

傅里叶变换红外光谱对阴离子表面活性剂 SDS 与牛血清白蛋白相互作用的研究

王靖^{1,2}, 郭晨¹, 梁向峰^{1,2}, 郑丽丽^{1,2}, 陈澍^{1,2}, 马俊鹤^{1,2}, 刘会洲^{1*}

1. 中国科学院过程工程研究所生化工程国家重点实验室分离科学与工程实验室, 北京 100080
2. 中国科学院研究生院, 北京 100039

摘要 对牛血清白蛋白 BSA 与阴离子表面活性剂 SDS 在水溶液中不同浓度和不同相互作用时间的红外光谱进行了研究。研究表明, 短时间和低浓度时 SDS 使 BSA 的 α -螺旋结构增加, 无规结构降低, 没有破坏蛋白质的二级结构; 当 SDS 浓度很大或者 SDS 与 BSA 的作用时间长时, 蛋白质的二级结构遭到破坏, BSA 的 α -螺旋结构降低, 无规结构增加。

主题词 十二烷基硫酸钠; 牛血清白蛋白; 傅里叶变换红外光谱

中图分类号: O657.3 **文献标识码**: A **文章编号**: 1000-0593(2006)09-1598-03

引言

表面活性剂与蛋白质相互作用的研究, 一方面可以拓展表面活性剂在生物技术和医药等领域的应用^[1], 另一方面可以了解蛋白质与类脂化合物或荷尔蒙之类的小分子的结合提供有价值的模型^[2], 因此, 表面活性剂与蛋白质方面的研究多少年来始终非常活跃^[3]。郑志雯等利用荧光光谱和吸收光谱技术研究表面活性剂对血红蛋白(Hb)存在形态及结构变化的影响, 发现 Hb 结构发生去折叠并伴随血红素基团的裸露^[4]。刘会洲等^[5]应用红外光谱仪研究了表面活性剂水溶液中的溶菌酶的乳化和二级结构的影响, 提出离子型表面活性剂与蛋白质作用, 能够破坏蛋白质分子中有序的 α -螺旋结构, 增加无规卷曲结构的含量。目前对蛋白质与表面活性剂相互作用的研究较少考虑作用时间的问题, 在不同作用时间下表面活性剂对蛋白质二级结构影响的研究报道还很少。

本文利用 FTIR 技术研究不同作用时间下阴离子表面活性剂 SDS 对牛血清白蛋白二级结构的影响, 以分析和了解蛋白质与阴离子表面活性剂 SDS 之间的相互作用。

1 实验部分

1.1 材料

牛血清白蛋白(BSA): 美国 Sigma 公司, 纯度 98%; 十

二烷基硫酸钠(SDS): 华美试剂公司, 分析纯, 分子量 288.38。

1.2 分析方法

全部光谱都是在 Bruker 公司生产的 VECTOR22 傅里叶变换红外光谱仪上进行, 采用 BaF₂ 晶体窗片, 扫描次数 64 次, 分辨率 2 cm⁻¹, 在相同条件下测量 BSA 和表面活性剂溶液的光谱。得到的谱图在 OPUS 软件下进行数据处理, 应用水峰差减、去卷积和曲线拟合等处理方法, 可以定量地计算出蛋白质酰胺 I 带的二级结构。

1.3 样品制备

所有溶液均用 pH 值为 7 的磷酸缓冲溶液配置。配置 BSA 和 SDS 磷酸缓冲液母液, 于 4 °C 冰箱中密封放置。测量之前将 BSA 母液分别与不同浓度的 SDS 母液混合, 保持混合液中 BSA 的最终浓度为 10 mg · mL⁻¹, 一部分混合液在混匀之后直接测量, 另一部分混合液于 4 °C 冰箱中密封放置 12 h 后测量。

2 结果与分析

在 BSA 磷酸缓冲液中分别加入不同浓度的 SDS, 而 BSA 的最终浓度保持在 10 mg · mL⁻¹。图 1 是 SDS 与 BSA 混合均匀后立刻测量得到的 BSA 酰胺 I 带的谱图, 可以看出, 当加入少量的 SDS 时, BSA 酰胺 I 带的谱峰峰形变化不大, 只是峰位向高波数移动, 说明少量 SDS 的加入使 BSA

收稿日期: 2005-05-18, 修订日期: 2005-08-08

基金项目: 国家自然科学基金(20273075)面上基金项目, 国家自然科学基金(20221603)创新研究群体科学基金以及国家自然科学基金(20490200)重大基金项目资助

作者简介: 王靖, 女, 1972 年生, 中国科学院过程工程研究所助理研究员 * 通讯联系人

与水的氢键减弱,蛋白质肽链内的氢键增强,没有破坏蛋白质的二级结构;而加入大量 SDS,SDS 浓度大于 $8.8 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 后,酰胺 I 带的谱峰变宽,相应的蛋白质的 α -螺旋结构所占的比例降低,蛋白质的二级结构被破坏。

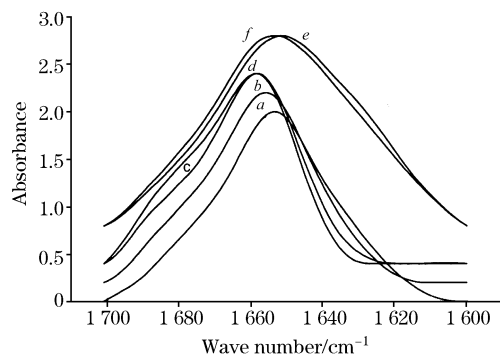


Fig. 1 Amide band I of BSA in various concentrations of SDS

a: $0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ SDS; b: $2.2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ SDS;
c: $4.4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ SDS; d: $6.6 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ SDS;
e: $8.8 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ SDS; f: $11 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ SDS

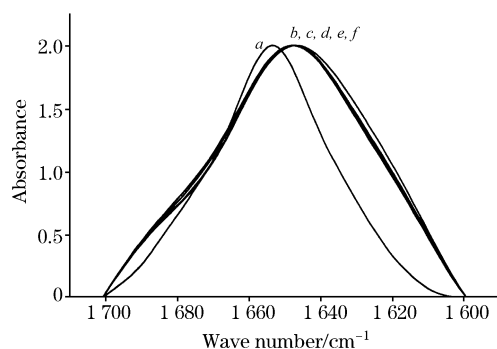


Fig. 2 Amide band I of BSA in various concentrations of SDS (12 h)

a: $0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ SDS; b: $2.2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ SDS;
c: $4.4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ SDS; d: $6.6 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ SDS;
e: $8.8 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ SDS; f: $11 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ SDS

图 2 是 SDS 与蛋白质混匀后放置 12 h 测量得到的 BSA 酰胺 I 带谱图,所有 SDS 浓度下的谱带均向低波数移动并明显变宽,说明 SDS 与蛋白质经过 12 h 的相互作用,蛋白质的二级结构被破坏,蛋白质肽链内的氢键减弱,蛋白质与水的氢键增强。

根据文献[6]的方法对不同 SDS 浓度下的 BSA 酰胺 I 带进行水峰差减,去卷积和曲线拟合,可以获得不同 SDS 浓度下,BSA 二级结构的变化规律,如图 3 所示。

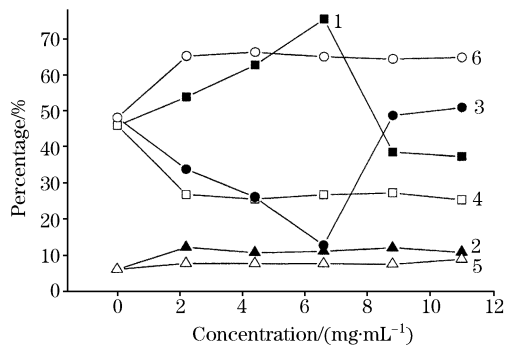


Fig. 3 Effect of SDS concentrations on the secondary structure of BSA

Filled symbols; Measured as soon as mixed 1: α -helix; 2: β -sheet; 3: Random coil. Hollow symbols; Measured 12 h after mixed; 4: α -helix; 5: β -sheet; 6: Random coil

由图 3 可知,SDS 对 BSA 的 β -折叠结构影响较小,SDS 对 BSA 二级结构的破坏主要表现为 BSA 的 α -螺旋结构的降低和无规结构的增加。当 SDS 与 BSA 的作用时间很短时,低浓度的 SDS 使 BSA 的 α -螺旋结构增加,无规结构降低。当 SDS 浓度很大或者 SDS 与 BSA 的作用时间长时,蛋白质的二级结构遭到破坏, α -螺旋结构显著降低,无规结构显著增加。

SDS 是一种常见的阴离子表面活性剂,在水溶液中带负电荷。BSA 的等电点(pI)为 $4.4 \sim 4.9$,在 pH 7 的磷酸缓冲液中 BSA 以酸式电离为主,分子带有负电荷。当少量的 SDS 加入到 BSA 溶液中时,在短时间内,带负电荷的 SDS 分子与水的相互作用会阻碍带负电荷的 BSA 分子与水的氢键作用,表现为 BSA 与水的氢键减弱,酰胺 I 带向高波数移动(见图 1),同时 BSA 分子内部的氢键增强,一些处于无规卷曲的侧链基团由于氢键作用可以形成 α -螺旋结构,因此在低 SDS 浓度和短时间内,SDS 对 BSA 的影响表现为随着 SDS 浓度的增加,BSA 的 α -螺旋结构增加而无规卷曲结构减少。

由于 SDS 和 BSA 在 pH 7 的磷酸缓冲液中都带有负电荷,静电相互作用不是主要的作用模式,SDS 与 BSA 之间表现为疏水相互作用,因此 SDS 浓度增加或者 SDS 与蛋白质的作用时间延长后,两者的相互作用主要表现为 SDS 的疏水基团与蛋白质分子的疏水相互作用,疏水相互作用将展开蛋白质的三级结构,蛋白质三级结构展开后会暴露内部的疏水基团并继续与 SDS 进行疏水相互作用,导致蛋白质三级结构的完全破坏,BSA 与 SDS 由于疏水相互作用可以形成一个表面带大量负电荷的亲水性很强的复合物,这个复合物与水的相互作用增强,有可能导致蛋白质内部氢键的破裂,表现为 BSA 在高浓度 SDS 下或者两者作用时间较长时,BSA 的大量 α -螺旋结构转变为无规卷曲结构。

参 考 文 献

- [1] ZHANG Tian-xi, LIU Hui-zhou, CHEN Jia-yong. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 2000, 75: 798.
- [2] Lucassen-Reynders E H. *Anionic Surfactants: Physical Chemistry of Surfactant Action*, Surfactant Science Series (Volume 11). New York: Marcel Dekker Inc., 1981. 109.
- [3] Goddard E D, Ananthapadmanabhan K P. *Interactions of Surfactants with Polymers and Proteins*. New York: CRC Press Inc., 1993. 319.
- [4] ZHENG Zhi-wen, YANG Pei-hui, FENG De-xiong, et al(郑志雯, 杨培慧, 冯德雄, 等). *Journal of Jinan University(Natural Science)(暨南大学学报·自然科学版)*, 2003, 24(5): 106.
- [5] LIU Hui-zhou, YANG Wei-jin, CHEN Jia-yong. *Biochemical Engineering Journal*, 1998, 2: 187.
- [6] ZHU Shu-fa, TANG Jun-ming, MA Xiao-ming, et al(朱书法, 汤俊明, 马晓明, 等). *Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)*, 2003, 23(3): 477.

Study on Interaction of Anionic Surfactant SDS and Bovine Serum Albumin by Fourier Transform Infrared Spectroscopy

WANG Jing^{1, 2}, GUO Chen¹, LIANG Xiang-feng^{1, 2}, ZHENG Li-li^{1, 2}, CHEN Shu^{1, 2}, MA Jun-he^{1, 2}, LIU Hui-zhou^{1*}

1. Young Scientist Laboratory of Separation Science and Engineering, State Key Laboratory of Biochemical Engineering, Institute of Process Engineering, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China
2. Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China

Abstract FTIR spectroscopy was applied to investigate the interaction of anionic surfactant Sodium Dodecyl Sulfate (SDS) and Bovine Serum Albumin (BSA). Amide band I of BSA was analyzed to obtain the change in secondary structure of BSA when different concentration of SDS was added and during different interaction period. In short interaction period and at low concentration of SDS, the α -helixes increased and the random coil decreased. In long interaction period or at high concentration of SDS, SDS unfolded the protein by decreasing the α -helix structure and increasing the random coil.

Keywords SDS; BSA; FTIR

(Received May 18, 2005; accepted Aug. 8, 2005)

* Corresponding author