

# 估算供体-受体对荧光共振能量传递效率的研究

王进, 王晶\*, 孙依红, 孟继武

中国海洋大学光学光电子实验室, 山东 青岛 266071

**摘要** 在有机白光LED的研究中, 能量传递效率计算方法的研究是一项很有意义的工作。作者在总结前人工作的基础上, 提出了一种利用有机分子发射谱和激发谱估算有机分子荧光共振能量传递(FRET)效率相对值的新方法, 这种方法的优点是数据处理过程简单, 对实验仪器设备要求不高, 并且不需要通常计算方法所需的荧光量子产率等参数, 缺点是只能计算能量传递的相对值。利用这种方法计算了甲萘酚、溴甲酚紫、荧光素钠盐三种能量受体和能量供体核黄素在不同浓度下能量传递效率的相对值, 计算结果与实验结果基本符合, 验证了此方法的合理性。

**主题词** 供体发射谱; 受体激发谱; 荧光共振能量传递效率; 乘积积分估算法

**中图分类号:** O433.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-0593(2006)02-0279-03

## 引言

在有机光转换白光LED的研究中, 供体-受体对的能量传递效率的大小对提高光转换白光LED的光效有着至关重要的影响, 能量供体、受体间的荧光共振能量传递是研究者关心的一个重要问题<sup>[1,2]</sup>, 因此对能量传递效率计算方法的研究是一项很有意义的工作。Gordon<sup>[3]</sup>提出了使用3组不同的滤光片, 分别测量供体、受体以及供体-受体对在各组滤光片下的荧光强度来计算能量传递效率的方法。骆清铭<sup>[4,6]</sup>研究小组改进了Gordon的方法, 提出了利用供体和受体各自的发射谱拟合供体-受体对发射谱来计算能量传递效率的方法。这些方法的优点是计算精度高, 可以准确计算能量传递效率数值, 但是计算过程比较复杂, 对实验仪器设备要求比较高, 还需要受体的荧光量子产率等参数, 这对于一些特殊物质是比较困难的。在有机光转换白光LED的研究经常遇到这样的情况: 有若干种能量供体或受体分子, 只需要这些供体-受体对荧光强度的相对大小, 以对有机光转换白光LED荧光物质的选择提供参考, 而对其传递效率的具体数值并不关心。因此, 提出一种简单易行, 不需要太多参量的估算有机分子荧光共振能量传递效率的方法对光转换白光LED的研究来讲是必要的。本文提出了一种利用有机分子发射谱和激发谱估算有机分子荧光能量传递效率的简便方法, 利用这种方法计算了甲萘酚、溴甲酚紫、荧光素钠盐三种能量受体和能量供体核黄素, 在不同浓度下能量传递效率相对

值, 并进行了实验验证。

## 1 原理和方法

荧光共振能量转移(FRET)仅当受体与供体间的距离小于10 nm且受体的吸收光谱和供体的发射光谱有重叠时才能发生, 并且随着光谱重叠的增加, FRET的效率将增高。

在某一波长下 $\lambda_i$ , 供体发射谱和受体吸收谱对应的相对强度分别为 $Y_{emi}$ ,  $Y_{exi}$ , 将受体的吸收谱看作对供体发射谱的调制函数, 在光谱重叠区域 $\lambda_a$ 到 $\lambda_b$ 之间对其乘积进行积分, 即

$$S = \int_{\lambda_a}^{\lambda_b} Y_{emi} \times Y_{exi} \quad (1)$$

积分面积 $S$ 在一定程度上就能够反映供体-受体之间FRET的效率, 对不同受体的 $S$ 进行排序, 以确定几种供体-受体之间的FRET的效率高低。实际工作中使用C语言编程计算 $S$ 。由于物质的激发谱和吸收谱是相似的, 本文用激发谱代替吸收谱进行计算。

## 2 实验

### 2.1 方法和装置

本文中能量供体均为 $2.0 \times 10^{-4} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的核黄素乙醇溶液, 能量受体为荧光素钠盐、甲萘酚和溴甲酚紫, 每一种受体分别配制了三种不同浓度的溶液。为了与理论计算的结

收稿日期: 2004-08-26, 修订日期: 2005-01-20

基金项目: 国家自然科学基金(10074012), 青岛市科技局(02-2-kj-yj-26)和(04-3-GX-33)资助项目

作者简介: 王进, 1979年生, 中国海洋大学光学光电子实验室硕士研究生 \* 通讯联系人

果对照, 实验中又配制了相同浓度的能量受体与能量供体核黄素的混和溶液。

各溶液的激发谱和发射谱由 RF-5301PC 紫外-可见荧光分光光度计测得。

## 2.2 激发波长的选择

为了避免能量供体和受体的激发光谱串扰, 实验中必须选择合适的激发波长, 使得供体得到最佳的激发, 而受体不能被激发, 使受体的荧光全部来自荧光共振能量传递, 即实现选择性激发。

图 1 是实验中所用的 9 种能量受体溶液和能量供体核黄素的激发谱, 虚线是核黄素的激发谱。从谱线上可以看出, 核黄素的激发峰位于 466 nm 处。考察其他 9 种受体在 466 nm 处均几乎没有吸收。因此选择 466 nm 作为激发波长。

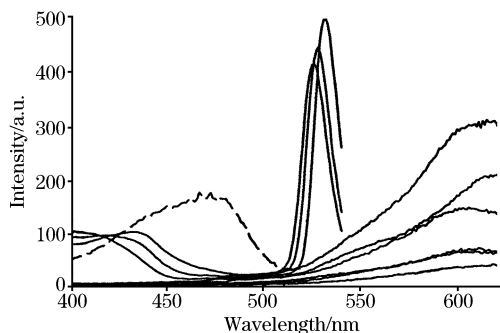


Fig. 1 The excitation spectra of donor and acceptors (dashed is the donor riboflavin)

## 2.3 光谱的测量和计算

利用 RF-5301PC 紫外-可见荧光分光光度计自带的程序, 将图 1 中各种能量受体的激发谱和能量供体核黄素的发射谱导出为数据文件, 导入计算程序, 按照(1)式计算乘积积分面积  $S$  如下。

Table 1 The integral area of donors with different concentrations

物质	浓度/( $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	乘积积分面积	排序
荧光素钠盐	$8 \times 10^{-4}$	120 497	1
	$4 \times 10^{-4}$	116 258	2
	$2 \times 10^{-4}$	115 294	3
甲萘酚	$4 \times 10^{-5}$	38 605	1
	$8 \times 10^{-6}$	20 064	3
	$1.6 \times 10^{-6}$	35 180	2
溴甲酚紫	$4 \times 10^{-5}$	92 432	2
	$8 \times 10^{-6}$	143 570	1
	$1.6 \times 10^{-6}$	76 755	3

实验中, 荧光素钠盐的实验条件设置为: 狭缝宽度 3.0 nm(带通), 灵敏度: 低; 甲萘酚和溴甲酚紫的条件设置为: 狭缝宽度 5.0 nm, 灵敏度: 高。实验条件设置不同是由于选择相同条件时, 甲萘酚和溴甲酚紫的激发谱非常微弱, 与光谱仪的噪声难以区分, 所以加大狭缝宽度和使用高灵敏度测量。

## 2.4 实验验证

如果本文提出的方法是可行的, 那么乘积积分面积  $S$  越大, 能量传递的效率也就越高, 相应混和溶液的荧光就越强, 即发射谱的积分面积就越大。实验中采用前述 466 nm 蓝光作为激发光, 使用 RF-5301 紫外可见荧光分光光度计测量了上述 9 种能量受体和核黄素混和溶液的发射谱, 并利用光度计的积分程序分别计算了各种浓度下能量受体的发射谱面积。

### (a) 荧光素钠盐

图 2 中按峰值由高到低, 浓度分别为  $8 \times 10^{-4}$ ,  $4 \times 10^{-4}$ ,  $2 \times 10^{-4} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的荧光素钠盐溶液的曲线, 表 2 是计算结果。

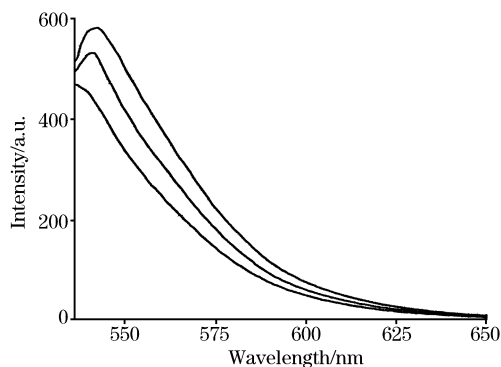


Fig. 2 The emission spectra of fluorescein sodium in the mixture

Table 2 Integral area of fluorescein sodium in the mixture

浓度/( $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	积分面积	排序
$8 \times 10^{-4}$	19 811	1
$4 \times 10^{-4}$	16 405	2
$2 \times 10^{-4}$	13 177	3

### (b) 甲萘酚

图 3 中, 按峰值由高到低, 浓度分别为  $4 \times 10^{-5}$ ,  $1.6 \times 10^{-6}$ ,  $8 \times 10^{-6} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的甲萘酚溶液的曲线, 表 3 是计算结果。

### (c) 溴甲酚紫

图 4 中, 按 550 nm 处的峰值由高到低, 浓度分别为  $8 \times 10^{-6}$ ,  $4 \times 10^{-5}$ ,  $1.6 \times 10^{-6} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的溴甲酚紫溶液的曲线, 表 4 是计算结果。

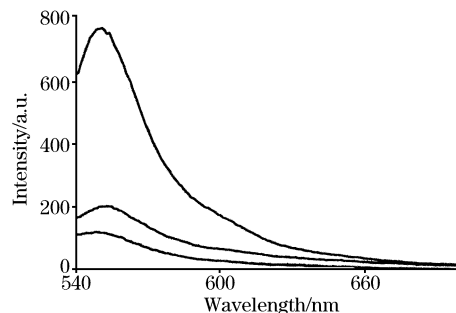


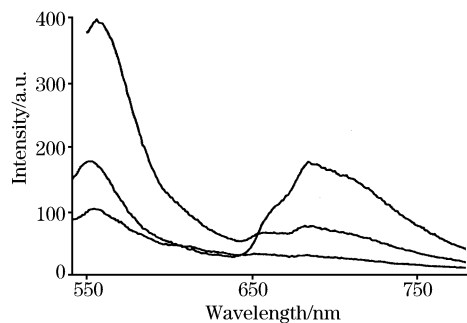
Fig. 3 The emission spectra of  $\alpha$ -naphthol in the mixture

**Table 3** Integral area of  $\alpha$ -naphthol in the mixture

浓度/(g · mL <sup>-1</sup> )	积分面积	排序
$4 \times 10^{-5}$	34 627	1
$8 \times 10^{-6}$	54 39	3
$1.6 \times 10^{-6}$	11 771	2

**Table 4** Integral area of bromocresol purple in the mixture

浓度/(g · mL <sup>-1</sup> )	积分面积	排序
$4 \times 10^{-5}$	23 166	2
$8 \times 10^{-6}$	24 211	1
$1.6 \times 10^{-6}$	8 631	3

**Fig. 4** The emission spectra of bromocresol purple in the mixture

### 3 结 论

综合上述结果,对于核黄素与萤光素钠盐、甲萘酚、溴甲酚紫,采用本文提出的通过供体发射谱和受体激发谱估算有机分子之间的共振能量转移效率的方法所得的结果与实验结果吻合,充分证明了:如果乘积积分面积越大,显然能量传递的效率也就越高,那么相应混和溶液的荧光就越强,即发射谱积分面积就越大。因而本文提出的方法是可行的。能量传递在材料(有机化合物和生化材料)的研究中是重要的课题<sup>[7]</sup>。所以本工作很有实际意义。

### 参 考 文 献

- [1] WU P, Brand L. Analytical Biochemistry, 1994, 218: 1.
- [2] LIU Jun-feng, TENG Feng, XU Zheng, et al(刘峻峰, 滕枫, 徐征, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2004, 24(5): 519.
- [3] Gordon G W, Berry G, Liang X H, et al. Biophys. J., 1998, 74: 2702.
- [4] CHEN Tong-sheng, ZENG Shao-qun, LUO Qing-ming, et al(陈同生, 曾绍群, 骆清铭, 等). Acta Biophysica Sinica(生物物理学报), 2002, 18(3): 133.
- [5] CHEN Tong-sheng, ZENG Shao-qun, LUO Qing-ming(陈同生, 曾绍群, 骆清铭). Acta Photonica Sinica(光子学报) 2001, 30(3): 300.
- [6] CHEN Tong-sheng, ZENG Shao-qun, ZHOU Wei, et al(陈同生, 曾绍群, 周炜, 等). Progress in Natural Science(自然科学进展), 2003, 13(12): 1312.
- [7] GAO Feng, ZHU Chang-qing, WANG Lun(高峰, 朱昌清, 汪伦). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2004, 24(1): 85.

## Investigation of Calculating the FRET Efficiency of Donor-Acceptor Pair

WANG Jin, WANG Jing\*, SUN Yi-hong, MENG Ji-wu

Optics and Optoelectronics Laboratory, Ocean University of China, Qingdao 266071, China

**Abstract** The research on the method of calculating FRET efficiency is important to organic white LED research. In the present article, a new method of calculating the FRET efficiency of donor-acceptor pair by means of emission and excitation spectra was investigated. This method is easy to use to process data, needs only normal experiment equipments and doesn't need the parameters such as fluorescence quantum yield. However it can only be used to calculate comparative result. With this method, the FRET efficiency of fluorescein sodium,  $\alpha$ -naphthol, bromocresol purple and riboflavin with different concentrations was studied, and the results match the experimental results completely, so this method has proved to be reasonable.

**Keywords** Emission spectrum of donor; Excitation spectra of acceptor; Efficiency of fluorescence resonance energy transfer (FRET); Assessment method of product integral

(Received Aug. 26, 2004; accepted Jan. 20, 2005)

\* Corresponding author