

非线性电泳

陈 义

(中科院化学所, 生命分析中国科学院重点实验室, 北京 100190)



陈义: 中国科学院化学研究所研究员。工作: 毛细管电泳, 始自1984年; 表面等离子体共振成像, 始自1997年。自评: 好早醒, 多早起, 走得慢; 喜琢磨, 玩兴趣, 疏写作, 乏建树。

电泳大家当已耳熟能详了, 它发现于18世纪初期, 有悠久的历史。电泳因 Tiselius 而进入分离领域, 为蛋白质科学的建立和发展立下了汗马功劳。其贡献至今不息, 一直是生物学家的掌中宝。电泳于上世纪80年代因毛细管电泳的兴起而登上了新的高峰, 发展成为高效、微量、自动化的仪器分析新方法。其中阵列毛细管电泳的出现, 导致了人类基因组测序计划的提前完成, 现已取代旧的核酸测序技术, 成为全自动核酸测序的主流技术。当前, 电泳正与微/纳流控技术结合, 向芯片化方向发展, 产生了许多新的花样。

但电泳发展的危机也可能正在来临。因为这些形式或花样的变化并未引起电泳原理上的变革, 它们所依据的依然是线性关系。线性电泳可开发的余地或许已经不多, 快江郎才尽了。难道电泳的发展会就此停止? 当然不会, 因为在线性电泳之外, 还有非线性电泳, 这是一块处女地, 正等待着开发。线性电泳或许只是电泳王国中冰山之一角, 深埋于寒冰之下的非线性电泳可能另有天地。

1 基本理论

所谓线性电泳, 指的是依据以下线性方程而开发的各种电泳方法:

$$v = \mu E \tag{1}$$

式(1)中 v 是电泳速度, μ 为淌度或比例系数, E 为电场强度。线性方程的关系简单, 依此构建的电泳方法易于理解, 容易推广。但线性电泳与交流电场不相容, 非直流不可, 否则 v 的周期平均值为零, 粒子仅能在某点做周期振动, 不产生净位移 S 。设 $E = E_m \sin(\omega t)$, 就有

$$S = \bar{v} t_R = \frac{t_R}{\tau} \int_0^\tau v dt = \frac{t_R}{2\pi} \mu E_m \int_{-\pi}^\pi \sin(\omega t) d(\omega t) = 0 \tag{2}$$

式(2)中 t_R 为电泳时间, τ 为周期, E_m 为电场振幅, ω 为角频率。直流电泳会伴随着发生电化学反应, 这不仅会破坏样品、逐渐改变电泳体系的组成, 还会引入污染, 干扰测定。直流的焦耳热效应也很明显, 这限制了高电压的使用。在毛细管中, 它还会产生强的电渗流, 虽然可加速分离, 但也影响淌度的准确测定。电渗流受管壁电荷和吸附状态的制约, 常不稳定或难以控制, 已成为毛细管电泳中控制重现性的一个重要问题。

上述这些问题, 很可能需要利用非线性电泳方案来解决。所谓的非线性电泳, 当然是指依据非线性方程而构建的一类电泳方法了。从数学上看, 非线性电泳方程可一般地表示为:

$$v = \sum_{i=1}^n \mu_i E^i \tag{3}$$

当 $n=1$ 时, 方程(3)与方程(1)等价, 且 $\mu_1 = \mu_0$ 。但若 $n=2$, 则方程(3)的周期积分便不为零:

$$\bar{v} = \frac{\mu_1 E_m}{\tau} \int_0^\tau \sin(\omega t) dt + \frac{\mu_2 E_m^2}{\tau} \int_0^\tau \sin^2(\omega t) dt = \frac{\mu_2 E_m^2}{2\pi} \int_{-\pi}^\pi \sin^2 x dx = \frac{\mu_2 E_m^2}{2} \tag{4}$$

所以, 据此可实现交流电泳。于是电渗流不复存在, 电化学反应也容易被克服。根据电化学研究, 当交流频率超过 1 kHz 时, 电化学反应可忽略不计。

当 $n > 2$ 后, 依然能够找到使方程(3)周期积分不为零的条件, 例如令 $E = E_1 + E_2$, 且 $E_1 = E_{m1} \sin(\omega t)$ 、 $E_2 = E_{m2} \sin(\omega t + \varphi)$, 其中 φ 为相位, 则当 $n=3$ 、 $\mu_2=0$ 时, 存在以下积分:

$$\frac{1}{2\pi} \int_{-\pi}^{\pi} [E_{m1} \sin(\omega t) + E_{m2} \sin(\omega t + \varphi)] d(\omega t) = 0$$

$$\frac{1}{2\pi} \int_{-\pi}^{\pi} [E_{m1} \sin(\omega t) + E_{m2} \sin(\omega t + \varphi)]^3 d(\omega t) = -\frac{3}{4} E_{m1}^2 E_{m2} \sin\varphi$$

从而有平均速度

$$\bar{v} = -3/4 \mu_3 E_{m1}^2 E_{m2} \sin\varphi \quad (5)$$

显然,只需选择合适的相位 φ 就可使方程(5)不为零。据此可实现所谓的不对称电泳。依此类推,由方程(3)可演变出许多非线性电泳的理论方法,这为我们发展电泳新方法和解决线性电泳问题,提供了全新的途径。

2 非线性电泳的发现与发展

非线性电泳源于所谓的 Wien 效应(*Ann Physik*, 1929, 5:400-411)。该类非线性现象凸显于微米级尺度,可致导体微柱附近、介电尖角、交流微电极对表面等处产生电渗流,或使阴阳型微珠沿着与电场垂直的方向泳动(*Adv Colloid Interface Sci*, 2009, 152:48-88)。

非线性电泳是 1972 年由乌克兰的 Dukhin 教授等首先发现的(*Physics of Solid Body. Bull. Kiev Pedagogical Institute, Kiev, Ukraine*, 1972:113-123)。后来, Dukhin 和 Derjaguin 在俄文版的《电泳》一书中单列一章对非线性电泳进行了总结(*Electrophoresis. Chapter 10. Nauka, Moscow*, 1972:195-213)。西方世界(当时的北约集团)首先发现非线性电泳的人是 Stotz(*J Colloid Interface Sci*, 1978, 65:118-130)。非线性电泳与不对称因素有关,涉及样品、介质、电场等因素。一般来讲,低电导介质中的大颗粒样品的双电层较松散,易被高电场极化,进而出现不对称的电荷分布和非线性电泳现象。基于此,大家在随后的研究中都关注无机颗粒的低电导水悬浮体系和高场电泳技术。Dukhin 曾讨论过细胞的非线性电泳(*Adv Colloid Interface Sci*, 1991, 35:173-196),但缺乏细致的实验研究。最近发现,液晶等各向异性的电泳介质可直接诱导非线性电泳。笔者以为,开发不对称介质比诱导样品极化更有实用价值,值得深入研究。

3 液晶电泳

关于液晶的研究已经有 100 多年了。它的品种多、用途很广,可用于制作显示器、温度计、偏光板、滤光片、光电调整器等。不过,奇怪的是居然鲜见用液晶作电泳介质!

最近,这种状况发生了变化, Lavrentovich 等成功地用向列液晶实现了非线性电泳。向列液晶多由刚性棒状分子构成,聚集时倾向于取向排列,形成各向异性结构。其与电场相关的介电系数也具各向异性,可用平行($\epsilon_{//}$)和垂直(ϵ_{\perp})分量表示,差值 $\epsilon_{//} - \epsilon_{\perp}$ 记为 $\Delta\epsilon$ 。当 $\Delta\epsilon > 0$ 时为正型液晶,反之为负型液晶。 $\Delta\epsilon$ 越大,液晶分子取向的电场调控就越容易。

Lavrentovich 等利用 $\Delta\epsilon$ 为 13.8、清亮点为 58 °C、厚度为 50~80 μm 的向列液晶(配向膜为聚乙酰亚胺),以导体金珠(直径为 5.5~9 μm)和以十八烷基三氯硅烷(荷负电)或 *N,N*-二癸基-*N*-甲基-(3-三(甲氧基)硅丙基氯化铵(荷正电)修饰的硅、硼、钙等介电玻璃珠(直径为 5~50 μm)为样品,在间隔为 5~12 mm 的铝膜电极之间进行了非线性电泳研究,发现在高于 58 °C 的清亮点状态下,仅出现线性电泳状态,即正玻璃珠向负极、负玻璃珠向正极泳动,而金珠不动,而在降温后的液晶态中,出现的是非线性电泳现象,即金珠和带电玻璃珠都能电泳,其速度与电场的关系遵守 $n=2$ 的方程(3),即存在以下非线性关系:

$$v = \mu E + \mu_2 E^2 \quad (6)$$

其中:金颗粒的 $v=0$ 、 $\mu_2 = 2 \times 10^{-3} \mu\text{m}^3 \cdot \text{mV}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,负玻璃珠(粒径为 9.6 μm)的 $\mu = -0.03 \mu\text{m}^2 \cdot \text{mV}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ 、 $\mu_2 = 2.55 \times 10^{-3} \mu\text{m}^3 \cdot \text{mV}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,而正玻璃珠(粒径为 17.3 μm)的 $\mu = 0.07 \mu\text{m}^2 \cdot \text{mV}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ 、 $\mu_2 = 5.5 \times 10^{-3} \mu\text{m}^3 \cdot \text{mV}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。进一步研究表明,它们都可以在交流电场中泳动。

电场和速度其实都是矢量,即 E_i 、 v_i ($i, j = x, y, z$),它们还与描述样品颗粒极化方向的指向矢量有关,所以非线性电泳方程的完整表述,需用张量完成,对应的张量系数可表示为:

$$v_i = \mu_{ij} E_j + (\mu_2)_{ijk} E_j E_k + \dots \quad (7)$$

式(7)中采用了爱因斯坦约定。由此可见,非线性电泳有 3 个方向,即与电场平行、反平行或垂直。垂直方向又与线性电泳不同。前面讲过,阴阳型颗粒可沿着垂直于电场的方向泳动。Lavrentovich 等的研究表明,在 $\Delta\epsilon = -3.7$ 的液晶中,带正电的玻璃珠会沿着与电场垂直的方向作环形泳动。详见:*Nature*, 2010, 467:947-950。

4 展望

目前关于非线性电泳的研究还比较初步,样品对象多集中于微米级颗粒。对分子甚至大分子的研究甚少,或仅局限于理论预测层面,鲜有实验支持。即使是颗粒样品,亦依然缺乏实用的非线性电泳方法。在理论研究方面,目前的数学模型和推导多立足于准线性假设,虽然能解释一些非线性电泳现象,却不是合格的非线性理论,不能做定量描述,其预测与实际结果可有数量级的差别。

非线性电泳无疑是一块处女地。它复杂、深邃,而又机会良多,正等待着拓荒者的眷顾,去创造和耕耘,然后收获成功。