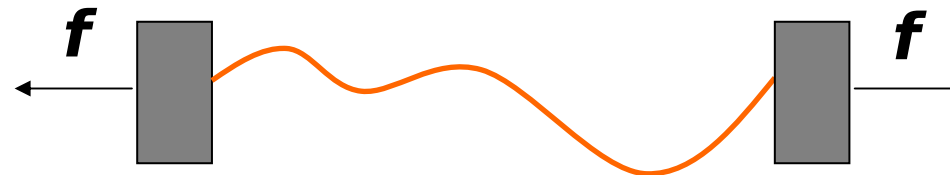


Einzelmolekül-Kraftspektroskopie an kovalenten Bindungen

VDI Arbeitskreis Mechatronik

18-01-2012



Dr. Sebastian Schmidt

Fakultät für Mikro- und Feinwerktechnik, Physikalische Technik der Hochschule für angewandte
Wissenschaften München und Institut für Physikalische Chemie der Christian-Albrechts-
Universität zu Kiel

Motivation

Relevanz der Messungen

- **Materialermüdung und -versagen**

- Grundlegendes Verständnis über die Stabilität von Materialien
- Identifikation von mechanisch labilen Bindungen

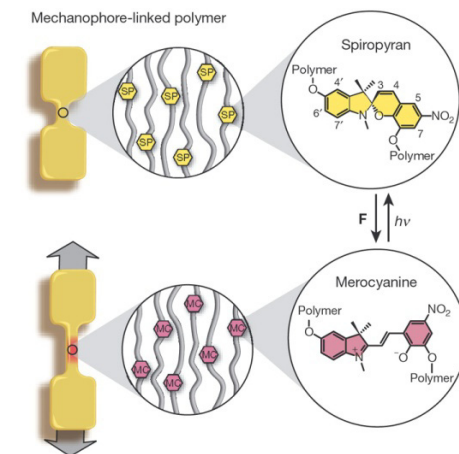
- **Kontrollierte Degradation**

- Biologisch abbaubare Materialien (Prothetik, Tissue Engineering)
- “Drug delivery”-Systeme

- **“Smart materials”**

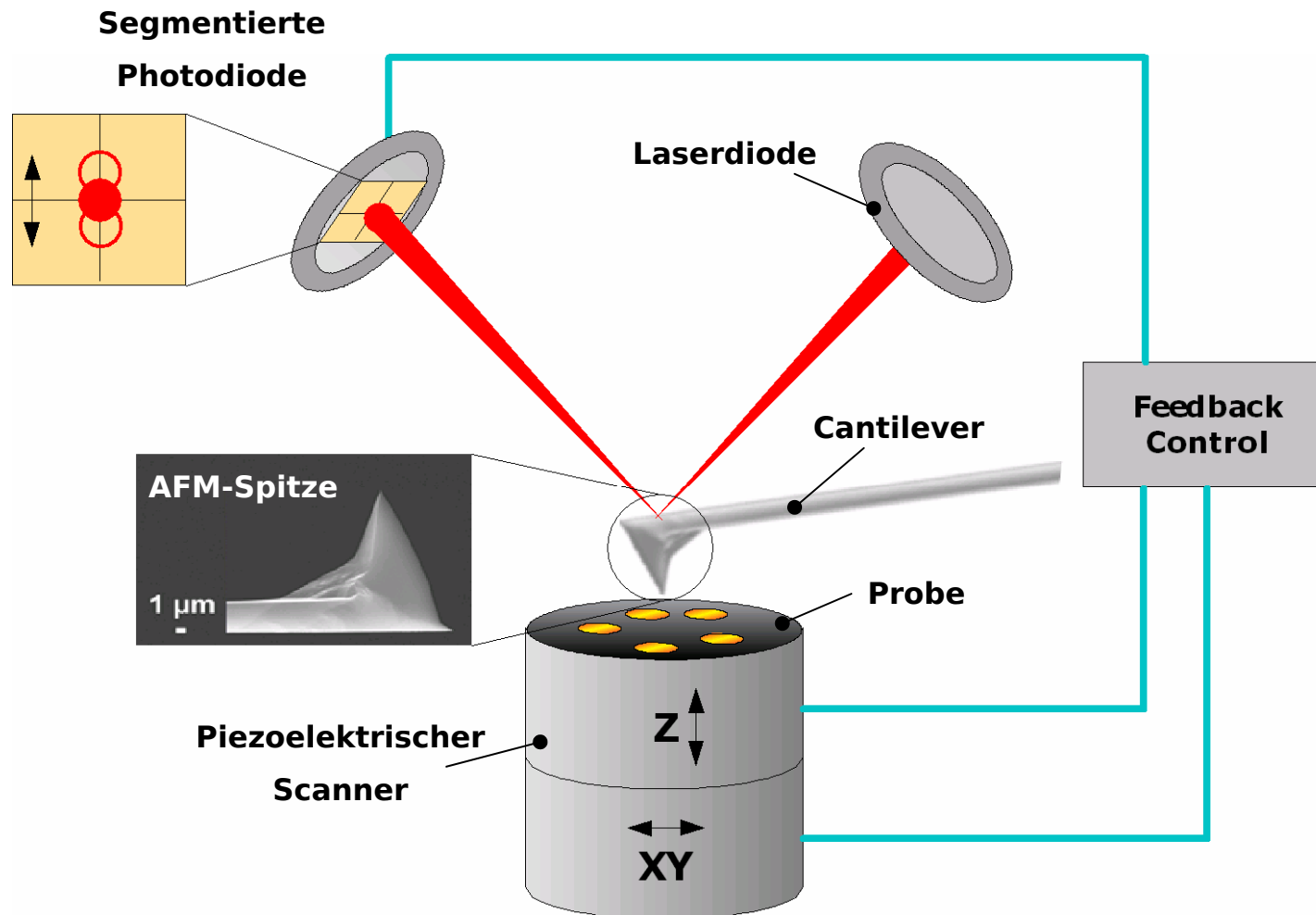
- Kraftsensitive oder selbstheilende Materialien
 - Neue Reaktionspfade über mechanische Aktivierung
- Voraussetzung: bekannte Reaktionspfade

→ **Einzelmolekül-Kraftspektroskopie**

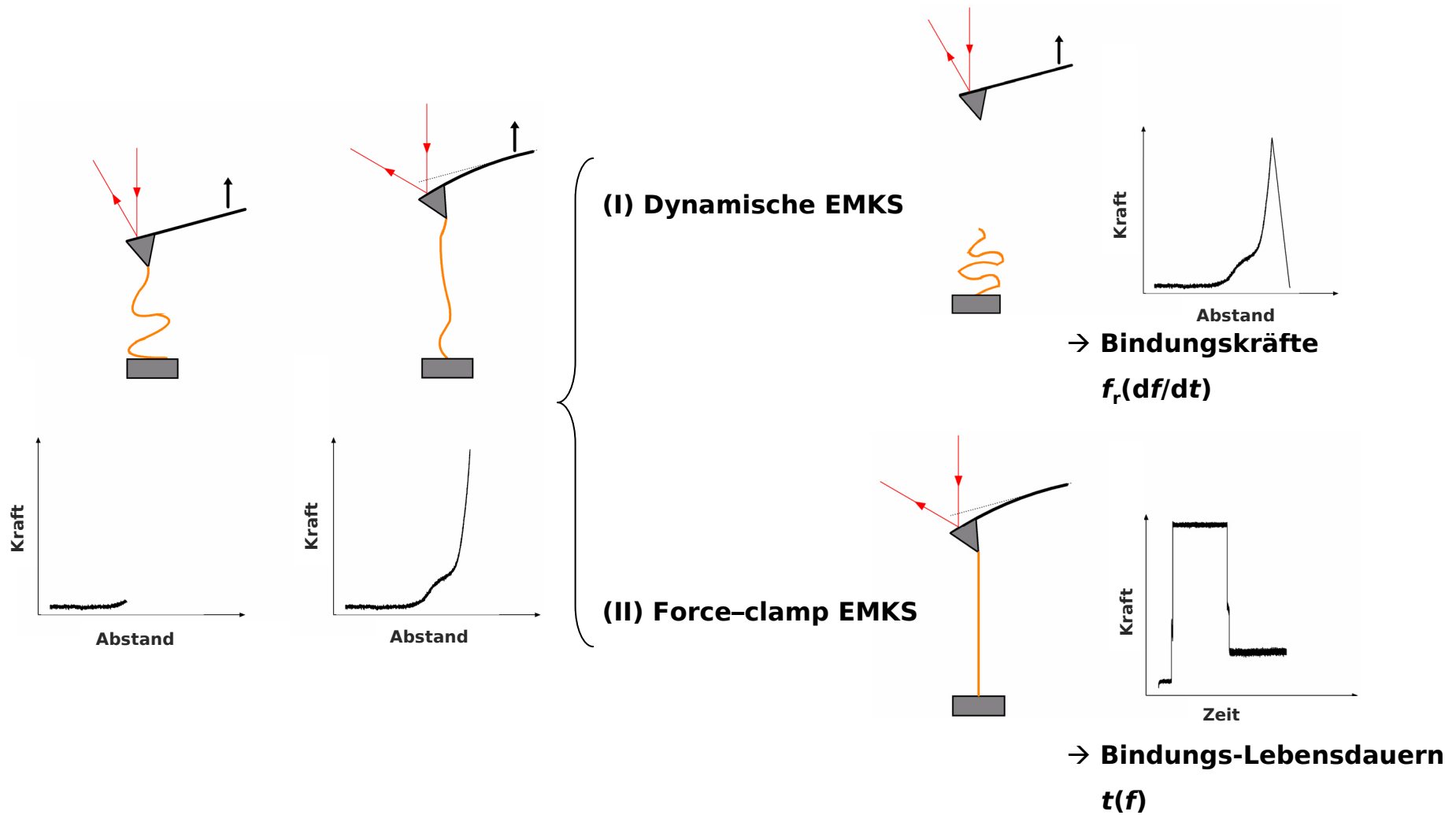


Davis et al. *Nature* 459, 2009.

Rasterkraftmikroskop (AFM)

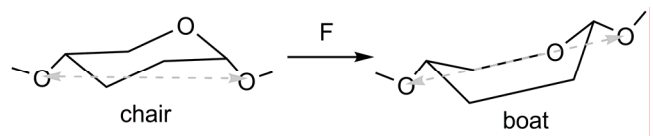
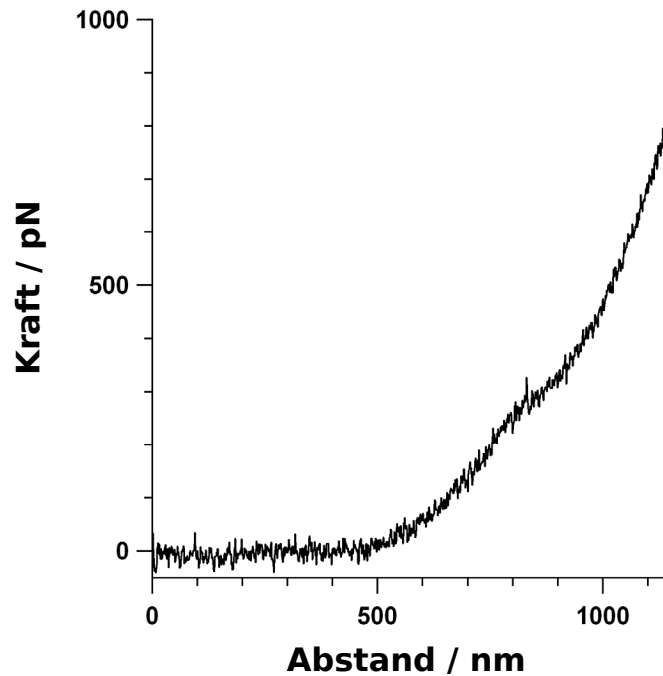


Einzelmolekül-Kraftspektroskopie (EMKS)

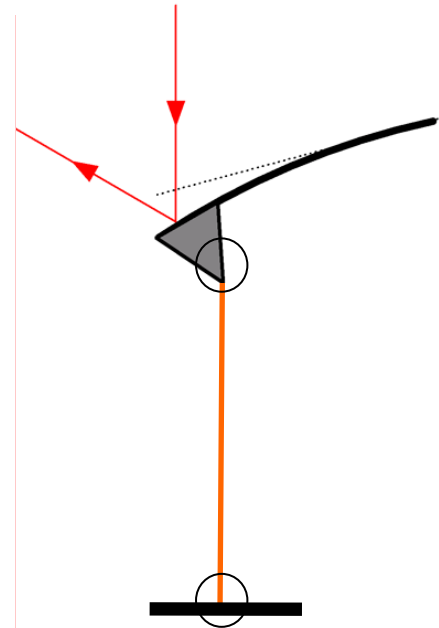


Chemische Anbindung

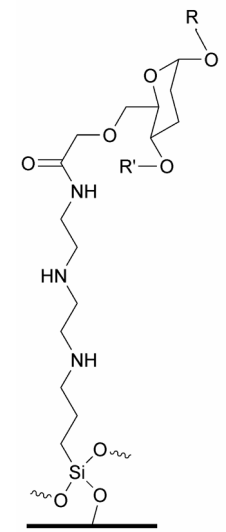
Carboxymethylierte Amylose



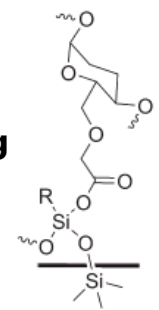
$\Delta x \sim 0.875 \text{ \AA} / \text{Monomer}$



pH 7.4
→ Amidbindung



pH 2.0
→ Silylesterbindung



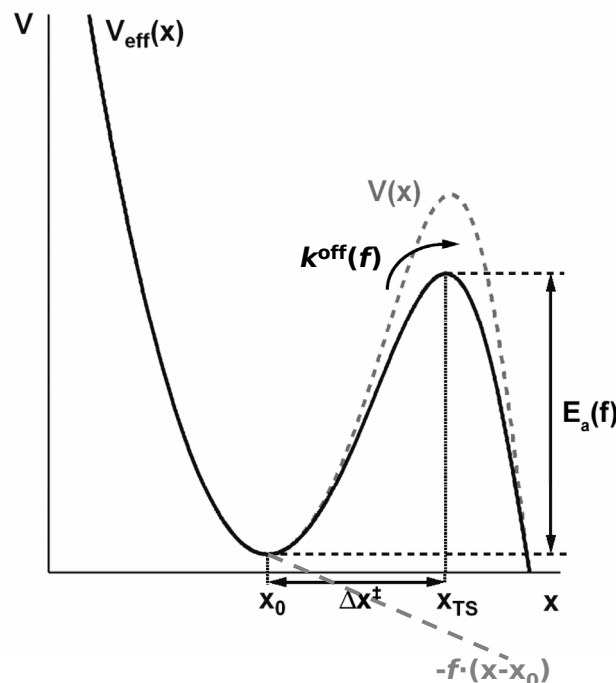
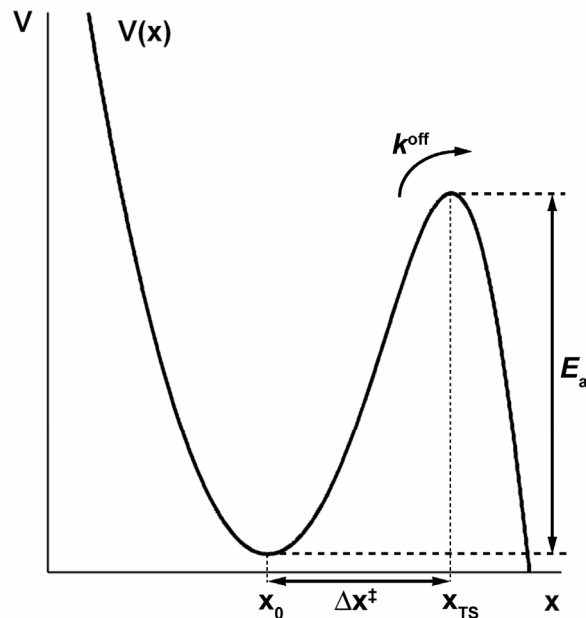
Heymann and Grubmüller *Chem Phys Lett* 305, 1999.
 Li et al. *Chem Phys Lett* 305, 1999.
 Grandbois et al. *Science* 283, 1999.
 Schmidt et al. *Langmuir* 26, 2010.

Mechanische Aktivierung: $k(f)$

Arrhenius Kinetik für lokalisierte Aktivierungsbarriere bei geringen Kräften → Bell/Zhurkov-Modell

$$k^{off} = A \cdot \exp\left(-\frac{E_a}{k_B T}\right)$$

mit $E_a(f)$



$$V_{eff}(x) = V(x) - f \cdot (x - x_0)$$

$$\rightarrow E_a(f) = E_a - f \cdot \Delta x^\ddagger$$

$$k^{off}(f) = A \cdot \exp\left(-\frac{E_a(f)}{k_B T}\right)$$

$$= A \cdot \exp\left(-\frac{(E_a - f \cdot \Delta x^\ddagger)}{k_B T}\right)$$

$$= k^{off} \cdot \exp\left(\frac{f \cdot \Delta x^\ddagger}{k_B T}\right)$$

Modell für niedrigen Kraftbereich (biologische Bindungen)

→ **Alternative für chemische Bindungen**

Zhurkov and Korsukov, *J Poly Sci* 1974.

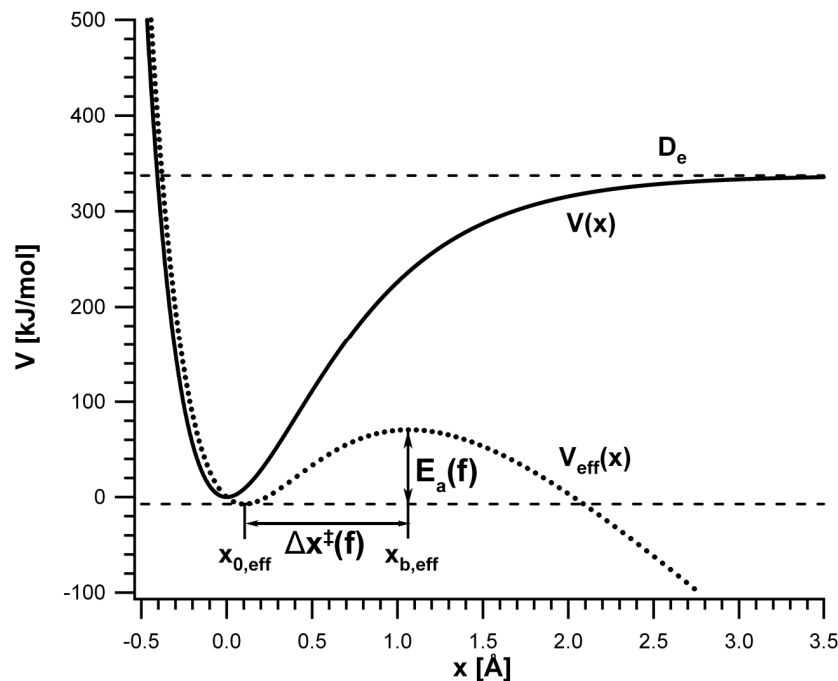
Bell, *Science* 1978.

Evans and Ritchie, *Biophys J* 1997.

Mechanische Aktivierung: $k(f)$

Arrhenius Kinetik kombiniert mit Morse-Potential

$$k^{off}(f) = A \cdot \exp\left(-\frac{E_a(f)}{k_B T}\right) \quad \text{mit} \quad V(x) = D_e(1 - e^{-\beta \cdot x})^2 \quad \beta = \frac{2 \cdot f_{max}}{D_e}$$



D_e Dissoziationsenergie

x Reaktionskoordinate

$\beta^{-1} \sim$ Potentialbreite

$f_{max}(x) = V'_{max}(x) = \frac{1}{2} D_e \cdot \beta$ Max. Bindungskraft

$$V_{eff}(x) = V(x) - f \cdot x$$

$$V_{eff}(x) = D_e(1 - e^{-\beta \cdot x})^2 - f \cdot x$$



$$E_a(f) = D_e \left\{ \sqrt{1 - \frac{f}{f_{max}}} - \frac{f}{f_{max}} \coth \left(\sqrt{1 - \frac{f}{f_{max}}} \right) \right\}$$

→ Berechnung von Wahrscheinlichkeitsverteilungen für den Bindungsbruch

→ Parameteroptimierung: MLE-Methode

→ Extrahierung der Bindungsparameter D_e, f_{max}, A

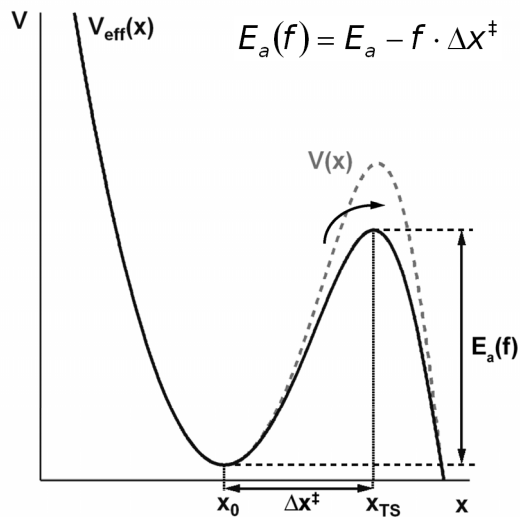
Kauzmann and Eyring *JACS* 62, 1940.
Beyer *J Chem Phys* 112, 2000.
Hanke and Kreuzer *Phys Rev E* 74,2006.

Theoretische Modelle für $k(f)$

Arrhenius Kinetik

$$k = A \cdot e^{-\frac{E_a}{k_B T}} \longrightarrow k(f) = A \cdot e^{-\frac{E_a(f)}{k_B T}}$$

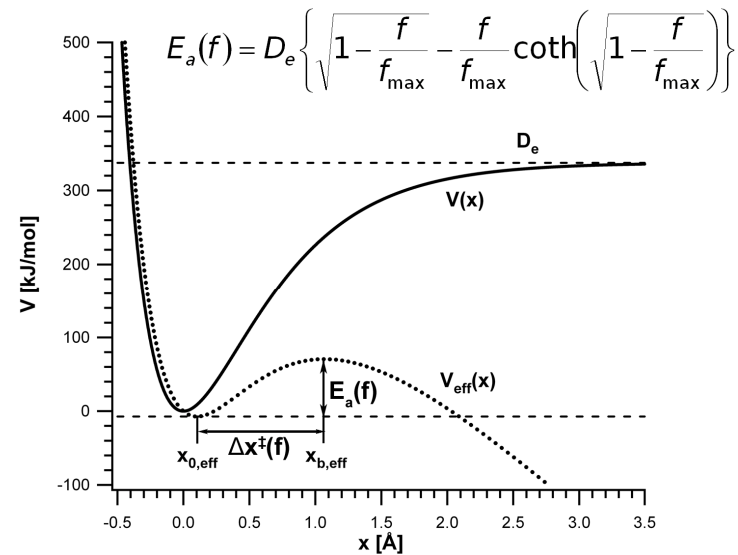
Bell/Zhurkov-Modell



→ $A, E_a, \Delta x^\ddagger$

Lineares Modell für geringe Kräfte,
geeignet für force-clamp EMKS an
kovalenten Bindungen

Morse-Modell

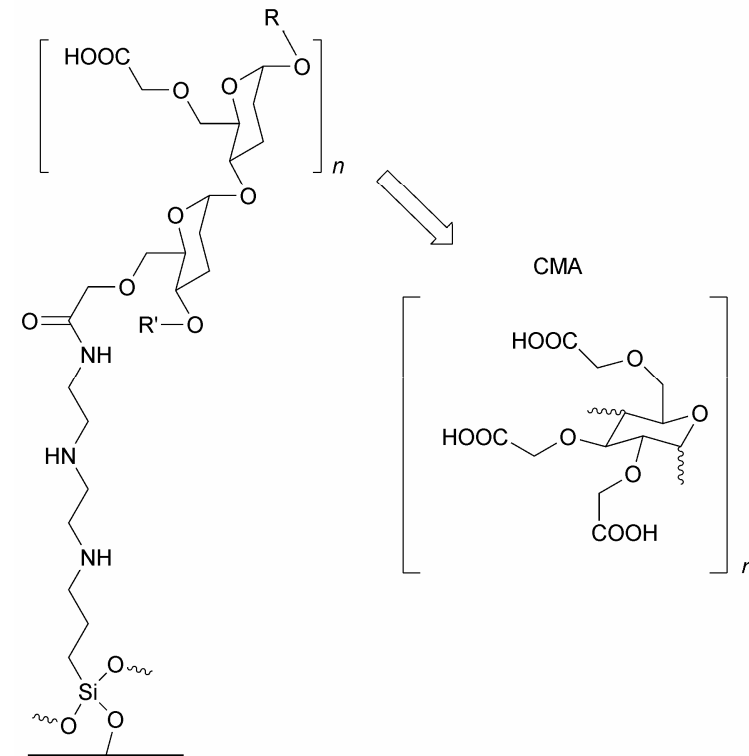
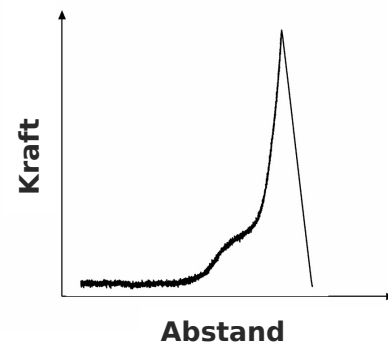
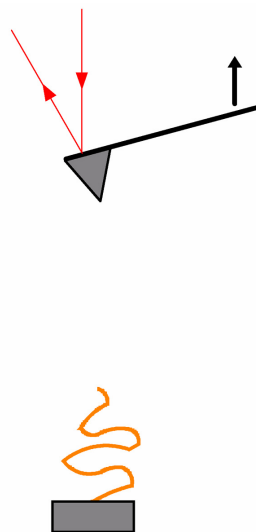


→ $A(f), D_e, \Delta x^\ddagger(f)$ bzw. f_{\max}

Nichtlineares Modell geeignet für
dynamische EMKS und force-clamp EMKS
an kovalenten Bindungen

Amidbindung

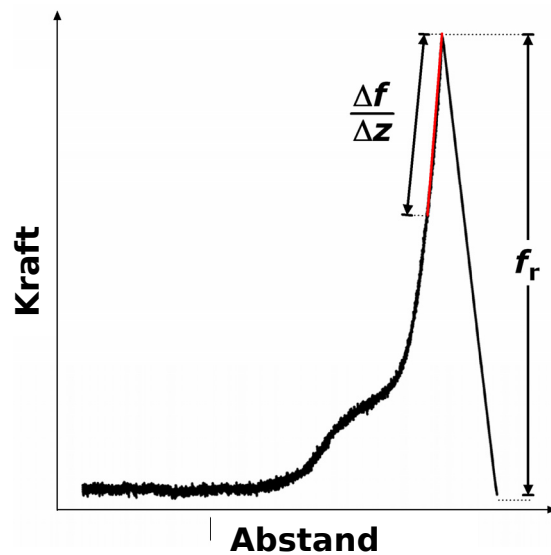
Dynamische EMKS bei pH 7.4



Grandbois et al. *Science* 283, 1999.
Schmidt et al. *J Am Chem Soc* 130, 2008.

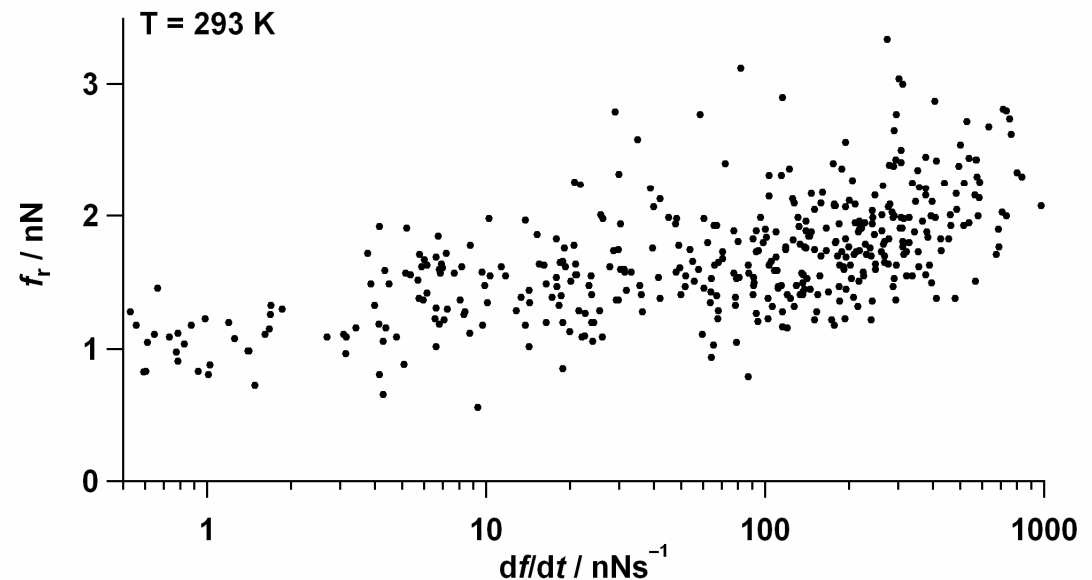
Amidbindung – Daten

Dynamische EMKS bei pH 7.4 und T = 293 K



$f_r(df/dt)$, wobei

$$df/dt = \Delta f/\Delta z \cdot v_{\text{piezo}}$$



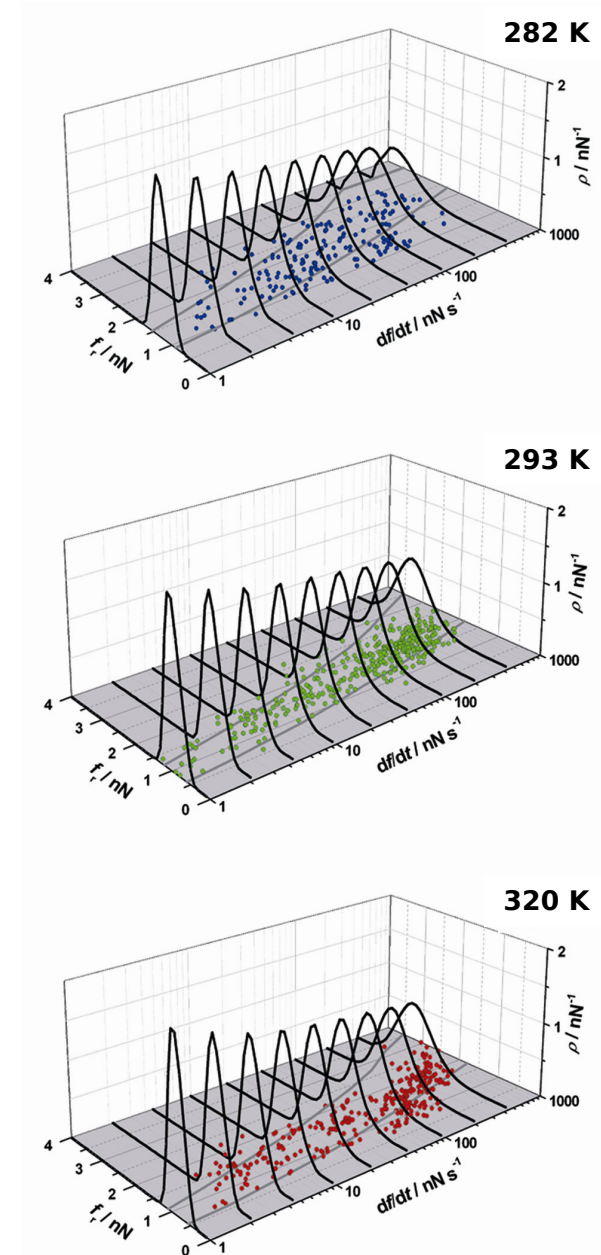
→ Messung von Bindungskräften bei T_{var} und $(df/dt)_{\text{var}}$

Amidbindung – Ergebnisse

Bindungsparameter

| Parameter | Experiment | DFT Si-C |
|-------------------------------------|-------------------|----------------------|
| D_e / kJmol^{-1} | 36 | 337 |
| $f_{\text{max}} / \text{nN}$ | 3.6 | 4.8 |
| $A (282 \text{ K}) / \text{s}^{-1}$ | 9.0×10^2 | $1-5 \times 10^{13}$ |
| $A (293 \text{ K}) / \text{s}^{-1}$ | 3.6×10^3 | |
| $A (320 \text{ K}) / \text{s}^{-1}$ | 3.3×10^3 | |

| Hydrolyse | D_e / kJmol^{-1} | |
|----------------|---------------------------|-------------|
| | Experimentell | Theoretisch |
| Amidbindung | 76–105 | 63–113 |
| Siloxanbindung | 67–96 | 71–142 |

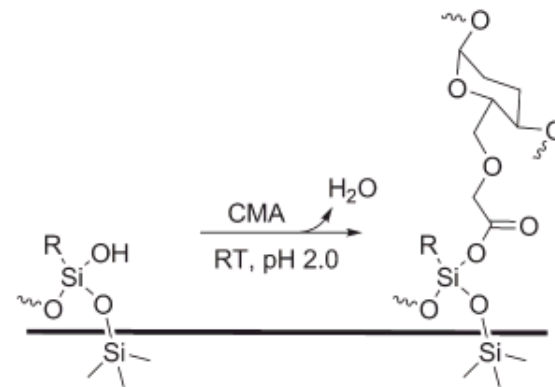
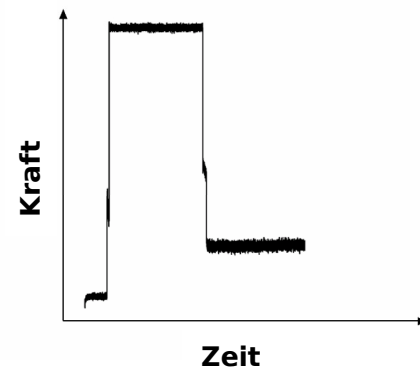
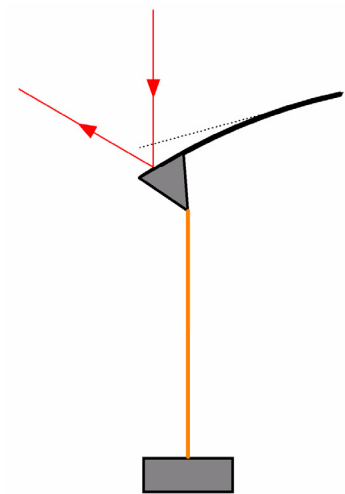


Beyer *J Chem Phys* 112, 2000.

Schmidt et al. *PCCP* 13, 2011 (and citations herein).

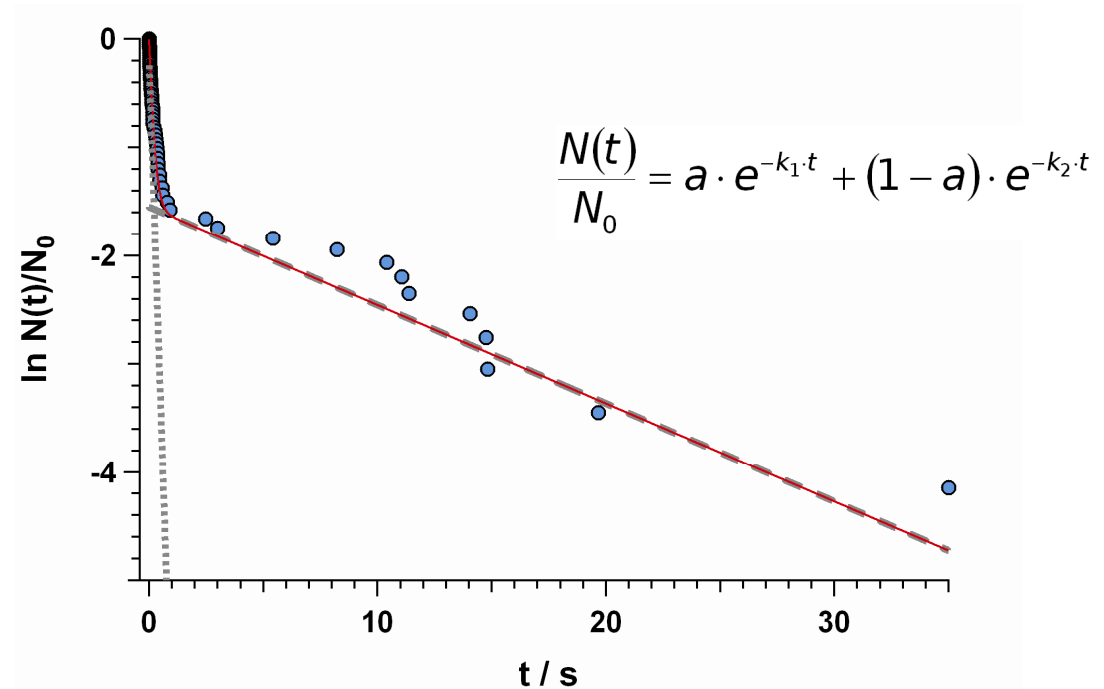
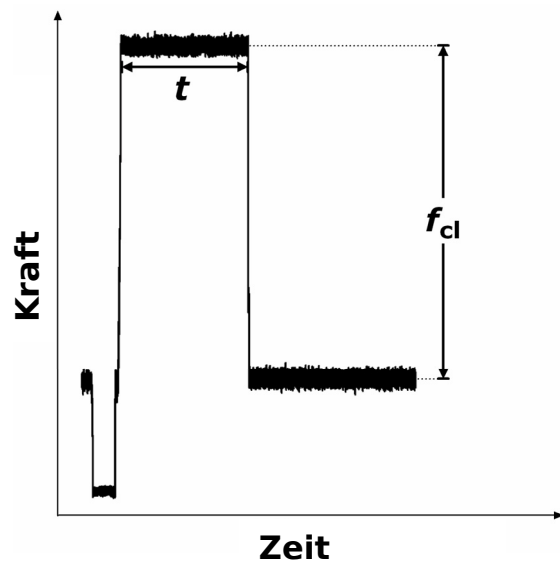
Silyesterbindung

Force-clamp EMKS bei pH 2.0



Silylesterbindung – Daten

Force-clamp EMKS bei pH 2.0 und T = 293 K



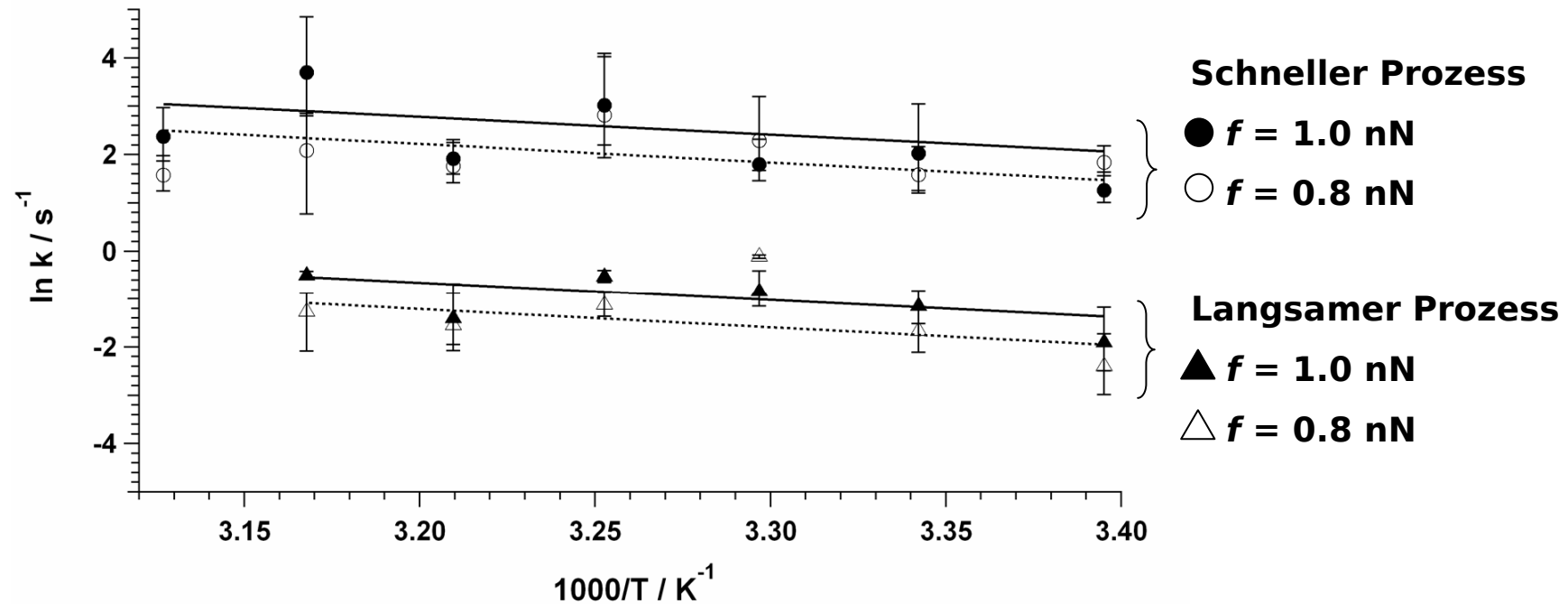
- Messung von Bindungs-Lebensdauern bei T_{var} and f_{var}
- $k(f_{cl}, T)$

Schmidt et al. accepted by ACS Nano.

Silylesterbindung – Daten

Arrhenius-Plot $k(f_{cl}, T)$

$$k = A \cdot e^{-\frac{E_a}{k_B T}} \longrightarrow \ln k = \ln A - \frac{E_a}{k_B} \cdot \frac{1}{T}$$



→ Extrahierung von kraftunabhängigen Bindungsparametern

Schmidt et al. accepted by ACS Nano.

Silylesterbindung – Ergebnisse

Bindungsparameter

Bell/Zhurkov-Modell

| Parameter | Prozess 1 | Prozess 2 |
|---------------------------|-------------------|-------------------|
| E_a / kJmol^{-1} | 37 | 38 |
| A / s^{-1} | 5.5×10^4 | 1.9×10^6 |
| Δx^\ddagger | 0.120 | 0.123 |

Morse-Modell

| Parameter | Prozess 1 | Prozess 2 |
|----------------------------------|-------------------|-------------------|
| E_a / kJmol^{-1} | 39 | 40 |
| A / s^{-1} | 6.0×10^4 | 2.0×10^6 |
| Δx^\ddagger (0.8 nN) / Å | 0.125 | 0.126 |
| Δx^\ddagger (1.0 nN) / Å | 0.117 | 0.119 |

Silylester Hydrolyse

| Parameter | |
|---------------------------|---------------|
| E_a / kJmol^{-1} | 36–43 |
| A / s^{-1} | $10^3 - 10^5$ |

→ Kinetik abhängig von den Seitengruppen am Silizium des Silylesters

Konieczny and Wojnowski *Z Anorg Allg Chem* 562, 1988.

Sharp *J Sol-Gel Sci Tech* 2, 1994.

Schmidt et al. accepted by *ACS Nano*.

Zusammenfassung

Dynamische EMKS vs. Force-clamp EMKS

Dynamische EMKS

- Etablierte Methode zur Untersuchung von Einzelmolekülen
- Kein direkter Zugang zur Reaktionskinetik (numerische Integration)
- Keine Unterscheidung von unterschiedlichen Prozessen möglich

Force-clamp EMKS

- Kritisch: Regelung und Cantilever-Drift
- Direkter Zugang zu Reaktionsraten
- Beobachtung von multi-exponentiellen Kinetiken möglich

Parameter für mechanisch aktivierten Bindungsbruch sind konsistent mit theoretisch und experimentell gewonnenen Werten ohne Kraft

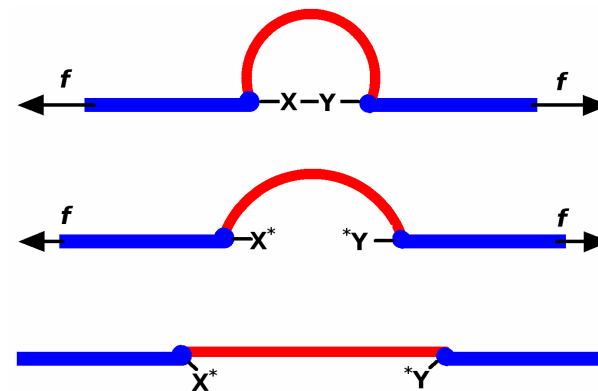
Ausblick

Laufende Projekte

- Force-clamp EMKS von CMA bei pH 7.4 (Amidbindung)
- Force-clamp EMKS der Disulfidbindung
- Theoretische Berechnungen unter direkter Berücksichtigung einer externen Kraft

Perspektiven

- Verstärkung des OF-Ankers
- Variation der Messlösung
- Schlaufen-Chemie



Vielen Dank

H. Clausen-Schaumann, P. Filippov, T. Christ,
R. Brunner + A. Kersch, M. Pill



M. Beyer, Ch. Glockner, D. Schütze



Finanzielle Unterstützung



... für Ihre Aufmerksamkeit!