

# 全内反射荧光显微研究磷脂支撑膜形成中的片层前沿成长\*

马贝贝<sup>1)2)</sup> 王凡<sup>1)</sup> 林玲<sup>3)</sup> 朱涛<sup>2)†</sup> 蒋中英<sup>1)2)‡</sup>

1) (伊犁师范大学电子与工程学院, 微纳电传感技术与仿生器械重点实验室, 伊宁 835000)

2) (南京大学物理学院, 固体微结构物理国家重点实验室, 南京 210093)

3) (伊犁师范大学网络安全与信息技术学院, 伊宁 835000)

(2022 年 2 月 21 日收到; 2022 年 4 月 3 日收到修改稿)

基于支撑磷脂双层膜 (SLB) 的生物传感器越来越多地被用于快速测定抗原、检测细胞色素等. 囊泡在衬底的吸附和自发破裂可形成 SLB, 最近的研究强调在此过程中考察个体囊泡吸附和破裂的重要性. 本研究利用全内反射荧光显微镜 (TIRFM) 实时监测荧光标记的纳米级个体囊泡的吸附、破裂, 追踪片层前沿成长动力学过程. 结合带耗散的石英晶体微天平 (QCM-D) 的表征和分析, 发现囊泡尺寸对片层前沿成长有显著影响. 通过片层前沿平均成长速度 ( $v_{afv}$ ) 定量分析片层成长, 不同尺寸囊泡的  $v_{afv}$  存在数量级差异. 理论分析小囊泡具有较高的表面浓度 ( $C$ ) 和扩散性, 加快了片层前沿成长, 与实验值能够较好地符合. 此外, 通过全局成长理论模型, 解释了对于相同的片层, 前沿加速成长主要取决于  $C$  和囊泡破裂时的磷脂丢失率. 计算的小囊泡成片层的磷脂丢失率略大于大囊泡, 但更大差异的  $C$  是片层加速成长程度不同的关键. 囊泡供应影响片层前沿成长的机理诠释深化了磷脂在界面再组装的认识.

**关键词:** 囊泡尺寸, 表面浓度, 片层前沿成长, 全局成长模型

**PACS:** 87.16.D-, 87.64.M-, 87.15.Vv

**DOI:** 10.7498/aps.71.20220309

## 1 引言

生物膜与细胞的能量转换、信息传递以及物质运输等生物活动密切相关. 为了简化生物膜体系, 开发出多种仿生膜模型. 其中磷脂支撑膜 (SLB) 具有与生物膜相近的生物物理性质、极高的稳定性, 可通过多种表征手段研究其形成过程, 应用前景广阔. 文献 [1–5] 基于 SLB 等仿生膜体系, 开展了一系列膜物理机理与传感应用研究.

SLB 的深入应用要求研究者考察囊泡在衬底

吸附、形变破裂等相应的动力学过程, 得到可控实验参数来制备高质量仿生膜 [6]. 有文献报道了使用具有耗散监测的石英晶体微天平 (QCM-D) [7]、表面等离子共振 (SPR) [8] 等群体表征手段来考察多种实验条件对 SLB 形成的影响. 如囊泡特性 (磷脂组分 [7]、囊泡大小 [9,10]、环境条件 (温度 [9,11]、离子类型 [12,13]、溶液 pH 值 [14]、盐浓度 [15]) 和衬底特性 (原子组成 [16]、表面处理方法 [17]). 研究者们普遍认为囊泡可在衬底上形成完整的囊泡吸附层或破裂形成支撑膜. 当吸附囊泡密度超过临界覆盖密度时才会发生破裂 [18,19]. 囊泡破裂的速度取决于吸附

\* 新疆自然科学基金联合基金 (批准号: 2022D01C336)、伊犁师范大学科研项目 (批准号: 2021YSYB087) 和国家自然科学基金 (批准号: 11904167, 22163011) 资助的课题.

† 通信作者. E-mail: zhuttd@163.com

‡ 通信作者. E-mail: jiangzhying@163.com

过程中囊泡的形变<sup>[20,21]</sup>. 一般来说, 随着囊泡尺寸的增大, 其在表面形变越大, 破裂率可能更高<sup>[22,23]</sup>. 然而小囊泡的膜曲率较大, 这可能会促进破裂<sup>[24,25]</sup>. Reimhult 等<sup>[9]</sup>发现, 减小囊泡尺寸可以加快囊泡向 SLB 的转变. 不一致的实验结果增加了研究的不确定性. 此外, 由于很难捕捉单囊泡吸附和破裂的动力学行为, 囊泡在衬底破裂后形成完整支撑膜的中间步骤仍未得到清晰的理解.

为了进一步研究囊泡向支撑膜转变中重要的阶段, 使用荧光显微镜、原子力显微镜 (AFM)<sup>[7]</sup>、干涉散射显微镜技术 (iSCAT)<sup>[26]</sup> 等个体表征手段考察囊泡在衬底表面的组装. AFM 研究表明, 单个的囊泡可以破裂形成片层结构<sup>[7]</sup>, 该结构的边界存在磷脂排布缺陷; 之后实验发现片层边缘增强了囊泡与表面的黏附性并诱导囊泡破裂, 从而催化了 SLB 的形成<sup>[27]</sup>; Andrecka 等<sup>[26]</sup> 研究表明, 只有在多个囊泡紧密接触条件下, 片层结构才能发生波状推进形成完整的 SLB; Hook 课题组<sup>[28]</sup> 最近报道了片层前沿加速成长. 所有研究均表明, 片层结构在形成支撑膜过程中的重要性, 但片层加速成长本质尚不清楚. 不同因素譬如磷脂组分、囊泡尺寸等如何调控片层的前沿成长仍需探究.

本文在个体囊泡水平上重点考察了囊泡向支撑膜转变过程中片层的前沿成长. 全内反射荧光显微镜 (TIRFM) 可实时监测荧光标记的单纳米囊泡在衬底的再组装, 捕获囊泡破裂后形成片层结构的过程, 追踪片层前沿成长动力学. 通过片层前沿平均成长速度 ( $v_{afv}$ ) 定量描述不同尺寸囊泡破裂产生的片层前沿成长. 此外, 使用全局成长模型理解了片层前沿成长的关键调控物理参量. 研究为 SLB 的可控制备与应用提供了参考<sup>[5,29]</sup>.

## 2 实验部分

### 2.1 磷脂囊泡的制备

囊泡通过挤出法制备<sup>[30]</sup>. 将 DOPC 中掺杂 1% 的 DiI 荧光染料, 氯仿溶剂通过真空干燥箱除去. 在摇床中水化得到多层磷脂囊泡, 分别使用 100 和 30 nm 孔径的聚碳酸酯膜挤出器 (Avanti Polar Lipids) 制备单层囊泡 (补充信息中动态光散射表征后对应尺寸为 112 和 40 nm).

### 2.2 全内反射荧光显微镜观察

基于 Olympus IX-81 TIRFM 采集了囊泡在玻

璃表面的沉积过程. 将硅胶片黏贴在干净硼酸盐玻璃上形成舱室, 在静置条件下观测囊泡向支撑膜的转变. 温度通过 Instec HCS60 冷热台控制在 25 °C. 使用 ImageJ 软件统计片层数量、面积和囊泡数量. 误差棒表示三次重复实验的结果.

### 2.3 片层前沿成长速度计算

片层前沿成长速度是基于显微镜前后图像中边界间的最短距离  $l_{\min}$  确定的. ImageJ 软件标定片层边缘所有像素点的坐标, 使用自编的 Python 代码计算出  $l_{\min}$ . 拍照时间间隔为  $\Delta t$ , 利用 (1) 式计算片层前沿成长速度  $v_{fv}$ :

$$v_{fv} = l_{\min} / \Delta t. \quad (1)$$

定义片层前沿平均成长速度为单个片层结构前沿成长速度的平均值:  $v_{afv} = \bar{v}_{fv}$ .

## 3 结果与讨论

使用 TIRFM 在硼酸盐玻璃上观察单囊泡形成 SLB 的动力学过程. 采用渐消逝波激发玻璃-水界面处的荧光样品, 该显微技术能够快速获取低背景荧光的信息. 混掺标记和未标记的囊泡混合物, 提高了单个磷脂组装结构 (囊泡/片层) 的辨识度. 通过这种方式, 能够实时监测并追踪吸附囊泡的表面密度, 观察初始片层的形成, 并研究片层的成长动力学.

所有实验均在 PDMS 舱中静置的条件下进行. 图 1 给出了 SLB 形成过程中的荧光图像, 其中吸附囊泡为荧光强度较高的圆点; 随着囊泡破裂形成支撑膜, 出现荧光强度偏低的片层结构 (红色箭头标记). 囊泡向片层结构转变, 荧光强度降低, 源于单位吸附投影面积磷脂层数的降低、标记与未标记磷脂结构间的融合. 随着片层结构面积的提高, 最终形成完整的支撑膜结构.

采用直径为 40 和 112 nm 两种尺寸囊泡, 定量考察了片层成长的动力学过程. 首先, 片层数量小幅提高 (图 2(a)), 片层所占面积缓慢增长 (图 2(b)), 表明囊泡破裂形成片层结构, 该过程占据了整体成膜时间的约 60%—70%; 随后, 片层数量达到峰值并降低, 同时片层所占面积快速增大. 表明囊泡形成大量片层结构后, 片层间大量融合并迅速形成了完整的支撑膜. 但 40 nm 囊泡达到转变峰值的时间 (14 min) 明显早于 112 nm 囊泡 (50 min). 说明尺寸较小的囊泡更易向片层结构转变. 图 2(c) 和

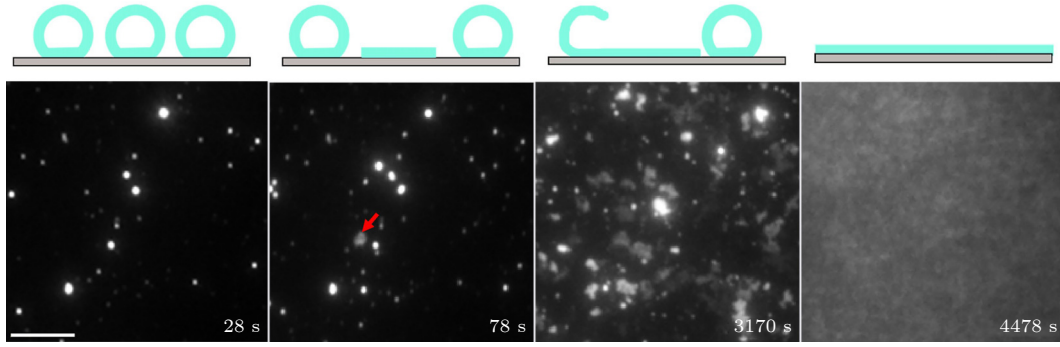


图 1 支撑双层膜形成的动力学过程: 四张典型 TIRFM 照片显示了 SLB 形成过程的不同阶段. 第一次观测到的囊泡破裂用红色箭头标记表示形成了初始片层. 比例尺为  $20\ \mu\text{m}$

Fig. 1. Spatiotemporal kinetics of the SLB formation: Four typical TIRFM images illustrating different stages of SLB formation. The first observed vesicle rupture is marked with red arrows to indicate the formation of the initial patch. The scale bar is  $20\ \mu\text{m}$ .

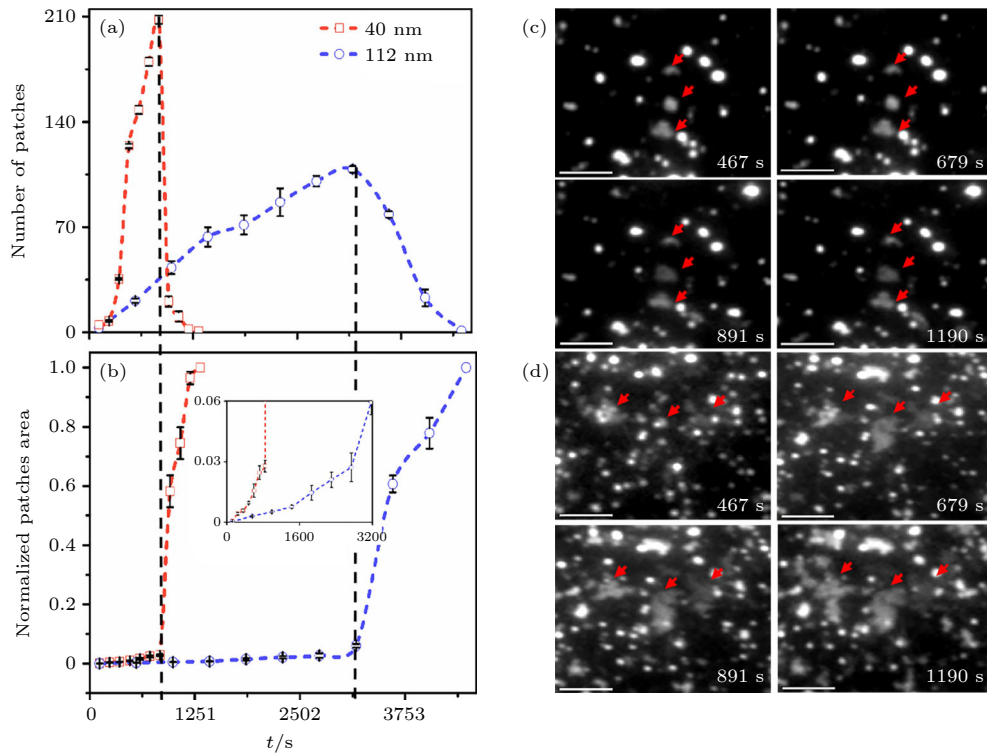


图 2 定量两种囊泡尺寸下, 片层成长动力学 (统计区域为  $5812\ \mu\text{m}^2$ ) (a) 片层数量随时间 ( $t$ ) 变化; (b) 片层归一化面积随时间的变化, 插图为局域放大图; (c) 112 nm 囊泡与 (d) 40 nm 囊泡的 TIRFM 图像. 比例尺为  $20\ \mu\text{m}$

Fig. 2. The kinetics of patch growth was quantitatively investigated using two vesicle samples with different sizes (Area of interest is  $5812\ \mu\text{m}^2$ ): (a) The number of patches changes with time ( $t$ ); (b) the normalized area of patches changes with time. The inset shows the data on enlarged scales; TIRFM images of (c) 112 nm vesicles and (d) 40 nm vesicles. The scale bar is  $20\ \mu\text{m}$ .

图 2(d) 给出了不同尺寸囊泡在同时段的图像, 可以观察到小尺寸囊泡有更多的低荧光强度片层面积、数量, 并实现了片层间的连接; 与之相对, 大尺寸囊泡的数量、面积增长缓慢.

采用前沿成长速度描述了片层成长. 将相邻时间图片中片层边界之间的最短距离 ( $l_{\min}$ ) 与拍照时间间隔 ( $\Delta t$ ) 之比定义为前沿成长速度 ( $v_{\text{fv}}$ ),  $v_{\text{fv}} \approx l_{\min}/\Delta t$ , 某给定时刻的平均成长速度  $v_{\text{afv}} = \bar{v}_{\text{fv}}$ .

发现  $v_{\text{afv}}$  随时间变大, 说明片层的成长是随时间逐渐加速的. 这与其他物理、化学过程中众多的前沿成长存在显著差异 (一般为恒定或逐渐降低), 是囊泡向支撑膜转变体系特有的动力学现象, 下文将进行细致的定量阐述. 图 3 给出在 773 s 的记录时间内, 112 nm 囊泡的  $v_{\text{afv}}$  值 ( $<10\ \text{nm/s}$ ) 与 40 nm 囊泡的  $v_{\text{afv}}$  值 ( $10\text{--}10^2\ \text{nm/s}$ ) 存在量级区别, 这之前观测到的小囊泡更易向片层结构转变是一致的.



图 4(a) 给出了不同尺寸囊泡形成初始片层、片层数量峰值以及完全成膜的时间. 发现囊泡尺寸

对形成初始片层的时间没有明显影响, 但对后两个阶段影响较明显. 相对于 40 nm 囊泡, 112 nm 囊

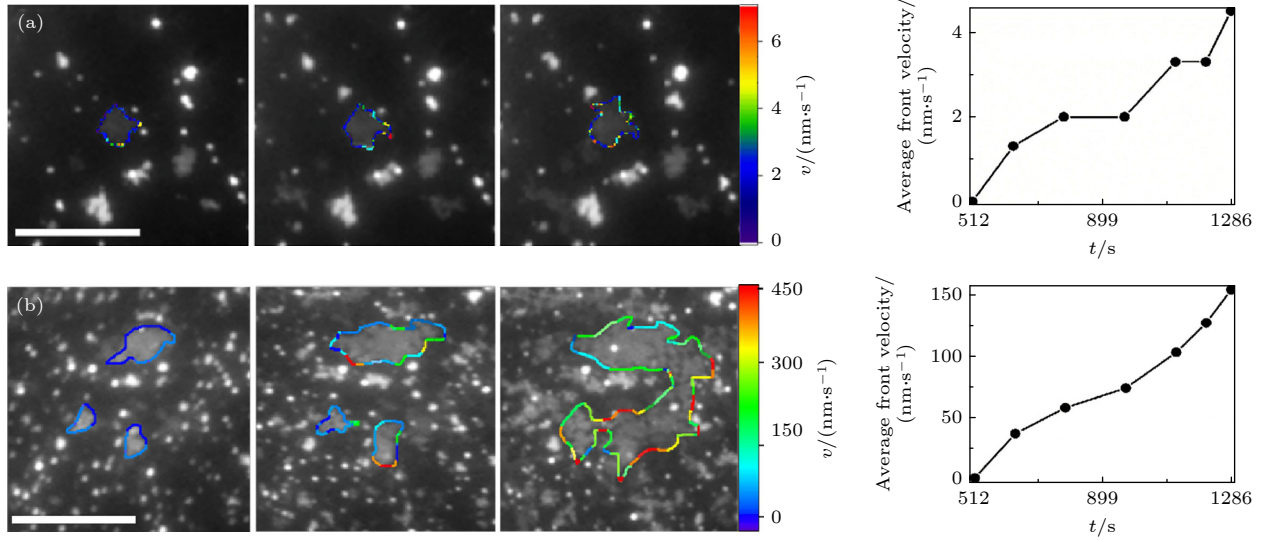


图 3 片层成长期间观察到的代表性图像以及  $v_{\text{afv}}$  对时间的依赖性, 颜色指代了其前沿的成长速度 (a) 112 nm 囊泡; (b) 40 nm 囊泡. 比例尺为 20  $\mu\text{m}$

Fig. 3. Representative images observed during the patch growth and the dependence of  $v_{\text{afv}}$  on  $t$ , colors refer to the growth rate of patch boundary: (a) 112 nm vesicles; (b) 40 nm vesicles. The scale bar is 20  $\mu\text{m}$ .

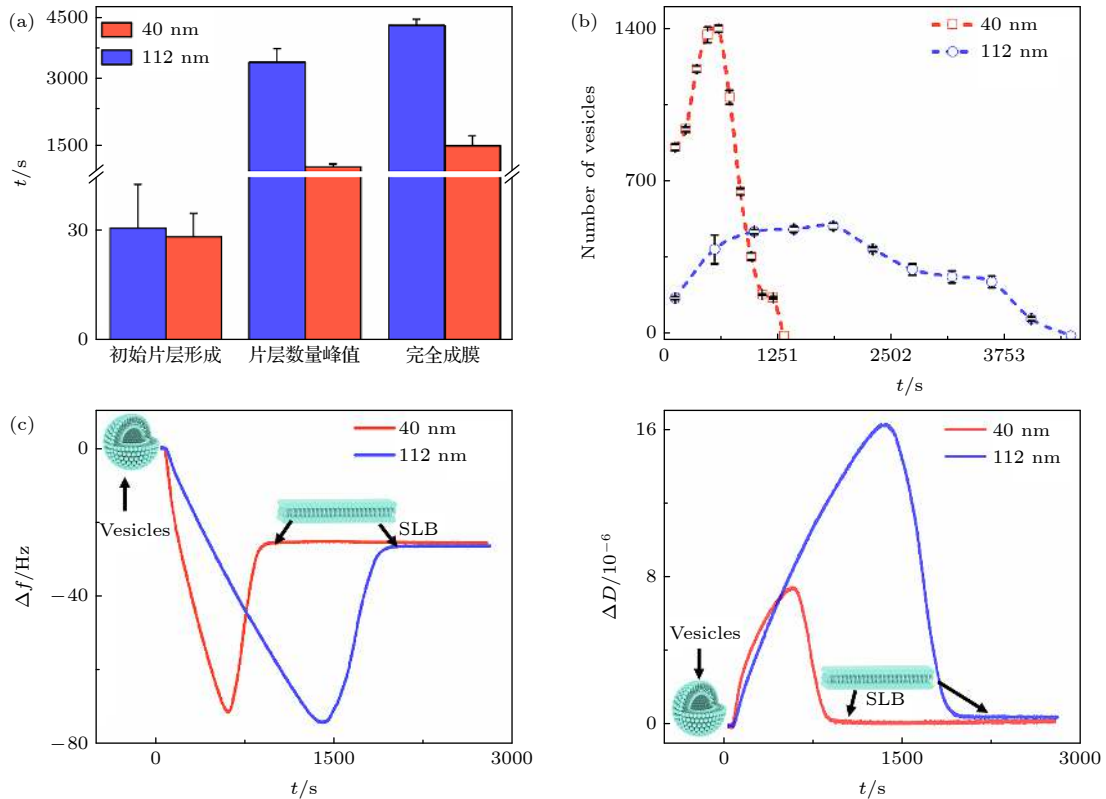


图 4 (a) 通过 TIRFM 表征不同尺寸囊泡初始片层形成、片层数量达到峰值及完全成膜的时间; (b) 囊泡数量与随时间变化 (统计区域为 5812  $\mu\text{m}^2$ ); (c) 通过 QCM-D 表征不同尺寸囊泡的吸附与成膜

Fig. 4. (a) The time spent for the initial patch formation, the maximum of patch number, and complete SLB formation using vesicles with different sizes, characterized by TIRFM; (b) The number of vesicles changes with time (The area of interest is 5812  $\mu\text{m}^2$ ); (c) The vesicle-to-SLB transformation using vesicles with different sizes, characterized by QCM-D.

泡实验中片层达到加速成长和完全形成支撑膜的时间均增长了约 2.8—3.4 倍. 说明不同尺寸囊泡对片层成长的影响强于片层产生的影响. 此外, 对吸附囊泡的数量进行了统计 (图 4(b)), 发现囊泡数先增加后减少, 表明囊泡数量发生了由吸附主导向破裂成片层主导的转变. 对于该转变, 小囊泡所消耗的时间也显著短于大囊泡.

另采用 QCM-D 对成膜动力学进行了表征 (图 4(c)). 该技术基于压电石英晶体的共振频率 ( $\Delta f$ ) 和能量耗散 ( $\Delta D$ ) 的偏移, 获取了二氧化硅表面吸附物质的质量与黏质性变化. 实验发现,  $-\Delta f$  和  $\Delta D$  随时间先增加, 表明衬底表面吸附了高黏滞性的囊泡. 随后二者减小, 表明囊泡逐渐破裂释放出内含水, 形成高刚性的片层结构. 40 nm 囊泡的  $\Delta f$  和  $\Delta D$  变化转折时间均短于 112 nm 囊泡, 证实了小囊泡更迅速地向片层结构转变. 最终两者的  $\Delta f$  和  $\Delta D$  平衡在  $-25$  Hz,  $\Delta D < 1 \times 10^{-6}$ , 表明都形成了完整的支撑双层膜. 在 QCM-D 实验的二氧化硅衬底和 TIRFM 实验的玻璃衬底上, 小囊泡均展现出更强的片层形成效率, 表明该结果是不依赖于衬底种类的.

更为重要的是, 玻璃表面吸附的囊泡数量、QCM-D 表面的囊泡吸附质量变化均具有显著的囊泡尺寸依赖性. 如图 4(b), 40 nm 囊泡吸附数量在 600 s 即达到峰值 (约 1400 个), 而 112 nm 囊泡吸附数量在 1000 s 才达到峰值 (约 480 个). 该统计不包含囊泡破裂造成的吸附数量损失, 下文将对囊泡吸附动力学进行深入的定量研究. 同时, 图 4(c)

显示 40 nm 囊泡造成的  $\Delta$  下降快于 112 nm 囊泡, 说明小尺寸的囊泡更利于吸附质量 (含水) 增长. 因此, 囊泡吸附数量与质量统计结果均表明, 磷脂向衬底的运输效率是与囊泡尺寸相关的.

理论上, 囊泡的尺寸越大, 它在衬底表面的形变越大. 囊泡形变产生的高膜张力与局域高曲率均造成了膜结构稳定性的下降 (易破裂)<sup>[22,23,31]</sup>. 但本文和之前报道的实验<sup>[9]</sup> 均发现小囊泡更快地形成了支撑膜. 该不一致性可能与衬底的表面囊泡浓度 (即囊泡向衬底的供给效率) 相关. 在实验囊泡浓度下, 囊泡向底面吸附过程符合扩散受限动力学模型<sup>[20]</sup>. 在该模型中, 单位支撑面积的扩散通量定义为

$$J = \left( \frac{D}{\pi t} \right)^{1/2} n, \quad (2)$$

其中  $D$  为扩散系数 ( $\text{cm}^2/\text{s}$ ),  $n$  为溶液中囊泡浓度 ( $\text{mol}/\text{m}^3$ ).  $D = k_B T / (6\pi\eta R)$ , 其中  $k_B$  为玻尔兹曼常数,  $T$  为温度,  $\eta$  为黏滞性,  $R$  为囊泡半径. 表面浓度和扩散通量满足关系  $dC/dt = J$ . 从而得到囊泡的表面浓度 ( $C, \text{cm}^{-2}$ ):

$$C = 2\pi^{-1/2} (Dt)^{1/2} n. \quad (3)$$

表面浓度随扩散系数的增大、时间的延长和囊泡浓度的增大而增大. 由 (3) 式可得, 在任意时刻, 40 与 112 nm 囊泡的表面浓度均相差一个量级. 同时, 在荧光图像中选取未破裂的区域 (图 5(a)), 对囊泡的表面浓度进行了统计, 发现在初始 500 s, 40 与 112 nm 囊泡的表面浓度之比在 7—11 之间.

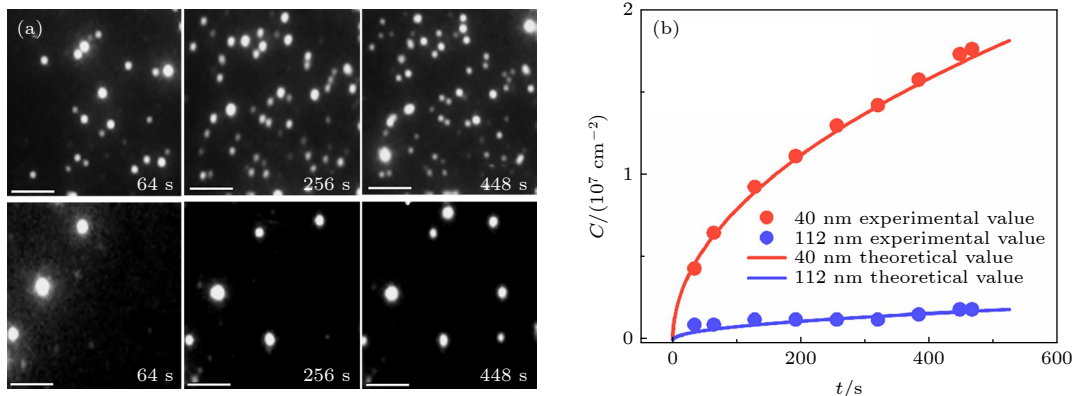


图 5 扩散受限的囊泡吸附动力学 (a) 40 nm (上) 和 112 nm (下) 的囊泡表面浓度随时间变化的 TIRFM 图像; (b) 吸附囊泡数量的实验统计与理论计算值. 比例尺为 20  $\mu\text{m}$

Fig. 5. Diffusion-limited kinetics of vesicle adsorption: (a) TIRFM images of surface-attached vesicles, whose concentration changes with time. Vesicle diameter = 40 nm (upper) and 112 nm (lower); (b) Experimental statistics and theoretical estimation of the number of adsorbed vesicles. The scale bar is 20  $\mu\text{m}$ .

图 5(b) 显示数值计算的表面浓度与实验统计值基本符合. 因此, 理论与实验均说明, 囊泡尺寸的改变产生了囊泡表面浓度跨量级的变化.

为了阐明尺寸带来的供给差异是否产生了片层前沿成长的差异, 采用全局成长 (GGM) 和局域成长 (LGM) 两种模型进行分析<sup>[28]</sup>. 假定吸附的半球形囊泡-衬底接触区域的半径等于囊泡半径  $R$ , 片层以恒定的速度常数  $k$  (由片层前沿的表面能决定) 诱导与之接触的囊泡破裂形成多层磷脂膜堆叠结构<sup>[19]</sup>. GGM 认为<sup>[28]</sup> 多层磷脂膜堆叠结构能够迅速再组装, 其中  $\theta$  比例的磷脂与半径为  $r_f(t)$  的圆形片层相结合 (其余磷脂形成多层磷脂膜或断裂丢失)<sup>[32]</sup>. 即单个囊泡破裂可导致片层面积增加  $4\pi R^2\theta$ . 而  $r_f(t)$  的片层是由位于  $r_f(t - \Delta t)$  之内的囊泡破裂形成的. 形成片层的囊泡数为  $\pi r_f^2(t - \Delta t)C$ . 因此,  $\pi r_f^2(t) = \pi r_f^2(t - \Delta t)4\pi R^2\theta C$  或  $r_f(t) = \beta r_f(t - \Delta t)$ , 这里:

$$\beta = (4\pi R^2\theta C)^{1/2}. \quad (4)$$

由此可得:

$$\begin{aligned} \frac{dr_f}{dt} &= \frac{r_f(t) - r_f(t - \Delta t)}{\Delta t} \\ &= \left[1 - (4\pi R^2\theta C)^{-1/2}\right] kr_f(t) \\ &= [1 - (1/\beta)]kr_f(t), \end{aligned} \quad (5)$$

$$r_f = r_f(0) \exp \{[1 - (1/\beta)]kt\}, \quad (6)$$

这里  $r_f(0)$  为初始的片层半径.

而 LGM 认为<sup>[28]</sup>, 囊泡破裂时, 释放的磷脂再组装能力弱. 该囊泡破裂形成多层磷脂膜堆叠结构与早期片层的重叠部分不对片层面积的成长产生贡献.  $r_f$  单位时间的增量与  $R$  相关:  $r_f(t + \Delta t) = r_f(t) + \alpha R$ . 当  $t \gg \Delta t$  时满足  $r_f(t) = \alpha k R t$ , 其中  $\alpha$  是无量纲因数 (与囊泡表面浓度和形变相关)<sup>[28]</sup>.

由于多层磷脂膜堆叠结构的再组装依赖于磷脂膜与衬底间的吸引作用<sup>[33]</sup>. 因此 LGM 适用于弱的吸引作用条件 (如囊泡与衬底存在静电排斥), 而 GGM 适用于强的吸引作用条件. 选取两个近圆的片层 (图 6(a)) 考察了本文实验中片层前沿成长动力学. 图 6(b) 给出了两个模型下实验数据的拟合结果, 相较于 LGM, 本文实验中的片层前沿成长更符合 GGM. 40 与 112 nm 囊泡拟合获得的  $\beta$  值分别约为 1.14 和 1.08. 由 (3) 式可得, 40 与 112 nm 囊泡的  $C$  值之比为 10.5. 计算可得两者的

$\theta$  值之比为 0.92. 即  $C$  的差异远大于  $\theta$ . 而  $\beta$  的差异取决于  $C$  与  $\theta$  的乘积 ((4) 式), 因此对于同样的片层, 囊泡尺寸造成的片层成长速率 (由  $\beta$  反映) 的不同主要由  $C$  主导. 同时 GGM 模型中, 各时刻片层前沿的成长速度主要由  $r_f$  与  $C$  决定 ((5) 式). 而根据 (6) 式与 (3) 式,  $r_f$  与  $C$  随时间增长, 即片层总能够在下一时刻诱导更大面积、更高表面浓度的囊泡破裂, 因此片层结构呈现出加速成长 (图 3). 拟合还给出大小囊泡的  $\theta$  值, 反映片层成长时磷脂丢失是存在区别的. 小囊泡的磷脂丢失率略大于大囊泡, 原因可能是囊泡表面浓度越高, 片层成长造成的磷脂丢失比例越高. 我们将在后续的研究中继续探索囊泡尺寸影响成膜过程中磷脂丢失率的物理机理.

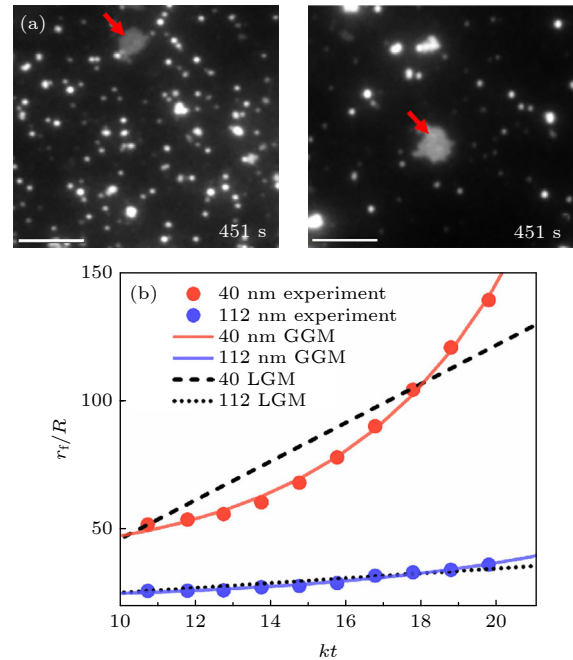


图 6 片层的半径随  $kt$  的变化 (a) 选用的 40 和 112 nm 囊泡形成的片层; (b) 两种尺寸囊泡的片层成长的全局 (实线) 和局域 (虚线) 模型拟合. 比例尺为 20  $\mu\text{m}$

Fig. 6. Radius of the patch changes as a function of  $kt$ : (a) Patches formed by 40 and 112 nm vesicles; (b) fit of the experimental data to the GGM and LGM using the vesicles with two sizes. The scale bar is 20  $\mu\text{m}$ .

## 4 结 论

本文通过 TIRFM 和 QCM-D 结合的表征手段, 研究了不同尺寸囊泡条件下片层前沿的成长动力学. 与之前其他实验中研究囊泡破裂的方法相比, 混掺标记和未标记的囊泡混合物, 提高了单个

磷脂组装结构的辨识度. TIRFM 能够快速获取低背景荧光的信息, 捕捉囊泡破裂后形成的片层结构及其成长的动力学. 我们观察到囊泡尺寸不同, 成膜所经历阶段大致相似, 但片层的数量、面积、前沿成长速度具有显著差异. 发现片层成长符合全局模型, 囊泡表面浓度是产生片层成长差异的主要因素. 囊泡吸附符合扩散受限模型, 因此小囊泡产生的片层成长显著快于大囊泡. 本研究深化了片层成长机制的认识, 为支撑磷脂膜在仿细胞载药和生物芯片体系中的优化设计与可控制备提供参考.

## 参考文献

- [1] Fu M F, Li J B 2018 *Angew. Chem. Int. Ed.* **57** 11404
- [2] Wang K Q, Li Z R, Fei J B, Wang C L, Cui W, Zhao J, Li J B 2021 *Acta Polym. Sin.* **52** 1024 (in Chinese) [王克青, 李自若, 费进波, 王晨蕾, 崔巍, 赵洁, 李峻柏 2021 *高分子学报* **52** 1024]
- [3] Kumar R K, Li M, Olof S N, Patil A J, Mann S 2013 *Small* **9** 357
- [4] Xu Y Q, Fei J B, Li G L, Yuan T T, Li J B 2017 *ACS Nano* **11** 10175
- [5] Ding H M, Yin Y W, Ni S D, Sheng Y J, Ma Y Q 2021 *Chin. Phys. Lett.* **38** 018701
- [6] Jackman J A, Zhdanov V P, Cho N J 2014 *Langmuir* **30** 9494
- [7] Richter R, Mukhopadhyay A, Brisson A 2003 *Biophys. J.* **85** 3035
- [8] Keller C A, Glasmaster K, Zhdanov V P, Kasemo B 2000 *Phys. Rev. Lett.* **84** 5443
- [9] Reimhult E, Hook F, Kasemo B 2002 *J. Chem. Phys.* **117** 7401
- [10] Reimhult E, Hook F, Kasemo B 2003 *Langmuir* **19** 1681
- [11] Zhu T, Jiang Z Y, Ma Y Q, Hu Y 2016 *ACS Appl. Mater. Interfaces* **8** 5857
- [12] Hope M J, Walker D C, Cullis P R 1983 *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **110** 15
- [13] Seantier B, Kasemo B 2009 *Langmuir* **25** 5767
- [14] Seantier B, Breffa C, Felix O, Decher G 2005 *J. Phys. Chem. B* **109** 21755
- [15] Boudard S, Seantier B, Breffa C, Decher G, Felix O 2006 *Thin Solid Films* **495** 246
- [16] Keller C A, Kasemo B 1998 *Biophys. J.* **75** 1397
- [17] Roiter Y, Ornatska M, Rammohan A R, Balakrishnan J, Heine D R, Minko S 2008 *Nano Lett.* **8** 941
- [18] Richter R P, Berat R, Brisson A R 2006 *Langmuir* **22** 3497
- [19] Anderson T H, Min Y J, Weirich K L, Zeng H B, Fyngenson D, Israelachvili J N 2009 *Langmuir* **25** 6997
- [20] Jackman J A, Kim M C, Zhdanov V P, Cho N J 2016 *Phys. Chem. Chem. Phys.* **18** 3065
- [21] Yang P, Tu Z C 2016 *Acta Phys. Sin.* **65** 188701 (in Chinese) [杨盼, 涂展春 2016 *物理学报* **65** 188701]
- [22] Reviakine I, Rossetti F F, Morozov A N, Textor M 2005 *J. Chem. Phys.* **122** 204711
- [23] Reviakine I, Gallego M, Johannsmann D, Tellechea E 2012 *J. Chem. Phys.* **136** 084702
- [24] Hatzakis N S, Bhatia V K, Larsen J, Madsen K L, Bolinger P Y, Kunding A H, Castillo J, Gether U, Hedegard P, Stamou D 2009 *Nat. Chem. Biol.* **5** 835
- [25] Rabe M, Tabaei S R, Zetterberg H, Zhdanov V P, Hook F 2015 *Angew. Chem. Int. Ed.* **54** 1022
- [26] Andrecka J, Spillane K M, Ortega-Arroyo J, Kukura P 2013 *ACS Nano* **7** 10662
- [27] Weirich K L, Israelachvili J N, Fyngenson D K 2010 *Biophys. J.* **98** 85
- [28] Mapar M, Yoemetsa S, Pace H, Zhdanov V P, Agnarsson B, Hook F 2018 *J. Phys. Chem. Lett.* **9** 5143
- [29] Xia Q S, Zhu T, Jiang Z Y, Ding H M, Ma Y Q 2020 *Nanoscale* **12** 7804
- [30] Jiang Z Y, Zhang G L, Ma J, Zhu T 2013 *Acta Phys. Sin.* **62** 018701 (in Chinese) [蒋中英, 张国梁, 马晶, 朱涛 2013 *物理学报* **62** 018701]
- [31] Patty P J, Frisken B J 2003 *Biophys. J.* **85** 996
- [32] Reimhult E, Zach M, Hook F, Kasemo B 2006 *Langmuir* **22** 3313
- [33] Nabika H, Fukasawa A, Murakoshi K 2008 *Phys. Chem. Chem. Phys.* **10** 2243



# Total internal reflection fluorescence microscopy to study sheet front growth in phospholipid supported lipid membrane formation\*

Ma Bei-Bei<sup>1)2)</sup> Wang Fan<sup>1)</sup> Lin Ling<sup>3)</sup> Zhu Tao<sup>2)†</sup>  
Jiang Zhong-Ying<sup>1)2)‡</sup>

1) (*Key Laboratory of Micro-Nano Electronic Sensing Technology and Bionic Devices, College of Electronics and Engineering, Yili Normal University, Yining 835000, China*)

2) (*National Laboratory of Solid State Microstructures, Department of Physics, Nanjing University, Nanjing 210093, China*)

3) (*College of Network Security and Information Technology, Yili Normal University, Yining 835000, China*)

( Received 21 February 2022; revised manuscript received 3 April 2022 )

## Abstract

Supported lipid bilayer (SLB) based biosensors possess biomedical applications such as in rapid detection of antigens and cytochromes. It is generally believed that the SLB can be formed by adsorbing and spontaneously rupturing vesicles on substrate. Recent findings highlight the importance of investigating the adsorption and rupture of individual vesicles during the SLB formation. Here, we use total internal reflection fluorescence microscopy (TIRFM) to characterize the spatiotemporal kinetics of the front spreading at patch boundary. Owing to the mixture of labeled and unlabeled vesicles individual vesicle or patch on the surface can be identified. The TIRFM is employed to investigate the adsorption, rupture of vesicles, and spreading of the patch front. Combining quartz crystal microbalance with dissipation monitoring (QCM-D) and TIRFM characterizations, we find that the size of vesicle has a significant effect on the front spreading at the patch boundary. Quantification of the number of patches and patches area displays that smaller vesicles are more prone to the formation of patches. The front spreading at the patch boundary is analyzed quantitatively using the average front growth velocity ( $v_{\text{afv}}$ ), which indicates that the  $v_{\text{afv}}$  of 40-nm vesicles is one order of magnitude larger than that of the 112 nm vesicles. Both theoretical analysis and experimental observation show that the smaller vesicles can attain the higher concentration on the surface ( $C$ ) and high diffusivity in the medium. The global growth theoretical model (GGM) presents that for the patches with the same surface area and vesicle exposure time, the growth of the patch depends on  $C$  and lipid loss percentage during the vesicle rupture. The calculated lipid loss of the smaller vesicles is slightly higher than that of the larger vesicles, while  $C$  plays a dominating role in determining the disparity of the patch growth between the different vesicles. This study promotes the understanding of the growth mechanism of patches on the surface. It demonstrates the critical role of the supply of vesicles in this process and provides an enlightenment for investigating the reassembly of lipids on a nanoscale.

**Keywords:** vesicle size, surface concentration, front growth at patch boundary, global growth model

**PACS:** 87.16.D–, 87.64.M–, 87.15.Vv

**DOI:** 10.7498/aps.71.20220309

\* Project supported by the Joint Funds of Xinjiang Natural Science Foundation, China (Grant No. 2022D01C336), the School Level Scientific Projects of Yili Normal University, China (Grant No. 2021YSYB087), and the National Natural Science Foundation of China (Grant Nos. 11904167, 22163011).

† Corresponding author. E-mail: [zhuttd@163.com](mailto:zhuttd@163.com)

‡ Corresponding author. E-mail: [jiangzhying@163.com](mailto:jiangzhying@163.com)



## 全内反射荧光显微研究磷脂支撑膜形成中的片层前沿成长

马贝贝 王凡 林玲 朱涛 蒋中英

### Total internal reflection fluorescence microscopy to study sheet front growth in phospholipid supported lipid membrane formation

Ma Bei-Bei Wang Fan Lin Ling Zhu Tao Jiang Zhong-Ying

引用信息 Citation: *Acta Physica Sinica*, 71, 168701 (2022) DOI: 10.7498/aps.71.20220309

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.7498/aps.71.20220309>

当期内容 View table of contents: <http://wulixb.iphy.ac.cn>

## 您可能感兴趣的其他文章

### Articles you may be interested in

#### 多聚赖氨酸诱导的负电性磷脂巨囊泡形变

Poly-L-lysine induced shape change of negatively charged giant vesicles

物理学报. 2018, 67(15): 158701 <https://doi.org/10.7498/aps.67.20180456>

#### 脂质体包裹荧光受体方法研究 $\alpha$ -突触核蛋白在磷脂膜上的结构和动态特征

Investigation of structure and dynamics of  $\alpha$ -synuclein on membrane by quenchers-in-a-liposome fluorescence resonance energy transfer method

物理学报. 2020, 69(3): 038701 <https://doi.org/10.7498/aps.69.20191607>

#### tBid蛋白引发磷脂膜透化过程的研究

Fluorescent investigation on process of tBid inducing membrane permeabilization

物理学报. 2018, 67(14): 148703 <https://doi.org/10.7498/aps.67.20180099>

#### 浓度相关的扩散系数对定向凝固枝晶生长的影响

Effect of concentration-dependent diffusion coefficient on dendrite growth in directional solidification

物理学报. 2019, 68(16): 166401 <https://doi.org/10.7498/aps.68.20190603>

#### 籽晶尺寸对宝石级金刚石单晶生长的影响

Effects of seed crystal size on growth of gem-diamond single crystal

物理学报. 2019, 68(2): 020701 <https://doi.org/10.7498/aps.68.20181855>

#### 蜂毒肽与单组分脂膜相互作用的单分子研究

Single-molecule study of interaction between melittin and one-component lipid membrane

物理学报. 2021, 70(17): 178701 <https://doi.org/10.7498/aps.70.20210477>