

میکروسکوپی روبشی هدایت یونی

Scanning Ion Conductance Microscopy (SICM)

سمیه جلیلزاده

آزمایشگاه مهارفن ابزار

کارشناس زیست‌شناسی

مقدمه

سل، واحد سازنده تمام سیستم‌های زیستی است. تلاش‌های فراوانی در حوزه‌های مختلف علم و تکنولوژی برای درک بهتر این سیستم پیچیده صورت گرفته است. اگرچه به کمک میکروسکوپ‌های الکترونی می‌توان تصاویری با قدرت تفکیک نانومتری از مواد زیستی تهیه کرد، نمونه‌ها باید قبل از بررسی در میکروسکوپ الکترونی منجمد، خشک و رنگ شوند که می‌تواند باعث تغییر شکل نمونه شود که همواره نگرانی پژوهش‌گران را در مطالعات میکروسکوپی الکترونی به همراه داشته است [۷]. میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) به صورت یک تکنیک انعطاف‌پذیر در مقیاس نانو برای نشان دادن مورفولوژی سه بعدی (3D) مواد بیولوژیکی تحت شرایط فیزیولوژی، پیشرفت کرده است. اما، اصول تصویرگیری AFM بر پایه اندازه‌گیری "نیرو" بین یک سوزن تیز و یک ساختار نانویی مشخص است که ممکن است منجر به تغییر شکل مکانیکی مواد نرم شود. برای جلوگیری از تغییر شکل، میکروسکوپ هدایت یونی (ICM^1) یا میکروسکوپ روبشی هدایت یونی (SICM) توسعه داده شد که در حالت جریان متناوب کار می‌کند [۳]. اساس این روش بر مبنای تغییر مقاومت حین نزدیک شدن پروب به سطح نمونه است و چون این تغییر مقاومت، قبل از تماس مکانیکی بین نوک پروب و سطح نمونه به وجود می‌آید، می‌توان بارها از سطح سلول‌های زنده، تصویرگیری کرد. مقیاس تصویرگیری از تصویرهای با قدرت تفکیک بالا از

¹ Icon conductance microscopy

زیربخش‌های سطح سلول (که مشاهده انبساط و انقباض اجزای برآمده سلولی مانند میکروویلی را امکان‌پذیر می‌سازد) تا تصاویر با قدرت تفکیک پایین (بزرگ‌نمایی کم) برای دیدن همه سلول که فرصت تعیین کمی حرکت، متورم شدن و کلا تغییرات شکل سلول را فراهم می‌آورد [۶]. SICM تنها روش تصویرگیری با قدرت تفکیک بالا است که بدون تماس با سطح عایق نمونه‌ی غوطه‌ور در مایع، کار می‌کند و بنابراین برای مطالعه سلول‌های زنده و مواد نرم، بسیار مناسب است [۴، ۶].

تاریخچه

میکروسکوپ روبشی هدایت یونی (SICM) در سال ۱۹۸۹ توسط هنسما^۲ و همکارانش [۸] در دانشگاه کالیفرنیا توسعه داده شد. (SICM) بخشی از خانواده بزرگ میکروسکوپ پروبی روبشی (SPM^۳) است که به‌ویژه برای روبش با قدرت تفکیک زیر میکرونی مواد نرم نارسانا در حمام محلول الکتریکی، طراحی شده است. همچنین، به منظور تصویرگیری با کنتراست بالا، SICM در تلفیق با حالت نوک‌زنی^۴ میکروسکوپ نیروی اتمی استفاده می‌شود. تا مدت‌های طولانی این تکنیک محدود به تصویرگیری از فیلم‌های پلیمری بود. در سال ۱۹۹۷ پیشرفت قابل توجهی برای SICM توسط کورچف^۴ به وجود آمد برای این‌که تصویرگیری از سلول‌های زنده بدون تماس مستقیم با سطح نمونه را امکان‌پذیر ساخت [۱]. او اولین تصاویر SICM را از ملانوسیت‌های^۵ موش تهیه کرد [۶].

اصول کاری SICM

پروب میکروسکوپ روبشی هدایت یونی (SICM) شامل یک میکرو یا نانوپیت شیشه‌ای (شکل ۱) دارای بار الکتریکی است که با الکترولیت پر شده و به سمت سطح نمونه‌ای که عایق جریان یونی است و در حمام

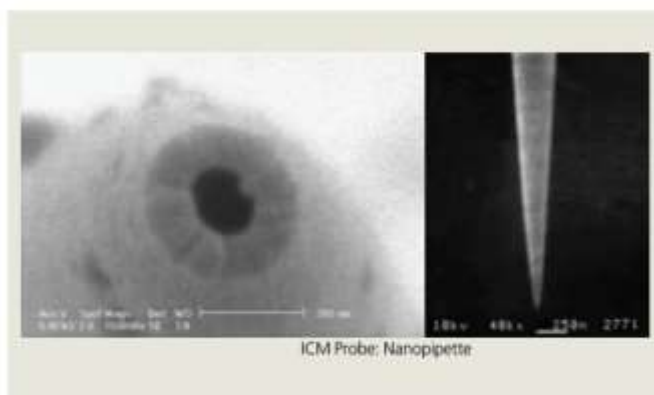
^۲ Hansma

^۳ tapping

^۴ Y. E. Korchev

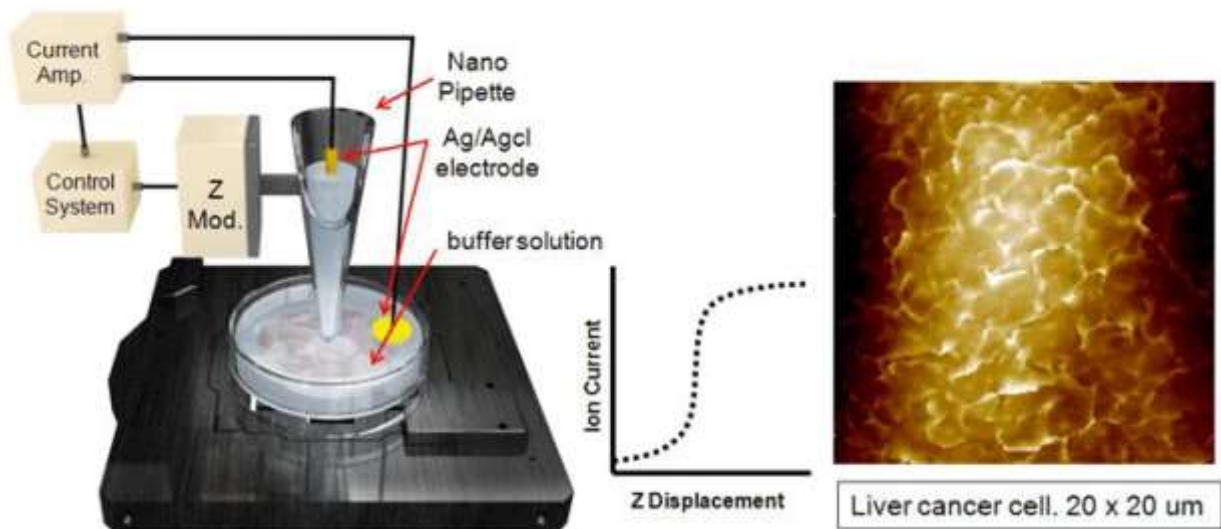
^۵ melanocytes

الکترولیتی با بار مخالف قرار دارد، پایین آورده می‌شود (شکل ۲). یک الکترود ($[^6] \text{Ag/AgCl}$) درون پیپت و الکترود دیگر، درون الکترولیت (در فاصله نسبتاً دور از نمونه) قرار دارد. وقتی که یک ولتاژ خارجی بین این دو الکترود اعمال می‌شود، جریانی از طریق یون‌های هدایتی برقرار می‌شود. با فرض ناچیز بودن مقاومت الکترولیت، دو مقاومت الکتریکی در این مدار قرار دارد: اول، مقاومت ناشی از شکل مخروط ناقص پیپت و دومی ناشی از فاصله بین پیپت و سطح نمونه است. وقتی که پیپت از سطح دور است، مقاومت دومی از بین می‌رود و جریان به حد اشباع می‌رسد زیرا مقاومت ناشی از شکل نوک پیپت طی اندازه‌گیری ثابت باقی‌می‌ماند (شکل ۳الف). با نزدیک شدن تیپ میکروپیپتی به نمونه، حجم کانال هدایت یونی بین پروب و نمونه کوچک‌تر شده (شکل ۳ب) و در نتیجه جریان یونی به شدت کاهش می‌یابد. تغییرات جریان یونی با یک تقویت کننده اندازه‌گیری شده و به عنوان سیگنال بازخورد^۶ واحد کنترل روبش‌گر برای ثابت نگه داشتن فاصله بین تیپ پیپتی و نمونه (با اعمال ولتاژ مناسب به پیزو Z در طول روبش) مورد استفاده قرار می‌گیرد (شکل ۳پ). بنابراین، مسیر حرکت تیپ از توپوگرافی سطح پیروی می‌کند. می‌توان از مدولاسیون AC برای پایداری بیش‌تر طی اندازه‌گیری، بهره برد [۲، ۷].

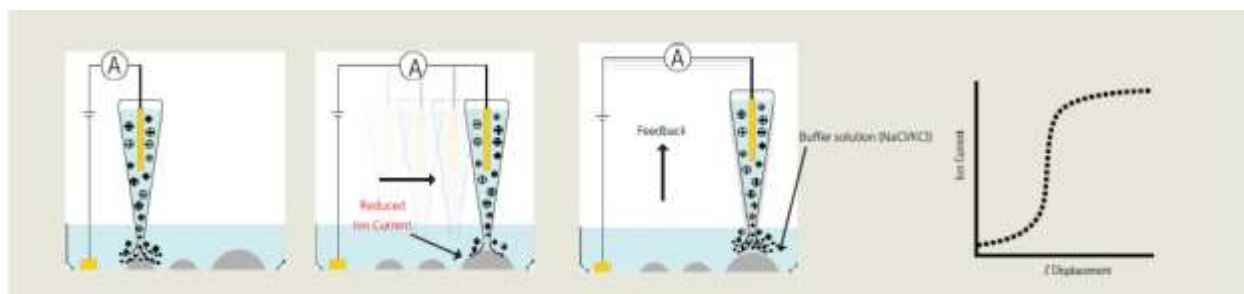


شکل ۱. برخلاف AFM که از کانتی‌لیور به عنوان پروب استفاده می‌کند، SICM از یک پیپت شیشه‌ای یا کوآرتزی که قطر داخلی نوک آن به ترتیب ۸۰-۱۰۰ nm و ۳۰-۵۰ nm است، بهره می‌برد [۷].

⁶ feedback



شکل ۲. مجموعه دستگاه SICM در سمت چپ و نمونه‌ای از تصویر به دست آمده توسط آن، مربوط به سلول‌های سرطانی کبد، در سمت راست تصویر مشاهده می‌شود. مانند کارکرد میکروسکوپ تونلی روبشی در هوا، میکروسکوپ هدایت یونی روبشی نیز بدون تماس فیزیکی و اعمال نیرو بر سطح نمونه غوطه‌ور در مایع کار می‌کند. از آن‌جا که فاصله سوزن-نمونه، با ثابت نگه داشتن جریان یونی از طریق سیستم بازخورد، ثابت نگه داشته می‌شود، SICM دستگاه بسیار مناسبی برای مطالعه نمونه‌های بیولوژیکی نرم و چسبنده غوطه‌ور در مایع است [۵].



شکل ۳. نحوه کار SICM، متن را ببینید [۷].

(SICM) همچنین می‌تواند نقشه جریان‌های یونی موضعی بالای سطح نمونه را فراهم کند. این نکته در تصویرگیری جریان‌های یونی که از میان کانال‌های غشایی می‌گذرند، مفید است [۲].

این تکنیک روبشی می‌تواند روی بافت‌های زنده نیز استفاده شود، در حالی که در روش تصویرگیری SEM² متداول، نمونه باید کشته شود. به این ترتیب می‌توان فرآیندهای بیولوژیکی را در حال کار مشاهده کرد.

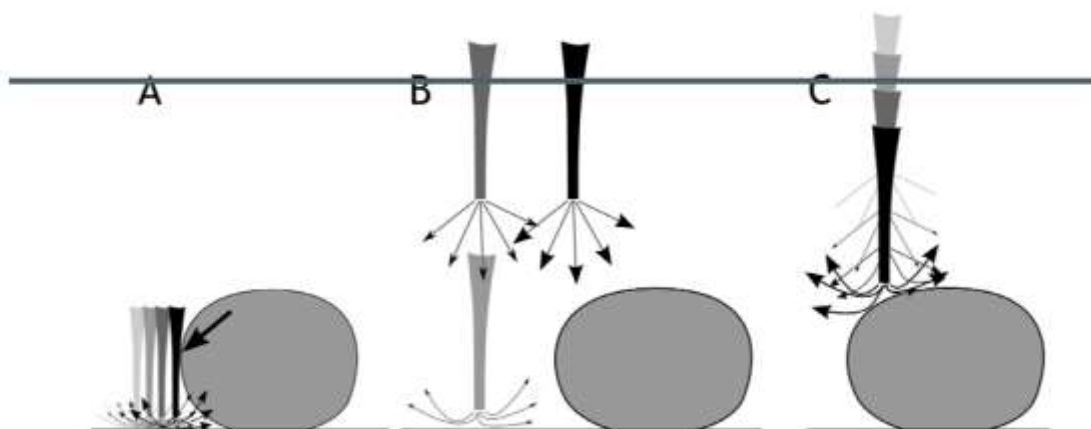
به دنبال اولین نزدیک شدن موفقیت‌آمیز به سطح نمونه، روبش جانبی می‌تواند به روش‌های مختلف اجرا شود. بیش‌تر میکروسکوپ‌های پروبی روبشی از حالت "فاصله ثابت" استفاده می‌کنند؛ به این ترتیب که الکتروده به صورت جانبی جابه‌جا می‌شود و موقعیت Z برای به دست آوردن همان هدایت یک مرحله قبل تنظیم می‌شود. این روش خیلی سریع است و قدرت تفکیک بالایی فراهم می‌کند. پله‌های حرکت جانبی باید کوچک باشند تا از برخورد الکتروده با شیب‌های شدید نمونه اجتناب شود. تلفیق پله‌های کوچک و اندازه کوچک تیپ، که می‌تواند به کوچکی ۲۵ نانومتر باشد، تصویرهای با قدرت تفکیک بالا فراهم می‌کند. برای به دست آوردن تصویر تمام سلول‌ها، حالت فاصله ثابت نمی‌تواند بخش‌های آویزان^۷ ممبران را که در فاصله‌های بیش‌تری از کف ظرف کشت قرار دارند، آشکار کنند؛ که باعث خسارت به سلول و شکستن نوک ظریف الکترودهای شیشه‌ای می‌شود (شکل ۴A). بنابراین حالت کاری "قدم به عقب"^۸ معرفی شد که امکان آشکار کردن این نواحی را قبل از برخورد میله الکتروده با شیب‌های تند غشاء، فراهم می‌کند. بعد از ثبت موقعیت xyz الکتروده با یک فاصله از پیش تعیین شده به عقب برمی‌گردد (قدم به عقب)، به صورت جانبی جابه‌جا می‌شود (شکل ۴B) و سرانجام دوباره برای تعیین نقطه بعدی تغییر هدایت، به سطح نمونه نزدیک می‌شود (شکل ۴C). این روش، زمان زیادی می‌برد زیرا نوک الکتروده باید فاصله بسیار زیادی را طی کند. برای صرفه‌جویی در زمان روبش، "حالت قدم به عقب شناور"^۹ معرفی شد. در این روش، ابتدا سطح با قدرت تفکیک جانبی کم

⁷ overhanging

⁸ backstep

⁹ floating backstep

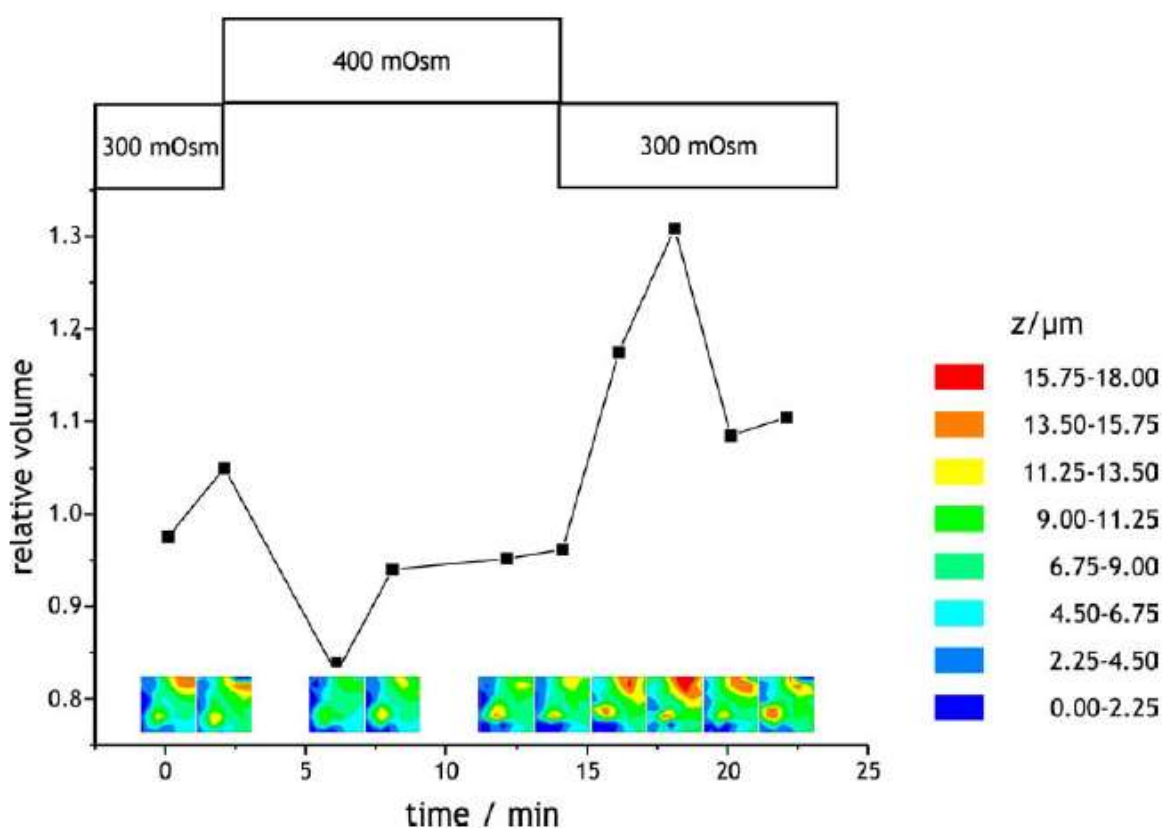
($3 \mu m$) روبش می‌شود. با مقایسه مقادیر متوالی Z، نرم‌افزار به صورت خودکار نواحی با شیب تند در محور Z را که نیاز به قدم به عقب بزرگ دارند، تشخیص می‌دهد. طی روبش بعدی که با قدرت تفکیک بالا صورت می‌گیرد، این قدم به عقب‌های بزرگ، فقط برای مناطقی که شیب‌های تندتری دارند استفاده می‌شود و برای مناطقی که تغییر ارتفاع کمی دارند، از قدم به عقب‌های کوچک‌تر استفاده می‌شود. این روش، میزان قدم به عقب‌های بزرگ را بسته به زبری نمونه، تا حدود ۳۰٪ کل سطح، کاهش می‌دهد [۶].



شکل ۴. مقایسه حالت کاری فاصله ثابت و قدم به عقب. (A) در حالت فاصله ثابت، پروب قادر به آشکارسازی نواحی غشایی آویزان نیست و بنابراین می‌تواند با نمونه برخورد کند. (B) در حالت قدم به عقب، الکتروود بعد از نزدیک شدن به سطح (الکتروود خاکستری روشن در تصویر)، به اندازه یک پله از قبل تعیین شده، به عقب کشیده می‌شود (خاکستری ملایم) و بعد به صورت جانبی جابه‌جا می‌شود (الکتروود سیاه)، (C) به دنبال قدم به عقب، الکتروود دوباره برای روبش نمونه به سطح نزدیک می‌شود، بدون اینکه آسیب ببیند [۶].

کاربردهای SICM

برخلاف میکروسکوپ نوری که فقط قادر به نمایش تغییر شکل در دو بعد است، SICM می‌تواند با فراهم کرده داده‌های کمی سه بعدی در سطح سلولی یا زیرسلولی، برای بررسی تغییر شکل سلول‌های زنده نیز به کار رود. مثال زیر نشان می‌دهد که SICM برای بررسی تغییرات حجم ناشی از تغییرات اسمولاریته طی چند دقیقه، به اندازه کافی سریع هست (شکل ۵).



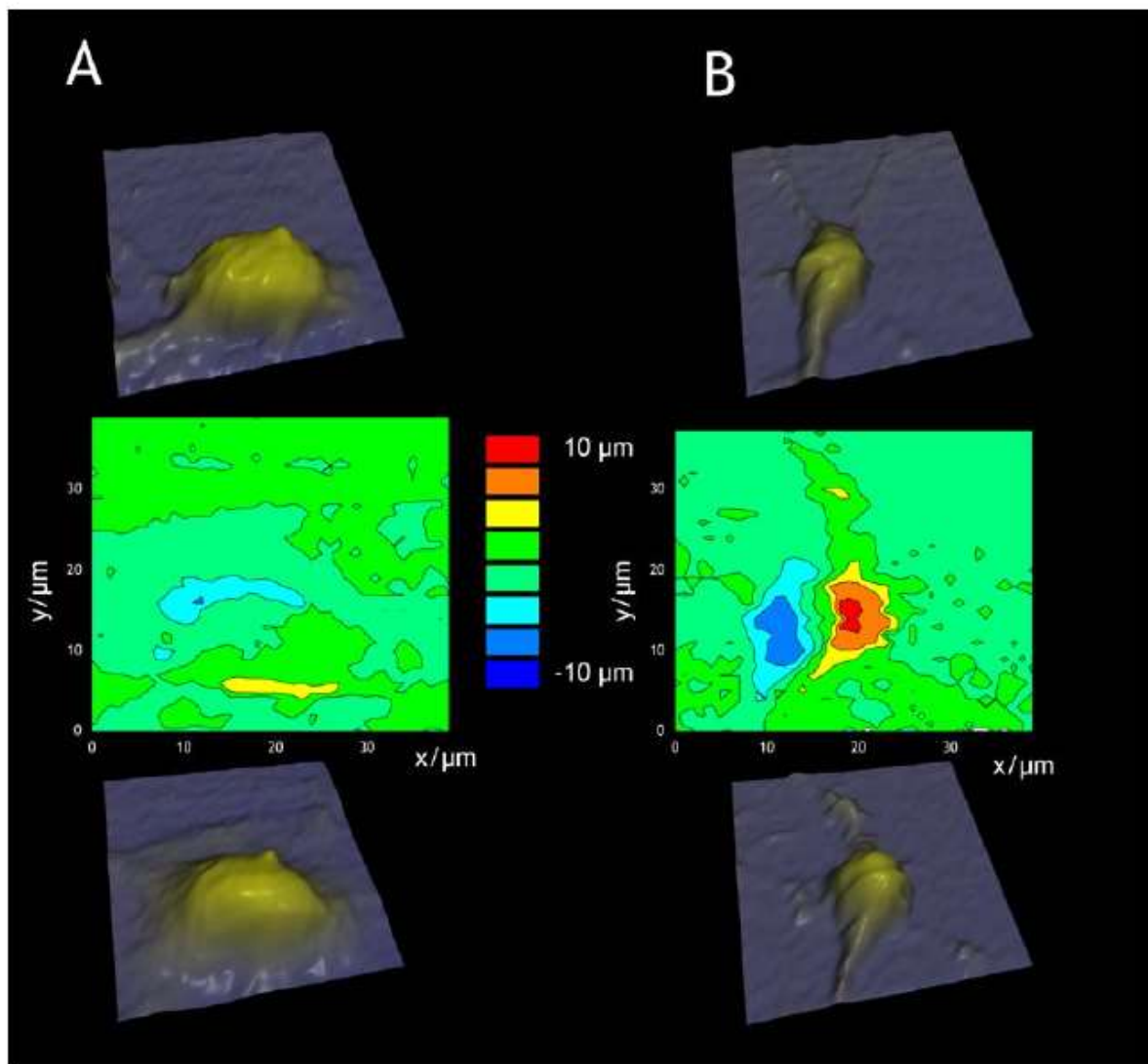
شکل ۵. تغییرات حجم سلول‌های کبد به دنبال تغییر سریع اسمولاریته سیال خارج از سلول. برای به دست آوردن قدرت تفکیک زمانی بهتر، قدرت تفکیک جانبی روبش‌ها به ۶۴ نقطه در ناحیه‌ای به اندازه ۳۰ میکرون در ۳۰ میکرون کاهش یافت (نقشه کد رنگی پایین نمودار را ببینید، ناحیه قرمز نشان‌دهنده مقدارهای بالاتر z

است). با این تنظیمات، به طور معمول حدود ۲ دقیقه برای کامل کردن یک روبش نیاز است که برای اندازه‌گیری کمی تغییرات حجم ناشی از تنش اسموتیک، به اندازه کافی سریع است [۶].

مثال زیر نشان می‌دهد که SICM می‌تواند برای مشاهده حرکت‌های سلولی نیز استفاده شود. همان‌طور که انتظار می‌رفت، بعد از دو روبش متوالی در فاصله ۷۰ دقیقه، الیگودندروسیت بالغ^{۱۰} مغز موش، جابه‌جایی کم‌تری داشت در حالی که سل نابالغ^{۱۱} چندین میکرومتر حرکت کرده بود. SICM با فراهم کردن اطلاعات سه بعدی در مورد شکل سلولی طی مهاجرت روی زیرآیندهای تخت، به کشف جنبه‌های ناشناخته از تغییرات سطح غشا طی مهاجرت سلولی، کمک می‌کند.

¹⁰ differentiated oligodendrocyte

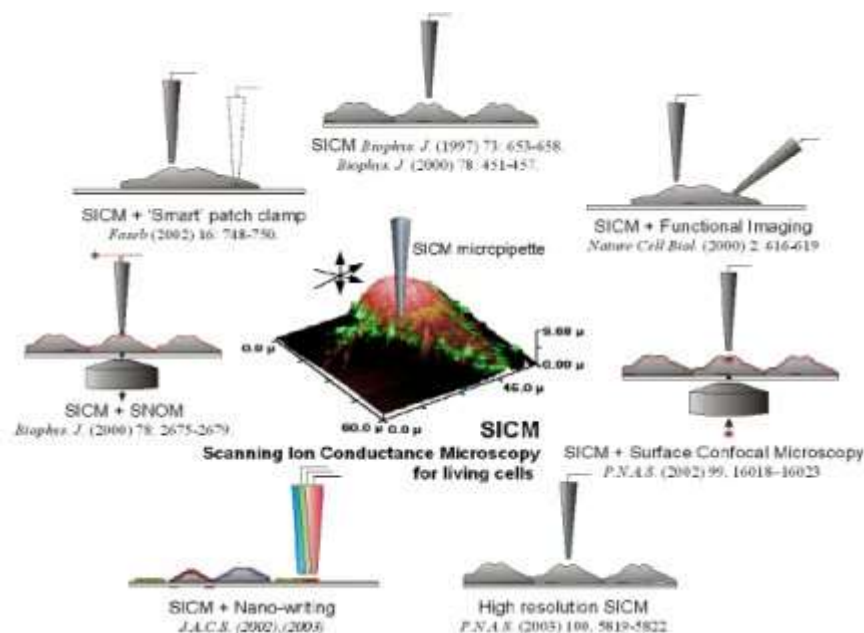
¹¹ mature



شکل ۶. مقایسه حرکت سل بالغ (A) و نارس (B) مغز موش. ناحیه روبش ۴۰ میکرون در ۴۰ میکرون، اندازه پله: ۱ میکرون (جانبی) و ۱۰۰ نانومتر (عمودی). زمان بین دو روبش، ۷۰ دقیقه. تفاوت کد رنگی تصویرها نشان می‌دهد که سل نارس، تحرک بیشتری نسبت به سل بالغ داشته است.

دانشکده پزشکی دانشگاه امپریال کالج لندن اخیرا پیش قدم توسعه یک رشته از ابزارهای جدید و قدرتمند بیوفیزیکی شده که امکان اندازه گیری های کمی و تصویرگیری غیر مخرب از تک مولکول های پروتئینی در سلول های زنده را فراهم آورده است. میکروسکوپ روبشی هدایت یونی به همراه مجموعه ای از روش های نو وابسته، در میان تکنیک های تصویرگیری موجود منحصر به فرد هستند، نه فقط به دلیل قدرت تفکیک جانبی که برای سلول های زنده و کارکردی فراهم می کنند، بلکه همچنین به دلیل تلفیق تصویرگیری و دیگر روش های بررسی کارکردی و دینامیکی. این روش های مهم، به مطالعه رفتار نانویی سلول های زنده ی سالم و بیمار کمک خواهند کرد.

خانواده ای از تکنیک هایی که توسط این گروه گسترش داده شده در شکل ۲ مشاهده می شود [۱].

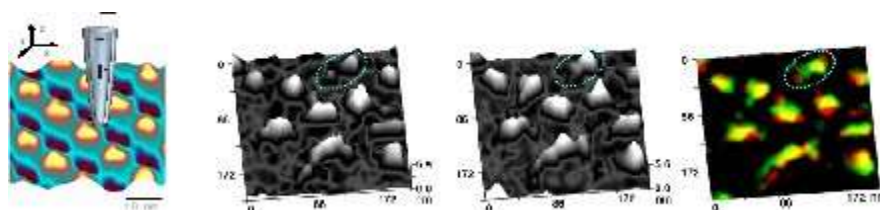


شکل ۲. خانواده ای از تکنیک SICM و تکنیک های وابسته [۱]

این روش‌ها برای تنوع وسیعی از انواع سلول‌های مختلف و بافت‌ها قابل استفاده بوده و برای فیزیولوژی، غدد مترشحه داخلی و ویروس‌شناسی عصب، قلب و نطفه به کار برده شده است. پیشرفت‌های کلیدی در این زمینه عبارتند از:

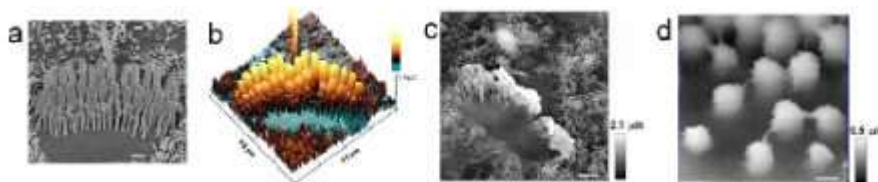
۱. توسعه یک سیستم منحصر به فرد غیر تماسی برای تصویرگیری دینامیکی سطوح سلول زنده تا حد ترکیبات پروتئینی منفرد. این روش بر پایه روبش یک نانوپیت استوار است که از بازخورد هدایت یونی برای ثابت نگه داشتن فاصله پیت-نمونه استفاده می‌کند. به این ترتیب می‌توان سلول‌های زنده‌ی تثبیت و رنگ نشده را با قدرت تفکیک بالا بررسی کرد. بنابراین بررسی‌های زیر امکان‌پذیر می‌شود [۱]:

- تصویرگیری ترکیبات پروتئینی روی یک سلول زنده.



- تعیین دینامیک میکروویلی و این‌که چگونه آن‌ها می‌توانند به عنوان واحدهای ساختمانی برای تولید ساختارهای پیچیده‌تر استفاده شوند.

- تصویرگیری با قدرت تفکیک بالا در حالت جهشی^{۱۲}.

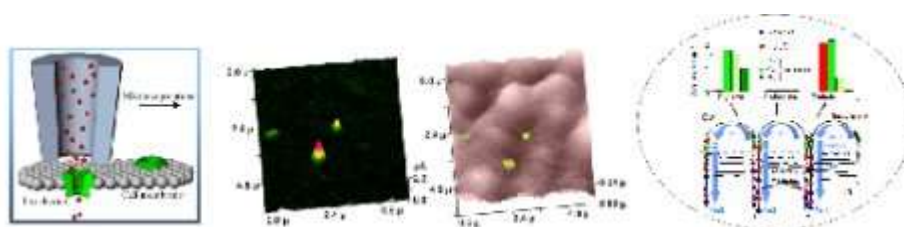


¹² hopping

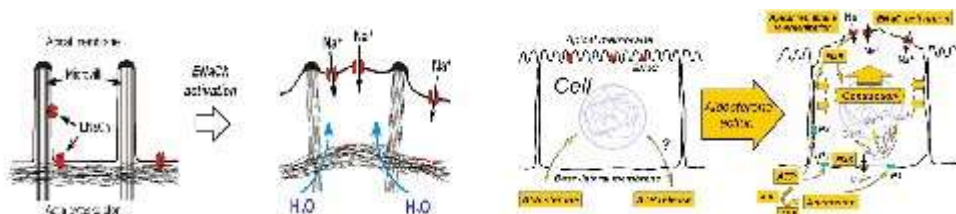
- توسعه یک مدل غیردرجا^{۱۳} از اختلال ریتم در قلب و مطالعه تاثیر اسید صفرا روی کارکرد میوسیت قلب

۲. تصویرگیری کارکردی^{۱۴} و گیره^{۱۵} "هوشمند" که امکان ثبت فعالیت کانال تک یونی را با دقت اندازه مولکولی ثبت کنیم در موقعیت های مشخص روی سطح سلول، شامل ناحیه هایی که تاکنون غیرقابل دسترسی بوده اند، از قبیل سیناپس نورون های دندریتی، بخش های خاصی از اسپرم، و لوله کوچک t از میوسیت های قلب. ما بنابراین نتایج زیر به دست آمد [۱]:

- تهیه نقشه کارکردی از توزیع کانال های یونی روی میوسیت های قلب که مکانیزم های احتمالی فعالیت ساختار-کارکرد را آشکار می سازد.



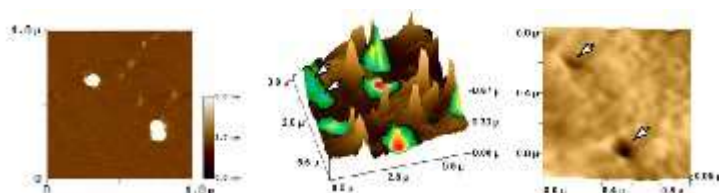
- شناسایی مکانیسم محتمل فعالیت آلدوسترون روی سلول های کلیه.



¹³ in-vitro
¹⁴ functional
¹⁵ patch clamp

۳. ترکیبی از تصویرگیری توپوگرافی با قدرت تفکیک بالا با دو رنگ فلورسانس برای تهیه همزمان نقشه توپوگرافی و تصویر فلورسانس پروتئین‌های خاص. این روش در موارد زیر استفاده شده است [۱]:

- تعقیب همزمان^{۱۶} ورود ویروس شناسایی مسیر ورود ویروس به سلول‌های زنده.



- تعقیب مسیرهای اندوسیت

- مشاهده دینامیک غشاء و Ca^{+2}

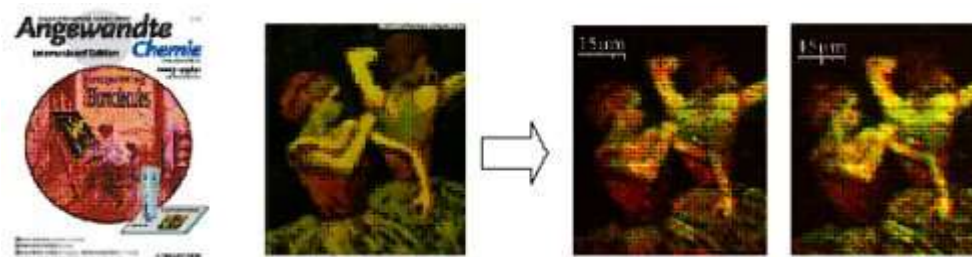
۴. کنترل تحویل مولکول‌های کوچک، پروتئین‌ها و آنتی بادی‌ها به موقعیت‌های مشخص روی سطح سلول. به این ترتیب می‌توان از حداقل رنگ کردن ترکیبات پروتئینی برای مطالعه نفوذ سطحی مولکول‌ها، یا هر نوع دیگری از دستکاری سلول، با دقت اندازه مولکولی استفاده کرد. نتایج زیر با استفاده از این روش به دست آمده است [۱]:

- کنترل رسوب مولکول‌های بیولوژیکی با استفاده از یک نانوپیت برای ترکیب مونتاژ از بالا به پائین و پائین به بالای ساختارهای جدید و تشکیل نانوآرایه‌های مولکول‌های بیولوژیکی.

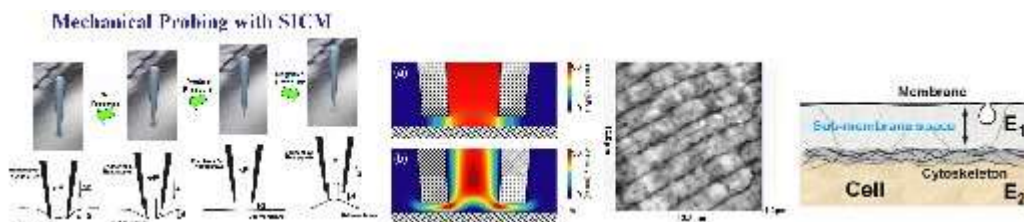
¹⁶ real-time



شرکت مهارفن ابزار
Mahar Fan Abzar Co.



- توسعه تکنیک جدید اندازه گیری مکانیکی غیر تماسی.

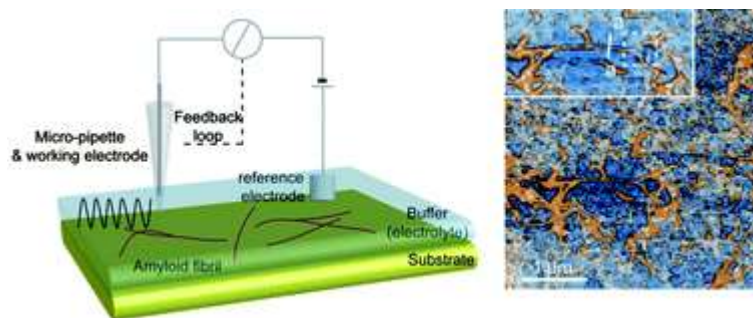


مطالعات میکروسکوپی روبشی هدایت یونی فیبرهای آمیلوئیدی در مقیاس نانو

ژنگ^{۱۷} و همکارانش [۳] مورفولوژی 3D فیبرهای آمیلوئیدی را با استفاده از SICM نشان دادند. این تکنیک قادر به بررسی پروتئین‌ها با قدرت تفکیک در مقیاس نانو است. در مقایسه با AFM معمولی، SICM می‌تواند ارتفاع قطعات پروتئین آمیلوئیدی را با دقت اندازه‌گیری کند. این ویژگی، امکان منحصر به فردی برای بررسی مکانیزم جوانه‌زنی و رشد آمیلوئید خودآرا^{۱۸} را فراهم می‌آورد [۳].

¹⁷ Zhang

¹⁸ self-assembly



شکل . [۳]

حالت جهشی

در مارچ ۲۰۰۹ Ionscope با استفاده از تکنولوژی ای که توسط دانشگاه های امپریال کالج لندن و کمبریج توسعه داده شده بود، حالت جهشی SICM را معرفی کرد که قابلیت و تنوع استفاده از این دستگاه را گسترش داد. این دستگاه با نام تجاری ICnano® برای اولین بار می تواند مشخصه های سطحی با تقریباً هر اندازه و شکلی تا ۱۰۰ میکرومتر ارتفاع را تصویرگیری کند. به این ترتیب، میکروسکوپ روبشی هدایت یونی ICnano® یک ابزار ایده آل برای مطالعه نمونه های زیر است [۴]:

- سلول های زنده/ باکتری تحت شرایط فیزیولوژیکی
- ویروس شناسی
- غشاها
- سطوح نرم از قبیل پلیمر و لیپید
- الکتروفیزیولوژی
- عصب شناسی
- کاربردهای دندانانی/ استخوانی
- بیوفیلرها

• خوردگی

SICM یک تکنولوژی SPM است، اما با میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) و دیگر تکنیک های SPM که برای تصویرگیری در مایع استفاده می شوند تفاوت دارد برخی از مزایای دیگر SICM عبارتند از [۴]:

• امکان تهیه تصاویر با قدرت تفکیک بالا از سلول های زنده و مواد نرم

- تصویرگیری در مقیاس نانو

- داده های سه بعدی

• شرایط نمونه واقعی

- سلول های زنده غوطه ور در محلول

- عدم نیاز به ثابت کردن نمونه

• کاربری آسان

- عدم نیاز به لیزر تنظیم

- عدم نیاز به پروب AFM یا نصب کردن کانتی لیور

- تصویرگیری غیر تماسی

ICnano® کمپانی Inoscope را همچنین می توان با تکنیک های مکمل، ترکیب کرد [۴]:

• میکروسکوپ های نوری/هم کانون/FRET/TIRF

• نصب برچسب^{۱۹} الکتروفیزیولوژی برای مطالعات در مقیاس نانو

• مطالعات نانو مکانیکی با فشار کنترل شده، به جای استفاده از نیروی تماسی فیزیکی

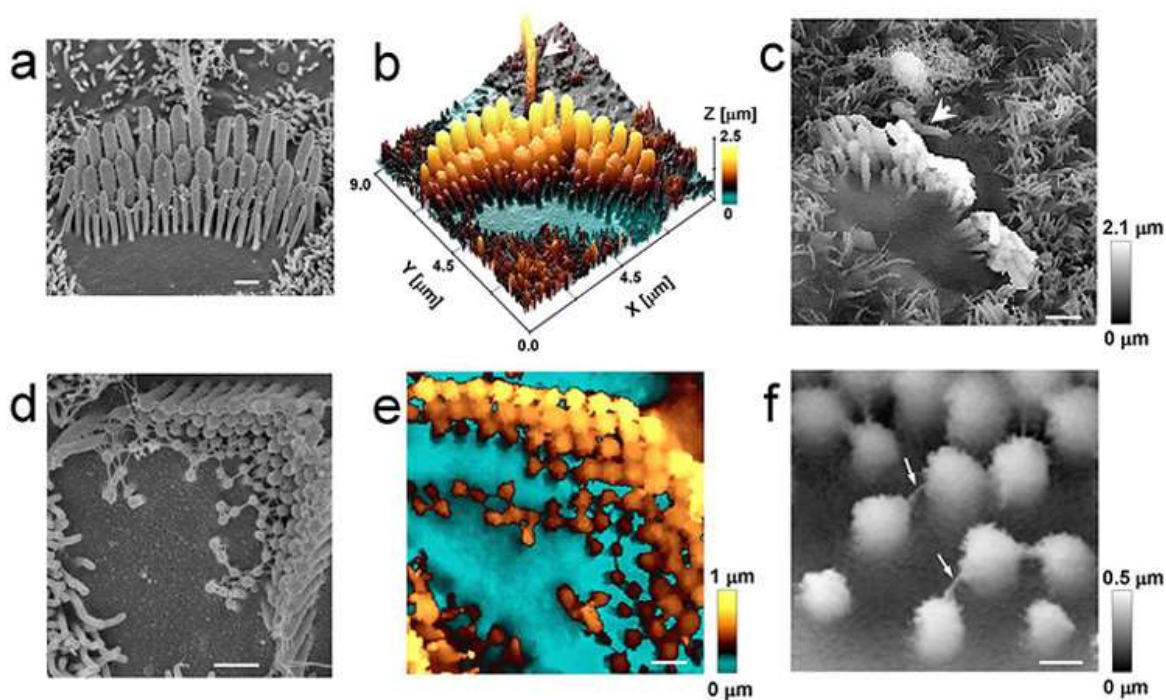
• نانو رسوب نشانی/نانو تزریق

SICM امکان پژوهش در بسیاری از حوزه های جدید در مورد سلول های زنده و مواد نرم را فراهم می کند [۴]:

¹⁹ patch-clamping

- مشاهده دینامیک سلولی با قدرت تفکیک بالا طی مدت زمان‌های طولانی
- نصب برچسب تک‌کانالی یا نصب برچسب در مقیاس نانو
- تهیه هم‌زمان فلورسانس و تصویر سطح طی یک روبش

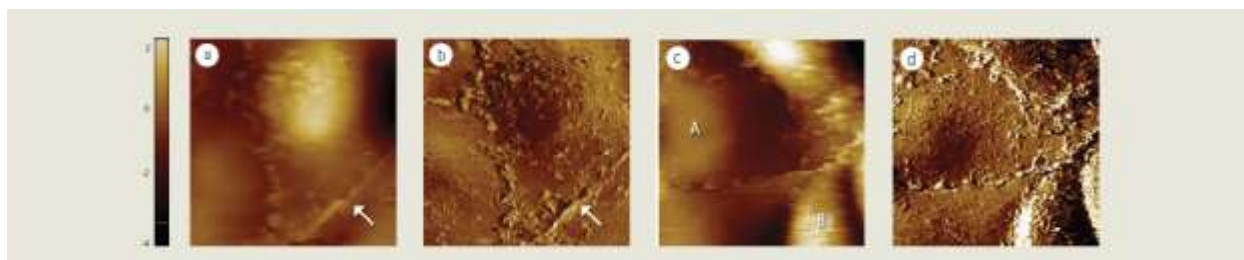
مثال‌های کاربردی:



تصاویر به دست آمده با حالت کاری جهشی از داخل و خارج سلول‌های مو در سیستم شنوایی Pavel Novak و همکارانش در دانشگاه Imperial در UK [۴].

تصویرگیری غشا سلول زنده با ICM

غشا سلول احتمالا مهم‌ترین قسمت یک سلول است. بیش‌تر فعالیت‌های سلولی از طریق غشا صورت می‌گیرند، تنها ساختار سلولی که در همه انواع سلول‌ها در ارگانیسم‌های زنده، یافت می‌شود. اما، مشاهده غشا سلول در مقیاس نانومتری، بسیار مشکل است. به ویژه این‌که شفافیت غشا، مشاهده آن را با میکروسکوپ نوری عملاً غیرممکن می‌سازد.

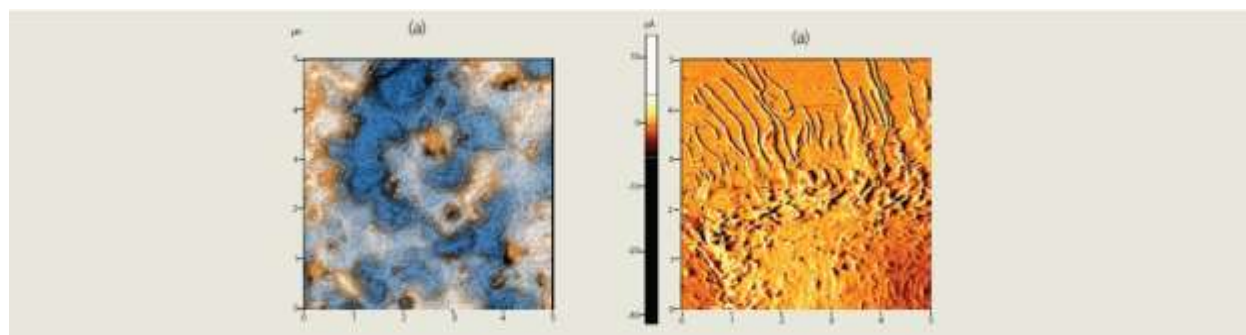


شکل ۴. تصاویر SICM از سلول زنده COS-1: (a) و (c) تصاویر SICM با اندازه روبش به ترتیب، $30\ \mu\text{m}$ و $40\ \mu\text{m}$ و (b) و (d) تصاویر فاز مربوطه هستند [۷].

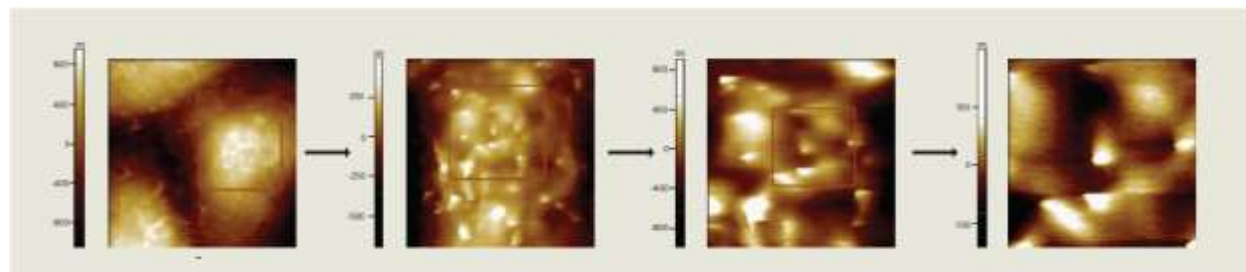
شکل ۴. تصاویر SICM از سلول COS-1، که با ویروس ۴۰ (SV40) میمون از فیبروبلاست CV-1 تغییر شکل یافته است. نمونه، از کلیه بالغ میمون سبز آفریقایی تهیه شده است. سلول‌ها در تمام مدت تصویرگیری ICM زنده و پایدار بوده و هیچ علامتی اعوجاج فیزیکی نشان ندادند. خط فیبروبلاست به شیشه و پلاستیک محیط کشت می‌چسبد و معمولاً به عنوان میزبان ناقل عمل می‌کند. پیکان‌ها در شکل ۴a و ۴b نشان می‌دهد که وقتی دو غشا سلولی کلونیدی رشد یافته به هم می‌رسند، فیبروبلاست چطور رفتار می‌کند. همان‌طور که در شکل‌های ۴c و ۴d نشان داده شده است، غالباً فعالیت دو سلول همسایه در تولید برآمدگی^{۲۰}، متفاوت است. فعالیت برآمدگی در فیبروبلاست نسبت به B بیش‌تر است (شکل ۴c)، این نکته در تصویر فاز شکل ۴d بهتر دیده می‌شود. مشاهده چنین تفاوت ساختاری، با میکروسکوپ نوری یا AFM، تقریباً غیرممکن است. تصویر توپوگرافی ICM سلول ریه موش در شکل ۵a به خوبی، جزئیات یک سلول زنده را نشان می‌دهد که با اندازه‌گیری تصویر یک سلول مرده و خشک شده، کاملاً متفاوت است. علاوه بر این، تصویر خطای جریان ICM شکل ۵b، اثر حرکت سل را بعد از انقباض سلول ماهیچه زنده موش (C2C12)، روی ته نشان می‌دهد. تصاویر

²⁰ cilia

ICM متوالی در شکل ۶، میکروویلی^{۲۱} روی سطح سلول و ساختار حفظ شده از غشاء سلول را در بزرگ‌نمایی‌های مختلف، نشان می‌دهد.



شکل ۵. تصویر توپوگرافی ICM از سلول ریه موش زنده (a) و تصاویر خطای جریان از سلول ماهیچه موش زنده (b) (C2C12) [۷].



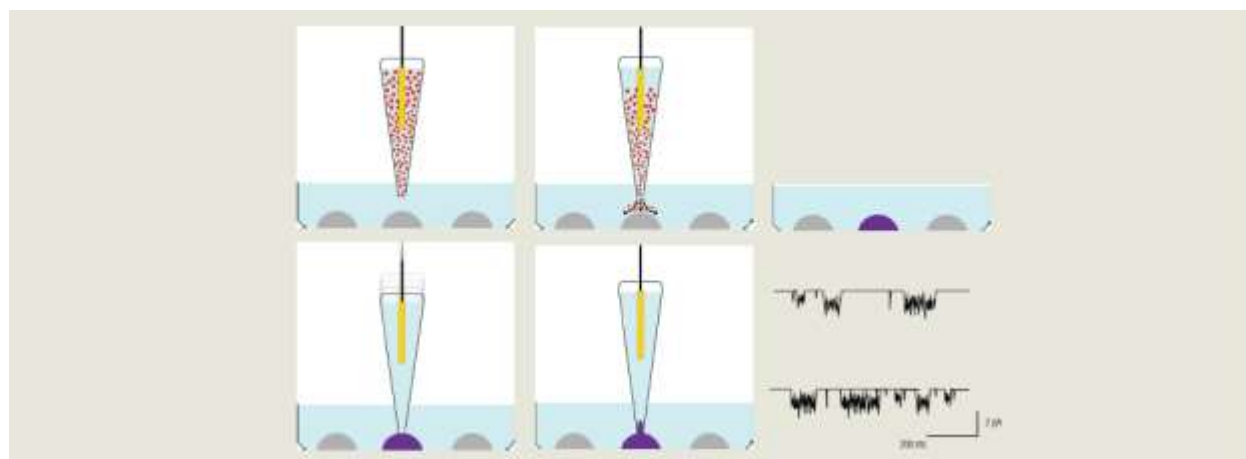
شکل ۶. SICM از سلول کبد [۷].

تحریک محلی و نمایش فعالیت سلولی

استفاده از یک پیپت پر شده از مایع برای ICM به جای استفاده از کانتی لیور سیلیکونی برای AFM، راه‌های جدیدی را برای آنالیز باز می‌کند. ICM در عین این‌که برای تصویرگیری از نمونه‌های زیستی نرم در مایع، از قبیل سلول‌های زنده ایده‌آل است، به راحتی هم می‌تواند برای تحریک کیفی و کمی بیوشیمی سلول‌های منفرد

²¹ microvilli

و مطالعات تحرک سلولی^{۲۲} استفاده شود. این کاربردها شامل تحریک موضعی و نمایش (شکل ۷ را ببینید) و انتقال دارویی سلولی است. در تحریک موضعی، سلول با به کار بردن یک فشار موضعی از طریق حفره پیپت، وادار به حرکت شده و از پاسخ سلول تصویرگیری می‌شود. به علاوه، توانایی کارکرد ICM می‌تواند برای مطالعه دینامیک سلول زنده در واکنش به تحریک شیمیایی یا دارویی موضعی، برای رسیدن به الکتروفیزیولوژی دقیق کنترل شده در مقیاس نانو، توسعه یابد. حوزه پژوهشی سلول منفرد هم اکنون در دسترس همه علاقه‌مندان است، و این تکنیک توانای ICM، حوزه زیست‌شناسی سلولی دارورسانی را کاملاً متحول می‌کند.



شکل ۷. تحریک موضعی می‌تواند با اعمال یک فشار کنترل شده از میان حفره پیپت (که سطح شیشه‌ای آن می‌تواند مطابق نیاز کاربر عامل دار شود) صورت گیرد [۷].

منابع

- 1.
2. http://en.wikipedia.org/wiki/Scanning_ion-conductance_microscopy, Wikipedia,
3. the [free encyclopedia](#), Date retrived: 05,08,2012

²² motility

4. Shuai Zhang , Sang-Joon Cho , Katerina Busuttil , Chen Wang , Flemming Besenbacher and Mingdong Dong, Scanning ion conductance microscopy studies of amyloid fibrils at nanoscale, *Nanoscale*, 2012,4, 3105-3110, DOI: 10.1039/C2NR12049F
5. Nanounity US,
6. P. Happel , F. Wehner and I. D. Dietzel, Scanning ion conductance microscopy—a tool to investigate electrolyte-nonconductor interfaces, Modern Research and Educational Topics in Microscopy, FORMATEX 2007, 968-975
7. _Park Systems Corp. Date retrived: 05,08,2012
8. Hansma, P.; Drake, B; Marti, O; Gould, S.; Prater, C. (1989). "The scanning ion-conductance microscope". *Science* **243** (4891): 641–3. [doi:10.1126/science.2464851](https://doi.org/10.1126/science.2464851). [PMID 2464851](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2464851/).