

硫酸钠诱导单链聚(N-异丙基丙烯酰胺)相变的单分子力谱研究

薛玉瑞 张文科*

(吉林大学化学学院 超分子结构与材料国家重点实验室 长春 130012)

摘要 聚(N-异丙基丙烯酰胺) (PNIPAM)具有独特的相变行为,已成为人们研究蛋白质折叠等生命过程发生机理的模型体系.我们利用基于原子力显微镜(AFM)的单分子力谱技术(SMFS)研究了单链 PNIPAM 在硫酸钠诱导下的相变过程,并量化了相变后所形成塌缩结构的稳定性.通过对单链 PNIPAM 的单分子力谱实验得知:在相变前,得到单调上升的力曲线,对应着 PNIPAM 无规线团结构的形变过程;相变后,得到的锯齿型力曲线,对应着 PNIPAM 塌缩结构在外力诱导下的解折叠过程.首次从单分子水平观察到在外加盐的作用下,单链 PNIPAM 低温相转变和高温相转变的差异:相比于低温相转变,高温相转变生成的塌缩结构更加稳定.

关键词 原子力显微镜;单分子力谱;聚(N-异丙基丙烯酰胺);低临界溶解温度;盐效应

Single Molecule Force Spectroscopy Investigation on Na₂SO₄-induced Conformational Transition of Single PNIPAM Chains

Xue, Yurui Zhang, Wenke*

(State Key Laboratory of Supramolecular Structure and Materials, College of Chemistry, Jilin University, Changchun 130012)

Abstract In this study, the sodium sulfate (Na₂SO₄)-induced conformational transition of a single PNIPAM chain, a model system for the investigation of protein folding, was studied by using atomic force microscopy (AFM) based single-molecule force spectroscopy (SMFS). Before the SMFS experiments, thermal-responsive poly(N-isopropylacrylamide) (PNIPAM) molecules were attached individually onto gold surfaces for SMFS experiments. By covalently grafting sulfhydryl-functionalized PNIPAM into the isolated defects of freshly prepared self-assembled monolayers (SAMs) of dithiothreitol (DTT) on gold substrates, the grafting density of PNIPAM molecules could be conveniently controlled and the substrate-induced conformational changes have also been prevented effectively. During the SMFS experiments, the AFM tip was gently brought in contact with the sample surfaces during which part of the polymer chain was adsorbed onto the tip surface, forming a connective bridge in-between. And then, the grabbed polymer chain has been manipulated repeatedly under different extension length until the molecule detached from the AFM tip. Characteristic smooth- and sawtooth-pattern force curves were obtained before and after the conformational transition of a single PNIPAM chain, respectively. It was demonstrated that the smooth-pattern force curves corresponded to the pulling of the random coiled structure of single PNIPAM chains, while the sawtooth-pattern force curves corresponded to the unraveling of the collapsed globule structure. Besides, a consecutive two-step collapsing process (low- and high-temperature collapsing step) of the conformational transition of a single PNIPAM chain was detected, for the first time, in our SMFS experiments. It was found that more compact collapsed structures formed in the high-temperature collapsing step, which may due to the cooperative effect of the weakening of hydrogen bonding (between PNIPAM chains and water molecules) and increasing of hydrophobic interaction of the polymer chains. Our results show that AFM-based SMFS is a powerful method that complementary to other ensemble measurements in the determination of conformation transition of thermal-responsive polymers.

Keywords atomic force microscopy; single molecule force spectroscopy; poly(N-isopropylacrylamide) (PNIPAM); Lower Critical Solution Temperature (LCST); salt effect

1 引言

刺激响应型高分子作为一种典型的智能材料,其自身各种性质会因外界环境中微小的化学或物理变化引起的刺激而发生明显的改变,在材料科学、医药工程、组织工程等领域都有着广阔的应用前景^[1-4].聚(N-异丙

基丙烯酰胺) (PNIPAM)是一种典型的水溶性温敏型高分子,其分子链上同时具有亲水基团(酰胺基)和疏水基团(异丙基),在水溶液中表现出低临界溶解温度(Lower Critical Solution Temperature, LCST)^[5].当外界温度低于 LCST 时,溶剂为良溶剂,PNIPAM 高分子链以伸展的无

* E-mail: zhangwk@jlu.edu.cn; Tel: 0431-85159203; Fax: 0431-85193421

Received December 28, 2013; published January 22, 2014.

Supporting information for this article is available free of charge via the Internet at <http://sioc-journal.cn>.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 20640420622, 91127031, 21221063).

项目受国家自然科学基金(Nos. 20640420622, 91127031, 21221063)资助.

规线团状态存在;当外界温度高于 LCST 时,溶剂变为不良溶剂, PNIPAM 高分子链的水合作用发生变化从而引起无规线团-塌缩球转变,并最终塌缩球状态存在. PNIPAM 的 LCST 与溶剂性质密切相关. 比如温度效应^[6-12]、盐效应^[13-15]和混合溶剂效应^[12,16-20]等都能引起 PNIPAM 分子 LCST 的显著变化. 这种无规线团-塌缩球转变行为是高分子科学和生命科学中都存在的重要问题,研究相转变的本质及动态过程,对于揭示蛋白质折叠等生命过程的发生机理具有重要意义^[21,22].

在分子构象转变过程中,单个高分子链的一级结构、单链弹性以及分子内分子间相互作用力都起着重要的作用. 然而传统的研究方法只是给出大量分子共同作用的平均效应信息,很难从单个分子水平精确地给出高分子链的构象转变信息及其动态行为. 尽管可以通过理论计算的方法描述单个分子链构象转变行为^[23,24],但是仍缺少真实的单分子实验数据的支持.

近年来,随着纳米技术的飞速发展,可以在纳米尺度进行分子内分子间作用力的直接测量以及对单个分子精确操作的单分子力谱技术,如磁性珠技术、光学镊子技术、生物膜力学探测技术以及基于 AFM 的 SMFS 技术等,已被广泛的应用于大分子体系的研究^[25-31]. 其中,基于 AFM 的 SMFS 是一种可以从单个分子水平上研究天然与合成高分子体系中的分子内与分子间相互作用的本质,揭示其动态过程的一种重要的纳米表征技术^[8,32-38].

以往的研究中,单分子力谱的方法也被用来研究单链 PNIPAM 的纳米力学性质、相变机理等,然而这些研究工作主要集中在温度效应^[8,11,12]和混合溶剂效应^[12,20]方面. 对于盐效应引起的 PNIPAM 相变行为的研究仅停留在宏观层面上,未见有单分子水平研究的报道. 本文中,我们利用基于 AFM 的 SMFS 方法研究了硫酸钠诱导的单链 PNIPAM 相变过程,得到了相变前和相变后的特征力曲线. 第一次直接从单个分子水平观察到在 $0.3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硫酸钠作用下,在两个不同相变温度区间内由无规线团到塌缩球的构象转变过程,直接给出了塌缩球结构的稳定性信息.

2 结果与讨论

2.1 单链 PNIPAM 在良溶剂中的单分子力谱

为了实现 PNIPAM 的单分子操纵,避免多分子信号及基底效应的干扰,我们利用二硫代苏糖醇来修饰金片表面,同时利用二氯甲烷处理该金片表面,引入分散的“缺陷”,之后再末端带有巯基修饰的 PNIPAM 固定到这些“缺陷”位点(详见实验部分)^[39,40].

在进行单分子力谱实验之前,我们按照文献的方法^[41]测得 PNIPAM 在 $0.3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硫酸钠溶液中的 LCST 约 20.5°C (详见支持信息). 当实验温度小于该温度时,

$0.3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硫酸钠溶液为 PNIPAM 的良溶剂,高分子链以无规线团存在,所以我们选择 18°C 作为 PNIPAM 的单分子力谱实验温度.

图 1 所示为 18°C ($<\text{LCST}$)时 PNIPAM 在 $0.3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硫酸钠溶液中得到的典型力-拉伸曲线(简称力曲线). 由于力谱实验过程中 AFM 针尖与高分子链段间的吸附位置并不确定,以及高分子链长度的多分散性,实验中得到的高分子的完全伸展长度是不同的. 从图 1 中可以看到所得力曲线都具有以下特点:力曲线上的力随高分子链拉伸长度的增加而单调上升;当高分子链从针尖表面脱落时,力值降为零. 如图 2 所示,将代表性力曲线进行归一化处理并相互叠加,发现经归一化后的力曲线能够很好的重合在一起,说明 PNIPAM 分子链的链段弹性与其自身完全伸展长度成线性比例. 以上 SMFS 实验结果表明,我们得到了 18°C 条件下单链 PNIPAM 在 $0.3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硫酸钠溶液的特征力曲线,即单调上升的力曲线,对应着无规线团结构的高分子链的拉伸.

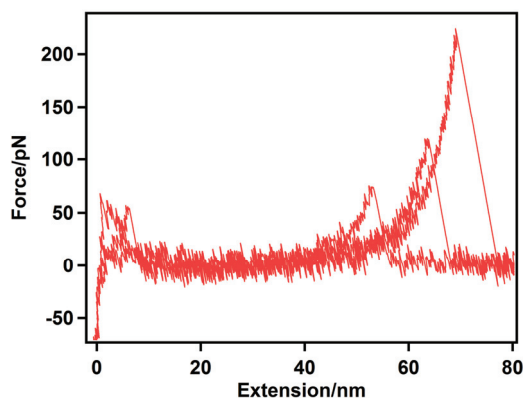


图 1 PNIPAM 在 18°C 时在 $0.3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硫酸钠溶液中所获得典型力曲线

Figure 1 Three typical force curves of single PNIPAM chains obtained in $0.3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ Na}_2\text{SO}_4$ aqueous solution at 18°C

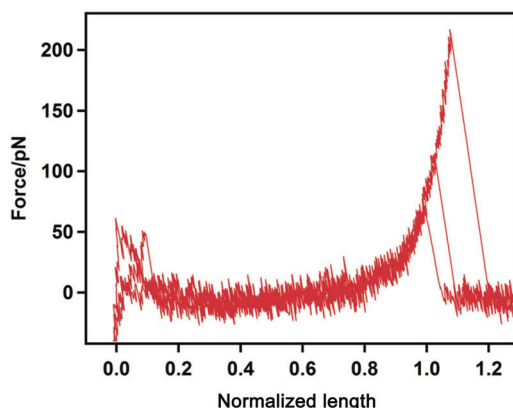


图 2 对图 1 中的典型力曲线归一化、叠加处理
Figure 2 Superposition of normalized force curves of single PNIPAM chains shown in Figure 1

2.2 单链 PNIPAM 在不良溶剂中的单分子力谱

最近, Zhang 等^[13,42]的研究结果表明足量的盐存在时, PNIPAM 的相变会分解成两个连续的独立相转变步骤完成, 即低 LCST 步骤和高 LCST 步骤. 当温度达到低 LCST 时, 高分子发生第一次相变, 并在一定的温度范围内形成稳定结构存在于溶液中; 随温度继续升高, 达到高 LCST 时, 高分子发生第二次相变, 并会再次形成稳定的塌缩结构. 对此种盐诱导的 PNIPAM 相变机理及不同相变阶段形成的塌缩结构稳定性等信息尚不清晰. 我们尝试利用 SMFS 去研究这种相转变行为.

在最近的研究中, Zhang 等^[13,42]系统考察了分子量及不同种类的盐对此种相变的影响, 发现对于分子量为 30700 Da 的 PNIPAM 在 $0.3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Na_2SO_4 中的两个相变点分别在 20 和 26 $^{\circ}\text{C}$ 左右, 而我们目前体系中 PNIPAM 分子量为 31600 Da. 通过基于紫外-可见光谱的浊度法测得我们所用的 PNIPAM 低温相变温度为 20.5 $^{\circ}\text{C}$ (详见支持信息), 基于此, 我们选择 23.8 $^{\circ}\text{C}$ (第一个低温相变温度之上) 和 37 $^{\circ}\text{C}$ (第二个高温相变温度之上) 作为 PNIPAM 的单分子力谱实验温度.

图 3 给出了 PNIPAM 在 $0.3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硫酸钠条件下, 分别在 23.8 $^{\circ}\text{C}$ (红线) 和 37 $^{\circ}\text{C}$ (绿线) 时得到的典型力曲线归一化后并叠加结果. 与良溶剂中(相变前)得到的力曲线表现出明显不同的特征: 代表性力曲线的拉伸曲线上均有明显的锯齿信号出现. 为了方便讨论, 我们将此类力曲线定义为锯齿型力曲线. 对两种温度条件下所得锯齿型力曲线分别进行归一化处理, 然后再将其与归一化后的、相变前所得代表性力曲线叠加, 如图 4 所示. 从图中可以清晰地看到相变后两种锯齿型力曲线中最后一个信号峰(即力曲线中 80 pN 以上的区域)都可以与相变前力曲线很好地重合, 该结果表明实验中所得锯齿型力曲线对应着单链 PNIPAM 分子的拉伸结果.

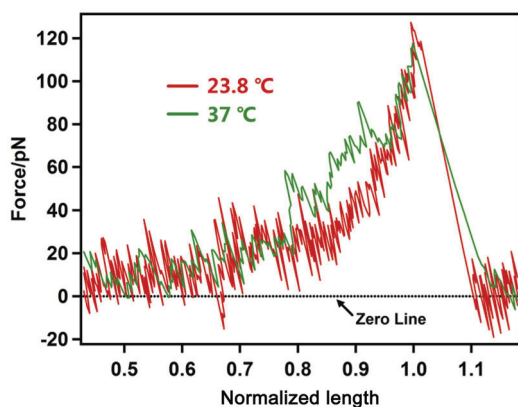


图 3 PNIPAM 在 $0.3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硫酸钠条件下分别在 23.8 $^{\circ}\text{C}$ (红线) 和 37 $^{\circ}\text{C}$ (绿线) 时得到的典型力曲线归一化后的叠加

Figure 3 A superposition of normalized typical force curves of single PNIPAM chains obtained in $0.3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Na_2SO_4 aqueous solution at 23.8 $^{\circ}\text{C}$ (red line) and 37 $^{\circ}\text{C}$ (green line), respectively

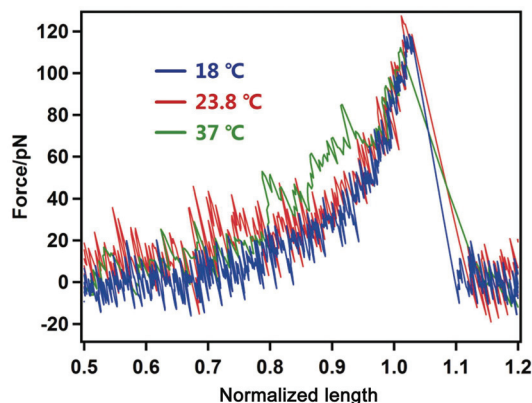


图 4 PNIPAM 在 $0.3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硫酸钠条件下分别在 18, 23.8 和 37 $^{\circ}\text{C}$ 所得典型力曲线归一化后的叠加

Figure 4 A superposition of normalized typical force curves of PNIPAM in $0.3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Na_2SO_4 aqueous solution obtained at 18 $^{\circ}\text{C}$ (blue line), 23.8 $^{\circ}\text{C}$ (red line) and 37 $^{\circ}\text{C}$ (green line), respectively

产生这种锯齿型力曲线的原因有两种可能性: (1) 外力作用下 PNIPAM 相变后形成的塌缩球结构解折叠过程中, 高分子链段间结合位点被逐个打开, 每打开一个结合位点时, 该结合位点与下一个结合位点之间的松弛链段会导致拉伸长度的瞬间增加, 表现为力值的突然降低, 从而在拉伸曲线上产生锯齿型信号; (2) 当溶剂由良溶剂变为不良溶剂后, 高分子链段在基片上的吸附点增多, 外力作用下, 吸附位点被打开, 从而在力曲线中产生锯齿信号.

我们认为第一种解释更为合理. 在本文中采用的样品修饰方法(详见 4.1 部分)可以有效地将 PNIPAM 共价键修饰到金基底上并得到非常低的高分子修饰密度, 使得力谱实验中更容易拉伸到单个高分子链, 从而有效避免多分子信号干扰. 此外, 基底上预先修饰的亲水性二巯代苏糖醇(DTT)单层膜可以有效降低高分子链与基底间的非特异性相互作用. 因此, 我们倾向于第一种解释.

以往的研究结果^[43,44]表明, 外力作用下, 如果将单个高分子链从致密的塌缩球拉出, 实验中会得到恒力的平台型力曲线. 而我们对单链 PNIPAM 相变生成塌缩结构进行单分子拉伸实验时得到的是锯齿型力曲线, 这一结果表明在我们的 SMFS 实验条件中单链 PNIPAM 相变后形成相对松散, 而非致密的塌缩球结构, 这与 Wu 等之前报道的相变后($T > \text{LCST}$) PNIPAM 塌缩线团中仍然包含大量水分子的事实相一致^[6,22,45,50].

对单个高分子链进行往复拉伸, 不仅能够排除基底效应的干扰, 同时还可以考察高分子相转变的动态过程, 获得塌缩结构解折叠更详细的信息. 通过控制在实验过程中施加在单个高分子链上的力小于高分子链段同 AFM 针尖的吸附力, 可以实现对单链 PNIPAM 进行拉伸、松弛、再拉伸、再松弛的循环操作. 图 5A 和 5B 所示分别为单链 PNIPAM 在 $0.3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硫酸钠溶液中在 23.8 和 37 $^{\circ}\text{C}$ 时得到的可重复的往复拉伸曲线. 无论是在 23.8 $^{\circ}\text{C}$ 还是在 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下得到的往复拉伸曲线均

具有类似的特征: 初始拉伸时力曲线中力随拉伸长度增加而单调上升, 反映了塌缩结构在外力作用下的形变过程; 随拉伸距离的增加, 当拉力大于塌缩结构中高分子链段间作用强度时, 链段间的结合位点被破坏, 拉伸曲线上出现锯齿信号, 对应塌缩球的解折叠过程。

此外, 我们还发现锯齿型往复拉伸曲线会重复出现, 说明外力诱导的塌缩球-无规线团构象转变过程是一个可以重复的可逆过程。

图5所示锯齿型力曲线对应着PNIPAM单链塌缩结构的解折叠过程。“锯齿型往复拉伸曲线的重复出现”表明塌缩球-无规线团构象转变过程是一个可以重复的可逆过程。以往的研究结果表明, PNIPAM 的相变过程是一个熵驱动的过程^[46-50]。此过程中, 高分子链结合的水分子由有序排列变成无序的自由水分子, 并最终导致PNIPAM 链段内氢键的形成以及链段间的疏水聚集, 从而形成塌缩球结构。而在单分子力谱实验中, PNIPAM 的塌缩球构象在外力诱导下转变为无规线团构象。在此构象转变过程中, 被拉出的链段会迅速与周围的水分子发生水合作用; 外力撤销后, PNIPAM 分子链会重新形成塌缩球结构, 结合在 PNIPAM 分子链上的水分子被“剥离”。由于每个拉伸-松弛循环过程中所形成的塌缩

球结构具有随机性导致塌缩球结构中两个相邻结合位点之间自由链段部分的长度不均一。同时PNIPAM 链每次由无规线团向塌缩结构转变过程中, 与PNIPAM 高分子链结合的水分子被“剥离”程度也不尽相同, 从而导致不同的拉伸与松弛曲线间滞后程度的不同。

我们还分别对 23.8 和 37 °C 时单分子力谱实验中锯齿型力曲线的出现几率进行了统计(表 1), 统计结果显示 23.8 和 37 °C 时锯齿型力曲线出现几率分别为 100% 和 86.7%。以上实验结果充分说明单链 PNIPAM 在 23.8 和 37 °C 都发生了相变, 并且在外力作用下塌缩结构解折叠都得到了锯齿型力曲线, 力曲线上的锯齿信号对应着单链 PNIPAM 塌缩结构的解折叠过程。

表 1 PNIPAM 在 0.3 mol·L⁻¹ 硫酸钠中代表性力曲线的出现几率
Table 1 The appearing probabilities of typical force curves of single PNIPAM chains obtained in 0.3 mol·L⁻¹ Na₂SO₄

实验温度/°C	出现几率/%	力曲线类型
23.8	100.0	锯齿型
37	86.7	锯齿型

2.3 单链 PNIPAM 塌缩结构的稳定性

为了更深刻地理解盐诱导的单链 PNIPAM 相变机理, 该部分考察了单链 PNIPAM 分别在 23.8 °C 和 37 °C 时相变形成的塌缩结构的稳定性, 并加以比较。

我们从以下两个方面对单链 PNIPAM 在 23.8 °C 和 37 °C 两个相变步骤中得到的塌缩球结构的稳定性进行比较。一方面, 我们直接将 23.8 °C 和 37 °C 得到的代表性锯齿型力-拉伸曲线归一化并叠加, 如图3所示。可以清晰地看到与 23.8 °C (第一个相变阶段) 时所得力曲线相比, 37 °C (第二个相变阶段) 时力曲线上的锯齿信号在高的力值区域出现偏离。该结果表明在高温相变过程中形成的塌缩结构中 PNIPAM 链段间作用更强。

为了进一步更量化地展示两种不同相变温度下塌缩结构的稳定性的差异, 我们对拉伸曲线中锯齿信号出现区域所有数据点的力值进行统计, 并作柱状图(图6)。从图中可以清晰地看出, 两个不同相变温度下锯齿信号在低力值区域可以很好地重合, 而较高力值区域(≥ 100 pN)出现了明显偏离, 即 37 °C 的解折叠力更高。

解折叠力的大小对应着塌缩结构中分子链段间结合位点间作用力的强弱, 反映出塌缩结构稳定性的强弱。以上实验结果表明, 37 °C 时单链 PNIPAM 相变能形成更加稳定的塌缩结构。根据 Zhang 等^[13,42]的报道, 盐诱导 PNIPAM 发生的第一个相变过程主要是由 PNIPAM 高分子链上氨基去水合作用引起, 而第二个相变过程则主要是因为原来与高分子链疏水水合作用的水分子的失去而引起。也就是说, 保持盐浓度不变的情况下, 系统温度的升高会引起盐离子同 PNIPAM 作用机理的变化, 导致氢键作用减弱, 高分子链间疏水作用增强, 因而高分子相变后生成更稳定的塌缩结构。

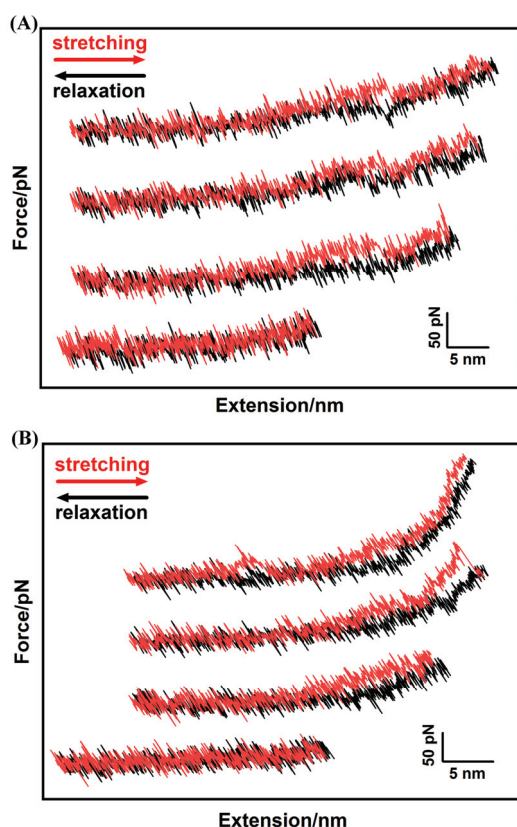


图 5 PNIPAM 在 0.3 mol·L⁻¹ 硫酸钠条件下分别在(A) 23.8 °C 和(B) 37 °C 时所得代表性往复拉伸力曲线

Figure 5 Typical force spectra of single PNIPAM chains obtained by repeatedly manipulating of the same molecule in 0.3 mol·L⁻¹ Na₂SO₄ aqueous solution at (A) 23.8 °C and (B) 37 °C, respectively

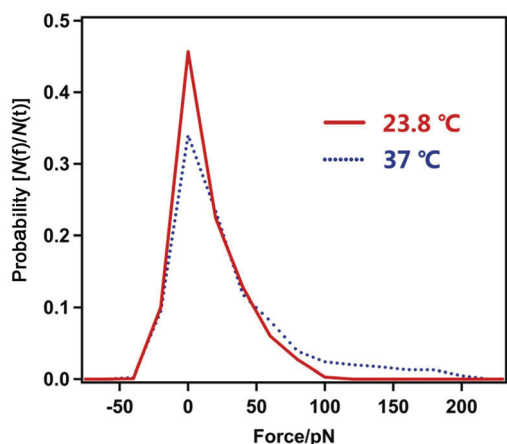


图 6 23.8 °C (红色实线)和 37 °C (蓝色虚线)时锯齿信号出现区域的力值统计

$N(f)$ 是断裂力为 f 的曲线个数, $N(t)$ 为所统计的断裂力数据的总个数

Figure 6 Force distributions in the serration areas on the stretching traces obtained in $0.3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Na}_2\text{SO}_4$ at 23.8 °C (red solid line) and 37 °C (blue dotted line), respectively

$N(f)$: the number of rupture events appeared at rupture force f , $N(t)$: the total number of rupture events

3 结论

通过利用单分子力谱技术探索了在硫酸钠存在时 PNIPAM 在单分子水平的两个相变过程, 得到了相变前和相变后的特征性力曲线. 在相变前($T < \text{LCST}$)为单调上升的力曲线, 对应着单链 PNIPAM 无规线团结构的形变过程; 在相变后($T > \text{LCST}$)为锯齿状力曲线, 对应着单链 PNIPAM 塌缩结构在外力诱导下的解折叠过程. 实验结果表明, 第一个较低温度下(23.8 °C)的相转变所形成的塌缩结构稳定性较差, 而第二个较高温下(37 °C)的相转变所产生的塌缩结构更加稳定. 实验结果还表明该塌缩-无规线团构象转变过程是一个可以重复的可逆过程. 综上, 我们可以看出基于 AFM 的单分子力谱是传统研究方法(比如, 光散射)的有益补充, 它不仅可以从分子水平监测温敏高分子的相变过程, 还可以量化塌缩结构的稳定性.

4 实验部分

4.1 样品修饰

将单个 PNIPAM 分子修饰到金基底表面的具体过程如下:

(1) 二硫代苏糖醇(DTT)自组装膜(SAM)的制备: 首先将圆形镀金基底依次置于无水乙醇、纯净水中超声清洗各 5 min, 经氮气吹干后放至 80 °C 的 Piranha 溶液[浓硫酸(98%)/双氧水(30%)=7/3, V/V]中清洗 10 min, 取出后经纯净水充分清洗, 氮气吹干, 备用.

将新清洗的镀金基底放至 $5.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 DTT 无水乙醇溶液中修饰 12 h. 通过巯基与金的特异性相互作用, DTT 在金表面形成自组装单层膜(SAM)^[51].

(2) SAM 中缺陷的形成: 将新制的 DTT 自组装膜修饰的金基底在二氯甲烷溶液中浸泡 20 min, 取出经二氯甲烷清洗, 氮气吹干.

(3) PNIPAM 分子修饰: 将上述镀金基底置于 $9.0 \times 10^{-4} \text{ g/mL}$ 的 PNIPAM 水溶液中修饰 30 min, 取出后首先用足量的纯净水冲洗掉未共价键修饰的 PNIPAM 分子, 然后用单分子力谱实验缓冲溶液清洗, 并将样品浸泡于新的缓冲溶液备用.

4.2 AFM 探针的清洗

将新的氮化硅探针用无水乙醇、纯净水依次清洗各 5 分钟, 然后用新制的 Piranha 溶液[浓硫酸(98%)/双氧水(30%)=7/3, V/V]清洗 5 min, 接着用三杯纯净水充分清洗, 置于洁净处干燥, 备用.

4.3 单分子力谱实验

所有的单分子力谱实验都在 NanoWizardII 生物型原子力显微镜(JPK instrument AG, Berlin, Germany)上进行, 实验中使用氮化硅针尖. 通过热扰动法^[52]测得针尖的弹性系数, 其值在 20~30 mN/m 之间. PNIPAM 分子通过金-硫共价键修饰到镀金基底上. 在力谱实验开始前, 将 PNIPAM 样品及固定好的 AFM 探针置于密闭的控温液体池中, 加入实验用溶剂作为针尖和样品间的缓冲溶液, 保证氮化硅针尖完全浸没其中, 然后通过温度控制器将温度调节至实验温度. 在力谱实验中, 随压电陶瓷管的运动, 力谱针尖与样品相互接触, 高分子链会在针尖与基底之间形成桥联结构. 当针尖远离基底时, 高分子链被拉伸从而引起 AFM 探针悬臂的形变, 相应的位移被激光检测系统记录并进一步转换得到力-拉伸曲线(简称力曲线). (更详细的操作见文献[53~55])为保证实验状态的稳定, 温度恒定 60 min 之后再行力谱实验. 本文中力谱实验都在 $0.1 \mu\text{m/s}$ 恒定拉伸速率下进行. 所得力曲线均用专业数据处理软件 Igor Pro. (Wavemetrics)进行处理.

References

- [1] Galaev, I. Y.; Mattiasson, B. *Trends Biotechnol.* **2000**, *17*, 335.
- [2] Gil, E. S.; Hudson, S. M. *Prog. Polym. Sci.* **2004**, *29*, 1173.
- [3] Kumar, A.; Srivastava, A.; Galaev, I. Y.; Mattiasson, B. *Prog. Polym. Sci.* **2007**, *32*, 1205.
- [4] Stuart, M. A. C.; Huck, W. T. S.; Genzer, J.; Müller, M.; Ober, C.; Stamm, M.; Sukhorukov, G. B.; Szleifer, I.; Tsukruk, V. V.; Urban, M.; Winnik, F.; Zauscher, S.; Luzinov, I.; Minko, S. *Nat. Mater.* **2010**, *9*, 101.
- [5] Schild, H. G. *Prog. Polym. Sci.* **1992**, *17*, 163.
- [6] Wu, C.; Zhou, S. *Phys. Rev. Lett.* **1996**, *77*, 3053.
- [7] Wu, C.; Wang, X. *Phys. Rev. Lett.* **1998**, *80*, 4092.
- [8] Zhang, W.; Zou, S.; Wang, C.; Zhang, X. *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 10258.
- [9] Zhang, G. *Macromolecules* **2004**, *37*, 6553.
- [10] Schmaljohann, D. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2006**, *58*, 1655.
- [11] Cui, S.; Pang, X.; Zhang, S.; Yu, Y.; Ma, H.; Zhang, X. *Langmuir* **2012**, *28*, 5151.
- [12] Kutnyanszky, E.; Embrechts, A.; Hempenius, M. A.; Vancso, G. J. *Chem. Phys. Lett.* **2012**, *535*, 126.
- [13] Zhang, Y.; Foryk, S.; Bergbreiter, D. E.; Cremer, P. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 14505.

- [14] Ishida, N.; Biggs, S. *Macromolecules* **2007**, *40*, 9045.
- [15] Du, H.; Wickramasinghe, R.; Qian, X. *J. Phys. Chem. B* **2010**, *114*, 16594.
- [16] Amiya, T.; Hirokawa, Y.; Hirose, Y.; Li, Y.; Tanaka, T. *J. Chem. Phys.* **1987**, *86*, 2375.
- [17] Zhang, G.; Wu, C. *Phys. Rev. Lett.* **2001**, *86*, 822.
- [18] Zhang, G.; Wu, C. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 1376.
- [19] Wang, T.; Liu, G.; Zhang, G.; Craig, V. S. *J. Langmuir* **2012**, *28*, 1893.
- [20] Pang, X.; Wang, K.; Cui, S. *Polymer* **2013**, *54*, 3737.
- [21] Rief, M.; Gautel, M.; Oesterhelt, F.; Fernandez, J. M.; Gaub, H. E. *Science* **1997**, *276*, 1109.
- [22] Ye, X.; Lu, Y.; Shen, L.; Ding, Y.; Liu, S.; Zhang, G.; Wu, C. *Macromolecules* **2007**, *40*, 4750.
- [23] Halperin, A.; Zhulina, E. B. *Europhys. Lett.* **1991**, *15*, 417.
- [24] Halperin, A.; Goldbart, P. M. *Phys. Rev. Lett.* **2000**, *61*, 565.
- [25] Merkel, R. *Phys. Rep.* **2001**, *346*, 343.
- [26] Zhang, W.; Zhang, X. *Prog. Polym. Sci.* **2003**, *28*, 1271.
- [27] Neuman, K. C.; Nagy, A. *Nat. Methods* **2008**, *5*, 491.
- [28] Tan, X.; Yu, Y.; Liu, K.; Xu, H.; Liu, D.; Wang, Z.; Zhang, X. *Langmuir* **2012**, *28*, 9601.
- [29] Zhang, W.; Kou, X.-L.; Zhang, W.-K. *Chem. J. Chin. Univ.* **2012**, *33*, 861. (张薇, 寇晓龙, 张文科, 高等学校化学学报, **2012**, *33*, 861.)
- [30] Wang, Q.; Sun, X.-L.; Yang, X.-H.; Wang, K.-M.; Wu, C.-L.; Chen, T. *Chem. J. Chin. Univ.* **2012**, *33*, 1401. (王青, 孙小兰, 羊小海, 王柯敏, 吴春玲, 陈桐, 高等学校化学学报, **2012**, *33*, 1401.)
- [31] Liu, K.; Zheng, X.; Samuel, A. Z.; Ramkumar, S. G.; Ghosh, S.; Tan, X.; Wang, D.; Shuai, Z.; Ramakrishnan, S.; Liu, D.; Zhang, X. *Langmuir* **2013**, *29*, 14438.
- [32] Zhang, W.; Barbagallo, R.; Madden, C.; Roberts, C. J.; Woolford, A.; Allen, S. *Nanotechnology* **2005**, *16*, 2325.
- [33] Müller, D. J.; Dufrene, Y. F. *Nat. Nanotechnol.* **2008**, *3*, 261.
- [34] Liu, N.; Peng, B.; Lin, Y.; Su, Z.; Niu, Z.; Wang, Q.; Zhang, W.; Li, H.; Shen, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 11036.
- [35] Liu, K.; Song, Y.; Feng, W.; Liu, N.; Zhang, W.; Zhang, X. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 3226.
- [36] Zhang, W.; Lü, X.; Zhang, W.; Shen, J. *Langmuir* **2011**, *27*, 15008.
- [37] Liu, N.; Zhang, W. *ChemPhysChem* **2012**, *13*, 2238.
- [38] Shi, Z.-M.; Song, Y.; Lu, F.; Zhou, T.-Y.; Zhao, X.; Zhang, W.-K.; Li, Z.-T. *Acta Chim. Sinica* **2013**, *71*, 51. (施朱明, 宋宇, 陆方, 周天佑, 赵新, 张文科, 黎占亭, 化学学报, **2013**, *71*, 51.)
- [39] Friggeri, A.; Schönherr, H.; van Manen, H.-J.; Huisman, B.-H.; Vancso, G. J.; Huskens, J.; van Veggel, F. C. J. M.; Reinhoudt, D. N. *Langmuir* **2000**, *16*, 7757.
- [40] Zou, S.; Ma, Y.; Hempenius, M. A.; Schönherr, H.; Vancso, G. J. *Langmuir* **2004**, *20*, 6278.
- [41] Zhao, Y.; Guo, K.; Wang, C.; Wang, L. *Langmuir* **2010**, *26*, 8966.
- [42] Zhang, Y.; Furry, S.; Sagle, L. B.; Cho, Y.; Bergbreiter, D. E.; Cremer, P. S. *J. Phys. Chem. C* **2007**, *111*, 8916.
- [43] Halperin, A.; Zhulina, E. B. *Macromolecules* **1991**, *24*, 5393.
- [44] Gunari, N.; Balazs, A. C.; Walker, G. C. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 10046.
- [45] Wang, X.; Qiu, X.; Wu, C. *Macromolecules* **1998**, *31*, 2972.
- [46] Katsumoto, Y.; Tanaka, T.; Sato, H.; Ozaki, Y. *J. Phys. Chem. A* **2001**, *106*, 3429.
- [47] Cho, E. C.; Lee, J.; Cho, K. *Macromolecules* **2003**, *36*, 9929.
- [48] Okada, Y.; Tanaka, F. *Macromolecules* **2005**, *38*, 4465.
- [49] Geukens, B.; Meersman, F.; Nies, E. *J. Phys. Chem. B* **2008**, *112*, 4474.
- [50] Zhou, K.; Lu, Y.; Li, J.; Shen, L.; Zhang, G.; Xie, Z.; Wu, C. *Macromolecules* **2008**, *41*, 8927.
- [51] Creczynski-Pasa, T. B.; Millone, M. A. D.; Munford, M. L.; de Lima, V. R.; Vieira, T. O.; Benitez, G. A.; Pasa, A. A.; Salvarezza, R. C.; Vela, M. E. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2009**, *11*, 1077.
- [52] Butt, H.-J.; Jaschke, M. *Nanotechnology* **1995**, *6*, 1.
- [53] Zhang, W.; Wang, C.; Zhang, X. *Chin. Sci. Bull.* **2003**, *48*, 1113. (张文科, 王驰, 张希, 科学通报, **2003**, *48*, 1113.)
- [54] Zhang, W. K. *Ph.D. Dissertation*, Jilin University, Changchun, **2002**. (张文科, 博士论文, 吉林大学, 长春, **2002**.)
- [55] Jiang, B.; Tang, X. Y.; Song, Y.; Zhang, W. K. *Scientia Sinica Chimica* **2013**, *43*, 1780. (姜博, 汤孝妍, 宋宇, 张文科, 中国科学: 化学, **2013**, *43*, 1780.)

(Cheng, F.)