

· 专 论 ·

分子间相互作用力的直接测量*

张义恒 王治强 张 希**

(清华大学化学系 有机光电子与分子工程教育部重点实验室 北京 100084)

摘 要 结合我们近期的研究工作,着重介绍如何将分子组装与单分子力谱相结合,从单分子水平直接研究分子间相互作用力,包括 π - π 相互作用、多价作用及嵌入作用。在实验中,将一个相互作用单元通过高分子间隔基共价连接到原子力显微镜针尖上,并将另一相互作用单元共价修饰到基底上,通过压电陶瓷管的移动获得力与拉伸长度的曲线。高分子柔性间隔基团的引入既可用来作为判别单链拉伸的“内标”,又可避免非特异相互作用对待测的特异相互作用的影响。研究表明,结合静态和动力学谱,不仅能够实现分子间相互作用力的直接测量,而且还可获得解离速率和相互作用的距离等参数。

关键词 单分子力谱,原子力显微镜,分子间相互作用

伴随纳米科技的进步,人们发展了各种单分子力谱方法,如磁性珠、生物膜力学探测、光学镊子、玻璃纤维微针尖以及原子力显微镜等,这些方法可用于从单分子水平检测皮牛顿级(pN)微小的力。基于原子力显微镜(atomic force spectroscopy, AFM)技术的单分子力谱方法,以其操作简便、适用面广的特点而得到了广泛的应用^[1~4]。

AFM 已被广泛用于研究二维表面结构,但它本质上是高度敏感的力传感器。基于 AFM 的单分子力谱方法(single-molecule force spectroscopy, SMFS),可以获得微小力值与拉伸长度的曲线。实验过程可简要描述如下^[1],首先通过物理或化学作用将高分子吸附在基片或 AFM 针尖上,然后利用压电陶瓷管移动使针尖和基片接触,在物理或化学吸附的作用下形成高分子“桥”;再利用压电陶瓷管的移动对高分子“桥”进行拉伸,记录 AFM 的悬臂弯曲程度与压电陶瓷管的位移间的关系,再将其转化为力-拉伸长度曲线。

基于 AFM 的单分子力谱方法,我们可以从单分子水平研究分子内和分子间的相互作用,获得许多常规方法无法提供的信息。如图 1 所示,它能够用来获得分子内相互作用的一些信息,并解决分子结构中的一些问题,包括高分子的单链弹性及其影响因素^[5~15]、多糖在力诱导下的构象转变^[16~21]等。同时,它也能用来研究分子间相互作用,

并有益于加深对超分子结构的认识,包括大分子与小分子的相互作用^[22~24]、高分子在界面上的吸附和脱附^[25~27]及分子间相互作用力的直接测量^[28~31]等。另外,我们也可以利用单分子力谱实现分子机器的功能,如利用聚乙烯二茂铁在电化学氧化前后长度的变化,可以实现电化学能到机械能的转化,类似于单链大分子马达^[32]。

分子自组装的本质在于分子间相互作用及其协同效应,加深对分子间相互作用的认识有利于理解分子组装的推动力。基于我们最近的研究工作,本文着重介绍如何将分子组装与单分子力谱相结合,直接进行分子自组装体系中的分子间相互作用及多价作用的研究,为认识分子组装推动力的本质提供依据。

1 π - π 相互作用的直接测量

π - π 相互作用是指含有芳香结构的化合物之间的分子间相互作用,它是分子自组装的一种重要推动力。虽然 π - π 相互作用由来已久,但由于其相互作用较弱,直接测量其相互作用的强度仍然是一个挑战。作为一种典型的 π - π 相互作用体系,芘及其衍生物能够非共价地通过 π - π 相互作用吸附到碳纳米管或石墨表面,从而改善其溶解性。为实现芘及其衍生物与石墨表面的 π - π 相互作用的直接测量,我们将单个芘分子通过柔性聚乙二醇(PEG)连接到 AFM 的针尖上,以形成高分子桥

* 2009-07-13 收稿,2009-07-20 修稿;国家自然科学基金(基金号 20834003)资助项目; ** 通讯联系人, E-mail: xi@mail.tsinghua.edu.cn

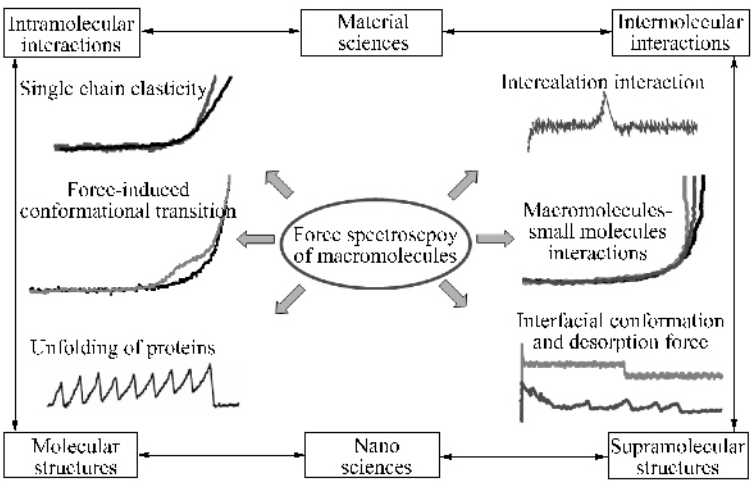


Fig. 1 AFM-based SMFS becomes a powerful tool in studying the intramolecular and intermolecular interactions at single-molecule level, leading to new physical insight in molecular, interfacial and supramolecular structures

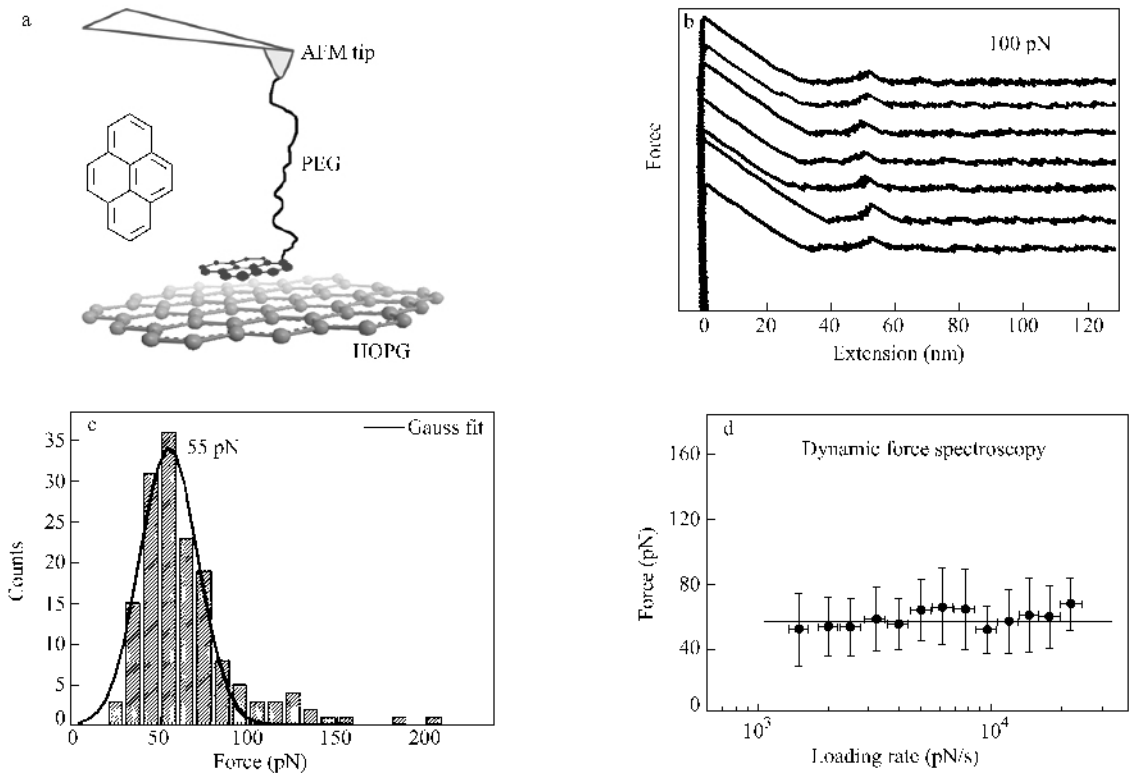


Fig. 2 (a) Schematic setup for measuring the interaction between pyrene and highly oriented pyrolytic graphite (HOPG) in aqueous medium by SMFS; (b) Typical force curves of single pyrene desorbed from graphite substrate (room temperature); (c) Histogram of the rupture force of the interaction between pyrene and graphite at a loading rate of 4.0 nN/s; (d) Plot of the most probable rupture force between pyrene and graphite as a function of the corresponding loading rate in a logarithmical scale

联结构,如图 2(a)所示.首先利用压电陶瓷管的移动,使芘分子与石墨表面充分接触,然后再通过拉伸 PEG,获得力-拉伸长度曲线.由于 PEG 是共价连接到 AFM 针尖上,共价键的强度很大,所以拉伸时这一桥联结构中最薄弱的环节——芘和石

墨之间的分子间相互作用就会被破坏,表现为力值迅速下降到基线.图 1(b)给出了这一过程的一些典型力-拉伸长度曲线,位于 50 nm 附近的峰对应于芘和石墨之间相互作用的断裂过程.如图 2(c)所示,在力的加载速率为 4.0 nN/s 时,我们获

得大量这样的力-拉伸长度曲线, 通过高斯拟合得到芘和石墨之间 π - π 相互作用的强度约为 55 pN^[28].

引入 PEG 作为高分子柔性间隔基的原因, 一是它能够帮助我们判别所获得的信息是否来自单分子水平. PEG 单链拉伸已得到了充分的研究, 从所得到的力-拉伸长度曲线的形状及其拟合所得到的弹性系数和 Kuhn 长度, 人们就很容易判断是否已经实现单分子水平的拉伸实验. 二是它提供一种识别单分子力信号的“内标”. 由于选择的 PEG 具有特定的分子量, 可以估算其伸直长度, 在其伸直长度附近出现的力信号可能为待测的力信号. 三是避免 AFM 针尖与基底之间非特异相互作用的干扰. 如果非特异相互作用与待测的特异相互作用靠得很近, 测得的相互作用可能比实际的大. 高分子间隔基团的引入使得待测的特异相互作用远离非特异相互作用, 从而保证测量的准确度.

单分子力谱不仅可以获得相互作用的强度, 而且可以用来研究相互作用的动态行为. 我们在不同拉伸速率下进行了单分子力谱实验, 获得了不同力加载速率下的动态力学谱 (dynamic force spectroscopy), 如图 2(d) 所示. 在该加载速率的范围内, 动态力谱研究表明没有非常明显的速率依赖性, 这说明实验是在准平衡态下进行的, 此时所测量的脱附作用力等于吸附作用力. 利用类似的方法, 我们还可以研究各种不同共轭结构的分子和石墨之间的相互作用, 逐步建立 π - π 相互作用与共轭结构间的关联; 随着积累更多的相互作用的信息, 它可能用来指导基于 π - π 相互作用诱导的自组装.

2 分子自组装体系中的多价作用

多价作用系指构筑基元间多个位点同时相互作用, 其强度可以大于相应的各个位点相互作用的线性加和. 在分子自组装体系中, 多价作用广泛存在, 它可以兼顾可控性、选择性和方向性等特点, 可用来构筑稳定的功能自组装结构. 虽然单分子力谱可用来直接测量分子间相互作用力, 但为了确保多价作用直接测量的结果令人信服, 则需要设计分子自组装体系和精巧的单分子力谱探测相结合. 以研究 C_{60} 和卟啉间相互作用为例, 我们首先需要设计合成含有巯基的单臂和双臂卟啉衍生物, 如图 3 所示. 先在金基底上构建带有缺陷的

HS-(CH₂)₆-OH 自组装单层膜, 再将单臂卟啉 (PorSAc) 或双臂卟啉 (Por₂SAc) 修饰到自组装单层膜的缺陷中, 以实现单臂卟啉和双臂卟啉的分散. PorSAc 和 Por₂SAc 结构中巯基相连的乙酰基的引入, 目的是为了避免巯基可能的交联. 相应地, C_{60} 共价连接到 PEG 上, 再共价连接到 AFM 针尖上. 我们对比研究了 C_{60} 与单臂和双臂卟啉间的相互作用, 在力的加载速率为 5.0 nN/s 时, C_{60} 与双臂卟啉“镊子”的相互作用为 75 pN, 而 C_{60} 与单臂卟啉的相互作用为 29 pN. 因此, 双臂卟啉的“镊子”状结构能够增强其与 C_{60} 的分子间相互作用, 使得其相互作用力比单臂卟啉与 C_{60} 的分子间作用力的二倍还要大, 表明 C_{60} 与双臂卟啉之间存在多价相互作用^[29].

通过改变拉伸速率, 得到了 C_{60} 与单臂卟啉相互作用、 C_{60} 与双臂卟啉相互作用的动态力学谱, 如图 3(d) 所示. 动态力学谱表明断裂力值随力加载速率的增加而增大, 即相互作用具有速率依赖性, 这意味着实验是在非平衡态下进行的. 结合 Bell-Evans 理论模型对动态力学谱进行拟合, 我们可以估计在无外力时, 相互作用的解离速率. C_{60} 与双臂卟啉为 6.53 s⁻¹, 而与单臂卟啉为 42.7 s⁻¹; 势能曲线上能垒间的距离, 即相互作用的距离, C_{60} 与双臂卟啉为 0.20 nm, 而与单臂卟啉为 0.31 nm. 相比于 C_{60} 与单臂卟啉的相互作用, C_{60} 与双臂卟啉“镊子”的相互作用具有更小的解离常数以及更短的相互作用距离. 因此, 单分子力谱不仅可以用来直接测量多价作用, 而且可以根据其提供的定量信息, 加深对多价作用物理本质的认识.

类似的方法也可用来研究其他多价相互作用的体系, 如聚醚树枝状分子之间的相互作用. 我们在 AFM 针尖上通过 PEG 连接一代 (G1) 或二代 (G2) 的聚醚树枝状分子; 在金基底上修饰 G1 树枝状分子的自组装单层膜; 通过针尖和基底接近和分离的过程, 获得树枝状分子之间的相互作用信息, 如图 4(a) 所示. 研究表明, 树枝状分子之间的相互作用力随树枝代数的增大而增大. 如图 4(b) 和 4(c) 所示, 在力加载速率为 40 nN/s 时, 一代树枝状分子之间的相互作用为 235 pN; 而在相同速率范围内, 二代与一代树枝状分子之间的相互作用增大到 315 pN. 动态力学谱表明, 树枝状分子之间的相互作用力具有速率依赖性, 这说明脱附过程是非平衡的动态过程. 鉴于聚醚树枝状分

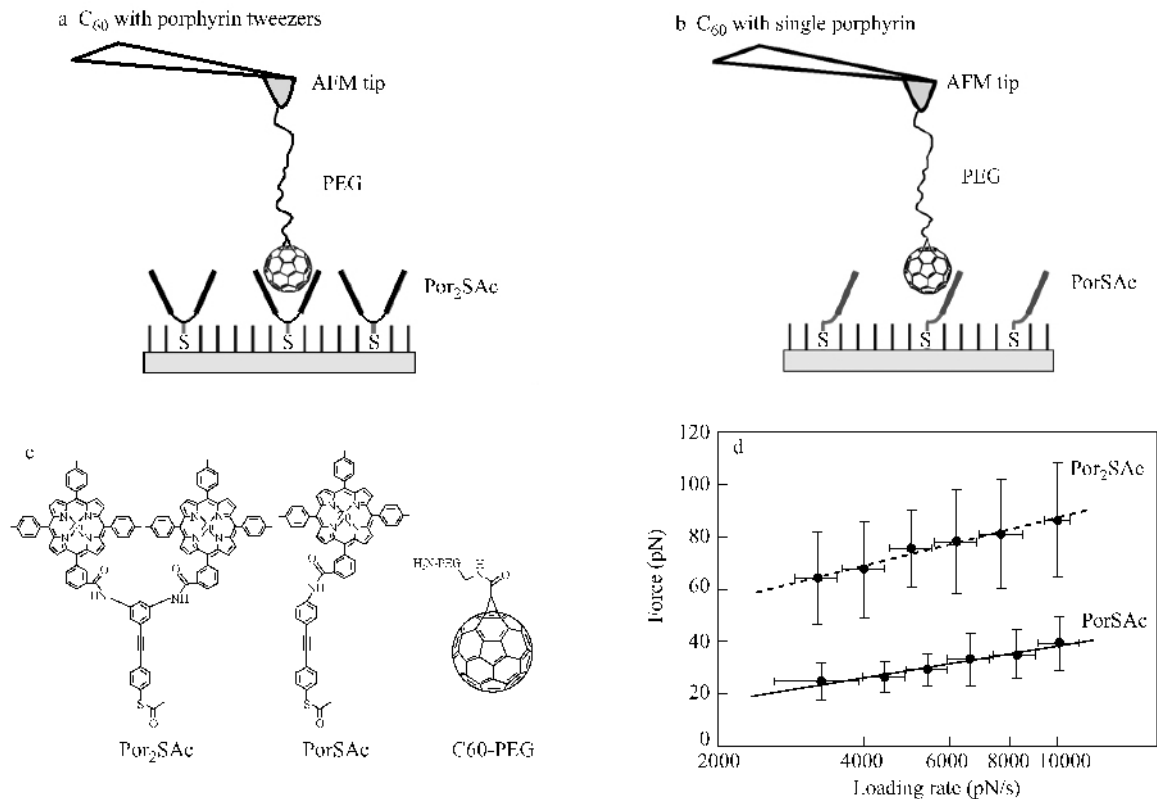


图 3 (a) Schematic setup for measuring the interaction between C₆₀ and a single porphyrin by SMFS. C₆₀ is connected to the AFM tip through a PEG chain, whereas PorSAC is immobilized with the defects of the HS—(CH₂)₆—OH self-assembled monolayer on a gold substrate; (b) Schematic setup for measuring the interaction between C₆₀ and porphyrin tweezers by SMFS. Por₂SAC is immobilized with respect to the defects of the HS—(CH₂)₆—OH self-assembled monolayer on a gold substrate; (c) Molecular structures of porphyrin tweezers derivative Por₂SAC, porphyrin derivative PorSAC, and C₆₀-PEG; (d) Plot of the most probable unbinding force between C₆₀ and porphyrin as a function of the corresponding loading rates on a logarithmic scale.

子的结构易于调控,而相互作用又具有代数依赖性,这可能是聚醚树枝状分子可以自组装形成丰富结构的根源;同时,它也可以用作“多臂”表面吸附的模型体系^[30]。

3 共轭小分子与 DNA 间的嵌入作用

小分子与 DNA 间有不同的相互作用方式,包括静电结合、沟槽结合及嵌入结合,以此影响基因的调控和表达。嵌入结合是指平面共轭的小分子嵌入到 DNA 双螺旋的碱基对之间,从而与 DNA 发生嵌入作用。吡啶及其衍生物是一种重要的嵌入分子,可用于抗癌和化学治疗。为实现吡啶与双链 DNA 嵌入作用的直接测量并认识其物理本质,我们利用单分子力谱的方法开展了相关的研究。如图 5(a)所示,将吡啶分子通过 PEG 链连接到 AFM 针尖上,双链 DNA 通过巯基固定在金片上,在力加载速率为 5.0 nN/s 时,单分子力谱实验表明最可几断裂力值为 36 pN。通过改变拉伸速率,

我们得到了吡啶与双链 DNA 之间的嵌入相互作用的动态力学谱,如图 5(b)所示。结果表明,嵌入作用具有速率依赖性,但有趣的是其动态力学谱具有两个斜率,意味着吡啶与双链 DNA 间的嵌入作用势能图有两个能垒,分别对应于长程和短程相互作用^[31]。

利用类似方法,可以使用不同的嵌入体小分子和不同序列的 DNA,研究嵌入因素的影响。初步研究表明,相比于吡啶与 DNA 的嵌入作用,茈分子与 DNA 之间的嵌入作用力更大。这可能意味着茈分子可以作为更灵敏的“力”探针分子,甚至可用来检测 DNA 的错配。

4 结语与展望

基于 AFM 的单分子力谱可用来直接测量分子间相互作用,包括 π - π 相互作用、多价作用及嵌入相互作用等,加深对其物理本质的认识;同时,这些分子间相互作用的定量信息有助于认识分子组装的推动力,为指导分子组装体系的设计和操

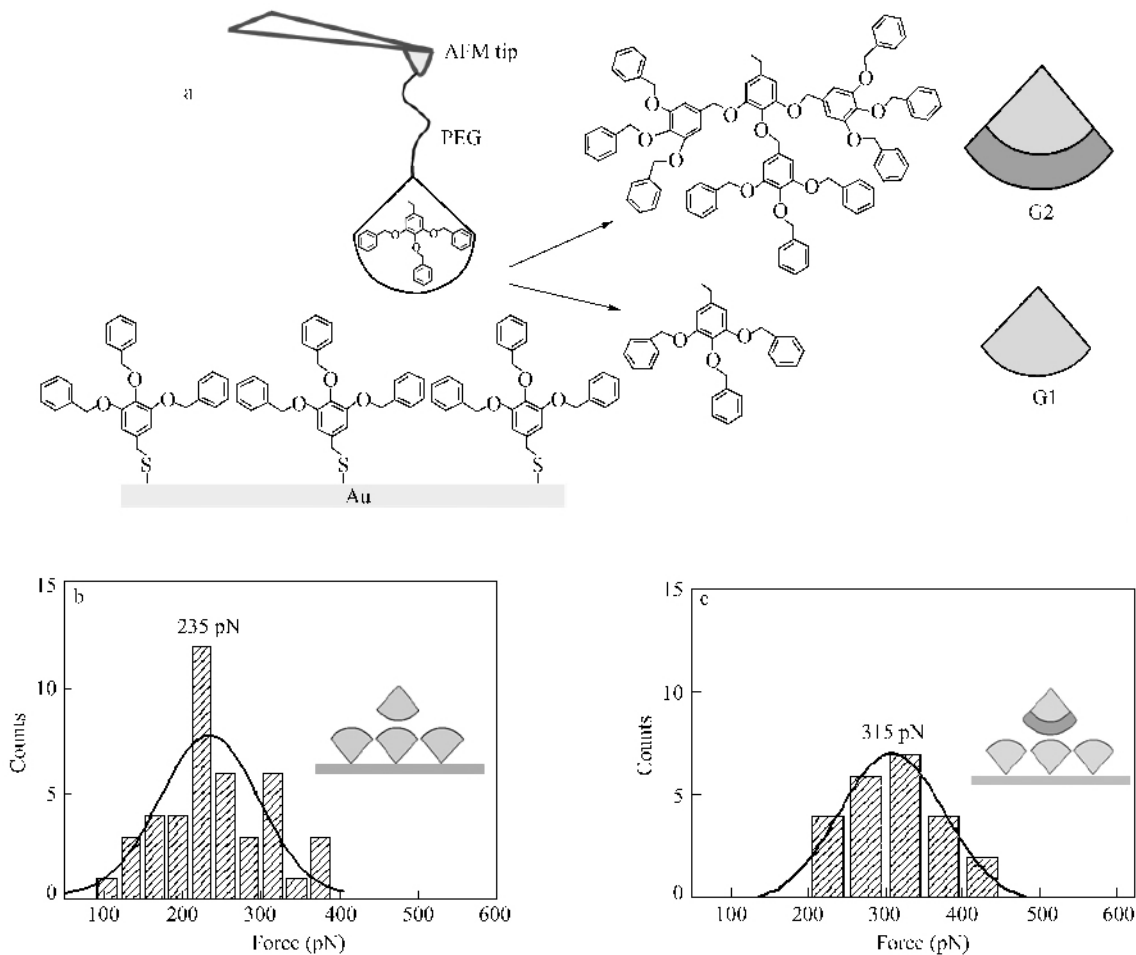


Fig. 4 (a) Schematic illustration of the force measurement between PEG-Gn ($n = 1, 2$) and the G1-SH monolayer using SMFS; (b) Histograms of the rupture forces between the PEG-G1 and G1-SH monolayers under a force loading rate of 40 nN/s; (c) Histograms of the rupture forces between the PEG-G2 and G1-SH monolayers under a force loading rate of 40 nN/s

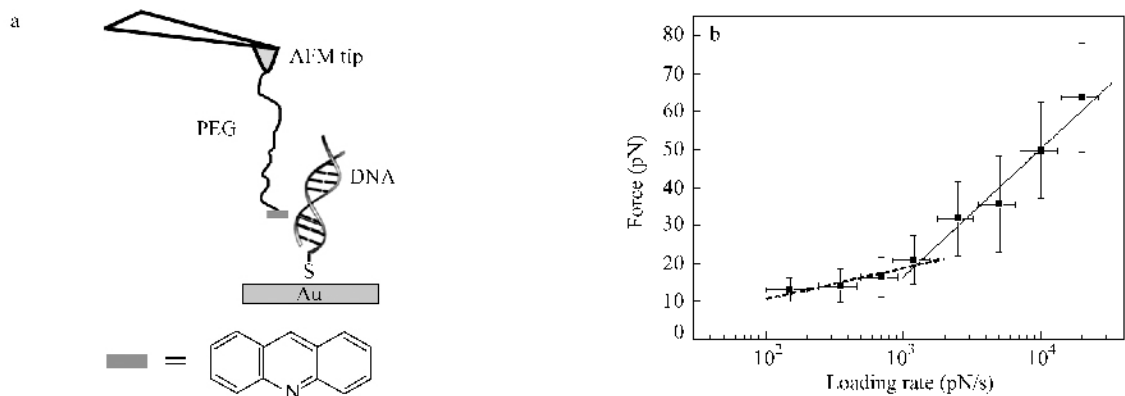


Fig. 5 (a) Schematic setup for measuring the intercalation interactions between acridine and double-stranded DNA (basic sequence 5'-HS-(CH₂)₆-ATC TTG ACT ATG TGG GTG CTA ACT C-3' and its complementary sequence 5'-GAG TTA GCA CCC ACA TAG TCA AGA T-3') using SMFS; (b) Plot of the most probable rupture force between acridine and double-stranded DNA as a function of the corresponding loading rate on a logarithmical scale

控提供依据.分子化学的理论基础在于共价键理论,而超分子化学的理论基础在于分子间键的理论.目前,超分子化学在实验方面发展得很快,而

理论研究远滞后于实验研究.因此,从长远看,开展分子间相互作用的理论与实验研究意义重大,因为它有助于发展和建立分子间键的理论.

REFERENCES

1 Zhang W K, Zhang X. *Prog Polym Sci*, 2003, 28: 1271 ~ 1295

2 Liu C J, Shi W Q, Cui S X, Wang Z Q, Zhang X. *Curr Opin Solid State & Mater Sci*, 2005, 9: 140 ~ 148

3 Zhang X, Liu C J, Wang Z Q. *Polymer*, 2008, 49: 3353 ~ 3361

4 Zhang W K, Wang C, Zhang X. *Chin Sci Bull*, 2003, 48: 1113 ~ 1126

5 Li H B, Zhang W K, Zhang X, Shen J C, Liu B B, Gao C X, Zou G T. *Macromol Rapid Commun*, 1998, 19: 609 ~ 611

6 Li H B, Liu B, Zhang X, Gao C X, Shen J C, Zou G T. *Langmuir*, 1999, 15: 2120 ~ 2124

7 Li H B, Zhang W K, Xu W Q, Zhang X. *Macromolecules*, 2000, 33: 465 ~ 469

8 Zhang W K, Zou S, Wang C, Zhang X. *J Phys Chem B*, 2000, 104: 10258 ~ 10264

9 Zhang W K, Xu Q B, Zou S, Li H B, Xu W Q, Zhang X, Shao Z Z, Kudera M, Gaub H. *Langmuir*, 2000, 16: 4305 ~ 4308

10 Shi W Q, Wang Z Q, Cui S X, Zhang X, Bo Z S. *Macromolecules*, 2005, 38: 861 ~ 866

11 Cui S X, Liu C J, Wang Z Q, Zhang X, Strandman S, Tenhu H. *Macromolecules*, 2004, 37: 946 ~ 953

12 Shi W Q, Zhang Y H, Liu C J, Wang Z Q, Zhang X, Zhang Y H, Chen Y M. *Polymer*, 2006, 47: 2499 ~ 2504

13 Shi W Q, Cui S X, Wang C, Wang L Y, Zhang X, Wang X J, Wang L. *Macromolecules*, 2004, 37: 1839 ~ 1842

14 Yu Y, Zhang Y H, Jiang Z H, Zhang X, Zhang H M, Wang X H. *Langmuir*, 2009, 25: 10002 ~ 10006

15 Shi W Q, Wang Z Q, Cui S X, Zhang X, Bo Z S. *Macromolecules*, 2005, 38: 861 ~ 866

16 Li H, Rief M, Oesterhelt F, Gaub H E, Zhang X, Shen J C. *Chem Phys Lett*, 1999, 305: 197 ~ 201

17 Xu Q B, Zou S, Zhang W K, Zhang X. *Macromol Rapid Commun*, 2001, 22: 1163 ~ 1167

18 Zhang L, Wang C, Cui S X, Wang Z Q, Zhang X. *Nano Lett*, 2003, 3: 1119 ~ 1124

19 Xu Q B, Zhang W K, Zhang X. *Macromolecules*, 2002, 35: 871 ~ 876

20 Liu C J, Wang Z Q, Zhang X. *Macromolecules*, 2006, 39: 3480 ~ 3483

21 Liu C J, Jiang Z H, Wang Z Q, Zhang X. *Polymer*, 2007, 48: 2030 ~ 2034

22 Zou S, Zhang W K, Zhang X, Jiang B Z. *Langmuir*, 2001, 17: 4799 ~ 4808

23 Wang C, Shi W Q, Zhang W K, Zhang X, Katsumoto Y, Ozaki Y. *Nano Lett*, 2002, 2: 1169 ~ 1172

24 Liu C J, Cui S X, Wang Z Q, Zhang X. *J Phys Chem B*, 2005, 109: 14807 ~ 14812

25 Cui S X, Liu C J, Zhang W K, Zhang X, Wu C. *Macromolecules*, 2003, 36: 3779 ~ 3782

26 Cui S X, Liu C J, Zhang X. *Nano Lett*, 2003, 3: 245 ~ 248

27 Zhang W K, Cui S X, Fu Y, Zhang X. *J Phys Chem B*, 2002, 106: 12705 ~ 12708

28 Zhang Y H, Liu C J, Shi W Q, Wang Z Q, Dai L M, Zhang X. *Langmuir*, 2007, 23: 7911 ~ 7915

29 Zhang Y H, Yu Y, Jiang Z H, Xu H P, Wang Z Q, Zhang X, Oda M, Ishizuka T, Jiang D L, Chi L F, Fuchs H. *Langmuir*, 2009, 25: 6627 ~ 6632

30 Shi W Q, Zhang Y H, Liu C J, Wang Z Q, Zhang X. *Langmuir*, 2008, 24: 1318 ~ 1323

31 Liu C J, Jiang Z H, Zhang Y H, Wang Z Q, Zhang X, Feng F D, Wang S. *Langmuir*, 2007, 23: 9140 ~ 9142

32 Shi W Q, Giannotti M I, Zhang X, Hempenius M, Schöhrer H, Vancso G J. *Angew Chem Int Ed*, 2007, 46: 8400 ~ 8404

DIRECT MEASUREMENTS OF INTERMOLECULAR INTERACTIONS

ZHANG Yiheng, WANG Zhiqiang, ZHANG Xi

(Key Lab of Organic Optoelectronics and Molecular Engineering, Department of Chemistry, Tsinghua University, Beijing 100084)

Abstract Atomic force spectroscopy (AFM)-based single-molecule force spectroscopy (SMFS) can serve as an important tool for studying intramolecular and intermolecular interactions at single-molecule level. On the basis of our recent work, this feature article is aimed to introduce how to combine the delicate SMFS with elegant self-assembly for direct measurements of different intermolecular interactions, including π - π interaction, multivalency and intercalation interaction. To realize the force measurement of single-molecule rupture, one of the interacting components needs to be covalently attached to AFM tip through a flexible polyethylene glycol (PEG) spacer, and the other component to the substrate surface. By the movement of piezo tube, the force-extension curve can be obtained. The introduction of PEG as a spacer provides a means for differentiating the force signal based on the extension length as well as for avoiding the disturbance of the non-specific interaction between the AFM tip and the substrate. In addition, with dynamic force spectroscopy, details about the kinetic of the unbinding and information concerning the length scale of the interaction can be extracted. Therefore, SMFS can investigate not only the intermolecular interactions directly, but also physical insight of the interactions, thus guiding molecular self-assembly.

Keywords Single-molecule force spectroscopy, Atomic force spectroscopy, Intermolecular interaction