



论文

壁虎脚底毛黏附机制的生物学效应

郭策^{①*}, 孙久荣^②, 戈应滨^③, 王文波^①, 王大朋^④, 戴振东^{①*}

① 南京航空航天大学仿生结构与材料防护研究所, 南京 210016;

② 北京大学生命科学学院, 北京 100871;

③ 南京医科大学基础医学院生理学系, 南京 210029;

④ 中国科学院合肥智能机械研究所, 合肥 230031

* 联系人, E-mail: guozc@nuaa.edu.cn; zddai@nuaa.edu.cn

收稿日期: 2011-10-18; 接受日期: 2012-01-06

国家重点基础研究发展计划(批准号: 2011CB302106)、国家自然科学基金(批准号: 51175249, 61175105, 51105201)和国家自然科学基金重点项目(批准号: 60535020)资助

doi: 10.1360/052011-268

摘要 壁虎具有高超的攀爬能力. 目前, 关于壁虎脚底毛黏附机制的范德华力假说已得到国内外学术界广泛的认同. 利用自行研制的二维摩擦磨损实验机对 3 种不同状态下的壁虎脚底毛的黏附力进行了测试和比较分析; 同时利用细胞组织学技术观测了壁虎脚底毛的形态构筑, 并通过生理解剖和神经电生理学技术观测了壁虎脊神经分支对壁虎脚在黏附-脱附过程中的运动调控. 结果表明, 清醒和麻醉状态下的壁虎脚底毛以及离体的壁虎脚底毛黏附力大小存在明显差异; 壁虎脚底毛存在两种不同发育状态: 毛囊细胞和毛囊已退化的刚毛样结构, 作为毛囊细胞突起的壁虎脚底毛在黏-脱附过程中可能产生生物电或生物电的变化, 从而参与壁虎脚黏-脱附机制和转换过程; 壁虎脚的神经-肌肉组织能够调控壁虎脚产生黏附-脱附过程中的 3 种典型运动模式. 本研究表明, 壁虎脚底毛黏附机制中存在着生物学因素, 指出范德华力假说的局限性, 为进一步揭示壁虎脚底毛的黏附机制, 制备仿生刚毛群提供了理论依据.

关键词壁虎刚毛
黏附力
生物学机制
微结构
仿生学

经过亿万年的进化和生存竞争, 自然界中生物所表现出来的多样性和各种特异功能激励着人类的想象力和创造力. 像壁虎(*Gekko*)一样在山崖、树干、墙壁、天花板甚至垂直的光滑玻璃板纹丝不动地停留或轻松自如地行走, 是人们长久以来关注和追求的目标之一. 壁虎拥有这一绝技的奥秘在于其脚掌上的数百万根刚毛, 研究壁虎脚底毛的黏附机制, 是制备仿生刚毛群、解决爬壁机器人与接触面的黏附难题的关键理论基础.

传统认为, 壁虎脚掌的黏附机制有虹吸、微观锁合、摩擦、静电吸引等^[1-5]. 2000 年, Autumn 及其同

事^[6,7]利用微机电系统(micro electromechanical system, MEMS)技术测试了壁虎单根离体刚毛的黏附力, 发现当刚毛上的卷须与物体表面贴得非常近时, 可以产生微弱的分子间作用力, 即范德华力(van der Waals), 于是得出结论, 壁虎脚底毛黏附力的产生机制是分子间作用力, 否定了范氏力以外的所有物理机制. 他们的工作得到许多同行的认同和引用^[8-15]. 2005 年, Huber 等人^[16]通过对壁虎刚毛尖端单根分支进行纳米力学测试, 认为毛细作用对壁虎脚掌黏附力的产生具有重要意义. Autumn 等人^[6]在测量单根壁虎脚底毛的黏附力时发现, 刚毛必须和接触界面

有一定的相对滑动才能测到附着力, 这与本研究一致. 这种滑动有可能是“调整”毛的角度, 促进毛与接触面充分接触; 另一方面, 本研究推测在壁虎脚底毛基底的肌肉组织, 以及神经-肌肉对毛可能存在着调控作用, 特别是壁虎刚毛细胞内可能具有可收缩的结构, 这种结构能够改变刚毛之间的间距, 使范德华力增大或缩小, 从而调节黏附力的大小以及黏-脱附的转换. 那么, 壁虎的黏着机制是否仅仅是范德华力? 是否存在其他作用机制?

通过扫描电子显微镜和细胞组织学技术研究了大壁虎(*G. gecko*)和无蹼壁虎(*G. swinhonis*)脚底毛的形态构筑^[17]. 本文进一步研究了正常状态下、麻醉状态下以及离体壁虎脚底毛的形态和黏附性能的变化. 结果表明, 范德华力论是不全面的, 壁虎脚底毛黏附机制中存在着生物学效应. 本工作将进一步揭示壁虎的黏附机制, 并赋予制备仿生刚毛群新的理念.

1 材料与方法

1.1 在体与离体壁虎脚底毛的黏附力测试

以体重和体长相近的 12 只大壁虎(体重: (79.6 ± 6.3) g; 体长: (159.5 ± 1.3) mm)为研究对象, 将其分作清醒和麻醉两组. 采用自行研制的二维多功能摩擦磨损实验机(传感器灵敏度: 5 mN; 测试范围: 0~4 N)分别测量它们在清醒状态下($n=6$)和麻醉状态下($n=6$)左下肢脚第Ⅲ趾(测试时去爪)的切向黏附力和法向黏附力, 并与随后测量的大壁虎相应的离体脚趾(冰冻 1 周, $n=6$)的黏附力进行比较. 数据经 Acq-Knowledge 数据采集分析系统记录和分析(BIOPAC Systems, Inc, USA).

实验中, 壁虎脚底毛的接触面为光滑玻璃板, 该板与传感器相连, 水平放置. 测试时, 手中抓握壁虎, 用一橡胶套将壁虎的其余脚趾向后套住, 只允许测试脚趾与界面接触, 缓慢牵拉脚趾, 保持壁虎脚趾与接触面间夹角小于 30° ^[18], 直至壁虎脚趾脱离触板. 在数据处理时保留预压法向力相同时的壁虎黏附力测试数据, 同时剔除壁虎挣扎或扭动时的实验数据. 对壁虎离体脚趾进行测试时, 牵拉方式及其与接触面的夹角均如上所述.

1.2 扫描电子显微镜和细胞组织学观测

选取壁虎新鲜脚趾和离体冰冻 1 周的脚趾各 3

只做扫描电子显微镜观测. 依照文献[19], 用 10% 甲醛固定后, 取壁虎的趾部, 用乙醇(70%, 80%, 90%, 95% 和 100%)逐步脱水, 每个步骤所用时间约为 24 h. 临界点干燥(CPDO30 Critical Point Dryer)持续 3 h 后, 用离子溅射仪(SCD005 Sputter Coater)喷金, 最后用 FEI QUANTA 200 (日本光电)扫描电子显微镜进行观测.

制备大壁虎脚底毛的横向和纵向切片(Leica CM1900, Germany), 用于细胞组织学观测. 依照文献[20], 将壁虎的脚趾分别进行固定、中和、水洗、脱水、包埋、固定切片(厚 10 μ m)和染色, 最后通过 Motic B 系列生物显微镜(麦克奥迪公司, 中国)进行观测和分析.

1.3 大壁虎脚运动模式的调控

在 Leica-MZ95 体视显微镜下解剖, 分离壁虎的皮下组织和肌肉, 得到大壁虎右下肢的 3 根主要外周神经($n=4$), 分别是腓神经 N1, 胫神经 N2 和股神经 N3. 为了观测外周神经对壁虎脚运动模式的调控, 利用双极程控刺激器 YC-2-S(中国成都仪器厂)刺激所分离的神经. 电刺激的参数设定如下: 串单刺激, 脉冲数 20, 间隔 20 ms, 串刺激间隔 60 s, 每个单刺激的波宽为 1 ms, 幅度 0.1~0.3 V 连续可调, 以阈刺激时的电压幅值来显示神经-肌肉耦联的兴奋性.

1.4 大壁虎脚底毛细胞内肌动蛋白的测定

肌动蛋白(actin)是从昆虫到哺乳动物体内(细胞内)广泛分布的可收缩蛋白, 其结构和功能具有高度保守性, 是细胞发生迁移和运动的基本功能蛋白, 推测壁虎刚毛细胞内可能含有肌动蛋白的成分, 并参与壁虎刚毛的黏附活动. 因此, 本实验首先通过比较蛙、鸟和哺乳动物的 *beta-actin* 序列, 设计出多肽段, 成功制备了与蛙、鸟及哺乳动物有交叉反应的肌动蛋白多克隆抗体, 然后利用免疫印迹法(Western blot)研究壁虎刚毛内是否存在肌动蛋白成分. 在此基础上, 用树脂包埋壁虎刚毛, 制作横切及侧切的半薄切片, 再用鬼笔环肽进行荧光标记, 检测肌动蛋白的分布.

2 结果

2.1 壁虎脚底毛在 3 种不同条件下的黏附力比较

清醒状态下、麻醉状态下和离体冰冻 1 周的大壁虎脚趾黏附力的测试结果如图 1 所示. 由图中可见,

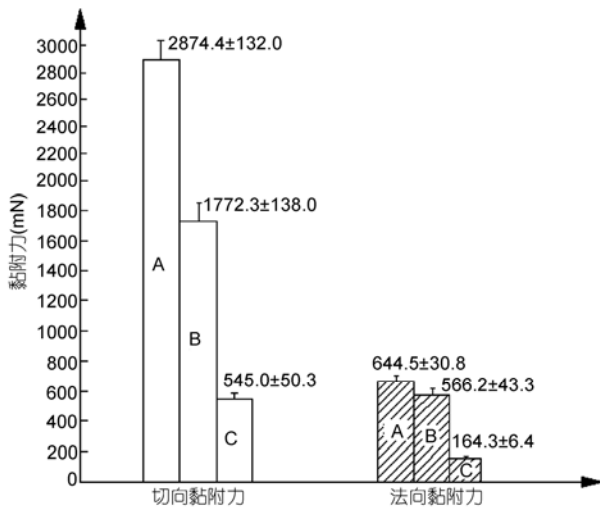


图 1 壁虎脚底毛在 3 种不同条件下的黏附力比较

A: 清醒状态下壁虎; B: 麻醉状态下壁虎; C: 离体壁虎脚底毛

清醒与麻醉状态下的壁虎脚底毛的黏附力与离体毛的黏附力依次递减, 相互间差异显著。依照 Autumn 等人^[6]的理论, 壁虎脚底毛的黏附机制完全是范德华力, 当毛与接触面间的距离足够小时, 就会产生范氏力, 而力的大小与毛的“生死”无关, 只取决于壁虎毛的构筑和尖端形态。对壁虎脚趾新鲜样本和陈旧样本的扫描电子显微镜图进行比较(图 2)。结果表明, 新鲜样本与陈旧样本中壁虎毛的形态并无显著差异。因此, Autumn 等人的理论与实验结果不符。这说明壁虎脚底毛的黏附机制不完全是分子间作用力的结果, 还应有生物学机制参与其中。

2.2 壁虎脚底毛的两种发育状态

壁虎脚底毛的组织学研究表明, 壁虎脚底毛存在两种发育状态: 其一, 发育早期: 脚底毛呈细胞样结构, 是毛囊细胞的突起。在壁虎脚底毛从顶部到基部的连续横断切片(图 3A~D, 切片厚 10 μm)中可观察到, 毛顶部的高位切片中是大量的壁虎毛顶端弯曲部位的横断面(图 3A); 壁虎脚底毛中部的横断面呈簇状排列, 每一簇内多为 4 根, 毛横断面的内容物丰满而不均一(图 3B); 在接近基部的低位切片中脚底毛呈现出细胞核样结构(图 3C), 细胞核着色清楚; 毛细胞的底面有大量色素细胞、脂肪细胞和肌细胞, 没有腺细胞(图 3D)。在壁虎脚毛纵向切片中, 可见刚毛是皮瓣表皮细胞的突起, 细胞核位于毛的基部(图 3E~G); 其二, 发育晚期: 看不到毛囊结构, 毛囊已退化, 脚底毛呈刚毛样结构, 排列在皮肤的表面, 似“皮肤衍生物”(图 4)。无论壁虎脚底毛处在哪种发育状态, 其毛茎的内容物都非常充实, Alibardi 等人^[21,22]用放射免疫细胞化学方法证实, 其中存在大量的 Beta-角蛋白, 其他蛋白组分未做进一步分析。

壁虎脚底毛的两种结构状态分别处于毛的不同发育时期。本研究表明, 毛源于毛囊细胞的突起, 随着突起的生长, 毛囊逐渐退化, 直到消失。这是一个连续的发育过程。由图 3C 可见, 这两种发育状态多以群居。初步观察表明, 明显处于发育早期(脚底毛呈细胞样结构)的壁虎脚底毛的数量约占总数的 1/10。

2.3 神经-肌肉对脚底毛黏-脱附的支配

细胞组织学观测表明, 壁虎脚底毛细胞的基底

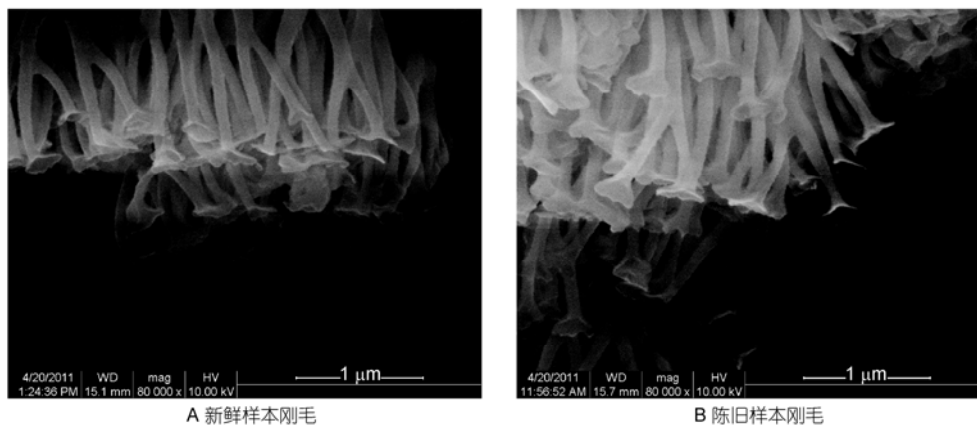


图 2 壁虎刚毛新鲜样本与陈旧样本的扫描电子显微镜图比较

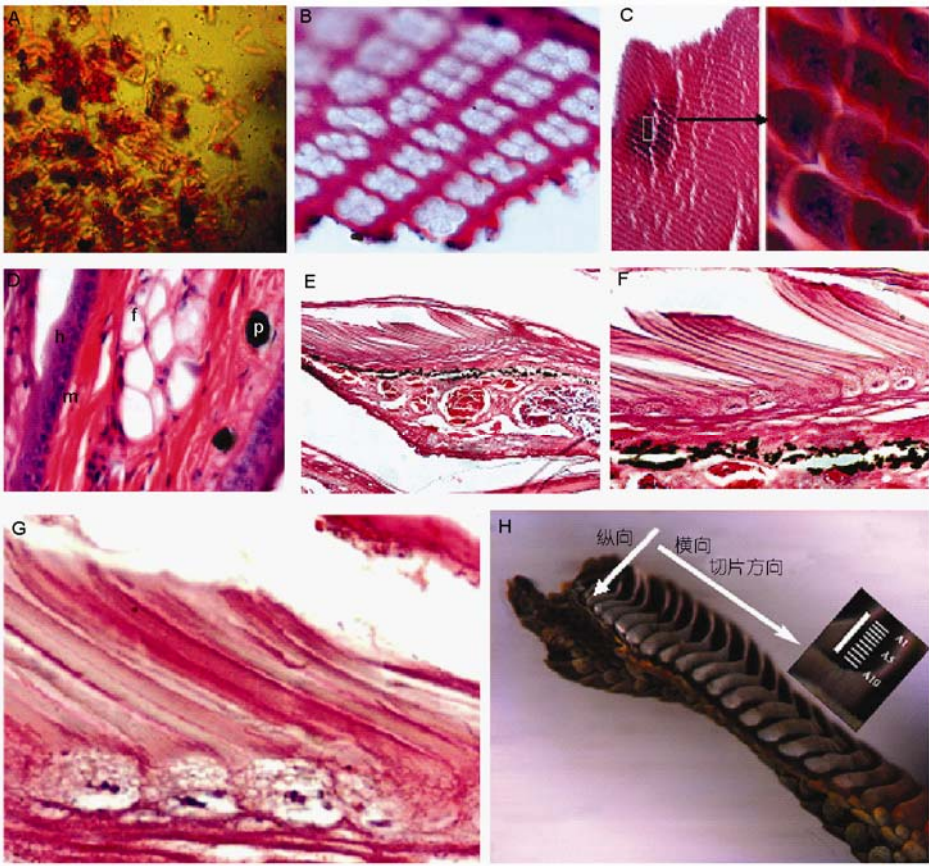


图 3 壁虎脚底毛的横向和纵向切片

A: 毛顶部的高位切片, 1000 $\times$; B: 毛中部切片, 1000 $\times$; C: 毛基部的低位切片, 100 $\times$; D: 毛基部切片, 1000 $\times$. f: 脂肪细胞; h: 毛细胞; m: 肌肉组织; p: 色素细胞; E-G: 毛的纵向切片, E: 200 $\times$; F: 400 $\times$; G: 1000 $\times$; H: 制作壁虎脚底毛切片的方向示意图



图 4 壁虎脚底毛发育晚期

S: 壁虎脚底毛

有大量的肌肉组织(图 3D). 通过外周神经调控大壁虎脚掌运动的研究, 发现大壁虎脚趾的运动主要有外翻、扭动和内收 3 种模式, 分别对应大壁虎脚掌的脱附、移动和黏附. 当大壁虎与环境界面相接触时, 其脊神经的分支 N1, N2 和 N3 通过支配脚底肌肉来控制脚趾的外翻、扭动和内收^[23], 从而实现大壁虎脚的脱附和黏附转换(图 5).

2.4 壁虎脚底毛内存在肌动蛋白 actin 免疫印迹结果

图 6 和 7 表明, 壁虎刚毛细胞内存在 actin 蛋白, 并分布于刚毛细胞基底部, 包裹于刚毛的外周, 其收缩与舒张有可能改变刚毛间的距离和范德华力的大小, 从而通过调节刚毛的收缩来调节壁虎脚底毛黏附力的大小.

3 讨论

本工作证实了 Autumn 等人^[6]理论存在的局限性.

Autumn 等人实验中的观测材料只选取了离体的壁虎脚底毛, 没有研究在体脚底毛的黏附力, 不得不说是个缺陷. 本实验结果证实, 活壁虎脚趾的黏附力明显大于离体有一定时间(如冰冻 1 周)脚趾的黏附力, 而且壁虎清醒时的黏附力与麻醉时的黏附力也具有明显差异. 这表明, 毛的黏附机制不仅是物理形态构成的范德华力, 还有生物学因素参与.

目前制备的仿壁虎脚底毛虽具备一定的黏附能力, 但存在黏-脱附转换困难、自黏连和易污染等问题^[24-26], 成为限制仿生刚毛设计和制备的技术瓶颈. 为什么壁虎脚底毛没有上述缺陷, 它们是如何解决的? 如果在制备仿壁虎脚底毛的过程中引入上述生物学调控因素, 可有望提高仿生毛的实际使用性能.

本实验通过免疫印迹法和鬼笔环肽荧光标记法证明壁虎脚底毛内存在肌动蛋白, 肌动蛋白位于刚毛细胞基底部, 包裹于刚毛的外周. 近年来发现, 一些动物内耳的听毛细胞, 特别是外毛细胞的纤毛内具有肌纤蛋白和肌动蛋白, 它们有一定的收缩功能. 在声波刺激下, Ca^{2+} 进入毛细胞与肌蛋白发生作用,

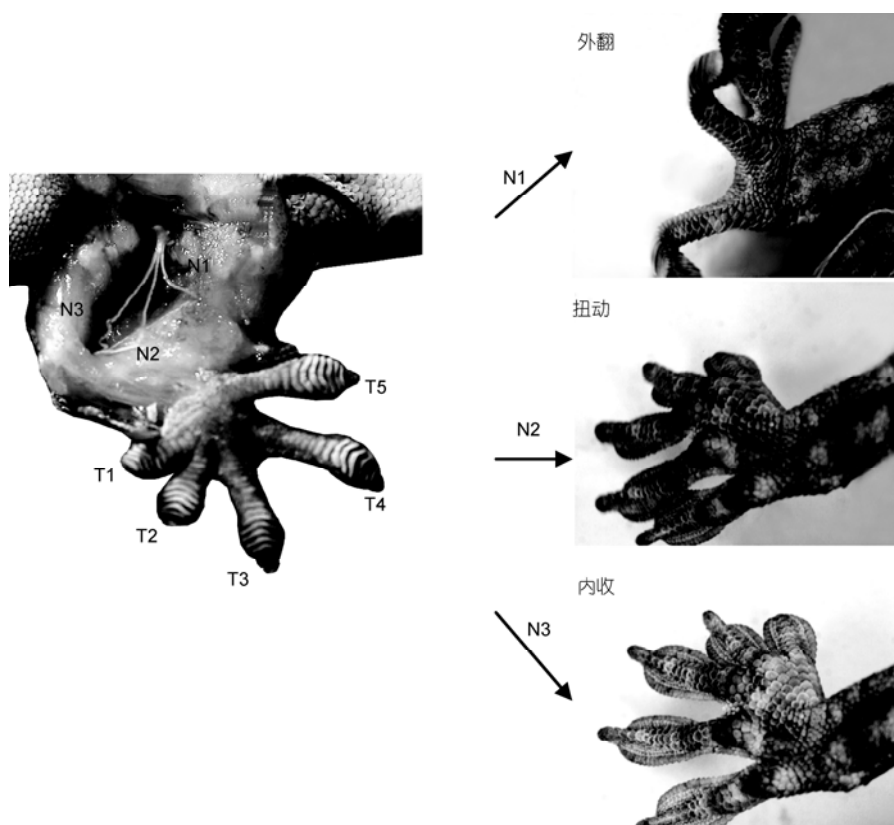


图 5 脊神经分支对脚趾内收、外翻和扭动的调控

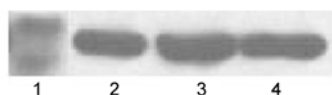


图6 免疫印迹结果

壁虎脚掌刚毛结构内含有肌动蛋白, 其分子量与蛙及大鼠相似(42 kD). 泳道 1: Marker; 泳道 2: 蛙; 泳道 3: 壁虎; 泳道 4: 大鼠

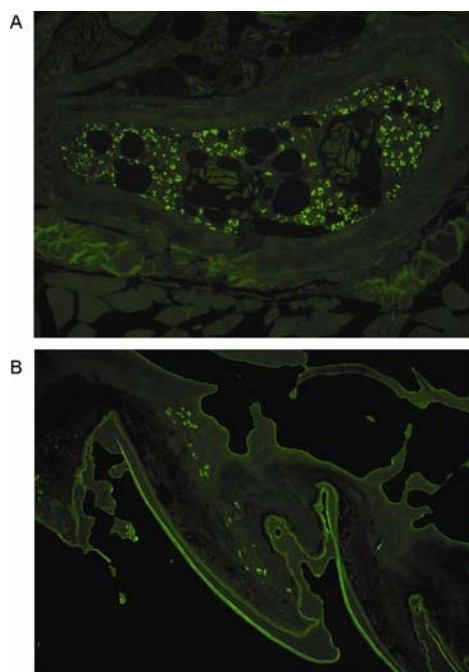


图7 壁虎刚毛鬼笔环肽荧光标记结果

A: 刚毛横断面图, 刚毛细胞的基底部有环形的阳性染色(切片厚度 2 μm , 400 $\times$); B: 刚毛侧切面, actin 阳性染色, 局限于基底部并未纵贯刚毛全长(切片厚度 2 μm , 400 $\times$)

引起这些蛋白的收缩, 改变纤毛的长度和韧性, 以及纤毛与盖膜之间碰撞的频率和力度, 从而调节听觉的敏感度. 可见, 毛细胞纤毛的弯曲不仅是被动地传递能量, 也能对能量传递起主动调节作用, 从而提高基底膜对声波应和的敏感性和频率的选择性^[27].

壁虎脚底毛之所以具有主动的黏附和抗黏附功

能, 应与其内部存在肌动蛋白密切相关. 肌动蛋白的收缩与舒张能够改变刚毛间的距离和范德华力的大小, 从而调节刚毛的收缩, 实现壁虎黏、脱附以及黏-脱的自如转换. 此外, Autumn 等人^[6]和本研究在测量壁虎脚底毛的黏附力时都发现, 刚毛必须和接触界面有一定相对滑动时才能测到附着力, 这提示在壁虎脚底毛与界面的接触滑动过程中, 不仅仅是“调整”毛的角度或接触面积, 其间毛基底的肌肉组织, 以及神经-肌肉对在体壁虎脚底毛存在着调控作用, 从而可能使毛细胞具有主动的黏附和抗黏附及其转换功能. 这样壁虎才可能快速而自如地爬行.

本研究发现, 壁虎脚底毛是细胞的突起, 属细胞样结构. 一般地说, 细胞膜的内外具有电学极性, 即内负外正, 而机体的许多组织中, 如听觉系和前庭系的感受器中, 毛细胞顶部的纤毛受到刺激后引发的机械性运动, 常常会诱发毛细胞膜上的电极性的改变, 如细胞膜的电极发生去极化. 这种变化对于机体感受外界刺激和感觉传入是非常重要的. 壁虎脚底毛具有主动的黏附和抗黏附功能, 另一个受关注的解释是, 壁虎脚底毛作为毛囊细胞的突起在黏附和脱附过程中伴有生物电的发生或改变, 这种生物电变化将参与壁虎脚黏附-脱附机制和转换过程. 目前制备的仿壁虎脚底毛虽具备一定的黏附能力, 却倍受人造刚毛间彼此“黏连”现象的困扰. “黏连”使毛的黏附性能明显下降^[26]. 同时, 仿生刚毛也存在难于脱附的问题, 这些都是制约仿生刚毛群设计、制造和应用的重要因素. 如果在仿壁虎脚底毛的制备中引入类似生物学调控因素, 可有望解决上述问题, 使仿生刚毛的制造和应用成为现实.

本研究为人造刚毛的设计和制备提供下列新的理念: (i) 人造刚毛顶端的形态应引入壁虎脚底毛上端分叉、尖端膨大的特点; (ii) 人造刚毛的表面材料应具有一定的弹性和不黏连性; (iii) 人造刚毛群的底面形状应具有可控的可塑性, 如利用电场敏感材料.

参考文献

- 1 Gadow H. The cambridge natural history Vol.8: Amphibia and Reptiles. London: McMillan & Co, 1901. 668
- 2 Gennaro J G J. The gecko grip. Natural History 78. New York: American Museum of Natural History, 1969. 36-43
- 3 Mahendra B C. Contributions to the bionomics, anatomy, reproduction and development of the Indian house gecko, *Hemidactylus flaviviridis* Ruppell Part II: The problem of locomotion. Proc Indian Acad Sci, 1941, 3: 288-306
- 4 Hora S L. The adhesive apparatus on the toes of certain geckos and tree frogs. J Proc Asiatic Society of Bengal, 1923, 9: 137-145

- 5 Schmidt H R. Zur Anatomie und Physiologie der Geckopfote Jena Z. Naturw, 1904, 39: 551
- 6 Autumn K, Liang Y A, Hsieh S T, et al. Adhesive force of a single gecko foot-hair. Nature, 2000, 405: 681–685
- 7 Autumn K, Sitti M, Liang Y A, et al. Evidence for van der Waals adhesion in gecko setae. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99: 12252–12256
- 8 Gee H. Biomechanics: gripping feat. Nature, 2000, 405: 631
- 9 Desiraju G R. Chemistry beyond the molecule. Nature, 2001, 412: 397–400
- 10 Gorb S N, Beutel R G, Gorb E V, et al. Structural design and biomechanics of friction-based releasable attachment devices in insects. Integr Comp Biol, 2002, 42: 1127–1139
- 11 Bundle M W, Dial K P. Mechanics of wing-assisted incline running (WAIR). J Exp Biol, 2003, 206: 4553–4564
- 12 Wu P, Hou L H, Plikus M, et al. Evo-Devo of amniote integuments and appendages. Int J Dev Biol, 2004, 48: 249–270
- 13 Federle W, Endlein T. Locomotion and adhesion: dynamic control of adhesive surface contact in ants. Arthropod Struct Dev, 2004, 33: 67–75
- 14 Northen M T, Turner K L. A batch fabricated biomimetic dry adhesive. Nanotechnology, 2005, 16: 1159–1166
- 15 Yurdumakan B, Ravikiran N R, Ajayan P M, et al. Synthetic gecko foot-hairs from multiwalled carbon nanotubes. Chem Commun, 2005, 30: 3799–3801
- 16 Huber G, Mantz H, Spolenak R, et al. Evidence for capillarity contributions to gecko adhesion from single spatula nanomechanical measurements. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102: 16293–16296
- 17 郭策, 王文波, 于敏, 等. 大壁虎与无蹼壁虎脚底刚毛结构与其黏附性能的比较研究. 中国科学 C 辑: 生命科学, 2007, 37: 568–574
- 18 Autumn K, Dittmore A, Santos D, et al. Frictional adhesion: a new angle on gecko attachment. J Exp Biol, 2006, 209: 3569–3579
- 19 程红, 孙久荣, 李建桥, 等. 臭蜥蜴体壁表面结构及其与减黏脱附功能的关系. 昆虫学报, 2002, 45: 175–181
- 20 程红, 陈茂生, 孙久荣. 臭蜥蜴体壁的组织结构. 昆虫学报, 2003, 46: 429–435
- 21 Alibardi L. Ultrastructural autoradiographic and immunocytochemical analysis of setae formation and keratinization in the digital pads of the gecko *Hemidactylus turcicus* (Gekkonidae, Reptilia). Tissue Cell, 2003, 35: 288–296
- 22 Alibardi L, Toni M. Immunological characterization and fine localization of a lizard Beta-keratin. J Exp Zool B Mol Dev Evol, 2006, 306B: 528–538
- 23 郭策, 戴振东, 吉爱红, 等. 壁虎脚趾运动调控的研究. 中国生物医学工程学报, 2006, 25: 110–113
- 24 Sitti M, Fearing R S. Nanomolding based fabrication of synthetic gecko foot-hairs. IEEE-NANO, 2002, 137–140
- 25 Sitti M, Fearing R S. Synthetic gecko foot-hair micro/nano-structures as dry adhesives. J Adhes Sci Technol, 2003, 18: 1055–1074
- 26 Geim A K, Dubonos S V, Grigorieva I V, et al. Microfabricated adhesive mimicking gecko foot-hair. Nature Mater, 2003, 2: 461–463
- 27 Pickles J O, Corey D P. Mechanoelectrical transduction by hair cells. Trends Neurosci, 1992, 15: 254–259

Biomechanism of Adhesion in Gecko Setae

GUO Ce¹, SUN JiuRong², GE YingBin³, WANG WenBo¹, WANG DaPeng⁴ & DAI ZhenDong¹

1 Institute of Bio-inspired Structure and Surface Engineering, Nanjing University of Aeronautics and Astronautics, Nanjing 210016, China;

2 School of Life Sciences, Peking University, Beijing 100873, China;

3 School of Basic Medical Sciences, Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China;

4 Institute of Intelligent Machines, Chinese Academy of Sciences, Hefei 230031, China

The study of the adhesion of millions of setae on the toes of geckos has been advanced in recent years with the emergence of new technology and measurement methods. The theory of the mechanism of adhesion by van der Waals forces is now accepted and broadly understood. However, this paper presents limitations of this theory and gives a new hypothesis of the biomechanism of gecko adhesion. The findings are obtained through measurements of the magnitude of the adhesion of setae under three different conditions, to show the close relationship between adhesion and status of the setae. They are reinforced by demonstrating two setal structures, follicle cells and hair, the former making the setae capable of producing bioelectrical charges, which play an important role in attachment and detachment processes. It is shown that the abundant muscular tissues at the base of the setae cells, which are controlled by peripheral nerves, are instrumental in producing the foot movement involved in attachment and detachment. Our study will further uncover the adhesion mechanism of geckos, and provide new ideas for designing and fabricating synthetic setae.

gecko setae, adhesion, biomechanism, microstructure, bionics

doi: 10.1360/052011-268