

仿生智能单纳米通道的研究进展^{*}

侯旭¹ 江雷^{2,†}

(1 国家纳米科学中心 北京 100190)
(2 中国科学院化学研究所 北京 100190)

摘要 自然界的生命体经过亿万年的进化几乎完成了智能操纵的所有过程,向自然学习是智能新材料和新体系发展的永恒主题.生物学纳米通道,典型的如水通道和离子通道,在细胞的基本分子生物学过程中发挥着重要的作用.目前,仿生智能单纳米通道主要是从不同外场响应(pH 值、温度、离子等)来开展研究.文章主要结合作者所在课题组的最新研究进展,对受水通道和离子通道启发的仿生智能纳米通道系统的研究工作做一简要综述和展望.

关键词 水通道,离子通道,纳米通道,仿生,响应性

Recent studies of biomimetic smart single nanochannels

HOU Xu¹ JIANG Lei^{2,†}

(1 National Center for Nanoscience and Technology, Beijing 100190, China)
(2 Institute of Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China)

Abstract Through millions of years of evolution, life has undergone almost all the processes of intelligent control. Learning from nature is the eternal theme of the development of novel smart materials and new intelligent systems. Biological nanochannels, for example, water channels and ion channels, play a very important role in basic cellular molecular biological processes. Various biomimetic smart single nanochannels which can respond to external stimuli (pH, temperature, ions, etc.) are currently being studied. We report our latest research inspired by water and ion channels, and also present an overview of this research field.

Keywords water channel, Ion channel, Nanochannel, Biomimetic, Responsiveness

1 引言

自然界的生物体中存在着各种各样的纳米孔道,它们为生命活动的正常进行发挥着各自独特的作用,例如水通道和离子通道进行选择性的分子和离子输运^[1,2].利用纳米技术、分子生物学、界面化学、统计物理等综合方法研究和开发仿生纳米孔道系统,将发展出一类具有重要基础研究价值和应用前景的仿生智能响应性纳米孔道材料.纳米孔道可以分为纳米孔(nanopore 或 nanohole)和纳米通道(nanochannel 或 nanotube)两种.纳米孔一般是指孔径在1—100nm,并且孔径大于其自身长度的孔道,而对于孔的长度远大于孔径的孔道,一般称为纳

米通道.目前国际上已广泛开展了人工纳米孔道的加工及其应用探索的研究.例如,哈佛大学利用离子束刻蚀的方法加工了具有最小直径(2nm)的固体纳米孔,并把它用于DNA分子的检测^[3].波兰和德国科学家研究了非对称人工固体纳米孔道的离子输运性质,发现类似于半导体二极管的整流效应^[4].尽管国际学术界在纳米孔道加工及其相关应用等领域已经取得了多方面的成果^[5-7],但对仿生纳米孔道智能化的研究目前尚处于起步阶段.

^{*} 国家重点基础研究发展计划(批准号:2011CB935703; 2010CB934700;2009CB930404;2007CB936403)、国家自然科学基金(批准号:20974113;20920102036)资助项目
2010-08-24 收到

[†] 通讯联系人. Email:jianglei@iccas.ac.cn

近两年来,这一研究领域得到了飞速发展,设计和开发修饰有智能响应性分子的仿生纳米孔道,不仅可以实现孔道孔径大小智能响应外场的可控性,而且还可能通过对不同外场响应性分子的选择和设计,实现 pH 值^[8]、温度^[9]、特定离子^[10]等多外场协同作用的智能响应.这一方面为研究和模仿生物体中的水通道和离子通道的开关、输运等^[11]提供了一种新方法,在生命科学研究中具有重要的意义;另一方面,也为设计和开发仿生智能响应性纳米器件^[12]提供了一种全新的设计思路.本文将主要结合我们课题组的研究工作进展,对受水通道和离子通道启发的仿生智能纳米通道的研究做一简要综述.

2 生物孔道

生物学纳米孔道,典型的如水通道(water channel)^[1]和离子通道(ion channel)^[2]等(见图1),在细胞的物质交换、信号传递、能量转换、以及系统功能调控等基本分子生物学过程中发挥着重要的作用.天然的生物纳米孔道是膜蛋白质分子或蛋白复合物,其孔道内半径大约在几个纳米以内.很多膜蛋白孔道具有可开关的功能,它们在细胞中构成了系统生物学回路的关键控制节点,如同“二极管和三极管”在微电子集成电路中所起的核心作用.

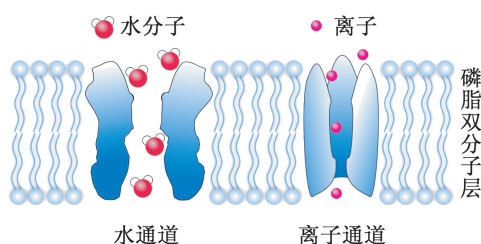


图1 生物体细胞膜中的水通道和离子通道示意图

水分子可以通过简单扩散穿过脂质双层膜,但大量水分子的流动被一种通道机制所主导,即水通道机制^[13].水通道蛋白是存在于动物、植物和微生物中的一组小分子疏水性跨膜蛋白,它们的分子构型受到外场刺激后会发生改变,从而调控水分子在水通道中通过.水通道是水分子进出细胞的关口,在许多生理过程涉及体液的流动时发挥着极为重要的作用,如出汗、排尿及流泪等.离子通道也是细胞膜上存在着的一些跨膜蛋白,在这些蛋白的中央有供某些离子穿过的孔道^[2].离子通道由细胞产生的特殊蛋白质构成,它们聚集起来并镶嵌在细胞膜上,中间形成水分子占据的孔隙,这些孔隙就是水溶性物质快速进出细胞的通道.离子通道的活性是指细胞

通过离子通道的开启和关闭来调节相应物质进出细胞速度的能力,对实现细胞各种功能具有重要意义.

细胞所处的环境因素(水分、化学分子、温度、光)时刻发生着变化,因此它必须“学会”如何区分外场刺激的种类、强度、持续时间等,并作出相应的响应,从而才能在复杂多变的环境中生存.细胞膜上水通道和离子通道的多样性及其调控机制的复杂性,为细胞应对这些变化奠定了物质基础^[14].

组成水通道和离子通道的许多纳米孔道膜蛋白在特定的状态下可以形成特定的空间构型.其中的一些构型允许孔道导通某些特定的分子和离子,而其他一些分子或离子则被限制通过.各种特定状态下构型的改变通常被称作“门控”.纳米门控装置很有可能在材料科学领域发挥巨大的作用,产生较大的应用价值.然而,蛋白类纳米孔道的门控只能在脂质膜中发挥作用,而纳米器件系统却很难建立在脂质膜环境中,因此很难满足应用上的要求.这无疑迫切需要人们寻找一种选择性的人工纳米孔道开关来满足这一要求.

3 响应性仿生纳米孔道的设计与制备

由于生物孔道稳定性限制,人工纳米孔道材料的设计和开发越来越受到人们的广泛关注.与生物材料相比,人工纳米孔道材料不仅具有稳定的物理性质,而且具有形状和表面化学组成的可控性,这就为设计和开发智能纳米孔道系统提供了很好的研究平台.目前,纳米孔道材料分为纳米孔材料和纳米通道材料.这一方面由于纳米通道较纳米孔具有较大的长径比,从而可以为纳米孔道的智能化提供更多的思路;另一方面,纳米孔制备中孔径的精确控制要比纳米通道有一定的技术优势.

一般认为,单纳米孔道的相关研究可以为基础科学研究提供很好的平台,因为与多孔道相比,它不需要考虑多孔道的平均孔径效应的影响,能较为直接观察孔道性质的改变.而对于多纳米孔道的研究,如果能很好地实现孔道均一性的制备,它将在实用化大面积应用方面具有潜在的优势^[11].

一般来说,制备纳米孔道的材料包括生物材料、无机材料、有机材料和复合材料.其中,生物材料^[15]由于脂质膜的稳定性而受到一定的应用限制;无机材料,如氮化硅材料制备的单纳米孔,在DNA测序领域受到了广泛的关注^[16];有机材料,如高分子薄膜 Polyethylene terephthalate (PET) 和 Polyimide

(PI)等^[4,17],能通过重离子轰击加径迹化学刻蚀(track etching technique)方法制备出不同形貌的纳米通道材料(见图2);复合材料是基于生物材料、无机材料和有机材料的结合,利用其各自的优势来构筑各种纳米孔道系统。

目前,我们课题组对仿生纳米孔道的研究主要是基于重离子轰击加径迹化学刻蚀的方法(见图2)。这种制备技术是基于高能重离子对薄膜的辐照后每平方厘米面积上能产生 $1-10^{12}$ 个孔。辐照后的损伤区域形成了几个纳米尺度上的笔直的径迹,利用能量足够高的重离子可以产生很大的长度孔径比(10^4)。这种辐照后的薄膜成为制造非常小的纳米孔道的起点。通过对损伤的高能离子轨迹区域进行有选择的化学刻蚀(图2以PET薄膜为例,采用NaOH作为刻蚀溶液,可选择甲酸作阻止溶液),保证其他区域基本不受影响,从而制备出孔径可控的纳米通道。纳米通道的孔密度取决于入射辐照离子的数量。通过选择适当的刻蚀液、温度和刻蚀时间,制作出来的纳米通道的孔径可以控制在几纳米到数微米范围内。而且,化学刻蚀条件也决定了纳米通道的具体形状。例如,通过单面刻蚀(即只从一边开始刻蚀,而另一边加入刻蚀液的阻止溶液)可以得到锥形的非对称结构。图2中的原子力电镜图就是锥形通道的大孔端面图。

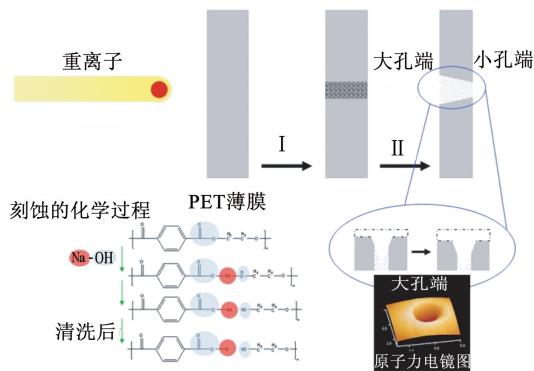


图2 聚合物薄膜纳米通道的制备过程示意图(过程I为重离子轰击薄膜,过程II为选择性刻蚀)

我们认为,纳米孔道的智能化设计有两个关键因素,一个是孔道形状的控制,另一个是如何改变孔道内表面的化学组成^[12]。一旦纳米孔道被制备好,就不容易再在大尺度范围内改变其形状,所以我们目前主要的工作是通过纳米孔道内表面的功能化来实现仿生智能纳米通道的开发。图3展示了微纳米通道中通过修饰不同外场响应的智能分子来实现微纳米孔道的外场响应性物质输运调控,如pH值、温

度、离子调控的智能纳米孔道系统^[18]。

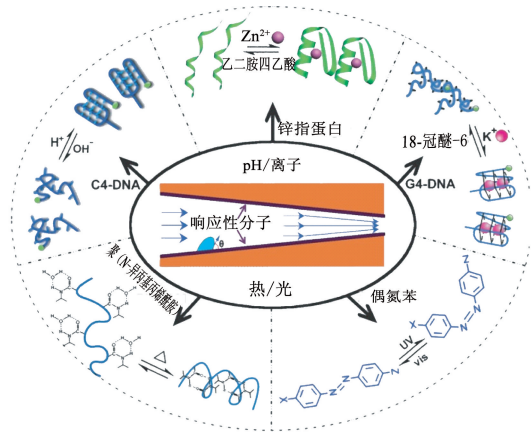


图3 智能微纳米通道系统示意图^[18]

3.1 pH 响应单纳米通道

利用非对称化学刻蚀方法制备PET聚合物薄膜锥形纳米通道,其通道内部会由于聚合链的断裂而产生羧酸基团。羧酸基团的去质子化由溶液的pH值来控制,从而决定纳米孔道内部的电荷密度改变。综合纳米结构非对称性和内表面电荷密度的改变,在纳米尺度下,德拜(Debye)长度和孔径可以相比拟,离子通过纳米通道与通道的内表面静电荷发生很强的相互作用,对离子输运特性产生巨大的影响,从而实现了pH值调控的纳米通道系统。通道两端的电解质溶液在相同的浓度和pH值条件下,形状不对称的纳米通道出现整流离子电流,通常以不对称的电流-电压($I-V$)曲线(或称为整流效应,即在某一电压下电流的记录值高于与其等绝对值的反向电压下电流的记录值)作为其标志。这种类似二极管整流效应的 $I-V$ 曲线说明,上述体系中存在离子流通优先选择的现象^[19]。图4(a)的 $I-V$ 曲线表明,锥形纳米通道能通过pH值的改变带来明显的离子输运性质的改变,其离子整流效应随pH值的增加而增加(见图4(b))^[20]。

2007年,我们课题组构建了以核酸分子马达为基础的熵驱动超亲水/超疏水智能界面^[21]。通过在固体表面修饰一端引入疏水基团的核酸纳米马达,结合表面粗糙度控制手段,并利用马达的运动,实现了表面浸润性智能响应。在前期利用DNA纳米技术构筑智能表面DNA功能分子器件^[22,23]以及纳米孔道体系内电解质流体输运行为的理论与实验基础上^[24],我们于2008年开发了仿生智能响应的人工离子通道系统,实现了通过生物分子的构象变化来控制合成通道体系的开关功能^[8]。首先在单个高能重离子轰击的高分子材料的基底上,制备出尖端只有几纳米到几十

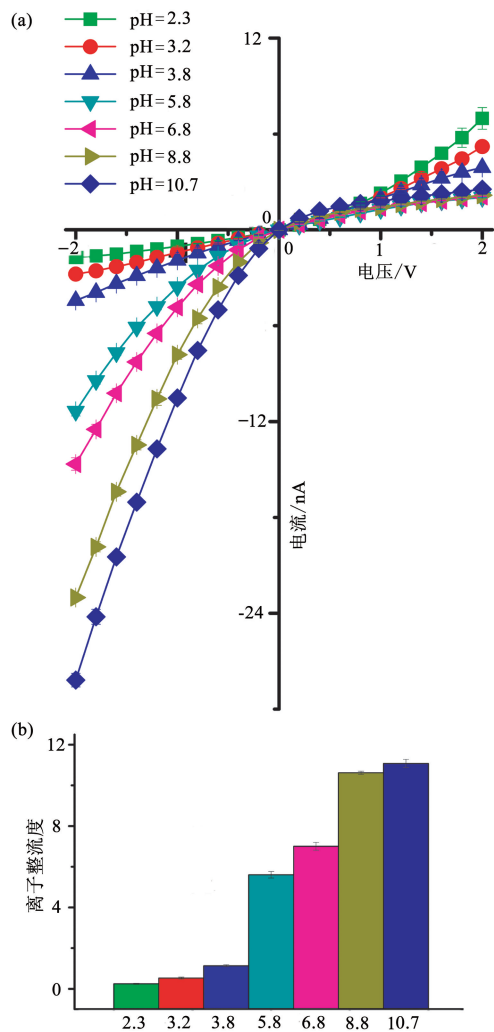


图4 在不同 pH 值条件下,锥形单纳米通道的离子输运性质 (a) 电流—电压 ($I-V$) 曲线; (b) 离子整流效应^[20] (横坐标的数值代表相应的 pH 值, 纵坐标离子整流度的值是在测试电压为 2V 时得到的)

纳米的圆锥形单纳米通道. 然后将具有质子响应性的功能 DNA 分子马达接枝在纳米通道内表面, 通过改变环境溶液的 pH 值, 使 DNA 分子马达发生构型变化, 从而来完成通道的开启和关闭 (见图 5(a) — (d)). 图 5(e) 和 5(f) 分别是响应性 DNA 修饰前和修饰后单纳米通道在不同 pH 值条件下离子输运的 $I-V$ 曲线. 显然, 修饰之后, pH 值的改变使通道的离子输运性质的变化得到了明显的增强. 这种新型的仿生离子通道体系弥补了生物离子通道的不足, 可以很容易地与其他微纳米器件结合, 组成更为复杂和多功能化的复合型纳米器件. 这不仅为新一代仿生智能纳米器件的设计和制备提供了一种新的方法和思路, 同时也为设计用于生物分子筛选和淡水过滤的选择性滤膜提供了重要的参考依据.

2009 年, Azzaroni 和 Ali 等人^[25,26] 报道了一系

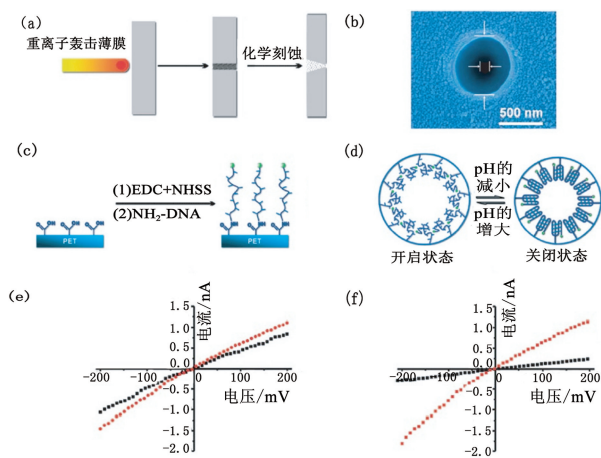


图5 pH 值响应仿生单纳米通道 (a) 单纳米通道的制备示意图; (b) 单纳米通道大孔端电镜图; (c) 溶液法修饰单纳米通道的内表面 (其中 (1) 为化学反应的实验试剂缩写, (2) 为修饰的 DNA 分子); (d) 仿生纳米通道示意图; (e) 响应性 DNA 修饰前, 单纳米通道的 $I-V$ 曲线; (f) 响应性 DNA 修饰后, 单纳米通道的 $I-V$ 曲线^[8]

列基于聚合物单纳米通道修饰 pH 响应性分子的仿生纳米通道系统. 他们通过对称或非对称结构的单纳米通道中修饰具有两性 (酸性与碱性) 的聚合物刷或小分子, 成功实现了 pH 响应性离子输运调控, 包括对纳米通道中离子输运的开关^[25] 和离子整流效应的反转^[26]. 2010 年, 我们通过对称纳米通道中引入非对称化学修饰的思路, 制备了同时具有 pH 开关和离子整流效应的仿生单纳米通道器件^[11]. 首先制备出双锥形单纳米通道, 然后采用等离子非对称化学修饰的方法, 在对称的双锥单纳米通道的一侧修饰 pH 响应性分子 (见图 6(a)). 从图 6(b) 可以看出, 修饰前, 纳米通道的离子输运性质呈线性关系, 不具有整流效应, 同时在不同的 pH 值条件下, 离子输运性质基本相同. 而在非对称修饰之后, 纳米通道出现了明显的整流效应, 同时, 在不同的 pH 值条件下, 离子输运在低于修饰的 pH 响应性分子的等电点出现明显关闭, 而在高于等电点时则打开 (见图 6(c)).

3.2 温度响应单纳米通道

2009 年, Azzaroni 等人^[27] 报道了温度响应仿生单纳米通道的研究, 通过在单纳米通道内表面修饰温度响应性聚合物, 并利用聚合物在其低临界共溶温度 (LCST) 附近的构型变化, 实现了温度对通道内离子输运性质的响应性调控. 2010 年, 我们报道了在聚合物单纳米通道内表面首先无电沉积了一层金^[28], 然后通过具有硫醇官能团的温度响应性聚合物分子在金表面自组装修饰 (见图 7(a)), 同样可实现温度对通

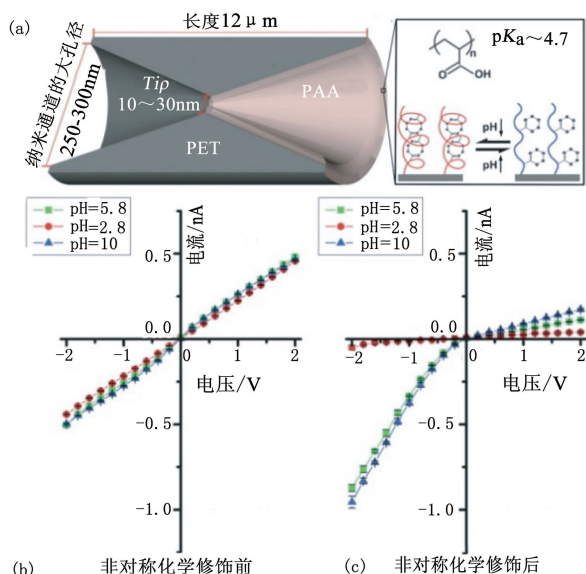


图6 非对称化学修饰实现 pH 门控离子运输的单纳米通道器件 (a) 对称纳米通道经非对称修饰后的结构示意图(图中 Tip 是指纳米通道的中间狭窄处, PAA 为聚丙烯酸, 是一种 pH 响应性分子, $\text{pK}_a = -\log K_a$, K_a 为酸性物质电离平衡常数); (b) 修饰前, 纳米通道的 $I-V$ 曲线; (c) 修饰后, 纳米通道的 $I-V$ 曲线^[12]

3.3 离子响应单纳米通道

2006 年, Siwy 等人^[29]报道了非对称锥形 PET 聚合物单纳米通道由钙诱导的电压门控的性质, 他

们发现,在低于毫摩尔钙离子浓度下,通道将出现依赖电压的离子电流波动^[30]. 2008年, Powell 和 Siwy 等人给出了这种通过增加少量二价金属离子带来的离子电流响应性震荡现象的全新解释,他们认为,这是由于在纳米通道内纳米沉积物的形成和再溶解的转变导致了这种响应性震荡现象^[31].

2009 年,我们设计和开发了钾离子响应的仿生纳米通道系统(见图 8(a))^[10].通过对人端粒 DNA 序列进行研究(端粒是染色体末端的 DNA 重复序列,作用是保持染色体的完整性.细胞分裂一次,DNA 每次复制端粒就缩短一点.一旦端粒消耗殆尽,染色体则易于突变而导致动脉硬化和某些癌症.因为对端粒酶的研究,美国科学家获得了 2009 年诺贝尔生理学或医学奖),利用其特有的离子响应性构型转变带来的体积和空间电荷密度分布的改变,设计了特殊的 DNA 序列,其中包括响应功能段、结构段和化学修饰功能基团.在修饰响应性 DNA 之前,纳米通道的离子输运性质呈线性关系,即随着钾离子浓度的增加,离子电流增大.而在修饰后,钾离子浓度在 0—1.5mmol 范围内出现了明显的非线性离子输运特性,当加入与修饰 DNA 互补序列的 DNA 分子后,因为形成的互补链结构比钾离子响应性结构更加稳定,所以离子输运性质又呈线性变化(见图 8(b)).这种 DNA—纳米通道系统为生物传感器提供了一种全新的思路,不同于生物分子穿孔实验研究方法.我们可以通过设计和构筑生物分子测试段和结构段,并且固定结构段与纳米通道,来更好地模拟和开展生物分子在限域空间的分子构型转变的研究.

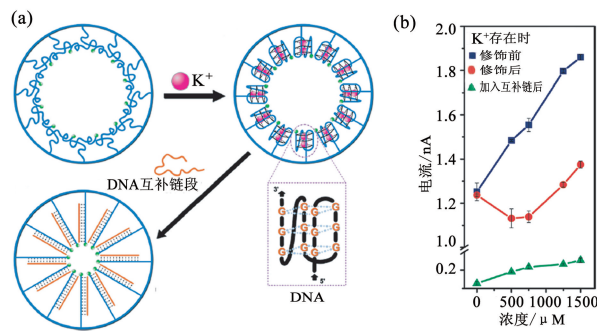


图8 钾离子响应单纳米通道 (a) 仿生纳米通道响应性示意图; (b) 离子电流随钾离子浓度的变化曲线^[10]

2010年,我们进一步开展了更加复杂的离子响应性生物分子的研究.把锌指蛋白修饰在单纳米通道上(见图9(a)),通过对不同孔径(见图9(b))和不同金属离子的响应性对比研究(见图9(c)),成功地制备了锌激活的仿生离子通道^[32].

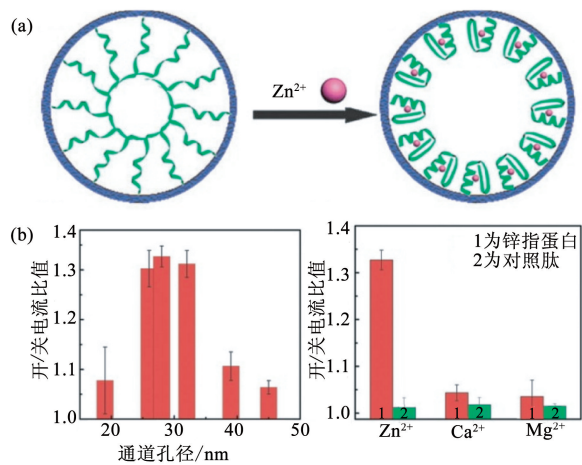


图9 锌离子响应单纳米通道 (a) 仿生纳米通道响应性示意图；(b) 离子整流效应与纳米通道孔径关系图；(c) 不同金属离子的离子整流效应关系图^[32]

4 仿生纳米孔道的潜在应用

目前,开发智能纳米通道在生物传感、纳流体装置等方面都有潜在应用前景.其中基于纳米通道的生物传感器具有其独特优势,目前已得到了迅速发展(见图10)^[11].例如,单纳米孔道的DNA测序^[33],对生物分子如特殊蛋白质的检查^[34],限域空间内分子构型转变的研究^[10].

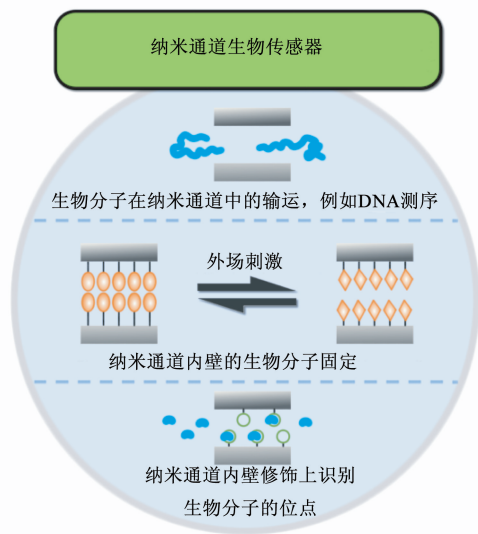


图10 纳米通道在生物传感器中的应用^[11]

基于纳米通道在纳流体装置内的开发,Dekker和王宇钢课题组报道了压力驱动发电的纳米孔道流体装置^[35,36].我们受到电鳗发电的启发,应用浓度梯度的驱动发电机制,设计了能量收集单纳米通道装置(见图11)^[37].最近,受到生物中光电转换的启发,我们利用制备的仿生响应性多纳米通道,构建了

人工光电转化系统(见图12)^[38].

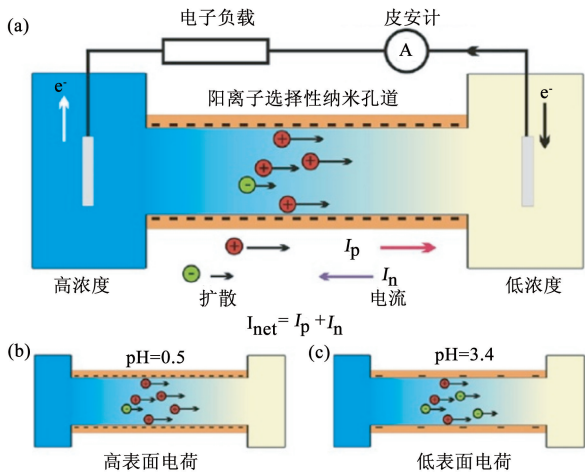


图11 浓度梯度驱动优先离子在离子选择性单纳米通道中的扩散 (a) 净扩散电流的产生;(b) 高表面电荷(阳离子为主要扩散离子,导致高的净扩散电流);(c) 低表面电荷(阳离子和阴离子基本相同,导致低的净扩散电流)^[37]

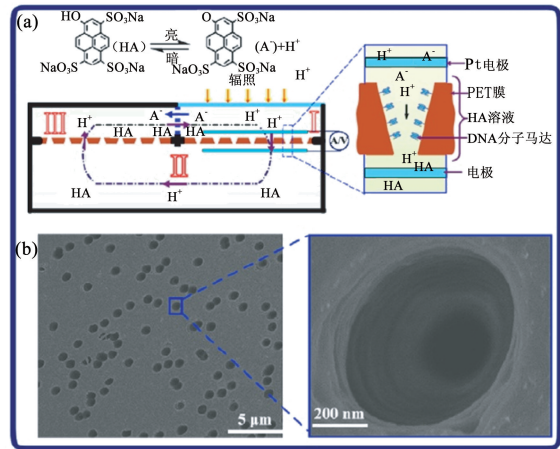


图12 光电转换系统示意图 (a) 系统电解池由三部分组成,其中只有第一部分接受光照;(b) 多纳米通道的大孔端面电镜图^[38]

5 结论与展望

学习自然,构筑受生物启发的仿生智能人工纳米孔道面临着许多挑战:如何提高通道的稳定性和均一性^[11];如何开发更多不同外场响应(如光^[39]、磁、声波等)的纳米孔道系统;如何设计多响应性系统,实现对称或非对称响应性的调控.我们提出了利用受生物启发的概念来指导设计和制备新型纳米孔道.一方面,通过制备不同形貌的纳米孔道,并采用不同化学修饰方法来实现对称或非对称纳米尺度的功能化^[40];另一方面,通过设计更加复杂的功能分子,实现更加精确的孔道响应性控制.我们相信,仿生智能纳米孔道的飞速发展将为模仿生命体中离子

输运的过程提供很好的体外平台. 仿生纳米孔道系统不仅可以用来研究生物分子的化学性质和结构大小,并且可以提供一种潜在而方便的方法来实现限域空间生物分子的构型检测.同时,也为纳流装置的研究,如能源收集和转换的器件开发,带来了巨大的潜在应用价值.

参考文献

- [1] 隋海心, 任罡. 化学进展, 2004,16:145[Sui H X, Ren G. Progress in Chemistry, 2004,16:145]
- [2] Hille B. Ion Channels of Excitable Membranes. Sunderland MA: Sinauer Associates, 2001
- [3] Branton D *et al.* Nat. Biotechnol. ,2008,26:1146
- [4] Siwy Z *et al.* Nucl. Instrum. Meth. B,2003,208:143
- [5] Hou X, Guo W, Jiang L. Chem. Soc. Rev. ,2011,40:2385
- [6] Griffiths J. Anal. Chem. ,2008,80:23
- [7] Gyurcsanyi R E. Trends Anal. Chem. ,2008,27:627
- [8] Xia F *et al.* J. Am. Chem. Soc. ,2008,130:8345
- [9] Guo W *et al.* Chem. Phys. Chem. ,2010,11:859
- [10] Hou X *et al.* J. Am. Chem. Soc. ,2009,131:7800
- [11] Hou X, Jiang L. ACS Nano. ,2009,3:3339
- [12] Hou X *et al.* Adv. Mater. ,2010,22:2440
- [13] 张乐颖等. 中国畜牧兽医, 2008,35:40[Zhang L Y *et al.* China Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2008,35:40]
- [14] 李俊敏, 刘朝晖, 尚忠林. 河北师范大学学报(自然科学版), 2005,29:519[Li J M, Liu Z H, Shang Z L. Journal of Hebei Normal University (Natural Science), 2005,29:519]
- [15] Sisson A L *et al.* Chem. Soc. Rev. ,2006,35:1269
- [16] Dekker C. Nat. Nanotechnol. ,2007,2:209
- [17] Vlasiouk I, Siwy Z S. Nano Lett. ,2007,7:552
- [18] Wen L P *et al.* Adv. Mater. ,2010,22:1021
- [19] Siwy Z S. Adv. Funct. Mater. ,2006,16:735
- [20] Hou X *et al.* Small, 2010,6:361
- [21] Wang S T *et al.* Angew. Chem. Int. Edit. ,2007,46:3915
- [22] Mao Y D *et al.* Nucleic Acids Res. ,2004,32:9
- [23] Mao Y D *et al.* Nat. Nanotechnol. ,2007,2:366
- [24] Liu Q *et al.* Phys. Rev. E, 2007,75:051201
- [25] Yameen B *et al.* Nano Lett. ,2009,9:2788
- [26] Yameen B *et al.* J. Am. Chem. Soc. ,2009,131:2070
- [27] Yameen B *et al.* Small, 2009,5:1287
- [28] Nishizawa M, Menon V P, Martin C R. Science, 1995,268:700
- [29] Siwy Z S *et al.* Nano Lett. ,2006,6:1729
- [30] Siwy Z S *et al.* Nano Lett. ,2006,6:473
- [31] Powell M R *et al.* Nat. Nanotechnol. ,2008,3:51
- [32] Tian Y *et al.* Chem. Commun. ,2010,46:1682
- [33] Mara A *et al.* Nano Lett. ,2004,4:497
- [34] Siwy Z S *et al.* J. Am. Chem. Soc. ,2005,127:5000
- [35] van der Heyden *et al.* Nano Lett. ,2007,7:1022
- [36] Xie Y B *et al.* Appl. Phys. Lett. ,2008,93:163116
- [37] Guo W *et al.* Adv. Funct. Mater. ,2010,20:1339
- [38] Wen L P *et al.* Adv. Funct. Mater. ,2010,20:2636
- [39] Wang G L *et al.* J. Am. Chem. Soc. ,2006,128:13553
- [40] Hou X *et al.* J. Am. Chem. Soc. ,2010,132:11736