

• 研究论文 •

铱(IV)离子与人血丙种球蛋白的作用研究

常希俊* 黄艳 贺群

(兰州大学化学化工学院 兰州 730000)

摘要 在 $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 醋酸-醋酸钠(pH 5.0)体系中, 采用紫外吸收光谱、荧光光谱及同步荧光光谱法研究了人血丙种球蛋白(γ seroglobulin humanum, 简称 GSH)与铱(IV)离子的相互作用. 结果表明, Ir(IV)离子使人血丙种球蛋白的构象发生了改变, α -螺旋含量减少, 并且用同步荧光光谱发现 Ir(IV)离子与人血丙种球蛋白的作用位点更接近于色氨酸, 从而使色氨酸残基的疏水性略有减小. 荧光光谱结果表明 Ir(IV)对人血丙种球蛋白内源荧光(342 nm)产生了较强的荧光猝灭作用, 根据不同温度下 Ir(IV)对人血丙种球蛋白的荧光猝灭作用, 证明了这种荧光猝灭为静态猝灭机制, 计算了其结合常数和结合位点数, 从而得出了静电作用力为其主要的作用力.

关键词 铱(IV); 人血丙种球蛋白; 紫外吸收光谱; 荧光光谱; 同步荧光光谱

Study on the Interaction between Ir(IV) and Gamma Seroglobulin Humanum

CHANG, Xi-Jun* HUANG, Yan HE, Qun

(Department of Chemistry and Chemical Engineering, Lanzhou University, Lanzhou 730000)

Abstract In this paper, the interaction of gamma seroglobulin humanum (GSH) with Ir(IV) has been investigated by using absorption spectra, fluorescence spectroscopy and synchronous fluorescence spectroscopy. In the system of acetic acid-sodium acetate buffer ($0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, pH 5.0), Ir(IV) enhanced the intensity of the characteristic absorption peak of GSH, accompanied with red shift, showing that binding of Ir(IV) to GSH had strong impact on protein conformation with decrease of α -helical content of the protein and local perturbation around the hydrophobic binding pocket of tryptophan and tyrosine amino acid residues. The fluorescence intensity of GSH at 342 nm was quenched when Ir(IV) was added, the quenching mechanism of GSH affected by Ir(IV) was a static quenching procedure, and the binding number n and binding constant K were calculated. The effect of Ir(IV) on the conformation of GSH was further analyzed using synchronous fluorescence spectroscopy. The results indicated the perturbation around the tryptophan residues, which was in agreement with that by absorption spectra.

Keywords Ir(IV); gamma seroglobulin humanum (GSH); absorption spectroscopy; fluorescence spectroscopy; synchronous fluorescence spectroscopy

近年来人类在治疗心血管病^[1]、癌症^[2]等疾病的过程中发现, 过去很多病因不明的疾病与人们生活的环境密切相关, 特别是环境中的金属因素. 一些研究^[3-5]表明, 化学元素对癌症具有双重作用: As, Be, Ni, Pb 和 Cd 等能诱发和助长肿瘤以至癌症; 而 Pt, Pd, Ir, Cu, Se, Mg,

Mo, Si, Zn 和 Mn 等元素及其配合物具有抗癌性和抑癌性. 可见, 改变化学元素在体内的浓度, 有希望成为既可消灭癌细胞又不伤害正常细胞的“金属疗法”, 因此研究金属离子及其配合物与蛋白质的相互作用对于癌症的治疗有着重要意义.

* E-mail: huangyan02@st.lzu.edu.cn

Received June 14, 2004; revised September 2, 2004; accepted October 22, 2004.

丙种球蛋白又称 γ -球蛋白, 是免疫球蛋白 (Immunoglobulin, Ig) 的主要成分, 其分子有 17 个 S—S 键和四条肽链, 它是浆细胞产生的一种具有免疫作用的球蛋白 Ig^[6,7], 能特异地与抗原相结合形成抗原-抗体复合物, 从而阻断抗原对人体的有害作用. 关于人血丙种球蛋白与稀土元素相互作用的研究已见报道^[8,9], 而很少有与具有抗癌性元素(尤其是元素 Ir)相互作用的研究报道. 这类元素与人血丙种球蛋白的相互作用能直接反映其对人血丙种球蛋白的亲力和作用方式, 这对理解该类元素及其配合物的抗癌活性具有重要的意义.

本文在醋酸盐缓冲体系(pH 5.0)中用紫外吸收光谱、荧光光谱及同步荧光光谱法研究了人血丙种球蛋白(gamma seroglobulinum humanum, 简称 GSH)与铱(IV)的相互作用. 实验发现 Ir(IV)离子对人血丙种球蛋白的构象产生了影响; 同时还讨论了人血丙种球蛋白与 Ir(IV)离子相互作用的方式及其荧光猝灭机理, 得出了人血丙种球蛋白与 Ir(IV)离子相互作用的结合常数、成键位置数, 希望为设计合成具有应用前景的高效低毒的抗癌药物提供一定的科学研究基础及理论依据.

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

UV-240 型紫外吸收光谱仪(日本岛津公司); RF-540 型荧光分光光谱仪(日本岛津公司); pHS-10C 型酸度计(中国, 萧山); SHZ-88-1 台式水浴恒温振荡器(中国, 江苏). 人血丙种球蛋白(GSH)(上海生物制品研究所, 纯度不低于 95%), 用蒸馏水配制成 $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 储备液, 并置于冰箱中(0~5 °C)保存; $(\text{NH}_4)_2\text{IrCl}_6$ (光谱纯), 参照文献方法^[10]配置成 $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$; 无水乙酸钠、冰醋酸均为分析纯, 配制乙酸-乙酸钠缓冲液(pH 5.0), 并置于冰箱中(0~5 °C)保存; 硼酸-氯化钠-硼砂缓冲液(pH 7.09).

1.2 实验方法

1.2.1 紫外吸收光谱的测定

取几只 10 mL 比色管, 分别加入 0.5 mL $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 人血丙种球蛋白储备液及 1.0 mL $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的醋酸-醋酸钠(pH 5.0)缓冲溶液, 然后依次加入不同量的 $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Ir(IV)离子, 用蒸馏水稀释至刻度, 放入水浴恒温振荡器内振荡, 以蒸馏水为参比, 记录室温下 190~330 nm 范围内的紫外吸收光谱.

1.2.2 Ir(IV)与人血丙种球蛋白的荧光光谱测定

取几只 10 mL 比色管, 分别加入 0.5 mL $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 人血丙种球蛋白储备液及 1.0 mL $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙酸-乙酸钠(pH 5.0)缓冲液, 然后依次加入不同量的

Ir(IV)离子, 用蒸馏水稀释至刻度, 放入水浴恒温振荡器内, 控制温度为 $(25 \pm 0.1) \text{ }^\circ\text{C}$, 振荡 90 min, 用 1 cm 石英池在荧光光谱仪上测定并记录荧光光谱. 测量时选择的激发波长和发射波长分别为 291 和 342 nm, 激发和发射狭缝宽度均为 10 nm. 按照上面的步骤依次测量 $(37 \pm 0.1) \text{ }^\circ\text{C}$ 和 $(47 \pm 0.1) \text{ }^\circ\text{C}$ 的荧光光谱.

1.2.3 Ir(IV)与人血丙种球蛋白的同步荧光测定

用 1.2.2 所配的 $(25 \pm 0.1) \text{ }^\circ\text{C}$ 的溶液, 用 1 cm 石英池在荧光光谱仪上, 固定激发和发射波长间隔 $\Delta\lambda$ 分别为 20 和 60 nm, 同时扫描激发和发射波长并记录同步荧光光谱.

2 结果与讨论

2.1 实验条件的选择

2.1.1 反应时间

结果表明, Ir(IV)与人血丙种球蛋白的结合在室温 $(25 \text{ }^\circ\text{C})$ 下 90 min 可达稳定, 且至少能稳定 4 h.

2.1.2 酸度

分别试验了 Ir(IV)离子在 0.01 mol/L 乙酸-乙酸钠(pH 5.0)和 0.01 mol/L 硼酸-氯化钠-硼砂(pH 7.09)两种不同的缓冲体系中与入血丙种球蛋白的相互作用. 实验发现在人血丙种球蛋白存在时, 当溶液的 pH 值在 7.00 左右时, 若 $[\text{Ir(IV)}] > 1 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$, 则溶液出现浑浊. 在相同的 pH 条件下, 直接向没有入血丙种球蛋白的缓冲溶液中加入相同浓度的 Ir(IV)离子溶液, 尚未出现浑浊现象. 由此, 说明在 pH 7.00 左右时, 可能是 Ir(IV)离子与人血丙种球蛋白相互作用而发生凝聚. 故本文分别试验了小于 7 的不同 pH 值对体系荧光强度的影响, 实验发现: pH 1~3 时, 荧光强度随着 pH 值的增大而逐渐降低; pH 3~7 时, 荧光强度随着 pH 值的增大而趋于基本稳定, 考虑在 pH 5 附近时 pH 的较小改变对荧光强度的影响较小, 故本文选择 pH 5.0 为最佳酸度.

2.2 紫外吸收光谱

图 1 为 Ir(IV)对人血丙种球蛋白紫外吸收光谱的影响. 由图 1 可见, 人血丙种球蛋白在紫外光谱区显示了两个特征的蛋白质吸收带, 其峰位置分别为 215 和 278 nm. 随着 Ir(IV)离子的不断加入, 这两个特征峰均逐渐增强, 体系的吸收光谱呈现明显的增色效应, 最大吸收峰位均产生明显的红移. 加入 Ir(IV)离子后 GSH 吸收光谱的这些变化表明 Ir(IV)离子与 GSH 发生了较强的相互作用.

蛋白质的构象变化是指多肽链中的一切原子由于单键的旋转而产生的空间排布变化^[11]. 目前对蛋白质构象变化的研究主要集中在分析 α -螺旋、 β -折叠、 β -

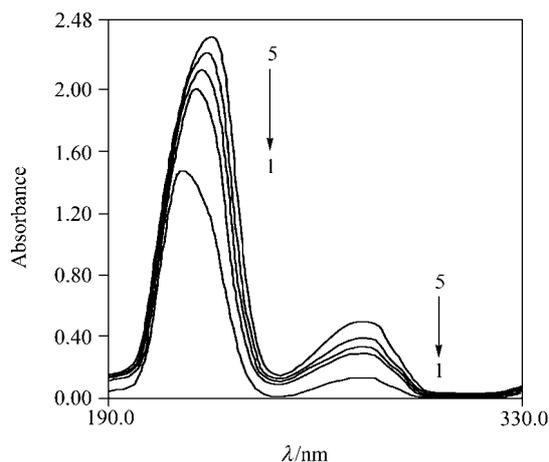


图1 Ir(IV)对GSH吸收光谱的影响

Figure 1 Effect of Ir(IV) on the absorption spectra of GSH $c_{\text{GSH}}=1 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, from 1 to 5, $c_{\text{Ir(IV)}}=0, 3 \times 10^{-6}, 5 \times 10^{-6}, 7 \times 10^{-6}, 1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

转角和无规卷曲构象含量之间的变化上, 而与其相对应的氨基酸微环境在一定程度上与光谱特征相关, 因此由光谱特征的变化可获得蛋白质构象变化的情况^[12~14]. 以GSH为例, 它在215 nm附近的吸收主要是由肽键的C=O基的 $\pi-\pi^*$ 跃迁引起的, 与蛋白质分子的 α -螺旋含量有关^[14], 而278 nm附近的吸收峰是其肽链上色氨酸和酪氨酸的芳杂环 $\pi-\pi^*$ 跃迁引起的^[15]. 当加入Ir(IV)离子时, 215 nm附近的吸收峰随着Ir(IV)离子浓度的增大而增强, 说明Ir(IV)离子与人血丙种球蛋白结合后, 使蛋白质分子的构象改变、 α -螺旋含量减小, 从而使215 nm附近的吸收峰发生红移^[16]; 同时当Ir(IV)离子浓度逐渐升高时, Ir(IV)离子诱导GSH分子发生类似于降低pH值所出现的蛋白质肽链伸展现象^[14], 使包围在GSH分子内部的色氨酸和酪氨酸残基的芳杂环疏水基团裸露出来, 从而使278 nm吸收峰的吸收增强, 同时使疏水基团之间的疏水作用增强、 $\pi-\pi^*$ 跃迁能量增大、吸收峰发生红移^[16].

2.3 荧光光谱

图2是按照1.2.2节实验方法在 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙酸-乙酸钠缓冲体系中, 在人血丙种球蛋白中加入不同量的 $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} (\text{NH}_4)_2\text{IrCl}_6$ 溶液后的荧光光谱, 实验记录了激发波长为291 nm时300~400 nm的各荧光发射光谱. 图2表明在实验范围内, 随着加入的Ir(IV)量不断增加, 荧光光谱发射波长维持在342 nm左右无明显变化, 而荧光强度自上而下不断降低. 蛋白质天然荧光及其变化在一定程度上反映了蛋白质分子中荧光发色团本身及周围微环境的变化^[13]. 这说明Ir(IV)离子与GSH发生了相互作用, 且Ir(IV)离子的作用使GSH中荧光发色团的微环境发生了改变, 也就是说Ir(IV)离子与GSH

的相互作用使GSH的分子构象发生了改变.

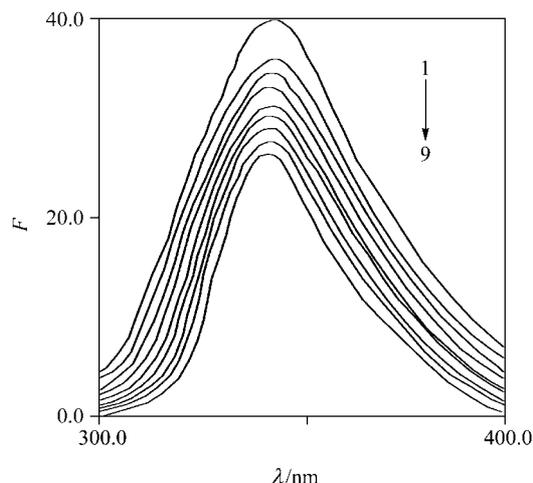


图2 Ir(IV)对GSH荧光光谱的影响

Figure 2 Effect of Ir(IV) on the fluorescence spectra of GSH $c_{\text{GSH}}=1 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$; from 1 to 9, $c_{\text{Ir(IV)}}=0, 2 \times 10^{-6}, 3 \times 10^{-6}, 4 \times 10^{-6}, 5 \times 10^{-6}, 6 \times 10^{-6}, 7 \times 10^{-6}, 8 \times 10^{-6}, 10 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

2.3.1 荧光猝灭机理及结合常数的初步确定

荧光猝灭是溶液中猝灭体分子和荧光物质分子之间发生相互作用, 致使荧光物质的荧光量子效率降低或激发态寿命缩短, 从而导致荧光强度降低的现象. 荧光猝灭可由动态猝灭、静态猝灭所引起. 一般情况下, 动态和静态猝灭可依据不同温度条件下的结果加以区别, 对于动态猝灭, 温度的升高将增加有效碰撞的离子数和加剧电子转移过程, 使荧光物种的猝灭常数随着温度的升高而增大; 若是静态猝灭, 则温度的升高将降低复合物的稳定性使猝灭常数减小^[17]. 假设荧光体与猝灭体由于热运动等发生双分子碰撞时所引起的荧光猝灭为动态猝灭, 则该猝灭服从Stern-Volmer方程:

$$F_0/F = 1 + K_{\text{SV}}[Q] = 1 + K_q\tau_0[Q]$$

其中 F_0 与 F 分别为未加猝灭体Q及加了猝灭体Q的荧光强度, K_q 为双分子猝灭常数, τ_0 为生物分子的荧光寿命, K_{SV} 是Stern-Volmer猝灭常数; 显然

$$K_{\text{SV}} = K_q\tau_0$$

本实验分别记录了25, 37和47 °C下人血丙种球蛋白与Ir(IV)反应的荧光光谱, 利用不同温度下的实验结果, 以 F_0/F 与相应的 $[Q]$ 即 $[\text{Ir(IV)}]$ 作图(图3), 不同温度下各Stern-Volmer曲线的斜率(即 K_{SV})示于表1. 由图3和表1可见, Stern-Volmer图形为线性直线, 且从低到高整个浓度范围内呈良好的线性关系; 并且随着温度的升高, Stern-Volmer猝灭曲线的斜率逐渐降低, 这表明Ir(IV)对GSH的荧光猝灭效应应归因于静态猝灭机制. 按生物分子的荧光寿命 τ_0 为 10 ns ^[17], 由Stern-Volmer猝灭

曲线的斜率可求得双分子猝灭常数 K_q (见表 1), 生物大分子的最大猝灭常数为 $2.0 \times 10^{10} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ [17], 而表 1 中的双分子猝灭常数 K_q 远大于最大猝灭常数, 这进一步表明 Ir(IV) 对 GSH 的荧光猝灭效应不是动态猝灭而是静态猝灭; 同时由于动态猝灭只影响到荧光分子的激发态, 因而并不改变荧光物质的吸收光谱, 而静态猝灭中基态配合物的生成往往会引起荧光物质吸收光谱的改变 [18], 故由前面已描述的吸收光谱的改变再一次证明 Ir(IV) 对 GSH 的荧光猝灭是静态猝灭。

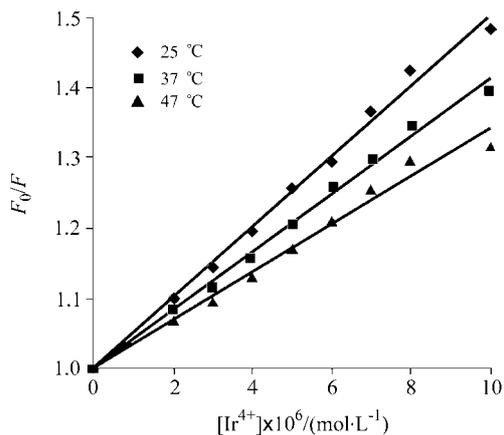


图 3 不同温度下的 Stern-Volmer 图

Figure 3 Stern-Volmer plot at different temperatures

c_{GSH} and $c_{\text{Ir(IV)}}$ are the same as those in Figure 2

表 1 不同温度下 Ir(IV) 对 GSH 的 Stern-Volmer 猝灭曲线的斜率 K_{SV} 、相关系数 R 及双分子猝灭常数 K_q

Table 1 The slopes K_{SV} for the Stern-Volmer curves, their correlation coefficients R and the dynamic quenching constants K_q of GSH with Ir(IV) at different temperatures

$T/^\circ\text{C}$	$K_{\text{SV}}/(\text{L} \cdot \text{mol}^{-1})$	R	$K_q/(\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1})$
25	5.04×10^4	0.9939	4.88×10^{12}
37	4.41×10^4	0.9935	4.11×10^{12}
47	3.42×10^4	0.9835	3.28×10^{12}

当猝灭体分子和荧光物质分子之间形成新的复合物而发生静态猝灭时, 服从 Lineweaver-Burk 方程:

$$(F_0 - F)^{-1} = F^{-1} + K_D \cdot (F_0 [Q])^{-1}$$

以 $(F_0 - F)^{-1}$ 对 $[Q]^{-1}$ 作图得图 4。根据直线斜率 (K_D/F_0) 可算出其结合常数 K_A ($K_A = 1/K_D$) 分别为 4.88×10^4 (25 °C), 4.11×10^4 (37 °C), $3.28 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ (47 °C); 其相关系数 R 依次为 0.9942, 0.9885, 0.9978。可见该双倒数图呈现良好的线性, 并且温度对 Ir(IV) 与 GSH 的结合常数影响较小, 这些结果与 Stern-Volmer 方法处理的结果基本一致, 故再次确定为静态猝灭。

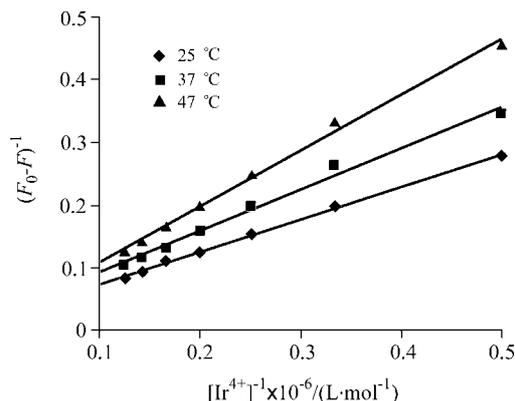


图 4 不同温度下的 Lineweaver-Burk 图

Figure 4 Lineweaver-Burk plot at different temperatures

c_{GSH} and $c_{\text{Ir(IV)}}$ are the same as those in Figure 2

2.3.2 结合位点数 n 和结合常数 K_A 的进一步计算

设 Ir(IV) 离子与 GSH 形成 n 个结合位点的复合物, 且这种复合物无荧光, 便可获得求算 K_A 和 n 的公式 [19]:

$$\lg[(F_0 - F)/F] = \lg K_A + n \lg[\text{Ir}^{4+}]$$

按上述公式分别作不同温度下 $\lg[(F_0 - F)/F] \sim \lg[\text{Ir}^{4+}]$ 的双对数图, 如图 5。根据截距与斜率求得不同温度的 K_A 和 n , 见表 2。由表 2 可看出, Ir(IV) 离子与 GSH 的结合常数与表 1 结果基本相符, 并且温度对结合常数的影响较小; 且结合位点数均为 1。这表明 Ir(IV) 离子与 GSH 的成键位置数是 1 个, Ir(IV) 离子与 GSH 相互作用时形成 1:1 复合物。

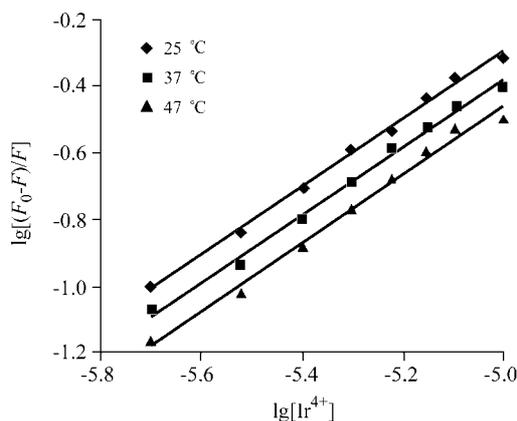


图 5 不同温度下 Ir(IV) 对人血丙种球蛋白的双对数图

Figure 5 Double-lg plot of Ir(IV) on GSH at different temperature

c_{GSH} and $c_{\text{Ir(IV)}}$ are the same as those in Figure 2

2.3.3 作用力类型的判定

猝灭体和生物大分子相互作用主要是通过范德华力、静电作用力和氢键作用力等进行的 [20]。因为温度效

表 2 不同温度下 Ir(IV)与 GSH 的结合常数 K_A 、结合位点数 n 及其相关系数 R

Table 2 The binding constants K_A , the binding numbers n and their correlation coefficients R at different temperatures

$T/^\circ\text{C}$	$K_A/(\text{L}\cdot\text{mol}^{-1})$	n	R
25	6.33×10^4	1.0191	0.9958
37	5.15×10^4	1.0184	0.9924
47	4.98×10^4	1.0312	0.9896

应对反应的结合常数影响比较小, 所以当温度相差不是很大时, 可以把反应焓变看作为一个常数. 因此, 由 Lineweaver-Burk 方程中不同温度下的结合常数 K_A , 可根据下列方程计算出反应焓变、自由能和熵变.

$$\ln(K_2/K_1) = \Delta H(1/T_1 - 1/T_2)/R \quad (4)$$

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (5)$$

$$\Delta G = -RT \ln K_2 \quad (6)$$

其中, ΔH , ΔG 和 ΔS 分别为反应焓变、自由能和熵变. 通过计算得出 Ir(IV)与人血丙种球蛋白相互作用的 ΔH , ΔS 和 ΔG 分别为 $-1.46 \times 10^4 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}$, $40.97 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$ 和 $-2.73 \times 10^4 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}$, 即 Ir(IV)与 GSH 相互作用时焓变 $\Delta H < 0$ 而熵变 $\Delta S > 0$, 这表明 Ir(IV)与 GSH 的作用力主要为静电作用力^[21].

2.4 Ir(IV)离子对人血丙种球蛋白构象的影响

在蛋白质分子内的三种内源荧光生色团中, 常用色氨酸的荧光来考查其构象的变化^[22]. 而从方法上来说, 在普通荧光光谱中, 这三种内源荧光生色团的荧光发射峰基本重叠, 难以区分, 因而所得结果比较笼统, 而同步荧光光谱能将其区分开. 固定激发波长与发射波长的间距 $\Delta\lambda$, 同步扫描激发波和发射波即可得同步荧光光谱, 这种光谱已被用于蛋白质的构象变化的分析. 由 $\Delta\lambda = 20 \text{ nm}$ 所得的同步荧光只显示蛋白质中酪氨酸残基的光谱特性, 而 $\Delta\lambda = 60 \text{ nm}$ 所得的同步荧光只显示蛋白质中色氨酸残基的光谱特性, 表现出色氨酸的荧光. Burstein 认为色氨酸的最大发射波长与其所处的环境有关, 随其所处环境的疏水性逐渐降低, 其最大发射波长红移^[23], 若色氨酸的最大发射波长改变, 说明蛋白质的构象发生了改变, 故由发射波长的改变可判断蛋白质的构象变化.

按照 1.2.3 节实验方法, 绘制 Ir(IV)离子与 GSH 的同步荧光光谱图(图 6). 图 6 中的(A)和(B)分别为加入不同量的 Ir(IV)离子后人血丙种球蛋白中的酪氨酸和色氨酸残基的同步荧光光谱图, 可以看出在此实验条件下, 酪氨酸和色氨酸残基荧光同时被猝灭, 使其荧光强度下

降, 这表明整个 GSH 大分子更趋向于折叠态, 使 α -螺旋含量减少^[24]. 随着 Ir(IV)浓度增大, 酪氨酸残基的特征荧光光谱峰位基本不变, 而色氨酸残基的特征荧光光谱峰位发生红移, 说明 Ir(IV)离子的引入使 GSH 的构象发生改变, 使其色氨酸残基所处的微环境疏水性略有减小^[18,23], 该结果与紫外吸收光谱的结果一致. 但相比之下, 色氨酸残基的荧光降低比酪氨酸残基更显著, 说明 Ir(IV)与人血丙种球蛋白的结合位点更接近于色氨酸残基.

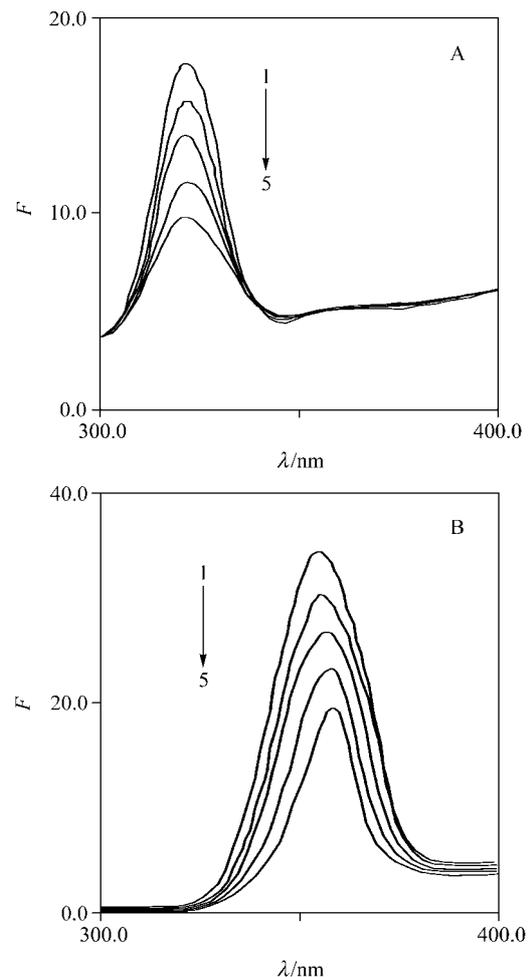


图 6 Ir(IV)对人血丙种球蛋白同步荧光光谱的影响

Figure 6 Effect of Ir(IV) on synchronous fluorescence spectra of GSH

$c_{\text{GSH}} = 1 \times 10^{-6} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$; from 1 to 5, $c_{\text{Ir(IV)}} = 0, 2 \times 10^{-6}, 4 \times 10^{-6}, 5 \times 10^{-6}, 6 \times 10^{-6} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$; (A) $\Delta\lambda = 20 \text{ nm}$; (B) $\Delta\lambda = 60 \text{ nm}$

3 结论

通过结合紫外吸收光谱、荧光光谱及同步荧光光谱法, 我们比较详尽地研究了人血丙种球蛋白与 Ir(IV)的相互作用. 在 $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 醋酸-醋酸钠(pH 5.0)体系中, 发现 Ir(IV)使人血丙种球蛋白的特征吸收峰增强, 且最

大吸收峰位产生明显的红移, 说明 Ir(IV)离子与人血丙种球蛋白之间发生了较强的相互作用, 且使人血丙种球蛋白的构象发生了改变: α -螺旋含量减小, 使包围在人血丙种球蛋白分子内部的色氨酸和酪氨酸残基的芳香环疏水基团裸露出来; 由不同温度下 Ir(IV)对人血丙种球蛋白内源荧光(342 nm)产生的较强的荧光猝灭作用, 探讨了这种荧光猝灭为静态猝灭机制, 计算了其结合常数和结合位点数, 从而得出了静电作用力为其主要的作用力; 并用同步荧光技术考察了 Ir(IV)对人血丙种球蛋白的构象的影响, 发现 Ir(IV)离子与人血丙种球蛋白的作用位点更接近于色氨酸, 从而使色氨酸残基微环境的疏水性略有减小, 该结果与紫外吸收光谱一致。

References

- Chen, Y.; Jin, T.-Y. *J. Environ. Occup. Med.* **2004**, *21*, 150 (in Chinese).
(陈珏, 金泰康, 环境与职业医学, **2004**, *21*, 150.)
- Susuki, F.; Rice, I. M.; Bui, N. B. *Anticancer Res.* **1996**, *16*, 177.
- Li, F.; Zhao, H.-T.; Huang, H.-B. *J. Biomed. Eng.* **1996**, *13*, 51 (in Chinese).
(李凡, 赵华庭, 黄海波, 生物医学工程学杂志, **1996**, *13*, 51.)
- Ghosh, P.; D'Cruz, O. J.; Narla, R. K.; Uckun, F. M. *Clin. Cancer Res.* **2000**, *6*, 1536.
- Shen, D.-Y.; Guo, S.-Q. *Concise Textbook of Bioinorganic Chemistry*, Chengdu Science and Technology University Press, Chengdu, **1993**, pp. 207~220 (in Chinese).
(沈敦瑜, 郭顺勤, 生物无机化学简明教程, 成都科技大学出版社, 成都, **1993**, pp. 207~220.)
- Tan, P.-X.; Tao, Z.-J.; Qi, G.-R. *Handbook of Modern Chemical Reagent*, 3rd ed., Chemistry and Chemical Engineering Press, Beijing, **1993**, pp. 440~441 (in Chinese).
(谭佩幸, 陶宗晋, 祁国荣, 徐俊杰, 现代化学试剂手册, 第3版, 化学工业出版社, 北京, **1993**, pp. 440~441.)
- Zhang, C.-P.; Hu, Z.-C.; Luo, Y.-P. *Spectrosc. Spect. Anal.* **1998**, *18*, 537 (in Chinese).
(张朝平, 胡宗超, 罗玉萍, 光谱学与光谱分析, **1998**, *18*, 537.)
- Stern, K. D. *Biochem. J.* **1975**, *149*, 73.
- Yang, P.; Yang, B.-S.; Wang, J.-L. *Chin. Sci. Bull.* **1987**, *16*, 1238 (in Chinese).
(杨频, 杨斌盛, 王君玲, 科学通报, **1987**, *16*, 1238.)
- Tu, C. Q.; Liang, H.; Wang, G. H. *Chin. J. Chem.* **1999**, *17*, 448.
- Tao, W.; Sun, L.-W.; Jiang, Y.-M.; Luo, G.-M.; Lin, Y.-Q. *Molecular Basis of Protein*, 1st ed., People's Education Press, Beijing, **1981**, p. 178 (in Chinese).
(陶慰, 孙李惟, 姜涌明, 罗贵民, 林永齐, 蛋白质分子基础, 第1版, 人民教育出版社, 北京, **1981**, p. 178.)
- Larsson, H. P.; Tzingounis, A. V.; Koch, H. P.; Kavanaugh, M. P. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2004**, *101*, 3951.
- Liu, Y.; Xie, M.-X.; Kang, J. *Acta Chim. Sinica* **2003**, *61*, 1305 (in Chinese).
(刘媛, 谢孟峡, 康娟, 化学学报, **2003**, *61*, 1305.)
- Shahid, F.; Gomez, J. E.; Birnbaum, E. R. *J. Biochem.* **1982**, *257*, 5618.
- Tang, S. D.; MacColl, R.; Partrick, J. P. *J. Inorg. Biochem.* **1995**, *60*, 175.
- Huang, J.; Yuan, Y. Z.; Liang, H. *Sci. China, Ser. B* **2001**, *31*, 530 (in Chinese).
(黄瑾, 袁余洲, 梁宏, 中国科学 B 辑, **2001**, *31*, 530.)
- Chen, G.-Z.; Huang, X.-Z.; Zheng, Z.-Z. *Fluorescence Analysis Method*, Science Press, Beijing, **1990**, p. 502 (in Chinese).
(陈国珍, 黄贤智, 郑朱梓, 荧光分析法, 科学出版社, 北京, **1990**, p. 502.)
- Huang, B.; Zou, G.-L.; Yang, T.-M. *Acta Chim. Sinica* **2002**, *60*, 1867 (in Chinese).
(黄波, 邹国林, 杨天鸣, 化学学报, **2002**, *60*, 1867.)
- Wei, X.-F.; Liu, H.-Z. *Chin. J. Anal. Chem.* **2000**, *28*, 699 (in Chinese).
(魏晓芳, 刘会洲, 分析化学, **2000**, *28*, 699.)
- Yang, P.; Yang, M.-M.; Zhang, L.-W. *Chin. Sci. Bull.* **1994**, *39*, 734 (in Chinese).
(杨频, 杨曼曼, 张立伟, 科学通报, **1994**, *39*, 734.)
- Ross, D. P.; Sabramanian, S. *Biochemistry* **1981**, *20*, 3096.
- Trynda-Lemiesz, L.; Karaczyn, A.; Kepple, B. K.; Kozlowski, H. *J. Inorg. Biochem.* **2000**, *78*, 341.
- Zhu, J.; Tong, S.-Y. *Chem. J. Chin. Univ.* **1996**, *17*, 539 (in Chinese).
(朱铿, 童沈阳, 高等学校化学学报, **1996**, *17*, 539.)
- Ji, H.-N.; Lu, T.-H.; Li, C.; Yu, X.-J.; Zhou, Q.; Huang, X.-H. *Acta Chim. Sinica* **2004**, *62*, 1085 (in Chinese).
(吉红念, 陆天虹, 李敏, 虞学俊, 周青, 黄晓华, 化学学报, **2004**, *62*, 1085.)

(A0406143 LI, L. T.; DONG, H. Z.)