

Form og funktion på nanoskala

Naturen er mester i at skræddersy systemer af selvorganiserende molekyler med de rette egenskaber til en given opgave. Med røntgen- og neutronspreddning kan vi studere både naturens komplekse strukturer og mere simple syntetiske systemer. Vi kan dermed lære, hvordan form og funktion hænger sammen, og hvordan sammenhængen kan fintunes.

Hvordan opstår struktur og mønstre i naturen? Hvordan er funktion og "performance" knyttet til den underliggende struktur? Er det muligt at efterligne nogle af naturens byggeprojekter på en kontrolleret måde? Hvordan kan fysiske metoder være med til at belyse sådanne spørgsmål? Disse store spørgsmål inspirerer de forskningsprojekter, jeg arbejder med i det daglige, der handler om bløde materialers struktur og dynamik. Bløde materialer er alt det i vores omgivende verden, der er nemt at deformere og som ofte fremtræder som en mellemting mellem væske og fast stof – tandpasta, cremer, salatdressing, blod, cellemembraner mv. Jeg vil i denne artikel give to eksempler: et "syntetisk", hvor to lange molekyllæder er koblet sammen og et biologisk, der handler om det fotosyntetiske membran-system i grønne planter. Syntetiske molekyler kan skræddersys af en dygtig kemiker, og det er således til en vis grad muligt at designe systematiske undersøgelser af en samling veldefinerede molekyler, som beskrevet nedenfor. Biologiske systemer er mere komplekse og ukontrollable og udviser en høj grad af variation, der i særlig grad er med til at udfordre fysikkens værktøjskasse.

Når strukturer laver sig selv

Selvorganisering betyder, at en samling af molekyler lokalt og spontant organiserer sig i en ordnet struktur – altså uden ydre styring af processen – systemet "syr" så at sige sig selv. I naturen er der tale om den ypperste form for skrædderkunst, Haute Couture: I mitokondrier og i grønkorn findes fx membran-systemer med et fascinerende design, hvor form og funktion går op i en højere enhed. Drivkraften bag selvorganisering er som oftest frustrerede molekyllære byggesten, som fx phospholipider, der danner grundstrukturen i en biologisk membran. Phospholipider er "frustrerede", fordi de er delt i to – en hovedgruppe, der er vandopløselig og en halegruppe, der

er fedtopløselig (man siger, de er amfifile). I vandig opløsning organiserer phospholipidmolekyler sig derfor i strukturer, hvor de vandskyende haler beskyttes mod vandfasen af de vandelskende hovedgrupper. Et eksempel er et phospholipid-dobbeltlag, der fungerer som grundstruktur i en cellemembran.

I nanoteknologi udnytter man frustrerede molekylers evne til at organisere sig selv i en struktur med en karakteristisk længdeskala på 10 – 100 nm. Kemikere skræddersyr molekyler med bestemte egenskaber og nøje udvalgte frustrationer, således at en samling af molekylerne selvorganiserer sig i strukturer, der kan bruges som udgangspunkt for fremstilling af fx nanoporøse membraner, støbning af nanoledninger eller til nanolitografi.

Studier af selvorganiserende polymerfilm

Jeg arbejder med såkaldte diblok copolymerer, der er et eksempel på en selvorganiserende struktur. En polymer er sat sammen af mange ens grundenheder, monomerer, der er koblet i en lang kæde. Og en diblok copolymer består af to kemisk forskellige polymerkæder, der er sat sammen med en kemisk binding. De to halvdele frastøder hinanden, og hvis ikke de to kæder var koblet sammen, ville de danne helt adskilte faser. Ved at variere temperaturen, den samlede længde af polymerkæden og den indbyrdes længde af de to polymerkæder, kan diblok copolymerer danne mange forskellige strukturer.

I samarbejde med en gruppe fra Det Tekniske Universitet i München studerer jeg strukturen i tynde film af diblok copolymerer. Sådanne film laves ved at opløse diblok copolymerer i et organisk opløsningsmiddel og placere en dråbe på en tynd skive af fx silicium, der roteres med høj hastighed. Efterhånden som opløsningsmidlet slynges væk, belægges siliciumskiven med en tynd film af diblok copolymer. Med det rette

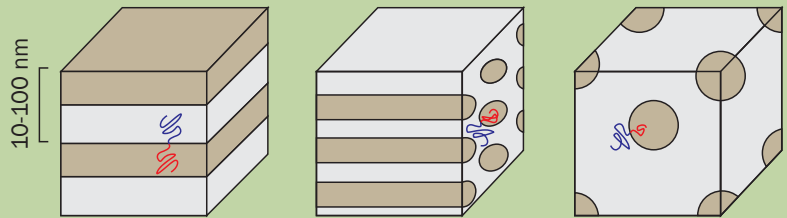
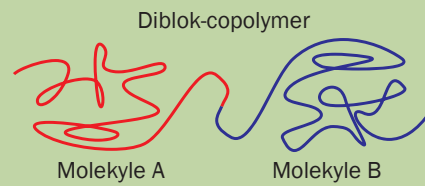
Forfatteren



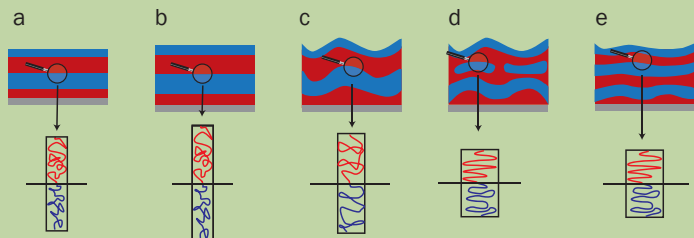
Dorthe Posselt, lektor i fysik, IMFUFA, Institut for Natur, Systemer og Modeller
Roskilde Universitet
Dorthe@RUC.dk

Selvorganiserende polymerfilm

Som vist øverst på figuren består diblok copolymerer af to kemisk forskellige polymerkæder holdt sammen af en kemisk binding. Hvis ikke A og B var bundet sammen, ville de to slags molekyler danne helt adskilte faser. Ved at variere temperatur og længden af A- og B-kæderne kan sådanne diblok copolymerer danne mange forskellige strukturer. Hvis A er lige så lang som B, kan der dannes en lagdelt struktur med lameller (til venstre) og hvis A er mindre end B, kan der dannes stænger af A stablet på en velordnet måde og omgivet af B (midten). Endelig kan A danne kugler, der er placeret på et velordnet gitter og omgivet af B (yderst til højre). Den karakteristiske tykkelse af lameller, stænger og kugleradius er ~ 10-100 nm.



Et vigtigt resultat af vores eksperimenter er mekanismen illustreret nederst på figuren: Et organisk opløsningsmiddel på dampform (fx toluen) trænger ind i en diblok copolymer film af polystyren-polybutadien med en lagdelt struktur som vist på den midterste figur yderst til venstre. Ved hjælp af GISAXS kan der optages en "film" af processen, og på den måde har vi fundet ud af, at diblok copolymererne først bliver mere udstrakte, når de blandes med opløsningsmidlet, hvilket koster i entropi – systemet bliver mere ordnet. Dernæst ruller polymerkæderne sig sammen igen, hvorved de får et større tværnsnitsareal, og lamellerne begynder således at "bule" op for at få plads til det øgede areal. En stak af lameller bryder derfor op og danner en stak med flere, men tyndere lag.

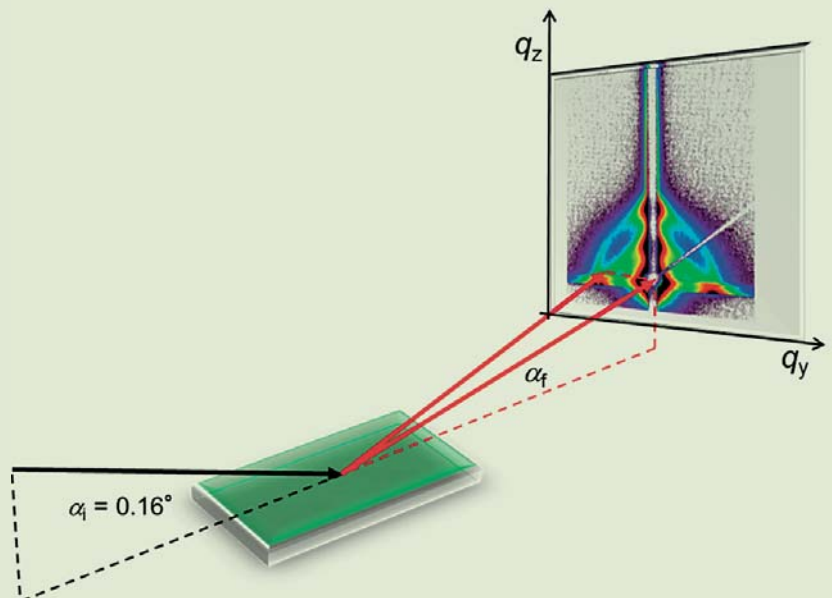


Efter Papadakis et al, 2008, Langmuir, vol.24, side 13815

GISAXS

I teknikken "røntgen-småvinkelspredning i refleksionsgeometri" (GISAXS) sendes røntgenstråler ind mod prøveoverfladen i en vinkel på omkring $1/10^\circ$. Ved at vælge den rigtige vinkel kan vi opnå, at røntgenstrålen trænger ned i vores diblok copolymer-film og bliver reflekteret fra den underliggende siliciumskives overflade, således at et stort prøvevolumen belyses, uden at røntgenstrålen dæmpes ved passage af siliciumskiven. På den måde kan vi få information både om en eventuel lagdeling i filmen og om strukturer parallelt med prøveoverfladen. Figuren viser et eksempel på et GISAXS-"map" fra en film med en lagdelt struktur, hvor lagene har alle mulige "skæve" orienteringer, hvilket ses som en halvcirkel af høj intensitet. Intensiteten er højest i røde områder og aftager med gul-grøn-blå. Hvis filmen er lagdelt, giver lag (lameller) parallelt med filmoverfladen anledning til intensitetsvariation langs q_z , mens lameller, der står vinkelret på overfladen, giver anledning til intensitetsvariation langs q_y . Mønstrene i et GISAXS-map er interferensmønstre, der opstår ved overlap af forskellige dele af den spredte røntgenbølge.

GISAXS er en videreudvikling af teknikken SAXS (røntgen småvinkelspredning), hvor røntgenstråler sendes vinkelret ind på prøven og den spredte stråling måles bag prøven



efter at have passeret gennem prøven. I stedet for røntgenstråling kan samme type måling udføres med neutroner – i så fald hedder teknikken SANS. I vores studier af thylakoidmembraner benyttes både SAXS og SANS, og prøven, der er en grøn "ærtesuppe", er under målingerne hældt i en beholder af glas.



Øverst ses ærteplanter, der er dyrket under kontrollerede forhold. Nederst ses en opkoncentreret prøve af thylakoid-membraner isoleret fra grønkorn i ærtebladene – når vi måler på "ærtesuppen", fortynder vi den først med vand.

Videre læsning

Peter Willendrup m.fl.: Tre tigerspring for materialeforskningen. *Aktuel Naturvidenskab* nr. 1/2015

Vigild, M. E. og Mortensen, K.: Neutroner og polymerer – Nanoteknologi. *Kvant*, maj 2007.

Jensen, G.V.; Vestergaard, B.; Pedersen, J.S. og Arleth, L.: En spids vinkel på sygdomme og medicin *Aktuel Naturvidenskab*, 2/2015.

Mere om fotosyntese Bibi Ziensen m.fl.: Drevet af lyset – fotosyntesen på arbejde. *Aktuel Naturvidenskab* 1/2013

design af diblok copolymeren og den rette efterbehandling kan man få en film med en struktur, hvor en samling af den ene slags molekyle i copolymeren danner lodret stående "stænger" omgivet af en samling af den anden slags molekyler. Ved at ætse stængerne væk kan filmen eksempelvis bruges som støbeform for tætliggende nano-ledninger, som laves ved at fylde de tomme huller op med et ledende materiale.

Perfektionering af film-strukturen

I vores studier er vi især interesserede i, hvorledes man kan kontrollere og perfektionere strukturen i filmen, og i, hvilke omorganiseringer-processer der finder sted, når filmen vekselvirker med organisk opløsningsmiddel på dampform. Til det formål benytter vi os af en røntgenspredningsteknik kaldet GISAXS (der står for Grazing Incidence Small-Angle X-ray Scattering), der giver information om nanoskala-struktur både langs med filmoverfladen og ned gennem filmen.

Vi studerer film med forskellige nanostrukturer, fx en film bestående af vandrette lag (lameller) af de to polymerhalvdele i diblok copolymeren på skift. Vi fylder prøvekammeret, hvori polymer-filmene er monteret, med organisk opløsningsmiddel på dampform. Opløsningsmidlet trænger ind i polymerfilmen, hvor det virker som "smøremiddel", der gør det muligt for molekylerne at flytte rundt og dermed omorganisere filmstrukturen. Vi kan med GISAXS optage en "film", der følger strukturomdannelsen i polymerfilmen, mens den sker. Billederne i filmen er ikke direkte billeder af molekylerne, men komplicerede mønstre, hvis fortolkning kræver en del modellering og regning.

Den viden, vi opnår, er interessant i sig selv: Hvordan kan en samling indfiltrede spaghetti-lignende molekyler vikle sig ud af hinanden og finde sammen i nye strukturer? Men det har også mere praktisk betydning for fremstillingen af diblok copolymerfilm uden defekter i strukturen og med en på forhånd veldefineret struktur. Vi kan således på forhånd bestemme, om fx stænger står op eller ligger ned i den færdige, tørre polymerfilm ved at behandle med damp på den rigtige måde.

Selvorganisering i naturen

Sammenlignet med de syntetiske film, vi arbejder med, er en biologisk cellemembran et eksempel på en meget mere kompliceret selvorganiserende struktur. Som nævnt består cellemembranen grundlæggende af et dobbeltlag af fosfolipider, og i denne struktur er der indlejret store proteinsystemer, som fx sørger for transport af ioner ind og ud af cellen. Konkret studerer vi thylakoid-membranen, som findes i grønkorn (kloroplast-organellerne) hos grønne planter. Thylakoid-membranen er hjemsted for alle de protein-komplekser, der er aktive i fotosyntesen, hvor absorption af sollys driver omdannelsen af kuldioxid og vand til sukkerstoffer. Sukkerstofferne binder kemisk energi, der kan bruges af planten til at drive andre biokemiske

processer. Ilt frigives til atmosfæren undervejs i fotosyntesen, og fotosyntese er således en af de mest fundamentale biokemiske processer overhovedet.

Selve thylakoid-membranen er foldet i en kompliceret tredimensionel struktur. Som i tilfældet med de lamel-dannende diblok copolymerer, er det centrale element en stak af "lameller", der dog er betydeligt mere kompliceret i dette tilfælde. Stakken består af fladtrykte "sække" (thylakoider) af membran, den såkaldte grana-stak, der er omvundet af stroma-lameller, der forbinder de enkelte sække i stakken og desuden forbinder nabo-stakke. Strukturen er derfor hierarkisk opbygget med flere karakteristiske længdeskalaer, der rækker fra størrelsen af et enkelt lipidmolekyle over størrelsen af et proteinkompleks og tykkelsen af en enkelt fladtrykt "sæk" i stakken til størrelsen af en hel stak, bestemt af antallet af lag i stakken. Denne organisering har en funktionel betydning i den komplicerede biokemi bag fotosyntesen. Bl.a. findes nogle proteiner kun i grana-stakken, mens andre fylder for meget til, at de kan sidde i de tætte lag og er i stedet lokaliseret i stroma-lamellerne.

Kobling af struktur og funktion

I samarbejde med en ungarsk forskningsgruppe undersøger jeg thylakoid-membranen med røntgen- og neutron-småvinkelspredning. Vi bestemmer den karakteristiske afstand i en grana-stak og imellem stroma-lamellerne, der for grana-stakken typisk er omkring 17 nm og for stroma-lamellerne omkring 30 nm. Da prøven er i vandig opløsning under betingelser svarende til de fysiologiske, kan vi med denne teknik studere dynamikken i thylakoid-membranstrukturen. Fx kan vi påvirke systemet ved at belyse det og følge, hvordan strukturen ændrer sig og tilpasses de nye betingelser. Det viser sig, at membransystemet skrumper, når vi belyser det med hvidt lys, og at systemet vender tilbage til sin oprindelige struktur, når lyset igen slukkes. Tidskonstanten for de observerede ændringer afhænger af intensiteten af det anvendte lys – for belysning skrumper systemet med en typisk tidskonstant på omkring 35 s, mens en hurtig (~ 2s) og en langsom proces (~100 s) er involveret, når lyset slukkes, og systemet vender tilbage til sin oprindelige struktur. Ved at gribe ind i den fotosyntetiske proces kan vi manipulere systemet og dermed koble struktur til funktion. Fx kan vi stimulere forskellige dele af elektron-transportprocessen i fotosyntesen ved at tilsætte forskellige elektron-acceptorer eller -donorer og iagttagende, hvordan dynamikken i systemet påvirkes ved belysning.

Fotosyntesen er en meget kompliceret proces med mange deltrin, og det er et område, hvor der forskes meget og med bidrag fra mange forskellige naturvidenskabelige discipliner. Den information, vi opnår med vores eksperimenter, giver en brik til det store puslespil, det er at forstå fotosyntesen – og eventuelt blive i stand til at lave kunstig fotosyntese, dvs.

Thylakoidmembranens opbygning

I vores eksperiment bruger vi typisk friske ærte- eller spinatblade som udgangspunkt. De enkelte bladceller indeholder grønkorn (kloroplast), hvis grønne farve skyldes klorofyl. Indeni grønkornet er thylakoid-membranen foldet op i en kompliceret struktur med grana-stakke forbundet af stroma-lameller. De biokemiske elementer i fotosyntesen, fx protein-komplekserne fotosystem I og fotosystem II, er indlejret i og forbundet til thylakoid-membranen. En grana-stak består af en stabel af thylakoider, fladtrykte "sække" af membran, der adskiller et indre vandigt rum, lumen, fra et ydre vandigt rum, stroma. Både lumen og stroma er hver for sig ét sammenhængende rum. De enkelte grana-stakke er omvundet af stroma-lameller, der forbinder de enkelte thylakoid-sække i grana-stakken og desuden forbinder nabo grana-stakke.

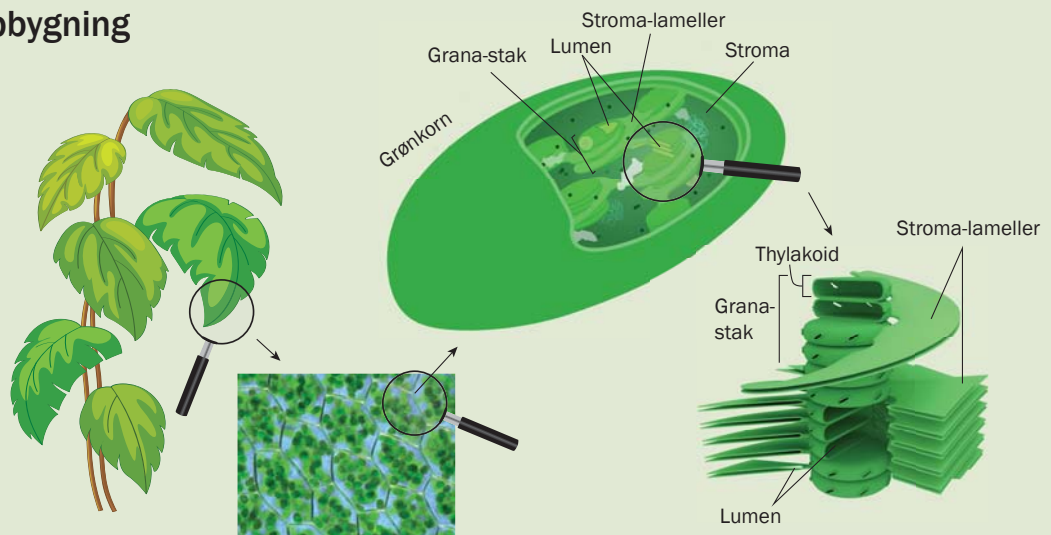
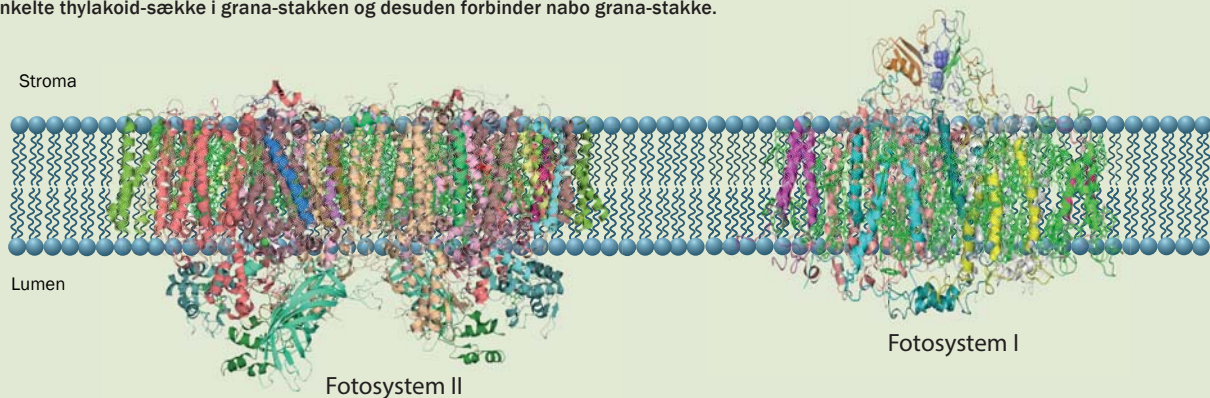


Illustration: Efter CC-BY-SA-3.0 via Wikimedia Commons



Figuren viser, hvordan to centrale proteinkomplekser i fotosyntesen (fotosystem I og fotosystem II) sidder placeret i thylakoid-membranens dobbeltlag af phospholipider. Et enkelt phospholipidmolekyle er angivet skematisk med en vandopløselig hovedgruppe og to vandskyende "haler". Hovedgrupperne skærmer dobbeltlagets vandskyende indre mod vandfasen udenfor membranen. På samme måde har proteinkomplekserne områder, der er vandopløselige og områder, der er vandskyende, hvorfor disse sidstnævnte er placeret indeni membranen. På figuren skelnes membranens

to sider – den ene side vender indad mod lumen og den anden udad mod stroma. Fotosystem II befinder sig i thylakoid-membranens grana-stakke, hvor thylakoiderne er stablet meget tæt. Dette kan lade sig gøre, fordi fotosystem II næsten ikke stikker ud til stromasiden, så de enkelte thylakoider kan komme tæt på hinanden. Fotosystem I fylder derimod til stromasiden og der er ikke plads i grana-stakken – i overensstemmelse hermed er fotosystem I placeret i stroma-lamellerne. Denne strukturelle adskillelse afspejles i den detaljerede biokemiske fotosynteseprocess.

opfange og lagre energien fra sollys i kemiske bindinger med en proces, der kan kontrolleres og effektiviseres i højere grad end dyrkning af planter. En stor fordel ved at bruge spredningsteknikker fremfor fx elektronmikroskopi, der ellers er en meget anvendt teknik i biologi, er, at vi ikke behøver at fikser og "farve" prøven med forstyrrende kemikalier. Da prøven ikke fikseres, kan vi undersøge dynamik, dvs. ændringer i tid, som ovenfor beskrevet.

Nye muligheder venter

Studiet af lipid-membraner med indlejrede proteinkomplekser kan også lære os noget mere generelt om, hvordan strukturer dannes i naturen. Et protein indlejret i et lipid-dobbeltlag er med til at drive selvorganiseringen af den foldede membranstruktur gen-

nem en tilpasning af form og vekselvirkninger. Det er muligt at lave en film af lipid-membran i mange lag på en tynd siliciumskive, og det er derfor også muligt at anvende GISAXS til at studere proteinorganiseringen i membranen. Hvor vi i eksemplet med diblok copolymer skelner områder af de forskellige diblok copolymer-halvdele fra hinanden, vil vi i det biologiske tilfælde kunne skelne områder, hvor lipid dominerer fra områder med protein. Den tilsvarende teknik med neutroner (GISANS) har et stort potentiale i denne sammenhæng, men rummer også mange udfordringer. Det vil derfor være et område, hvor den nye forskningsfacilitet European Spallation Source ved Lund vil være med til at åbne op for nye og spændende muligheder for at studere naturlige og syntetiske materials Haute Couture. ■