

· 成果快报 ·

# 从一维界面到三维纳米孔道的电分析化学研究

龙亿涛\*

(华东理工大学 结构可控先进功能材料及其制备教育部重点实验室, 化学与分子工程学院, 上海 200237)

**[摘要]** 基于电化学方法的国家杰出青年科学基金项目(电分析化学), 研究了单颗粒表面的光电化学反应、界面电子传递和纳米孔道的单分子检测。本研究利用对一维界面单纳米粒子表面化学反应的监测, 实现了细胞内单纳米粒子的电化学分析; 然后通过自主装技术构建了可控二维膜界面, 通过光电化学手段模拟并研究了生命活动电子传递过程; 发展三维纳米孔道与界面膜系统, 利用纳米孔道电化学检测技术研究了单分子水平上核酸适配体、多肽、蛋白构象和分子间弱相互作用。经过多年的努力, 我们取得了一系列创新性成果, 将界面电分析从一维界面拓展到三维纳米孔道, 推动多维界面光电分析化学的发展。

**[关键词]** 电分析化学; 单分子检测; 单纳米粒子; 界面分析; 纳米孔道

电分析化学是当前分子科学和纳米科学研究的重点之一, 对于研究分子反应规律、光电化学传感以及开发分子纳米器件等具有重要的意义<sup>[1-3]</sup>。我们的研究以电化学分析为基础, 在单纳米粒子表面化学反应监测、界面传感、多通道光谱电化学联用等方面展开研究工作, 致力于发展分子间弱相互作用的分析方法、探讨界面上电化学反应的行为机制, 进而通过从一维界面到三维纳米孔道界面的研究, 发展高空间、高能量分辨的界面电化学表征新技术、新方法。

## 1 一维界面单纳米粒子表面光电化学反应

近年来, 单个纳米颗粒表面化学反应过程的监控引起了研究者的广泛关注。通过暗场纳米光谱技术与电化学分析技术结合<sup>[4]</sup>, 我们实现了一维层面上单个纳米粒子表面过氧化氢的电催化氧化过程的实时在线监测, 揭示了过氧化氢的催化反应机理(图 1)。数据表明, 金纳米粒子在电催化反应中不仅能增加电子传递的效率, 还参与了化学反应。通过观察氯离子对金纳米粒子催化活性的影响, 研究了单个纳

米粒子催化活性的差异性, 为电化学催化反应机理的研究提供了新思路<sup>[5]</sup>。

## 2 可控自主装二维膜界面电子传递

生物体系中的电子转移过程以及通路通常发生在生物膜界面上。我们通过自组装技术构建了一系列结构可控的二维生物膜界面, 利用电化学手段研究了生物界面电子传递行为, 模拟了相关生命活动过程(图 2)。

通过构建辅酶 Q 和 NADH 镶嵌的磷脂双层膜复合反应界面, 实现了 NADH/NAD<sup>+</sup> 在电极表面的可逆氧化还原转化, 模拟了生物呼吸链过程, 为研究生物体系中生物膜相关的重要氧化还原电子传递过程提供了新方法<sup>[6]</sup>。

同时, 将仿生二维界面应用于纳米尺寸的量子点, 在辅酶 Q 功能化量子点构建的纳米仿生界面上, 利用辅酶 Q 氧化态/还原态与量子点之间的电子传递机制对量子点荧光的“ON-OFF”调控, 实现了辅酶 Q 氧化还原酶复合体质子偶联电子传递通路的研究, 为帕金森早期诊断提供了新方法<sup>[7]</sup>。

收稿日期: 2016-06-29; 修回日期: 2016-09-01

\* 通信作者, Email: ytlong@ecust.edu.cn

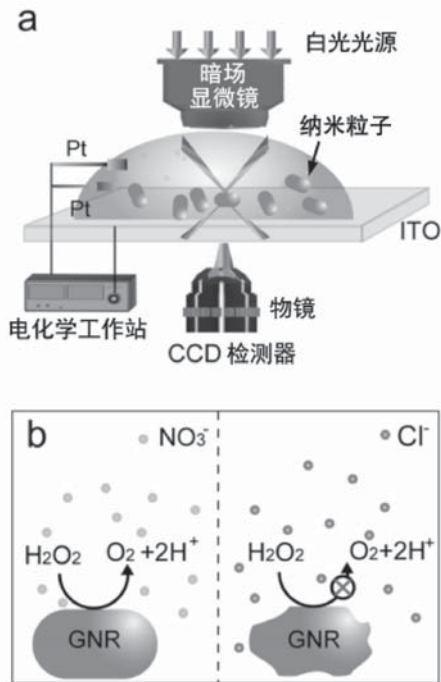


图 1 暗场显微镜与电化学技术联用平台 (a);  $\text{KNO}_3$  及  $\text{KCl}$  溶液中单个金纳米颗粒表面过氧化氢电催化氧化示意图 (b)

### 3 三维纳米孔道单分子研究

纳米孔道电化学检测技术是利用电场力驱动生物大分子穿过单个蛋白质分子嵌入磷脂双层膜上形成的纳米孔道,通过检测特征阻断信号,对核酸适配体、多肽、蛋白质分子间弱相互作用、生物大分子结构以及行为等进行分析的新方法。该技术的重点是构建三维纳米孔道,用于电化学信号检测。

我们利用该技术研究了单分子水平上与帕金森发病机制相关的多肽分子  $\alpha$ -synuclein 的单个分子

动态构象变化,调控蛋白单体初级纤维化进程,对帕金森的早期诊断和药物筛选具有重要的参考价值<sup>[8]</sup>。我们还发展了基于 SP1 蛋白的新型纳米通道,并应用于单链 DNA 的检测,有望成为新一代基因测序的天然成孔材料<sup>[9]</sup>。

此外,我们还利用纳米通道技术的高灵敏度,在构建的三维膜-纳米孔道仿生界面上,实时监测了仿生体系中的活性氧自由基,大大拓宽了生物纳米孔道的分析应用领域<sup>[10]</sup>。

在课题组独立开发研制的超低电流检测装置上,率先使用野生型且无任何修饰的 Aerolysin(气单胞菌溶素)蛋白生物孔,将单链 DNA 的过孔速度降低了三个数量级(2.0 毫秒/碱基),极大地提高了电流检测的灵敏度。利用课题组独立开发研制的超低电流检测装置,达到对单个核苷酸差异 DNA 分子的超灵敏识别,并实现了混合复杂体系的超灵敏检测和核酸外切酶“步步降解”单链 DNA 过程的实时观测。此外,该研究还通过改变检测体系的酸碱度,调节了 Aerolysin 孔道内腔的电荷分布,同时结合单链 DNA 在孔内有效电荷数的计算,获得了纳米孔表/界面上电荷的分布信息,促进了对 DNA 与 Aerolysin 孔道内腔表面氨基酸残基相互作用的深入理解。这一独创性研究成果不仅进一步降低纳米孔单碱基分辨的成本,同时也将大大提高纳米孔 DNA 测序的精确度。未来,结合高带宽低噪音的电流检测仪器, Aerolysin 纳米孔有望实现对单个 DNA 单碱基直接分辨以及对 DNA 损伤的检测,这将大大推动 DNA 测序技术以及个性化医疗的发展(图 3)<sup>[11]</sup>。

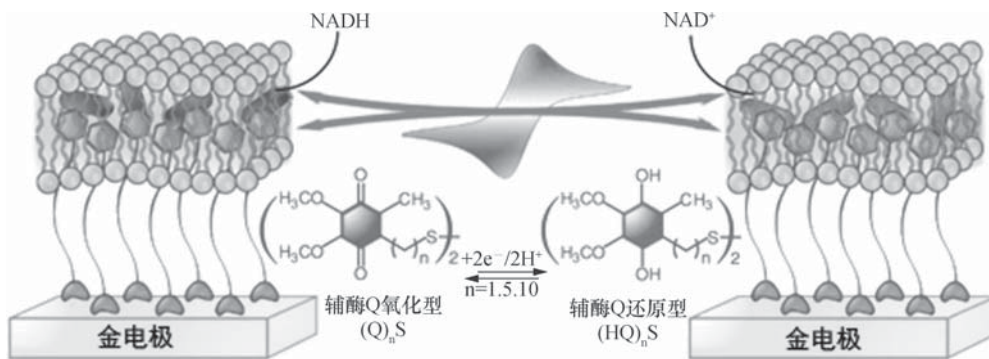


图 2 仿生二维双层生物膜界面系统模拟呼吸链的电子传递

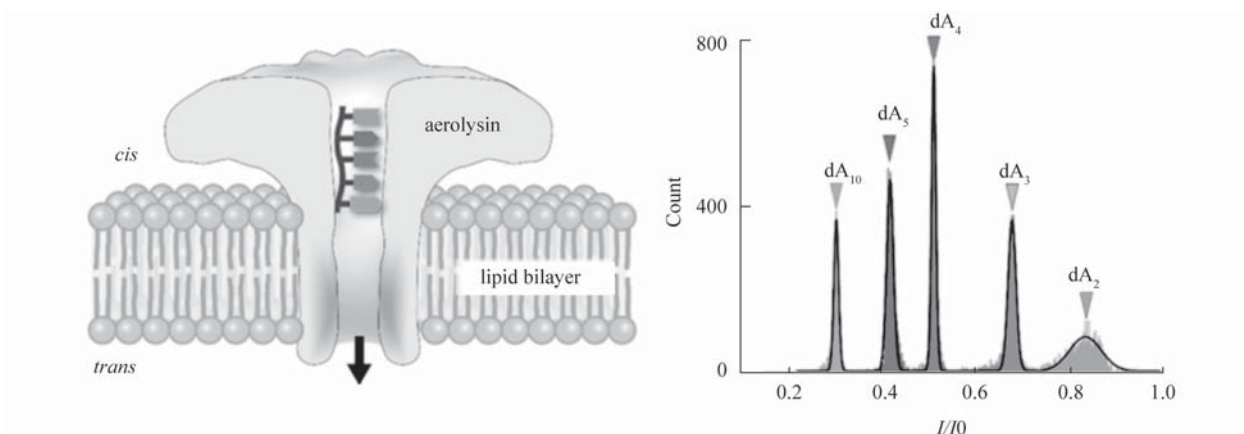


图3 Aerolysin 蛋白孔道用于 DNA 单碱基检测示意图

#### 4 小 结

目前,电分析化学在分子反应机理以及生物反应过程中的应用是电化学发展的重点方向之一。本项目以电化学为基础,开展了从一维到三维的界面光电分析研究,为将来设计新型微纳生物电化学传感单分子界面电化学过程机理的研究提供了良好的研究基础。

**致谢** 本研究项目得到国家自然科学基金委杰出青年科学基金(项目批准号:21125522)的大力资助。

#### 参 考 文 献

- [1] Oh Y, Hu X. Organic molecules as mediators and catalysts for photocatalytic and electrocatalytic CO<sub>2</sub> reduction. *Chemical Society Reviews*, 2013, 42: 2253—2261.
- [2] Chen P, Zhou X, Andoy NM, et al. Spatiotemporal catalytic dynamics within single nanocatalysts revealed by single-molecule microscopy. *Chemical Society Reviews*, 2014, 43: 1107—1117.
- [3] Sekretaryova AN, Vagin YM, Turner APF, et al. Electrocatalytic currents from single enzyme molecules. *Journal of the American Chemical Society*. 2016, 138: 2504—2507.
- [4] Jing C, Cu Z, Xie T, et al. Color-Coded imaging of electrochromic process at single nanoparticle level. *Chemical Science*, 2016, 7(8): 5347—5351.
- [5] Jing C, Rawson FJ, Zhou H, et al. New insights into electrocatalysis based on plasmon resonance for the real-time monitoring of catalytic events on single gold nanorods. *Analytical Chemistry*, 2014, 86(11): 5513—5518.
- [6] Ma W, Ying YL, Qin LX, et al. Investigating electron-transfer processes using a biomimetic hybrid bilayer membrane system. *Nature Protocols*, 2013, 8(3): 439—450.
- [7] Ma W, Qin LX, Liu FT, et al. Ubiquinone quantum dot bioconjugates for in vitro and intracellular complex I sensing. *Scientific Reports*, 2013, 3: 1537—1544.
- [8] Wang HY, Gu Z, Cao C, et al. Analysis of a single  $\alpha$ -synuclein fibrillation by the interaction with a protein nanopore. *Analytical Chemistry*, 2013, 85(17): 8254—8261.
- [9] Wang HY, LY, Qin LX, et al. Single-molecule DNA detection using a novel SP1 protein nanopore. *Chemical Communications*, 2013, 49(17): 1741—1743.
- [10] Liu Y, Ying YL, Wang HY, et al. Real-time monitoring of the oxidative response of a membrane-channel biomimetic system to free radicals. *Chemical Communications*, 2013, 49: 6584—6586.
- [11] Chao C, Ying YL, Hu ZL, et al. Discrimination of oligonucleotides of different lengths with a wild-type aerolysin nanopore. *Nature Nanotechnology*, 2016, 11: 713—718.

### Electrochemistry at Multidimensional Interfaces

Long Yitao

(Key Laboratory for Advanced Materials & Department of Chemistry East China University of Science and Technology, Shanghai 200237)

**Key words** electroanalytical chemistry; single molecule analysis; single nanoparticle; interface sensing; nanopore