

中红外振动强耦合与共振吸收对生物反应影响的研究

刘 傲, 张 峰*

上海理工大学光电信息与计算机工程学院, 上海

收稿日期: 2025年4月23日; 录用日期: 2025年5月21日; 发布日期: 2025年5月29日

摘 要

中红外波段(Mid-Infrared, MIR)覆盖许多分子振动模式,这一区域与分子振动-转动能级跃迁高度相关,通过这一特性可以实现光对生化反应的调控。振动强耦合(Vibrational strong coupling, VSC)与共振吸收作为研究光与物质相互作用的两种方法逐渐成熟。腺嘌呤核苷三磷酸(Adenosine triphosphate, ATP)是生物体的直接供能物质,其水解释放的能量可驱动多种生命活动。当法布里-珀罗微腔被调控到与水分子的O-H伸缩振动模式(3405 cm^{-1})耦合时,在VSC的影响下,氢键与疏水作用发生改变,因此ATP的水解效率得到提升。当使用对应频率的中红外光作用ATP溶液时,由于共振吸收增强分子键振幅,ATP的水解效率也得到了提高。这一研究为深入探索 and 有效利用物理频率手段调控生命反应开辟了崭新的研究路径,有望成为光学在医学和生物学领域的革命性工具。

关键词

中红外, 振动强耦合, 共振吸收, 法布里-珀罗微腔, ATP水解

Study on the Influence of Mid-Infrared Vibrational Strong Coupling and Resonance Absorption on Biological Reaction

Ao Liu, Feng Zhang*

School of Optical-Electrical and Computer Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai

Received: Apr. 23rd, 2025; accepted: May 21st, 2025; published: May 29th, 2025

*通讯作者。

Abstract

Mid-infrared (MIR) covers many molecular vibration modes, which is highly correlated with the molecular vibration rotation energy level transition. Through this characteristic, the regulation of biochemical reactions by light can be realized. Vibrational strong coupling (VSC) and resonance absorption are gradually maturing as two methods for studying the interaction between light and matter. Adenosine triphosphate (ATP) is a direct energy source for living organisms, and the energy released from its hydrolysis can drive various life activities. When the Fabry-Pérot microcavity is tuned to couple with the O-H stretching vibration mode (3405 cm^{-1}) of water molecules, under the influence of VSC, the hydrogen bond and hydrophobic interaction change, thus improving the hydrolysis efficiency of ATP. When mid-infrared light of the corresponding frequency is applied to an ATP solution, the hydrolysis efficiency of ATP has also been improved due to resonance absorption enhancing molecular bond amplitude. This research has opened up a new research path for in-depth exploration and effective use of physical frequency means to regulate life response, and is expected to become a revolutionary tool of optics in the field of medicine and biology.

Keywords

Mid-Infrared, Vibrational Strong Coupling, Resonance Absorption, Fabry-Pérot Microcavity, ATP Hydrolysis

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

近年来,研究光与物质之间的相互作用受到越来越多研究人员的关注,一种振动强耦合[1]-[3] (VSC)的方法被证明可以实现分子振动与光学腔模式的相干耦合。通过这种方法可以选择性地将反应物的特定振动模式与光学腔模式耦合形成杂化子态,从而达到增强或抑制分子中目标官能团反应能力的目的,这在化学合成与生物方面具有广泛的应用,如有机合成[4]、酶促水解[5]和蛋白质研究[6]等。并且,VSC效果不需要外部的能量也能进行[7]。

腺嘌呤核苷三磷酸是一种不稳定的高能化合物,由腺嘌呤、核糖和三个磷酸基团组成。磷酸基团之间通过高能磷酸键连接,是生物体内最重要的能量货币,几乎参与了所有细胞活动。ATP的水解产物为二磷酸腺苷(Adenosine diphosphate, ADP)、单磷酸腺苷(Adenosine monophosphate, AMP)和磷酸(Phosphoric acid, Pi),水解时高能磷酸键会释放出大量的能量,是生物体内的直接能源物质,在生物体内扮演着不可或缺的角色。它由线粒体等细胞器产生,连接了合成代谢和分解代谢,同时也为运动收缩、磷酸化和主动运输等过程提供能量[8]。从热力学角度来看,ATP水解是一个放能反应,倾向于自发进行,这使得ATP成为细胞能量传递的理想分子。因此,ATP的存在是生命得以延续的基础,研究ATP为探究生命基本规律与医学和生物技术的发展提供了重要的理论支持。

当激光频率与分子中特定化学键的振动或转动能级跃迁频率匹配时,分子选择性吸收光子能量并激发化学键的现象称为共振吸收。由于分子结构的差异,生物体内的部分组分对光有选择性的吸收能力。当外部光源发出的波长与这些分子的吸收波长相同时,就会发生共振吸收,光能被转化为化学能或电子激发态。共振激光将分子从基态激发到振动激发态,增强分子键的振幅,活化分子键,引发解离或参与

化学反应。Wu 等人通过分子动力学模拟发现 $6.8 \mu\text{m}$ 的中红外光能与 DNA 分子的嘌呤共振, 使碱基对间的氢键断裂, 引发 DNA 双链分离[9]; Zhang 等人发现 $8.5 \mu\text{m}$ 的中红外光能与 DNA 的吡啶基团共振, 可以显著促进 DNA 解链[10]。

本文分别采用 FP 光学微腔与中红外激光对 ATP 水解进行研究, 使用高效液相色谱仪[11] (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) 作为检测工具, 观察 VSC 与共振吸收对 ATP 水解反应的影响。

2. 材料及方法

2.1. 法布里 - 珀罗微腔的制作

法布里 - 珀罗微腔是基于法布里 - 珀罗干涉仪原理的光学谐振腔结构, 主要由两块平行放置的高反射镜面组成, 通过多次反射可以增强特定波长的光信号, 这个波长称为谐振波长。当微腔中量子体系的辐射波长和微腔的谐振波长一致时, 量子体系和腔模式之间不断进行能量交换, 会发生光 - 物质耦合现象[12], 其能级结构发生了改变, 形成了两个在能量上分离的新混合态, 极化子态 P^+ 和 P^- , 如图 1 所示。

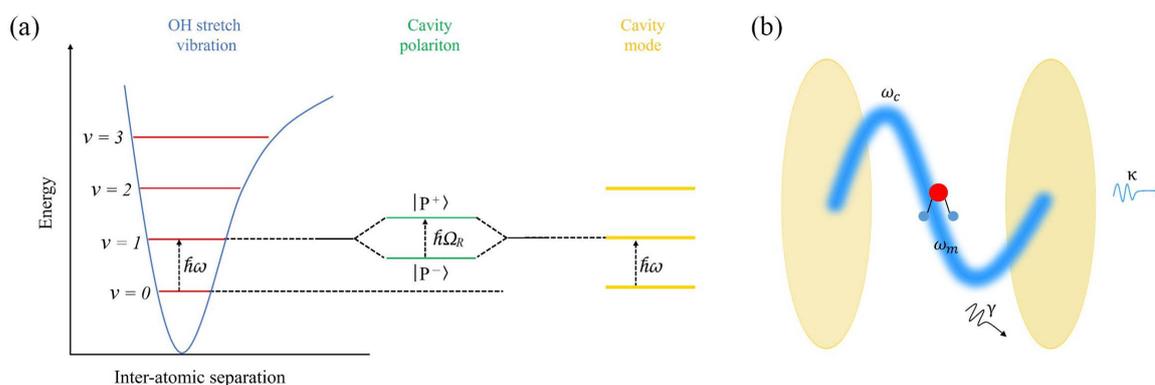


Figure 1. Schematic diagram of vibrational strong coupling. (a) Rabi splitting diagram of molecular vibrational energy levels; (b) Coupling mechanism diagram of resonant frequency ω_c and O-H stretching vibration frequency ω_m

图 1. 振动强耦合示意图。(a) 分子振动能级拉比分裂图; (b) 谐振频率 ω_c 与 O-H 伸缩振动频率 ω_m 耦合机制图

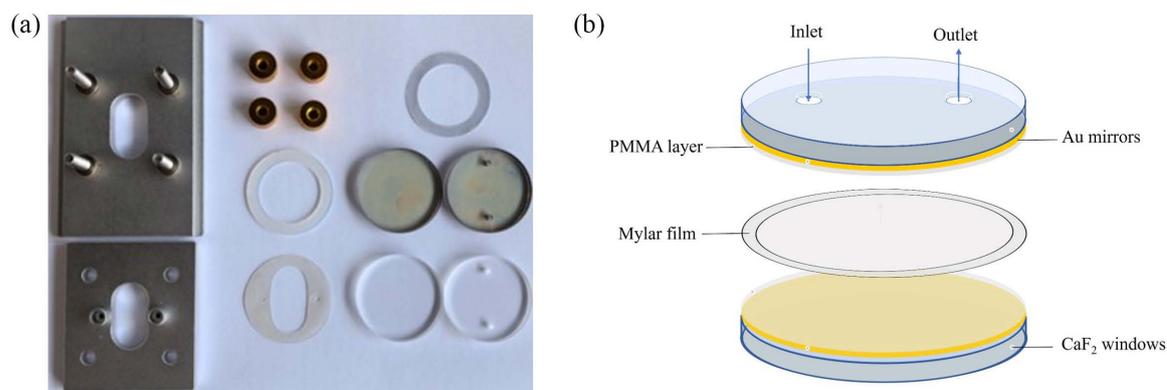


Figure 2. Composition of FP Microcavity. (a) FP microcavity assembly; (b) Schematic diagram of FP Microcavity

图 2. FP 微腔的组成。(a) FP 微腔组件; (b) FP 微腔示意图

当拉比频率(Ω_R)远大于分子耗散(γ)和腔模损耗(k)时, 可以实现 VSC 效果。我们采用氟化钙作为窗片, 因为 CaF_2 在中红外波段具有宽透光范围、低吸收率、良好的化学稳定性和机械强度。使用离子溅射仪, 在窗片表面溅射 10 nm 厚的金层以达到高反射的效果。为了避免金层对实验结果的影响, 我们使用

匀胶机将特定厚度的聚甲基丙烯酸甲酯(Polymethyl Methacrylate, PMMA)旋涂在金层上, 旋涂完毕后将窗片转移至鼓风干燥箱中除去未挥发的甲苯。最后, 通过不同大小的聚酯薄膜隔片来粗调微腔的距离, 再使用四个螺丝进行微调, 如图 2 所示。

使用傅里叶变化红外光谱仪(Fourier transform infrared spectrometer, FTIR)拍摄空腔的红外透射光谱, 如图 3(a)所示。FP 微腔的间距可以通过以下方程计算:

$$L = \frac{10^4 * m}{2 * n * \nu} \quad (1)$$

其中 L 表示微腔的腔距, m 表示微腔的模式(1, 2, 3...), n 表示折射率, ν 表示波数。影响振动强耦合的一个关键因素是能量损耗问题, 在 FP 微腔中表现为品质因子 Q 的大小, 品质因子越高, 光子束缚能力越强, 耦合效果越好, 品质因子的计算公式为:

$$Q = \frac{f_{\text{res}}}{\Delta f} \quad (2)$$

其中 f_{res} 表示 FP 微腔谐振频率, Δf 为谐振峰的半高全宽(Full width at half maxima, FWHM)。品质因子 Q 越高, 光频梳越窄, 在本实验中, 除比较品质因子影响外所使用的 FP 微腔的品质因子均为 50 左右, 可以观察到明显的现象。在 ATP 水解反应中, 水既是溶剂, 又是反应底物, 我们分别测量了空腔以及在振动强耦合下的水的红外吸收光谱, 如图 3(b)所示, 可以明显看到水的红外图谱有一个明显的吸收峰, 即以 3405 cm^{-1} 为中心的 O-H 伸缩振动模式。计算得到的拉比分裂约为 720 cm^{-1} , 远大于 O-H 伸缩振动模式(FWHM = 476 cm^{-1})的线宽, 说明构建的 FP 微腔与 O-H 伸缩振动模式可以实现强耦合。

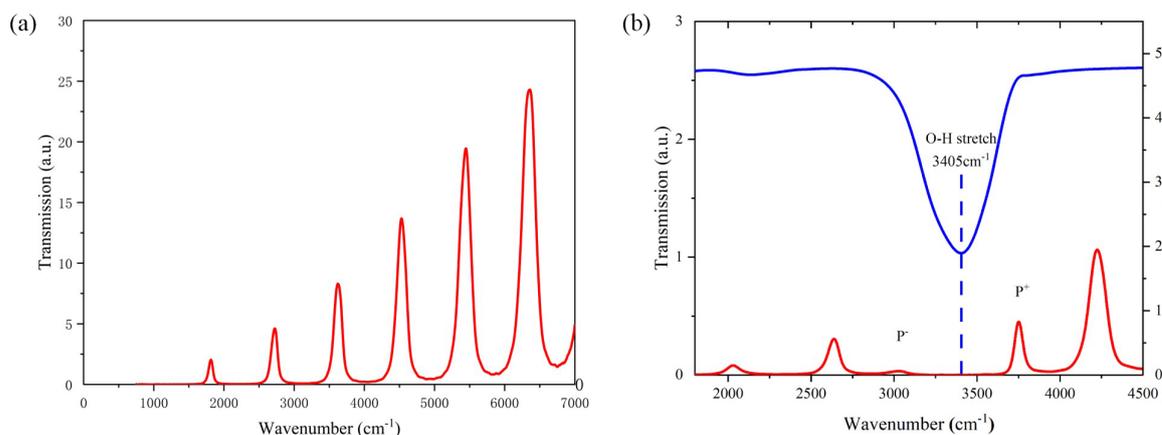


Figure 3. Verification of vibrational strong coupling. (a) Infrared spectrum of FP Microcavity; (b) Water and infrared spectrum of FP cavity in strong coupling state

图 3. 振动强耦合验证。(a) FP 微腔红外光谱; (b) 水与强耦合状态下 FP 腔的红外光谱

2.2. 量子级联激光器

量子级联激光器(Quantum Cascade Laser, QCL)是一种基于电子在量子阱中子带间跃迁产生激光的中远红外光源。QCL 的核心是多层半导体量子阱结构, 电子在注入后, 通过一系列量子阱的导带子带间跃迁, 每穿过一个周期释放一个光子, 形成“级联”效应, 单个电子可产生多个光子, 效率显著提高。使用波长为 $2.94 \mu\text{m}$ 、 $8.01 \mu\text{m}$ 和 $9.31 \mu\text{m}$ 三种激光器, 功率固定在 50 mW , 在共振吸收实验中, 为了减少长时间照射带来的热效应, 反应时间为 10 min , 照射时每隔 30 s 使用光敏卡挡住出光口 3 s 降低热效应的影响。

2.3. 腺嘌呤核苷三磷酸水解

制备 ATP 水解反应溶液: 对于在 FP 腔内的 ATP 的水解实验, 使用 1X 的磷酸盐缓冲液(pH 为 7.2~7.4) 配制浓度为 10 mM 的 ATP 溶液与 1 mg/mL 的 ATP 酶溶液, 每次实验前 30 min 制备新鲜原液, 对于同一组实验, 使用相同的酶溶液。由于酶活性的原因, 所有实验都在同一天完成。将 ATP 与酶溶液按 10:1 的比例完全混合后注入 FP 腔, 反应 30 min 后冲出腔内反应液, 使用超纯水稀释至 600 μL 过滤膜后使用 HPLC 检测。对于中红外光照射下的 ATP 的水解实验, 为了不引入其他离子的影响, 使用超纯水配置浓度为 1 mM 的 ATP 溶液与 1 mg/mL 的 ATP 酶溶液, 每次实验前 30 min 制备新鲜原液, 所有实验都在同一天完成。将 ATP 与酶溶液按 10:1 的比例完全混合后取 20 μL 放进直径 4 mm、高 0.3 mm 的 EP 管内, 反应 10 min 取出并稀释后使用 HPLC 检测。对于不同浓度下 ATP 水解的实验, 将 ATP 溶解在磷酸盐缓冲液中, 配制为 1、2、5、10 mM 四种浓度的 ATP 溶液, 与 1 mg/mL 的 ATP 酶溶液 10:1 完全混合后取 20 μL , 反应 10 min 后使用 HPLC 检测。

2.4. 高效液相色谱仪检测

通过测量反应一段时间后 ATP、ADP 和 AMP 三者的比例来比较 ATP 水解效率。选择 HPLC 进行检测, 其高灵敏度可以检测微量组分并且反应物可以通过反向柱分离, 达到很好的分离效果。使用岛津 LC-2050C 检测, 色谱柱选择安捷伦的 ZORBAX 300SB-C18。流动相配置为 A 相: 25 mM 磷酸二氢钾、0.5% 乙腈与 100 mg/L 的四丁基硫酸氢氨, B 相为 200 mM 磷酸二氢钾、10% 乙腈与 100 mg/L 的四丁基硫酸氢氨, C 相为 90:10 的乙腈 - 水混合物。采用梯度洗脱方法, 流速设置为 0.8 mL/min, 0~5 min 为 100% 的 A 相, 5~15 min 从 100% 的 A 转换为 40% 的 A 相和 60% 的 B 相, 此时, ATP、ADP 与 AMP 的成分已经完全得到, 15~20 min 从 40% 的 A 相和 60% 的 B 相转换为 100% 的 C 相, 20~30 min 持续使用 100% 的 C 相以洗脱柱子中可能存在的残留物, 30~40 min 为 100% 的 A 相用来平衡色谱柱待下一次进样检测。紫外检测波长设置为 254 nm。所有样品检测前需使用 0.45 μm 的滤膜以去除溶液中可能存在的颗粒物。经 HPLC 检测后如图 4 所示, 其峰积分面积百分比代表各组分所占比例, 可反映出 ATP 的水解效率, 样品重复性良好。

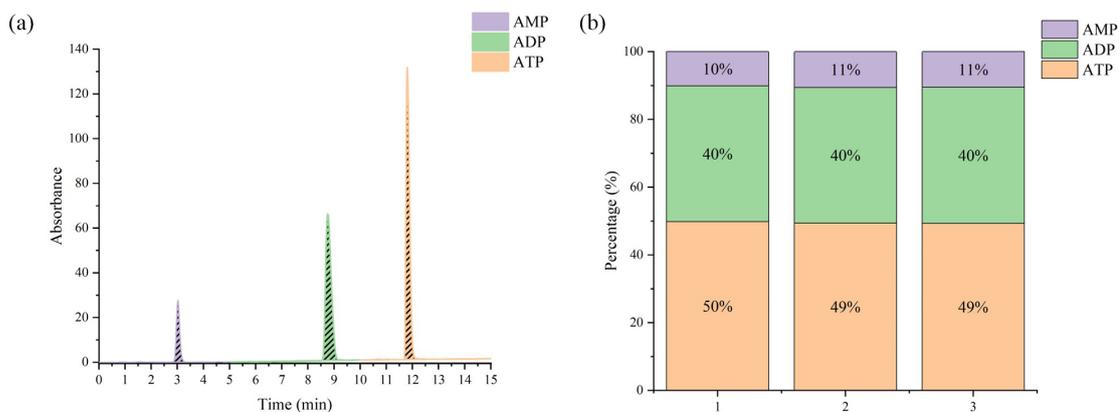


Figure 4. HPLC Chromatogram. (a) Response signal of the sample after passing through the chromatographic column; (b) Sample repeatability verification

图 4. HPLC 检测图。(a) 样品经过色谱柱后的响应信号; (b) 样品重复性验证

3. 结果和讨论

水的 VSC 可能会潜在地影响分子间作用力的平衡[5]、水分子的氢键解离效率[13]、质子电导率与介

电常数[14]。VSC对ATP水解影响的潜在机制可能源于氢键的拉比分裂与分子间作用力的平衡(特别是氢键与疏水作用)。在VSC的影响下,FP腔内O-H伸缩振动的基态与激发态之间的能量差与腔模吻合,形成极化子态,极化子态与水的活化能相关,进而影响有水参与的ATP水解反应。振动强耦合实验结果如图5所示,非腔条件下的ATP水解18%。限域条件下的ATP水解40%,是非腔条件下的2.2倍。在耦合了O-H伸缩振动模式的FP腔内,ATP水解50%,是非腔条件下的2.7倍、限域条件下的1.25倍。接下来,我们比较了品质因子Q对ATP水解反应的影响,可以看到,低品质因子的FP微腔达不到振动强耦合的要求,耦合强度较低,可能无法形成稳定的光-物质混合态或极化状态。并且低品质因子的FP微腔存在较大的能量损耗,光子寿命短。所以低品质因子的FP微腔水解效率与限域效果一致,符合理论预期结果。最后,为了说明VSC与腔距之间的关系,我们将ATP、ADP和AMP的剩余含量与VSC的腔距对应,如图5(b)所示,失谐依赖关系基本与O-H伸缩振动带密切相关。

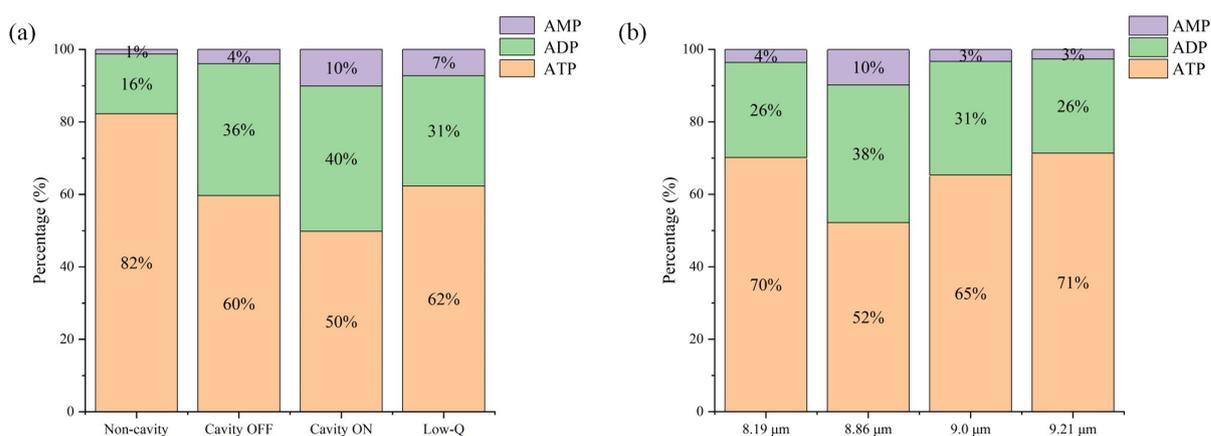


Figure 5. Experimental results of vibrational strong coupling. (a) Non cavity, confinement, FP cavity and quality factor influence; (b) 8th Order strong weak coupling effect

图 5. 振动强耦合实验结果。(a) 非腔、限域、FP 腔及品质因子影响; (b) 8 阶强弱耦合效果

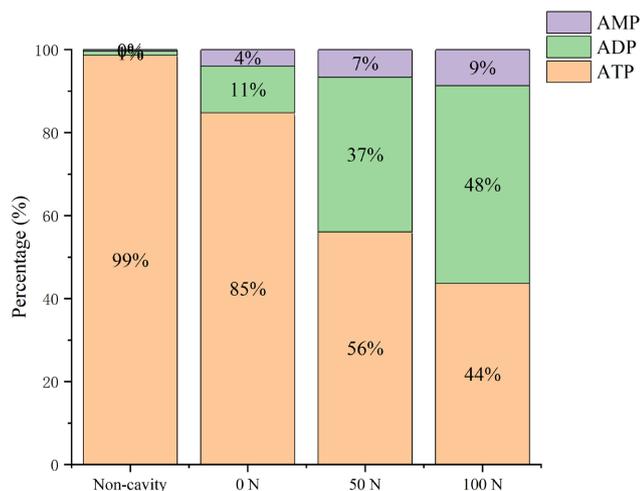


Figure 6. Experimental results of microcavity amplification

图 6. 微腔放大实验结果

尽管FP微腔可以有效促进ATP的水解,但制备的微腔可容纳的反应体积极为有限。以6阶6.6 μm的FP微腔为例,最大容量仅为2.5 μL左右,这一限制极大地影响了微腔在实际中应用范围。为了充分

发挥 FP 微腔的催化潜力并实现放大的效果, 我们打磨了一批表面极为光滑的不锈钢片, 每一个不锈钢片都被视为一个反射镜。将 ATP 溶液滴在两块不锈钢片之间, 依次叠加, 施加不同的压力控制镜片之间的距离。反应 13 个小时后, 刮下相邻钢片之间的液体稀释后使用 HPLC 检测, 结果如图 6 所示。非腔体系下的 ATP 溶液没有水解, 但不锈钢片之间的 ATP 溶液水解效果极为显著, 并且随着镜片之间距离的减小而增大。当两个镜面之间的距离逐渐增大时, 由于多模竞争[15]的存在, 使系统引入了更大的熵效应, 打破了系统的平衡, 导致水解效果变弱, 直到与非腔体系效果一致; 当镜片之间距离越近时, 即越低阶的 FP 腔, 耦合效果越好, 对反应的影响最大。

共振吸收结果如图 7 所示, 对照组的 ATP 水解 58%, O-H 伸缩振动模式对应的 $2.94\ \mu\text{m}$ 中红外光照射下 ATP 水解 86%, 是对照组的 1.48 倍。P=O 键对应的 $8.01\ \mu\text{m}$ 中红外光照射下 ATP 水解 86% 且二级水解产物 ADP 也得到极大的水解。P-O 键对应的 $9.31\ \mu\text{m}$ 中红外光照射下 ATP 水解 88%, 且二级水解产物 ADP 也得到较高水解程度。 $2.94\ \mu\text{m}$ 中红外光对应水分子中的 O-H 伸缩振动模式, 通过作用于水分子中的 O-H 键, 进而影响水分子的氢键与疏水作用, 促进 ATP 的水解。 $8.01\ \mu\text{m}$ 中红外光对应 ATP 分子的 P=O 键, 一个 ATP 分子拥有三个 P=O 键与六个 P-O 键, 因此, 相同功率密度下的中红外光作用在 ATP 分子上引发的共振吸收, $8.01\ \mu\text{m}$ 的激光效果比 $9.31\ \mu\text{m}$ 效果好。不同浓度 ATP 下 $8.01\ \mu\text{m}$ 中红外光照射结果如图 7(b) 所示, 可以看出, 随着 ATP 浓度的降低, 共振吸收作用在 ATP 分子上的效果增加, 对 ATP 的水解促进更明显。

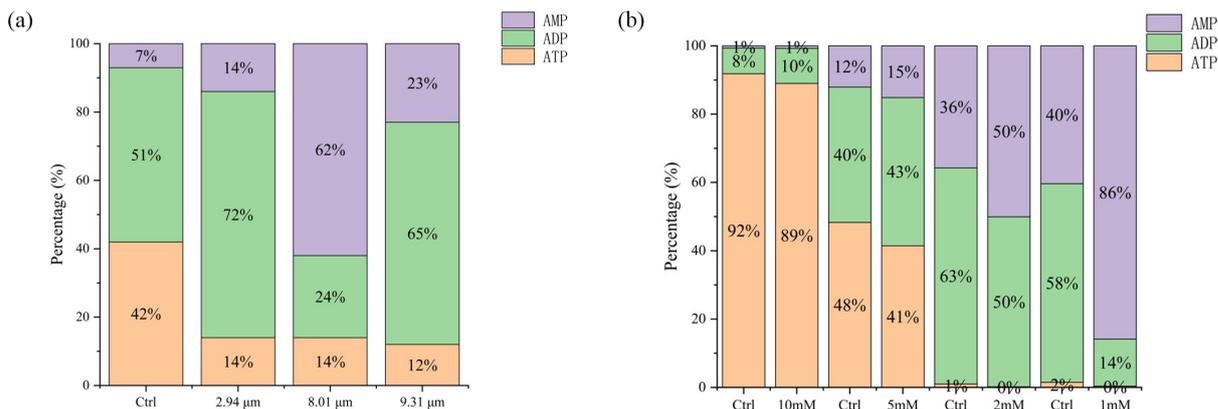


Figure 7. Experimental results of resonance absorption. (a) Effect of different frequency laser on ATP hydrolysis; (b) Effect of $8.01\ \mu\text{m}$ laser on ATP hydrolysis at different concentrations

图 7. 共振吸收实验结果。(a) 不同频率激光对 ATP 水解的影响; (b) $8.01\ \mu\text{m}$ 激光对不同浓度 ATP 水解的影响

4. 总结

综上所述, 首先, 我们成功实现了水分子的 O-H 伸缩振动模式与光学腔模式的强耦合, FP 微腔使 ATP 的水解效率至少提高了两倍, 通过量化使 VSC 不再受限于窗片尺寸, 展现了 VSC 对调控生命反应的巨大潜力。其次, 我们使用不同化学键对应频率的中红外光与 ATP 溶液中的分子键共振, 也显著促进了 ATP 的水解。相比无源的 FP 腔, 中红外光的促进效果更好。研究振动强耦合与共振吸收为探索光与物质相互作用提供了新的研究思路, 为光调控生物分子提供了新的可能性, 有望推动频率医学在生命科学、生物材料等领域的创新应用。

致谢

感谢上海理工大学张峰老师与国科温州研究院赵洲祥老师对本文的修改与指导。

基金项目

国家自然科学基金资助项目(No. 2021YFA1200402); 太赫兹生物物理创新实验室(No. 23-163-00-GZ-001-001-02-01); 中国科学院大学温州研究所(WIUCASQD20210011, WIUCASQD2021003)。

参考文献

- [1] Thomas, A., George, J., Shalabney, A., Dryzhakov, M., Varma, S.J., Moran, J., *et al.* (2016) Ground-State Chemical Reactivity under Vibrational Coupling to the Vacuum Electromagnetic Field. *Angewandte Chemie International Edition*, **55**, 11462-11466. <https://doi.org/10.1002/anie.201605504>
- [2] Fukushima, T., Yoshimitsu, S. and Murakoshi, K. (2022) Inherent Promotion of Ionic Conductivity via Collective Vibrational Strong Coupling of Water with the Vacuum Electromagnetic Field. *Journal of the American Chemical Society*, **144**, 12177-12183. <https://doi.org/10.1021/jacs.2c02991>
- [3] Chervy, T., Thomas, A., Akiki, E., Vergauwe, R.M.A., Shalabney, A., George, J., *et al.* (2017) Vibro-Polaritonic IR Emission in the Strong Coupling Regime. *ACS Photonics*, **5**, 217-224. <https://doi.org/10.1021/acsp Photonics.7b00677>
- [4] Hirai, K., Takeda, R., Hutchison, J.A. and Uji-i, H. (2020) Modulation of Prins Cyclization by Vibrational Strong Coupling. *Angewandte Chemie International Edition*, **59**, 5332-5335. <https://doi.org/10.1002/anie.201915632>
- [5] Gao, F., Guo, J., Si, Q., Wang, L., Zhang, F. and Yang, F. (2023) Modification of ATP Hydrolysis by Strong Coupling with O-H Stretching Vibration. *ChemPhotoChem*, **7**, e202300056. <https://doi.org/10.1002/cptc.202200330>
- [6] Vergauwe, R.M.A., George, J., Chervy, T., Hutchison, J.A., Shalabney, A., Torbeev, V.Y., *et al.* (2016) Quantum Strong Coupling with Protein Vibrational Modes. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, **7**, 4159-4164. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcllett.6b01869>
- [7] Zhong, C., Hou, S., Zhao, X., Bai, J., Wang, Z., Gao, F., *et al.* (2023) Driving DNA Origami Coassembling by Vibrational Strong Coupling in the Dark. *ACS Photonics*, **10**, 1618-1623. <https://doi.org/10.1021/acsp Photonics.3c00235>
- [8] Bonora, M., Patergnani, S., Rimessi, A., De Marchi, E., Suski, J.M., Bononi, A., *et al.* (2012) ATP Synthesis and Storage. *Purinergic Signalling*, **8**, 343-357. <https://doi.org/10.1007/s11302-012-9305-8>
- [9] Wu, K., Qi, C., Zhu, Z., Wang, C., Song, B. and Chang, C. (2020) Terahertz Wave Accelerates DNA Unwinding: A Molecular Dynamics Simulation Study. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, **11**, 7002-7008. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcllett.0c01850>
- [10] Zhang, C., Yuan, Y., Wu, K., Wang, Y., Zhu, S., Shi, J., *et al.* (2021) Driving DNA Origami Assembly with a Terahertz Wave. *Nano Letters*, **22**, 468-475. <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.1c04369>
- [11] 林小峰, 吴玉萍, 陈学军, 等. ATP 检测方法研究进展[J]. 中国农学通报, 2013, 29(36): 33-38.
- [12] 刘清权, 关学昱, 崔恒毅, 等. 法布里-珀罗光学微腔及其应用[J]. 光学学报, 2023, 43(16): 116-140.
- [13] Yu, Q. and Bowman, J.M. (2023) Manipulating Hydrogen Bond Dissociation Rates and Mechanisms in Water Dimer through Vibrational Strong Coupling. *Nature Communications*, **14**, Article No. 3527. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-39212-y>
- [14] Fukushima, T., Yoshimitsu, S. and Murakoshi, K. (2022) Inherent Promotion of Ionic Conductivity via Collective Vibrational Strong Coupling of Water with the Vacuum Electromagnetic Field. *Journal of the American Chemical Society*, **144**, 12177-12183. <https://doi.org/10.1021/jacs.2c02991>
- [15] Si, Q., Guo, J., Lian, J., Liu, A., Zhao, X., Liu, S., *et al.* (2024) Multimodal Competition Shapes Enzymatic ATP Hydrolysis: Deciphering Microscale Confinement by Vibrational Strong Coupling. *Chemical Engineering Journal*, **496**, Article ID: 154197. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2024.154197>