

赵玉芬

(清华大学生命有机磷教委重点实验室, 北京, 100084)

在生物分子中磷酸基团是一个非常重要的基团,它是 DNA 分子中的桥联基团,许多生命过程都涉及到蛋白质的磷酸化,酶的催化作用是由它的磷酸化以及去磷酸化来调控,甚至有些癌症的发生都是由于某些蛋白质不正常地被磷酸化所造成。单纯的氨基酸是惰性的,一种氨基酸的羰基不能与另一种氨基酸的氨基形成肽键,而磷酸化以后的氨基酸呈现出复杂的仿生化活性,它是研究磷酸蛋白质在生物体内作用的最小分子模型。

我们采用相干反斯托克斯拉曼光谱(简称 CARS)研究磷酸化丙氨酸分别在异丙醇及重水中的反应。与 Raman 光谱相比, CARS 灵敏度高几个数量级,由于 CARS 信号的方向性和频率高于泵浦光频率,可以从空间和光谱两个方面进行滤波来消除样品荧光的干扰,这对研究有大荧光背景的生物分子尤为重要。另外,可以研究生物分子在水溶液中的反应,更真实地反映自然界真实规律,而水中很强的红外吸收限制了傅里叶变换红外光谱的应用。将磷酸化丙氨酸在前述溶液经 55°C 加热 40 小时后,对比反应前后,在 1550—1850 cm^{-1} 波段的 CARS 谱,发现反应后标志磷酸化丙氨酸羧基(COOH)中 C=O 键伸缩振动的特征峰 1744.9 cm^{-1} 峰下降,而在 1670.5 cm^{-1} 处出现小峰,这是肽键上 C=O 键的伸缩振动模,说明部分丙氨酸自聚形成了肽键,同样样品用进口 Raman 光谱仪,在上述波段没有测量出波峰。

为了减小 CARS 信号中共振背景的干扰,我们采用相位失匹配方法。选用薄的样品室窗片和样品厚度,使窗片和样品都参与四波混频,在合适的样品和窗片厚度、及合适的相位失匹配角情况下,可以实现完全消除非共振背景, CARS 谱线型为罗伦茨线型。在这样条件下,测量了溶于水中的尿嘧啶核苷的 CARS 谱,谱峰清晰,可以确切地确定分子的振动模式,其中在 900 cm^{-1} —1300 cm^{-1} 波段以碱基六元环骨架伸缩振动为主,而 1300 cm^{-1} —1500 cm^{-1} 波段主要包括 CH 键和 NH 键的弯曲振动模,糖环的弱模则表现在碱基骨架伸张振动模 1100 cm^{-1} 强峰左右的 1080 cm^{-1} 和 1120 cm^{-1} 处各有一个肩突。

实验用 Nd:YAG 激光倍频的 532 nm 光泵浦染料激光器输出作为斯托克斯光, Nd:YAG 激光倍频后剩余的 1.06 μm 激光经第二次倍频,产生的 532 nm 光作泵浦光, CARS 信号经单色仪分光去除荧光等杂散光后,由光电倍增管接收,再由取样积分器对信号进行平均,经 A/D 转换,送入微机处理,单色仪由微机控制与斯托克斯光同步扫描。

飞秒激光研究分子的振动和转动 *

周士康

(中科院安徽光机所激光光谱学开放室, 合肥, 230031)

一切复杂的分子运动都是以分子的振动、转动为基础的,分子的振动、转动是整个分子光谱的出发点。但是,用光谱来研究分子运动的几十年来,人们都是从分子的光谱来“反推”出分子的运动状态的。精确的观测采用的是高分辨光谱法(频率分辨),时间尺度相对于分子的运动而言是很长的。实际上,我们从未真正“观察”到分子的振动、转动过程。而现在飞秒激光的出现已使我们有可能真正“观察”到分子的实时运动了。这就是近几年才出现的用飞秒激光相干瞬态光谱(FTS)方法研究分子的振动和转动。

* 国家自然科学基金资助课题。

这一方法的基本思想是用飞秒激光将分子在极短时间内(小于分子的振动、转动周期)分子相干地激发到激发态,分子开始运动,然后用另一束飞秒激光在经过确定的时间延迟后去探测这一运动。这一探测过程可以是激光诱导荧光、质谱、光电子检测、受激辐射泵浦甚至吸收等多种常规的方法。说起来是如此简单,实际上 FTS 方法研究分子运动包含了与常规方法很不相同的内容。

以 FTS 激光诱导荧光方法观察振动为例,要测量到分子荧光随振动的变化,必须使大量分子同时开始同步运动,这就要求所有的分子都在同一时间被激发到能面的同一点上,亦即激发光的脉宽要小于振动周期(如 10^{-13} s)。用飞秒激光是易于满足这一要求的。至于探测光与激发光间的时间延迟则是易于控制的。这样,被一个脉冲激发的多个分子开始同时振动,而在分子振动的每一个位置上,延迟后的探测光脉冲又将分子激发到另一电子激发态的确定能级上,测量这一激发态的荧光作为延迟时间的函数,我们就得到了振动坐标随时间的变化。

而要观察到分子的转动,除了所有分子有同一时间起点这一要求外,还要求所有分子“准直”,亦即其转动轴都排成一个方向,幸而偏振的飞秒激光即可满足这些要求。只有那些其偶极矩方向与探测光电矢量方向平行的分子才被激发。同样,当分子转动起来以后,只有那些其偶极矩平行于探测光电矢量方向的分子才有最大的荧光被探测到,结果与振动情况相同,测量激发态的荧光作为时间延迟的函数就可得到转动坐标随时间的变化。这样,我们就“直接”观察到了分子的振动和转动。

必须指出, FTS 与“常规”光谱方法的重要的不同在于它不是频率分辨的。常规光谱提高分辨率的方法是压缩光的频率分布。但是在 FTS 情况,由于测不准原理的限制,激光脉宽愈窄,则其线宽愈宽,一个飞秒激光脉冲所激发的不象常规光谱那样是分子的一个本征态,而是多个态叠加的相干叠加态,分子的运动实际上是波包的运动。这并非是 FTS 的缺点,相反,这就可以同时探测分子的多个振动、转动能级,从而很快得到精确的位能曲线。而且,脉冲宽度愈短,则波包位置愈确定,所得的位能曲线就愈精确,但这时分子的能量就愈不确定。这是与常规光谱的本质不同之处。但是,对于第二个脉冲,即探测过程而言,其情况又和常规方法相同,如上的激光诱导荧光方法,它只能是一个非相干过程。

用 FTS 方法探测分子的振动、转动是分子运动的“直接”观察,而且,与高分辨光谱相比,它可以更精确地测量分子常数 and 位能面,同时这一研究也是观察更为重要的分子断键、成键过程的基础,它甚至可以直接应用于控制化学反应的通道。国际上这方面的研究也刚刚开始,有必要在我国也展开这方面的研究工作。