电化学表面增强红外光谱: 仿生膜界面局域水结构研究的新方法

李景虹

清华大学化学系, 北京 100084
E-mail: jhli@mail.tsinghua.edu.cn

Electrochemical surface enhanced infrared spectroscopy: A new method to study the local water structure of biomimetic membrane interface

Jinghong Li

Department of Chemistry, Tsinghua University, Beijing 100084, China
E-mail: jhli@mail.tsinghua.edu.cn

doi: 10.1360/TB-2020-0590

水作为最常用的溶剂分子, 其特有的氢键、偶极结构对许多物理、化学、生物过程均具有重要影响. 由于水的局部结构和取向将极大地影响双电层的静电性质, 其在固/液界面随外部电场演变的研究受到了极大关注^[1,2]. 磷脂极性头部的固有偶极和静电场限制了界面水的移动, 进一步增加了局部水结构的复杂性. 然而, 受限于分析方法, 对于外部电场如何调控磷脂膜/溶液界面水的结构却少有报道^[3]. 进一步阐述施加的外部电场如何与磷脂的固有静电场共同影响界面水结构, 将为调节与磷脂膜相关的许多重要生物功能, 如信号转导和离子转运等提供有力的科学指导. 最近, 中国科学院长春应用化学研究所姜秀娥团队^[4]在这一方面取得了重要进展: 基于电化学表面增强红外光谱表界面选择性及高灵敏的指纹特征, 利用电位和离子的双重扰动, 揭示了受限于磷脂极性头部的强氢键水随电场的演变及其对磷脂膜的静电性质的贡献. 相关论文以“The structure of water bonded to phosphate groups at the electrified zwitterionic phospholipid membranes/aqueous interface”为题发表在*Angewandte Chemie International Edition*.

目前很多生物膜的研究方法如质谱、增强拉曼光谱、表面等离子体共振光谱、石英晶体微天平、原子力显微镜及荧光共聚焦显微镜加速了我们对膜的结构、动力学变化及膜组分的时空分布的研究, 但是都不能直接探测生物膜界面水的变化. 表界面敏感的和频振动光谱可以有效探测界面水的结构, 但是受限于非线性光学严格的界面非对称

性的要求, 研究模型往往基于空气-水界面的单层磷脂膜, 很难对非氘代的对称磷脂双层膜进行研究. 由于水在中红外的强吸收, 红外光谱成为研究水分子结构和取向的有力工具. 若将红外光谱应用于膜-水界面的研究, 如何解决体相水的强吸收对单层生物膜红外吸收的干扰, 对于选择性地探测界面水的结构尤为关键.

姜秀娥研究员课题组利用全反射界面上等离子激元电磁场的光学近场效应选择性增强膜和膜上3~5 nm范围内水的红外吸收, 同时基于水在中红外的强吸收与电磁场增强的协同效应, 构建超灵敏的分析方法, 实现界面水的选择性探测, 消除体相水的干扰, 将水信号从干扰信号转变为红外探针, 逐渐形成了以界面水为特色的研究体系. 基于前期的工作基础, 以及目前对仿生膜界面局域水结构随外部电场演变研究的不足, 该团队采用两性的蛋黄卵磷脂(PC)作为模型体系, 对这一问题进行了深入的研究(图1).

纳米结构的金属薄膜在提供增强效果的同时还可以用作工作电极. 如图2所示, 在电极表面施加一系列极化电位(-0.3~0.7 V), 并添加与 PO_2^- 特异性结合的 Ca^{2+} , 用于扰动 PO_2^- 周围的水合壳. 光谱呈现出一个波数为 3000 cm^{-1} 左右的负带, 同时 PO_2^- 的对称伸缩振动蓝移($1108(+)/1092(-)\text{ cm}^{-1}$), 表明 PO_2^- 去水合. 进一步添加 Ca^{2+} 的螯合剂 $\text{EDTA}\cdot 2\text{Na}$, 发现 3000 cm^{-1} 左右的振动带涨落与 Ca^{2+} 在膜上的脱附/吸附直接相关. 同时, 电化学均观察到了对应离子吸附、脱附的电流变化. 以上结果清楚地表明 3000 cm^{-1} 左右的振动带与 PO_2^- 键

图1 (网络版彩色)受限于磷脂极性头部的水分子在外部电场及离子扰动下的演变和相应的偶极电位变化的示意图

Figure 1 (Color online) Schematic diagram of the evolution of water molecules restricted by the polar head of phospholipids under the disturbance of external electric fields and ions and the corresponding changes in dipole potential

合的强氢键水有关。这一结果是十分令人惊喜的,即使向体系施加了0.7 V的正电位,具有该特征的水仍然存在,并没有出现预期的水偶极随外部电场翻转的现象。

结果表明, PO_2^- 附近的强氢键水的存在与跨膜电位无关,并且这部分水会极大地影响磷脂膜的静电性质。如图3所示, Ca^{2+} 去除 PO_2^- 附近的强氢键水导致体系的开路电位(OCP)显著负移,这远大于添加 Na^+ 所引起的变化,即使将 Na^+ 的浓度增加到10倍,排除了OCP变化是由于离子强度对局部电场的屏蔽效应的可能性。 PO_2^- 附近的强氢键水对磷脂膜静电性质的显著影响可能与其高度定向及强偶极有关。

总之,利用电化学表面增强红外光谱揭示了仿生膜界面局域水结构随跨膜电位的演变。结果表明与 PO_2^- 结合的强氢键水可以在一定程度上抵抗外部电势的干扰,去除这种强氢键水将对磷脂膜的静电性质产生显著影响。这一研究结果加深了对膜/溶液界面处双电层结构的基本理解,为调节膜蛋白的静电依赖性功能以及新型催化剂的设计开辟了新的前景。

图2 (网络版彩色)光谱电化学揭示 Ca^{2+} 对磷脂膜界面水的扰动。(a)在磷脂膜上施加外部电场和在外电场存在下 Ca^{2+} 与磷脂头基结合以及 $\text{EDTA}\cdot 2\text{Na}$ 螯合 Ca^{2+} 的示意图;(b)在不同的外部电场下,添加 Ca^{2+} 和 $\text{EDTA}\cdot 2\text{Na}$ 盐时 I - T 曲线的变化,向下和向上箭头分别表示添加 Ca^{2+} 和 $\text{EDTA}\cdot 2\text{Na}$ 盐;(c) Ca^{2+} 诱导不同极化电位下的磷脂膜的差谱;重新采集背景后(d)记录 $\text{EDTA}\cdot 2\text{Na}$ 盐在不同的极化电位下的样品谱

Figure 2 (Color online) Spectroelectrochemistry revealed the disturbance of Ca^{2+} on the interfacial water of phospholipid membranes. (a) Schematic representation of the application of external electric fields to the phospholipid membranes, binding of Ca^{2+} with the phospholipid head groups and the chelation of Ca^{2+} by $\text{EDTA}\cdot 2\text{Na}$ in the presence of external electric fields. (b) The change in the I - T curve when adding Ca^{2+} and $\text{EDTA}\cdot 2\text{Na}$ salts at different applied potentials. The down and up arrows indicate the addition of Ca^{2+} and $\text{EDTA}\cdot 2\text{Na}$, respectively. (c) The Ca^{2+} -induced difference spectra with the phospholipid membranes at different potentials as the reference spectrum, respectively, and then a new reference spectrum was measured and (d) the sample spectra were recorded after $\text{EDTA}\cdot 2\text{Na}$ was added

图 3 (网络版彩色)离子对体系电位的扰动。添加不同浓度的不同种类的离子时体系OCP变化(a)以及添加 Ca^{2+} 前后, 固体支持的磷脂双层膜的电位分布变化的示意图(b)

Figure 3 (Color online) The disturbance of ions on the potential of the system. The change in OCP when different kinds of ions were added with different concentrations (a) and the schematic representation of the change in potential distribution of solid supported phospholipid bilayer membranes before and after the addition of Ca^{2+} (b)

参考文献

- 1 Velasco-Velez J J, Wu C H, Pascal T A, et al. The structure of interfacial water on gold electrodes studied by X-ray absorption spectroscopy. *Science*, 2014, 346: 831–834
- 2 Tong Y, Lapointe F, Thämer M, et al. Hydrophobic water probed experimentally at the gold electrode/aqueous interface. *Angew Chem Int Ed*, 2017, 56: 4211–4214
- 3 Chen X, Hua W, Huang Z, et al. Interfacial water structure associated with phospholipid membranes studied by phase-sensitive vibrational sum frequency generation spectroscopy. *J Am Chem Soc*, 2010, 132: 11336–11342
- 4 Li S, Wu L, Zhang X, et al. The structure of water bonded to phosphate groups at the electrified zwitterionic phospholipid membranes/aqueous interface. *Angew Chem Int Ed*, 2020, 59: 6627–6630