

超分子组装体动态重构综合实验

李盼盼, 王仲瑞, 王旭*

山东大学化学与化工学院, 济南 250100

摘要: 为提高化学及相关专业本科生对超分子化学及耗散结构的认知并锻炼其大学化学综合实验技能, 设计了基于鸟苷5'-单磷酸二钠盐与尿素-脲酶计时反应的超分子组装体动态重构综合实验。本实验主要包括基于计时反应的非平衡超分子组装体系构建方法、结构表征、组装体动态重构机制探究等内容。通过科教融合的形式提高学生对科学研究的兴趣, 培养学生科学思维; 通过本实验的实践, 可提升学生综合技能。

关键词: 计时反应; 非平衡过程; 超分子组装; 脲酶; 综合化学实验

中图分类号: G64; O6

Comprehensive Chemical Experiment of Dynamic Reconfiguration of Supramolecular Assemblies

Panpan Li, Zhongrui Wang, Xu Wang *

School of Chemistry and Chemical Engineering, Shandong University, Jinan 250100, China.

Abstract: To improve the undergraduate understanding of supramolecular chemistry and dissipative structures and train their ability to conduct comprehensive chemical experiments, this paper proposes an experiment of dynamic reconfiguration of supramolecular assemblies that is based on guanosine 5'-monophosphate disodium salt and the urea-urease clock reaction. This experiment covers the construction approach and structural characterization of the nonequilibrium supramolecular assembly system based on the clock reaction, as well as the exploration of the mechanism of the dynamic reconfiguration of the assemblies. Integrating science and education can prompt students' interest in scientific investigation, cultivate their scientific thinking, and improve their comprehensive skills.

Key Words: Clock reaction; Nonequilibrium processes; Supramolecular assembly; Urease; Comprehensive chemical experiment

科学家们因其在超分子化学与耗散结构研究方面的贡献而分别获得了1977年和1987年的诺贝尔化学奖^[1,2]。这些重要成果是人类向生命体深入学习而获得的。在生物系统中, 化学燃料或能量的输入可激活结构单元, 使其自组装形成瞬态结构。生命体利用这种受控于耗散热力学的非平衡超分子组装来调整其结构和功能以实现自我调节^[3-8]。受此启发, 研究者们设计出了一系列化学燃料驱动的、瞬态的、远离热力学平衡态的超分子体系, 并将其应用于智能材料的研究和开发^[9-16]。开发非平衡组装体系并探究其组装机制可以加深对生命体的理解, 并在设计和开发新型智能材料中发挥重要作用。

利用非平衡组装可以制备出结构、功能、寿命可调的瞬态材料, 其中以瞬态水凝胶材料最为典

收稿: 2022-10-26; 录用: 2023-01-16; 网络发表: 2023-02-01

*通讯作者, Email: wangxu@sdu.edu.cn

基金资助: 国家自然科学基金(21975145)

型^[17]。近年来,科学家通过模仿生命系统中的组装-解组装行为并结合化学反应网络,制备出了多种可应用于药物控释及信息加密等领域的瞬态水凝胶材料^[9,10,15]。与此同时,对合成体系非平衡组装机制的深入研究同样备受关注。设计相关实验,可使学生初步接触超分子化学领域的前沿问题,激发其学习兴趣与热情,并锻炼其综合实验技能。

在本实验中,将构建一个宏观上表现出沉淀→凝胶→沉淀转变现象的非平衡组装体系,并提出超分子组装体动态重构机制。该实验操作简便,现象明显,适合实验教学,除基础操作外,还加入透射电子显微镜(TEM)、荧光光谱仪、圆二色谱仪的使用,让学生在实验过程中不仅可以学习到非平衡组装体系的构建方法及组装机制,还能满足学生学习现代科学表征技术的需求。

1 实验目的

- (1) 了解非平衡组装的研究现状及应用前景。
- (2) 掌握非平衡组装体系的构建方法。
- (3) 掌握圆二色光谱和荧光光谱用于非平衡组装体系研究的分析方法。

2 实验原理

G-四分体是四个鸟嘌呤通过Hoogsteen氢键连接形成的环状平面,两个或两个以上的G-四分体通过 π - π 堆积形成G-四链体^[18,19]。鸟苷5'-单磷酸二钠盐(GMP)在酸性条件下可形成G-四分体和G-四链体结构,GMP的磷酸基团使其具有pH响应性和离子结合能力(图1)^[19]。因此,将GMP与化学燃料驱动的pH计时反应合理地结合在一起,即可构建非平衡组装体系。尿素-脲酶计时反应是一个经典的、常用来控制超分子体系性质的pH计时反应^[20,21]。镧离子(La^{3+})的交联作用可进一步放大组装体,从而便于直接观测体系的相转变行为。而且,GMP、 La^{3+} 、脲酶(urease)在碱性和酸性条件下分别组装成纳米颗粒和纳米纤维,在宏观上则分别表现为沉淀与凝胶(图2)。因此,在本实验中,向初始pH为8的GMP/ La /urease体系中加入化学燃料(酸性尿素溶液),体系pH迅速下降,GMP/ La /urease从沉淀状态变成凝胶态;与此同时,体系中的urease催化分解尿素产生氨,使得体系pH缓慢上升,达到一定pH后,GMP/ La /urease从凝胶态变为沉淀状态,至此,实现了沉淀→凝胶→沉淀动态转换,即超分子组装体的动态重构(图3)。该体系还可通过反复添加化学燃料实现沉淀→凝胶→沉淀重复转变。

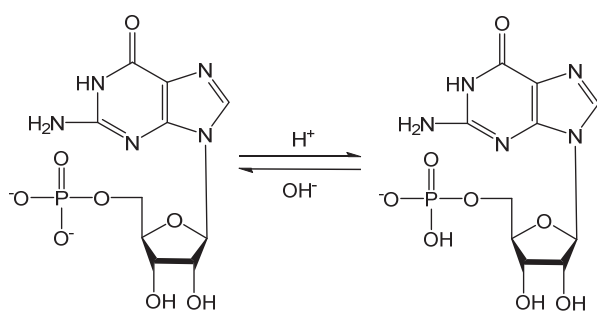


图1 GMP的化学结构式

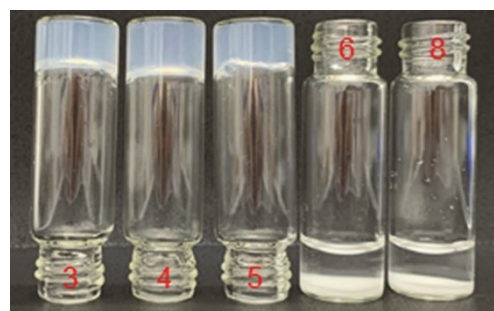


图2 GMP/ La /urease体系在不同pH下的宏观状态

3 实验仪器与试剂

实验所用仪器和实验所用试剂详见表1、表2。

4 实验步骤

4.1 溶液配制

浓度为 $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的GMP水溶液的配制:称取 8.144 g GMP,少量蒸馏水溶解,转移至容量瓶,用蒸馏水定容至 100 mL 。

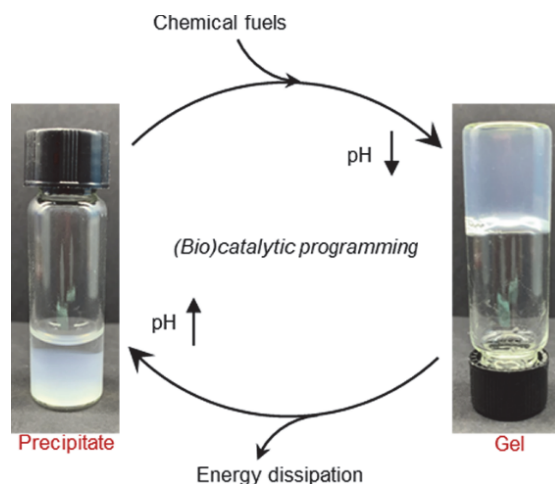


图3 GMP/La/urease体系的超分子组装体动态重构过程

表1 主要实验仪器

仪器名称	型号	厂家
荧光光谱仪	FluoroMax-4	日本Horiba
圆二色谱仪	ChirascanV100	英国Applied Photophysics
pH计	START3100	美国Ohaus
透射电子显微镜	HT-7700	日本Hitachi

表2 主要实验药品

试剂名称	纯度	生产厂家
鸟苷5'-单磷酸二钠盐	99%	北京百灵威科技有限公司
硝酸镧六水合物	99.9%	北京百灵威科技有限公司
脲酶	15000–50000 U·g ⁻¹	西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司
硫黄素T	65%–100%	上海阿拉丁生化科技股份有限公司
尿素	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
柠檬酸, 一水	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
二水合柠檬酸三钠	分析纯	国药集团化学试剂有限公司

浓度为16 mmol·L⁻¹的La(NO₃)₃水溶液的配制: 称取0.6928 g La(NO₃)₃, 少量蒸馏水溶解, 转移至容量瓶, 用蒸馏水定容至100 mL。

配制浓度为5 mg·mL⁻¹的脲酶水溶液: 称取0.05000 g脲酶, 少量蒸馏水溶解, 转移至容量瓶, 用蒸馏水定容至10 mL。

配制化学燃料: 称取9 g尿素, 用100 mL浓度为1 mol·L⁻¹的柠檬酸缓冲液(pH = 4)溶解。

4.2 非平衡组装体系的构建

(1) 取0.5 mL浓度为200 mmol·L⁻¹的GMP水溶液、0.5 mL浓度为16 mmol·L⁻¹的La(NO₃)₃溶液、0.4 mL浓度为5 mg·mL⁻¹的脲酶水溶液、0.4 mL蒸馏水, 混合均匀, 得到带有沉淀的溶液, 取出少量样品进行TEM分析, 并测定此时体系的pH、荧光光谱和圆二色光谱。

(2) 向上述沉淀中加入0.2 mL化学燃料(酸性尿素溶液), 混合均匀, 静置1 min, 得到不透明水凝胶。观察变化并定时拍摄照片、取样进行TEM分析、测定pH、荧光光谱和圆二色光谱。

5 结果与讨论

5.1 加入化学燃料后, GMP/La/urease体系状态随时间的变化

如图4所示,向初始pH=8的GMP/La/urease体系中加入化学燃料(最终浓度为: $9\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 尿素, $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 柠檬酸缓冲液, pH=4)后, GMP/La/urease体系的pH迅速下降, 沉淀快速变成凝胶。与此同时, 化学燃料中的尿素在体系中脲酶的催化下会缓慢分解产生氨, 使得体系pH升高, GMP/La/urease凝胶逐渐变成了沉淀。以上沉淀→凝胶→沉淀动态变化的结果说明GMP/La/urease体系在非平衡组装过程中一直存在超分子组装体, 该非平衡组装过程是一个超分子组装体动态重构的过程。

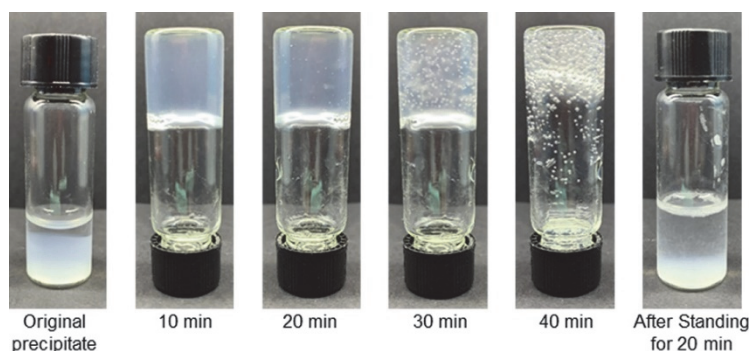


图4 加入化学燃料后, GMP/La/urease体系状态随时间变化

5.2 加入化学燃料后, GMP/La/urease体系pH随时间的变化

向GMP/La/urease体系中加入化学燃料, 体系的pH会随时间变化而发生变化, 结果如图5所示。从图中可看出, 化学燃料的加入使得体系pH呈现先降后升的趋势, 这主要是由于化学燃料中包含的酸性缓冲液使得体系pH快速下降, 而化学燃料中的尿素在脲酶催化下分解生成氨, 从而使得体系pH缓慢上升。pH的变化是导致GMP/La/urease组装行为发生变化的主要原因。

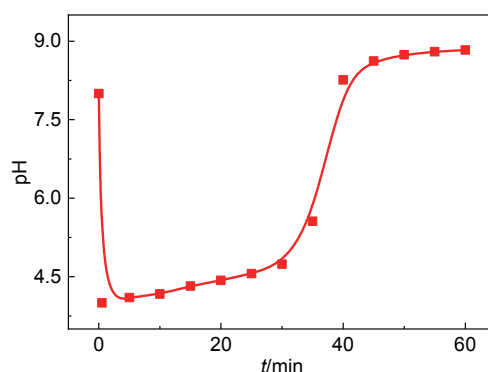


图5 加入化学燃料后, GMP/La/urease体系pH随时间变化

5.3 GMP/La/urease非平衡组装过程中微观结构的变化

本实验利用透射电子显微镜观察GMP/La/urease体系非平衡组装过程中微观结构的变化。如图6所示, 未加入化学燃料时, GMP/La/urease形成了不规则的纳米颗粒, 这主要是因为此时体系处于碱性状态, GMP上的磷酸基团质子化程度较低, 带负电荷较多, 与金属离子之间的静电相互作用更强; 加入化学燃料后, 不规则聚集体变成了纳米纤维, 体系变为酸性环境, GMP上的磷酸基团质子化程度变高, GMP与 La^{3+} 之间的相互作用以离子-偶极相互作用为主, 形成了G-四链体结构, urease作为交联剂将纤维连接在一起形成三维网络结构。随着时间的推移, 纳米纤维解离, 重新变回了不规则

的聚集体。TEM结果进一步证实GMP/La/urease体系在沉淀→凝胶→沉淀变化过程中一直存在超分子组装体，该非平衡组装过程是一个超分子结构动态重构的过程。

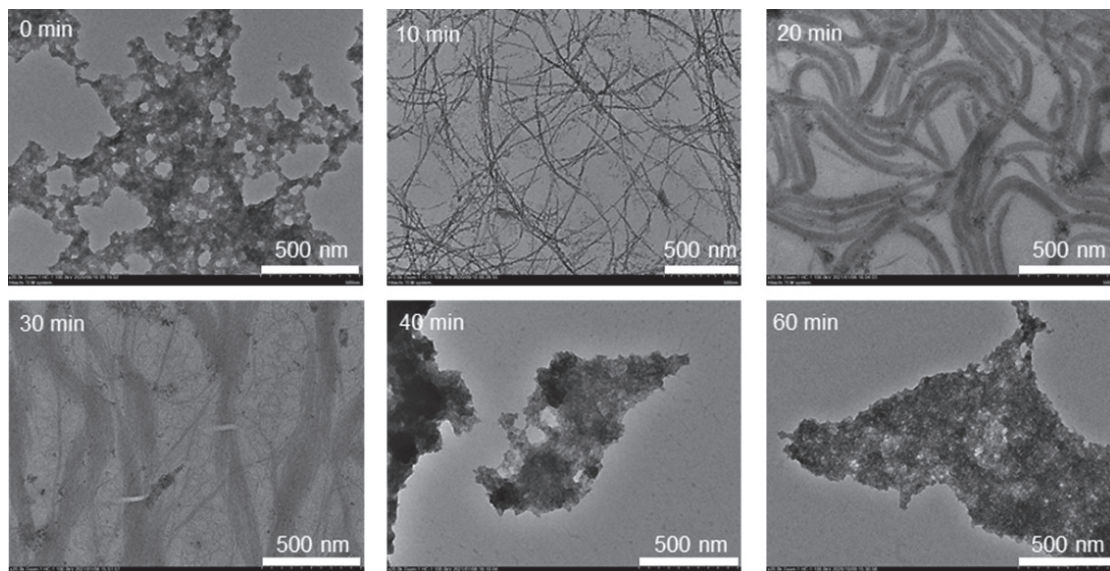


图6 加入化学燃料后，GMP/La/urease体系在不同时间时的TEM图

5.4 GMP/La/urease非平衡组装过程中荧光性质的变化

如图7所示，硫黄素T (ThT)分子由一个苯胺环和一个苯并噻唑环组成，这两个环可以围绕C—C键自由旋转，导致ThT荧光很低，当ThT与G-四链体特异性结合时，这种旋转被限制，ThT的荧光得以增强，基于此原理，ThT被广泛用作检测G-四链体结构的荧光指示剂。在本实验中，将ThT加入GMP/La/urease中，然后加入化学燃料，通过测定非平衡组装过程中荧光强度的变化来监测该过程中超分子组装体的结构演化。从图8中的结果可看出，GMP/La/urease/ThT在490 nm处的荧光强度呈现先增后减的趋势，说明化学燃料的加入使得GMP/La/urease非平衡组装体系中暂时出现了G-四链体结构。随后，荧光强度的下降表明G-四链体结构发生了解离。

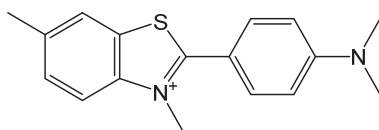


图7 ThT的化学结构式

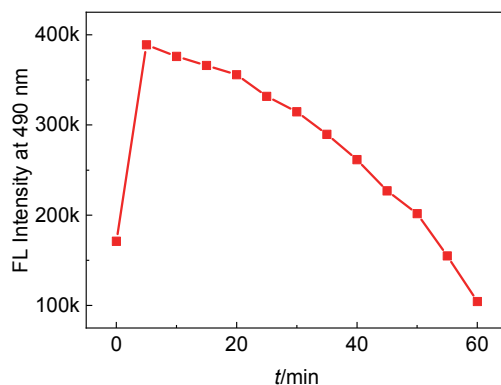


图8 GMP/La/urease/ThT体系随时间变化的荧光强度

5.5 GMP/La/urease非平衡组装过程中圆二色性的变化

圆二色光谱学是用来检测G-四链体结构的常用方法之一,因此,本实验中用圆二色光谱学监测了GMP/La/urease非平衡组装过程中超分子组装体的结构演化,结果如图9所示。在加入化学燃料后,GMP/La/urease在240 nm处的圆二色信号出现先增后减的趋势,表明G-四链体先形成后解离的动态变化。该结果与上述实验结果相一致,都说明了本实验中非平衡组装的机制是超分子结构动态重构,而不是传统的组装-解组装机制,也证实了合成非平衡组装体系的多样性。

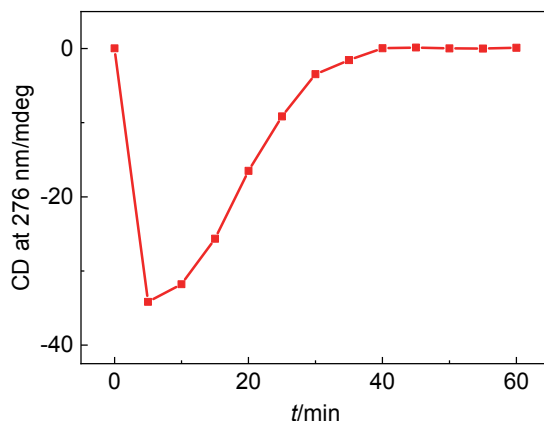


图9 GMP/La/urease/ThT体系随时间变化的圆二色性

6 实验组织运行建议

(1) 本实验是利用酶促计时反应调控超分子组装体的动态重构,与大多数传统的自组装过程和非平衡组装过程均不同,建议本科高年级开设。建议学生课前做好预习,阅读相关文献资料,理解非平衡组装的特点及其与自组装的区别,理解本实验设计原理。

(2) 化学燃料中的尿素可与酸反应或发生水解,为了避免化学燃料失去作用,建议本实验中所用化学燃料现配现用,以保证非平衡组装体系的成功构建。

(3) 化学燃料中尿素浓度对氨单位时间内的产生量影响较大,进而影响体系pH变化速率和瞬态凝胶寿命,尿素浓度越高,氨单位时间内的产生量越大,体系pH升高得越快,瞬态凝胶的寿命越短,实验过程中教师可根据课程时间选择合适的尿素浓度来调节瞬态凝胶的寿命。

(4) 实验开始前建议教师向学生讲解实验原理、仪器使用方法及注意事项等。

(5) 本实验为综合性实验,涉及大型仪器的使用,建议每名同学独立完成非平衡组装体系的构建及照片拍摄、pH监测,结构及性质表征可分组进行,共同学习仪器的使用并分析、讨论实验结果。

(6) 每名同学需在课后独立完成实验报告,积极思考,对所得数据进行整理和分析。在完成实验报告的过程中巩固知识,深刻理解非平衡组装原理。

7 结语

本文介绍了一个大学化学综合实验,主要包括了超分子组装体动态重构体系的构建方法、机理研究及性质和结构的表征方法等相关内容。非平衡组装体系的构建和机理研究是目前比较热门的科研方向,本文将最新的科研成果转化为化学综合实验的教学内容,有助于提高学生对科学研究的兴趣,引领学生了解科技前沿,培养学生科学思维。通过实验操作,可锻炼学生实验操作能力,使学生掌握大型仪器的使用方法及数据分析方法,提升学生综合技能,为学生日后科研工作奠定坚实的基础。

参 考 文 献

- [1] 吴成泰, 何永炳. 大学化学, **1988**, 3 (5), 1.
- [2] Kondepudi, D.; Petrosky, T.; Pojman, J. A. *Chaos* **2017**, 27, 104501.
- [3] Merindol, R.; Walther, A. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, 46, 5588.
- [4] van Rossum, S. A. P.; Tena-Solsona, M.; van Esch, J. H.; Eelkema, R.; Boekhoven, J. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, 46, 5519.
- [5] Singh, N.; Formon, G. J. M.; De Piccoli, S.; Hermans, T. M. *Adv. Mater.* **2020**, 32, 1906834.
- [6] Das, K.; Gabrielli, L.; Prins, L. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2021**, 60, 20120.
- [7] Weißenfels, M.; Gemen, J.; Klajn, R. *Chem* **2021**, 7, 23.
- [8] 高文颖, 刘义, 李伟, 屈松生. 大学化学, **2004**, 19 (4), 30.
- [9] Cheng, M.; Qian, C.; Ding, Y.; Chen, Y.; Xiao, T.; Lu, X.; Jiang, J.; Wang, L. *ACS Mater. Lett.* **2020**, 2, 425.
- [10] Fischer, A.; Lilienthal, S.; Vázquez-González, M.; Fadeev, M.; Sohn, Y. S.; Nechushtai, R.; Willner, I. *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, 142, 4223.
- [11] Jalani, K.; Dhiman, S.; Jain, A.; George, S. J. *Chem. Sci.* **2017**, 8, 6030.
- [12] Wang, Y.; Xu, Z.; Lovrak, M.; Le Sage, V. A. A.; Zhang, K.; Guo, X.; Eelkema, R.; Mendes, E.; van Esch, J. H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2020**, 59, 4830.
- [13] Lu, H.; Hao, J.; Wang, X. *ChemSystemsChem* **2022**, 4, e202100050.
- [14] Zhang, C.; Lu, H.; Wang, X. *Chin. J. Chem.* **2022**, 40, 2794.
- [15] Zhang, K.; He, N.; Zhang, C.; Wang, X. *Coll. Surf. A* **2022**, 648, 129431.
- [16] Li, P.; Song, A.; Hao, J.; Wang, X. *Soft Matter* **2022**, 18, 3856.
- [17] 逯浩月, 王旭, 郝京诚. 科学通报, **2021**, No. 66, 1733.
- [18] Hoogsteen, K. *Acta Cryst.* **1959**, 12, 822.
- [19] Zhang, J.; Li, X.; Sun, X.; Song, A.; Tan, Y.; Hao, J. *Sci. China Chem.* **2018**, 61, 604.
- [20] Panja, S.; Adams, D. J. *Chem. Eur. J.* **2021**, 27, 8928.
- [21] Che, H.; Cao, S.; van Hest, J. C. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, 140, 5356.