从高分子构象与动力学到蛋白质折叠

曹学正*, 陈虎*, 吴晨旭*

厦门大学物理科学与技术学院物理学系, 生物仿生与软物质研究院, 福建省柔性功能材料重点实验室, 厦门 361005

*联系人, 曹学正, E-mail: xzcaoz@xmu.edu.cn; 陈虎, E-mail: chenhu@xmu.edu.cn; 吴晨旭, E-mail: cxwu@xmu.edu.cn

收稿日期: 2020-10-31; 接受日期: 2020-12-15; 网络出版日期: 2021-01-25

国家自然科学基金(编号: 11974291, 11874309, 11474237, 11574310)资助项目

摘要 针对作用在聚合物刷上的键拉力研究表明作用在接枝基面上的力随着聚合物刷接枝密度的增大反而减小, 然而尾端单体上的拉伸张力并没有消失. 高分子的构象和动力学转变决定了其物性和多种多样的应用, 而生物大分子蛋白质作为由二十种不同属性的氨基酸构成的序列, 更是具有由其序列所决定的特别的三维自然结构. 本文就聚合物刷、聚合物纳米复合材料、聚合物网络等几种高分子体系的构象与动力学过程, 及蛋白质构象和其折叠与去折叠的动力学过程做了介绍. 特别是蛋白质的折叠与去折叠速率在单分子操纵实验中受到拉力的调控, 通过测量这种拉力依赖的动力学过程、蛋白质的自由能曲面和折叠去折叠路径可以得到系统全面的研究. 本文以肌肉蛋白titin的免疫球蛋白结构域I27为例对蛋白质折叠研究进行了阐述.

关键词 聚合物刷, 聚合物纳米复合材料, 蛋白质折叠

PACS: 47.57.Ng, 61.46.Df, 61.25.Hq, 82.35.Rs, 82.37.Gk

1 聚合物刷

由高分子链的一端嫁接在基底上制备而成的聚合物刷, 由于其独特的物理、化学性质, 逐渐成为多学科交叉的热点研究方向. 近几十年以来, 人们不仅发现聚合物刷在溶液中可以稳定胶体颗粒防止它们凝聚, 还发现它在其他方面的应用, 比如有机杂化材料制备、高分子润滑剂、细胞生长控制、仿生材料制备、微反应器以及药物投放等^[1-4], 这些研究热点在生物医药方面有着重要的应用. 通过对聚合物刷的理论探究与动力学研究, 首先, 解决聚合物刷在

理论发展过程中的争议矛盾; 其次, 将理论与数值计算模拟结合, 以解决高分子领域的实际科学问题, 进而建立起有效的聚合物刷物理特性理论体系.

1.1 Alexander-de Gennes 刷子

当高分子链吸附在表面上时, 表面限制了高分子链的构象空间. 高分子链的构象取决于相互作用能和弹性能的平衡. 在吸附密度足够高的情况下, 高分子链之间会发生强烈重叠, 单元之间的相互作用增大, 使得高分子链为了减少重叠程度往垂直于

引用格式: 曹学正, 陈虎, 吴晨旭. 从高分子构象与动力学到蛋白质折叠. 中国科学: 物理学 力学 天文学, 2021, 51: 030008

Cao X-Z, Chen H, Wu C-X. From polymer configuration and dynamics to protein folding (in Chinese). Sci Sin-Phys Mech Astron, 2021, 51: 030008, doi: [10.1360/SSPMA-2020-0427](https://doi.org/10.1360/SSPMA-2020-0427)

吸附面的方向伸展, 这个会减小链相互作用能, 但增加弹性自由能. 早在1977年, Alexander^[5]就利用标度理论提出了刷子模型来解释高分子链吸附在表面的构象. 后来, de Gennes^[6]也提出串珠模型来描述末端被吸附的高分子链. 基于标度分析的高分子刷模型简称为AdG模型, 也称为Box-Model (见图1), 相关长度和标度理论的概念可以用来解释聚合物中大量的物理学问题.

1.2 自洽场理论

在Alexander-de Gennes的模型中, 高分子链自由端都分布在刷子末端, 且聚合物单元在刷子内均匀分布, 它的密度分布呈阶梯状. 由于这个假设过分简单, 大大忽略了高分子链的构象熵影响, 所以自洽场解析理论被用来描述高分子链自由端在刷子体内自行分布规律. 早期, Scheutjens和Fleer^[7]就建立了有关共聚物吸附的格子自洽理论. 同时, Cosgrove等人^[8]利用格子自洽理论描述了一端被吸附的链构象行为, 他们得到了有别于标度理论的单体密度分布. 早期的一些研究提出了对高分子链可采用粗粒化模型, 再通过数学分析把粒子模型变成场论模型. 但解析自洽理论的缺点在于它只考虑了聚合物体系的最可几构象, 围绕最可几构象的波动被忽略掉. 这种波动对于刷子的结构可能会产生重要的影响, 特别

是低吸附密度的情况. 在考虑各种构象的情况下, 必须引入数值自洽场理论^[9-14]. 在数值自洽场模型中, 在距离吸附面 z 的单体密度是所有构象在这个位置的单体密度乘上对应构象权重的和.

1.3 标度理论

带电高分子刷由于其带电行为而产生很多不同于中性聚合物刷的物理特性, 因此越来越多的人开始关注这个研究领域. 早在50年前, Kuhn等人^[15]就描述了带电聚合物链的Flory行为, 早期的带电聚合物刷理论研究则由Miklavic等人^[16]以及Misra等人^[17]建立. 带电聚合物刷的高度取决于高分子链的弹性能与游离离子渗透压的平衡, 其中弹性能趋向于减小刷子高度, 而游离离子的渗透压则相反, 它趋向于增大刷子高度. 带电聚合物刷的高度取决于高分子链的弹性能与游离离子渗透压的平衡, 其中弹性能趋向于减小刷子高度, 而游离离子的渗透压则相反, 它趋向于增大刷子高度. 为了更形象理解标度理论, 两个特征长度被用来表示带电聚合刷的一些特质, 其中一个特征长度就是刷子的高度, 另外一个高度是游离离子层的高度 H , 图2给出了两种情况. 一种是弱电聚合物刷的情况, $H > h$, 游离离子分布范围可以在刷子外; 还有一种是强电聚合物刷的情况, 游离离子被限制在刷子体内.

1.4 分子动力学研究

如今, 我们可以利用计算机高速和精确的优点, 对几百个以至上万个分子的运动方程进行数值积分. 粒子的运动行为通过经典牛顿运动方程描述, 并通过分子动力学这个在原子、分子水平上求解多体问题的重要计算机模拟方法, 求解所有通过朗之万方法来描述粒子的运动方程. 最近通过分子动力学研究, He等人^[18,19]发现基于Alexandre-de Gennes模型的标度理论, 仍然适用于星形聚合物刷, 并详细介绍了Biesheuvel有关带电聚合物刷的自洽理论, 改进后的模型同等效德拜势模拟、真实盐离子模拟以及Biesheuvel的SCF计算得到的高度与盐浓度的关系曲线吻合得非常好. 为了解释空间的有

图1 (网络版彩图) 关于聚合物刷的Alexander-de Gennes模型: 基于标度理论, 聚合物链等效于是由关联团连接而成
Figure 1 (Color online) Alexander-de Gennes model of polymer brush: the polymer chains are effectively consisted of correlation blobs, based on scaling theory.

图 2 (网络版彩图)带电聚合物刷结构概图. (a) 自由电荷在空间中分布于聚合物刷外; (b) 自由电荷完全与聚合物刷均匀分布于相同空间中

Figure 2 (Color online) Schematic diagram of charged polymer brush structure. (a) Free charges distributed outside of the range of polymer brushes; (b) free charges are homogeneously mixed with polymer brushes.

限伸展弹性势, Cui等人^[20,21]建立了简单方便、适用于连续空间的平均场模型来预测良好溶剂中星形聚合物刷的主要特性,并进一步开发一种适用于良好溶剂中的第二代树状分子刷的平均场理论.不同种类的聚合物末端单体也会随溶液的性质发生改变,聚合物的分子结构能够实现对外界环境快速反应的“化学开关”^[22,23],这些特质值得我们进一步深入考虑,比如在纳米粒子上吸附聚合物,以形成球基面上的聚合物刷,改变聚合物的亲疏水性,从而实现药物传递,这里吸附密度和聚合物链长度和数目都会影响药物的传送,这也会是今后研究的重要课题方向.

2 聚合物纳米复合材料与聚合物网络

2.1 聚合物纳米复合材料

在聚合物基质中加入纳米级填料,即使添加量很少,也会导致聚合物纳米复合材料的物理和流变性能相对于纯聚合物基质发生重大变化^[24–28].具有明确化学性质的纳米颗粒(例如未修饰/功能化的无机纳米颗粒、生物纳米颗粒、富勒烯、树枝状大分子和碳纳米管等)的可用性不断增长以及用于探测小规模尺度的仪器(例如扫描力显微镜、激光扫描荧光显微镜、电子显微镜等)的发展促进了具有目标性能的聚合物纳米复合物的设计^[28].尽管关于纳米颗粒对聚合物纳米复合物体系的玻璃化相变温度、黏性、弹性和力学增强的影响的实验研究越来越多^[29–33],然而,由于在聚合物纳米复合物的微观行为和宏观性能之间缺乏确定的关系,功能特定的聚合物纳米复合材料的生产和商业化的发展存在很大的障碍.另一个困难是需要涉及的参数空间规模巨大,使得单纯通过实验进行筛选变得十分昂贵,但未来可以通过模拟帮助缩小在实验室中可能探索的参数范围^[34–42].

仅进行实验研究很难阐明在与纳米颗粒和聚合物线团的大小相比拟的小尺度上纳米颗粒和聚合物基质之间的相互作用机理,从而由此得出纳米尺度填料对相应的聚合物纳米复合材料微观行为和宏观性能的影响^[43–48].阐明纳米颗粒与聚合物基质相互作用的机理,并将聚合物纳米复合体系的微观行为与其宏观性能联系起来,是工程改造高级聚合物材料的当务之急.例如,在传统轮胎胎面组件的基础上开发环保型的橡胶复合材料,可以优化轮胎的油耗以及保证安全性能,这也是当前的一个巨大挑战.针对聚合物纳米复合体系中的结构与动力学,可以利用高分子物理标度理论以及分子动力学模拟算法,从微观尺度上阐明纳米颗粒与聚合物基质的相互作用机理,诠释添加纳米颗粒对高分子复合体系自组装及流变学性能的影响,并将聚合物纳米复合体系的微观行为与其所表现的宏观物理性能联系起来,建立它们之间的依赖关系.将标度理论应用到聚合物体系里纳米颗粒间排空相互作用的理论

解析中, 可以发展一种等效模拟算法以定量计算排空相互作用并从理论与模拟上提出通过调控排空相互作用实现纳米颗粒在界面的逆温反常结晶^[49-51]. 因为聚合物纳米复合体系中存在着微妙的熵与焓对体系自由能贡献的竞争, 由聚合物基质在纳米颗粒间引起有效相互作用对纳米颗粒分布结构以及动力学行为的影响仍然是高分子物理研究中的一个关键问题. 基于聚合物关联熵驱动而建立起来的标度理论解析结果, 非常好地定量了排空相互作用强度与作用范围. 该成果为理解实验研究中聚合物复合体系的熵驱动致自组装结构为什么是可控的提供了有力的物理理论基础. 进一步, 在聚合物纳米颗粒之间吸引作用下, 纳米颗粒在半稀和浓聚合物中的分散分布可以被反向通过增加聚合物浓度稳定下来. 可以通过在吸附团簇中被吸附的聚合物链段构象变化来推理纳米颗粒的凝聚态, 推导出一个关于聚合物浓度与聚合物纳米颗粒吸引强度之间的标度关系以定义纳米颗粒分散和凝聚相边界.

目前, 利用标度理论已经解析纳米颗粒在吸引聚合物基质中的可控扩散动力学, 已提出并验证纳米颗粒等效黏滞系数对聚合物链吸附时长的标度依赖关系^[52,53]. 通过发展基于Green-Kubo函数的平衡态分子动力学算法以定量计算用于表征聚合物体系流变学性能的储存与耗散模量, 可以揭示聚合物分子在纳米颗粒凝聚团中的类蠕虫动力学松弛导致的聚合物纳米复合物的溶-凝胶转变. 通过发展标度理论解析并进行模拟对比验证, 可以诠释纳米颗粒与聚合物吸引作用抑制纳米颗粒在聚合物基质中扩散的物理机制, 并定量地解析纳米颗粒所感受到的等效黏度系数对聚合物链在纳米颗粒界面上吸附时长的标度依赖关系.

2.2 聚合物网络

现今, 随着生命科学研究领域的快速发展, 人们发现在生物体系中存在大量的具有结构可逆性的生物大分子可塑凝胶, 如黏液等^[46]. 人们开始仿照生物大分子凝胶的自组装, 通过非共价交联来设计制造具有结构可逆性、剪切稀释和自愈合等性能特征的可塑高分子凝胶材料^[47,48]. 目前已经从理论与

模拟上设计了新颖聚合物永久与瞬态双网络, 该双网络聚合物复合体系能够在高频形变作用下通过内摩擦热耗增加韧性, 同时维持在大应变时的拓扑结构及弹性强度, 为发展高强增韧且具有自修复功能的仿生高分子材料提供物理理论及计算模拟基础^[54,55]. 瞬态聚合物网络的拓扑结构随着时间的发展而动态松弛演化, 这使得处于拉伸中聚合物复合物能够通过结构演化来实现应力释放. 通过理论与模拟设计的具有双网络结构的聚合物复合物, 测量了其处于不同应变率下的双聚合物复合物双网络的应力-应变关系曲线. 瞬态聚合物网络的瞬时连接点密度以及交联拓扑结构松弛动力学控制了瞬态网络的韧性. 劳斯模式理论分析表明, 在高应变率下, 材料的力学强度是由聚合物双网络复合材料的瞬态与永久网络共同确定的. 在低应变率下, 瞬态网络的交联拓扑结构完全松弛释放, 只保留永久网络部分对抗体系应变. 瞬态网络的嵌入有利于在高应变率下能量的耗散进而防止整个体系的拉伸破裂, 而永久网络在低应变率下保持复合材料的结构完整性与自愈弹性.

通过共价交联方法加工形成的高分子凝胶材料具有高强度、高韧性和高弹性, 所以有着非常广泛的应用. 然而, 共价交联高分子凝胶材料在成型后其结构受强应力作用下的破损是不可逆的, 即微观下表现为共价交联一旦断裂就不可自愈修复, 这一定程度上造成了资源的浪费和相关的环境污染. 现今, 随着生命科学研究领域的快速发展, 人们发现在生物体系中存在大量的具有结构可逆性的生物大分子可塑凝胶, 如黏液等^[24,46]. 这些生命体系中的生物大分子凝胶在剪切应力下表现出黏性流动, 然而在施加的应力放松时能够迅速恢复以自愈合恢复其生物学功能. 因此, 人们开始仿照生物大分子凝胶的自组装, 通过非共价交联来设计制造具有结构可逆性、剪切稀释和自愈合等性能特征的可塑高分子凝胶材料^[34,46,47]. 至今, 仿生高分子凝胶材料的实验研究大部分都是用了具有动态连接行为的非共价分子间相互作用来实现其自组装. 然而, 该类仿生凝胶材料的应用目前仍受到其自愈合进展缓慢的限制^[26,34]. 最近, 实验研究表明纳米颗粒对聚合物链的吸附能够被用来实现不同高分子链之间的强、快

速黏附, 以增强增多高分子链之间的非共价物理交联^[27,37]. 当前研究的主要目标是从理论与模拟上诠释清楚仿生高分子纳米复合物凝胶体系为什么具有剪切稀释与快速自愈合性能的微观物理机理: (1) 高分子纳米复合物凝胶体系中纳米颗粒的排空作用对聚合物链段松弛动力学的影响, 进而决定该凝胶体系的玻璃化相变温度; (2) 在仿生高分子纳米复合物凝胶体系中, 纳米颗粒物理交联对聚合物链缠结的约束和解缠作用对聚合物链松弛动力学谱和聚合物纳米复合物剪切黏度的影响. 作为一个全新的研究体系, 未来研究可能聚焦于物理交联的线性聚合物与短链接枝后的纳米颗粒混合物^[29]. 在仿生聚合物纳米复合物凝胶体系中, 接枝短链后的纳米颗粒扩散动力学取决于高分子网络的特征长度与接枝短链尺寸的大小对比, 导致纳米颗粒在聚合物熔体中所对应的不同扩散机理.

3 蛋白质自由能曲面的单分子拉伸研究

蛋白质是由20种氨基酸构成的聚合物, 是最重要的生命物质之一, 在生物体内行使结构支撑、酶催化、信号传导等重要生命功能. 因为构成蛋白质的20种氨基酸分子具有各不相同的性质, 比如亲水性和带电性等, 各种不同蛋白质经常具有独特的稳定三维结构.

聚合物的微观构象需要由所有组分的每个原子的三维坐标决定, 而其对应的能量的计算包含由其主链和侧链所有原子之间的相互作用. 因此, 蛋白质的能量曲面是一个定义在高维构象空间上的能量函数. 为了具体刻画这个高维能量曲面, 往往需要降维处理, 这就需要选择合适的反应坐标. 高维能量曲面在这个反应坐标下投影, 得到低维空间上的自由能曲面.

在蛋白质的自由能曲面上, 稳定的自然状态结构对应于自由能最低的状态, 而去折叠状态对应于构象熵比较大的状态. 对于典型的两态模型蛋白质, 自然状态和去折叠状态分别对应两个自由能势阱, 中间被一个或多个不同的势垒分隔开. 在生理条件下, 自然状态是整个自由能曲面的全局最小值点, 而去折叠状态的自由能要高于自然状态. 为了研究蛋

白质的折叠过程与稳定性, 一般可以通过改变环境条件, 使得蛋白质的去折叠状态变得比自然状态更加稳定, 然后蛋白质可以自发地跨越势垒发生去折叠转变. 再次恢复环境条件到生理环境, 蛋白质可以从去折叠状态折叠到其稳定的自然状态. 在传统的研究蛋白质折叠的生化实验中, 环境温度和变性剂浓度是两个主要的调控因素, 而蛋白质的荧光特性或光谱性质是蛋白质折叠状态的可测量量. 这样的实验方法被称为生化体实验, 对应于下面要介绍的单分子实验.

生化体实验测量的是大量同样的蛋白质的平均性质, 一般情况下, 不同的蛋白质在折叠与去折叠转变过程中会处于不同状态, 平均性质往往会淹没一些特别的折叠路径的信息. 另外, 生化体实验也会使得蛋白质折叠过程中可能出现的不稳定的中间态难于测量. 最近发展起来的单分子拉伸实验手段可以有效地克服生化体实验的局限性. 在单分子拉伸实验中, 蛋白质始终处于生理条件的外界环境中, 导致蛋白质发生构象变化的因素是在蛋白质末端施加的拉力的变化. 因为蛋白质的折叠状态具有较短的伸长, 而拉力作用下的去折叠状态是伸展的多肽链, 这样拉力可以有效地调控蛋白质的折叠与去折叠转变. 在单分子拉伸实验中, 拉力和伸长是一对可以控制或测量的共轭物理量, 其乘积给出拉力所做的功. 所以, 蛋白质折叠自由能等物理量可以准确测量得到.

在不同大小的拉力作用下, 蛋白质的去折叠速率与折叠速率可以测量得到. 对于复杂的蛋白质, 折叠或去折叠过程中出现的较为稳定的中间态可以直接从蛋白质的伸长得到确认: 中间态的伸长往往处于自然状态与完全去折叠状态之间. 对于简单的两态模型可以描述的蛋白质, 拉力依赖的蛋白质折叠与去折叠速率也可以帮助分析得到蛋白质的自由能曲面和势垒高度与位置的信息.

蛋白质的力学响应也经常与其在细胞内外的生物功能密切相关. 细胞骨架蛋白、细胞黏附蛋白, 或者肌肉纤维中的蛋白质在细胞内会受到拉力作用, 这些蛋白质起到支撑和力学信号传导的作用, 通过单分子拉伸实验可以得到它们行使生物功能的分子机制. 在下面的例子中, 我们对肌肉蛋白titin中

的一个典型免疫球蛋白结构域进行了拉伸测试. 在单分子操纵技术发展的早期, 人们就开始通过原子力显微镜力谱技术对titin蛋白质进行了测量, 但由于设备稳定性的限制, 对titin中免疫球蛋白结构域的力学响应测量只能做到大于150 pN的拉力响应. 在这样比较大的拉力作用下, titin中的免疫球蛋白结构域可以在几秒钟或更短的时间尺度内发生去折叠转变. 但是生理条件下, 人们认为titin的受力在0–100 pN之间, 而这个拉力下titin的免疫球蛋白结构域的去折叠速率很慢, 需要设备具有足够的稳定性才能测量得到.

在几种常用的单分子操控技术中(AFM、光镊、磁镊), 只有磁镊可以非常简单地对所研究的分子施加恒定的拉力, 而不需要复杂的反馈控制系统^[56]. 这使得磁镊的稳定性明显优于AFM和光镊, 使得它可以进行长时间的测量. 具有稳定三维结构的蛋白质一般在较大拉力下会发生去折叠转变, 在拉力减小到临界拉力以下时可以重新折叠到其自然状态. 在临界拉力附近, 得益于磁镊的稳定特性, 我们可以在拉力恒定的条件下观察到蛋白质进行折叠和去折叠的平衡态转变过程^[57]. 图3中给出了titin中免疫球蛋白结构域I27的平衡态折叠与去折叠转变的动力学过程.

在远离临界拉力的外力作用下, 蛋白质的折叠速率和去折叠速率可以通过拉力跳变的方法来测量. 例如要测量蛋白质在100 pN时的去折叠速率, 可以首先让蛋白质在小力下处于折叠好的自然状态, 然后突然将拉力跳变到100 pN, 通过蛋白质伸长的变化得到蛋白质去折叠转变的速率. 同样测量小力下蛋白质的折叠速率也可以用拉力跳变的方法实现, 首先让蛋白质在大力下发生去折叠转变, 然后突然减小拉力, 根据蛋白质伸长缩短的速率得到蛋白质在相应拉力下的折叠速率.

当我们将蛋白质在从几个pN到上百pN的去折叠速率按照半对数坐标作图后, 发现虽然在大力下titin I27的去折叠速率很好地满足贝尔模型, 但是在小力下发生了明显的偏离^[58]. 这种现象不光存在I27蛋白质中, 也存在GB1, CSP等蛋白质中. 对于I27, 我们发现拉力处于小于22 pN的区间时, 蛋白质的去折叠速率随着拉力增大反而减小了, 这就

是典型的catch bond行为. 由于早期的分子动力学模拟, 人们对于I27的去折叠过渡态已经了解得比较清楚了. 我们假设在小力下, I27的去折叠过渡态和大力下时一样, 但在拉力较小时, 这个去折叠过渡态中的多肽链由于熵弹性的作用发生塌缩, 使得

图3 (网络版彩图)磁镊测量恒定拉力下蛋白质I27折叠与去折叠的转变动力学研究. (a) 磁镊实验的示意图. 由8个重复的肌肉蛋白titin中的I27结构域构成的蛋白质连接于经过修饰的玻璃表面和超顺磁球之间, 通过磁力对蛋白质施加拉力. (b) 随着拉力以3.7 pN/s的速度从0增加到88 pN, 当拉力大于70 pN时, 蛋白质去折叠转变被依次在伸长信号中记录下来. 第一个50 nm的台阶信号来自Halotag的去折叠转变. 接下来的8个均匀的约22 nm的台阶信号来自I27蛋白质的去折叠转变. 当拉力减小到1.9 pN时, 蛋白质折叠回自然状态. (c) 在全部I27结构域都被打开成多肽链后, 拉力下降到4.5 pN, 若干次I27结构域的折叠和去折叠转变在60 min内被记录到. 恒定力条件下(4.5 pN)对8I27结构域的长时测量. (d) 初始状态所有8个I27都处于折叠状态, 然后拉力增加到5.1 pN, 若干次I27结构域的折叠和去折叠转变在100 min内被记录到

Figure 3 (Color online) Study of I27 protein unfolding and folding dynamics by magnetic tweezers. (a) Sketch of magnetic tweezers. A protein containing eight titin I27 repeats is tethered between a cover glass surface and a paramagnetic bead which is stretched by magnetic force. (b) Force was increased to 88 pN by constant loading rate of 3.7 pN/s. When force is bigger than 70 pN, there are a series of unfolding steps. The first big step with step of 50 nm is from the unfolding of Halotag, and subsequent eight uniform steps of 22 nm are from the unfolding of eight I27 domains. Then force is dropped to 1.9 pN where the folding of I27 happens. (c) After eight I27 domains were all unfolded by high force, force was dropped to 4.5 pN. Eight I27 domains folded and unfolded several times over time about 60 min. (d) Initially eight I27 domains were all at native state, force was increased to 5.1 pN. Eight I27 domains unfolded and refolded several times over time about 100 min.

在小力下过渡态的伸长比自然状态下更小. 这种模型很好地拟合了实验数据, 其中只有一个自由参数需要通过拟合确定, 就是在拉力为零时蛋白质的去折叠速率(图 4).

在较大拉力区间内测量蛋白质的折叠与去折叠速率, 特别是拉力接近于零的小力区间, 可以帮助人们构造蛋白质精细的自由能曲面. 我们测量了GB1蛋白质在5–160 pN的拉力范围内的去折叠速率, 在拉力大于15 pN时得到了与传统实验策略相同的结果, 但在小于15 pN的拉力区间内, 我们发现了GB1去折叠转变复杂的拉力依赖性质^[59]. 特别是拉力处于10–14 pN之间时, 拉力的增加非但没有增加去折叠速率, 反而使之减小, 表现为局部的catch bond现象. 在更小的拉力下, 去折叠速率变得对拉力

更加敏感, 在对数坐标下表现为更陡的斜率. 蛋白质GB1去折叠速率对于拉力的复杂依赖关系使得我们可以分析其自由能曲面和构象转变的路径. 我们发现在不同拉力下, 蛋白质去折叠会经过不同的路径. 模型中确定的不稳定的隐藏中间态很可能就是蛋白质折叠理论模型中假设的塌缩熔融球构象. 这个发现对于揭示单结构域蛋白质折叠的普遍规律具有重要意义.

4 总结与展望

本文主要介绍了聚合物刷与聚合物纳米复合体系的动力学性质: 针对中高接枝面密度的聚合物刷体系, 讨论了链有限延展性的影响, 同时总结了聚合物刷体系结构从溶态向晶态的转变. 随着温度的变化, 双组分子刷体系出现了相分离现象. 现有的研究表明可以通过控制外界作用力的大小和方向来获取研究者所需要的刷子斑图. 聚合物复合体系的研究是近几十年来高分子领域的前沿热点. 在聚合物复合体系中设计嵌入瞬态网络为仿生功能材料的发展和工业应用提供了一个全新方向. 瞬态聚合物网络的拓扑结构随着时间的发展而动态松弛演化, 这使得处于拉伸中聚合物复合物能够通过结构演化来实现应力释放. 近期相关理论与模拟研究设计了具有双网络结构的聚合物复合物, 并测量了处于不同应变率下的双聚合物复合物双网络的应力-应变关系曲线. 瞬态网络的嵌入有利于在高应变率下能量的耗散进而防止整个体系的拉伸破裂, 而永久网络在低应变率下保持复合材料的结构完整性与自修复弹性. 蛋白质是一类特殊的高分子, 由于其氨基酸序列和相互作用的复杂性, 大多数蛋白质具有稳定的三维结构. 蛋白质从刚刚被核糖体翻译出来的多肽链折叠到自然状态的过程, 蛋白质自然状态的具体结构信息都和其生物功能的实现密切相关. 在蛋白质降解或者转运的过程中, 蛋白质也需要发生去折叠转变. 由于很多蛋白质在细胞内具有力学支撑或传感的功能, 它们的力学响应也具有重要的生物意义. 单分子操纵实验非常适合于研究拉力导致的蛋白质折叠与去折叠的动力学过程, 根据所得到的拉力依赖的蛋白质构象变化过程, 蛋白质的自由

图 4 (网络版彩图) I27结构域拉力依赖的去折叠速率表现出逆锁键性质. (a) 8个I27结构域在恒定拉力30 pN作用下的去折叠的伸长时间序列曲线. (b) 30 pN下多次测量结果利用指数拟合得到蛋白质在该拉力下的寿命. (c) 非单调的蛋白质自然状态寿命与拉力的依赖关系, 当力小于22 pN时, I27结构域表现出逆锁键的行为. (d) I27结构域自然态(黑色实线)和过渡态(蓝色实线)的伸长与拉力的关系. 该模型很好地解释了(c)图中的测量结果

Figure 4 (Color online) Force-dependent unfolding rate of I27 domain shows catch bond behavior. (a) Extension time course of eight I27 repeats at constant force of 30 pN; (b) exponential fitting of the unfolding probability gives the life time of I27 domain at 30 pN. (c) Non-monotonic force-dependence of native state life time. When the force is smaller than 22 pN, I27 life time shows catch bond force-dependence. (d) Extensions of I27 native state (black curve) and transition state (blue curve) as functions of stretching force. This model rebuilds the measured results in figure (c) very well.

能曲面也可以被构造出来, 这对于理解蛋白质的力学响应、稳定性、折叠自由能和折叠路径等都有非

常大的帮助. 期待更多的蛋白质可以被单分子操纵技术研究, 以揭示蛋白质折叠的一般规律.

参考文献

- 1 Velten U, Shelden R A, Caseri W R, et al. Polymerization of styrene with peroxide initiator ionically bound to high surface area mica. *Macromolecules*, 1999, 32: 3590–3597
- 2 Velten U, Tossati S, Shelden R A, et al. Graft polymerization of styrene on mica: Formation and behavior of molecular droplets and thin films. *Langmuir*, 1999, 15: 6940–6945
- 3 Klein J, Kumacheva E, Mahalu D, et al. Reduction of frictional forces between solid surfaces bearing polymer brushes. *Nature*, 1994, 370: 634–636
- 4 Aksay I A, Trau M, Manne S, et al. Biomimetic pathways for assembling inorganic thin films. *Science*, 1996, 273: 892–898
- 5 Alexander S. Polymer adsorption on small spheres. A scaling approach. *J Phys France*, 1977, 38: 977–981
- 6 de Gennes P G. Conformations of polymers attached to an interface. *Macromolecules*, 1980, 13: 1069–1075
- 7 Scheutjens J M H M, Fleer G J. Statistical theory of the adsorption of interacting chain molecules. 1. Partition function, segment density distribution, and adsorption isotherms. *J Phys Chem*, 1979, 83: 1619–1635
- 8 Cosgrove T, Heath T, van Lent B, et al. Configuration of terminally attached chains at the solid/solvent interface: Self-consistent field theory and a Monte Carlo model. *Macromolecules*, 1987, 20: 1692–1696
- 9 Wijmans C M, Scheutjens J M H M, Zhulina E B. Self-consistent field theories for polymer brushes: Lattice calculations and an asymptotic analytical description. *Macromolecules*, 1992, 25: 2657–2665
- 10 Martin J I, Wang Z G. Polymer brushes: Scaling, compression forces, interbrush penetration, and solvent size effects. *J Phys Chem*, 1995, 99: 2833–2844
- 11 Carignano M A, Szleifer I. Pressure isotherms, phase transition, instability, and structure of tethered polymers in good, Θ , and poor solvents. *J Chem Phys*, 1994, 100: 3210–3223
- 12 Carignano M A, Szleifer I. Structure and thermodynamics of grafted three-arm branched polymer layers. *Macromolecules*, 1994, 27: 702–710
- 13 Netz R R, Schick M. Polymer brushes: From self-consistent field theory to classical theory. *Macromolecules*, 1998, 31: 5105–5122
- 14 Currie E P K, Leermakers F A M, Cohen Stuart M A, et al. Grafted adsorbing polymers: Scaling behavior and phase transitions. *Macromolecules*, 1999, 32: 487–498
- 15 Kuhn W, Künzle O, Katchalsky A. Verhalten polyvalenter Fadenmolekelionen in Lösung. *Helvet Chim Acta*, 1948, 31: 1994–2037
- 16 Miklavic S J, Marcelja S. Interaction of surfaces carrying grafted polyelectrolytes. *J Phys Chem*, 1988, 92: 6718–6722
- 17 Misra S, Varanasi S, Varanasi P P. A polyelectrolyte brush theory. *Macromolecules*, 1989, 22: 4173–4179
- 18 He S, Merlitz H, Chen L, et al. Polyelectrolyte brushes: MD simulation and SCF theory. *Macromolecules*, 2010, 43: 7845–7851
- 19 Chen L, Merlitz H, He S, et al. Polyelectrolyte brushes: Debye approximation and mean-field theory. *Macromolecules*, 2011, 44: 3109–3116
- 20 Cui W, Su C F, Wu C X, et al. Numerical evidences for a free energy barrier in starlike polymer brushes. *J Chem Phys*, 2013, 139: 134910
- 21 Cui W, Su C F, Merlitz H, et al. Structure of dendrimer brushes: Mean-field theory and MD simulations. *Macromolecules*, 2014, 47: 3645–3653
- 22 Su C F, Cui W, Merlitz H, et al. Starlike polymer brushes in Θ -solvent. *Polymer*, 2014, 55: 3254–3260
- 23 Su C F, Merlitz H, Wu C X, et al. Mixed brush made of 4-arm stars and linear chains: MD simulations. *J Chem Phys*, 2016, 145: 234905
- 24 Kumar S K, Benicewicz B C, Vaia R A, et al. 50th anniversary perspective: Are polymer nanocomposites practical for applications? *Macromolecules*, 2017, 50: 714–731
- 25 Mackay M E. General strategies for nanoparticle dispersion. *Science*, 2006, 311: 1740–1743
- 26 Mangal R, Srivastava S, Archer L A. Phase stability and dynamics of entangled polymer-nanoparticle composites. *Nat Commun*, 2015, 6: 7198
- 27 Oh H, Green P F. Polymer chain dynamics and glass transition in athermal polymer/nanoparticle mixtures. *Nat Mater*, 2009, 8: 139–143
- 28 Kumar S K, Jouault N, Benicewicz B, et al. Nanocomposites with polymer grafted nanoparticles. *Macromolecules*, 2013, 46: 3199–3214
- 29 Martin T B, Mongcopa K I S, Ashkar R, et al. Wetting-dewetting and dispersion-aggregation transitions are distinct for polymer grafted nanoparticles in chemically dissimilar polymer matrix. *J Am Chem Soc*, 2015, 137: 10624–10631
- 30 Harmandaris V A, Angelopoulou D, Mavrantzas V G, et al. Atomistic molecular dynamics simulation of diffusion in binary liquid *n*-alkane mixtures. *J Chem Phys*, 2002, 116: 7656–7665
- 31 Kremer K, Grest G S. Dynamics of entangled linear polymer melts: A molecular-dynamics simulation. *J Chem Phys*, 1990, 92: 5057–5086

- 32 Harmandaris V A, Kremer K, Floudas G. Dynamic heterogeneity in fully miscible blends of polystyrene with oligostyrene. *Phys Rev Lett*, 2013, 110: 165701
- 33 Robertson C G, Rackaitis M. Further consideration of viscoelastic two glass transition behavior of nanoparticle-filled polymers. *Macromolecules*, 2011, 44: 1177–1181
- 34 Senses E, Narayanan S, Mao Y, et al. Nanoscale particle motion in attractive polymer nanocomposites. *Phys Rev Lett*, 2017, 119: 237801
- 35 Starr F W, Douglas J F. Modifying fragility and collective motion in polymer melts with nanoparticles. *Phys Rev Lett*, 2011, 106: 115702
- 36 Nodoro T V M, Böhm M C, Müller-Plathe F. Interface and interphase dynamics of polystyrene chains near grafted and ungrafted silica nanoparticles. *Macromolecules*, 2012, 45: 171–179
- 37 Jhalaria M, Buenning E, Huang Y, et al. Accelerated local dynamics in matrix-free polymer grafted nanoparticles. *Phys Rev Lett*, 2019, 123: 158003
- 38 Gong S, Chen Q, Moll J F, et al. Segmental dynamics of polymer melts with spherical nanoparticles. *ACS Macro Lett*, 2014, 3: 773–777
- 39 Kopf A, Dünweg B, Paul W. Dynamics of polymer “isotope” mixtures: Molecular dynamics simulation and Rouse model analysis. *J Chem Phys*, 1997, 107: 6945–6955
- 40 Kalathi J T, Kumar S K, Rubinstein M, et al. Rouse mode analysis of chain relaxation in polymer nanocomposites. *Soft Matter*, 2015, 11: 4123–4132
- 41 Rauscher P M, Rowan S J, de Pablo J J. Topological effects in isolated poly[*n*] catenanes: Molecular dynamics simulations and Rouse mode analysis. *ACS Macro Lett*, 2018, 7: 938–943
- 42 Likhtman A E, Sukumaran S K, Ramirez J. Linear viscoelasticity from molecular dynamics simulation of entangled polymers. *Macromolecules*, 2007, 40: 6748–6757
- 43 Kalathi J T, Grest G S, Kumar S K. Universal viscosity behavior of polymer nanocomposites. *Phys Rev Lett*, 2012, 109: 198301
- 44 Senses E, Ansar S M, Kitchens C L, et al. Small particle driven chain disentanglements in polymer nanocomposites. *Phys Rev Lett*, 2017, 118: 147801
- 45 Chen Q, Gong S, Moll J, et al. Mechanical reinforcement of polymer nanocomposites from percolation of a nanoparticle network. *ACS Macro Lett*, 2015, 4: 398–402
- 46 Heo K, Miesch C, Emrick T, et al. Thermally reversible aggregation of gold nanoparticles in polymer nanocomposites through hydrogen bonding. *Nano Lett*, 2013, 13: 5297–5302
- 47 Appel E A, Tibbitt M W, Webber M J, et al. Self-assembled hydrogels utilizing polymer—nanoparticle interactions. *Nat Commun*, 2015, 6: 6295
- 48 Ronsin O, Naassaoui I, Marcellan A, et al. Environmental nanoparticle-induced toughening and pinning of a growing crack in a biopolymer hydrogel. *Phys Rev Lett*, 2019, 123: 158002
- 49 Cao X Z, Merlitz H, Wu C X, et al. Polymer-induced entropic depletion potential. *Phys Rev E*, 2011, 84: 041802
- 50 Cao X Z, Merlitz H, Wu C X, et al. Effective pair potentials between nanoparticles induced by single monomers and polymer chains. *Soft Matter*, 2013, 9: 5916–5926
- 51 Cao X Z, Merlitz H, Wu C X, et al. A theoretical study of dispersion-to-aggregation of nanoparticles in adsorbing polymers using molecular dynamics simulations. *Nanoscale*, 2016, 8: 6964–6968
- 52 Cao X Z, Merlitz H, Wu C X. Tuning adsorption duration to control the diffusion of a nanoparticle in adsorbing polymers. *J Phys Chem Lett*, 2017, 8: 2629–2633
- 53 Cao X Z, Merlitz H, Forest M G. Nanoparticle loading of unentangled polymers induces entanglement-like relaxation modes and a broad sol-gel transition. *J Phys Chem Lett*, 2019, 10: 4968–4973
- 54 Cao X Z, Forest M G. Rheological tuning of entangled polymer networks by transient cross-links. *J Phys Chem B*, 2019, 123: 974–982
- 55 Cao X Z, Merlitz H, Wu C X. Mechanical strength management of polymer composites through tuning transient networks. *J Phys Chem Lett*, 2020, 11: 710–715
- 56 Chen H, Fu H, Zhu X, et al. Improved high-force magnetic tweezers for stretching and refolding of proteins and short DNA. *BioPhys J*, 2011, 100: 517–523
- 57 Chen H, Yuan G, Winardhi R S, et al. Dynamics of equilibrium folding and unfolding transitions of titin immunoglobulin domain under constant forces. *J Am Chem Soc*, 2015, 137: 3540–3546
- 58 Yuan G, Le S, Yao M, et al. Elasticity of the transition state leading to an unexpected mechanical stabilization of titin immunoglobulin domains. *Angew Chem*, 2017, 129: 5582–5585
- 59 Guo Z, Hong H, Yuan G, et al. Hidden intermediate state and second pathway determining folding and unfolding dynamics of GB1 protein at low forces. *Phys Rev Lett*, 2020, 125: 198101

From polymer configuration and dynamics to protein folding

CAO Xue-Zheng*, CHEN Hu* & WU Chen-Xu*

Fujian Provincial Key Lab for Soft Functional Materials Research, Research Institute for Biomimetics and Soft Matter, Department of Physics, College of Physical Science and Technology, Xiamen University, Xiamen 361005, China

The force acting on the first bond of a polymer brush directly connected to a surface is low at high grafting densities, at which nonvanishing end-monomer tension can be observed. The physical properties and variable applications of the polymers are determined based on their conformations and transition dynamics. As biological polymers, biomacromolecular proteins include twenty types of amino acids that form a linear polypeptide chain. Most proteins have a stable three-dimensional native structure because of their one-dimensional amino acid sequences. In this review, we introduce a polymer brush, polymer nanocomposite materials, a polymer network, and their conformational transition dynamics along with the conformation and folding and unfolding processes of the proteins. The folding and unfolding rates of proteins are regulated by the stretching force. The free energy and folding pathways of proteins can be studied in detail based on the measurement of the force-dependent folding and unfolding rates of proteins. Furthermore, we consider the muscle protein titin immunoglobulin domain I27 as an example to demonstrate the investigation of the protein folding and unfolding dynamics using single molecular manipulation techniques.

polymer brush, polymer nanocomposites, protein folding

PACS: 47.57.Ng, 61.46.Df, 61.25.Hq, 82.35.Rs, 82.37.Gk

doi: [10.1360/SSPMA-2020-0427](https://doi.org/10.1360/SSPMA-2020-0427)