

## 转铁蛋白原子力显微镜图像的多重维数分析

雷勇波<sup>1</sup> 张森文<sup>1</sup> 吴扬哲<sup>2</sup> 蔡继业<sup>2</sup> 杨培慧<sup>2</sup>

(1. 暨南大学 理工学院, 广州 510632; 2. 暨南大学 生命科学技术学院, 广州 510632)

**摘要** 采用简单分形和多重分形维数对与受体作用前后转铁蛋白分子原子力显微镜图像进行分析比较,探讨了转铁蛋白与受体结合的程度。结果表明:多重分形谱能更好地反映与受体作用前后转铁蛋白分子的表面形态特征和分布的均匀程度;转铁蛋白与受体作用后表面形貌变平滑,中间部位转铁蛋白与受体的结合程度较高。

**关键词** 转铁蛋白;多重分形;原子力显微镜;FIPS2

中图分类号 Q 512.2

文章编号 1007-4333(2005)03-0001-04

文献标识码 A

### AFM study and multi-fractal analysis of transferrin

Lei Yongbo<sup>1</sup>, Zhang Senwen<sup>1</sup>, Wu Yangzhe<sup>2</sup>, Cai Jiye<sup>2</sup>, Yang Peihui<sup>2</sup>

(1. Department of Mechanics and Civil Engineering, Jinan University, Guangzhou 510632, China;

2. Department of Chemistry, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

**Abstract** The surface topographies of transferrin films before and after adding a receptor were measured by the atomic force microscope and analyzed by simple fractal analysis and multi-fractal spectrum. The combination of transferrin and its receptor was also in the light of fractal analysis. The results indicated that the multi-fractal dimensions could describe the transferrin surface geometry features and the uniformity of surface comparative height distribution well. After the combination of transferrin and its receptor, the surface appearance turned to smoothness and the degree of combination was better in central than that on the boundary.

**Key words** transferrin; multi-fractal; atomic force microscope (AFM); FIPS2

转铁蛋白是一种具有多种生物活性和功能的蛋白质,已被广泛应用于贫血、肝病、糖尿病等的诊断及临床放射性免疫中<sup>[1]</sup>。基于转铁蛋白越来越广泛的应用,对其研究也从多方面展开。分形理论是美国科学家 Mandelbrot<sup>[2-3]</sup>提出的以几何思维的方式研究非线性随机过程及非规则几何图形、组成部分和整体相似图形<sup>[4-5]</sup>的科学方法和理论。基于分形几何的特点和在生物化学方面良好的适用性,越来越多的研究者用分形几何来分析生物大分子聚集体的图像。谭忠印<sup>[6]</sup>等用原子力显微镜(atomic force microscope, AFM)对聚丙烯酰胺凝胶进行了分形结构的研究,初步探讨了交联剂浓度对凝胶结构的影响,同时就凝胶分形的生长机理做了分析,给

出了聚丙烯酰胺凝胶大致的分形维数。孙霞<sup>[7]</sup>等分析了 ZnO 薄膜原子力显微镜图像的多重分形谱,比较了 5 种计算局域高度分布概率的方法。李平<sup>[8]</sup>研究了多重分形谱在材料分析中的应用,得出多重分形谱是一种有意义的表征参数的结论,并从多重分形角度对材料的组织结构进行了定量化分析和解释。从分形结构角度对转铁蛋白的研究还未见报道。笔者采用多重分形谱结合原子力显微镜图像对转铁蛋白与受体作用前后的分形结构图进行了分析。

### 1 试验材料及仪器

将转铁蛋白(购于美国 Sigma 公司)溶解于三

收稿日期:2004-12-20

基金项目:国家自然科学基金资助项目(10372036);广东省自然科学基金资助项目(021197)

作者简介:雷勇波,硕士研究生;张森文,教授,博士生导师,通讯作者,主要从事小波、分形和随机有限元的研究, E-mail: tzhs@jnu.edu.cn

蒸水中,配制成质量浓度  $2 \mu\text{g}/\text{mL}$  的溶液。在配好的转铁蛋白溶液中加入适量的受体 CD71 (美国 Singma 公司,保存液为  $0.01 \text{ mol/L}$  的 PBS 溶液,  $\text{pH}7.2$ )。用微量移液器吸取  $5 \mu\text{L}$  溶液滴于新解离的云母上,并使之尽量铺展;室温下自然风干,备用。

制备好的样品放于 AFM (购于美国 CP-Research 公司) 样品台上,采用非接触模式成像。图像数据处理采用该仪器配置的软件,室温 ( $25 \pm 1$ ),湿度  $75\%$ ,扫描器最大扫描范围  $100 \mu\text{m}$ ,氮化硅探针(探针悬臂力常数约  $0.58 \text{ N/m}$ ,针尖曲率半径约  $10 \text{ nm}$ );所有图像均采用 AFM 自带软件 Flatten Auto 处理,以消除慢扫描方向上的低频噪音。

## 2 试验方法及结果分析

### 2.1 转铁蛋白的分形维数分析

分形维数是分形理论中的核心内容,是描述分形体复杂结构的主要工具<sup>[1]</sup>。计算分形维数的

实用方法主要有:改变标尺的标尺法,利用统计学原理中方差原理的半方差法,功率谱密度的 PSD 法,以及根据测度关系、相关函数、分布函数求分形维数的方法,等等。常用于对生物分子聚集体维数处理的方法有密度相关函数法、聚集体回转半径法,以及 Tokuyama 和 Kawasaki 提出的聚集体分形维数  $D$  的相对简单公式:  $D = (d^2 + 1)/(d + 1)$ , 其中  $D$  为欧式维数<sup>[9]</sup>。所有这些方法都只能给出一个整体的维数表征,而不能体现聚集体表面更全面、详细的形貌信息;目前应用日益广泛的多重维数分析方法则可以很好的弥补其不足。本研究采用多重维数分析方法对转铁蛋白与受体作用前后的 AFM 图像的分形结构图进行分形维数的计算分析。

由转铁蛋白与受体作用前的 AFM 图像(图 1)可以看出转铁蛋白与受体作用前分形特征不很明显。对其进行简单维数计算,其分形维数值  $D$  分别为  $1.979$  和  $1.947$ 。

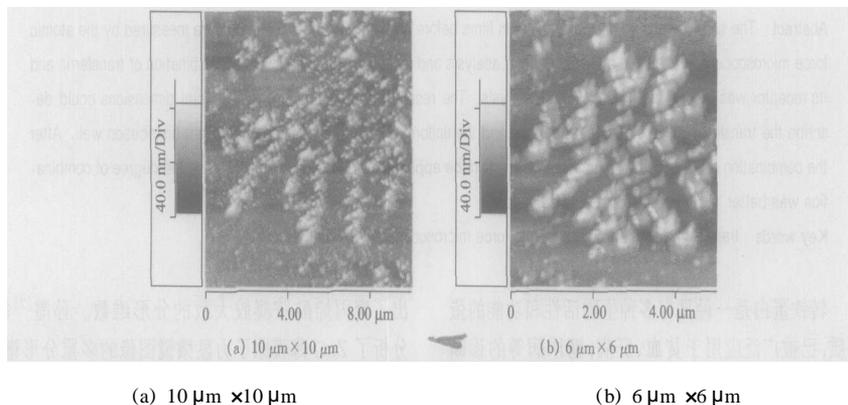


图 1 与受体作用前转铁蛋白的分形结构

Fig. 1 Fractal structure figure before combination of transferrin and its receptor

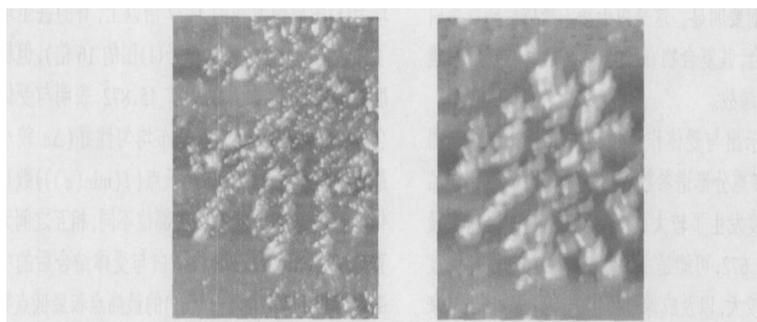
按多重维数的分析计算理论,将 AFM 图划分为许多尺寸为 ( $< 1$ ) 的小盒子。在欧氏空间中表征小盒子中粒子高度不均匀分布的归一化概率分布为:  $P_{ij}(\epsilon) \sim \epsilon^{-D}$ ,  $N(\epsilon) \sim \epsilon^{-D}$ , 其中:  $D$  为奇异指数,反映分形体在各个小盒子尺寸  $\epsilon$  下高度分布概率随  $\epsilon$  变化的各个子集的性质;  $N(\epsilon)$  是  $\epsilon$  子集中具有相同概率的盒子数;  $f(\epsilon)$  为  $\epsilon$  子集的分形维数。

按多重维数分析的具体过程包括:1) 消除图像中的杂点和一些不必要的信息;2) 把与受体作用前转铁蛋白的 AFM 图用 ACDSee 软件转化为 bmp 格

式的 256 色灰度图像(图 2)。

采用软件 Fips2<sup>[10]</sup>对灰度化后的图像进行二值化处理,用其提供的盒维数计算方法<sup>[11]</sup>对二值化后的原子力显微镜图像计算分析,分析结果见表 1。

图 2 (a) 和 (b) 的表面均方根粗糙度分别为  $248.12$  和  $106.43$ ,可见,成像范围越小,表面高度变化的平均值越小。由表 1 可以看出,图 2(a) 的最高点数目比(b)的少,而最低点数目多,表明图 2(a) 的表面高度分布范围比(b)大,这与上面用粗糙度分析的结果一致。



(a) 10 μm × 10 μm (b) 6 μm × 6 μm

图 2 与受体作用前转铁蛋白分形结构图的灰度化图像

Fig. 2 Gray level figure of fractal structure figure before combination of transferrin and its receptor

表 1 与受体作用前转铁蛋白分形结构图的分形维数分析结果

Table 1 Result of fractal analysis of fractal structure figure before combination of transferrin and its receptor

图像	$\min(\ )$	$f(\min(\ ))$	$\max(\ )$	$f(\max(\ ))$	$\max(f(\ ))$	$(f(\ ))$
图 2(a)	1.996	1.989	2.032	1.683	2.022	0.036
图 2(b)	1.998	1.993	2.032	1.307	2.012	0.034

注： $\min(\ )$ 和  $\max(\ )$  定量表征各种盒维数计算尺寸 下的最大和最小高度； $f(\min(\ ))$ 和  $f(\max(\ ))$  定量表征表面上最高点和最低点的数目；分形谱宽度  $= \max(\ ) - \min(\ )$ ，反应转铁蛋白的高度分布范围； $(f(\ ))$  表示各 子集分形维数的值与全 集分形维数平均值的差的绝对值之和与 子集数的商。表 2 同。

2.2 与受体作用后转铁蛋白的分形维数分析

的分形结构图。可以看出，与受体作用后的 AFM

图 3 为与受体作用后转铁蛋白在云母片上形成

图像杂点很少，图像清晰，分形特征即其自相似性比

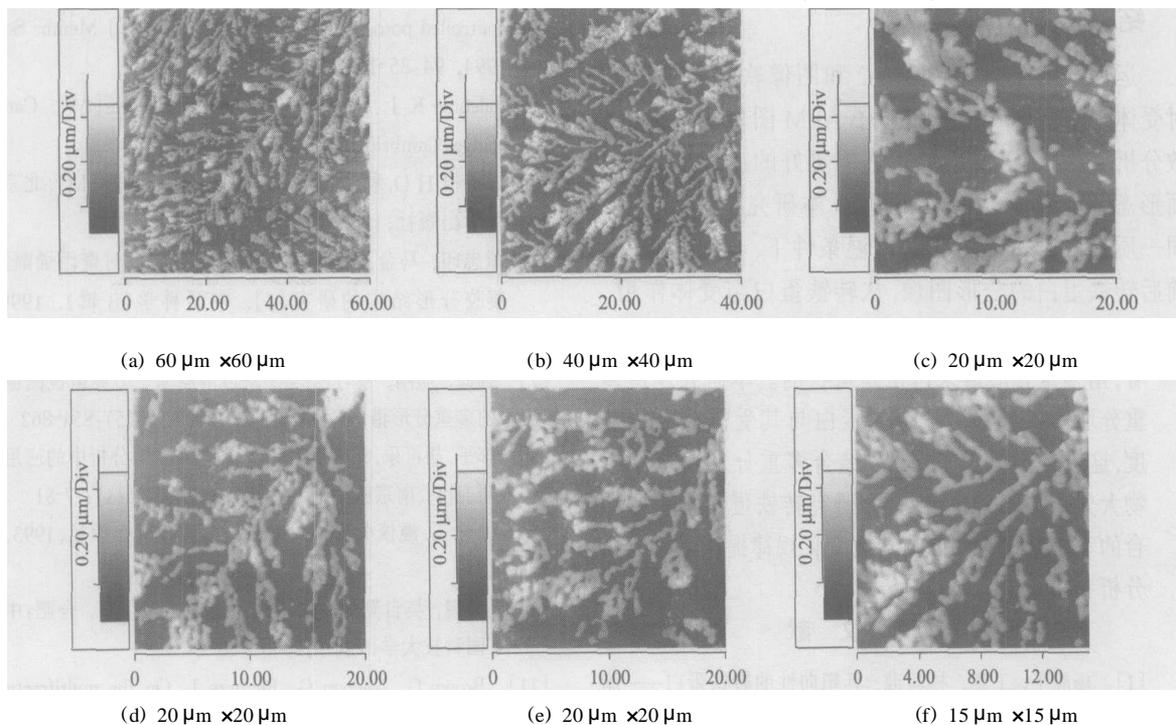


图 3 与受体作用后转铁蛋白的分形结构图

Fig. 3 Fractal structure figure after combination of transferrin and its receptor

未加受体前要明显。这是由于滴入受体后转铁蛋白和受体结合,其复合物在云母片上发生了分形聚集生长<sup>[12]</sup>的缘故。

表2示出与受体作用后转铁蛋白分形结构图(图3)的多重分形谱参数。与受体作用前相比样品表面粗糙度发生了较大的变化:图3(f)的粗糙度最大,为363.672,可能是由于该图的 $\Delta$ 较大,即高度分布范围较大,以及成像过程中误差造成的(严格来讲多重分形谱 $f(\Delta)$ 的最大值 $\max(f(\Delta))$ 都是2,图3分析结果中(f)图的偏差最大,达到2.078, $(f(\Delta))$ 值也较大为0.450。图3中其他图的成像面积

均为(f)图成像面积的1.77倍以上,有的甚至增大了数十倍((a)图成像面积是(f)图的16倍),但粗糙度均比(f)的小,最小的仅有45.872,表明与受体结合后转铁蛋白表面高度分布均匀性好( $\Delta$ 较小)。最高点( $f(\max(\Delta))$ )和最低点( $f(\min(\Delta))$ )数目变化没有规律,这是因为扫描部位不同,相互之间无法直接比较;但可发现转铁蛋白与受体结合后的中间部位(图3(a)、(b)、(c)、(e))的最高点和最低点数目相差相对要比边缘(图3(d)和(f))小,这表明中间部位转铁蛋白和受体结合的程度要远远优于边缘部位,即中间部位与受体的亲和性要比边缘部位好。

表2 与受体作用后转铁蛋白分形结构图的多重分形谱参数

Table 2 Multi-fractal dimension of fractal structure figure after combination of transferrin and its receptor

图像	粗糙度	$\min(\Delta)$	$f(\min(\Delta))$	$\max(\Delta)$	$f(\max(\Delta))$	$\max(f(\Delta))$	$(f(\Delta))$	$(f(\Delta))$
图3(a)	155.740	1.984	1.729	2.002	1.993	2.035	0.018	0.173
图3(b)	68.470	1.994	1.830	2.001	1.993	2.000	0.007	0.089
图3(c)	52.143	1.997	1.914	2.004	1.888	2.000	0.008	0.100
图3(d)	148.737	1.998	1.992	2.046	1.256	2.035	0.049	0.411
图3(e)	45.872	1.999	1.993	2.009	1.725	2.000	0.010	0.141
图3(f)	363.672	1.995	1.991	2.121	1.267	2.078	0.126	0.450

### 3 结束语

运用分形处理软件 Fips2 和图像软件 ACDSee 对受体作用前后转铁蛋白分子 AFM 图像的多重维数分析表明,多重维数分析谱能更好的反应出其表面形态特征和分布的均匀程度。本研究讨论分析了同一质量浓度(2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )、室温条件下,与受体作用前后转铁蛋白的分形图像,从转铁蛋白与受体作用结合后的 AFM 图像所表现出明显的分形特征来看,用多重分形谱来讨论是可行的。本研究还用多重分形谱初步探讨了转铁蛋白与其受体结合的程度,这进一步拓宽了 AFM 结合多重分形谱分形生物大分子的研究途径,且为研究转铁蛋白与受体结合的动力学机制的分形运动变化规律提供了可能的分析手段。

### 参 考 文 献

[1] 杨静平,王颀,林其谁. 具靶向性的转铁蛋白——脂质体的制备[J]. 生物化学与生物物理学报, 1994, 26(3):327-331

[2] Mandelbort B B. The fractal Geometry of Nature[M]. San Francisco: W H, Freeman,1982. 460

[3] Brinker C J, Sehgal R, Hietala S L. Sol-gel strategies for controlled porosity inorganic materials[J]. J Membr Sci, 1994, 94:85-102

[4] Falconer K J. The geometry of fractal sets[M]. Cambridge:Cambridge University Press,1985. 162

[5] 派特根 H O,利希特 P H. 分形. 美的科学[M]. 北京:科学出版社,1986. 184

[6] 谭忠印,马金,王琛,等. 原子力显微镜对聚丙烯酰胺凝胶分形结构的研究[J]. 中国科学(B辑), 1999, 292:97-100

[7] 孙霞,熊刚,傅竹西,等. ZnO 薄膜原子力显微镜图像的多重分形谱[J]. 物理学报, 2000, 49(5):854-862

[8] 李平,胡可乐,汪秉宏. 多重分形谱在材料分析中的应用研究[J]. 南京航空航天大学学报,2004,36(1):77-81

[9] 张志三. 漫谈分形[M]. 长沙:湖南教育出版社,1993. 150

[10] 孙霞,吴自勤,黄. 分形原理及应用[M]. 合肥:中国科技大学出版社,2003. 266

[11] Brown G, Michon G, Peyriere J. On the multifractal analysis of measures[J]. Journal of Stat Phys, 1992, 66(3/4):775-790

[12] 张济忠. 分形[M]. 北京:清华大学出版社, 1995. 436