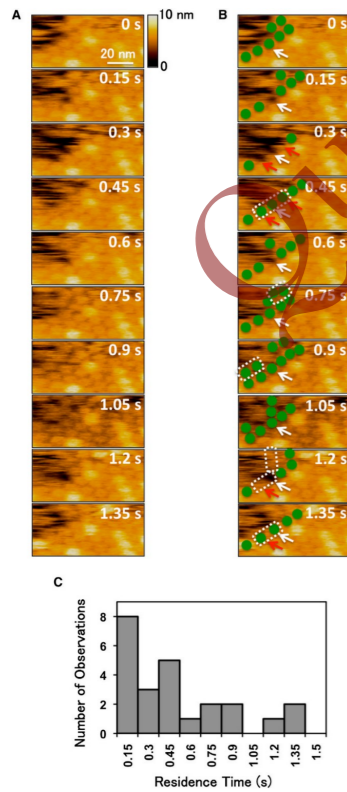


图3: 小鼠的整体神经连接。肌肉 (红色); 骨与器官 (白色); 神经系统 (绿色)

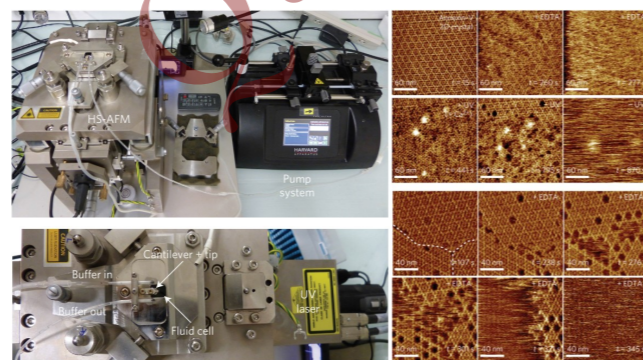
作者: 王宇飞工程师

### 日本RIBM超高速视频级原子力显微镜实现膜蛋白的直接实时成像



Lysenin是来源于蚯蚓的一种PFT。实验中，研究人员将lysenin与SM/cholesterol双层膜结构在去母为基底的环境下共同培养后使用HS-AFM进行成像获得lysenin寡聚体的三维图像。对寡聚体的高度数据进行统计，发现高度较低的寡聚体已嵌入到膜结构中，并可能形成了核孔。对400\*300nm区域内的SM/cholesterol双层膜结构上的lysenin组装过程进行更高放大倍数下更高速率的视频动态成像后发现 (如图1)，大部分从外围结合到hcp结构区域的簇会以平均0.45秒分解，而已形成hcp结构的则相对更加稳定。可能原因是内部的lysenin寡聚体相互之间具有更多的结合位点，更难以分解。高速HS-AFM成像有效进行了lysenin形成hcp结构的动态过程研究。

HS-AFM还可以与微流系统和激光等其他仪器结合，用于引导膜蛋白V (A5) 的组装与分解并进行成像，分析过程中的蛋白结构、动力学和分子间相互作用，对A5三聚体的组装与分解进行深入、详细的研究。研究人员使用微流系统向实验环境加入EDTA，降低钙离子含量，使三聚体形成的晶格结构分解，同时，通过精确控制的流量可以精准地计算出加入EDTA的含量进行定量分析；整合的高精度紫外激光，可以对钙离子笼锁化合物进行解笼锁操作，使其在实验过程中可以多次反复释放钙离子。通过HS-AFM的高速、高分辨率成像以及与其他仪器的联用，在体外构建了实时生化反应环境，在对蛋白结构直接成像的同时，发现了构成膜蛋白结构的两种不同状态的蛋白三聚体的差异，同时证明了钙离子在蛋白组装过程中的必要性。



作者: 王宇飞工程师