

上海光源在生命科学和高分子材料中的应用

李秀宏 黄 胜 王玉柱 王 劼 何建华

当代生命科学的主要研究目标是分子生物学，这是自从 20 世纪 50 年代 DNA 双螺旋结构被发现开始的。遗传信息由 DNA 通过 RNA 传向蛋白质（“中心法则”）这一规律的发现，极大地促进了生命科学的发展。1990 年，由美国发起了人类基因组计划，这一计划的目标是：测出人体基因组中包含的 30 亿个碱基对的排列顺序；确定 24 对染色体上的基因分布；绘制一幅分子水平的人体解剖图；把人体基因的全部遗传信息输入基因库，帮助科学家掌握有关碱基对如何组成基因，每个基因的功能，它们如何相互影响以及控制人的生命过程。这个计划原本要在 2005 年之前完成，但是随着科技的发展，测序所需要的各种方法及硬件设备不断进步，使得人类基因组计划的完成时间被大大提前。至 2000 年，人类基因组计划就已经完成。随后，生命科学研究进入了后基因组时代。后基因组时代，生命科学的研究目标主要就是研究基因的产物——各种蛋白质及其复合物，这些物质是组成生命体并实现各种生命活动的载体，我们需要了解它们的结构及功能来发现生命活动的规律，并依此来进行有目的的改造及控制生命活动。研究蛋白质的结构及功能的一般过程是：首先确定研究目标，第二步通过基因表达将所要研究的目标蛋白制作出来，第三步是通过各种方法确定蛋白质的三维空间结构，最后是通过结构研究蛋白质的功能。蛋白质三维空间结构是整个研究过程中的重要一步，只有得到了蛋白质的结构，我们才可以去研究蛋白质分子的哪些部位是实现哪些功能以及如何实现这些功能的。

高分子材料是现代工业和高新技术的重要基石，已成为国民经济基础产业以及国家安全不可或缺的重要保证。高分子材料用于日常食品的包装、储存、运输、保鲜等方面已为人们所熟知。由于高分子材料具有许多优良性能，为当今非常活跃的研究领域。通用高分子材料通过不断地升级改造，成本大幅度降低、使用性能明显提高；各类新型的、适应现代技术发展的高分子材料不断涌现。高分子通过添加少量的纳米填料进行增强改性，即可大幅度改善其力学性能、热学性能、气体阻隔性能和阻

燃性能。与添加传统的常规填料相比，高分子纳米复合材料表现出更优异的综合性能，因此在塑料领域具有巨大的应用潜力。我国的高分子材料研究起步于 20 世纪 50 年代，通过高分子化学、高分子物理、高分子成型加工和高分子反应工程等学科和产业部门的合作，已经开发出一批高分子材料及生产技术。但是由于技术水平大多落后于发达国家，竞争力差。在通用塑料的高性能化和高端产品如高性能纤维和高性能工程塑料的研究开发等方面远远落后于国际发展，也不能满足国防和航空航天等国家战略需求。究其原因关键是缺乏研究合成和成型加工过程中微观结构和性能变化的有效手段。先进的研究手段成为制约我国高分子基础研究，自主创新和产业升级的瓶颈。

同步辐射在生命科学和高分子材料领域有着广泛的应用。同步辐射装置一般由电子直线加速器、增强器、储存环以及光束线站等部分组成，电子经直线加速器加速后进入增强器进一步加速，当电子达到预定能量后注入到储存环，在储存环内运动。在储存环内有弯转磁铁及各种插入件，可以产生磁场使得电子偏转，这时电子束沿其运动的切线方向就可以对外发出 X 光。光束线站是将弯转磁铁及插入件产生的 X 光引出的设备，它包含许多光学元件以及进行各种实验所需的设备。同步辐射产生的 X 光波段宽广，是探测微观物质结构的有力工具。建造一座同步辐射装置耗资巨大，但是由于其在基础及应用研究中的重要作用，许多国家都对建设同步辐射装置非常热衷。目前世界上的同步辐射装置总数已经达到 69 个，主要分布在美国、欧洲以及日本，仅美国就有 18 个同步辐射装置（数据来源于 <http://www.lightsources.org/cms/>），欧洲的一些主要国家如英国、法国、意大利、瑞士、西班牙等，都建有同步辐射装置。中国目前仅有三个同步辐射装置，它们分别是北京同步辐射装置、合肥国家同步辐射实验室以及上海同步辐射装置。北京同步辐射装置是第一代同步辐射装置，它是利用北京正负电子对撞机兼做同步辐射光源，发散度较大，强度也较低，而且每年仅有 2~3 个月的时间用于同步辐射。合肥

国家同步辐射实验室是第二代同步辐射光源，其能量较低，仅为 800MeV，难以完成一些对光源有特殊要求的高水平研究。上海同步辐射装置是我国建成的第一个具有世界先进水平的第三代同步辐射装置，它的发散度很低，而且可以安装大量的插入件，这不但可以得到更高亮度的 X 光，还可以自由地选择 X 光的偏振态及能量等。

在生命科学领域，目前可以用来测量蛋白质三维结构的方法主要有三种，分别是低温电子显微镜技术、核磁共振技术及 X 射线单晶衍射的方法。低温电子显微镜技术可以对具有二维晶体结构的蛋白质得到高分辨的三维重构图像，也可以对单粒子生物大分子体系进行低分辨率研究。该技术对样品的分子量没有限制，但是样品的准备、实验过程及数据分析过程较复杂。核磁共振是指原子核在外加恒定磁场作用下产生能级分裂，从而对特定频率的电磁波发生共振吸收的现象。利用分子结构对氢原子周围磁场产生的影响，产生的核磁共振谱，可用于解析分子结构。核磁共振技术不需要制备晶体样品，实验方法比较简单，但是目前只能解析分子量较小的蛋白质结构，其数据分析也比较困难。同步辐射 X 射线单晶衍射方法是目前解析蛋白质三维结构的主要方法，到目前为止大约有 85% 以上的晶体结构都是使用 X 射线单晶衍射的方法解析出来的。利用 X 射线单晶衍射法解蛋白质结构首先需要将目标蛋白表达纯化，通过各种方法将其制成单晶，通过 X 射线照射产生衍射图，最后对衍射图进行处理计算得到蛋白质的三维空间结构。单晶衍射法的主要困难存在于结晶这一过程，由于蛋白质分子巨大，分子间相互作用力非常微弱，想要将其制成单晶非常困难，需要耗费大量的时间。但是其实验方法及数据分析相对较为容易。在同步辐射装置上还有许多其他方法或者可以做生物大分子晶体学方法的补充，如 EXAFS 法、软 X 射线谱学显微技术等。

同步辐射小角散射 (SAXS) 在高分子材料领域也有着广泛的应用。X 射线小角散射是指发生在原光束附近小角度范围内的电子相干散射现象，起源于样品内部电子密度的均方起伏。根据相干散射强度曲线，获得颗粒的尺寸分布、形状等信息。传统的 X 射线光源强度低，造成样品信号累加时间长，难以实现对结构变化过程的实时观测。高分子物理中许多传统的科学难题和新兴的热门科学问题（如

超支化聚合物自组装过程中的各种有序化过程）的研究还停留在表象，缺乏物理深度，未真正涉及深层次本质问题。多尺度特点和与纳米、组装和生物等交叉学科研究要求研究手段能同时检测材料不同尺度结构；非平衡态和非线性等要求研究手段的时间分辨。同步辐射技术具有高亮度和高光通量的特点，可大大缩短信号累加时间，并能检测 1 到 1000 纳米尺度范围内的结构，高分子晶体结构、微相分离的嵌段共聚物、无机纳米材料和高分子的复合材料的结构等都在这个尺度范围。同步辐射高亮度的特点使原位研究高分子材料在成型加工过程中的结构变化成为可能，将大大推动了对高分子加工过程中的物理问题的理解和认识。

总之，同步辐射装置作为一个大型的科学实验装置，可以为生命科学和高分子科学提供各种实验方法和手段，是生命科学和高分子科学研究的一个重要平台。

生物材料、高分子材料与同步辐射技术

同步辐射在生命科学的应用主要是通过构成生命体的物质对 X 光的散射及吸收等相互作用。散射有两种类型：一种是特殊的散射，包括衍射和衍射成像；另一种是一般的散射，包括小角散射、广角散射、漫散射、磁散射、非弹性散射、散射(折射)成像等。吸收主要包括利用吸收谱、吸收成像以及吸收效应、光致发射等方法。

本节主要介绍生物大分子单晶衍射在结构生物学中的应用和同步辐射小角散射在材料中的应用，并简单介绍其他方法的应用。

1. 生物大分子晶体学

利用生物大分子晶体的 X 光衍射来解析其三维空间结构就是生物大分子晶体学，它是目前从分子水平研究生命科学的主要方法之一。自从 20 世纪 50 年代末，英国科学家肯德鲁和他的同事佩鲁兹获得了第一个蛋白质——肌红蛋白的结构以来，已经有 50 多年的历史。那时解析蛋白质结构是一件非常困难的事，不仅是从实验方法上比较困难，数据分析上也同样困难。肌红蛋白是一个很小的蛋白质分子（分子量不到 17000），即便是这么小的分子，要解析其结构也需要数千个衍射点的强度数据才行。得到衍射点以后，计算电子密度图搭建分子的三维结构模型更困难，需要进行大量的计算工作。那时还没有高速计算机，也没有现在的分析电子密度图

的图形界面程序，只能分层计算电子密度图，然后在透明胶片上画出这些电子密度图，再将他们叠加起来观察电子密度图来搭建肌红蛋白分子的三维结构模型。肯德鲁和佩鲁兹因此获得了 1962 年的诺贝尔奖。早期生物大分子晶体学主要是利用 X 光机来采集衍射数据，X 光机亮度比较低，很难采集到高分辨率数据，只有体积较大并且质量较好的蛋白质晶体样品才能采集到适用的数据。此外，由于 X 光机产生的 X 光源都是单色光，所以所采集的数据只能采用同晶置换法来解相位，因此在制作样品方面也是一个比较困难的问题。同步辐射技术一出现，生物学家就意识到它在生物大分子晶体学中的巨大应用价值。高亮度的同步辐射 X 射线能够从很小的生物大分子晶体采集足够高质量的衍射数据来进行三维结构解析，极大地加强了生物大分子晶体学的研究功能。同时利用同步辐射能量可调的独特优点，发展出来的异常散射法更是大大提高了生物大分子晶体学三维结构解析的成功率。由于同步辐射技术在生物大分子晶体学中的重要应用，自 1997 年以来，已经有 4 位科学家直接依靠此项技术得到生物大分子的三维空间结构，解释了一系列具有重要意义的生命活动，并因此获得了诺贝尔化学奖。

生物学家根据生物大分子的三维空间结构来研究生物大分子的功能。要得到生物大分子的三维空间结构，生物学家首先要对自己研究的目标——生物大分子进行分离纯化，然后再结晶，得到合适的晶体样品后才能到同步辐射光源的相应实验站来进行生物大分子晶体学的衍射实验。我们通过生物大分子晶体的衍射实验，采集其衍射图，从而获得生物大分子晶体每个倒易空间点的结构振幅，再用各种方法解得其相位，根据结构振幅及相位我们就可以得到结构因子，然后通过傅立叶变换就可以解析出生物大分子的三维空间结构。利用生物大分子晶体学研究生命科学的流程图见图 1。

当 X 射线照射到晶体上的时候，如果入射波长与晶体晶格参数满足布拉格公式

$$\lambda = 2d \sin \theta, \quad (1)$$

其中， λ 是入射 X 射线波长， d 是与晶体晶格常数相关的一个常数， θ 是入射 X 光与晶体反射晶面的夹角，此时就会发生衍射。利用几何学来表示这个现象最方便的方法是使用 Ewald 球的方式（见图 2）。以入射 X 光方向的一个点为中心，以 $1/\lambda$ 为半径画

一个圆球，这个球被称为 Ewald 球。晶体可以在倒易空间中被表示为倒易点阵，它的原点位于 Ewald 球与入射 X 光相交的地方。在倒易空间中，每个原点与倒易点之间构成的矢量其长度对应实际晶体某一系列平行晶面的面间距长度的倒数 $1/d$ 。当倒易点位于 Ewald 球面上时，我们就会发现它满足：

$$1/(2d) = (1/\lambda) \sin \theta.$$

将上述公式调整一下，我们就发现它实际上就是布拉格公式。因此只要倒易点在 Ewald 球面上，就会发生衍射。但是在某一角度，只有少量的倒易点在 Ewald 球面上，我们需要旋转晶体（对应倒易点阵围绕原点旋转），才得到所有晶面产生的衍射。目前通用的衍射数据采集方法是旋转法，生物大分子晶体样品沿着垂直入射 X 光的一个旋转轴旋转一定角度（一般是 1 度），同时使用面探测器一次性采集很多个衍射点，得到衍射图（见图 3）。因为蛋白质分子一般比较大，要采集很多的衍射点才能够解析其结构。因此，上述过程要重复很多次，依据不同的晶体类型，采集很多张衍射图。实验得到的衍射数据实际上是衍射强度，要利用傅立叶变换计算电子密度图，还需要每个衍射点相位信息。目前解相位

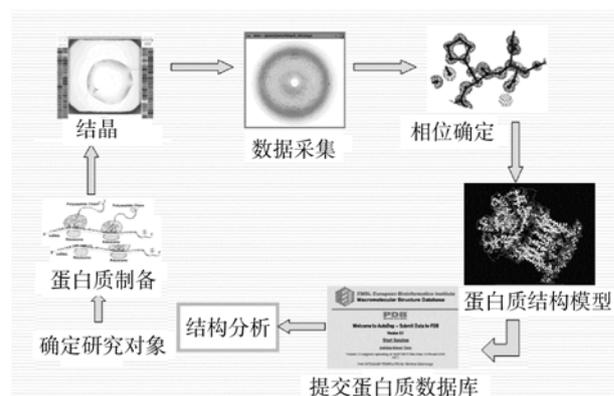


图 1 利用生物大分子晶体学研究生命科学的流程图

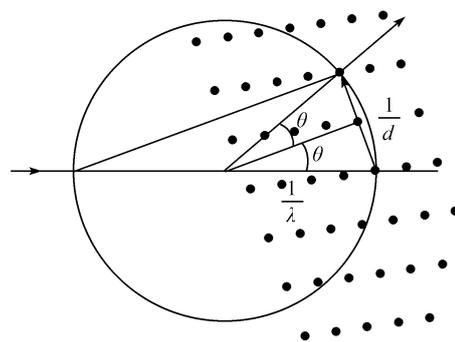


图 2 Ewald 球构造

的方法主要有三种，分子置换法（MR）、异常散射法（MAD，SAD）及同晶置换法。不同的相位解析方法对衍射数据的要求不同。分子置换法利用已知结构的蛋白质分子带入晶体中寻找旋转及平移的可能位置，解析出结构。随着已知蛋白质结构的增加，分子置换法已经成为最常用的方法。对于一种新的蛋白质结构来说，由于无法找到具有同源性的结构，分子置换法就无法应用了。异常散射法是目前解未知蛋白结构比较常用的方法。如果蛋白质中含有某种原子序数较大的重原子，以这种重原子的某个吸收边附近的能量来采集数据时，所产生的衍射振幅 $F(+)$ 和 $F(-)$ 就不再相等。利用异常散射效应所产生的 $F(+)$ 和 $F(-)$ 之间的微小差异可以用来求解相位。大部分蛋白质分子中并不含有重原子，但是可以认为这蛋白质中添加重原子。最常用的方法是在蛋白表达过程中利用硒代甲硫氨酸来替代甲硫氨酸，这样就可以利用硒原子的反常散射信号来解相位问题。为了能够得到比较强的异常散射信号，我们需要通过扫描异常散射原子的荧光谱来得到 *edge* 及 *peak* 等处波长值，在这几个波长下来采集数据，这就是多波长异常散射法（MAD）。结合一些数学方法，利用单个波长的异常散射数据也可以解决相位问题，尤其是对于硒原子这种异常散射信号比较强的元素，这就是单波长异常散射法（SAD）。随着晶体学软件的发展，SAD 法已经应用得越来越多，大约有 65% 左右的异常散射数据是使用 SAD 法解析的相位。同晶置换法是使用浸泡等手段将一些重原子加入到已经长好的晶体中，这种方法一是较为困难，二是可能破坏晶体结构，已经较少使用。

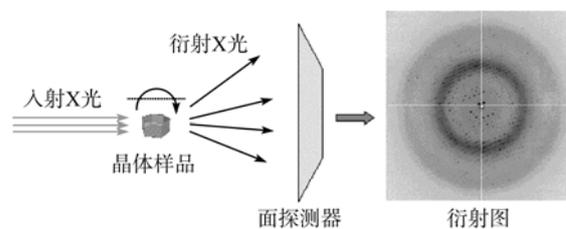


图3 旋转法采集衍射数据

2. 其他方法在生命科学中的应用

X 射线吸收精细结构谱（XAFS）谱学 当入射 X 射线能量高于原子内壳层电子的跃迁能量时，就会有一定几率将原子内壳层电子激发到高能状态，此时内壳层就会有空位，高壳层电子会向下跃迁以降低体系能量而达到稳定状态，两个壳层能量之差以荧光的形式散出，利用这种光电效应的方法就是 X 射线吸收精细结构谱谱学（见图 4）。它是利用随着同步辐射装置的发展而成熟起来用途广泛的实验技术，是研究物质结构非常重要的方法之一。该技术的主要特点是能够在固态、液态等多种条件下研究原子（或离子）的近邻结构和电子结构。

X 射线吸收精细结构谱学在生命科学中的应用（BioXAFS）主要是进行金属蛋白的研究。金属蛋白中所含的金属一般都具有重要的作用，大概有 30% 的蛋白中含有金属元素，30%~50% 的酶蛋白中含有金属。BioXAFS 可以研究生物大分子中的金属原子周围的精细结构信息，能够准确地确定金属蛋白中金属离子的价态，金属原子与配体(ligand)结合的配位数、键长及配体识别等。利用 XAFS，键长测定精度可达 0.1Å 以上，比用晶体学方法测量要高

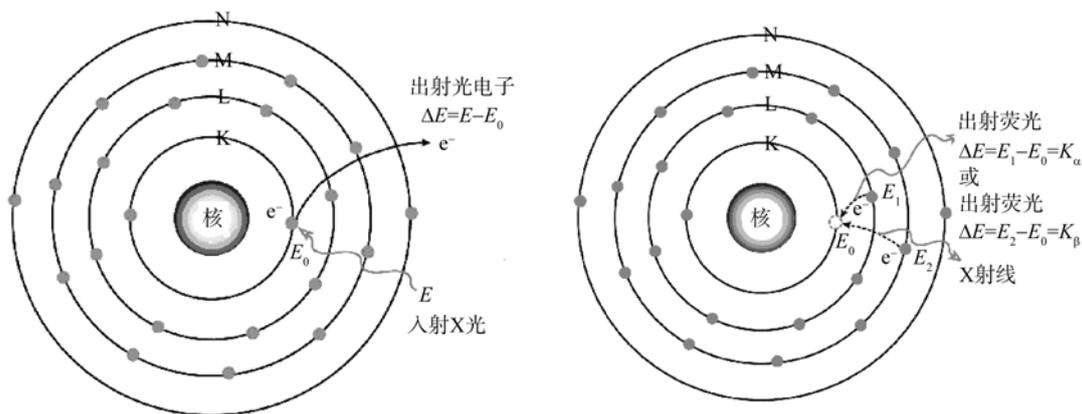


图4 左图示意当入射 X 射线能量很高时，会将原子内壳层电子激发出去而留下一个空位；右图示意当内壳层出现空位时，高壳层电子就会向下跃迁以降低系统能量，此时就会发出荧光，荧光的能量是高壳层与低壳层能量之差

出一个数量级,是修正晶体学测量误差及精化晶体结构模型的重要补充信息,可为蛋白质功能阐述提供较为直接的信息。BioXAFS 还能获取反应中间态结构信息,这些中间态往往无法或很难通过结晶的方法来研究。此外极化 EXAFS 测量可以获得键角信息。

同步辐射红外光谱学 一些物质的气体分子的振动转动谱,大分子(如蛋白质、核酸、醌类、脂类以及生物膜结构等)的振动转动谱,晶态、非晶态固体的声子谱,电子能谱都在红外远红外波段。通过对这些光谱的观察和分析可以弄清各种形态的物质的成分、结构和性质,可以研究有关的物理现象、生物化学反应、催化过程以及生命机制等。红外技术在决定蛋白次级结构、判断构象变化、可溶性蛋白和膜蛋白、蛋白配合基的结合上也有着重要应用。采用同步辐射红外光源,在红外光谱分析中可以得到更强的信号和更高的信噪比,极大地提高实验数据采集的效率和质量,而且其具有脉冲结构,可以用来对许多生物样品的微区超快过程做时间分辨(ns级)动力学研究。利用生物分子内振动模式的指纹特征,红外显微谱学能够发展成具有生物分子衬度的成像手段。例如利用红外显微谱学技术,可以鉴别阿滋海默症患者脑组织中集聚的错误折叠的蛋白。

软 X 射线谱学显微技术 软 X 射线谱学显微技术结合了扫描透射 X 射线显微术(STXM)的几十个纳米左右的高空间分辨和近边吸收精细结构谱学(NEXAFS)的高化学态分辨能力,与电子显微术、TXM 相比样品辐射损伤相对较小,可以在介观尺度研究固体、液体、软物质(如水凝胶)等多种形态的物质。利用“水窗”波段(波长 $\lambda=23\sim 44\text{\AA}$)的软 X 光对水的高穿透性特点,软 X 射线谱学显微技术可以研究自然状态下的细胞结构和功能关系,以及具有一定活性的生物样品的元素空间分布。此外还可以开展蛋白质与人工材料的相互作用研究、微生物体及微生物-微矿物相互作用特性、组织-金属相互作用的化学分析、介观尺度污染物的空间分布和化学态分布研究,等等。

3. 小角 X 射线散射技术

X 射线小角散射是在靠近原光束附近很小角度内电子对 X 射线的漫散射现象,也就是在倒易点阵原点附近处电子对 X 射线相干散射现象。当 X 射线照射到实验样品上时,如果样品内存在一至数百纳米范围的电子密度起伏,就会在入射光线周围的小

角区域内产生 X 射线散射图样,这就是小角 X 射线散射现象,其实质是由于体系内电子密度起伏所引起的。若整个物质内的电子分布是均匀无序的,那么该物质对 X 射线的散射也相对的没有方向性的偏好,而在空间中形成单调的均匀散射。当材料内部的电子密度开始有不均匀的分布,例如因相分离而形成电子密度不同的两相区域,此时材料对 X 射线的散射模式会因电子密度在空间上有了分布而出现相对的散射强度分布特征。而分析 X 射线散射强度随散射方向的变化特性,可以获悉材料内部的电子密度分布,此分布即可显示材料的平均结构。分析小角散射图样能够得到物质的长周期结构信息或者纳米颗粒(或微孔)的形状、尺度或质量信息。因此 SAXS 已应用到物理学、化学、材料科学、地质学和生物学等诸多领域。一般地说,对于各向同性的样品,其散射信号是相对于散射中心对称的。对于非各向同性样品,散射信号也要表现出一定的对称性。

我们考虑材料中的两个散射点: P 点和 O 点,两者距离为 r ,如图 5 所示。 s_0 和 s_1 分别表示沿入射和散射 X 射线方向的单位矢量,两者的夹角为 θ ,散射点 P 产生的散射光的振幅为 A_1 ,散射点 O 产生的散射光的振幅为 A_2 。设这两个散射点产生的散射波之间的光程差为 δ ,那么两个波的相位差为 $\Delta\phi=2\pi\delta/\lambda$ (λ 为 X 射线的波长)。

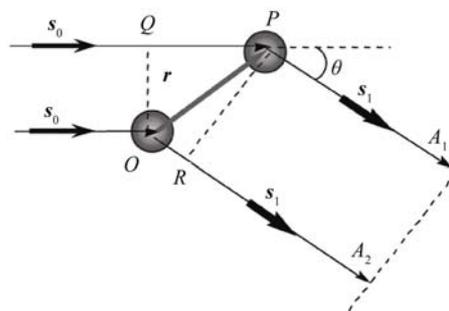


图 5 两散射点(P 点和 O 点)对入射光的散射示意图

因为 $\delta=QP-OR=r\cdot s_0-r\cdot s_1$ (以下各式中 q 和 r 均为矢量),所以

$$\Delta\phi=2\pi\delta/\lambda=-\frac{2\pi(s_1-s_0)\cdot r}{\lambda}=-q\cdot r。$$

式中 $q=2\pi(s_1-s_0)/\lambda$ 为散射矢量,其模为 $|q|=4\pi\sin(\theta/2)/\lambda$,小角散射的一维实验数据通常为散射强度 $I(q)$ 随 q 变化的曲线。

实验中测到的散射强度决定于两个散射波振幅

的叠加。

将散射振幅 A_1 表达为 $A_1=A_0b$ (b 为散射长度), 则 A_2 可表达为 $A_2=A_1\exp(i\Delta\phi)$, 将上述 $\Delta\phi$ 的表达式代入 A_2 中, 则两个散射波振幅的叠加结果为: $A(\mathbf{q})=A_0b[1+\exp(-i\mathbf{q}\cdot\mathbf{r})]$ 。那么散射光的强度 $I(\mathbf{q})$ 为

$$I(\mathbf{q})=A(\mathbf{q})A^*(\mathbf{q}) \\ = A_0^2b^2[1+\exp(-i\mathbf{q}\cdot\mathbf{r})][1+\exp(i\mathbf{q}\cdot\mathbf{r})]$$

以上是只有两个散射点时所造成的散射光强度的表达式。

现考虑材料内有 N 个散射点, 则散射振幅可表示为 $A(\mathbf{q})=\sum_{i=1}^N b_i e^{-i\mathbf{q}\cdot\mathbf{r}_i}$, 在小角度散射的近似下该式

可简化为 $A(\mathbf{q})=\int \rho(\mathbf{r}) e^{-i\mathbf{q}\cdot\mathbf{r}} d^3\mathbf{r}$, 其中 $\rho(\mathbf{r})$ 为电子密度分布函数。因此 SAXS 散射强度可表示为 $I(\mathbf{q})=A(\mathbf{q})A^*(\mathbf{q})=\int \int [\rho(\mathbf{u})\rho(\mathbf{u}+\mathbf{r})] e^{-i\mathbf{q}\cdot\mathbf{r}} d^3\mathbf{r}$, 定义 $\gamma(\mathbf{r})=\int \rho(\mathbf{u})\rho(\mathbf{u}+\mathbf{r}) d^3\mathbf{u}$, 则散射强度可表达为 $I(\mathbf{q})=\int \gamma(\mathbf{r}) e^{-i\mathbf{q}\cdot\mathbf{r}} d^3\mathbf{r}$ 。 $\gamma(\mathbf{r})$ 称为相关函数。

因此 $I(\mathbf{q})$ 实际上是 $\gamma(\mathbf{r})$ 的傅立叶变换, 将实验中得到的 $I(\mathbf{q})$ 曲线做反傅立叶变换, 可以得到 $\gamma(\mathbf{r})$, 而非直接反映材料结构的电子密度分布函数 $\rho(\mathbf{r})$ 。因此利用 SAXS 来解析材料结构, 通常需要先假设一个模型, 利用这个模型 $\rho(\mathbf{r})$ 的特性, 推出 $I(\mathbf{q})$ 或 $\gamma(\mathbf{r})$, 再对实验中得到的散射强度 $I(\mathbf{q})$ 进行拟合, 以便对材料的结构进行解析。

4. 同步辐射小角散射在生命科学和高分子材料中的应用

国际上许多同步辐射实验室(美国、德国、英国、日本、法国等)都建立了高分子材料在线检测的装置, 以美国的布鲁克海文(Brookhaven)国家同步辐射实验室为例, 已经在 SAXS/WAXD 线站建立了模拟纺丝、拉伸、流变、高压成形等在线检测装置, 并应用于聚合物熔体、溶液和凝胶的超分子结构、聚合物相转变动力学、聚合反应动力学、纤维和薄膜的成形、聚物流体的在线研究。目前, 利用同步辐射的优势已开展了许多聚合物材料原位拉伸实验的研究, 如美国 B.S. 萧(Benjamin S. Hsiao)等人在美国布鲁克海文国家实验室同步辐射光源上利用小角散射和广角散射技术对聚合物 poly(ethylene terephthalate)等材料拉伸时结构的变化情况进行了原位实时研究并对其变形过程中结构

变化机理进行了详细阐述。日本汤古池田(Yuko Ikeda)等人在 Spring-8 同步辐射光源上用时间分辨的小角散射技术研究了含 SiO_2 纳米颗粒的异戊二烯橡胶复合材料变形过程中纳米颗粒形貌的变化, 研究发现 SiO_2 纳米颗粒逐渐由自由态变为屈曲结构。这些工作推动了聚合物材料的加工、结构-性能关系研究以及复合材料的开发。

在结晶动力学方面, 利用同步辐射小角散射技术实时研究碳纳米管/聚合物复合材料结晶或熔化过程中材料内部微结构的变化, 既为寻找结晶性聚合物复合材料的最佳制备工艺奠定理论基础, 又可以深入研究复合材料中的结晶机理。加西亚-古铁雷斯(Garcia-Gutierrez)等人用同步辐射小角散射技术研究了聚对苯二甲酸丁二醇酯/单壁碳纳米管(poly(butylene terephthalate)/SWNT)复合材料中碳纳米管和剪切对聚合物结晶的影响。米尔特纳(Miltner)等人用差示扫描量热仪研究了聚丙烯/碳纳米管(polypropylene/carbon nanotube)复合材料在非等温结晶和熔化过程中的行为, 重点调查了添加单壁碳纳米管和多壁碳纳米管引起的差异。

高性能纤维材料在我国具有广阔的应用前景。与国外技术相比, 我国纤维领域还存在较大差距, 主要体现在高性能原材料缺乏, 以碳纤维为代表的高性能增强材料长期依赖进口。纤维的性能与纺丝过程中的工艺参数有着密切关系。碳纤维在制备过程中会产生大量缺陷, 缺陷的存在是影响碳纤维实际强度重要因素之一。纤维成型过程是结构发展非常关键的阶段, 如纺丝流体从喷丝孔到凝固液之间的阶段; 纺丝流体在凝固液中的固化, 应力诱导或非溶剂诱导结晶及取向, 固化收缩引起的皮芯结构、空隙、无定形结构等; 拉伸过程中的结晶、取向、孔洞等的变化情况, 对于以上这些关键的阶段, 其样品一旦离开生产线结构就发生变化, 不能代表成型过程中真实的样品结构, 因此要研究这些阶段的结构演变规律, 就必须对上述过程的结构进行在线实时检测。同步辐射小角散射和广角散射技术对于纤维成型过程中结构变化的研究是特别有效的方法。美国 B.S. 萧等人利用美国布鲁克海文国家实验室同步辐射光源小角散射站的在线检测装置, 研究了聚烯烃和聚酰胺熔融纺丝成型过程中大分子取向和结晶结构的演变。将同步辐射 X 射线散射技术应用到纤维溶液纺丝过程中并对成型过程中一系列结

构变化行为进行实时探测研究，并对其内在机理进行深入调查，这对于制备高性能纤维具有重大意义。

在蛋白质折叠的动力学研究方面，目前的 SAXS 技术已经能够在亚毫秒的量级上观察蛋白质结构的运动过程，以及研究在各种不同的温度和压力下蛋白质的折叠和去折叠过程，这些研究将有助于理解蛋白质折叠机理和设计蛋白质结构。另外，两个蛋白质形成复合体的动力学过程，蛋白质动态组装的过程研究，细胞膜中膜蛋白的动态过程研究（包括膜蛋白之间的相互作用机理以及膜蛋白动力学过程），膜蛋白/磷脂双分子层之间的相互作用和动力学特性、膜运输的分子机理及其与信号传递的关系等均可采用同步辐射小角散射技术进行研究。

上海光源首批光束线站及其在生命科学和 高分子材料中的应用

在上海光源首批光束线站中，生物大分子晶体学线站、X 射线吸收谱学线站、小角 X 射线散射线站、X 射线成像线站等都可以在生命科学中有所应用，而其中生物大分子晶体学光束线站是专用于蛋白质晶体结构测定，小角 X 射线散射线站主要用于高分子材料的微结构研究。

1. 生物大分子晶体学光束线站

同步辐射光源的优越性在于它的高亮度及能量可调性。特别是对于生物大分子晶体学的研究来说，高亮度及能量可调性尤其重要。因为蛋白质的晶体一般体积较小，有序度也比较低，其衍射能力比较弱，需要高亮度的光源才能够较短时间内采集到高分辨的衍射数据。同时对于多波长异常散射法的实验，波长的可调性也是必需的。针对国内生物大分子结构研究的需要，上海光源生物大分子晶体学光束线 (BL17U1) 采用了真空内的小间隙波荡器作为光源。波荡器的周期数为 25，其最小磁隙为 6mm，磁隙调节范围为 6~12mm。磁场强度与磁隙以及对应波荡器发射的谐波能量见公式 (2)，通过计算理论上可以保证能量调节范围在 5~18keV 之间。

$$B_0[\text{T}] = 2.983 \exp\left[-\frac{g}{\lambda_u} (5.068 - 1.52 \frac{g}{\lambda_u})\right],$$

$$K = 0.934 \lambda_u [\text{cm}] B_0 [\text{T}], \quad (2)$$

$$E_n [\text{keV}] = n \frac{0.95 E_c^2 [\text{GeV}]}{(1 + K^2 / 2) \lambda_u [\text{cm}]}.$$

其中 B_0 、 λ_u 、 g 分别为波荡器的峰值磁场强度、周期长度和磁间隙， K 为波荡器偏转参量， E_c 为储能

环电子能量， E_n 为中心锥辐射 X-ray 能量， n 为谐波次数，波荡器的最大 K 值（对应最小磁间隙）决定了波荡器的调谐能力，通过调节波荡器的磁间隙可以调节波荡器中心锥辐射波长。

BL17U1 生物大分子晶体学实验站配备了一台 Rayonix 公司的 MX225CCD 探测器，用于采集从蛋白质晶体衍射出来的衍射图，与 MX225 探测器相配套的是一台 marDtb 系统（见图 6），包括用于探测器定位的平移台，用于晶体转动的旋转轴，用于限定光斑大小的精密狭缝，用于记录光强的电离室及用于控制曝光时间的快门，等等。探测器与样品之间的距离可在 80~375mm 之间调节。因为同步辐射 X 射线非常强，很容易对蛋白质晶体造成辐照损伤，使得所采集的数据质量及分辨率都会降低。为了降低蛋白质晶体样品被高强度的 X 射线照射造成的辐射损伤，实验站还配备了样品低温冷却装置 (Cryostream700)，它将低温干燥氮气 (~100K) 吹到晶体样品上，使样品始终保持在一个很低的温度下，可以大幅度地减少辐照损伤。为了方便用户在采集数据的同时在线处理数据，我们在实验站配备了数台高性能数据处理计算机 (图 7)。目前 BL17U 实验站的设备已经足以满足常规蛋白质晶体衍射数据采集的要求。

蛋白质科学研究上海设施建设项目计划在上海光源上再建造三个专门用于蛋白质晶体结构分析的线站，包括蛋白质复合物晶体结构线站、蛋白质微晶体结构线站及结构基因组学线站。这三条线站分别针对不同的样品的实验需求。蛋白质复合物晶体结构线站主要针对晶胞尺寸很大的蛋白质复合物、膜蛋白、病毒等蛋白质晶体样品，这些类型的蛋白质有着非常重要的研究意义，但是其分子量巨大，



图 6 BL17U1 生物大分子晶体学实验站



图7 BL17U数据存储及处理系统

其结晶而成的晶体的晶胞也非常大($>1000\text{\AA}$),因而造成 X 射线衍射点非常密集,要得到可分辨的衍射点,一方面要采用大面积的 CCD 探测器,另一方面也需要光束线的准直性要非常高。蛋白质微晶体结构线站主要针对的是那些难以形成较大晶体的蛋白质样品,这类蛋白质结晶困难,即使结晶其晶体体积也非常小($<50\mu\text{m}$),因此需要光束线站拥有非常小的光斑以及非常高的亮度。结构基因组学线站则是针对一般性的蛋白质晶体样品,以高度自动化为主要目标,注重的是高效率的衍射数据采集。

除了光束线的硬件及软件方面的发展,实验方法也是未来发展的一个主要方向。现在除了分子置换法,利用硒原子异常散射信号解相位是最常用的方法。但是这种方法需要花费大量时间去进行硒原子替代硫原子的过程,而且有些蛋白很难甚至无法硒代。因此使用蛋白质分子天然含有的硫元素作为异常散射原子来解相位就具有非常美妙的前景。除了硫的异常散射法的发展外,还有很多其他的实验方法也必须加以发展,比如超大晶胞的晶体数据采集、超高分辨率数据采集等。

2. 其他光束线站及其在生命科学中的应用

除了生物大分子晶体学光束线站在生命科学中的应用外,上海光源首批建设的其他光束线站有很多也可以在生命科学的研究中有着广泛的应用。

上海光源 XAFS 光束线(BL14W1)采用多极扭摆器作为光源,XAFS 光束线的能量调节范围在 $4\sim 50\text{keV}$,样品处光通量可达到 $10^{12}\sim 10^{13}\text{phs/s}$,能够开展高灵敏度谱学研究。利用 QXAFS(快速扫描)方法,可以实现在秒级或亚秒级的时间内完成 XAFS 谱扫描。例如对酶的催化反应中间过程的研究,使用晶体学方法得到的结构就无法了解催化机理,但是利用时间分辨的 XAFS 方法,就可以得到

金属酶蛋白质催化过程中金属元素位置、电子结构的实时变化,更有利于人们了解酶的催化过程。

X 射线成像及医学应用光束线(BL13W1)主要用于生物软组织及低 Z 材料的低剂量、无损、高分辨、动态、三维成像研究,比如昆虫的呼吸过程,动物脑皮层血管成像,等等。X 射线成像及医学应用光束线采用 8 周期的多级扭摆器作为光源。X 射线成像及医学应用光束线的能量调节范围为 $8\sim 72.5\text{keV}$ 。

3. 同步辐射光源在聚合物材料中的研究实例

同步辐射 X 射线散射研究流动场诱导高分子结晶 流动场诱导的高分子结晶是高分子材料加工的核心问题,也是高分子科学的重要课题。流动场诱导结晶研究的核心问题是关于原始晶核 shish 的形成。强流动场所用下,高分子不再生成通常的球晶,而生成所谓的 shish-kebab 结构,其中 shish 是晶核,kebab 是附生的片晶。由于 shish-kebab 结构能够提高聚合物材料的性能,高分子研究人员对此投以极大的兴趣。中国科技大学李良彬教授利用自主研发的微型伸展流变装置在上海光源小角 X 射线散射实验站上开展了相关工作。利用同步辐射 X 射线散射检测 shish 的生成与否,最终将 shish 生成和解缠结需要的流动场参数比较,考察 coil-stretch 转变是否为 shish 生成的必要条件。由于 HDPE 具有较高的熔体强度,在晶体熔点以上流动性仍然很差,所以是研究伸展流动诱导结晶的合适材料。该工作已发表在 *Macromolecules* 43 (2010) 602 上。

高性能聚丙烯腈纤维成形过程中结构演变的同步辐射小角 X 射线散射研究 聚丙烯腈纤维作为高性能碳纤维的原丝,在国防、航空航天等领域发挥着不可替代的作用。近年来国内外同步辐射技术蓬勃发展,为高分子材料结构和形态的在线检测提供了强有力的研究手段。东华大学张玉梅教授在上海同步辐射光源利用小角 X 射线散射技术,研究了聚丙烯腈 PAN 不同成形条件下的聚丙烯腈纤维的形态结构的演变。他们在纺丝装置上沿纺程分别采集凝固成形的初生纤维、预拉伸纤维、拉伸纤维、热定型纤维,进行 SAXS 测试,根据 SAXS 测试的结果分析纤维中的微孔、微纤的尺度、取向、分布等微形态结构,研究纺丝工艺条件对纤维形态结构的影响,结合聚丙烯腈纤维宏观形态、结晶结构和力学性能的分析,建立了制备高性能聚丙烯腈碳纤维原丝的工艺与结构的关系。图 8 显示了拉伸温度对

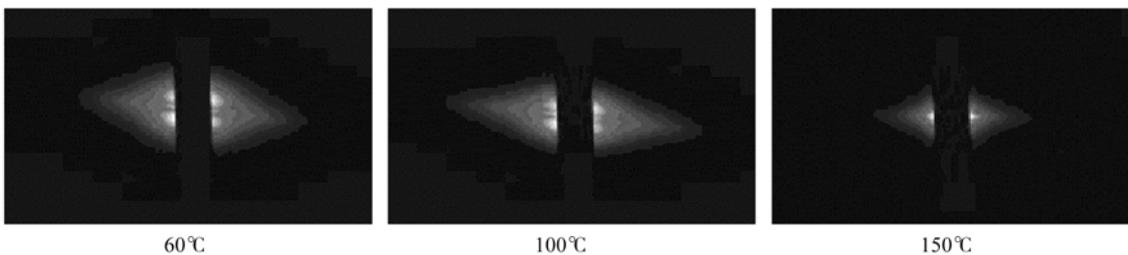


图 8 在恒定应变下不同拉伸温度时的 PAN 纤维的 2D SAXS 图案

拉伸纤维结构的影响。SAXS 散射强度沿赤道方向出现一尖锐的条纹,同时在子午方向强度降低。这表明拉伸的 PAN 纤维主要是纤丝状结构,同时包含有少量的层状结构。随着拉伸温度的升高,沿赤道方向的散射条纹明显变尖锐,这可能是由于其择优取向结构的发展所造成的,表明沿赤道方向散射条纹的尖锐化与更高的取向度相关。该工作已被收集在《2009 年先进纤维与高分子材料国际会议》论文集集中。

热固性聚合物微结构的同步辐射小角 X 射线散射研究 在纳米尺度上控制热固性聚合物的形态结构一直是高分子材料学家努力追求的方向,也是材料研究的难点之一。通过调节嵌段共聚物的类型、组成以及在体系中的体积分数,人们已经在热固性聚合物中得到一系列具有纳米尺度上有序或无序的微结构。2006 年郑 (Zheng) 等提出这种纳米尺度上的微结构还可以通过所谓“反应诱致的微相分离”机制来形成,即虽然共聚物的嵌段在固化反应前与热固性树脂的单体是相容的,但是只要其中某个嵌段在固化后微相分离出来而其他的嵌段保持与交联的热固性聚合物基体相容,体系依然可以形成具有纳米尺度上的微结构。实验研究结果表明反应诱致的微相分离方法是一种更普遍更贴近传统高分子加工的纳米尺度上微结构的形成方法。上海交通大学化学化工学院郑思珣教授,在上海光源利用小角 X 射线散射技术,研究了高分子材料纳米尺度上微结构的情况。图 9 为含 PS-*alt*-PEO 的热固性树脂结构的 SAXS 曲线。SAXS 曲线上的单一衰减变化趋势表明环氧热固性树脂中没有长程有序结构,这与 AFM 观测一致。图 10 为含有 PS-*b*-PEO 两嵌段共聚物的环氧热固树脂的 SAXS 散射曲线,散射曲线中多重散射峰的出现(如图中箭头所示)表明环氧热固树脂具有长程有序的纳米结构。从图 8 和图 9 中可看出,含 PS-*b*-PEO 两嵌段共聚物的环氧热固树脂中的长程有序纳米结构与含 PS-*alt*-PEO 交互多嵌

段共聚物的环氧热固树脂中的结构形成明显对比。他们认为是由于嵌段共聚物独特的拓扑结构形成了这种长程有序的纳米结构。目前该工作已发表在 *European Polymer Journal* 45 (2009) 3326 上。

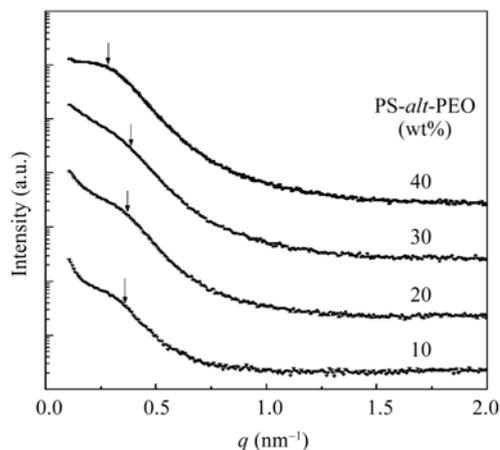


图 9 含 PS-*alt*-PEO 的热固性树脂的 SAXS 曲线

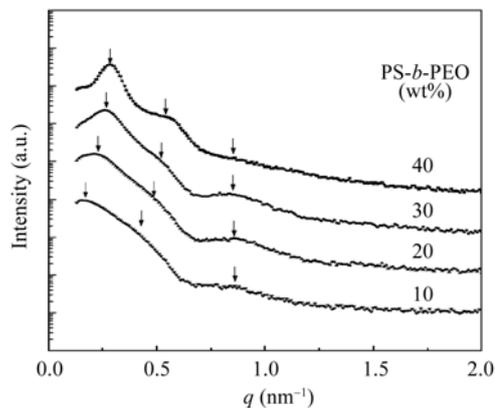


图 10 含 PS-*b*-PEO 的热固性树脂的 SAXS 曲线

生命科学和高分子科学可以为解决人类社会发 展面临的健康、食物、能源、生态、环境等重大问题提供了强有力的手段,是 21 世纪重要的科学研究方向。而同步辐射技术在生物材料和高分子材料中有着非常广泛的应用,可以为生命科学和高分子材料研究提供一个广阔的研究平台。

(中国科学院上海应用物理研究所 201204)