

中子小角散射讲座

第四讲 中子小角散射在聚合物和生物大分子中的应用

张志友

(烟台大学物理系)

三十多年来,研究化学聚合物和生物大分子的空间结构,一般都采用光或X射线的弹性散射或准弹性散射技术,并已获得了大量的结构信息.但是,由于非晶态化学聚合物的不断出现及其特殊的技术应用价值,而能形成结晶态的生物大分子毕竟有限,再加上聚合物和生物大分子中都含有大量的氢,氢和氘对中子的散射振幅完全不同,使得中子小角散射在化学聚合物和生物大分子科学研究中,显示出独到之处,取得了极有价值的成果,澄清了一些长期有争议的问题,受到有关专家的重视^[1,2].

一、在化学聚合物中的应用

1. 一般原理

化学聚合物是由单体或单分子物质经聚合反应而合成的聚合物.它们的主要成分是氢和碳,其分子量可达几万,几十万,高达几百万.它们的物理性质(熔点、密度和机械强度等)随着分子量及分子的大小而规则地变化.

结晶聚合物的结构可以用X射线衍射和常规光谱学方法测定.而中子小角散射则主要用于对非晶态聚合物(如橡胶态、玻璃态或者溶液)的研究,这是由于下述的两个原因:

第一,由于氢核的中子散射截面比较大,研究高聚物结构有用的相干散射截面相对来说也较大,所以中子小角散射特别适合研究主要成分为氢和碳的聚合物.

第二,如同在第一讲中所强调的那样,各种元素的核对中子的散射振幅是不规则变化,尤其是氢和氘的散射振幅有着迥然的差异,所谓的“氘化技术”正是利用氢和氘两种同位素的这种特性.

未经氘化的试样,其个别分子与其周围的

介质散射中子的能力是一样的,即没有形成反差.如果采用化学方法将聚合物链中的氢,部分或全部地用氘取代,那就会在标记与未标记的分子间引起很大的反差.此时,氘化了的这条链或链的一部分,对中子而言,就变得“可见”了.于是,我们就可以从中子小角散射的强度算出氘化试样的形态和尺寸.幸运的是,一般说来氘化并不改变聚合物链的热力学性质,因此这样测得的聚合物链的形态和尺寸,是能代表未经氘化的原聚合物的结构情况.

中子小角散射实验中的相干强度,是用散射截面描述的.现以聚合物的稀溶液为例,它的总散射截面为

$$\frac{d\Sigma}{d\Omega} = ZN_p \left| B_p - \frac{V_p}{V_s} B_s \right|^2 S(Q), \quad (1)$$

式中 Z 为聚合物分子中单体重单元的数目, N_p 是溶液中单位体积内的聚合物分子的数目, B_p 和 B_s 分别为聚合物单体和溶剂分子的总相干散射长度. V_p 和 V_s 分别为聚合物单体和溶剂分子的比容(体积度).那么, V_p/V_s 表示溶剂分子为聚合物单体的替换量.

$$\text{定义 } K = \left| B_p - \frac{V_p}{V_s} B_s \right|, \quad (2)$$

K 称为特定的聚合物-溶剂组合的反差因子.应当指出,正是这个反差给出了中子小角散射信号,也正是具有反差的链段之间的相关,支配着聚合物分子的结构因子的形式.没有反差,即不进行氘化处理或全部氘化处理都是没有意义的. Kostorz 等人的实验结果(如图1)说明了这一点.

(1)式中的 $S(Q)$,是高聚物分子的结构因子.当 Q 值很小时($QR_G \leq 1$)以及浓度 C 趋于零的条件下,

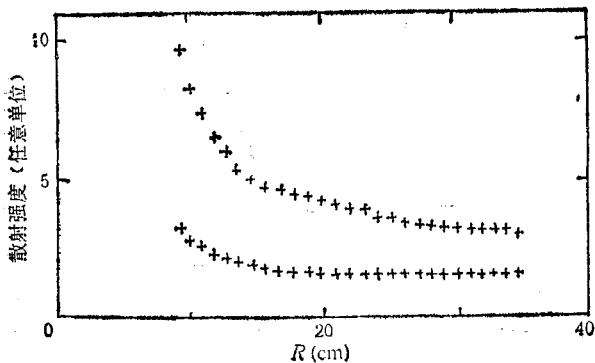


图1 聚氧化乙烯 (PEO) 的中子小角散射 (R 为探测元到探测器中心的距离, 上曲线是 PEO-D 中含有 2% 的 PEO-H, 下曲线仅含 PEO-D)

$$\frac{1}{S(Q)} \rightarrow \frac{1}{Z} (1 + Q^2 R_G^2 / 3), \quad (3)$$

R_G 为散射体的回转半径。综合(1),(2)和(3)式, 在整个 Q 值和浓度 C 值范围内使用双外推技术^[3], 通过 Zimm 图, 可以求得如下三个量:

(1) 当外推至 $C = 0$ 及 $Q = 0$ 时, 由截距可求得聚合物分子中单体重单元的数目 Z 及重均分子量; (2) 由浓度 C 的变化斜率可求得第二维里系数 A_2 ; (3) 根据散射强度与 Q^2 的关系, 可求得回转半径 R_G 。

2. 实验技术

(1) 选择 Q 值范围, 即调整探测器与试样间的距离: 聚合物科学中, 在小角范围内有两个感兴趣的 Q 区域: 一个是纪尼叶区 (Guinier), $QR_G \leq 1$, 该范围内的散射敏感于链的尺寸而不是它的详细的形状。至于它的形状(或形态), 可以通过 R_G 随链长的变化情形而推断出来。另一个感兴趣的区域, 则是 Q 值的中间区域:

$$\frac{1}{R_G} < Q < \frac{1}{l} \quad (l \text{ 为分子链中一个特征段的长度})$$

, 该区域的散射敏感于特征段间的相关, 这些链段的形状支配着 $S(Q)$ 随 Q 的变化。例如杆状结构, $S(Q)$ 按照 $\frac{1}{Q}$ 变化, 而球状结构则随 $\frac{1}{Q^3}$ 变化。至于其它更复杂的结构, 限于篇幅

不在此处列举, 有兴趣的读者可参阅文献[4]。

(2) 如何选择氘化? 事实表明, 含氢聚合

物在氘化了的母体(或溶液)中, 或者氘化了的聚合物在含氢的母体(或溶液)中, 中子都有着同样的反差。影响这一选择的因素是: 非相干背景的大小, 氘化技术的难易程度以及氘化自身的费用等等。为使背景减至最低限度, 常选用氘化的聚合物作为母体, 少量的含氢聚合物则当作记号(或示踪)。

(3) 试样面积约为 1cm^2 , 厚度的选取应使中子直射束的透射率接近 50% 左右。溶液需盛在石英器皿里, 避免容器引入的(附加的)小角散射。

(4) 数据的处理步骤, 与第二讲中介绍的大致相同, 已有专门的计算机程序供选用^[5]。

3. 主要应用

(1) 最初, 大量的本体聚合物的实验^[6-9] 目标是为了证实 Flory 的预言。早在 1953 年, Flory 曾预言: 非晶态的聚合物链, 好象一个杂乱而无规则的线团, 如同在理想溶液中一样^[10]。由于光散射和 X 射线小角散射都无法定出非晶态聚合物及熔融态聚合物的分子形态, 乃至 Flory 以及其他工作者在稍后一段时间内提出的许多模型, 都不能用实验方法直接给予证实。多亏氢和氘的中子相干散射振幅的截然不同 ($b_H = -0.374 \times 10^{-12}\text{cm}$, $b_D = +0.667 \times 10^{-12}\text{cm}$), 人们才得以实施, 氘化技术, 得到较理想的中子小角散射强度。中子散射结果表明: 无论是玻璃态或橡胶态的非晶聚合物, 如聚苯乙烯, 聚乙烯或聚甲基丙烯酸甲酯等^[11], 其回转半径 R_G 与在 θ 溶剂中的结果一样, 第二维里系数 A_2 也为零, 分子链均呈现无规形态, 证实了 Flory 的假设。

(2) 七十年代主要研究工作有:

聚合物稀溶液、半稀溶液以及浓溶液的研究, 本体聚合物(晶态和非晶态)形态的研究。许多结果表明: 中子小角散射研究晶态聚合物不如研究非晶态聚合物那样, 得出的结果不是那么令人满意^[12]。共聚物(异分子聚合物)溶液的研究。由于两类聚合物不能相容, 可以得到有关分子结构的信息。

研究聚合物混合系统中的相分离, 主要目

的在于获得混合物系统中分子的形态。 Kruse 等人对分散在氘化了的有机玻璃 (PMMA) 中的聚合 α -甲基苯乙烯进行了研究和测量, 由作出的 Zimm 图和求得的第二维里系数 A_2 以及回转半径 R_G , 证实了该混合物系统中存在着大约 16 个分子的胶束聚集体^[43]。

(3) 八十年代的主要实验归纳如下: 延伸和溶胀的聚合物系统形态的研究; 高(分子)电解质链在半稀溶液中的尺寸和形态; 形变聚合物链的回转半径, 交联或橡胶网状物中聚合物链的尺寸; 各向异性溶胀的凝胶的回转半径, 高浓度聚合物胶乳的研究以及聚合物表面活性剂在水中聚集的研究等等, 总趋势是向特殊材料、特殊用途和更加与实际相结合的方向发展。

二、在生物大分子中的应用

1. 原理

生物大分子通常是指生物细胞内两类主要的大分子——蛋白质和核酸, 分子量可从几百万到几亿以上。目前, 化学、生物化学、生物物理、生物及物理学工作者正在利用物理和化学等手段, 研究生物大分子的结构和功能, 以期早日揭开生命现象的本质。

目前主要采用 X 射线衍射技术测定生物大分子晶体的结构, 中子衍射仅作为辅助手段研究生物物质的单晶结构及定向材料。但是, 由于第一, 生物大分子中含有丰富的氢, 也可利用氢、氘的替换, 造成中子“可见”的反差; 第二, 冷中子能量低, 实验过程中, 样品不会受到辐照损伤, 生物试样的热稳定性也较好, 因此, 中子小角散射已能成功地用于生物大分子的研究, 得到了蛋白质空间精细结构以及有关生物膜、病毒、核糖体等结构信息。

结晶衍射学中, 微分相干散射截面是中子测定结晶物质结构的基本公式, 定义为

$$\left(\frac{d\sigma}{d\Omega}\right)_{\text{相干}} = \sum_{i,j} b_i b_j \exp[i\mathbf{Q} \cdot (\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j)], \quad (4)$$

式中 \mathbf{Q} 为散射矢量, b_i, b_j 分别是位置矢量为 \mathbf{r}_i 和 \mathbf{r}_j 原子的散射振幅。

但是, 由于大量的生物大分子及其复合物

还不能获得结晶体, 只能研究溶液状态的样品。此时, 可将生物分子视为一连续介质, 其散射长度改用局部散射密度表示:

$$\rho(\mathbf{r}) = \frac{1}{V} \int_V b_i(\mathbf{r}) d^3\mathbf{r}, \quad (5)$$

那么溶液内大分子的中子散射强度可写成

$$I(\mathbf{Q}) = \left\langle \left| \int_V (\rho(\mathbf{r}) - \rho_s) \exp(i\mathbf{Q} \cdot \mathbf{r}) d^3\mathbf{r} \right|^2 \right\rangle, \quad (6)$$

对体积 V 进行积分, V 是溶剂无法进入的、生物粒子所占据的体积, ρ_s 是溶液的平均散射密度。局部散射密度又可分为平均值 $\bar{\rho}_V$ 及其涨落 $\rho_F(\mathbf{r})$, 则有

$$\rho(\mathbf{r}) = \bar{\rho}_V + \rho_F(\mathbf{r}), \quad (7)$$

并且 $\int_V \rho_F(\mathbf{r}) d^3\mathbf{r} = 0$ 。 (8)

经推导, 可以求得生物粒子与溶液之间的散射密度差(称为反差), 即

$$\bar{\rho} = \bar{\rho}_V - \rho_s. \quad (9)$$

将(7),(8),(9)式代入(6)式, 便可得到

$$I(\mathbf{Q}) = \left\langle \left| \bar{\rho} \int_V \exp(i\mathbf{Q} \cdot \mathbf{r}) d^3\mathbf{r} + \int_V \rho_F(\mathbf{r}) \exp(i\mathbf{Q} \cdot \mathbf{r}) d^3\mathbf{r} \right|^2 \right\rangle, \quad (10)$$

式中第一项与生物粒子的形状有关, 第二项是散射密度平均值涨落的函数, 与粒子的内部结构有关。人们主要感兴趣的区域是小 Q 范围, 即纪尼叶范围。从纪尼叶定律出发, 可以得到如下几方面的结构信息:

(1) 根据 $\ln I(\mathbf{Q}) \sim Q^2$ 关系, 可得 $I(0)$ 及 R_G^2 。

(2) 根据 $\sqrt{I(0)} = \sum_i b_i - \rho_s V$ 关系, 溶液处于匹配点时, 可以求出 V 和 $\sum_i b_i$ 。

(3) 根据 $R_G^2 \sim \frac{1}{\bar{\rho}}$ 的关系, 可获得粒子内部密度涨落的信息及粒子的形状。

在中间 Q 值和大 Q 值范围内, 要想获得结构信息, 必须采用模型拟合法。一种是 Kratky 方法^[44], 可以得到散射粒子的回转半径和体积; 另一种是 Stuhrmann 方法^[45], 主要是对复杂形

状的粒子进行模型拟合,逐次逼近,最后得知粒子的形态。

2. 实验技术

(1) 反差匹配法: 主要利用氢与氘的替换,来改变溶剂的散射密度,当此值接近生物结构的一种组分的散射密度,即相匹配时,另一种组分对散射的贡献就被衬托出来。这种方法很有吸引力,因为它允许就地复杂结构分开,一部分、一部分地进行分析。

(2) 另一种主要技术,与化学聚合物的选择性氧化相同。与此相联系的还有标记三角法,由于专业的限制,这里不作详细的介绍。

(3) 实验试样应尽量采用同一样品收集数据,以避免频繁更换样品引入误差。绝对定标时,常选用水的散射作标准。由于生物分子的唯一结构总是跟特殊生物功能相对应。所以,尽管生物系统的小角散射图型十分类似于聚合物的散射,但实验数据的解释则完全不同。现在,几乎所有的小角散射设备都已采用生物系统的专门计算程序来处理实验结果^[5]。

3. 应用

自七十年代起,随着中子高通量反应堆的建立,冷中子源的安装及二维位置灵敏探测器的使用,使得中子小角散射技术能逐步用来研究溶液中的蛋白质,病毒,核蛋白体和染色质等等。使用反差匹配法,获得了蛋白质分子的大小和形状的信息^[16]。病毒是由核酸和蛋白质构成的一种简单的生命结构,不少生物学工作者对病毒很感兴趣, Jacrot 等人得到了用X射线和光谱学技术所无法得到的两种病毒的结构信息^[17]。

八十年代的主要实验内容是:

(1) 蛋白质: α -酸的糖蛋白,核糖核蛋白串,补体成分 C1 的糖蛋白,线柱体 ATP-ADP 转输蛋白质,蛋白质的表面水,蛋白质的水合作用以及核糖体蛋白质 L₇/L₁₂ 和 L₁₀ 间的复合体等。

(2) 染色体: 小角衍射研究核染色体核心粒子的单晶;天然的、伸展的染色体以及中期染色体中的染色质的高次结构。

(3) 病毒: 伴随烟草坏死病毒,腺病毒,流感病毒,植物病毒,紫苜蓿镶嵌病毒以及蕃茄丛矮病毒单晶的研究等等。

(4) 酶类: 大量的工作集中于细胞色素还原酶段和细胞色素氧化酶的研究,青霉素酶,色氨酸合酶的酶,苯基丙氨酸-tRNA 合成酶亚基的 3-D 组织以及转录期间 RNA 聚合酶和 DNA 的形态变化。

(5) 核酸: 溶液中脱氧核糖核酸的高次结构以及 T-RNA 的研究。

(6) 生物膜: 分散体中的膜结构以及光合膜。

(7) E. Coli (大肠杆菌): E. Coli 小核糖体亚基中蛋白质-蛋白质距离的测定;E. Coli 核糖体 50S 亚基的结构和功能; E. Coli 5S RNA 和 5S RNA 蛋白质-复合物的特征; E. Coli 腺苷三磷酸酶的研究等。总的说来,人们正致力于复合体系的结构与其功能统一的研究。

最后,作者对中国科学院物理研究所中子组和中国原子能科学院二十五室的同志们所给予的帮助和支持,表示衷心的感谢。

- [1] J. S. Higgins, *J. Appl. Cryst.*, **11**(1978), 346—375.
- [2] H. B. Stuhrman and A. Miller, *J. Appl. Cryst.*, **11**(1978), 325—345.
- [3] B. H. Zimm, *J. Chem. Phys.*, **16**(1948), 1093—1099.
- [4] D. Y. Yoon and P. J. Flory, *Polymer*, **16**(1975), 645.
- [5] R. E. Ghosh et al., *A Computing Guide for B_{11A} Institut Laue-Langevin (Grenoble)*, (1976).
- [6] J. P. Cotton et al., *Macromolecules*, **7**(1974a), 863.
- [7] H. Benoit et al., *Nature (London)*, **245**(1973), 13.
- [8] J. Schelten et al., *Polymer*, **251**(1973), 919.
- [9] G. Lieser et al., *J. Polym. Sci: Polym. Lett. Ed.*, **13**(1975), 39.
- [10] P. J. Flory, *Principles of polymer chemistry*, Cornell Univ. Press, Ithaca, New York, (1953).
- [11] G. D. Wignall, *Polymer*, **15**(1974), 682.
- [12] D. Y. Yoon, and P. J. Flory, *Polymer*, **18**(1977), 509.
- [13] W. A. Kruse, et al., *Macromol. Chem.*, **177**(1976), 1145.
- [14] O. Kratky and I. Pilz, *Quar. Rev. Biophys.*, **5**(1972), 481.
- [15] G. Marguerie and H. B. Stuhrmann, *J. Molecules Biol.*, **102**(1976), 143.
- [16] H. B. Stuhrmann, *J. Appl. Cryst.*, **7**(1974), 138.
- [17] B. Jacrot et al., *Natures*, **266**(1977), 417.