摘要

本论文的研究内容主要涉及两方面的内容:其一为原子力显微镜测量生物分 子间作用力的研究,这是本人作为交流学生在日本东京农工大学生物技术与生命 科学系完成:其二是设计、合成了可用于表面自组装研究的一系列端基带有氢键 基团的星状 π 共轭分子。

生物大分子间存在高特异性相互作用力,它们在调控分子识别过程中起到了 相当重要的作用。了解、检测和分类生物体系间的相互作用力已经成为现阶段生 物学以及相关领域研究的热点。而原子力显微镜作为表征形貌和测量分子间作用 力的手段,能有效地和定量化地计算生物体系中两类分子之间的特异性作用力。 在本课题中,我们选用的锌指是一类转录调节因子,能够和特异性的 DNA 结合 起到基因转录的作用。我们将 Zif268 和目标 DNA 分别化学修饰在 AFM 针尖和 玻璃基板上,利用 AFM 测定一系列 Zif268 一DNA 体系的力曲线,并计算归纳获 得 Zif268 一DNA 复合物的解离力大小。同时由于 Zif268 和非特异性作用的 DNA 之间存在一定的作用力,所以课题设计了有效的对比试验用以证实 Zif268 和目 标 DNA 分子之间的特异性作用力,得出了 Zif268 和目标 DNA 之间特异性作用 力的数值,并将其和已有文献的相关报道进行对比用以证明其可信性。另外,也 计算出非特异性作用力的大小,并且对其产生的原因进行了分析和阐述。

把结构明确的 π 共轭寡聚物进行超分子组装将会对分子电子器件的发展产 生决定性的影响;因为寡聚物分子确定的化学结构和物理性质有助于实现特定的 功能以及便于实现超分子结构的调控。同时,这些分子器件的性能与分子在固体 表面的排布形态有着密切的相互关联性。因此,更好的理解并调控 π 共轭寡聚物 在自组装单层膜中的取向与聚集形态对于发展未来的纳米器件是至关重要的。在 本课题中,我们设计、合成了一系列的星状 π 共轭分子,包括分别含有一、二、 三个羧酸端基的星状芴和以及结构更为刚性的三个端基均为 2,4一二胺基三嗪 环的三聚茚分子,以此形成一个系列的分子结构,便于进行系统性研究。同时我 们对这些星状分子的溶液和薄膜分别进行了紫外和荧光光谱的表征。最终这些功 能性分子将有望由氢键诱导在石墨或者金属表面形成有序的自组装结构。我们期 望通过不同类型氢键的引入,实现共轭光电分子在纳米尺度的可控构筑,并为未 来的分子光电器件的开发奠定基础。

关键词:原子力显微镜,生物分子作用力,力曲线,星状共轭分子,表面自组装

i

Abstract

The research of this thesis are focused on two aspects: One is the research on biomolecular interaction forces analyzed by atom force microscope (AFM), which was processed in Department of biotechnology and bioscience, Tokyo University of Agriculture and Technology. The second work is design and syntheses of a series of star-shape conjugated molecules end-capped with hydrogen bonding groups.

Highly specific interactions exist in biomolecular system. They play a very important role in molecular recognition. The knowledge, characterization and classification of biomolecular interactions become the research hotspot for biology and some related science. AFM can be employed to efficiently and quantificationally characterize the specific force interactions betweem biomolecules. Zinc finger proteins are an important effect in transcriptional regulation due to their interactions with DNA. Therefore, in this project we selected Zif268-DNA complex as our research target. Zif268 were bound on the surface of an AFM tip and the tip was approached to contact target molecules which were immobilized on the substrate. Then, the force required to unbind the binder-target complex was estimated from force-distance curves observed during the withdrawal of the tip from the substrate. Due to the occurrence of non-specific interactions between Zif268 and DNA, parallel experiments were designed and performed to discriminate specific interactions among the complex protein-DNA interactions. We also quantified the specific interaction between Zif268 and target DNA and summarized the causes for non-specific interactions, based on statistical analysis of the force curves.

The supramolecular organization of π conjugated oligomers with well-defined structures will have crucial influences on molecular electronic devices. Oligomers have defined chemical structures and physical properties, which contribute to realize some specific functionalities and tune supramolecular structures. Meanwhile, the molecular pattern structures on the surface have great effects on the properties of these molecular devices. Thus, it is great essential to understand and control the orientation of these conjugated oligomers in their self-assembly monolayers, for better development of nano-devices. In this project, a series of star-shaped opto-electronic molecules end-capped with hydrogen bonding groups were synthesized which would be good candidates for hydrogen bonding induced self-assembly materials on graphite or metal surface. One, two and three carboxyl terminal groups were introduced into

star-shaped oligofluorenes, respectively; and more planar core structure truxene with 1, 3, 5-triazine-2, 4-diamine (T) end-groups were also designed and synthesized for systematic research and comparison. The optical properties of these molecules were characterized by UV-vis and fluorescence spectra, which implied that the star-shaped core and the long alkane side chains could substantially suppress intermolecular π - π aggregation.

Keywords: AFM, biomolecular interaction, force curve, star-shaped conjugated molecule, surface self-assembly

论文独创性声明

本论文是我个人在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果。论文中除 了特别加以标注和致谢的地方外,不包含其他人或其它机构已经发表或撰写过的 研究成果。其他同志对本研究的启发和所做的贡献均已在论文中作了明确的声明 并表示了谢意。

作者签名: 2007.6.13

论文使用授权声明

本人完全了解复旦大学有关保留、使用学位论文的规定,即:学校有权保留 送交论文的复印件,允许论文被查阅和借阅;学校可以公布论文的全部或部分内 容,可以采用影印、缩印或其它复制手段保存论文。保密的论文在解密后遵守此 规定。

第一部分 生物体系作用力的原子力显微镜研究

第一章 绪论

1.1 原子力显微镜

1986年,IBM 公司的 G Binning 和斯坦福大学的 C. F. Quate 及 C. Gerber 合 作发明了原子力显微镜 (Atomic Force Microscope, AFM)^[1]。它是在扫描隧道显 微镜 (Scanning Tunneling Microscopy, STM)基础上为观察非导电物质经改进而 发展起来的可在分子和原子级进行观察的显微工具。原子力显微镜自问世以来, 已经有多项应用扩展。一开始,通过 AFM 探针与被测样品之间存在的微弱的相 互作用力 (原子间相互作用力)可以使用 AFM 来获得物质表面的形貌。之后, 人们利用原子力显微镜技术研究生物体系中单个生物分子的特性或生物分子之 间的相互作用。最近,通过修饰和操控 AFM 的探针成功实现了单分子操纵技术。 原子力显微镜的横空出世和潜在应用使得人们在微电子技术、生物技术、基因工 程、生命科学、材料科学、表面技术、信息技术^[2]和纳米技术等各种尖端科学领 域的探索和发展更进一步。

1.1.1 先进显微技术的历史发展

扫描探针显微镜(SPM)是继光学显微镜、电子显微镜之后的第三代显微镜, 这是一种以物理学为基础,集多种现代科技为一体的新型表面分析仪器。1981 年,G Binnig和H. Rohrer^[3]发明了扫描隧道显微镜(STM),并因此被授予1986 年的诺贝尔物理学奖。STM是基于量子力学的隧道效应,通过一个由压电陶瓷驱 动的探针在物体表面作精确的二维扫描,其扫描精度达到纳米级别。该探针尖端 可以制成只有一个原子大小的粗细,并且位于距样品表面足够近的距离内,以使 探针尖端与样品表面之处的电子云有些微重叠。这时若在探针与样品表面之间加 一上定的偏压,就会有一种被称作为隧道电流的电子流流过探针。这种隧道电流 对探针与物体表面的间距十分灵敏,从而在探针扫描时通过感知这种隧道电流的 变化就可以记录下物体表面的起伏情况。这些信息再经计算机重建后就可以计算 机屏幕上获得反映物体表面形貌的直观图象。但由于STM要求使用导电基底,通 常是高定向裂解石墨(HOPG)、金属等,而且这些基底用来观测生物样品时,非 常易于产生同螺旋DNA和其他生物大分子相像的假象。另外,由于不清楚隧道 电子是如何同非导电吸附材料相作用的,很难判断生物大分子STM图像的真实 性。这些限制了STM在生物大分子研究中的广泛应用。而随着生物技术的进步, 特别是基因工程和蛋白质组学的发展,在分子尺度观察、测量生物分子结构和相 互作用变得越来越重要和迫切。

在STM的基础上, G. Binning、C. F. Quate及C. Gerber合作发明了原子力显微 镜 (AFM),将观察对象由导体、半导体扩展到绝缘体。Ivan Amato将AFM比作 为"纳米世界的选拍照相机"^[4],弥补了STM在生物研究领域的不足,同时它又 成为观察物质表面、对原子和分子进行操纵的一个有效工具^[5]。AFM可直接对脱 氧核糖核酸 (DNA)、核糖核酸 (RNA)和它们的蛋白或其他配合体、复合物结 构进行研究。同时,样品制备上避免了电子显微镜成像过程中所需要的喷镀、染 色和标记等用来增加图像反差的复杂处理步骤。AFM也能够像在空气中一样在 液体中操作,因此能在接近生理条件的缓冲溶液中成像生物分子。AFM的水平 分辨率一般是5-10 nm (和针尖的曲率半径有关),因此AFM是第一个,目前也 是唯一能在近似生理条件下对生物样品成像达到纳米分辨率的检测技术。

近年来,在 STM 和 AFM 的理论基础上,各种扫描力显微术发展很快,相继发明了力调制显微镜(Force Modulation Microscopy, FMM)、相位检测显微镜 (Phase Detection Microscopy, PDM)、静电力显微镜(Electric Force Microscopy, EFM)、电容扫描显微镜(Scanning Capacitance Microscopy, SCM)、热扫描显微 镜(Scanning Thermal Microscopy, SThM)和近场光学扫描显微镜(Scanning Near-Field Optical Microscopy, NSOM)等各种系列显微镜。由于以上显微镜均 是基于探针在被测试样表面上进行二维扫描引起相关检测量变化的原理而研制 的设备,因此国际上称以上各系列显微镜为扫描探针显微镜(Scanning Probe Microscopy, SPM)。

1.1.2 原子力显微镜的工作原理

AFM主要由为反馈光路提供光源的激光系统(Laser)、实现力一距离反馈的 微悬臂系统(Cantilever)、执行光栅扫描和乙轴定位的压电扫描器(x, y, z Piezo-scanner)、接收光反馈信号的光电探测器(Detector)、反馈电子线路(Current Circle)、粗略定位系统、防震防噪声系统、计算机控制系统与数据处理软件、样 品探测环境控制系统(湿控、温控、气环境控制等)、监控激光一悬臂一样品相 对位置的显微及CCD摄像系统等构成。其中,前四大系统是该仪器的核心部件。 图1.1为原子力显微镜主要部件和工作原理图。

AFM 是使用一个一端固定而另一端装有针尖的弹性微悬臂来检测样品表面 形貌的。当样品在针尖下面扫描时,同距离有关的针尖一样品相互作用(即可能 是吸引的,也可能是排斥的)和其他相互作用力,就会引起微悬臂的形变。也就 是说,微悬臂的形变是对样品一针尖相互作用的直接测量^[6]。控制针尖或样品的



Z 轴位置,利用激光束的反射来检测微悬臂的形变。即使小于 0.01 nm 的微悬臂 形变,只要用激光束将它反射到光电检测器后,变成了 3-10nm 的激光点位移, 由此在光电倍增管上产生一定的电压变化。通过测量检测器电压对应样品扫描位 置的变化,就可得到样品的表面形貌图像。商业用的微悬臂具有的弹簧常数 (k) 一般为 0.004-1185 N/m,针尖曲率半径大约为 30 nm。

1.1.3 原子力显微镜的操作模式

AFM有三种不同的常用操作模式: 接触模式 (contact mode), 轻敲模式 (tapping mode) 和非接触模式 (non-contact mode)。其中,最常用的是接触式 和轻敲模式。图1.2给出了AFM不同操作模式在针尖和样品相互作用力曲线中的 工作区间。



图 1.2 针尖一样品相互作用力随距离的变化曲线

1.1.3.1 接触模式

在接触模式中,针尖始终同样品接触。样品扫描时,针尖在样品表面上滑动。 接触模式通常产生稳定的高分辨图像。当激光束照射到微悬臂的背面,再反射到 位置灵敏的光电检测器时,检测器不同象限会接收到同悬臂形变量成一定比例关 系的激光强度差值。反馈回路根据检测器的信号与预置值的差值,不断调整针尖 一样品距离,并且保持针尖一样品作用力不变,就可以得到表面形貌像。这种测 量模式称为恒力模式^[1]。当已知样品表面非常平滑时,可以让针尖一样品距离保 持恒定,这时针尖-样品作用力大小直接反映了表面的高低,这种方法称恒高模 式^[1]。但接触模式下研究低弹性模量的样品(例如生物样品)时也存在一些缺陷。 这是由于这类分子和基底间的吸附接触很弱,探针在样品表面上的移动会产生压 缩力和剪切力,容易使得样品发生变形,并会损坏探针,从而影响到图像的质量

和真实性。

1.1.3.2 轻敲模式

在轻敲模式中,微悬臂是振荡的并具有较大的振幅(>20 nm),针尖在振荡 的底部间断地同样品接触,是介于接触模式和非接触模式之间的一种操作模式 ^[7]。当针尖没有接触到表面时,微悬臂以一定的大振幅振动,当针尖接近表面直 至轻轻接触表面时,其振幅将减小;而当针尖反向远离表面时,振幅又恢复到原 先的大小。反馈系统根据检测该振幅,不断调整针尖一样品之间的距离来控制微 悬臂的振幅,使得作用在样品上的力保持恒定。由于针尖同样品接触,分辨率通 常几乎同接触模式一样好;但因为接触是非常短暂的,剪切力引起的破坏几乎完 全消失,所以轻敲模式适合于分析研究柔软、粘性和脆性的样品^[8]。在轻敲模式 中,针尖在振荡周期是间断地与样品接触;因为这种接触是短暂的,就大大降低 了对样品的损伤,所以很适合用于生物分子的成像。

1.1.3.3 非接触模式

在非接触模式中,针尖在样品表面的上方几到几十纳米处振动,始终不与样品表面接触。以略大于微悬臂自由共振频率的频率驱动微悬臂,当针尖接近样品表面时,微悬臂的振幅显著减小。振幅的变化量对应于作用在微悬臂上的力梯度,因此对应于针尖一样品间距。由于针尖探测器检测的是范德华吸引力和静电力等对成像样品没有破坏的长程作用力,一般比接触式的作用力小几个数量级,因此适合研究柔软的或有弹性的表面。同时非接触模式有另外一个优点就是针尖始终不与样品表面接触,因而针尖不会对样品造成污染。尽管这种模式虽然增加了显微镜的灵敏度,但相对较长的针尖一样品间距使得分辨率要比接触模式的低。实际上,由于针尖很容易被表面的粘附力所捕获,非接触模式的操作是很难的。到目前为止,非接触模式的应用通常不适合在液体中成像,而且在生物中的应用也是很少的^[9]。

1.1.4 原子力显微镜的应用

原子力显微镜具有很高的空间分辨率,不仅能直接观察到物质表面的原子结构,而且还能对原子和分子进行操纵。事实证明 AFM 已经成功的应用于物理、 化学、金属、半导体、微电子、纳米材料、生物、生命科学、生物医药等众多领 域中,特别在推动材料科学和生命科学的深入发展上起到了非常重要的作用。

1.1.4.1 在材料科学中的应用

在材料科学中,无论无机材料还是有机材料,人们对于材料是晶态还是非晶态、分子或原子的存在状态、中间化合物及各种相的变化进行探索,以便找出结构与性能之间的规律^[10,11]。在这些研究中 AFM 可以使研究者,从分子或原子水平直接观察晶体或非晶体的形貌、缺陷,测量空位能、聚集能及各种力的相互作用,从而了解和掌握材料微观结构与宏观性能之间的关系,并将在工业生产中发挥巨大作用。

当今纳米材料是材料领域最受关注的课题,而 AFM 在对纳米材料的微观研 究中也是最重要的分析测试工具之一。Neffati 等人用高分辨 AFM 观察不同浓度 下的硅氧烷橡胶/黑烟末(CB)纳米复合材料样品的表面形貌和性质,证实样品 的粗糙度和表面 CB 的晶粒数目有关,并得出结论: CB 的主体浓度和表面的实 际浓度均受到硅氧烷橡胶基体制备速率的影响,并决定其材料的传导率。由此可 见,在纳米级的复合材料研究中,AFM 是一种强有力的工具^[12]。

工业上可以利用原子力显微镜对钢材成分进行有效分析,相对于光学显微镜 和扫描电子显微镜,AFM 不仅可以在一次扫描下,根据不同物理参数同时得到 氧化铁皮图片,更可以根据磁力图判断氧化铁皮的成分。用原子力显微镜的磁力 针尖以敲击模式作精细扫描,可同时得到低碳钢热轧板样品的形貌图、相图和磁 力图。证实低碳钢热轧板表面氧化铁皮结构主要是四氧化三铁和游离铁的混合物 ^[13]。

1.1.4.2 在生命科学和生物医学中的应用

在生命科学中,因 AFM 有着很高的三维图形分辩能力,因此用 AFM 对生物大分子成像的意义,不仅是在分子水平上认识大分子的形态,而且可以通过对生物分子结构的研究及生物分子在相互作用前后构型的变化,对揭示生命过程起到至关重要的作用。例如,在生命科学中,AFM 对染色体、蛋白质、多糖、微生物、细胞等的研究都发挥了非常重要的作用。

在对鸟嘌呤(G)、胞嘧啶(C)分带中期染色体的三维结构的观察^[14]、染色 单体型畸变识别^[15]以及核型分析等方面研究的应用证实,与光学显微镜、扫描及 透射电镜等成像工具相比,AFM 具备独特的优势。它不仅能够识别染色体畸变, 同时可以对结构变化进行细微的观察。除正常染色体的结构及表面性质的研究, 利用 AFM 还可对 G 分带染色体形态发生的一系列变化进行观察。研究发现,随 着胰蛋白酶作用时间的延长,染色体除周边之外的其余结构将逐渐发生崩解^[16]。 中期染色体经 G、C 分带会出现纵向高度的差异^[17],各条带中染色质纤维排列的

松紧度也有所不同^[18]。这些都有助于染色体分带机制的阐明。对重离子射线诱发 染色体畸变的分析发现,通过 AFM 不但能识别出染色单体裂隙和单体断裂,还 清楚地观察到单体型畸变断裂点的纤维状结构^[19]。这证实了 AFM 是辐射诱发染 色体畸变的结构研究中十分有用的工具。

利用 AFM 观察, 生物膜可以在其固有的状态下获得水平方向分辨率达 0.5-1 nm、垂直方向分辨率达 0.1-0.2 nm 的高分辨图像, 甚至可以观察到分子内的结构细节^[20]。DNA 的复制、蛋白质的合成、遗传信息的传递等都是由分子间力控制的, 而 AFM 对微小相互作用力的灵敏度使其成为测量这些相互作用的有效工具。单分子力谱和高分辨成像的结合使得分析生物分子内和分子间的相互作用力成为可能。 譬如, Pang 在 AFM 下直接观察抗肿瘤药顺铂及其异构体反铂与 DNA 的相互作用,发现顺铂抑制 DNA 复制的作用较反铂强,顺铂的抗肿瘤活性与DNA 分子中鸟嘌呤(G) 和胞嘧啶(C)含量有关^[21]。

随着仪器和生物样品制备方法的改进以及成像条件的优化使得 AFM 不仅可 以对生物分子进行高分辨成像,而且可以对生物分子进行操纵——对被观察标本 直接进行切割、钻孔、打磨等操作。因此可利用 AFM 进行生物制药和基因治疗。 同时,AFM 操作简便,样品处理要求不高,可检测的样品范围很广,配套设备 很少,安装条件也比较简单等优点足以证明 AFM 将成为现代、未来生物医学研 究的主要手段。

1.1.4.3 在聚合物研究中的应用

AFM 在聚合物研究中的应用非常广泛,除对聚合物表面几何形貌进行观测 外,目前更常用于对聚合物纳米级结构和表面性能的研究。例如 AFM 对嵌段共 聚物膜表面形貌与相分离进行观察,有研究小组^[22]就报道了聚苯乙烯一聚乙烯/ 聚丁烯一聚苯乙烯三嵌段共聚物(SEBS)在相同浇铸条件下不同溶剂浇铸成膜 的微相分离形态。

而通过对聚合物在原子级别上的观察、分析、归纳、总结,可以获得更深层 次的信息。例如观察聚氧化乙烯(PEO)的晶体结构^[23]。由 AFM 图像可确定 PEO 片晶表面几何形状接近正方形,厚度约为 12.5 nm,在空气中随时间的延长晶片 逐渐形成不规则的树枝状结构,这些结构间的缝隙深度较 PEO 晶体厚度大,说 明在这个过程中高分子链进行重新折叠。

运用 AFM 技术可以顺利解析聚合物的各种性质,例如导电性能、单链聚合物的力学性能^[24]等。研究聚合物结构与性能之间的关系,操纵和修饰聚合物链,设计和创造新的结构和物质,从根本上评价和控制聚合物可能的性能和过程,将成为 AFM 的发展趋势以及聚合物科学的重要研究领域。

1.1.4.4 在信息技术中的应用

半导体芯片技术是当今高科技的核心。尽管元件尺寸越来越小,但是芯片的 功能却越来越强。当尺寸缩小到纳米级,传统的观测手段(如电子显微镜)已不 能满足需要,必须采用扫描探针显微镜。光盘具有存储量大、成本低、精度高和 信息保存寿命长等特点,现已成为主要的数据存储介质之一。它的信息是以凹坑 的形式存储于盘基上,凹坑的深度和长度是信息位的关键参数,它们直接影响光 盘读出信号的质量。AFM 可直接对物体表面进行三维检测,能够在纳米尺度上 对光盘上的信息位凹坑结构进行三维检测。同时由于 AFM 具有高分辨率、形象 直观的观测、提供量化的三维信息以及对样品无特殊要求的特点,使其成为分析 信息存储介质的重要工具,因而也将在未来的数据分析和处理中发挥重要作用。 另外,AFM 还集纳米加工与测量于一体,具有较好的实时监控和微加工能力, 这对于未来开发和研制更快的存储介质及海量存储系统等也有重要的意义^[24]。

1.1.5 原子力显微镜的展望

原子力显微镜以其独特的成像方式、高分辨率、制样简单、操作易行等特点 而备受关注,并且突出地显现了显微观测技术作为人类视觉感官功能的延伸与增 强的重要性。AFM 已在生命科学、材料科学等领域发挥了重大作用,极大地推 动了纳米科技的发展,促进人类加速进入了纳米时代;同时,AFM 将带领人类 进入后基因组,即蛋白质组学研究的新天地。

20 年来, 材料科学、电子技术、计算机科学的进步极大地促进了 AFM 技术 的进步。目前 AFM 在以下方向有待发展:(1) 探针针尖的工艺研究。探针针尖 的工艺对 AFM 分辨率至关重要, 如何提高针尖尖度、延长探针使用寿命将成为 AFM 长期研究的问题。目前科学家们正致力于研究碳纳米管针尖的制造和应用 ^[25,26]。(2) 接触面处的接触距离, 是 AFM 中最关键的因素。合理的接触距离, 既有利于延长针尖的使用寿命,又有利于提高 AFM 的分辨率。在原子操纵中, 接触距离将起着决定性作用。电场的强弱和原子间力的大小接触同距离有密切的 关系。研究发现,当接触距离达到某个值时,接触面处的原子会发生"突跳", "突跳"对原子操纵影响很大。(3) 计算机技术的进步和数据处理软件的开发也 是不可忽视的关键因素。

1.2 生物体系间作用力的 AFM 研究

1.2.1 研究生物体系之间的相互作用力的意义

生物大分子间存在高特异性相互作用力,例如抗体一抗原、配体一受体、互补DNA-DNA间相互作用力,它们在调控分子识别过程中起到了相当重要的作用。例如基因的表达、酶的功能性催化、细胞的保护这些过程都依赖于生物分子间的相互作用力。又如,在免疫系统中,抗体能够高效快速的识别于它们相应的抗原,并与它们结合,这在生物工艺学、药理学^[27]和催化学^[28]中都起到了重要作用。所以,了解、检测和分类生物体系间的相互作用力已经成为现阶段生物学以及相关领域研究的热点,不仅对细胞生物学、微生物学和医药学等基础研究提供了广泛的研究素材,也对于生物传感器的发展有不可低估的影响。

随着仪器技术的发展,对生物分子间的相互作用力的直接检测(定性和定量) 已经成为现实。目前生物膜力探针(biomembrane force probe)^[29]、表面力测量 仪(surface forces apparatus)^[30]、光镊子(optical tweezers)^[31]是应用比较普遍 的敏感力转换装置。尽管这些技术对于生物分子间的作用力较为敏感,但是它们 缺乏测量离散的分子间相互作用力的空间或者力分辨率。而原子力显微镜使用微 小的针尖作为力探针,柔软的悬臂作为力转换装置,能够获得良好的空间和力分 辨率。同时,能够在等同于生理学的条件下进行仪器操作,这些优势使得原子力 显微镜在生物分子间相互作用的研究中独树一帜。

1.2.2 生物分子间相互作用的 AFM 研究简介

1994年, Lee 小组^[32]首次报道了利用 AFM 测定离散的生物分子复合物的断 裂力。他们选用生物素一链霉亲和素体系,这是因为该复合物具有很强的非共价 键作用力。牛血清白蛋白作为介质,可以将生物素修饰于 AFM 针尖表面,同时 将链霉亲和素修饰于玻璃基板表面。链霉亲和素分子有四个活性位点,尽管某些 位点在基板修饰中被占据,但仍然能够保证与生物素的作用。在 AFM 针尖和基 板分离的过程中,存在多种断裂力,但是通过力曲线图可以获得最终断裂力的信 息。经过分析归纳,统计显示了这些最终断裂力的分布,其中峰值代表了一个或 多个生物素一链霉亲和素复合物的断裂力大小,并得出单个生物素一链霉亲和素 特异性作用力大小为 160 pN。

除了对于生物素一链霉亲和素的研究,对于抗体一抗原的作用力研究也有报 道。Stuart 和 Hlady^[33]的研究中发现抗体一抗原非特异性断裂力也能被检测到, 这可能是因为分子运动性不足。Dammer 小组^[34]利用自组装单层膜修饰针尖和基 底并获得定量断裂力。而 Hinterdorfer 小组^[35, 36]是第一个确定单个抗体一抗原之

间的相互作用力的。后两个研究小组在修饰的过程中使用具有移动性的交联剂分 别在针尖和基板上连接抗体和抗原,这样可以克服一系列问题,例如定位失误、 位阻效应和构型转化,同时可以降低针尖上抗体密度,保证是单分子作用。

在蛋白质一DNA 作用力的测定中,目前主要还是通过 AFM 图像功能定性化 的观测它们之间相互作用的动力学过程和机理。例如蛋白质分子是怎样和活细胞 中 DNA 上特定位点相作用的,通常这些特定位点仅仅是几个特定碱基对,所以 相对于周围环境中的大量非特异性 DNA,它们之间的结合显得很神奇。利用动 态 AFM 成像便可以清晰的观测到甚至单个 DNA 分子的长度,蛋白质分子最优 结合位点等细节问题^[37-39]。另外,基于 DNA 本身的特性,也可以通过力曲线获 得定量数据。多个小组^[40,41]都对互补 DNA 双链中单个碱基对的相互作用力进行 了定量测定,之间存在一些数值差异可能源于特异性和非特异性的作用力,以及 不同的力加载速率^[42]。也有研究 DNA 分子经过 AFM 拉伸过程导致碱基堆积作 用消失,DNA 分子失去弹性,导致的 B-S 转变过程^[43-45]。

1.3 本课题选题背景和意义

生物分子间相互作用力的研究是现在生物学以及相关专业中值得投入精力 进行分析研究的一个方向。这是因为它们在生物体和真实环境中对识别调控起到 了不可估量的作用。锌指是一类转录调节因子,能够和特异性的 DNA 结合起到 基因转录的作用。所以,对于它们之间的相互作用的研究,一直以来是科学家们 关注的重点。十多年来,人们通过各种表征手段了解研究锌指一DNA 复合物, 从一开始利用 X 射线单晶衍射方法直接观测它们之间的复杂多样的作用方式, 到计算机模拟锌指一DNA 复合物之间相互作用力,特定碱基对和锌指分子的作 用力大小等,已经走过了很长的研究之路。随着原子力显微镜在单分子操纵技术 上的应用,使用 AFM 获得的锌指一DNA 力曲线图可以定量分析这种特异性作用 力的大小,深刻了解锌指一DNA 复合物的结构特性,使得科学家们能够进一步 理解锌指的基因转录作用。

原子力显微镜作为表征形貌和测量分子间作用力的手段,能有效地和定量化 地计算生物体系中两类分子(例如 DNA 和蛋白质)之间的特异性作用力。锌指 Zif268 和富含 G、C 碱基对的 DNA 可以特异性结合从而起到转录基因的作用。 我们将 Zif268 和目标 DNA 分别化学修饰在 AFM 针尖和玻璃基板上,利用 AFM 测定一系列 Zif268 — DNA 体系的力曲线,并计算归纳获得 Zif268 — DNA 复合物 的解离力大小。

同时由于 Zif268 和非特异性作用的 DNA 之间存在一定的作用力,称为非特异性作用力,所以课题需要设计有效的对比试验用以证实 Zif268 和目标 DNA 分

子之间的特异性作用力,并且区分其和非特异性作用力的大小,同时讨论非特异 性作用力的成因。另外,课题设计不同的试验条件以最大程度减小非特异性作用 力对 Zif268-DNA 分子间特异性作用力的影响,从而获得更为精确的 Zif268-DNA 复合物的解离力大小。

本课题为作者作为交流学生在东京农工大学生物技术与生命科学系三宅--中村联合实验室完成。

参考文献

- Binning G, Quate CF, Gerber C. Atomic force microscope [J]. Phys. Rev. Lett., 1986, 56 (9): 930-933.
- [2] 刘万里,孙大许,马强,闫勇刚. 原子力显微镜在信息存储介质检测中的应用 [J]. 现代科学仪器,2005,5,51-53.
- [3] Binning G, Rohrer H, Gerber C, Weibel E, Surface studies by scanning tunneling microscopy [J]. Phys. Rev. Lett., 1982, 49 (1): 57-61.
- [4] Amato I. Atomic Imaging: Candid Cameras for the Nanoworld [J]. Science, 1997, 276 (5321): 1982-1985.
- [5] Bustamante C, Keller D, Yang GL. Scanning force microscopy of nucleic-acids and nucleoprotein assemblies [J]. Curren. Opi. nionStruct. Bio., 1993, 3 (3): 363-372.
- [6] 白春礼. 扫描隧道显微术及其应用 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1994: 91-132
- [7] Kaneko R, Oguchi S, Hara S, Matsuda R, Okada T, Ogawa H, Nakamura Y. Atomic force microscopy coupled with an optical microscope [J]. Ultramicroscopy, 1992, 42, 1542-1543.
- [8] Umemura K, Arakawa H, Ikai A. High resolution images of cell surface using a tapping mode atomic force microscope [J]. Japan J. Appl. Phys., 1993, 32 (11B): 1711-1714.
- [9] Smith ST, Howard LP. A precision, low-force balance and its application to atomic force microscope probe calibration [J]. Rev. Sci. Instrum., 1994, 65 (4): 903-904.
- [10] Wong SS, Woolley AT, Joselevich E, Cheung CL, Lieber CM. Covalentlyfunctionalized single-walled carbon nanotube probe tips for chemical force microscopy [J]. J. Am. Chem. Soc., 1998, 120 (33): 8557-8558.
- [11] Dai HJ, Franklin N, Han J. Exploiting the exploiting the properties of carbon nanotubes for nanalithography [J]. Appl Phys Lett, 1998, 73 (11): 1508-1510.
- [12] Neffati R, Alexeev A, Saunin S, Brokken-Zijp JCM, Wouters D, Schmatloch S, Schubert US, Loos J. Automated scanning probe microscopy as a new tool for combinatorial polymer research: Conductive carbon black/poly(dimethylsiloxane) composites [J]. Macromol. Rapid Commun., 2003, 24 (1): 113-117.
- [13] 张孟仪, 邵光杰. 原子力显微镜在低碳钢热轧板氧化铁皮分析上的应用 电子显微学报 [J]. J. Chin. Electr. Microsc. Soc., 2006, 25 (增刊): 177-178.

- [14] Sit PS, Marchant RE. Surface-dependent conformations of human fibrinogen observed by atomic force microscopy under aqueous conditions [J]. Thromb. Haemost., 1999, 82 (3): 1053-1060.
- [15] Martin AL, Davies MC, Rackstraw BJ, Roberts CJ, Stolnik S, Tendler SJB, Williams PM. Observation of DNA-polymer condensate formation in real time at a molecular level [J]. Febs. Letters, 2000, 480 (2-3): 106-112.
- [16] Sahin F, Ergun MA, Tan E, Manevse A. The mechanism of g-band detecting by atomic force microscopy [J]. Scanning, 2000, 22 (4): 272-272.
- [17] Thalhammer S, Koehler U, Stark RW, Heckl WM. GTG banding pattern on human metaphase chromosomes revealed by high resolution atomic-force microscopy [J].
 J. Microsc-Oxford, 2001, 202: 464-467 Part 3.
- [18] Hoshi O, Ushiki T. Three-dimensional structure of G-banded human metaphase chromosomes observed by atomic force microscopy [J]. Arch. Histol. Cytol., 2001, 64 (5): 475-482.
- [19] Murakami M, Minamihisamatsu M, Sato K, Hayata I. Structural analysis of heavy ion radiation-induced chromosome aberrations by atomic force microscopy [J]. J. Biochem. Biophys. Methods, 2001, 48 (3): 293-301.
- [20] Engel A, Muller DJ. Observing single biomolecules at work with the atomic force microsope [J]. Nature Struct. Bio., 2000, 7 (9): 715-718.
- [21] Pang, D. Atomic force microscopy examination of conformations of poly nucleotides in response to platinum isomers: Singificance of GC content at broken ends [J]. Int. J. Cancer, 2000, 90 (2): 68-72
- [22] 王铀,李英顺,宋锐,沈静姝,龙程奋.原子力显微镜与透射电镜对比研究 嵌段共聚物微相分离形态 [J].高等学校化学学报,2001,22(11):1940-1942.
- [23] Snetivy D, Vancso GJ. Atomic force microscopy of polymer crystals: Chain fold domains in poly(ethylene oxide) lamellae [J]. Polymer, 1992, 33(2): 432-433.
- [24] Cho EC, Kim YD, Cho K. Temperature-dependent intermolecular force measurement of poly (N-isopropylacry-lamide) grafted surface with protein [J]. J. Colloid Interface Sci., 2005, 286(2): 479-486.
- [25] Kuwahara S, Akita S, Shirakihara M, Sugai T, Nakayama Y, Shinohara H. Fabrication and characterization of high-resolution AFM tips with high-quality double-wall carbon nanotubes [J]. Chem. Phys. Lett., 2006, 429 (4-6): 581-585
- [26] Kim JE, Han CS. Use of dielectrophoresis in the fabrication of an atomic force microscope tip with a carbon nanotube: a numerical analysis [J]. Nanotechnology,

2005, 16 (10): 2245-2250

- [27] Dickman S. Cancer therapy-Antibodies stage a comeback in cancer treatment [J]. Science 1998, 280 (5367): 1196-1197.
- [28] Kristensen O, Vassylyev DG, Tanaka F, Morikawa K, Fujii I. A structural basis for transition-state stabilization in antibody-catalyzed hydrolysis: Crystal structures of an abzyme at 1.8 angstrom resolution [J]. J. Mol. Biol. 1998, 281 (3): 501-511.
- [29] Evans E, Ritchie K, Merkel R. Sensitive force technique to probe molecular adhesion and structural linkages at biological interfaces [J]. Biophys. J., 1995, 68 (6): 2580-2587.
- [30] Helm CA, Knoll W, Israelachvili JN. Measurement of ligand receptor interactions [J]. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1991, 88 (18), 8169-8173.
- [31] Kuo SC, Sheetz MP. Effect of lime and phosphate on the growth of annual bluegrass and creeping bentgrass in 2 acid soils [J]. 1993, 156 (2): 94-100.
- [32] Lee GU, Kidwell DA, Colton RJ. Sensing discrete streptavidin-biotin interactions with atomic force microscopy. [J]. Langmuir, 1994, 10 (2):354-357.
- [33] Stuart JK, Hlady V. Effects of discrete protein-surface interactions in scanning force microscopy adhesion force measurements [J]. Langmuir, 1995, 11 (4):1368-1374.
- [34] Dammer U, Hegner M, Anselmetti D, Wagner P, Dreier M, Huber W, Guntherodt HJ.. Specific antigen/antibody interactions measured by force microscopy [J]. Biophys. J. 1996, 70 (5): 2437-2441.
- [35] Hinterdorfer P, Baumgartner W, Gruber HJ, Schilcher K, Schindler H. Detection and localization of individual antibody-antigen recognition events by atomic force microscopy [J]. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 1996, 93 (8): 3477-3481.
- [36] Hinterdorfer P, Raab A, Badt D, Gruber H, Baumgartner W, Schindler H. 1995. Single antibody-antigen recognition events measured by atomic force microscopy [J]. European Journal Of Cell Biology, 1997, 74: 71-71.
- [37] van Noort J, Orsini F, Eker A, Wyman C, de Grooth B, Greve J. DNA bending by photolyase in specific and non-specific complexes studied by atomic force microscopy [J]. Nucl. Acids Res, 1999, 27 (19): 3875-3880.
- [38] Hansma HG, Laney DE. DNA binding to mica correlates with cationic radius: Assay by atomic force microscopy [J]. Biophys. J., 1996, 70 (4): 1933-1939.
- [39] van Noort SJT, van der Werf KO, Eker APM, Wyman C, de Grooth BG, van Hulst NF, Greve J. Direct visualization of dynamic protein-DNA interactions with a

dedicated atomic force microscope [J]. Biophys. J., 1998, 74 (6): 2840-2849.

- [40] Boland T, Ratner BD. Direct measurement of hydrogen bonding in DNA nucleotide bases by atomic force microscopy Proc. Natl Acad. Sci. USA, 1995, 92 (12): 5297-5301.
- [41] Strunz T, Oroszlan K, Schafer R, Guntherodt HJ. Dynamic force spectroscopy of single DNA molecules [J]. Proc. Natl Acad. Sci. USA 1999, 96 (20): 11277-11282.
- [42] Butt HJ, Siedle P, Seifert K, Fendler K, Seeger T, Bamberg E, Weisenhorn AL, Goldie K, Engel A. Scan speed limit in atomic force microscopy [J]. J. Microsc., 1993, 169: 75-84.
- [43] Rief M, Clausen-Schaumann H, Gaub HE. Sequence-dependent mechanics of single DNA molecules [J]. Nat. Struct. Biol., 1999, 6 (4): 346–349
- [44] Williams MC, Rouzina I. Force spectroscopy of single DNA and RNA molecules[J]. Curr. Opin. Struct. Biol., 2002, 12 (3): 330-336.
- [45] Noy A, Vezenov DV, Kayyem JF, Meade TJ, Lieber CM. Stretching and breaking duplex DNA by chemical force microscopy [J]. Chem. Biol., 1997, 4 (7): 519-527.

第二章 锌指和 DNA 相互作用力的分析测定

2.1 引言

 C_2H_2 锌指蛋白质 (C_2H_2 zinc finger proteins, ZFPs) 在高等和低等真核细胞 中组成了一类数量巨大的核酸结合蛋白质^[1,2],并且显示出强大的功能性。ZFPs 在基因的转录调节中起到了重大作用,这主要是因为它们和 DNA 之间存在相互 作用。Zif268 这种转录调节因子最初在小鼠基因 TFIIIA 中被发现^[3],由于在自 然界中可以识别不同类别的 DNA 序列,所以 Zif268 在 ZFPs 这类蛋白质中具有 代表性和可研究性。Zif268 有三个类似手指的结构,称为锌指。每个锌指包含一 条短的反平行 β 折叠链和一个 a 螺旋,它们和一个憎水性的内核以及一个锌离子 共同组成紧密的球状结构。其中,锌离子和四个保守性残基(两个半胱氨酸由 β 折叠提供,另外两个组氨酸由 a 螺旋提供)配位。如图 2.1 所示,当 Zif268 和 DNA 作用时,它的三个锌指将包裹 DNA;同时 a 螺旋将插入到主沟槽中,这时 N 端上残基会和碱基作用,每个锌指会和富含鸟嘌呤(G)和胞嘧啶(C)的 DNA 上的三个碱基对亚位点形成主要连接^[4,5]。



图 2.1 Zif268-DNA 复合物显示其相互作用。其中三条多肽链的锌指分别以红色、黄色和紫 色表示。DNA 用深蓝色, 锌离子用浅蓝色表示。

近年来关于 Zif268-DNA 复合物的研究主要集中在 DNA 特异性识别序列^[6,7] 和相互作用力模拟计算上^[8],这些研究有助于人们深入了解这种特异性作用的形成和作用方式。Zif268-DNA 复合物的晶体研究揭示了这种蛋白质一DNA 特异性 作用包含多种连接方式,例如氢键作用,范德华力和憎水性作用力^[9]。这种两者 之间复杂的相互作用不仅导致了特异性作用力,同时也产生一些非特异性作用 力;导致目前仍然无法精确认定识别码序列。例如侧链相互作用力,这是一类静 电作用力,源自于带正电荷的 Zif268 氨基酸残基和带负电荷的 DNA 磷酸骨架。

正如绪论中提到的,原子力显微镜不仅能够观察材料形貌特性^[10,11],同时能 精确有效的分析分子间和分子内作用力^[12,13]。1992年,Hoh研究小组^[14]使用AFM 技术成功测量了无机体系中约 10 pN 大小的分子间相互作用力,之后,很多研究 小组纷纷利用这项技术检测生物体系中相对较弱的分子间特异作用力。主要手段 为:将分子固定于AFM 针尖和基底表面,通过两者相互接近、接触和撤离,在 这个过程中得到力曲线并从中获得两类分子间解离力信息。利用这种技术,检测 单分子之间作用力成为现实。这是因为AFM 针尖的半径只有 5--50 nm,使得针 尖和基底之间的接触面积非常小,在这种情况下,AFM 针尖可以成功的从基底 上抓取单个分子,整个过程类似于钓鱼。

本章节的工作为作者作为交流学生在日本东京农工大学生物技术与生命科 学系完成。

本课题的目的是为了检测 Zif268 和 DNA 之间的作用力,包括特异性作用力 和非特异性作用力。我们通过化学修饰的手段,将 DNA 和 Zif268 利用共价键分 别连接到 AFM 针尖表面和玻璃基底表面。同时设计平行实验用于区分特异性作 用力和非特异性作用力,这里使用了富含 GC 碱基的目标 DNA 作为主要实验对 象,而不具有识别码序列的对比 DNA 以及被 TO-Pro-3 iodide 荧光剂嵌入的目标 DNA 作为对比实验对象。通过 AFM 仪器操作获得数百张力曲线图,并对它们进 行统计分析,最终得出了 Zif268 和目标 DNA 之间特异性作用力的数值,并将其 和已有文献的相关报道进行对比用以证明其可信性。另外,也计算出非特异性作 用力的大小,并且对其产生的原因进行了分析和阐述。

2.2 实验部分

2.2.1 实验药品

中文名称	英语名称		厂商
缓冲液	MOPS buffer; TE buffer		自配
	N-(6-Maleimidocaproyloxy)succini	99%	Dojindo
			Laboratories
	3-Mercaptopropyltrimethoxysilane (MPTMS)	99%	Sigma-Aldrich
荧光嵌入剂	TO-PRO-3 iodide	97%	Molecular Probes
单链 DNA	ss-DNA _t , ss-DNA _c , ss-DNA _{tr} , ss-DNA _{cr}	99%	Invitrogen
谷胱苷肽硫基转 移酶一锌指 268	GST-Zif268		合作者提供
琼脂糖	Agarose	99%	NnSieve
streptavidin 修饰 的传感器芯片	streptavidin-coated sensor chip SA		Biacore AB

若非特别指明,本章中所有试剂均未作任何处理而直接使用。

2.2.2 仪器

2.2.2.1 AFM 探针

实验中用于测定力曲线的 AFM 探针型号为 NANOSENSORS™ AdvancedTEC™ Cont, 购置于 Nanosensors 公司 (Neuchatel, Switzerland) 这是 一种四面体结构的硅材料探针,图 2.2 给出了其三面视图的形状。这类接触性探针的力常数为 0.2 N/m (如表 2.1 所示)。



图 2.2 NANOSENSORS[™] AdvancedTEC[™] Cont 型 AFM 探针的三视图:前视图(左)、侧视图(中)和上视图(右)

表 2.1	悬臂的物理数据:
-------	----------

Technical Data	Nominal Value	Specified Range	
Thickness /µm	2	1.0 - 3.0	
Width /µm	50	45 - 55	
Length /µm	450	440 - 460	
Force Constant /(N/m)	0.2	0.02 - 0.75	
Resonance Frequency /kHz	15	7 - 25	

2.2.2.2 玻璃基底

实验中使用 Glass based dish,器皿材料为聚苯乙烯,总直径长 35 mm,中间 用硅树脂粘合玻璃,直径 27 mm。购置于 IWAKI Glass(Tokyo, Japan)。

2.2.2.3 表面等离子体共振仪(SPR)

实验中使用的表面等离子体共振(SPR)购置于 BIACORE X instrument (Biacore AB, Switzerland)。

2.2.2.4 原子力显微镜 (AFM)

实验中使用的原子力显微镜(AFM)MFP-3D 购置于 Asylum Research (Santa Barbara, CA)。

2.2.2.5 共聚焦激光扫描显微镜(LSM)

实验中使用的共聚焦激光扫描显微镜(confocal laser scanning microscope, LSM)型号为 FV300 (Olympus), 购置于 Olymous (Tokyo, Japan)。

2.2.3 样品处理和制备

2.2.3.1 缓冲液的配置

MOPS buffer (pH7.81): 10 mM MOPS, 5 mM DTT, 90 μ M ZnCl₂. TE buffer (pH 8.0): 10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA-3Na.

2.2.3.2 GST-Zif268 的渗析处理

将 GST-Zif268(54.2 μM, 2 mL)注入渗透膜中, 放置于 MOPS 缓冲溶液(500

mL)中,在-4℃环境中搅拌进行渗析。2小时后,替换新鲜的 MOPS 缓冲溶液 (1L)继续在-4℃环境中渗析搅拌过夜。次日,替换 MOPS 缓冲溶液(500 mL) 继续在-4℃环境搅拌2小时。三次渗析结束后,将样品 GST-Zif268 放置于4℃ 冰箱中进行保存。

2.2.2.2 DNA 的处理过程

四类碱基对(base pair, bp)数目均为49的单链DNA(ss-DNA)分子购置 于 Invitrogen 公司(日本东京),分别为:单链目标 DNA(ss-DNA_t)、单链对比 DNA(ss-DNA_c)、目标 DNA 互补链(ss-DNA_t)和对比 DNA 互补链(ss-DNA_c)。 它们两两配对可以合成两类双链 DNA(ds-DNA)。ss-DNA 的序列如表 2.2 所示, 其中加框部分表示目标 DNA 和对比 DNA 的碱基差异处:

表 2.2 四类单链 DNA 的碱基序列

ss-DNA 名称		
ss-DNA _t	NH2 -5' -AGT CTC CGG CGG TCT GCA CGG CGT GGG	
	CGT CTC GGT AGT CAA CGC TCT G-3'	
ss-DNA _c	NH2 -5'- AGT CTC CGG CGG TCT GCA CGA CTG AGC	
	CTT CTC GGT AGT CAA CGC TCT G-3'	
ss-DNA _{tr}	5'-CAG AGC GTT GAC TAC CGA GAC GAA CAC GC	
	GTG CAG ACC GAA GGA GAC T-3'	
ss-DNA _{cr}	5'-CAG AGC GTT GAC TAC CGA GAA GGC TCA GTC	
	GTG CAG ACC GCC GGA GAC T-3'	

5'端基处的氨基可以和琥珀酰亚胺通过共价键连接到 AFM 的针尖。

目标双链 DNA (ds-DNA_t)的合成步骤:首先,将两条具有相对碱基序列单链 DNA (ss-DNA_t和 ss-DNA_{tr})(100 μM, 20 μL)分别用 TE 缓冲液(180 μL)稀释 10 倍,之后以等摩尔量混合。使用 CMV-1E promoter/enhancer 升温仪将混 合液加热至 95 ℃ 并保持 3 分钟,随后缓慢降温,在此过程中 ds-DNA_t形成,并 且可以有效得消除 ss-DNA 之间的非特异性作用,降低相同 ss-DNA 序列之间的结合可能。

同样过程操作合成 ds-DNA_c,并将目标 DNA 和对比 DNA 放置于冰箱中保存 (4°C)。

2.2.2.3 AFM 针尖的修饰

AFM 针尖表面首先经过臭氧清洗,然后浸渍于 2% MPTMS (2% MPTMS, 2% 蒸馏水, 96% 甲醇)溶液中。30 分钟后,将 MPTMS 处理过的 AFM 针尖放 置于 EMCS (0.5 mg/mL, DMF)溶液中浸渍 30 分钟。之后, AFM 针尖分别用 目标 DNA 和对比 DNA (5 µM, TE 缓冲液)处理,于4℃ 浸渍过夜,分别获得 由目标 DNA 和对比 DNA 修饰的 AFM 针尖。

2.2.2.4 玻璃基底的修饰

玻璃基底表面首先经过清洗臭氧,然后注入 2%MPTMS (2%MPTMS, 2% 蒸馏水, 96%甲醇)溶液于该器皿中。30 分钟后,换 EMCS (0.5 mg/mL, DMF) 溶液中浸渍 30 分钟。之后,在玻璃基底器皿中注入 GST-Zif268 (5.4 µm, MOPS 缓冲液)进行化学修饰,于4℃ 浸渍过夜。

2.2.2.5 力曲线的测定

实验中所有的力曲线测定均在同一原子力显微镜上进行(MFP-3D, Asylum Research, Santa Barbara, CA)。MFP-3D 安置声音保护装置用以降低噪声对测试 产生的影响,其压电扫描器能够精确定位 x 轴和 y 轴位置,从而防止图像和信息 滞后作用。使用的 AFM 针尖购置于 Nanosensors 公司,为四面体硅材质,其力 常数为 0.2 N/m, 共振频率 15 kHz。在实验过程中,利用 Thermal method 对每个 AFM 针尖进行了实际力常数的测定,所有的力曲线测定都在室温下进行。获得 力曲线的方式如下:将修饰了 Zif268 的玻璃基底浸渍于 MOPS 缓冲液中,这时, 使 AFM 针尖以一定的速率(约 20 nm/s) 接近玻璃基底,并在两者接触后以同 样速率撤回 AFM 针尖直到回复原位。这样一个过程将生成一张力曲线图。反复 重复操作获得一系列力曲线,并进行分析计算。

2.3 结果与讨论

2.3.1 凝胶电泳检测 ds-DNA 的合成

使用凝胶电泳可以鉴定 ds-DNA 的合成。DNA 在碱性的溶液中带有负电荷, 因此,在电场作用下朝正极移动。在琼脂糖凝胶中电泳时,由于琼脂糖凝胶具有 一定孔径,长度不同的 DNA 分子由于所受凝胶的阻遏作用大小不一,迁移的速 度不同,从而可以按照分子量大小得到有效的分离。溴化乙锭可插入到 DNA 分 子的双链中。在紫外光的照射下,插入溴化乙锭的 DNA 呈橙红色荧光,所以溴

化乙锭可以作荧光指示剂指示 DNA 含量和位置。

琼脂胶的制作过程为: 将琼脂糖 (4.5g) 溶解于 1 × TAE 缓冲溶液 (100 mL) 中, 微波炉升温使它完全融化后缓慢倒入模具中成型, 并于冰箱中(4℃)保存。 在电泳槽内加入1×TBE 电泳缓冲液,至液面覆盖过琼脂胶面。将合成的 ds-DNA 和原料 ss-DNA 以及 DNA 标定物 (20 bp) 按照以下量在洁净载玻片上小心混匀, 并用移液枪加至凝胶的加样孔中: 1 µL 6 × loading dye, 1 µL 待测 DNA 样品和 4 uL1×TAE。接通电泳仪和电泳槽,电压1V/cm,开始电泳。30分钟左右停止 电泳。将琼脂胶取出水平放置于一张保鲜膜或其他支持物上,放进溴化乙锭(EB) 溶液中进行染色,完全浸泡约 30min。在紫外透视仪(Typhoon 8600)样品台上 重新铺上一张保鲜膜,赶去气泡平铺,然后把已染色的凝胶放在上面拍照。图 2.3 显示的是 ds-DAN 和 ss-DNA 的凝胶电泳检测结果。



2 3 1 5 4 6 7 8

图 2.3 凝胶电泳检测 ds-DNA 的合成。其中 1. 20bp marker DNA; 2. Target NH2-dsDNA; 3. Control NH2-dsDNA; 4. Target NH2-ssDNA; 5. Control NH2-ssDNA; 6. Target reverse NH2-ssDNA; 7. Control reverse NH2-ssDNA; 8. 20bp marker DNA

凝胶电泳的结果显示 2、3 列中目标和对比 ds-DNA 成功合成,并且作为原 料的两条 ss-DNA 等量消耗,无单链 DNA 纯在。

2.3.2 表面等离子体共振

使用表面等离子体共振仪 BIACORE X instrument (Biacore AB) 于 25 °C 进 行 Zif268-DNA 相互作用的测定。含有 5' biotinylated DNA 的溶液被打入 streptavidin 修饰的传感器芯片中,同时获得 500 RU 的信号强度。缓冲溶液 pH 为 8.0,含有 Tris-HCl (10 mM,)、NaCl (250 mM)、MgCl₂ (90 μ M)和 Tween 20 (0.005%),使用于样品制备过程和 carrier buffer 中。GST-Zif268 浓度为 313 nM-2 μ M,在流速 20 μ L/min 下结合过程和分离过程均为 3.5 分钟。结合在 DNA 上的 蛋白质通过两次注入再生溶液 (5 μ L, 0.05% SDS 的 100 mM EDTA 溶液)进行 分离。实验数据使用 BIAevaluation, version 3.0 进行处理,结果如图 2.4。

当 Zif268 注入时,相对于使用修饰上对比 ds-DNA 的传感器芯片(B),修 饰目标 ds-DNA 的传感器芯片(A)和 Zif268 有清晰的结合与分离过程。这个结 果表明 Zif268 可以特异性的与目标 ds-DNA 作用,计算获得结合常数为 8.1×10⁷ M⁻¹,具有高的亲和力。这是因为 Zif268 可以和目标 DNA 的碱基对在主沟槽中 形成 11 个主要氢键作用,六个目标碱基都是鸟嘌呤。每个指结构的α螺旋上有五 个精氨酸和一个组氨酸和 DNA 主沟槽结合^[15]。两者的相互作用力强。当使用荧 光嵌入剂 TO-PRO-3 iodide 干扰 Zif268 和 DNA 之间的结合时,SPR 信号由于嵌 入过程而降低,计算获得该情况下的结合常数为 6.2×10⁶ M⁻¹,只有非嵌入时的 1/10。这个结果表明 TO-PRO-3 iodide 可以作为 Zif268-DNA 特异性作用力的破 坏剂进行对比实验。





图 2.4 Zif268 和(A)目标 ds-DNA(B)对比 ds-DNA(C) TO-PRO-3 iodide 染色后的目标 DNA 结合获得的 SPR 信号图

2.3.3 共聚焦荧光显微镜

为了获得修饰 DNA 的 AFM 针尖图像,我们使用了 TO-PRO-3 iodide (0.1 mg/mL 于 PBS 中)对 DNA 嵌入染色,并利用共聚焦荧光显微镜拍摄其图像。 使用的激发波长为 633 nm^[16],激光源为 He-Ne 激光,两个高选择性光电倍增器

(PMTs)设置于 800 V,调节增益 3.0%和偏置 0%,在不同 AFM 针尖的拍摄过 程中保持这三个参数不变。图像通过使用 60 倍油浸渍物镜的 FluoView 300 (Olympus)取得。使用 FluoView software (Olympus),每间隔 0.5 μm 将摄取 一个数字图像。将一系列图片叠加最终获得 AFM 针尖的荧光图像(图 2.5)。



图 2.5 共聚焦显微镜图片(左)使用 TO-PRO-3 iodide 嵌入剂获得修饰上 DNA 的 AFM 针尖 的图像,并于数百次力曲线测定后拍摄;(中)硅烷化后 DNA 修饰前的 AFM 针尖(右)试 验中使用的 AFM 针尖电子显微镜图像

共聚焦荧光显微镜获得的 AFM 针尖图像显示,尽管进行了数百次和修饰 Zif268 的基底作用实验后,DNA 仍然牢固地联结在 AFM 针尖上。由此,我们可 以确证 DNA 成功的修饰于 AFM 针尖上,并且在使用原子力显微镜测定 DNA-Zif268 复合物的相互作用力的过程中,DNA 分子不会脱离。



2.3.4 典型力曲线的测定

图 2.6 (a) AFM 针尖和玻璃基底修饰示意图; (b) AFM 针尖和玻璃基底作用示意图

先前的研究中已表明锌指和富含 G、C 的 DNA 有特异性作用力,这种力由 多重氢键、范得华力和憎溶剂效应共同决定^[17]。实验中,使用两类 bp 数均为 49 的 ds-DNA,其中目标 DNA 含有 Zif268 识别位点一GCG/TGG/GCG,而对比 DNA 的相应碱基对序列 ACT/GAG/CCT 预计为不能被 Zif268 所识别。化学修饰 AFM 针尖表面和玻璃基底表面,分别通过共价键连接目标/对比 DNA 和 Zif268 分子, 如图 2.6 所示。

DNA 修饰的 AFM 针尖和 Zif268 修饰的玻璃基底表面靠近、接触然后撤离,获得力相对于距离的曲线,分析这类力曲线图,可以获得蛋白质一DNA 复合物之间的结合解离特性。我们曾经使用具有更低力常数(大约 0.01 N/m)的悬臂,希望获得更精确的结果,但是巨大的噪音和不稳定影响了断裂力的测定,这是由于悬臂太过柔软导致的剧烈震动。所以我们最终选用了四面体结构的硅材料AFM 针尖,它的力常数为 0.2 N/m。

图 2.7 A 是目标 DNA 和 Zif268 作用获得的一类典型力曲线图,而 B 是对比 DNA 和 Zif268 之间作用产生的力曲线图。

在 A 中有很多锯齿型断裂,大的断裂力达到 500-600 pN,小的断裂力约有 100-200 pN。同时,最终断裂的拉伸距离(水平双向箭头)约45-175 nm,相对 于理论计算 49 个 bp 的 DNA 和 GST-Zif268 复合物的尺寸(大约 15 nm)要大。 这可能是因为蛋白质构型改变,导致了多肽链的延伸。GST-Zif268 通过化学连接 基团 EMCS 随机地修饰在玻璃基底上,也会导致拉伸距离的不同。一般文献报 道打开单个蛋白质所需的力为 150-300 pN^[18,19],为了测定这个力的大小,我们 尝试拉伸单个 Zif268-GST 蛋白质。实验表明所获得的 Zif268-GST 折叠解离力小于 200 pN,和图 B 中所测得的非特异性作用力相当,这使我们认为这是非特异 性作用力的一个来源,并且在 Zif268-DNA 复合物的解离力的计算中忽略这类力。

在使用目标 DNA 的实验中,测量到大的解离力超过 500 pN,这种情况在使 用对比 DNA 的实验中罕有发生。即便是偶然有这种情况发生,它的力曲线也要 比使用目标 DNA 时平滑。数百次的重复实验后,归纳获得表 2.3,以此对比两 类实验中获得的断裂力的不同几率。在总断裂力的几率计算中,修饰目标 DNA 的实验显示几乎每一张力曲线图都有断裂力产生(94%),面对比实验中测得总 断裂力的几率只有 34%;另一个差异在于,测量修饰目标 DNA 时,获得大于 400 pN 的断裂力几率为 74%远大于对比实验中的 7%和 9%。这里我们做了两类 对比实验,一类是在 AFM tip 上修饰对比 DNA,另一类是用 TO-Pro-3 iodide 荧 光剂嵌入目标 DNA 中,阻碍目标 DNA 和 Zif268 的特异性作用。



图 2.7 典型的力曲线图(A) Zif268 和目标 DNA 相互作用(B) Zif268 和对比 DNA 相互作用。水平双向箭头代表拉伸复合物的最大距离

表 2.3 Zif268 和目标 DNA 以及对比实验获得的断裂力比较,其中括号内显示的是力曲线图数值。(力加载速率 force loading rate 40 nN/m)

Probability	Target DNA	Control DNA	Intercalated Target DNA
Total unbinding force	94% (226/240)	37% (78/210)	36% (75/210)
Large unbingding force (> 400 pN)	74% (178/240)	7% (15/210)	9% (19/210)

2.3.5 Zif268-DNA 复合物的解离力

在数百次的力曲线测量中,我们计算总结出两张柱装图,以便于理解和计算 Zif268-DNA 之间的特异性作用力大小。(图 2.8) 柱装图 A 中,在大约 200 pN 处有一个较大的高斯分布顶点,和 B 图的对比实验中获得的实验结构类似,由 此我们判定锌指和 DNA 之间的非特异性作用力为 150 pN。另外,有两个峰值在 Zif268 和目标 DNA 的复合物解离力测定中显示,一个约 550 pN 另一个在1150 pN 处。而在柱装图 B 中没有类似的分布,我们推断单个 Zif268-DNA 复合物的特异 性断裂作用力为 550 pN,而 1150 pN 对应于两个这样的复合物分子的断裂。





图 2.8 (A) Zif268-target DNA 解离力的柱装图, 虚线表示高斯分布 (B) 对比试验中使用 对比 DNA 和荧光剂嵌入目标 DNA。实验中的力加载速率 (force loading rate) 为 40 nN/s.

Kuhner 小组^[20]曾经测量过 LexA-DNA 单分子力的大小,其中 LexA 是 SOS 体系调节基因转录的重要元素。在他们的研究中,LexA-DNA 单分子的断裂力大 约在 35-45 pN 之间,而在我们的实验中,获得的 Zif268-DNA 断裂力的数值约为 其 10 倍。数值偏大的原因分析如下:一个原因是我们的实验中力加载速率很高 (40 nN/s),远大于 LexA-DNA 实验中的 0.5-9 nN/s。众所周知,力的大小和力 加载速率的对数成线性关系^[21],另外一个原因是 Zif268 的接触表面远大于 LexA, 所以 Zif268 被报道有 33 个氢键作用点,而相应的 LexA 只有 3 个^[4, 22]。考虑到 这些因素,我们认为单个 Zif268-DNA 复合物的特异性解离力的大小在 550 pN 是完全合理的。

2.3.6 非特异性作用力

在 Zif268 和目标 DNA 相互作用力的力曲线测定中,不仅有大于 500 pN 的 断裂力被检测到,同时在 AFM tip 撤离过程中也存在较低的断裂力被检测到(图 2.8 A)。它们的数值在 150 pN 左右,这种大小的力在平行实验中也存在。我们 认为这个峰值左右的断裂力是 Zif268 和 DNA 之间的非特异性作用力。如图 2.9 所示,一个 Zif268 分子有三个指状结构,每个指状结构可以插入特定 DNA 序列 的大沟中,这种过程需要四个位于 α-螺旋上的氨基酸与 DNA 的碱基或者磷酸 相互作用结合^[23]。

然而,Zif268和DNA之间的相互作用力并不如图显示的这么简单。除了直接的氢键作用,包括氨基酸和碱基的以及氨基酸和磷酸骨架的,还有水调节接触、范德华力等非直接氢键作用。如图 2.10,Pabo 等人^[24]报道了单晶 X 射线 1.6Å下Zif268-DNA 相互作用的细节。四个小图包含了(a)Arg 18和 Asp20和碱基 10的相互作用;(b)水分子调节下 Asp20和 Arg24和碱基 9的相互作用;(c)Glu21和 Ser17以及 Arg18的氢键作用,锌指侧链和嘧啶的范德华力作用;(d)水分子调节下 Lys33和磷酸 5 的作用。也有文献报道改变 DNA 侧链碱基和磷酸骨架仍然会有 Zif268-DNA 相互作用,这是因为 Zif268 的锌指具有良好的适应性和多样性以迎合 DNA 识别位点和序列的改变^[24]。Desjarlais和 Berg^[25]通过理论计算给出了一系列碱基序列片断和 Zif268的相对自由结合能,发现即使不是传统意义上 Zif268 的识别序列,两者的自由结合能数值相对特异识别序列并不小,例如TCA: 1.5 kcal/mol,该碱基序列片断出现在实验设计的对比 DNA 中。

我们知道, pH=8 时 GST-Zif268 在带正电荷(等电点 8.86), 而 DNA 带负 电荷,两者存在的静电作用力可能会导致 Zif268-DNA 之间的非特异性作用力的 产生。降低这种静电作用力的手段为提高缓冲溶液的盐溶液浓度,但是在高浓度 时导致的憎溶剂效会应而产生另一种非特异性作用力。所以寻找最佳的盐溶液浓



福兰大学

(b)



图 2.9 Zif268 多肽序列,结合位点图。(a) Zif268 的锌指和目标 DNA 的亚位点作用图;(b) Zif268 多肽链的氨基酸序列,三个锌指的α螺旋上,-1,2,3,6 位置的氨基酸主要和 DNA 产生相互作用。

度可以最大程度的降低非特异作用力。于是,我们在缓冲溶液中加入氯化钠,调 节其浓度从 0 mM 到 100 mM,在不同盐溶液浓度下测量了断裂力大小。并且, 模拟真实细胞内的盐溶液浓度(C_{NsCl} = 10 mM, C_{KCl} = 140 mM)测量了断裂力 大小。但是仍然能检测到 150 pN 左右的非特异性作用力,而且其数值和发生概 率不降低。说明在该体系中,静电作用力对 Zif268-DNA 之间的非特异性作用力 不是由静电作用力主导产生的。

另一个产生非特异性作用力的情况可能为 AFM 针尖和固态的基底表面直接 作用而导致。在力曲线的测定过程中, AFM tip 和基底在进行了化学修饰后, 两 部分器件存在直接的固体表面接触。这种状态下也会导致随机的非特异性作用 力。

在 Zif268-DNA 特异性作用力的讨论中,已经提到蛋白质的构型改变会产生 非特异性作用力。Zif268-GST 通过化学连接基团 EMCS 随机地修饰在玻璃基底 上,也会导致拉伸距离的不同。一般文献报道打开单个蛋白质所需的力为 150-300 pN,为了测定这个力的大小,我们尝试拉伸单个 Zif268-GST 蛋白质。实验 表明所获得的 Zif268-GST 折叠解离力小于 200 pN,和图 2.8 B 中所测得的非特 异性作用力相当,我们认为这是非特异性作用力的一个来源。



图 2.10 Zif268-DNA 作用力的详细说明图。Zif268 的第一个和第二个锌指分别用红色和黄色 代表,多肽骨架用灰色代表; DNA 用蓝色代表。水分子用白色圆圈表示。

由于 Zif268 和特定 DNA 序列的结合常数较大,所以使用 AFM 测定它们之间特异性作用力时,虽然存在较大的非特异性作用力的干扰,但是仍然可以从获

得的力曲线中推测中 Zif268-DNA 复合物的解离力大小。

2.4 结论

实验设计了两类 DNA 用以探究 Zif268 和目标以及对比 DNA 之间的相互作用。在 AFM 针尖和基底的表面上分别利用共价键连接的方式化学修饰了 DNA 和 GST-Zif268,利用原子力显微镜技术,我们可以定量测定 Zif268 和 DNA 之间的特异性作用力。通过力曲线分析和计算,在力加载速率为 40 nN/s 时,获得单个 Zif268-DNA 复合物之间的特异性解离力为 550 pN,同时存在约 150 pN 的非特异性作用力。使用这种实验方法和仪器可以直接定量化的测定蛋白质一DNA 复合物之间的特异性作用力。
参考文献

- Jacobs GH. Determination of the base recognition positions of zinc fingers from sequence analysis [J]. EMBO J., 1992, 11 (12): 4507-4517.
- [2] Pellegrino GR, Berg JM. Identification and characterization of 'zinc-finger' domains by the polymerase chain reaction [J]. Proc. Natl. Acad. Sci., 1991, 88 (2): 671-675.
- [3] Miller J, McLachlan AD, Klug A. Repetitive zinc-binding domains in the protein transcription factor IIIA from Xenopus oocytes [J]. EMBO J., 1985, 4 (6): 1609-1614.
- [4] Pavletich NP, Pabo CO. Zinc finger-DNA recognition: crystal structure of a Zif268-DNA complex at 2.1 Å [J]. Science, 1991, 252 (5007): 809-817.
- [5] Choo Y, Sanchez-Garcia I, Klug A. In-vivo repression by a site-specific dna-binding protein designed against an oncogenic sequence [J]. Nature, 1994, 372 (6507): 642-645.
- [6] Isalan M, Choo Y, Klug A. Synergy between adjacent zinc fingers in sequence-specific DNA recognition [J]. Proc. Natl. Acad. Sci., 1997, 94 (11): 5617-5621.
- [7] Jamieson AC, Wang H. Kim SH. A zinc finger directory for high-affinity DNA recognition [J]. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1996, 93 (23): 12834-12839.
- [8] Mandel-Gutfreund Y, Margalit H. Quantitative parameters for amino acid-base interaction: implications for prediction of protein-DNA binding sites [J]. Nucleic Acids Res., 1998, 26 (10): 2306-2312.
- [9] Wolfe SA, Grant RA, Elrod-Erickson M, Pabo CO. Beyond the "recognition code": Structures of two Cys(2)His(2) zinc finger/TATA box complexes [J]. Structure, 2001, 9 (8): 717-723.
- [10] Jondle DM, Ambrosio L, Vesenka J, Henderson E. Imaging and manipulating chromosomes with the atomic-force microscope [J]. Chromosome Res., 1995, 3 (4): 239-244.
- [11] Mcmaster TJ, Winfield M, Karp A, Miles MJ. Analysis of cereal chromosomes by atomic force microscopy [J]. Genome, 1996, 39 (2): 439-444.
- [12] Berquand A, Xia N, Castner DG, Clare BH, Abbott NL, Dupres V, Adriaensen Y, Dufrene YF. Antigen binding forces of single antilysozyme fv fragments explored by atomic force microscopy [J]. Langmuir, 2005, 21 (12): 5517-5523.

- [13] Zou S, Schonherr H, Vancso GJ. Force spectroscopy of quadruple h-bonded dimers by afm: dynamic bond rupture and molecular time-temperature superposition [J]. J. Am. Chem. Soc., 2005, 127 (32): 11230-11231.
- [14] Hoh JH, Cleveland JP, Prater CB, Revel JP, Hansma PK. Quantized adhesion detected with the atomic force microscope [J]. J. Am. Chem. Soc., 1992, 114 (12): 4917-4918.
- [15] Pavletich NP, Pabo CO. Zinc finger dna recognition crystal-structure of A Zif268-DNA complex at 2.1 Å [J]. Science 1991, 252 (5007): 809-817.
- [16] Vanhooijdonk CAEM, Glade CP, Vanerp PEJ. TO-PRO-3 Iodide A novel hene laser-excitable dna stain as an alternative for propidium iodide in multiparameter flow-cytometry [J]. Cytometry, 1994, 17 (2): 185-189.
- [17] Green A, Sarkar B. Alteration of zif268 zinc-finger motifs gives rise to non-native zincco-ordination sites but preserves wild-type DNA recognition [J]. Biochem. J., 1998, 333, 85-90
- [18] Dietz H, Rief M. Protein structure by mechanical triangulation [J]. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2006, 103 (5): 1244-1247.
- [19] Rief M, Gautel M, Oesterhelt F, Fernandez JM, Gaub HE. Reversible unfolding of individual titin immunoglobulin domains by AFM [J]. Science, 1997, 276 (5315): 1109-1112.
- [20] Kuhner F, Costa LT, Bisch PM, Thalhammer S, Heckl WM, Gaub HE. LexA-DNA bond strength by single molecule force spectroscopy [J]. Bioph. J. 2004, 87 (4): 2683-2690.
- [21] Merkel R, Nassoy P, Leung A, Ritchie K, Evans E. Energy landscapes of receptor-ligand bonds explored with dynamic force spectroscopy [J]. Nature, 1999, 397 (6714): 50-53.
- [22] Knegtel RMA, Fogh RH, Ottleben G, Ruterjans H, Dumoulin P, Schnarr M, Boelens R, Kaptein R. A model for the Lexa repressor DNA complex [J]. Proteins-Structure Function and Genetics, 1995, 21 (3): 226-236.
- [23] Elrod-Erickson M, Benson TE, Pabo CO, High-resolution structures of variant Zif268-DNA complexes: implications for understanding zinc finger-DNA recognition [J]. Structure, 1998, 6 (4): 451-464.
- [24] ElrodErickson M, Rould MA, Nekludova L, Pabo CO, Zif268 protein-DNA complex refined at 1.6 Å: a model system for understanding zinc finger-DNA interactions [J]. Structure 1996, 4 (10): 1171-1180.

[25] Desjarlais JR, Berg JM. Length-encoded multiplex binding site determination: application to zinc finger proteins Proc. Natl Acad. Sci. USA, 1994, 91 (23): 11099-11103.

.

第二部分 星状光电分子的合成与表征

第三章 绪论(二)

3.1 有机发光材料

发光材料在光通讯、光信息处理、发光器件、光检测器等光电子领域有着 广泛而重要的应用价值。无机半导体发光材料的研究尽管已取得了令人注目的成 就,但由于高成本,复杂的器件制备工艺,高驱动电压,难加工性,以及能耗较 高使得无机发光材料的进一步发展受到一定的影响。相比之下,有机发光材料是 一类新型的发光材料,其荧光量子效率高,具有可调节的光、电性能,并能够与 小分子、无机半导体材料、金属离子等进行掺杂,同时还兼具聚合物的热稳定性 高、加工性能好等优点。因此这种高的吸光系数和宽的吸收谱带,良好的激发态 给受电子性能,以及可改善的空穴传输性能,使有机发光材料在光电器件的制备 上具备了很多特殊的优点:(1)有机发光材料发光效率高、亮度大:(2)有机发 光材料种类多、价廉,且易大规模、大面积生产,易实现超薄、大面积平板显示 (3)发光颜色从红外到紫外可调,覆盖整个可见光区,这是方便实现全彩色显 示的前提:(4)有机材料的成膜性能良好,易加工成各种不同形状:(5)驱动电 压低,能与半导体集成电路的电压相匹配,使大屏幕平板显示的驱动电路容易实 现。由于具有以上重要的特点,有机光电材料具有广阔的应用前景^[1]。

3.1.1 无机/有机发光材料的历史

通常将物质在紫外线光、太阳光或普通灯光等光源照射下吸收了一定光能 后发光的现象称之为光致发光(photoluminescence, PL),具有光致发光性能的 物质称为光致发光材料;而在一定的电场下能被电能激发而产生光的现象称为电 致发光(electroluminescence, EL),具有电致发光性能的物质则称为电致发光材 料^[2]。

1936 年 Destriau 等首次观察到夹在两个通电电极之间的 ZnS 磷光粉绝缘层 的电致发光现象,从而开创了电致发光二极管(Light Emitting Diode, LED)的 研究^[3]。1963 年 Kallmann 等研究了蔥的电致发光现象开创了有机发光二极管 (Organic Light Emitting Diodes, OLED)的研究^[4]。在人们传统的观念中聚合物 都是作为绝缘材料但是 1976 年 Alan MacDiarmid, Hideki Shirakawa 和 Alan J. Heeger 等发现了聚乙炔的导电性打破了这个传统观念^[5]。导电聚合物的发现为我

们提供了一种新型的材料,这种材料既有金属或半导体的性质又保留了聚合物的 特殊机械性质和易加工性^[6]。当人们渐渐接受了共轭聚合物作为半导体的概念后 谁都没有想到共轭聚合物的还能够作为发光显示材料,1990年剑桥大学的 Friend 等人在《Nature》上的关于聚苯乙烯撑(poly(*p*-phenylenevinylene), PPV)的电 致发光现象的报道^[7],开辟了共轭聚合物在有机显示发光器件等方面应用之先 河。

有机光电材料在信息处理、平板显示和能量存储等领域有着巨大的潜在应 用前景。例如,在新型平板显示器件的研究中,有机光电材料具有许多无机发光 材料和液晶显示材料等目前常用的显示材料所不具有的优良特性(材料选择范围 宽,可以实现从蓝光到红光的全色显示;发光亮度和发光效率高;全主动发光的 固态器件不受震动的外界因素影响;以及驱动电压低、可视角宽、响应速度快、 超轻超薄、制备过程简单费用低和柔性显示的优点)^[8]。又如,有机光电材料正 在被用于新型太阳能电池(solar cell)、白光照明等能量储存和转换领域。

3.2 超分子化学与自组装

3.2.1 超分子化学简介

1987 年 Nobel 化学奖授予了 C.J. Pederen、D.J. Cram 和 J-M Lehn 标志着化 学的发展进入了一个新的时代,发初于 Pedersen 对冠醚的基础性发现^[9]而后分别 由 Cram 和 Lehn 发展起来的主一客体化学^[10]、"超分子化学"^[11,12]的重要意义也 因此才被人们真正认识到。对以非共价键弱相互作用力键合起来的复杂有序且具 有特定功能的分子集合体,即超分子化学的研究,可以说是共价键分子化学的一 次升华、一次质的超越,被称为是"超越分子概念的化学",它不仅在材料科学 和信息科学,而是在生命科学中也均具有重要的理论意义和潜在的广阔应用前 景。

超分子化学的产生、发展是历史的必然,是符合人类的认识规律的。其正是 人们在对共价键分子化学的研究进行了一百五十多年后才发生的,这反应了人类 对化学研究的不断进步的过程^[13]。重要意义也因此才被人们真正认识到。近 10 年来,超分子化学研究得到了长足的发展,国际上已有几本有影响的专著问世, 国内也积极开展这方面的研究,并且已进入了一个由分子到分子以上层次有序聚 集体的高层次研究。

与分子化学相对照,分子化学基于原子间的共价键,而超分子化学则基于分子间的相互作用,即是两个或两个以上的构造块(building blocks)依靠分子间相互作用缔合。图 3.2 中简介了从分子化学到超分子化学的基本特征^[14, 15]。运用

在特定的结构区域内的非共价键,即多种分子间的相互作用(如静电力、氢键、 范德华力等)的能量和立体化学方面特性的知识能够设计出人工受体分子,它们 可以通过形成超分子结构,即具有明确结构和功能的"超分子",选择性地与底 物结合。

3.2.2 分子组装的基本概念

在讨论分子组装时,涉及两个基本概念:组装和自组装。组装就是一个系统 的要素按着特定的指令,形成特定的结构或功能的过程;而自组装是指系统的要



图 3.1 从分子化学到超分子化学的基本特征

素按彼此的相干性、协同性或某种默契形成特定结构与功能的过程。组装和自组 装的区别在于有无外界特定干预或信息来源的不同,自组装不是按系统内部或外 部的指令完成的,而是根据事物运动变化的规律和特定条件完成的。超分子化学 的重要目标是研究组装过程以及组装体,并是通过分子组装形成超分子功能体 系。其中分子建筑单元的巧妙设计和组装技巧,对于开发功能组装体具有重要的 意义和决定性的影响^[16]。

自组装存在于各种尺度的物质范围内,各种物理化学因素的协调与竞争是达 到有序自组装的关键,因为相互作用的连接点间的微小自由能的变化都会导致各 种结构状态的出现。因此,自组装的研究能揭示许多制约和控制分子形态、有序 组合的物理化学因素,尤其是科学前沿领域分子自组装的研究所发现的新现象及 由此形成的新理论和自组装控制技术能够为结构与功能的研究提供许多启示和 信息。自组装不仅是包含生命进化的分子工程的重要组成部分,而且是生物体系 中的生物合成的重要参与者。与由共价键形成的体系相比,自组装体系具有如下 优点:(1)在自组装过程中,由于对有缺陷的亚单元的排斥作用,从而减少了组

· 装体中的结构缺陷;(2)组装体易于制备;(3)组装体制备经济方便。因此 Lawrence 等人把自组装定义为由非共价键相互作用驱动的高度收敛的合成行为。 由于材料器件化应用,往往要求其构筑于固体基底的表面。所以在表面的分子组装在整个分 子组装体的研究中占据了重要的地位,得到了广泛的研究。

3.3 有机单分子膜

3.3.1 分子组装体

分子组装体 (molecular assemblies) 就是指在平衡条件下,分子间通过非共 价相互作用自发组合形成的一类结构明确、稳定、具有某种特定功能或性能的分 子聚集体或超分子结构^[17-19]。这些自组合材料可能具有新奇的光、电、催化等功 能和特性,在分子器件、分子调控等方面有潜在应用价值;同时,分子自组装体 是也各种复杂生物结构形成的基础。对生物分子的研究表明:生物分子结构的稳 定性和完整性也是靠较弱的、可逆的非共价相互作用 (如氢键作用和 π-π 相互 作用)驱动来保持。因而分子自组装体系的设计与研究引起了研究者极大的兴趣。

分子组装体的研究范围很广泛,包括单层膜、双层膜、多层膜、胶束、囊 泡、液晶和胶体等^[20]。其中在固体基底表面进行分子组装对于构筑分子电子器 件是最为有效和直接的,特别是在纳米尺度形成有序的分子层由于其会引入相对 于宏观态、凝聚态完全不同的奇异的性质而得到广泛的研究。

3.2.2 分子电子器件

分子电子器件是指应用有机材料(包括生物材料)在分子或超分子尺度范 围内构成的有序系统,通过分子层次上的化学和物理作用,完成信息的监测、处 理、传输与存储。分子电子器件的目标是采用有机物和聚合物、电荷转移复合物、 有机金属及其他分子材料开创出用于信息和微电子学的新型元件,现阶段的研究 内容主要包括分子整流器^[21, 22]、分子三极管、分子开关^[23]及分子导线^[24, 25]等, 从而为分子计算机与生物计算机的研制奠定必备的前期工作基础。

分子电子器件最具吸引力的优势体现在如下方面^[26]:(1)基于有机材料的 特性和结构变化的多样性,容易实现分子间的连接;(2)分子器件制作是采用组 装式技术,可以克服有机材料加工的亚微米障碍,极限情况下能够达到单个分子 的精细结构;(3)传感器可以与器件制作在一起,特别是包括化学传感器与生物 传感器。(4)分子器件可以包含化学信息处理过程,又易于生物体相容,为仿生 信息系统的研制提供了更多的可能性。此外,在器件的柔性设计及抗热干扰方面 较之于无机半导体量子器件,分子器件仍具有明显的突出优势。

3.2.3 自组装单分子膜(Self-assembly monolayer, SAM)

自组装膜是分子通过化学键及静电力等相互作用自发吸附在固/液或气/固 界面而形成的、热力学稳定和能量最低的有序膜。其主要特征:(1)原位自发形 成;(2)热力学稳定;(3)无论基底形状如何,其表面均可形成均匀一致的覆盖 层;(4)高密度堆积,低缺陷浓度;(5)分子有序排列;(6)可人为设计分子结 构和表面结构来获得预期的界面物理和化学性质;(7)有机合成和成膜有很大的 灵活性和方便性^[27]。自组装技术已广泛应用于纳米技术、表面技术及生物技术 等领域中,该技术不仅可用于制备有机单层薄膜,也可制备多层有机复合薄膜: 既可应用于有机小分子物质,也可应用于高分子聚合物。其技术关键在于分子上 功能性基团的设计、引入及附着基底的表面处理^[28],此外,该技术无需复杂昂 贵的设备,成膜易于实现。目前常用的有机薄膜自组装技术是化学吸附法和分子 沉积法。

3.4 共轭分子的表面组装

π 共轭材料(聚合物和小分子)是迄今为止最有前途的、廉价的有机光电子 器件备选材料。有机光电器件的性能,诸如发光二极管(Light-Emiitting Diodes, LED)、场效应晶体管(Field-Effect Transistors, FETs)、光伏电池(Photovoltaic Cells)等等,与其分子结构、纯度、材料形貌以及超分子结构有关。已有的经验 证明,在有机光电材料的研究上,只有将有机合成所得到的宏观化学结构与微观 尺度的分子的空间分布联系起来才有望实现基于分子水平的器件性能提升,并实 现用分子结构的设计来调控最终材料性能的目标。(图 3.8)将具有分子识别性能 的功能基团引入到共轭体系中,在固态基底表面通过利用功能性分子界面自组装 构筑高度有序、可重现的、稳定的超分子结构,从而制备出具有特殊功能的传感 器或功能性纳米材料。对共轭体系纳米材料的研究不仅有可能用于纳米器件的制 备,而且还可为研究共轭体系分子间的相互作用提供理论模型。

以共轭有机纳米薄膜为基础的电子器件的光电特性己经引起了研究者的注意,并在诸多高新技术领域获得了大量研究与应用,如有机电致发光器件^[29]、 有机负电阻器件^[30-32]分子电路器件及超微型芯片^[33]、超高密度信息存储技术^[34-36] 等,其中的蛋白质存储纪录技术可望实现材料科学与信息科学、生命科学的学科 交叉,一旦研制成功并产业化,将带来信息革命的历史性突破。

利用扫描探针显微镜(Scanning Probe Microscope, SPM)对共轭分子薄膜的表面形貌、自组装结构和老化机理的研究已经有大量的文献报道^[37-43]。例如, S.F. Alvarado 在高真空条件下,通过 STM 针尖对聚对苯乙烯撑[poly(p-phenylene-



Supramolecular Ordering

图 3.2 光电器件(有机发光二极管 LEDs,场效应晶体管 FETs,太阳能电池 Solar cells 等)的性能与其化学结构及超分子组织形式相互关系的示意图

vinylene), PPV]注入电子诱导了荧光发射的增强^[44];又如中科院北京化学所的万 立俊小组和香港城市大学李述汤院士的小组合作利用 STM 和 STS 结合荧光光谱 研究了 OLED 在加热条件下的老化过程及分子链聚集形态^[45];而德国 Mainz 马 普所的 Klaus Mullen 小组对碟状(disk-like)平面大 π 芳环体系在表面的组装进 行了系统的研究^[46-49]。

另一方面,研究者们正开始关注特殊结构的 π 共轭分子,例如星状 (star-shaped)结构^[50-54]、树枝状 (dendritic)结构^[55-59]、螺旋 (spiral)结构^[60-63] 等等。其中,由于星状分子的高度对称性结构,使其具有非线性光学等一些特殊 的光电性能,因而正在被广泛研究。但是对这些星状共轭分子在表面自组装的研 究还几乎是一片空白。

3.5 本课题选题背景与意义

把结构明确的 π 共轭寡聚物进行超分子组装将会对分子电子器件的发展产 生决定性的影响;因为寡聚物分子确定的化学结构和物理性质有助于实现特定的 功能以及便于实现超分子结构的调控^[64-66]。同时,这些分子器件的性能与分子在 固体表面的排布形态有着密切的相互关联性^[67, 68]。因此,更好的理解并调控 π 共轭寡聚物在自组装单层膜中的取向与聚集形态对于发展未来的纳米器件是至 关重要的。

在本课题中,我们设计、合成了一系列的星状π共轭分子,包括分别含有一、 二、三个羧酸端基的星状芴和以及结构更为刚性的三个端基均为 2,4一二胺基 三嗪环的三聚茚分子,以此形成一个系列的分子结构,便于进行系统性研究。同 时我们对这些星状分子的溶液和薄膜分别进行了紫外和荧光光谱的表征。最终这 些功能性分子将有望由氢键诱导在石墨或者金属表面形成有序的自组装结构。

我们期望通过不同类型氢键的引入,实现共轭光电分子在纳米尺度的可控构 筑,并为未来的分子光电器件的开发奠定基础。

参考文献

- [1] 翁宇峰. 一系列发光共轭聚合物及有机小分子材料激发态性质的研究 [D]. 北京: 北京航空航天大学, 2004.
- [2] 黄春辉,李富友,黄岩谊.光电功能超薄膜 [M].北京:北京大学出版社, 2001: 238.
- [3] Destriau G. [J]. J. Chim. Phys., 1936, 33, 587.
- [4] Pope M, Kallmann H, Magnante P. Electroluminescence in Organic Crystals [J]. J. Chem. Phys., 1963, 38 (8): 2042-2043.
- [5] Shirakawa H, Louis EJ, MacDiarmid AG, Chiang CK, Heeger AJ. Synthesis of electrically conducting organic polymers: halogen derivatives of polyacetylene, (CH)_x [J]. J. Chem. Soc., Chem. Commun., 1977, (16): 578-580.
- [6] Heeger AJ Semiconducting and metallic polymers: The fourth generation of polymeric materials (Nobel lecture) [J]. Angew. Chem. Int. Ed., 2001, 40 (14): 2591-2611.
- [7] Burroughes JH, Bradley DDC, Brown AR, Marks RN, Mackay K, Friend RH, Burns PL, Holmes AB. Light-emitting-diodes based on conjugated polymers [J]. Nature, 1990, 347 (6293): 539-541.
- [8] 羌梁梁. 新型聚芴类发光材料的合成与表征 [D]. 上海: 复旦大学, 2005.
- [9] Pedersen CJ. The discovery of crown ethers [J]. Angew. Chem. Int. Ed., 1988, 27 (8): 1021-1027.
- [10] Cram DJ. The design of molecular hosts, guests, and their complexes [J]. Angew. Chem. Int. Ed., 1988, 27 (8): 1009-1020.
- [11] Lehn JM. Supramolecular chemistry scope and perspectives molecules, supermolecules, and molecular devices [J]. Angew. Chem. Int. Ed., 1988, 27 (1): 89-112.
- [12] Lehn JM. Perspectives in Supramolecular Chemistry From Molecular Recognition towards Molecular Information Processing and Self-Organization [J]. Angew. Chem. Int. Ed., 1990, 29 (11): 1304-1319.
- [13] 刘育,尤长城,张衡益.超分子化学一合成受体的分子识别与组装 [M].天津:南开大学出版社,2001:001-006.
- [14] Lehn JM. Supramolecular chemistry: receptors, catalysts, and carriers [J]. Science, 1985, 227 (4689): 849-856.
- [15] Lehn JM. Dinuclear cryptates dimetallic macropolycyclic inclusion complexes -

concepts - design - prospects [J]. Pure Appl. Chem., 1980, 52 (11): 2441-2459.

- [16] 马永山. 基于几种多维芳香分子的自组装聚集结构研究 [D]. 济南: 山东师 范大学, 2006.
- [17] Zerkowski JA, Macdonald JC, Seto CT, Wierda DA, Whitesides GM. Design of organic structures in the solid-state - Molecular tapes based on the network of hydrogen-bonds present in the cyanuric acid melamine complex [J]. J. Am. Chem. Soc., 1994, 116 (6): 2382-2391.
- [18] Ducharme Y, Wuest, J. D. Use of hydrogen-bonds to control molecular aggregation - extensive, self-complementary arrays of donors and acceptors [J]. J. Org. Chem., 1988, 53 (24): 5787-5789.
- [19] Lawrence, D. S.; Jiang, T. Levett, M. Self-assembling supramolecular complexes [J]. Chem. Rev., 1995, 95 (6): 2229-2260.
- [20] Lehn JM. Supramolecular chemistry [J]. Science, 1993, 260 (5115): 1762-1763.
- [21] Martin AS, Sambles JR, Ashwell GJ. Molecular rectifier [J]. Phys. Rev. Let., 1993, 70 (2): 218-221.
- [22] Wakdeck DH, Beratan DN. Molecular electronics Observation of molecular rectification [J]. Science, 1993, 261 (5121): 576-577.
- [23] Bissell RA, Cordova E, Kaifer AE, Stoddart JF. A chemically and electrochemically switchable molecular shuttle [J]. Nature, 1994, 369 (6476): 133-137.
- [24] Crossley MJ, Bum PL. An approach to porphyrin-based molecular wires -Synthesis of a bis(porphyrin)tetraone and its conversion to a linearly conjugated tetrakisporphyrin system [J]. J. Chem. Soc., Chem.Commun., 1991, 21: 1569-1571.
- [25] Wagner RW, Lindsey JS. A molecular photonic wire [J]. J.Am.Chem.Soc., 1994, 116 (21): 9759-9760.
- [26] 韦钰. 分子电子学的研究目标的途径 [J]. 电子科学学刊, 1990, 12 (5): 512-515.
- [27] 李景虹,程广金,董绍俊. 一种新型有序超薄有机膜——自组膜 [J]. 化学通 报, 1995, (10): 11-18.
- [28] 顾宁. 分子自组装及其应用 [J]. 材料导报, 1997, 11 (3): 40-45.
- [29] Tang CW, Vanslyke SA. Organic electroluminescent diodes [J]. Appl.Phys.Let., 1987, 51 (12): 913-915.
- [30] Jeon D, King J, Gallagher MC. Scanning tunneling spectroscopic evidence for

granular metallic conductivity in conducting polymeric polyaniline [J]. Science, 1992, 256 (5064):1662-1664.

- [31] Xue YQ, Datta S, Hong S, Reifenberger R, Henderson JI, Kubiak CP. Negative differential resistance in the scanning-tunneling spectroscopy of organic molecules [J]. Phys. Rev. B, 1999, 59 (12): R7852-R7855.
- [32] Kawamoto A, Suzoki Y, Mizutani T. [C]. Proceedings of the 5th international conference on properties and applications dielectric materials, 1997,53.
- [33] Ellenbogen JC, Love JC. Architectures for molecular electronic computers: 1. Logic structures and an adder designed from molecular electronic diodes [J]. Proceedings of the IEEE, 2000, 88 (3): 386-426.
- [34] Stato A, Tsukamoto Y. Nanometer-scale recording and erasing with the scanning tunneling microscope [J]. Nature, 1993, 363 (6428): 431-432.
- [35] Yano K, Kyogaku M, Kuroda R, Shimada Y, Shido S, Matsuda H, Takimoto K, Albrecht O, Eguchi K, Nakagiri T. Nanometer scale conductance change in a Langmuir-Blodgett film with the atomic force microscope [J]. Appl. Phys. Let., 1996, 68 (2): 188-190.
- [36] Kado H, Tohda T. Nanometer-scale recording on chalcogenide films with an atomic-force microscope [J]. Appl. Phys. Let., 1995, 66 (22): 2961-2962.
- [37] Dunbar TD, Cygan MT, Bumm LA, McCarty GS, Burgin TP, Reinerth WA, Jones L, Jackiw JJ, Tour JM, Weiss PS, Allara DL. Combined scanning tunneling microscopy and infrared spectroscopic characterization of mixed surface assemblies of linear conjugated guest molecules in host alkanethiolate monolayers on gold [J]. J. Phys. Chem. B, 2000, 104 (20): 4880-4893.
- [38] Payerne R, Brun M, Rannou P, Baptist R, Grevin B. STM studies of poly(3-alkylthiophene)s: model systems for plastic electronics [J]. Synth. Met., 2004, 146 (3): 311-315.
- [39] Gesquiere A, De Feyter S, De Schryver FC, Schoonbeek F, van Esch J, Kellogg RM, Feringa BL. Supramolecular pi-stacked assemblies of bis(urea)-substituted thiophene derivatives and their electronic properties probed with scanning tunneling microscopy and scanning tunneling spectroscopy [J]. Nano Lett., 2001, 1 (4): 201-206.
- [40] Azumi R, Gotz G, Debaerdemaeker T, Bauerle P. Coincidence of the molecular organization of beta-substituted oligothiophenes in two-dimensional layers and three-dimensional crystals [J]. Chem. Eur. J., 2000, 6 (4): 735-744.

- [41] Bond SF, Howie A, Friend RH. A scanning probe microscopy study of conjugated polymers [J]. Surf. Sci., 1995, 333: 196-200.
- [42] Surin M, Lazzaroni R, Feast WJ, Schenning APHJ, Meijer EW, Leclere P. [J]. Synth. Met., 2004, 147 (1-3): 67-72.
- [43] Dubois M, Delerue C, Allan G. Scanning tunneling microscopy and spectroscopy of conjugated oligomers weakly bonded to Si(100) surfaces: A theoretical study [J]. J. Phys. Chem. B, 2005, 71 (16): Art. No. 165435.
- [44] Alvarado SF, Riess W, Seidler PF, Strohriegl P. STM-induced luminescence study of poly(p-phenylenevinylene) by conversion under ultraclean conditions [J]. Phys. Rev. B, 1997, 56 (3): 1269-1278.
- [45] Gong JR, Wan LJ, Lei SB, Bai CL, Zhang XH, Lee ST. Direct evidence of molecular aggregation and degradation mechanism of organic light-emitting diodes under joule heating: an STM and photoluminescence study [J]. J. Phys. Chem. B, 2005, 109 (5): 1675-1682.
- [46] Samori P, Fechtenkotter A, Jackel F, Bohme T, Mullen K, Rabe JP. Supramolecular staircase via self-assembly of disklike molecules at the solid-liquid interface [J]. J. Am. Chem. Soc., 2001, 123 (46): 11462-11467.
- [47] Tchebotareva N, Yin XM, Watson MD, Samori P, Rabe JP, Mullen K. Ordered architectures of a soluble Hexa-peri-hexabenzocoronene-pyrene dyad: Thermotropic bulk properties and nanoscale phase segregation at surfaces [J]. J. Am. Chem. Soc., 2003, 125 (32): 9734-9739.
- [48] Watson MD, Jackel F, Severin N, Rabe JP, Mullen K. A hexa-peri-hexabenzocoronene cyclophane: An addition to the toolbox for molecular electronics [J]. J. Am. Chem. Soc., 2004, 126 (5): 1402-1407.
- [49] Piot L, Marchenko A, Wu JS, Mullen K, Fichou D. Structural evolution of hexa-peri-hexabenzocoronene - Adlayers in heteroepitaxy on n-pentacontane template monolayers [J]. J. Am. Chem. Soc., 2005, 127 (46): 16245-16250.
- [50] Lin WJ, Chen WC, Wu WC, Niu YH, Jen AKY. Synthesis and optoelectronic properties of starlike polyfluorenes with a silsesquioxane core [J]. Macromolecules, 2004, 37 (7): 2335-2341.
- [51] Zhou XH, Yan JC, Pei J. Synthesis and relationships between the structures and properties of monodisperse star-shaped oligofluorenes [J]. Org. Lett., 2003, 5 (19): 3543-3546.
- [52] Geng YH, Fechtenkotter A, Mullen K. Star-like substituted hexaarylbenzenes:

synthesis and mesomorphic properties [J]. J. Mater. Chem., 2001, 11 (6): 1634-1641.

- [53] Li BS, Li J, Fu YQ, Bo ZS. Porphyrins with four monodisperse oligofluorene arms as efficient red light-emitting materials [J]. J. Am. Chem. Soc., 2004, 126 (11): 3430-3431.
- [54] Pei J, Wang JL, Cao XY, Zhou XH, Zhang WB. Star-shaped polycyclic aromatics based on oligothiophene-functionalized truxene: Synthesis, properties, and facile emissive wavelength tuning [J]. J. Am. Chem. Soc., 2003, 125 (33): 9944-9945.
- [55] Cao XY, Zhang WB, Wang JL, Zhou XH, Lu H, Pei J. Extended pi-conjugated dendrimers based on truxene [J]. J. Am. Chem. Soc., 2003, 125 (41): 12430-12431.
- [56] Chang DW, Dai LM. Luminescent amphiphilic dendrimers with oligo(p-phenylene vinylene) core branches and oligo(ethylene oxide) terminal chains: syntheses and stimuli-responsive properties [J]. J. Mater. Chem., 2007, 17 (4): 364-371.
- [57] Zhang Y, Zhao CC, Yang JH, Kapiamba M, Haze O, Rothberg LJ, Ng MK. Synthesis, optical, and electrochemical properties of a new family of dendritic oligothiophenes [J]. J. Org. Chem., 2006, 71 (25): 9475-9483.
- [58] Yu MH, Tang YL, He F, Wang S, Zheng DG, Li YH, Zhu DB. Synthesis of water-soluble dendritic conjugated polymers for fluorescent DNA assays [J]. Macromol. Rapid Comm., 2006, 27 (20): 1739-1745.
- [59] Kim CK, Song ES, Kim HJ, Park C, Kim JK, Kim YC, Yu JW, Kim C. Conjugated dendrimers with triazine peripheries and a distyrylanthracene core [J]. J. Polym. Sci., Polym. Chem., 2006, 44 (20): 5855-5862.
- [60] Vak D, Chun C, Lee CL, Kim JJ, Kim DY. A novel spiro-functionalized polyfluorene derivative with solubilizing side chains [J]. J. Mater. Chem., 2004, 14 (8): 1342-1346.
- [61] Yu WL, Pei J, Huang W, Heeger AJ. Spiro-functionalized polyfluorene derivatives as blue light-emitting materials [J]. Adv. Mater., 2000, 12 (11): 828-831.
- [62] Katsis D, Geng YH, Ou JJ, Culligan SW, Trajkovska A, Chen SH, Rothberg LJ. Spiro-linked ter-, penta-, and heptafluorenes as novel amorphous materials for blue light emission [J]. Chem. Mater., 2002, 14 (3): 1332-1339.
- [63] Geng YH, Katsis D, Culligan SW, Ou JJ, Chen SH, Rothberg LJ. Fully spiro-configured terfluorenes as novel amorphous materials emitting blue light [J]. Chem. Mater., 2002, 14 (1): 463-470.

- [64] Miura A, Jonkheijm P, De Feyter S, Schenning APHJ, Meijer EW, De Schryver FC. 2D self-assembly of oligo(p-phenylene vinylene) derivatives: From dimers to chiral rosettes [J]. Small, 2005, 1 (1): 131-137.
- [65] Tour JM. Conjugated macromolecules of precise length and constitution. Organic synthesis for the construction of nanoarchitectures [J]. Chem. Rev., 1996, 96 (1): 537-553.
- [66] Gong JR, Zhao JL, Lei SB, Wan LJ, Bo ZS, Fan XL, Bai CL. Molecular organization of alkoxy-substituted oligo(phenylene-ethynylene)s studied by scanning tunneling microscopy [J]. Langmuir, 2003, 19 (24): 10128-10131.
- [67] Bumm LA, Arnold JJ, Cygan MT, Dunbar TD, Burgin TP, Jones L, Allara DL, Tour JM, Weiss PS. Are single molecular wires conducting? [J]. Science, 1996, 271 (5256): 1705-1707.
- [68] Sirringhaus H, Brown PJ, Friend RH, Nielsen MM, Bechgaard K, Langeveld-Voss BMW, Spiering AJH, Janssen RAJ, Meijer EW, Herwig P, de Leeuw DM. [J]. Nature, 1999, 401 (6754): 685-688.

復三大學

第四章 具有氢键组装功能的光电材料的合成与表征

4.1 引言

由于在有机平板显示 (Flat Panel Display)、太阳能电池 (Solar Cell)、生物 检测 (Biosensor)和分子器件 (Molecular Device)等领域的潜在应用,有机光 电材料的相关研究正受到广泛的关注^[1, 2]。结构确定的π共轭分子对于改进分子 电子器件起到了决定性作用,不仅因为它们具有明确的化学结构和物理性质,还 因为其所形成的超分子结构能够优化和控制材料器件的功能^[3]。同时,这些刚性 芳环体系可通过与核酸碱基的π-π交叠,以达到特异性 DNA 分子识别的作用^[4]。 为了使π共轭分子在溶液或固态进行必要的自组装以形成功能性超分子结构,具 有特征结构的平面共轭分子引起了科学家们的广泛关注。这类分子利用分子间、 分子和基底间的相互作用,有望在高定向热解石墨 (HOPG)、金属等表面进行 二维有序排列,形成不同的具有纳米尺度有序性的组装结构^[5]。其中氢键由于其 方向性、饱和性和强度适中等特性,成为自组装过程中最为有用的一种非共价键 作用力;更可以借助多重氢键作用将嘧啶、三嗪等分子构筑成形态各异的超分子 结构。

本章中我们合成了功能化的星状寡聚芴(StOF)和三聚茚(Truxene),通过 不同类型氢键的引入,有望在 HOPG 的表面实现氢键诱导自组装。聚芴衍生物 是普遍认为的性质最优的蓝光材料,它们具有高的光致和电致发光效率,高空穴 迁移率以及化学结构易修饰等特性^[6-9]。而星状寡聚芴因为结构确定,相对于聚 芴能避免主链缺陷,易于表征纯化;同时其三重对称结构使得其有望在非线性光 学领域获得应用^[10]。另外,三聚茚是一个高度对称的稠环芳烃,已经被证明是 制备液晶材料、富勒烯衍生物及 C3 型不对称催化材料等的理想化合物之一^[11,12]。 这里,我们一步法合成了端基分别为一、二和三个羧酸基的星状芴,合成路线简 洁,产率较高。同时设计合成了端基为 2,4一二胺基三嗪环(T)的三聚茚化合 物(TrT₃),两类化合物的星状核具有类似的化学结构,同时又都存在多重氢键 相互作用,有望在 HOPG 表面实现自组装。同时,我们设计的这一分子体系结 构上互为比较,可以系统地研究不同分子结构对于组装结果的影响。

4.2 实验部分

4.2.1 药品与试剂

中文名称	英文名称	纯度	厂商
2一溴芴	2-Bromofluorene	97%	Aldrich
正丁基锂(1.6 M 的			
正己烷溶液)	n-Butyl lithium (1.6 M in hexane)	98%	Aldrich
乙酸酐	Acetic anhydride	AR	上试
1一溴代十二烷	1-Bromododecane	95%	Aldrich
三氯化铝	Aluminum chloride	97%	Fluka
1一溴丁烷	1-bromobutane	97%	Aldrich
液溴	Bromine	AR	上试
四氯化硅	tetrachlorosilane	97%	Aldrich
干冰	dry ice	食品级	上试
四氢呋喃	THF	AR	上试
二硫化碳	Carbon disulfide	AR	上试
1一溴代十四烷	1-Bromotetradecane	97%	Aldrich
市 嗣	1-Indanone	98%	Aldrich
冰乙酸	Acetic acid	AR	上试
甲苯	Toluene	AR	上试
乙醇	Ethanol	AR	上试
盐酸	Hydrochloric acid	AR	上试
氰化亚铜	Cuprous cyanide		Aldrich
双氰胺	Dicyandiamide		Aldrich
乙二醇单甲醚	2-Methoxyethanol		Aldrich
无水三氯化铁	Anhydrous ferric chloride	AR	上试
氯仿	Chloroform	AR	上试

以上试剂中,乙酸酐在使用前进行过蒸馏提纯;二硫化碳用无水氯化钙干燥、 蒸馏后使用;THF、乙醇和甲苯都用钠丝干燥、蒸馏后使用。其余药品未经进一 步处理而直接使用。

4.2.2 实验仪器

4.2.2.1 核磁共振谱 (NMR)

所有的核磁共振的氢谱(¹HNMR)均在 Varian Mercury Plus 400 型核磁共振 谱仪上采集,以氘代氯仿为溶剂,四甲基硅(TMS)为内标。氢谱浓度为 5 mg/ml

左右,体积约 0.5 ml。采样次数为 32 次。

4.2.2.2 气相色谱一质谱联用仪(GC-MS)

部分单体的质谱在 Shimadzu QP-2010 型气质联用仪上测定。

4.2.2.3 紫外一可见吸收光谱 (UV-Vis)与荧光光谱 (PL)

紫外一可见吸收光谱(UV-Vis absorption spectra)在岛津 UV-3150 紫外光度 计上测定。溶液的紫外可见光光谱以四氢呋喃为溶剂;固态光谱则是以 3 mg/mL 的四氢呋喃溶液在玻璃盖玻片上旋涂得到的薄膜然后进行测试。荧光光谱使用的 仪器均为 Shimadzu RF-5300PC 型荧光光谱仪,制样条件与紫外可见光光谱相同。

4.2.2.4 基质辅助激光解析离子化飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)

MALDI-TOF MS 在 Shimadzu AXIMA-CFR[™] plus (Kratos Analytical, Manchester, U.K.) 飞行时间质谱仪上测定。基质为 THAP (2',4',6'-Trihydroxyacetophenone monohydrate),不加阳离子试剂。基质溶液浓度为 20 mg/mL,样品 浓度为 5 mg/mL,溶剂为 THF。采用反射模式检测分子量。

4.2.3 星状寡聚芴分子的合成

4.2.3.1 化合物 2

化合物 2 合成自商业购得的 2一溴芴,通过人们熟知的 Fick 反应在芴的 9 号位引入了两条正十二烷烷基链^[13]。

4.2.3.2 化合物 3

将化合物 2 (12.4 g, 21.3 mmol) 和无水氯化铝 (5.7 g, 42.5 mmol) 溶于二 硫化碳溶液中,在0 ℃ 冰水浴条件下,缓慢滴入新蒸馏的乙酸酐 (2.3 g, 22.1 mmol)。滴加完毕后,混合液底部呈绿色泥浆状,回流搅拌 2 小时后,缓慢倒入 稀盐酸溶液中以猝灭反应。水层用乙酸乙酯萃取,之后依次用水、碳酸氢钠水溶 液和饱和食盐水洗涤。硫酸镁干燥后,旋蒸除去溶剂。粗产物经过硅胶柱层析分 离提纯 (洗脱剂为二氯甲烷:石油醚=3:10),得到黄色固体 3 (10.6 g, 80%)。 ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz, ppm): 7.95 (d, 2H), 7.72 (d, 1H), 7.61 (d, 1H), 7.49 (d, 2H), 2.66 (s, 3H), 1.98 (m, 4H), 1.34-0.96 (m, 36H), 0.86 (t, 6H), 0.70 (m, 4H); MS (GC-MS): 622.3 (M⁺)。

4.2.3.3 化合物 4

室温条件氮气保护下,在化合物3(7.8g,12.5 mmol)的无水乙醇和无水甲 苯(各40 mL)混合溶液中缓慢滴加四氯化硅(12.5g,75.0 mmol)。之后,混 合体系升温回流反应24小时,倒入冰水中猝灭反应。用二氯甲烷进行萃取,有 机层用无水硫酸钠干燥。旋蒸除去溶剂后,粗产物经过硅胶柱层析分离提纯(洗 脱剂为二氯甲烷:石油醚=1:10),获得白色固体4(5.1g,93%)^{[10]。1}H NMR (CDCl₃,400 MHz, ppm): 7.89(s,3H),7.81(d,3H),7.75(d,3H),7.67 (s,3H),7.63(d,3H),7.50(m,6H),2.03(m,12H),1.36-1.05(m, 108H),0.86(t,18H),0.68(m,12H); MS (MALDI-TOF): 1812.8(M⁺⁻, 100%)。

4.2.3.4 化合物 5a, 5b, 5c

将化合物4(2.6g, 1.43 mmol)放入反应瓶中,抽真空/冲氮气循环三次后, 注射入无水四氢呋喃(20 mL),氯气保护下,用干冰/丙酮浴将体系冷却到-78 ℃, 滴加入正丁基锂(5.5 mL, 8.8 mmol, 1.6 mol/L的正己烷溶液)。随后回到室温 搅拌1小时,再降温到-78℃,将由干冰挥发产生的二氧化碳经浓硫酸干燥后鼓入 反应体系中。即刻生成白色浆状物,慢慢回到室温继续搅拌反应1小时,随后加 入2 mol/L盐酸溶液以猝灭反应,固体物逐渐溶解。分离有机层并用水洗涤,干 燥后旋蒸除去溶剂。粗产物经过硅胶柱层析分离提纯(洗脱剂为乙酸乙酯:石油 醚=3:10)后,可同时获得白色的固体产物——端基分别为一、二和三个羧酸的 星状芴。(5a: 0.6 g, 26%; 5b: 0.76 g, 32%; 5c: 0.88 g, 36%)。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz, ppm): 5a: 7.92 (d, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.83 (d, 2H), 7.80-7.74 (m, 12H), 7.69 (s, 3H), 7.39-7.33 (m, 4H), 2.04 (m, 12H), 1.28-1.05 (m, 108H), 0.86 (t, 18H), 0.69 (m, 12H); MS (MALDI-TOF): 1623.5 (M⁺, 100%); **5b**; 8.20 (d, 2H), 8.14 (s, 2H), 7.93 (m, 6H), 7.86 -7.80 (m, 6H), 7.75 (s, 3H), 7.70 (s, 1H), 7.38 (m, 2H), 2.09 (m, 12H), 1.26-1.08 (m, 108H), 0.84 (t, 18H), 0.71 (m, 12H); MS (MALDI-TOF): 1167.2 (M^+ , 100%); 5c: 8.17 (d, 3H, J = 7.8 Hz), 8.12 (s, 3H), 7.92 (m, 6H), 7.85-7.79 (m, 6H), 7.74 (s, 3H), 2.10 (m, 12H), 1.25-1.07 (m, 108H), 0.84 (t, 18H, J = 13.8 Hz), 0.70 (m, 12H); MS (MALDI-TOF); 1711.5 (M⁺, 100%).



图 4.1 星状芴的合成路线

4.2.4 功能化三聚茚化合物的制备

4.2.4.1 化合物7

将化合物6 (1g, 7.57 mmol) 加入到乙酸 (5 mL) 和浓盐酸 (2.5 mL) 的混 合溶液中,加热到100 ℃搅拌回流16小时。反应结束后倒入装有冰的烧杯中,立 即有大量固体沉淀产生。沉淀依次用水、丙酮和二氯甲烷洗涤后,得到白色固体 粉末7 (0.82 g, 2.40 mmol, 93%)^[14]。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz,, ppm): 7.97 (d, 3H, J = 7.5 Hz), 7.71 (d, 3H, J = 7.4 Hz), 7.51 (t, 3H, J = 14.2 Hz), 7.40 (t, 3H, J = 14.7 Hz), 4.29 (s, 6H); MS (GC-MS): 342.1 (M⁺)。

4.2.4.2 化合物8

将化合物7 (3.0 g, 8.76 mmol) 放入反应瓶中, 抽真空/冲氮气循环三次后, 注射入无水四氢呋喃(45 mL)。氮气保护下, 用干冰/丙酮浴将体系冷却到-78 °C, 滴加入正丁基锂(36 mL, 57.6 mmol, 1.6 mol/L的正己烷溶液), 固体完全溶解, 溶液变为深红色并回到室温反应1小时。再次冷却到-78 °C后, 滴加1一溴代正己 烷(16.4 mL, 55.2 mmol) 到该反应体系中, 并且在室温下反应3小时。加入大 量水以猝灭反应并用石油醚萃取, 旋蒸除去溶剂后得到粗产物, 用二氯甲烷重结 晶提纯获得淡黄色固体8 (10.5 g, 79%)^[15]。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz,, ppm): 8.36 (d, 3H), 7.45 (d, 3H), 7.38 (m, 6H), 2.95 (m, 6H), 2.07 (m, 6H),

1.38-1.12 (m, 132H), 0.87 (t, 18H), 0.50 (m, 12H); MS (MALDI-TOF): 1519.4 (M^{+} , 100%).

4.2.4.3 化合物 9

将化合物 8 (2 g, 1.32 mmol) 和催化量的无水三氯化铁溶解在 15 mL 氯仿 中,同时将液溴 (0.23 mL, 4.5 mmol) 溶入氯仿 (5 mL) 中,在0℃条件下向 含化合物 8 的反应体系中慢慢滴入液溴的氯仿溶液并反应 24 小时。反应结束后, 混合液用饱和硫代硫酸钠水溶液和饱和食盐水洗涤除去多余的溴。之后,过滤白 色沉淀并用水洗涤 3 次。同时有机层用饱和食盐水洗涤,干燥旋蒸后获得的黄色 油状物,与之前获得的沉淀合并,一同用乙醇重结晶,最后得到白色固体 9 (2.1 g, 91%)^[16]。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz,, ppm): 8.16 (d, 3H), 7.56 (s, 3H), 7.50 (d, 3H), 2.83 (m, 6H), 2.01 (m, 6H), 1.25-1.01 (m, 132H), 0.86 (t, 18H), 0.46 (m, 12H); MS (MALDI-TOF): 1753.6 (M⁺⁻, 100%)。

4.2.4.4 化合物 10

在N、N一二甲基甲酰胺溶液(100 mL)中加入化合物9(10 g, 5.7 mmol) 和氰化亚铜(5.1g, 57 mmol),于氮气保护下回流反应20小时。随后冷却到80 °C, 在体系中加入氯化铁(9.5 g, 57 mmol)、浓盐酸(40 mL)和水(40 mL)的混 合溶液,反应1小时后室温下搅拌过夜。反应结束后,倒入盛有大量水的烧杯中, 并过滤棕色沉淀,用水和乙醇洗涤。水层用二氯甲烷萃取后干燥、旋蒸,将两部 分固体合并经过硅胶柱层析分离提纯(洗脱剂为石油醚:二氯甲烷=1:1),最终 获得白色固体10(5.27 g, 58%)。¹H NMR(CDCl₃, 400 MHz,, ppm): 8.42(d, 3H),7.76(s, 3H),7.72(d, 3H),2.84(m, 6H),2.08(m, 6H),1.25-1.01 (m, 132H),0.88(t, 18H),0.42(m, 12H); MS(MALDI-TOF): 1595.5(M⁺⁺, 100%)。

4.2.4.5 化合物 11

将化合物10(500 mg, 0.31 mmol)和双氰胺(130 mg, 1.55 mmol)溶解在 20 mL乙二醇单甲醚中。在加入氢氧化钾(90 mg, 1.61 mmol)后,溶液搅拌反 应8小时。反应结束后回到室温,加入40 mL饱和食盐水,水层用二氯甲烷萃取3 次,合并有机层干燥、旋蒸。粗产物经过硅胶柱层析分离提纯(洗脱剂为石油醚: 乙酸乙酯=3:1),最终得到白色固体11(270 mg, 47%)。¹H NMR(CDCl₃, 400 MHz,, ppm): 8.45 (d, 3H), 8.39 (d, 6H), 5.21 (s, 12H), 2.97 (m, 6H),

2.22 (m, 6H), 1.30-0.94 (m, 132H), 0.85 (t, 18H), 0.49 (m, 12H); MS (MALDI-TOF): 1847.5 (M⁺⁻, 100%).



图 4.2 三聚茚的合成路线

4.3 结果与讨论

4.3.1 目标分子设计

.

我们设计了含有多重氢键体系的星状光电分子,它们具有高度的对称性。其中,星状芴的端基上分别带有一、二或三个羧酸基团,由于氢键个数的差异预计 它们在 HOPG 表面的自组装将形成不同的图型^[17],以此可以系统研究氢键作用 对光电功能分子有序组装的调控作用。另一个星状分子三聚茚的三个端基上连接 了 2,4一二胺基三嗪环,其可以形成多种不同的相互氢键作用方式,以此可以 考察 N····H 多重氢键作用^[18]。同时由于三聚茚相对于星状芴具有更好的平面性, 刚性的结构使得分子与基底间的 π-π 作用更显著,通过比较可进一步探究刚性共 平面结构对于自组装形貌的影响。通过这两类目标分子在 HOPG 表面自组装行 为的研究和比较,可以深入了解氢键和π-π两种作用对于分子自组装行为的影响, 为实现在纳米尺度光电功能分子的有序构筑提供理论基础和参考依据。

4.3.2 化合物的合成

星状芴的合成采用了先上溴再关环的创新方法。而之前的文献报道为先关环 后上溴^[10],这时,由于星状芴上有多个活性位点,如果使用液溴试剂直接溴化 将会在中心苯环上引入溴,故只能使用活性相对较弱的溴化试剂 Al₂O₃/CuBr₂选 择性上溴以获得化合物 4,但这样往往会导致溴化不完全,生成单溴代和二溴代 产物。同时这些产物由于分子量接近,溴端基数目对于极性差异影响很小,将大 大增大分离和提纯的难度。因此,我们改进了合成方法,先在单溴芴的7号位上 引入乙酰基,随后通过关环可直接获得三个端基上都带有溴的星状芴 4,几乎没 有副产物,产率较高,薄板层析显示只有少量原料和产物 4,且两者由于较大的 极性差异便于柱层析分离。另外一个创新之处在于以化合物 4 为原料,利用正丁 基锂/干冰鼓泡的方法,直接引入了羧酸基团,不仅避免了先变氰基再水解的繁 琐步骤,而且也可以一步法同时获得分别带有一、二和三个羧酸基团的星状芴 5a、5b 和 5c。同时,我们也从 2一乙酰基一9,9°一二(十二烷基)芴关环获得了 星状芴 5d 作为模型化合物,用于比较研究。

我们在体系中引入长烷基链一方面是为了增加刚性分子的溶解性,也是希望 当分子吸附于石墨表面的时候,9号位上的两条侧链中的一条可以匍匐于平面, 以增大分子与基底的相互作用^[19],达到稳定自组装结构的目的。

4.3.3 化合物的光谱表征

从表4.1和图4.3中可以发现,化合物5c和11相对于两者不含氢键基团的模型 化合物5d和8的光谱,它们在溶液态和薄膜态的紫外和荧光光谱都发生了一定程 度的红移。我们认为这种红移是由于氢键基团的引入导致共轭结构的延展,而且

由于三嗪环的延展效应比羧酸的羰基要大很多,故11与8之间的红移值远大于5c和5d之间的光谱峰差值。



图4.3 四个相关化合物的THF溶液(10⁻³ g/L)和薄膜态紫外和荧光图谱 (a) 5d (b) 5c (c) 8 (d) 11

同时,我们对四个分子都测定了浓度相关光谱(浓度梯度从10⁻³ g/L到10 g/L),数据列于表1。可以发现,随着浓度的增大,四个分子的最大吸收/发射峰 并没有如常见的芳环化合物那样出现大尺度的红移,只是在10 g/L这种高浓度下 才表现出较为明显的红移;甚至分子在薄膜态的光谱峰非常接近于稀溶液条件下 的数值。裴坚课题组曾经报道了具有相同星状核结构的分子,也存在这种光谱性 质,并认为这是由于星状核的位阻效应显著减小了分子间的π-π堆积和激基缔合 物的产生^[10, 20]。而且,我们在星状分子上引入的长链烷基也进一步破坏了分子

的结晶性(使得薄膜更趋向于无定形态),增加了分子聚集的空间位阻,所以光

•	溶液态		———— 薄膜态 ^a		
化合物	溶液浓度	紫外吸收峰	荧光发射峰	紫外吸收峰	荧光发射峰
	(g/L)	(nm)	(nm)	(nm)	(nm)
	10 ⁻³	317	363		
	10 ⁻²	324	362		
5d	0.1	337	365	316 (299) ^b	366, 379
	1.0	345	365		
	10	353	375		
	10 ⁻³	323	371 (358)		
	10 ⁻²	328	371 (359)		
5c	0.1	349	374	320 (301)	379, 392
	1.0	357	374		
	10	362	398		
	10 ⁻³	306 (295)	369 (353, 386)		
	10 ⁻²	306 (295)	369 (353, 386)		
8	0.1	310 (298)	370 (353, 385)	306 [′]	370 (354, 386)
	1.0	318, 333	369 (354, 385)		
	10	327, 343	370 (357, 386)		
	10 ⁻³	323 (337)	434		
	10 ⁻²	323 (337)	438		
11	0.1	355	441	335	421
	1.0	359	440		
	10	375	446		
"薄膜采用在石英玻璃上旋涂法制备,溶液浓度为3 g/L; 》括号内的峰为相应的肩峰。					

表 1 化合物5c, 5d, 8和11的紫外和荧光光谱数据

谱没有随着浓度出现大尺度红移,且薄膜态光谱与溶液态非常接近。这也说明了 星状结构在光电材料应用中的优势。 4.4 本章小结

我们设计、合成了可用于表面自组装研究的一系列端基带有氢键基团的星状 π 共轭分子,它们具有高度的结构对称性。其中,含有一、二、三个羧酸端基的 星状芴可用于考量氢键个数和氢键诱导作用对于星状芴分子表面自组装的影响。 另一个星状分子三聚茚的三个端基上连接了 2,4一二胺基三嗪环,其可以形成 多种不同的相互氢键作用方式,以此可以考察 N····H 多重氢键作用。同时由于三 聚茚相对于星状芴具有更好的平面性,刚性的结构使得分子与基底间的 π-π 作用 更显著,通过比较可进一步探究刚性共平面结构对于自组装形貌的影响。以上分 子形成一个系列的分子结构,便于进行系统性研究。通过这两类目标分子在表面 自组装行为的研究和比较,为实现在纳米尺度光电功能分子的有序构筑提供了理 论基础和参考依据。

参考文献

- Huang J, Niu YH, Yang W, Hou Q, Xu YS, Yuan M, Cao Y. Novel energy transfer carbazole-based light-emitting copolymers [J]. Acta Chim. Sinica, 2003, 61 (5): 765-773.
- [2] Meng SC, Huang ZH, Xu D, Kan YH, Tang QL. Influence of conjugated CN and non-conjugated CF3 electron withdrawing substituents on the molecular structure and photo-electricity properties of PPV-like derivatives [J]. Acta Chim. Sinica, 2004, 62 (11): 1065-1070.
- [3] Martin RE, Diederich F. Linear monodisperse pi-conjugated oligomers: Model compounds for polymers and more [J]. Angew. Chem. Int. Ed., 1999, 38 (10): 1350-1377.
- [4] Waring MJ, Wakelin LPG. In Small molecule DNA and RNA binders: From Synthesis to Nucleic Acid Complexes, Vol. 1, Eds.: Demeunynck M, Bailly C, Wilson WD. Germany, 2003, 1-12.
- [5] Mahieu G, Grandidier B, Stievenard D, Krzeminski C, Delerue C, Martineau C, Roncali J. Adsorption behavior of conjugated {C}(3)-oligomers on Si(100) and highly oriented pyrolytic graphite surfaces [J]. Langmuir, 2003, 19 (8): 3350-3356.
- [6] Yu WL, Cao Y, Pei J, Huang W, Heeger AJ. Blue polymer light-emitting diodes from poly(9,9-dihexylfluorene-alt-co-2,5-didecyloxy-para-phenylene) [J]. Appl. Phys. Lett., 1999, 75 (21): 3270-3272.
- [7] Yu WL, Pei J, Huang W, Heeger AJ. Spiro-functionalized polyfluorene derivatives as blue light-emitting materials [J]. Adv. Mater., 2000, 12 (11): 828-831.
- [8] Scherf U, List EJW. Semiconducting polyfluorenes Towards reliable structure-property relationships [J]. Adv. Mater., 2002, 14 (7): 477-487.
- [9] Marsitzky D, Vestberg R, Blainey P, Tang BT, Hawker CJ, Carter KR. Self-encapsulation of poly-2,7-fluorenes in a dendrimer matrix [J]. J. Am. Chem. Soc., 2001, 123 (29): 6965-6972.
- [10] Zhou XH, Yan JC, Pei J. Synthesis and relationships between the structures and properties of monodisperse star-shaped oligofluorenes [J]. Org. Lett., 2003, 5 (19): 3543-3546.
- [11] Cao XY, Zhang WB, Wang JL, Zhou XH, Lu H, Pei J. Extended pi-conjugated dendrimers based on truxene [J]. J. Am. Chem. Soc., 2003, 125 (41):

12430-12431.

- [12] Pei J, Wang JL, Cao XY, Zhou XH, Zhang WB. Star-shaped polycyclic aromatics based on oligothiophene-functionalized truxene: Synthesis, properties, and facile emissive wavelength tuning [J]. J. Am. Chem. Soc., 2003, 125 (33): 9944-9945.
- [13] Tsuno Y, Tairaka Y, Sawada M, Fujii T, Yukawa Y. [J]. Bull. Chem. Soc. Jpn. 1978, 51: 601.
- [14] Dehmlow EV, Kelle T. Synthesis of new truxene derivatives: Possible precursors of fullerene partial structures? [J]. Syn. Comm., 1997, 27 (11): 2021-2031.
- [15] Kanibolotsky AL, Berridge R, Skabara PJ, Perepichka IF, Bradley DDC, Koeberg M. Synthesis and properties of monodisperse oligofluorene-functionalized truxenes: Highly fluorescent star-shaped architectures [J]. J. Am. Chem. Soc., 2004, 126 (42): 13695-13702.
- [16] Cao XY, Zhou XH, Zi H, Pei J. Novel blue-light-emitting truxene-containing hyperbranched and zigzag type copolymers: Synthesis, optical properties, and investigation of thermal spectral stability [J]. Macromolecules, 2004, 37 (24): 8874-8882.
- [17] Xu LP, Gong JR, Wan LJ, Jiu TG, Li YL, Zhu DB, Deng K. Molecular architecture of oligothiophene on a highly oriented pyrolytic graphite surface by employing hydrogen bondings [J]. J. Phys. Chem. B, 2006, 110 (34): 17043-17049.
- [18] Miura A, Jonkheijm P, De Feyter S, Schenning APHJ, Meijer EW, De Schryver FC.
 2D self-assembly of oligo(p-phenylene vinylene) derivatives: From dimers to chiral rosettes [J]. Small, 2005, 1 (1): 131-137.
- [19] Schenning APHJ, Meijer EW. Supramolecular electronics; nanowires from self-assembled pi-conjugated systems [J]. Chem. Comm., 2005, (26): 3245-3258.
- [20] Cao XY, Zhang W, Zi H, Pei J. pi-conjugated twin molecules based on truxene: Synthesis and optical properties [J]. Org. Lett., 2004, 6 (26): 4845-4848.

第五章 高效铕配合物电致发光材料的研究

5.1 引言

自从 C.W. Tang 和 S.A. Vanslyke 首次研发出了电致发光器件后^[1],直接引发 了对有机发光二极管(Organic Light Emitting Diodes,OLED)的大量研究及其 商业化应用。为了实现全色显示,开发饱和度高的三原色发光材料首当其冲。在 其中,对高色纯度、高稳定性、高效能的红光电致发光材料需求极大^[2]。其中, 基于有机铕配合物的红光电致发光器件受到了广泛关注和研究。这是因为它具有 高的色泽饱和度(接近单色红光),高效三线态发光效率(器件内量子效率接近 100%)以及特征离子发射不受外部配合环境影响等特性。然而不饱和三价铕配 合物由于其低挥发性、易捕获水分子的特点而不能在高真空条件下沉降,对电致 发光器件产生不良影响^[3]。这些局限性使得人们开始寻求电荷中性的配体,一方 面可以满足三价铕饱和配位的条件,另一方面用以提高配合物的挥发性(易于采 用蒸镀的方法制备器件)和稳定性^[4]。同时,良好器件性能的一个重要指标是空 穴和电子的注入/传输平衡^[5],这也要求我们在材料设计中使用电荷中性的配体 或者阴离子配体。尽管在过去的数年中,各个研究小组在此方面已经取得了很多 成果和进展^[4, 6-21],但是开发器件稳定性高的有机铕配合物(例如,电致发光波 长与器件所加的电压无关这一性能)仍然鲜为报道。

在本章节工作中,我们将二氟苯基团引入到 2,2'一联吡啶上,设计合成了一种新型的含氟的配体,4-(2,4-二氟苯)-2,2'-联吡啶 [4-(2,4-difluorophenylene)-2,2'-bipyridine,2Fphen-bpy],并在此基础上获得了有机铕配合物 (2Fphen-bpy)Eu(DBM)₃ (DBM = dibenzoylmethanate,联苯甲酰),(实验路线如图 5.1 所示)。由于氟原子的电负性强,易于电子注入,所以含氟联吡啶配体的引入能用降低配合物的 LUMO 能级,同时有效提高配合物(2Fphen-bpy) Eu(DBM)₃ 的挥发性,从而改进器件性能^[4]。

本课题为本科毕业论文的延续性工作,同时也是本人在赴日本交流前的主要 科研内容,现在本章中进行总结。其中器件制备与其电致发光性能的测试在中科 院长春应用化学研究所马东阁教授研究组完成。

5.2 实验部分

5.2.1 实验药品

中文名称	英语名称	纯度	厂商	
间氯过苯甲酸	<i>m</i> -Chloroperbenzoic acid		Aldrich	
硝酸钾	Potassium nitrate, KNO ₃ AR		上试	
浓硫酸	Sulfuric acid, H ₂ SO ₄ AR		上试	
冰醋酸	Acetic acid, C ₂ H ₄ OH	C ₂ H ₄ OH AR 上试		
氯仿	Chloroform, CHCl ₃	AR 上试		
乙酰溴	Acetyl bromide, CHOBr	AR	AR 上试	
三溴化磷	Phosphorous tribromide, PBr3	AR 上试		
四(三苯基磷)钯(0)	Pd(PPh ₃) ₄	99% Aldrich		
碳酸钾	Potassium carbonate, K ₂ CO ₃	AR	上试	
甲苯	Toluene	AR	上试	
三氯化铕	EuCl ₃	99%	Aldrich	
氢氧化钠	Sodium hydroxide	AR	上试	
联苯甲酰	Dibenzoylmethanate, DBM	99%	Aldrich	
2,4-二氟苯硼酸	2,4-Difluorophenyl boronic acid	99%	Aldrich	
乙醇	Alcohol	AR	上试	

若非特别指明,本章中所有试剂均未作任何处理而直接使用。

5.2.2 仪器

5.2.2.1 元素分析仪

元素分析所用仪器为 Vario EL III 元素分析系统, 检测系统为可同时检测 C、H、N、S 四种元素的系列分析柱。

5.2.2.2 核磁共振谱(NMR)

所有的核磁共振的氢谱(¹HNMR)均在 Varian Mercury Plus 400 型核磁共振 谱仪上采集,以氘代氯仿为溶剂,四甲基硅(TMS)为内标。氢谱浓度为 5 mg/mL。

5.2.2.3 气相色谱一质谱联用仪(GC-MS)

质谱在 Shimadzu QP-2010 型气质联用仪上测定。

5.2.2.4 紫外一可见吸收光谱(UV-Vis)与荧光光谱(PL)

紫外一可见吸收光谱(UV-Vis absorption spectra)在岛津 UV-3150 紫外分光

光度计上测定。溶液的紫外可见光光谱以二氯甲烷为溶剂,浓度为(10⁻⁵ mol/L)。 荧光光谱使用的仪器均为 Shimadzu RF-5300PC 型荧光光谱仪,制样条件与紫外 可见光光谱相同。

5.2.2.5 示差扫描量热仪(DSC)和热重分析仪(TGA)

示差扫描量热的测试采用的是岛津 Shimadzu DSC-60A 型示差扫描量热仪。 热重分析仪采用的是 Shimadzu DTG-60H 型 DTA 和 TGA 联用仪。样品在氮气氛 围下以每分钟 10 °C 的速率升温。

5.2.2.6 X 射线衍射仪(XRD)

挑选外观晶形较好,尺寸大小合适的晶体粘于玻璃丝上,室温下用单色化的 Mo Ka 射线($\lambda = 0.71073$ Å),在 Bruker ApexII CCD 面探测器收集 X 射线衍射 强度数据。晶体结构解析及修正采用 Shelx197 软件包^[22]。用直接法获得所有非 氢原子坐标,对非氢原子进行基于 F^2 的全矩阵最小二乘法修正。氢原子坐标由 理论加氢得到。

5.2.2.7 电致发光测量系统

电致发光电流一亮度一电压曲线由计算机控制的 Keithley 2400 和 Keithley 2000 源表测定,亮度由硅光电二极管校正。电致发光光谱由 JY SPEX CCD3000 光谱仪记录。

5.2.3 合成与表征

5.2.3.1 化合物 2

将 2,2' 一联吡啶 35 g (224.1 mmol) 溶于氯仿 (500 ml) 中,0 ℃ 下搅拌 35 分钟后加入间氯过苯甲酸 (76%, 51 g, 224 mmol) 室温下搅拌 24 小时。反应 完毕,配置亚硫酸纳溶液 (10%) 洗涤至淀粉碘化钾试纸不变色。再用碳酸钠水 溶液 (5%, 200 ml) 洗涤,水层用氯仿萃取后合并有机层,干燥并旋蒸后获得 粗产物。为了除去没反应的联吡啶,用沸腾的正己烷萃取,得到的萃取液经过无 水硫酸镁干燥后除去溶剂,获得强吸水性固体。进一步硅胶柱层析分离,洗脱剂 为石油醚:乙酸乙酯 (4:1),得到产物 2 (18.6 g, 48%) ^[23]。GC-MS: m/z: 172 (M⁺, 100%)。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 8.90 (d, 1H), 8.73 (d, 1H), 8.32 (d, 1H), 8.17 (q, 1H), 7.82 (t, 1H), 7.35 (t, 2H), 7.28 (t, 1H)。

5.2.3.2 化合物 3

冰水浴中,在化合物 2(6.3 g, 36.6 mmol)和硝酸钾 (25 g)中加入浓硫酸 (63 ml),之后加热回流 15 小时。反应结束后,将粗产物倒入冰中,用氢氧化钠水溶 液中和至 PH = 7,伴有大量黄色沉淀产生,过滤得到固体。水层用氯仿多次萃取,加入无水硫酸镁干燥,过滤并旋蒸得到黄色产物。合并两处固体产物,用乙醇重 结晶,最终可获得淡黄色晶体 3 (4.2 g, 52%)^[23]。GC-MS: m/z: 217 (M⁺, 100%)。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 9.16 (d, 1H), 8.89 (d, 1H), 8.79 (d, 1H), 8.36 (d, 1H), 8.07 (q, 1H), 7.88 (t, 1H), 7.43 (q, 1H)。



图 5.1 配体 4-(2,4-二氟苯)-2,2'-联吡啶及配合物(2Fphen-bpy)Eu(DBM),的合成路线图

5.2.3.3 化合物 4

称取化合物 3 (4 g, 18 mmol) 溶解在冰醋酸 (80 ml) 中,并加入乙酰溴 (20 ml), 立即有亮黄色沉淀生成。随后加入三溴化磷 (20 ml)。溶液升温回流反应 1 小时,反应过程中,有粘稠状沉淀生成。反应结束后,将沉淀溶于热水中,并 用氢氧化钠调节至 PH=8~9,水层用氯仿萃取后干燥,旋蒸得到油状物,固化 后得到黄色粗产物 (3.6 g)。经硅胶柱层析分离,洗脱剂为二氯甲烷:乙酸乙酯 (1:1),得白色产物 4。(3 g, 71%)^[24]。GC-MS: m/z; 234 (M⁺, 100%)。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 8.69 (t, 1H), 8.63 (d, 1H), 8.48 (d, 1H), 8.39 (d, 1H), 7.83 (d, 1H), 7.48 (q, 1H), 7.34 (d, 1H).

5.2.3.4 配体 5 的合成

称取化合物4 (2 g, 8.5 mmol) 和2,4-二氟苯硼酸 (1.6 g, 10.2 mmol) 溶于 甲苯, 氦气氛围中加入四 (三苯基磷) 钯(0) (0.35 g, 0.3 mmol), 碳酸钾 (18 ml, 2M) 水溶液, 避光, 回流反应过夜。反应结束后, 分液。有机层用无水硫酸镁 干燥, 过滤, 旋蒸, 得到淡黄色粗产物 (2.4 g)。经硅胶柱层析分离提纯, 洗脱 剂为石油醚: 乙酸乙酯 (2:1), 获得配体5 (2 g, 85%)。GC-MS: m/z: 268 (M⁺, 100%)。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 6.99 (m, 2H), 7.32 (m, 1H), 7.48 (d, 1H), 7.59 (m, 1H), 7.84 (m, 1H), 8.44 (d, 1H), 8.55 (s, 1H), 8.69 (dd, 1H), 8.74 (d, 1H)。元素分析: Calcd. for C16H10F2N2: C, 71.54; H, 3.95; N, 10.23%; Found: C, 71.64; H, 3.76; N, 10.44%。

5.2.3.4 配合物 6 的合成

将配体Dibenzoylmethane (1.34 g, 6 mmol) 和化合物5 (0.54 g, 2 mmol) 溶解在热乙醇 (95%, 20 ml) 中, 加入氢氧化钠水溶液 (6 ml, 1M), 随后滴 加入氯化铕水溶液 (2 mmol)。60 ℃反应3小时后过滤沉淀,分别用水、热乙醇 洗涤后在二氯甲烷/乙醇混合溶液中重结晶获得配合物6(70%)。元素分析: Calcd. for C₆₁H₄₃EuF₂N₂O₆: C, 67.16; H, 3.94; N, 2.57%; Found: C, 66.52; H, 3.90; N, 2.61%。

5.2.4 性能测试与表征

5.2.4.1 X 射线衍射

293K 下,使用 BrukerSmart APEX 衍射仪,获得了铕配合物 6 的 X 射线衍 射数据列于表 5.1。

5.2.4.2 器件制备

使用真空沉积法制备器件, ITO 玻璃 (indium-tin-oxide) 为阳极材料, 沉积 速率为 0.1-0.3 nm/s, 真空度为 ≤3×10⁻⁴ Pa。如图 5.2 所示, 四层器件结构为: ITO/TPD(40 nm)/(2Fphenbpy)Eu(DBM)₃:CBP(30 nm, 3%)/BCP(20 nm)/Alq₃(30 nm)/LiF(1 nm)/Al(100 nm) 。 TPD (*N*,*N*'-diphenyl-*N*,*N*'-bis(3-methylphenyl) -(1,1'-biphenyl)-4,4'-diamine) 为空穴传输层; CBP (4,4'-bis(carbazole-9-yl)-

biphenyl)为主体层: 铕配合物作为客体材料搀杂在其中: BCP (2,9-dimethyl-4,7-diphenyl-1,10-phenanthroline)为电子传输/空穴阻挡层: Alq3为电子传输层: ITO 和 LiF/Al 分别为阳极和阴极,金属阴极在非真空条件下高速蒸发(~0.8-1 nm/s)获得。

Empirical formula	$C_{61}H_{43}EuF_2N_2O_6$
Formula weight	1089.96
Temperature	293(2) K
Wavelength	0.71073 Å
Crystal system, space group	Monoclinic, P2(1)/c
Unit cell dimensions	
a	19.751(7) Å
b	10.324 (4) Å
с	23.927(9) Å
α	90 deg
β	91 deg
γ	90 deg
Volume	4878(3) Å ³
Z	4
Calculated density ·	1.484 Mg/m ³
Absorption coefficient	1.350 mm ⁻¹
F(000)	1964
θ range for data collection	1.68 to 25.01 deg
Reflections collected / unique	19918 / 8586 [R(int) = 0.0635]
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²
Data / restraints / parameters	8586 / 0 / 649
Goodness-of-fit on F ²	0.992
Final R indices [I>2 σ (I)]	0.0362
Largest diffraction peak and hole	0.707 and -0.287 e/ Å ³

表 5.1 配合物 6 的晶体结构参数

5.3 结果与讨论

配合物 6 在四氢呋喃和二氯甲烷中有高溶解度,熔点为 211 ℃,分解温度为 239 ℃。重结晶获得的晶体结构采用 X 射线衍射分析。配体 5 的最大吸收峰为



图 5.2 器件结构和使用材料

241 nm 和 281 nm (溶剂为二氯甲烷),相对于未修饰二氟苯的 2,2'一联吡啶的 最大吸收峰 (237 nm 和 282 nm)没有明显位移,且峰型一致 (图 5.3a)。这说明 二氟苯对于联吡啶的共轭延展效应十分有限,仅仅起到了增大位阻的作用,这也 可以通过铕配合物的 X 射线晶体衍射证实。测量配合物 6 的紫外荧光数据 (图 5.3b),其吸收峰为 244 nm 和 346 nm (10⁻⁵ mol/L,溶剂为二氯甲烷),当在 350 nm 处激发配合物 6 时,获得特征的铕离子跃迁 ${}^{5}D_{0} \rightarrow {}^{7}F_{2}$ (612 nm)。同时固态薄膜 和溶液态的光谱相似。

配合物 6 的分子结构示于图 5.4,三价铕离子和六个氧原子(由三个 DBM 配体提供)以及两个氮原子(配体 5 提供)配位,达到饱和,晶体结构为四方反 棱柱构型 (square antiprism, D4d)。Eu-O 和 Eu-N 键长和文献报道相符^[25]。二




图 5.3 紫外荧光光谱图 (a) 配体 5 (实线) 和 2, 2'一联吡啶 (虚线) 的紫外吸收; (b) 配 合物 6 的紫外吸收和荧光发射谱图

氟苯基团和两个吡啶环之间的二面角,也就是 C(51)--C(55)N(2)和 C(46)--C(50)N (1),分别为 42[°]和 51.6[°],二面角的角度大大超过了文献报道^[26]的分子间π轨道交 叠角度不能超过 30[°],也证实了二氟苯和联吡啶之间不存在共轭性,与之前的光 谱数据相符。



图 5.4 铕配合物 6 的分子结构

图 5.5 给出了配合物 6 的电致发光电流一亮度一电压曲线(current-luminance-

voltage, C-L-V)。搀杂浓度经过优化。器件显示出相对低的开启电压约为 5.5V, 亮度为 1 cd/m²; 当电压为 17.4 V 时, 三价铕离子发光为其特征发射峰(612 nm), 最大亮度 491 cd/m²。当电流密度为 0.034 mA/cm² 时,最大电流和功率分别达到 6.8 cd/A 和 3.2 lm/W。令人欣喜的是,在亮度为 100 cd/m² 时,电流和功率分别 达到 2.53 cd/A 和 0.791 lm/W,这时电压为 10 V,电流密度为 8.5 mA/cm²。这些 测试数据显示本工作合成的铕配合物 6 相对于之前报道的铕电致发光材料具有 更高的发光效率,数据如表 5.2 所示。



图 5.5 四层器件的电流一亮度一电压曲线

表 5.2 近期文献报道的铕化合物 OLEDs 数据摘要表

Emitting layer	$\eta_{\rm c}/({\rm cd}/{\rm A})^{\rm a}$	$\eta_{\rm p}/({\rm lm/W})^{\rm a}$	reference
Eu(DBM) ₃ (bath)/TPD(3:1)	-	0.4(100)	6
Eu(TTA) ₃ (DPPz)/CBP(4.5%)	2.67 (279)	1.04(279)	12
Eu(DBM) ₃ (OXD-PyBM)	1.9 (57)	_	13, 14
Eu(TTA) ₃ (Tmphen)/CBP(1%)	2.3 (100)	0.5(100)	18
Eu(HFNH)3phen/CBP(10%)	2.15 (200)		19
Eu(DBM) ₃ (2Fphen-bpy)/CBP(3%)	2.53 (99.4)	0.79 (99.4)	this work
^a Cut efficiency (η_c) and power efficiency (η_p) were given as functions of luminescence \mathcal{L} (cd/m ²).			

我们也设计了对比实验,使用不含二氟苯基团的(2,2'-bipyridine)Eu(DBM)3 作为器件的发光层,其他器件结构和材料相同。结果显示亮度为100 cd/m²时,这 样的器件显示出相对低的电流效率0.39 cd/A。当三价铕配合物搀杂在CBP层中, 电荷的捕获及输运并最终在搀杂层重新结合这个过程,通常被认为是能够实现三

70

价销电致发光而非主体材料发射的主导机理^[17, 27]。因此设计高效电荷注入与传递性能的铕配合物是电致发光器件获得良好性能的重要条件。在本章工作中,由于氟原子的电子诱导效应使得二氟苯基团的引入能有效提高电子的注入,获得高效率的搀杂器件。

之前文献报道^[11-14],基于铕配合物的器件在高电压下,由于 BCP 层不能完 全阻挡空穴的传递,会导致电子传输层 Alq3 也将被激发发光。同时随着实际应 用中工作时间的延长,工作电压将增加,所以对于好的材料和器件而言,其高色 纯度和器件稳定性也应该被重点考虑。值得注意的是,本工作中的器件甚至在 17 V 的高工作电压下,依然发射三价铕的纯红光,而不存在激基复合物以及 CBP 和 Alq3 的发射(图 5.5)。另外由于二氟苯的电导性能有助于提高空穴和电子传 输平衡,使得器件显示出良好的发光稳定性。以上两点足以证明本工作中合成的 铕配合物(2Fphen-bpy)Eu(DBM)3 是优良的电致发光材料,具有良好的应用前景。

5.4 本章小结

本章工作设计并成功合成了一种新型红光电致发光材料: 三价铕配合物, (2Fphen-bpy)Eu(DBM)₃,其使用了功能化的联吡啶中性配体以及 DBM 配体对三 价铕进行饱和配位。使用配合物 6 构筑的有机电致发光器件,亮度为 100 cd/m² 时,器件显示出优良的电流和功率效率,出色的与所加电压无关的光谱稳定性, 即高电压下仍然能发射纯红光,这些性能具有良好的应用前景。实验数据表明, 通过引入高吸电子能力的中性配体 5,器件效率和发光稳定性都得到了大幅度的 提高。

参考文献

- Tang CW, Vanslyke SA. Organic electroluminescent diodes [J]. Appl. Phys. Lett., 1987, 51 (12): 913-915.
- [2] Chen CT. Evolution of red organic light-emitting diodes: Materials and devices [J]. Chem. Mater., 2004, 16 (23): 4389-4400.
- [3] Adachi C, Kwong RC, Djurovich P, Adamovich V, Baldo MA, Thompson ME, Forrest SR. Endothermic energy transfer: A mechanism for generating very efficient high-energy phosphorescent emission in organic materials [J]. Appl. Phys. Lett., 2001, 79 (13): 2082-2084.
- [4] Kido J, Okamoto Y. Organo lanthanide metal complexes for electroluminescent materials [J]. Chem. Rev., 102 (6): 2357-2368.
- [5] Xin H, Li FY, Shi M, Bian ZQA, Huang CH. Efficient electroluminescence from a new terbium complex [J]. J. Am. Chem. Soc., 2003, 125 (24): 7166-7167.
- [6] Kido J, Hongawa K, Okuyama K, Nagai K. White light-emitting organic electroluminescent devices using the poly(n-vinylcarbazole) emitter layer doped with 3 fluorescent dyes [J]. Appl. Phys. Lett., 1994, 64 (7): 815-817.
- [7] Liang CJ, Zhao D, Hong ZR, Zhao DX, Liu XY, Li WL, Peng JB, Yu JQ, Lee CS, Lee ST. Improved performance of electroluminescent devices based on an europium complex [J]. Appl. Phys. Lett., 2000, 76 (1): 67-69.
- [9] Hong ZR, Liang CJ, Li RG, Li WL, Zhao D, Fan D, Wang DY, Chu B, Zang FX, Hong LS, Lee ST. Rare earth complex as a high-efficiency emitter in an electroluminescent device. [J]. Adv. Mater., 2001, 13 (16): 1241-1245.
- [10] Robinson MR, O'Regan MB, Bazan GC. Synthesis, morphology and optoelectronic properties of tris[(N-ethylcarbazolyl)(3',5'-hexyloxybenzoyl)methane]
 (phenanthroline)-europium [J]. Chem. Commun., 2000, (17): 1645-1646.
- [11] Sun PP, Duan JP, Shih HT, Cheng CH. Europium complex as a highly efficient red emitter in electroluminescent devices [J]. Appl. Phys. Lett., 2002, 81 (5): 792-794.
- [12] Sun PP, Duan JP, Lih JJ, Cheng CH. Synthesis of new europium complexes and their application in electroluminescent devices [J]. Adv. Funct. Mater., 2003, 13 (9): 683-691.
- [13] Sun M, Xin H, Wang KZ, Zhang YA, Jin LP, Huang CH. Bright and monochromic red light-emitting electroluminescence devices based on a new multifunctional europium ternary complex [J]. Chem. Commun., 2003, (6): 702-703.

- [14] Xin H, Li FY, Guan M, Huang CH, Sun M, Wang KZ, Zhang YA, Jin LP. Carbazole-functionalized europium complex and its high-efficiency organic electroluminescent properties [J]. J. Appl. Phys., 2003, 94 (7): 4729-4731.
- [15] Liang FS, Zhou QG, Cheng YX, Wang LX, Ma DG, Jing XB, Wang FS. Oxadiazole-functionalized europium(III) beta-diketonate complex for efficient red electroluminescence [J]. Chem. Mater., 2003, 15 (10): 1935-1937.
- [16] Baldo MA, Thompson ME, Forrest SR. Phosphorescent materials for application to organic light emitting devices [J]. Pure Appl. Chem., 1999, 71 (11): 2095-2106.
- [17] Adachi C, Baldo MA, Forrest SR, Thompson ME. High-efficiency organic electrophosphorescent devices with tris(2-phenylpyridine)-iridium doped into electron-transporting materials [J]. J. Appl. Phys., 2000, 77 (6): 904-906.
- [18] Heil H, Steiger J, Schmechel R, von Seggern H. Tris(dibenzoylmethane) (mono-phenanthroline)europium(III) based red emitting organic light emitting diodes [J]. J. Appl. Phys., 2001, 90 (10): 5357-5362.
- [19] Yu JB, Zhou L, Zhang HJ, Zheng YX, Li HR, Deng RP, Peng ZP, Li ZF. Efficient electroluminescence from new lanthanide (Eu³⁺, Sm³⁺) complexes [J]. Inorg. Chem., 2005, 44 (5): 1611-1618.
- [20] Fang JF, Ma DG. Efficient red organic light-emitting devices based on a europium complex [J]. Appl. Phys. Lett., 2003, 83 (19): 4041-4043.
- [21] Zhu XH, Wang LH, Ru J, Huang W, Fang JF, Ma DG. An efficient electroluminescent (2,2 '-bipyridine mono N-oxide) europium(III) beta-diketonate complex [J]. J. Mater. Chem., 2004, 14 (18): 2732-2734.
- [22] Sheldrick GM. Shelx97, Programs for Crystal Structure Analysis, Göttingen, [M]. Germany, 1998.
- [23] Wenkert D, Woodward RB. Studies of 2,2'-bipyridyl n,n'-dioxides [J]. J. Org. Chem., 1983, 48 (3): 283-289.
- [24] Egbe DAM, Amer AM, Klemm E. Improved synthesis of 4-bromo-2,2 '-bipyridine: a start material for low-molecular-weight model compounds [J]. Des. Monomers Polym., 2001, 4 (2): 169-175.
- [25] Chen XF, Zhu XH, Xu YH, Raj SSS, Ozturk S, Fun HK, Ma J, You XZ. Triboluminescence and crystal structures of non-ionic europium complexes [J]. J. Mater. Chem. 1999, 9 (11): 2919-2922.
- [26] Bredas JL, Street GB, Themans B, Andre JM. Organic polymers based on aromatic rings (polyparaphenylene, polypyrrole, polythiophene) - evolution of the

electronic-properties as a function of the torsion angle between adjacent rings [J]. J. Chem. Phys., 1985, 83 (3): 1323-1329.

[27] McGehee MD, Bergstedt T, Zhang C, Saab AP, O'Regan MB, Bazan GC, Srdanov VI, Heeger AJ. Narrow bandwidth luminescence from blends with energy transfer from semiconducting conjugated polymers to europium complexes [J]. Adv. Mater., 1999, 11 (16): 1349-1354.

第六章 总结

论文完成了课题设计的两个重要部分:其一为原子力显微镜测量生物分子间 作用力的研究,这是本人作为交流学生在日本东京农工大学生物技术与生命科学 系完成;其二是设计、合成了可用于表面自组装研究的一系列端基带有氢键基团 的星状 π 共轭分子。同时,完成了本科毕业设计的后续工作,并形成文章发表。

在第一部分工作中,研究着重于:生物分子间的特异性作用力的定量化研究。 原子力显微镜作为表征形貌和测量分子间作用力的手段,被有效地利用与生物大 分子,特别是蛋白质和 DNA 分子间相互作用力的研究。在本工作中,选用的锌指 是一类转录调节因子,能够和富含 GC 碱基对的特异性 DNA 结合起到基因转录的 作用。多项研究表征证实两者间的特异性作用的存在以及获得 Zif268 和目标 DNA 之间特异性作用力的数值,将其和已有文献的相关报道进行对比用以证明其可信 性。另外,也计算出非特异性作用力的大小,并且对其产生的原因进行了分析和 阐述。

在第二部分工作中,通过分子设计,合成了一类星型光电分子用于液固表面 的氢键自组装研究。我们设计、合成了一系列的星状 π 共轭分子,包括分别含 有一、二、三个羧酸端基的星状芴和以及结构更为刚性的三个端基均为 2,4一 二胺基三嗪环的三聚茚分子,以此形成一个系列的分子结构,便于进行系统性研 究。同时我们对这些星状分子的溶液和薄膜分别进行了紫外和荧光光谱的表征。 最终这些功能性分子将有望由氢键诱导在石墨或者金属表面形成有序的自组装 结构。

攻读学位期间主要的科研成果

已经和待发表的科研论文:

- <u>Yan-Yan Wang</u>, Zhun Ma, Quli Fan and Wei Huang. "Recent Progress in Syntheses, Self-assembly and Applications of Arylene-Ethynylene Macrocycles" *Progress in Chemistry* 2006, 18, 281-289.
- <u>Yan-Yan Wang</u>, Li-Hong Wang, Xu-Hui Zhu, Jie Ru, Wei Huang, Jun-Feng Fang, Dong-Ge Ma. "Efficient electroluminescent tertiary europium (III) β-diketonate complex with functional 2,2'-bipyridine ligand" Synthetic Metals, 2007, 157, 165-169.
- <u>Yan-Yan Wang</u>, Shin-Ichiro Oyokawa, Sung-Woong Han, Wei Huang, Kazunori Ikebukuro, Chikashi Nakamura, Jun Miyake. "Analysis of DNA and zinc finger interactions using mechanical force spectroscopy" NanoBiotechnology, 2007, in press.
- 4. <u>Yan-Yan Wang</u>, Zhun Ma, Pei Wang and Wei Huang. "Syntheses and Characterization of Star-shaped Opto-electronic Materials for H-bonding Induced Self-assembly" *Acta Chimica Sincia* in press.
- Zhun Ma, <u>Yan-Yan Wang</u>, Pei Wang Wei Huang. Sheng-Bin Lei, Yi-Bao Li, Yan-Lian Yang, Chen Wang. (NCNST, China)
 "Syntheses and Self-Assembly of Star-shaped Oligofluorenes End-capped with Carboxylic Group(s)" In preparation.
- Zhun Ma, <u>Yan-Yan Wang</u>, Pei Wang Wei Huang. Xiao-Bo Mao, Yan-Lian Yang, Sheng-Bin Lei, Chen Wang. (NCNST, China) "Hydrogen-bonding Induced Self-assembly of Truxene based on Triazines on HOPG" In preparation.
- Pei Wang, Zhun Ma, <u>Wang Yan-Yan</u>, Fan Qu-Li, Wang Lian-Hui and Wei Huang "Synthesis, Characterization and Properties of PPE Conjugated Polymers Containing Liquid Crystal Groups" *Acta Polymerica Sinica* in press.
- Zhun Ma, Su Lu, Qu-Li Fan, Chun-Yang Qing, <u>Yan-Yan Wang</u>, Pei Wan and Wei Huang. "Syntheses, Characterization and Energy Transfer Properties of Benzothiadiazole-based Hyperbranched Polyfluorenes" Polymer, 2006, 47, 7382-7390.
- Zhun Ma, Liang-Liang Qiang, Qu-Li Fan, <u>Yan-Yan Wang</u>, Kan-Yi Pu, Rong Yin and Wei Huang. "Direct Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass

Spectrometry of Conjugated Polymers" Journal of Mass Spectrometry 2007, 42, 20-25.

专利:

专利"带有功能性侧链的苯炔大环及其合成方法"发明(设计)人:黄维;范 曲立;<u>王嫌嫌</u>;马谆;公开(公告)号:CN1699307。

致 谢

复旦八年,无异于抗战。如今结束纷争,一切即将归零。然而,人生的篇章 早已开始,不在跨出校门的一刻,早在跨入的一瞬。生于忧患,死于安逸。感谢 复旦安逸的校园风景,忧患的学习氛围,让少年不识愁滋味的我懂得学习的必要 性,不在成绩,更在过程。正是不断历练的过程成就了无悔的人生。如今毕业在 即,谨祝我的母校越来越好。

研究生四年,收获更丰。有时候,出场越晚,越彰显其重要性,那么压轴般 出场的便是我的导师黄维教授。他带来的不仅是学术、是知识,更多的是感悟、 是理解。难以用一两句话来明确我的思想,唯有感激之情记于心头。感谢他创造 的实验条件,感谢他给予的交流机会,感谢他付出的心血辛劳,我看到了广为歌 颂的教师奉献精神。

由点及面,实验室的领导和老师本着培养学生的原则,辛勤得工作着。感谢 邵正中教授,姜良斌教授,刘顺厚老师,白敏老师,王玫老师和朱兴荣老师在学 业上给我的帮助和建议,在思想上给我的开导和鼓励,他们的热忱同样感动着我。

同道中人,同探究共奋斗。几年来,我们一起学习,一起娱乐,分享美好的 青春时光。感谢我的好朋友彭锦雯、顾青、周颖、羌梁梁、王培、贾瑞杰、曹天 野、郑喆、张广维、尹荣等,你们的存在让死板的公式变得生动,让危险的实验 变得安全。

血浓于水,亲情可贵。谢谢妈妈,谢谢你曾说我们有缘,谢谢你的养育之情, 谢谢你对我的言传身教,谢谢你的智慧明亮了我的眼睛,更谢谢你在我成长道路 上付出的巨大努力。谢谢爸爸,尽管你说的不多,可是我了解你对我的关心,明 白你对我的付出,一直都记得你冒雨买给我的黑猫警长磁带,你烧的青菜虽然咸 了点可还是很好吃。我很庆幸这种"被选择",生长在这样的家庭中,作你们的 女儿就是一种幸福。

人生得一知己足以。你为我做了很多实事,对我说了很多实话,难能可贵。 故事终在上演,你却不会落幕。感谢你一直以来理解我,支持我,包容我,惭愧 我给予你的却太少。

生在人世间,获得太多人的关心,记得你们的笑脸,记得你们的付出。感谢 每个真诚的脸庞,感谢每句肺腑的言语。人生不止,奋斗不止。愿简短的致谢成 为我人生一个重要阶段的真实回顾,谢幕之后便是新的启程。