

pH-温度协同响应的纳米门控器件

周迪 孟哲一 张明辉 翟锦*

(北京航空航天大学化学与环境学院 仿生智能科学与技术教育部重点实验室 北京 100191)

摘要 自然界中的生物孔道在生命过程中具有重要的意义,在人工制备的仿生纳米器件上模仿生物孔道的离子输运性质是一项具有挑战性的课题。我们制备了一种基于人工聚合物薄膜的纳米门控器件,这种纳米门控器件的离子输运性质可以通过调节体系的 pH 和温度来调控。通过在人工聚合物薄膜上修饰功能分子聚赖氨酸(poly-L-Lysine)得到的门控器件能够模拟生物体中生物孔道的典型离子输运行为,其离子输运性能受体系 pH 的控制,可以通过调节体系的 pH 而限制纳米门控器件的导通方向。同时,在一定 pH 条件下调整体系温度也能够对离子输运性能产生影响,而在其他 pH 条件下,温度则不会对体系的离子输运性能产生明显的影响,即这种基于人工聚合物薄膜的纳米门控器件具有对 pH 和温度的协同响应性能。

关键词 纳米门控; 纳米通道; 离子通道; 整流性; 纳流体二极管

pH-Temperature Cooperative Dual-Responsive Nanogating Device

Zhou, Di Meng, Zheyi Zhang, Minghui Zhai, Jin*

(School of Chemistry and Environment, Beihang University, Xueyuan Road, Haidian District, Beijing 100191)

Abstract Inspired by natural biological ion channels, artificial nanochannels that can respond to external stimuli have been attracting much interests in recent years. However, design of the artificial nanochannel mimicking the organism functions and sensitive to complex signals remains one large challenge for current technique. In this work, we experimentally demonstrate a novel biomimetic nanogating device which displays advanced features of dual-stimuli cooperative respond. This feature originates from the combination of fixed charge and the cooperative configuration change of the immobilized functionalization molecule. The mentioned nanogating device is designed based on artificial polyethylene terephthalate (PET) membrane. We utilize the well-developed ion track-etching technique to produce conical nanochannel, which is an important component of the gating device. After soaking in water overnight, the asymmetrical nanochannel distributed between membrane surfaces is modified with poly-L-lysine through two-steps chemical modification method. The immobilized amphoteric chains can exert influence on the inner surface charges due to the pH-sensitive moieties. At low pH values, the amino groups are positively charged as a result of protonation. Changing the experimental pH from acidic to alkaline values, a significant decrease in positive charges and the deprotonated carboxyl group with negative charges can be observed. The ion transportation properties of the nanochannels can be investigated by measuring the current-voltage (*I-V*) characteristics. This phenomenon allows for switching the polarity of ion transport from anion-selective to cation-selective by controlling solution pH. The diode-like behavior is quantified by measuring the current rectification ratios. A definite plus is the existence of different configurations of the polymer chains. Poly-L-lysine adopts different conformation when the external pH and temperature change. At pH lower than pKa of poly-L-lysine, the polymer chain mainly adopt random coil structure which is insensitive to the experimental temperature. Higher pH than pKa induces α -helix structure, which is subject to the temperature. When raising the temperature, α -helix structure is observed to transform to β -sheet structure. Circular dichroism (CD) spectra and contact-angle measurements are taken to support the conformational change of PLL chains. This configuration change exerts influence on the effective nanochannel diameter, which leads to significant increase in the gating ratio. Thus, we have constructed the nanogating which is pH-temperature cooperative responsive. This system could potentially promote further research on advanced complicated functionalization smart nanochannel systems.

Keywords nanogating; nanochannel; ion channel; current rectification; nanofluidic diode

1 引言

自然界中的生物体细胞膜上存在着许多的生物孔道,这些孔道在控制离子跨膜运输等生命过程中发挥着

重要的作用^[1~4]。受生物孔道的启发,越来越多的人工仿生纳米通道由于其性质稳定和表面性质可控而受到研究者的关注^[5,6]。研究表明,人工仿生纳米通道可以表现出类似流体二极管的离子整流效应^[7~9],这为设计

* E-mail: zhajin@buaa.edu.cn; Tel.: 010-82318212

Received March 30, 2015; published May 15, 2015.

Project supported by the National Basic Research Program of China (Nos. 2011CB935704, 2012CB720904) and the National Natural Science Foundation of China (Nos. 21271016, 91333120).

项目受国家重点基础研究发展规划项目(973 项目)(Nos. 2011CB935704, 2012CB720904)和国家自然科学基金(Nos. 21271016, 91333120)的资助。

和制备人工纳米门控器件提供了可能. 在人工纳米通道上修饰功能化分子, 从而获得离子输运性质可控的纳米门控系统是目前研究的热点. 目前研究中已经能够实现修饰有功能化分子的纳米通道对外界单一信号, 如 pH^[10-14]、温度^[15-18]、光照^[19-21]、无机离子^[22-25]等的简单响应, 从而控制纳米门控系统内离子电流的方向和大小. 而要实现人工纳流体器件对多重外界信号的复杂响应, 仍然是一项具有挑战性的工作^[26]. Nasir 等^[27]报道了基于聚合物锥形纳米通道的紫外光敏感 pH 响应纳流体器件, 修饰有“笼化”赖氨酸链的纳米通道可以通过 UV 照射来开启纳米通道对 pH 的响应性能. 但是在此体系中, 紫外光的照射起到一个“开关”的作用, 实际通道的离子输运性能只能通过 pH 来调控, 还不能算对于多信号的协同响应. 基于此, 我们课题围绕能够对外界多种信号进行复杂响应的纳米通道展开了研究.

我们针对非对称结构仿生纳米通道内的化学修饰和化学作用对孔道离子输运性质的影响进行了研究. 实验中, 通过在聚对苯二甲酸乙二醇酯(polyethylene terephthalate, 简称 PET)锥形纳米通道中修饰功能化分子聚赖氨酸(poly-L-lysine, 简称为 PLL), 我们实现了纳米门控器件中离子输运的 pH 和温度协同控制. 在这个体系中, pH 和温度能够协同地控制离子通道内的表面电荷性质和通道有效孔径, 从而实现纳流体器件对较为复杂的多信号协同响应性能.

在人工制备的纳米通道中, 孔道表面所带电荷和孔道的有效孔径^[9]共同影响着离子输运性能, 这为我们设计复杂响应门控体系提供了基础. 我们对人工纳米通道进行功能化分子的修饰, 通过控制外界条件来控制纳米通道内所带电荷和通道的有效孔径, 从而实现对人工纳米通道离子输运性能的智能调控. 在此研究中, 我们选择了 PLL 作为功能化分子修饰在人工纳米通道中. PLL 在不同 pH 下所带电荷性质不同^[28], 影响了孔道内电荷的性质和电荷密度, 从而控制离子电流的方向, 成为调节门控方向的“开关”^[29,30]; 同时, PLL 分子构型还受 pH 和温度的共同影响^[31], 在不同的 pH 和温度条件下分别存在随机线圈缠绕、 α -螺旋结构和 β -折叠结构三种次级结构^[32], 从而影响纳米通道的有效孔径大小^[33], 实现 pH 和温度对离子输运性能的协同控制. 这种纳米门控器件集合了多肽分子和人工纳米通道结构, 只有在 pH 和温度协同变化时, 通道内的静电电荷和通道的有效孔径才能随之发生响应, 从而控制离子输运的方向和大小, 实现对 pH 和温度的协同响应性能.

2 结果与讨论

人工纳米通道的离子输运性质与通道所带电荷和有效孔径两个因素有关系. 本实验中采用非对称化学刻蚀法制备 PET 人工纳米通道, 可以通过控制刻蚀的方法和时间来调控人工纳米通道的形状和尺寸. 实验中使用

23 μm 厚的 PET 多孔膜, 通过化学径迹刻蚀方法制备出锥形纳米孔道^[34]. 图 1 是锥形纳米通道的大孔端电镜图, 图中大孔端孔径大约为 500 nm. 小孔端孔径可以通过测得孔道的电导进行计算^[35], 小孔端孔径约为 7~65 nm.

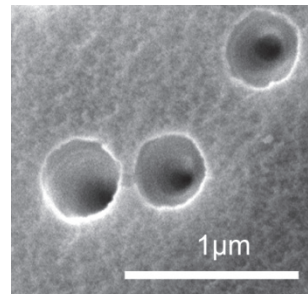


图1 PET 锥形纳米通道大孔端 SEM 图, 锥形纳米孔的大孔端孔径约为 500 nm

Figure 1 SEM image of conical nanochannel base in PET membrane. The diameter of the channel base is ca. 500 nm

通过化学径迹刻蚀法得到的非对称锥形纳米孔道由于化学刻蚀的作用, 孔道内壁的高分子链断裂而带有羧基(-COOH), 这为纳米孔道的功能分子修饰提供了基础^[36]. 孔道内壁上的羧基经过与 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(1-ethyl-3-(3-dimethyl aminopropyl) carbodiimide hydrochloride, EDC)和 *N*-羟基琥珀酰亚胺磺酸钠盐(*N*-Hydroxysulfosuccinimide sodium salt, NHSS)耦合反应后, 可以作为 PLL 分子在孔道内共价修饰的连接点与 PLL 分子进行反应^[37]. 孔道上的羧基与含有 EDC 和 NHSS 的水溶液发生反应, 羧基转变为活化的中间体 NHS 酯^[38]. 随后该中间体与 PLL 分子反应链接成键, 从而实现功能分子 PLL 在 PET 纳米通道内的化学修饰.

纳米通道内的带电离子跨膜流动时与通道表面电荷发生静电作用, 使得电流-电压(I - V)曲线测试可以作为纳米通道离子输运性能的特征手段. 因此我们可以测试 pH 为 7 时, 在 0.1 mol/L KCl 中孔道的 I - V 曲线, 以表征 PLL 在孔道内壁的成功修饰. 图 2 是 PLL 化学修饰前后纳米通道的 I - V 曲线. 从图中可以看出, 中性条件下(pH 约为 7), 未修饰的孔道内由于羧酸根基团($-\text{COO}^-$)的存在而带有负电荷, 优先吸附电荷相反的阳离子^[39], 具有阳离子选择性. 在表面电荷和非对称的通道形状两个因素的共同作用下^[40], 阳离子优先从孔道的小孔端流向大孔端, 相反方向的运动则受到一定的限制, 从而电流和电压值呈现非对称曲线(黑色曲线), 表现出离子整流性能. 在这里, 我们使用电流的整流比来量化纳米通道的纳流体二极管性能. 定义整流比 ratio 为正负偏压下对应的电流的绝对值之比(>1). 未修饰 PLL 的纳米通道整流比约为 2. PLL 分子修饰到纳米通

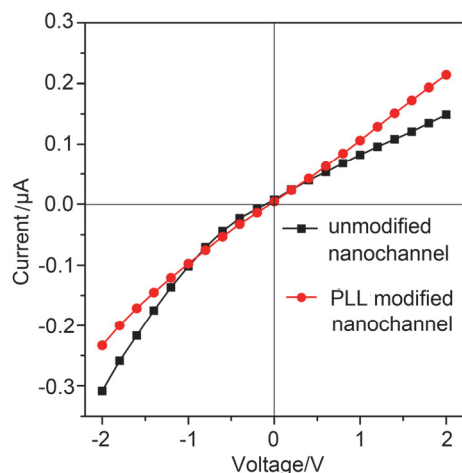


图2 化学修饰前(a)和修饰 PLL 后(b)多纳米通道的 I - V 曲线. 电解液为 0.1 mol/L KCl. 孔道内的化学修饰改变了孔道内的表面电荷, 孔道跨膜离子输运性质发生了明显的变化.

Figure 2 I - V properties of the nanochannel in 0.1 mol/L KCl before and after modification of PLL onto the inner wall of the nanochannel. The chemical modification changes the channel surface, which leads to change in the transmembrane ionic current

道上后, 孔道内壁部分羧基被中性条件下带部分正电荷的 PLL 链取代, 孔道内壁电荷整体上接近中性, 此时 I - V 曲线接近线性, 整流比接近 1 (红色曲线), 纳米通道几乎没有整流性能. 纳米通道在化学修饰前后 I - V 曲线和整流性能的变化, 证明 PLL 分子在通道内壁上的成功修饰.

实验中, 我们使用了 X 射线光电子能谱(XPS)和接触角测试(Contact Angle, CA)来证明 PLL 在 PET 膜上的成功修饰. XPS 可以分析纳米通道薄膜的表面元素含量信息, 图3是修饰 PLL 前后 PET 膜的 XPS 谱和 CA 图(小图). 图3(a)是修饰前 PET 膜表面的 XPS 谱, 图中 285 eV 和 532 eV 处分别有明显的 C(1s)—O(1s)峰, 在 400 eV 处没有 XPS 峰, 这说明了未经修饰的 PET 膜含有 C, O 元素, 而不含 N 元素. 经过化学修饰后, 如图 3(b), PET 表面的 XPS 能谱图中 C(1s)—O(1s)峰的比率发生明显的改变, 并且 400 eV 出现了一个明显的峰值, 包括了一个典型的 N(1s)峰. 这说明经过 PLL 化学修饰的 PET 薄膜上, C 和 O 元素的比例与修饰前的 PET 膜中元素含量比例明显不同. 并且修饰后的 PET 膜上出现了 N 元素, 这正是 PLL 的成功修饰引入的. 同时, PLL 修饰后, 膜表面的接触角从 $(70.2 \pm 2.1)^\circ$ 减小到了 $(60.7 \pm 1.3)^\circ$, 说明了 PET 膜表面化学组成发生了变化, 进而证实了 PLL 在纳米孔道上的成功修饰.

研究表明, 纳米通道的离子输运性能与孔道内所带电荷有关. PLL 的修饰取代了通道内本来的一部分羧基, 改变了纳米通道内的电荷分布, 而 PLL 上的氨基和孔道内未与 PLL 反应的羧基带电情况受环境 pH 影响, 因而我们可以通过控制环境 pH 来改变通道的离子输运性质.

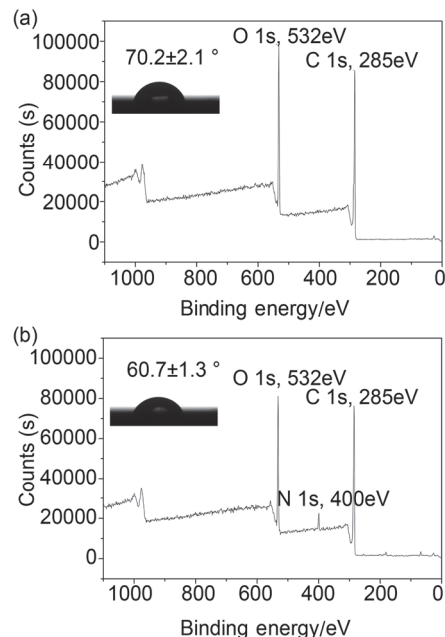


图3 PLL 修饰前(a)和修饰后(b), 纳米通道的 XPS 谱图. 未修饰 PLL 的 PET 膜不含有 N 元素, 故(a)图中只出现了 C(1s)和 O(1s)峰. PLL 的化学修饰引入了 N 元素, 修饰后的 XPS 谱图中出现了 N(1s)峰. 小图为 PLL 修饰前(上)和修饰后(下), PET 表面接触角的变化

Figure 3 X-ray photoelectron spectra of the PET membrane surface before (a) and after (b) modification by PLL. The nitrogen element corresponds to the PLL residues. The absence of N(1s) peak in Figure 2(a) and existence of N(1s) peak in Figure 2(b) demonstrate the successful modification of PLL onto the PET nanochannel. Inset are contact angle images for unmodified and PLL-modified PET membranes

图4是 PLL 分子在人工纳米通道上修饰过程及 pH 变化影响孔道表面电荷性质的示意图. 图4(a)的 PET 人工纳米孔道经过离子径迹刻蚀后, 锥形孔表面由于羧酸基团的存在带负电, PLL 通过两步法修饰到孔道表面. PLL 链取代了一部分羧基, 引入了氨基. 修饰 PLL 后, 孔道表面存在有 PLL 提供的氨基和孔道本身带有的羧基. 图4(b)中, PLL 修饰后的纳米通道在 pH 为 3.5 的条件下, 纳米通道表面的羧酸根基团($-\text{COOH}$)质子化, 呈电中性^[41]. PLL 分子上的氨基则由于质子化作用产生 $-\text{NH}_3^+$ 基团而带正电荷^[27], 此时的纳米通道内整体上带正电荷, 表现出阴离子选择性. 在偏压 $V > 0$ 时, 通道呈导通状态(“ON”), 离子电流较大; 在偏压 $V < 0$ 时, 通道呈关闭状态(“OFF”), 离子电流较小. 我们定义门控比为电压为 2 V 时导通状态和闭合状态下电流之比, 来量化纳米门控器件的门控效应. pH 为 3.5 时, 门控比约为 7.25. 与之相反, 当 pH 为 11.5 时, 由于羧酸根失去质子变为 $-\text{COO}^-$, 同时 PLL 上的氨基基团失去一个质子($-\text{NH}_2$)呈电中性^[42]. 孔道内整体上带负电荷, 具有阳离子选择性. 此时的孔道在 $V < 0$ 和 $V > 0$ 分别为 ON 和 OFF 状态, 门控比约为 2.52. 介于这两种状态之间, 当 pH=6.5 时(绿色曲线), 接近于 PLL 的等电点, PLL 上

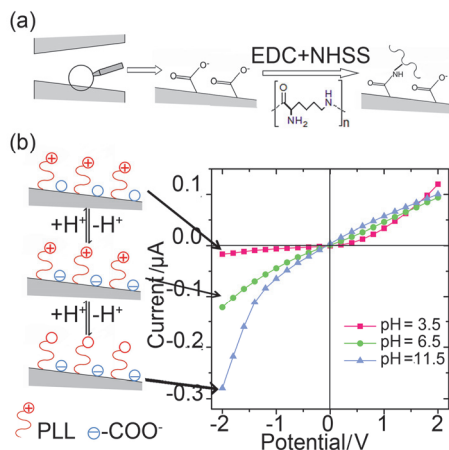


图4 (a) PLL在纳米通道上的修饰; (b) 修饰PLL后的纳米通道在pH分别为3.5(■)、6.5(●)和11.5(▲)时孔道内电荷性质示意图和对应的 I - V 曲线图(c)

Figure 4 (a) Scheme of the nanochannel carboxyl groups coupled with poly-L-lysine molecules. (b) The pH dissociation equilibrium leading to the inner surface charge. (c) I - V properties of the modified nanochannel at pH=3.5 (■), pH=6.5 (●), and pH=11.5 (▲)

的氨基($-\text{NH}_3^+$)和孔道内的羧基($-\text{COO}^-$)分别带正电荷和负电荷,但是纳米通道内的净电荷总体为零,呈电中性,故对阳离子和阴离子都不具备选择性,离子电流的大小与偏压接近线性关系.通过调节pH,可以得到具有不同门控方向的纳米门控器件.即PLL修饰的纳米门控体系的整流方向可以通过调节体系的pH来控制.

在以往关于双响应通道的研究中,温度可以单独对通道的离子输运性质施加很大的影响.而在PLL修饰的纳米门控器件中,温度须和pH协同起作用才能影响通道的整流性能.图5是不同pH下,随着温度的变化纳米通道整流比的数值.当pH增大到11.5时(蓝色),纳米通道的门控比随着温度的变化发生了明显的改变.在25和45℃下,纳米通道的门控比分别为2.52和4.16,温度升高到65℃后,门控比明显增大,达到7.32.表1中列出了不同pH条件下,随着温度的升高,纳米门控体系整流比的变化率.从表中可以看出,pH为11.5时,温度升高到45和65℃,离子通道的整流比分别增加了65.08%和75.96%,温度对离子通道整流性能的影响十分明显.pH为6.5(绿色)时,纳米通道的整流比在三个温度下分别为1.31,1.42和1.46,45和65℃下整流比分别增大了8.39%和2.81%,门控效应受温度的影响十分小.pH为3.5时(红色),温度从25℃上升到65℃,孔道的门控比从7.25增大到7.90,最终升高到8.42,45和65℃下增大分别为8%和6.5%,整流比增幅也较小.pH较小时,纳米门控体系中离子输运性能受温度的影响较小,此时纳米门控器件的离子输运性能受pH的影响占主导.只有当pH较大(如11.5)时,温度对纳米门控器件的离子输运性能才能施加影响,通过升高温度可以显著地提升纳米门控的门控比.

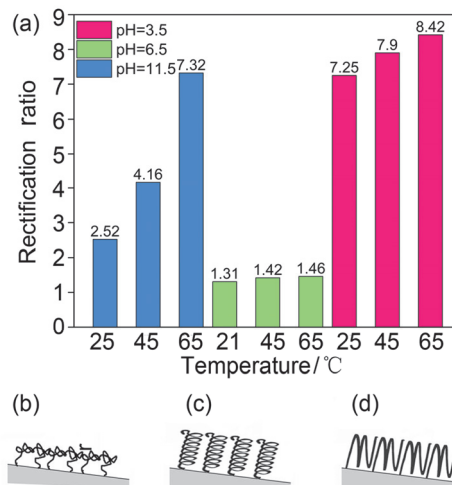


图5 (a) pH为11.5(蓝色)、6.5(绿色)和3.5(红色)时,随着温度的变化,纳米通道的门控比.修饰于孔道内壁的PLL存在三种不同的二级结构,分别为随机缠绕构型(b)、 α -螺旋结构(c)和 β -折叠构型(d).

Figure 5 (a) Ionic current gating ratio of the nanochannel at different pH status. pH 11.5 (blue), 6.5 (green) and 3.5 (red). Three configurations of poly-L-lysine: (b) random coil, (c) α -helix and (d) β -sheet structure.

表1 升高温度,整流比的增幅

Table 1 Growth of rectification ratio when raising the temperature to 45 and 65℃ respectively at pH of 11.5, 6.5 and 3.5

	25℃	45℃	65℃
pH=11.5	—	+65.08%	+75.96%
pH=6.5	—	+8.39%	+2.81%
pH=3.5	—	+8.96%	+6.58%

纳米通道门控比的这种变化规律是由PLL在不同pH-温度条件下分子构型变化引起的.PLL分子构型受pH和温度的共同影响,在不同的pH和温度条件下PLL分子分别存在有随机线圈缠绕、 α -螺旋结构和 β -折叠结构三种次级结构^[32].在环境pH小于其 pK_a (~11)^[31]时,PLL分子主要以随机缠绕的构型存在于纳米孔道中.PLL的这种构型对温度并不敏感,因此在较低的pH条件下,PLL的构型相对稳定,不会因体系温度的上升发生变化,纳米门控的离子输运性能故不受温度的影响.而当pH大于PLL的 pK_a 时,PLL的赖氨酸片段逐渐失去一个质子,使PLL转变为 α -螺旋构型.PLL分子的这种构型对温度敏感,升高温度可以使 α -螺旋构型转变为 β -折叠构型,分子构型的变化改变了纳米通道的有效孔径,从而影响通道的离子输运性能.

PLL分子构型的变化可以通过圆二色谱(CD)测试来证实.图6是不同pH条件下,PLL分子构型随着温度变化的CD光谱.图6(a)中,pH为11.5时,PLL的圆二色(CD)谱图.图中可以看出,25℃时,191nm处存在一个明显的正峰,而在207和220nm处,存在两个微弱的负峰,这三个峰是 α -螺旋构型分子特有的峰^[43].温度升高至65℃时,CD光谱发生了明显的改变.在195nm处

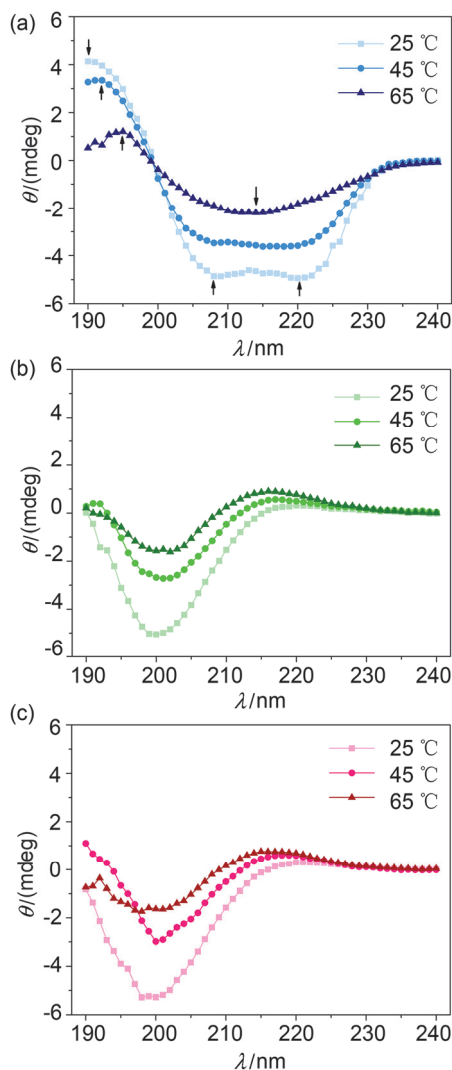


图 6 pH 为 11.5(蓝色)、6.5(绿色)和 3.5(红色)时, 随着温度的变化, PLL 的圆二色谱(CD)图.

Figure 6 CD spectra of PLL at different pH: 11.5 (blue), 6.5 (green) and 3.5 (red).

出现了一个明显的正峰, 214 nm 处则出现了一个较大的负峰. 这两个位置出现的峰值, 是 β -折叠结构的典型特征峰^[44]. 温度为 45 °C 时, 在 193 nm 处出现正峰, 209 nm 处存在一个微弱的负峰, 220 nm 处的负峰则更不明显. 可以推断, 45 °C 时, PLL 同时存在 α -螺旋和 β -折叠两种结构. 即在 pH 大于 PLL 的 pK_a 时, PLL 逐渐变为 β -折叠结构. 图 6(b)和图 6(c)分别为 pH 为 6.5 和 3.5 时的 CD 谱图. 在这两个 CD 谱图中, 在 218 nm 处均出现了较弱的正峰. 图 6(c)中在 199 nm 出现了最小峰值, 图 6(b)中负峰的位置则在 200 nm 左右. 随着温度的升高, 两个 pH 条件下 PLL 的峰位置均无明显的改变. 而 218 nm 左右的正峰和 200 nm 以下的负峰是随机缠绕构型的典型谱图, 从而证明了在较低 pH 条件下, PLL 都是以随机缠绕的构型存在, 且构型不受温度的影响.

对 PLL 修饰的 PET 表面浸润性的研究也能够证明 PLL 在不同 pH 和温度下具有不同的构型. 中性条件下, PLL 的修饰使 PET 膜的接触角从 $(70.2 \pm 2.1)^\circ$ 减小到了 $(60.3 \pm 1.7)^\circ$. 进一步的接触角变化则在改变 pH 和温度时可以得到. 将修饰有 PLL 的 PET 膜浸泡在不同 pH 的缓冲溶液中, 保持一定温度 30 min 以上, 并测试接触角. 如图 7 所示, pH 较大时(pH 为 11.5), 温度对接触角的影响较为明显, 升高温度接触角从 25 °C 时的 $(64.4 \pm 2.1)^\circ$ 增大到 65 °C 时的 $(84.3 \pm 2.4)^\circ$. pH 为 11.5 时, 升高温度 PLL 修饰表面接触角的增大是由于 PLL 的分子构型发生了变化, 从 α -螺旋构型转变为 β -折叠构型所引起的^[31]. 而 pH 为 6.5 和 pH 为 3.5 时, 温度的改变对接触角的影响则较小. 这是因为, 较低 pH 下 PLL 构型相对稳定, 温度的变化不会引起 PLL 构型变化, 因此也对 PLL 修饰 PET 膜的接触角几乎没有影响. 而 pH 较大时(pH 为 11.5), 温度的改变引起了 PLL 构型的变化, 从而影响了 PLL 修饰 PET 膜表面接触角的增大. 这与 $I-V$ 测试和 CD 光谱测试的结果吻合. 即 PLL 修饰的 PET 纳米孔道, 在较低 pH 下孔道性质不受温度的影响, 而高 pH 时, 温度的升高引起了 PLL 的构型变化, 从而显著地影响了纳米通道内的离子输运性质.

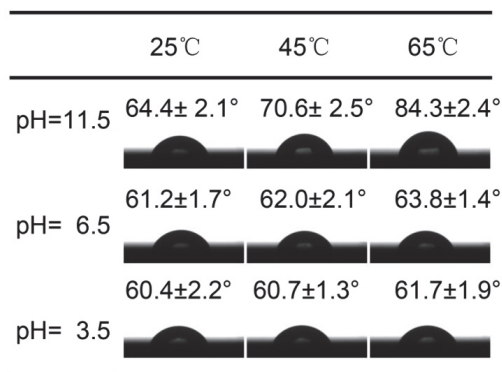


图 7 不同 pH 下, 温度的变化对 PLL 修饰的 PET 膜接触角的影响
Figure 7 Contact-angle images for PLL-modified PET membranes at different pH (11.5, 6.5 and 3.5, respectively) when raising temperature

3 结论

我们设计了一个基于人工聚合物薄膜的仿生纳米门控器件, 这种修饰聚赖氨酸的人工纳米门控器件具有较高且可调节的门控比. 纳米门控器件的离子整流方向可以通过协同调节 pH 和温度来控制. pH 较小时, 酸性条件下的纳米门控器件具有阳离子选择性, 表现出较大的门控比. 随着 pH 的增大, 纳米门控器件门控比逐渐减小, 中性条件下, 门控比接近 1, 此时的门控器件不具备门控效应. 当 pH 增大到 11.5 时, 纳米门控的整流方向与酸性条件下完全相反, 并也能够达到较大的门控比. 即 pH 的变化能够改变纳米门控器件的整流方向. 另一方面, pH 与温度协同作用时, 纳米门控器件的门控

比随着温度的改变表现出不同的变化。这种变化在较低 pH 下很难获得, 只有当 pH 大于 PLL 的 pK_a 时, 温度的变化能显著的提升门控的整流性能, 从而实现门控器件对 pH 和温度的协同响应。实现人工仿生器件对复杂信号进行智能响应从而表现出离子输运的可控制性质, 这对模仿自然结构制备更精密的仿生器件具有重要意义。具有复杂信号相应功能的仿生纳米门控器件, 为人工仿生纳米结构在生物传感、药物缓释、生物隔离器件等方面应用的进一步探索提供了更多可能。

4 实验部分

4.1 纳米通道的制备

多孔 PET 薄膜通过离子潜径迹刻蚀方法制备。PET 薄膜(厚度为 23 μm)是由德国重离子研究院提供。经过紫外照射的多孔 PET 薄膜被控制在两个电解槽中间, 两侧分别加入刻蚀液(9 mol/L NaOH)和阻止液(1 mol/L KCl+1 mol/L HCOOH)。孔道两侧施加 1 V 直流偏压, 即可获得锥形的纳米孔道。刻蚀完成后的 PET 薄膜, 用 Milli Q 超纯水浸泡, 静置过夜。

小孔端孔径是通过计算得出的, 应用纳米通道离子电导电流测试后的理论计算公式:

$$d_{\text{tip}} = \frac{4LI}{\pi k(c)UD}$$

其中, d_{tip} 是小孔端的孔径, D 是大孔端孔径, $k(c)$ 是电解质的电导率。测试中使用 1 mol/L KCl 溶液作为电解质, 因此, $k(c)$ 选用 1 mol/L KCl 溶液 25 $^{\circ}\text{C}$ 下的值为 $0.01117 \Omega^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ 。 L 是孔道长度, 近似看做 PET 薄膜的厚度, 23 μm 。 U 和 I 是孔道电导测试中的电压和测得的电流值。

4.2 聚赖氨酸(poly-L-lysine)的修饰

PLL(poly-L-lysine)的修饰使用两步化学修饰方法。PET 薄膜在 *N*-Hydroxysulfosuccinimide sodium salt (NHSS, 60 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)和 1-ethyl-3-(3-dimethyl aminopropyl) carbodiimide hydrochloride (EDC, 15 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)溶液中浸泡 3 h, 反应温度为 25 $^{\circ}\text{C}$ 。超纯水清洗 PET 薄膜后, 将其置于溶解浓度 4 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ PLL 的 PBS 缓冲溶液(pH = 8)中反应 24 h。修饰反应后, 将 PET 薄膜置于 pH 为 12.2 的 NaOH 溶液中浸泡 15 min。进行测试前, 修饰有 PLL 的 PET 薄膜用超纯水彻底冲洗, 并经 N_2 吹干。

4.3 电流-电压测试

测量通过纳米通道的离子电流大小可以量化纳米通道的离子输运性质。本实验中使用 Keithley 6487 皮安计(Keithley Instrument, Cleveland, OH)。多孔 PET 薄膜固定在两个电解槽中间。实验中采用 Pt 电极, 并使用 0.1 mol/L KCl 为电解液。测试电压以扫场方式输出, 从 -2 到 2 V, 周期为 40 s。每次测试均重复 5 次, 获得不同电流下的平均值。

4.4 圆二色谱(CD)测试

圆二色谱(CD)使用 JASCO J-190 圆二色谱仪控温测得。测试中使用光程为 1 mm 的石英池。PLL 浓度为 6 $\mu\text{mol/L}$, 溶液为 Milli Q 超纯水。扫描波长范围为 190~240 nm。

4.5 接触角(Contact-angle)测试

接触角测试使用 OCA20 (DataPhysics, 德国)光学视频接触角测试仪。每次测试中在 PET 膜上滴加 5 μL 水液滴。每次测试前, PLL 修饰 PET 膜在一定 pH 值的缓冲溶液中浸泡, 并保持一定温度, 30 min 后立即进行测试。平均接触角值是通过在同一样品上五处不同位置测试后的平均值。

References

- [1] Hille, B. *Ion Channels of Excitable Membranes*, Sinauer Associates, Sunderland, **2001**, pp. 1~21.
- [2] Hou, X.; Jiang, L. *ACS Nano* **2009**, *3*, 3339.
- [3] Zhang, L.-X.; Cai, S.-L.; Zheng, Y.-B.; Cao, X.-H.; Li, Y.-Q. *Adv. Funct. Mater.* **2011**, *21*, 2103.
- [4] Tang, C.; Wang, L.; Yun, Y.; Zhang, C.; Liu, B. *Acta Chim. Sinica* **2011**, *69*, 343. (唐橙橙, 王丽华, 贡延滨, 张陈淋, 刘必前, 化学学报, **2011**, *69*, 343.)
- [5] Hou, X.; Jiang, L. *Physics* **2011**, *40*, 304. (候旭, 江雷, 物理, **2011**, *40*, 304.)
- [6] Guo, Z. J.; Wang, J. H.; Hu, Y. H.; Wang, E. K. *Prog. Chem.* **2011**, *23*, 210. (郭志军, 王家海, 胡耀辉, 汪尔康, 化学进展, **2011**, *23*, 2103.)
- [7] Alcaraz, A.; Ramirez, P.; Garcia-Gimenez, E.; Lopez, M. L.; Andrio, A.; Aguilera, V. M. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 21205.
- [8] Ali, M.; Mafe, S.; Ramirez, P.; Neumann, R.; Ensinger, W. *Langmuir* **2009**, *25*, 11993.
- [9] Guo, W.; Jiang, L. *Sci. Sin. Chim.* **2011**, *41*, 1257. (郭维, 江雷, 中国科学: 化学, **2011**, *41*, 1257.)
- [10] Ali, M.; Bayer, V.; Schiedt, B.; Neumann, R.; Ensinger, W. *Nanotechnology* **2008**, *19*, 485711.
- [11] Ali, M.; Ramirez, P.; Nguyen, H. Q.; Nasir, S.; Cervera, J.; Mafe, S.; Ensinger, W. *ACS Nano* **2012**, *6*, 3631.
- [12] Ramirez, P.; Gomez, V.; Ali, M.; Ensinger, W.; Mafe, S. *Electrochem. Commun.* **2013**, *31*, 137.
- [13] Zhang, H.; Hou, X.; Zeng, L.; Yang, F.; Li, L.; Yan, D.; Tian, Y.; Jiang, L. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 16102.
- [14] Zhou, Y.; Guo, W.; Cheng, J.; Liu, Y.; Li, J.; Jiang, L. *Adv. Mater.* **2012**, *24*, 962.
- [15] Nasir, S.; Ali, M.; Ensinger, W. *Nanotechnology* **2012**, *23*, 225502.
- [16] Reber, N.; Kuchel, A.; Spohr, R.; Wolf, A.; Yoshida, M. *J. Membr. Sci.* **2001**, *193*, 49.
- [17] Guo, W.; Xia, H.; Xia, F.; Hou, X.; Cao, L.; Wang, L.; Xue, J.; Zhang, G.; Song, Y.; Zhu, D.; Wang, Y.; Jiang, L. *ChemPhysChem* **2010**, *11*, 859.
- [18] Zhang, Q.; Hu, Z.; Liu, Z.; Zhai, J.; Jiang, L. *Adv. Funct. Mater.* **2014**, *24*, 424.
- [19] Zhang, M.; Meng, Z.; Zhai, J.; Jiang, L. *Chem. Commun. (Camb.)* **2013**, *49*, 2284.
- [20] Ali, M.; Nasir, S.; Ramirez, P.; Ahmed, I.; Nguyen, Q. H.; Fruk, L.; Mafe, S.; Ensinger, W. *Adv. Funct. Mater.* **2012**, *22*, 390.
- [21] Hou, X.; Guo, W.; Xia, F.; Nie, F. Q.; Dong, H.; Tian, Y.; Wen, L.; Wang, L.; Cao, L.; Yang, Y.; Xue, J.; Song, Y.; Wang, Y.; Liu, D.; Jiang, L. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 7800.
- [22] Tian, Y.; Hou, X.; Wen, L.; Guo, W.; Song, Y.; Sun, H.; Wang, Y.; Jiang, L.; Zhu, D. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 1682.
- [23] Han, C.; Su, H.; Sun, Z.; Wen, L.; Tian, D.; Xu, K.; Hu, J.; Wang, A.; Li, H.; Jiang, L. *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 9388.
- [24] Tian, Y.; Zhang, Z.; Wen, L.; Ma, J.; Zhang, Y.; Liu, W.; Zhai, J.; Jiang, L. *Chem. Commun. (Camb.)* **2013**, *49*, 10679.
- [25] Meng, Z.; Jiang, C.; Li, X.; Zhai, J. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2014**, *6*, 3794.
- [26] Savariar, E. N.; Krishnamoorthy, K.; Thayumanavan, S. *Nat.*

- Nanotechnol.* **2008**, 3, 112.
- [27] Nasir, S.; Patricio, R.; Mubarak, A.; Ishtiaq, A.; Ljiljana, F.; Salvador, M.; AndWolfgang, E. *J. Chem. Phys.* **2013**, 138, 34709.
- [28] Burke, S. E.; Barrett, C. J. *Biomacromolecules* **2003**, 4, 1773.
- [29] Yameen, B.; Ali, M.; Neumann, R.; Ensinger, W.; Knoll, W.; Azzaroni, O. *Nano Lett.* **2009**, 9, 2788.
- [30] Che, Y. P.; Zhai, J. *Sci. Sin. Chim.* **2015**, 45, 262. (车玉萍, 翟锦, 中国科学: 化学, **2015**, 45, 262.)
- [31] Guo, Y.; Xia, F.; Xu, L.; Li, J.; Yang, W.; Jiang, L. *Langmuir* **2010**, 26, 1024.
- [32] McColl, I. H.; Blanch, E. W.; Gill, A. C.; Rhie, A. G.; Ritchie, M. A.; Hecht, L.; Nielsen, K.; Barron, L. D. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 10019.
- [33] Ali, M.; Ramirez, P.; Nasir, S.; Nguyen, Q.-H.; Ensinger, W.; Mafé, S. *Nanoscale* **2014**, 6, 10740.
- [34] Siwy, Z.; Fuliński, A. *Phys. Rev. Lett.* **2002**, 89, 198103.
- [35] Xia, F.; Guo, W.; Mao, Y.; Hou, X.; Xue, J.; Xia, H.; Wang, L.; Song, Y.; Ji, H.; Ouyang, Q.; Wang, Y.; Jiang, L. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 8345.
- [36] Tahir, M. N.; Ali, M.; Andre, R.; Müller, W. E. G.; Schröder, H.-C.; Tremel, W.; Ensinger, W. *Chem. Commun. (Camb.)* **2013**, 49, 2210.
- [37] Zhang, M.; Hou, X.; Wang, J.; Tian, Y.; Fan, X.; Zhai, J.; Jiang, L. *Adv. Mater.* **2012**, 24, 2424.
- [38] Sun, Z.; Han, C.; Song, M.; Wen, L.; Tian, D.; Li, H.; Jiang, L. *Adv. Mater.* **2014**, 26, 455.
- [39] Kalman, E. B.; Vlassiuk, I.; Siwy, Z. S. *Adv. Mater.* **2008**, 20, 293.
- [40] Siwy, Z. S. *Adv. Funct. Mater.* **2006**, 16, 735.
- [41] Ali, M.; Ramirez, P.; Mafé, S.; Neumann, R.; Ensinger, W.; Mafé, S. *ACS Nano* **2009**, 3, 603.
- [42] Ali, M.; Nasir, S.; Ramirez, P.; Cervera, J.; Mafé, S.; Ensinger, W. *ACS Nano* **2012**, 6, 9247.
- [43] Guo, Y.; Ma, Y.; Xu, L.; Li, J.; Yang, W. *J. Phys. Chem. C* **2007**, 111, 9172.
- [44] Dzwolak, W.; Ravindra, R.; Nicolini, C.; Jansen, R.; Winter, R. J. *Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 3762.

(Lu, Y.)