

水溶性 L-Cys-CdS 量子点与牛血清白蛋白相互作用研究

郭伟, 闫云辉, 于洁 (新乡医学院化学教研室, 河南新乡 453003)

摘要 [目的] 初步研究具有良好水溶性和生物相容性的 L-Cys-CdS 量子点与牛血清白蛋白(BSA)的相互作用。[方法] 以 L-半胱氨酸为稳定剂, 采用配位化学原理合成具有良好水溶性和生物相容性的 CdS 量子点, 通过紫外-可见光谱及荧光光谱对该量子点与 BSA 的相互作用、BSA 溶液浓度及酸度对量子点-BSA 溶液荧光强度的影响进行了初步研究。[结果] L-Cys-CdS 量子点与 BSA 形成的复合物发光性能更强, BSA 的浓度及酸度对复合物的荧光强度均有影响。[结论] 为进一步将优良光学性质的水溶性量子点应用于生物样品的测定打下基础, 对量子点用作蛋白质探针研究具有一定的指导意义。

关键词 CdS 量子点; L-半胱氨酸; 牛血清白蛋白; 光谱性质

中图分类号 S312 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2009)33-16230-02

Study on the Interaction between Water-soluble L-Cys-CdS Quantum Dots and Bovine Serum Albumin

GUO Wei et al (Department of Chemistry; Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453003)

Abstract [Objective] The research aimed to study the interaction between water-soluble L-Cys-CdS Quantum Dots (QDs) and bovine serum albumin (BSA). [Method] The water-soluble L-Cys-CdS QDs with excellent biocompatibility were prepared with L-cysteine as stabilizer according to coordination chemistry principles, the interaction between L-Cys-CdS QDs and BSA were inspected by UV-Vis absorption spectrum and fluorescence spectroscopy including the relationship between the fluorescence intensity of L-Cys-CdS-BSA complex and the concentration or acidity of BSA solution. [Result] Electrostatic interaction and coordination may exist between L-Cys-CdS QDs and BSA, the complex they formed showed stronger luminescence properties that were also influenced by the concentration or acidity of BSA solution. [Conclusion] The results laid the foundation for detecting biological macromolecules as fluorescence probes.

Key words CdS QDs; L-cysteine; Bovine serum albumin; Spectral nature

量子点(QD)是显示量子尺寸效应的半导体纳米晶体, 由于具有独特的光学和电学性质, 其在免疫生物学和临床检验学等研究中的潜在应用价值引起了广大研究者的极大兴趣^[1-2]。但是早期所合成的量子点是在有机溶剂中制备并分散在有机溶剂中, 不能直接与生物物质作用。1998年, Nie 等将 QD 的表面连接上巯基乙酸, 成功地将量子点从有机溶剂转移到水相中, 而且可与生物分子相结合, 而结合的生物分子可识别一些特定的物质, 如蛋白质、DNA 等^[3]。硫化镉(CdS)是 II-VI 族化合物半导体中被研究得较多的材料^[4-5]。CdS 纳米晶体可作为荧光探针应用于生物传感器、生物分子(核酸、DNA、蛋白质等)标记、医学诊断及痕量重金属离子的检测等^[6]。笔者采用 L-半胱氨酸(L-Cys)为稳定剂, 直接在水溶液中合成了具有良好水溶性和生物相容性的 CdS 量子点, 采用光谱分析初步研究了该量子点与牛血清白蛋白(BSA)的相互作用, 旨在为今后全面研究量子点与生物大分子的相互作用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料 日本岛津 UV-2550 紫外-可见分光光度计; 日本岛津 RF-540 荧光分光光度计; pH-3C 型精密酸度计(上海雷磁仪器厂)。

Cd(NO₃)₂·4H₂O、Na₂S·9H₂O、L-Cys 均为分析纯试剂; BSA, 相对分子质量 67 000, 来自 Sigma 公司; 试验用水均为二次蒸馏水。

1.2 方法

1.2.1 L-Cys-CdS(L-半胱氨酸-硫化镉)量子点的合成。于常温下在 50 ml 锥形瓶中注入 7.5 ml 浓度 0.01 mol/L 的 Cd(NO₃)₂ 溶液; 边搅拌边缓慢加入浓度 0.01 mol/L L-Cys 15

ml, 磁力搅拌反应 60 min; 缓慢加入 7.5 ml 浓度 0.01 mol/L Na₂S 溶液, 逐渐变成浅黄色, 继续搅拌反应 6 h, 得到均匀、透明的 L-Cys-CdS 量子点水溶胶; 用二次蒸馏水按一定比例稀释后使用。

1.2.2 L-Cys-CdS 量子点与 BSA 的相互作用。将 BSA 分别用 pH 值为 4.5、5.5、7.0 的缓冲溶液配制成一定浓度梯度的溶液, 并在 4 °C 保存; 用 pH 值为 7.0 的缓冲溶液将 L-Cys-CdS 量子点溶液稀释 20 倍, 备用。取 BSA 溶液与 L-Cys-CdS 量子点溶液按体积比 1:1 混合后进行光谱试验。

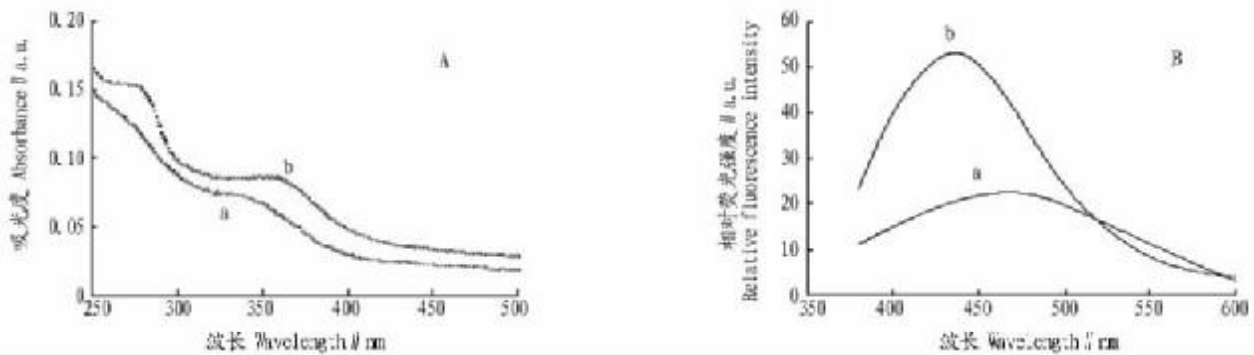
2 结果与分析

2.1 L-Cys-CdS 量子点及量子点-BSA 溶液的紫外、荧光光谱 图 1A 和图 1B 为量子点与 BSA 溶液按体积比 1:1 混合前后的紫外光谱和荧光光谱。由图 1A 中曲线 a 可以看出, 该量子点在 340 nm 处具有明显的紫外吸收峰, 且相对 CdS 块材吸收波长(515 nm)显著蓝移, 表现出明显的量子尺寸效应。这是由于 L-Cys 分子中 -COO⁻ 和 -NH₂ 均可与体系中的 Cd²⁺ 结合, 并且由于分子中的巯基与 CdS 量子点的 Cd(II) 之间存在较强的配位作用^[7], 使半胱氨酸吸附在 CdS 量子点的表面, 较大程度地限制了 CdS 量子点的生长。并且由图 1A 可以看出, L-Cys-CdS 量子点中加入 BSA 后(图 1A 曲线 b), 相应的紫外吸收峰明显增大, 且峰位置发生红移, 峰位置的红移则表明形成复合物后, 该量子点的粒径有所增大。由图 1B 中曲线 a 可以看出, 该量子点在 470 nm 处具有明显的荧光发射峰, 并且 L-Cys-CdS 量子点中加入 BSA 后(图 1B 曲线 b), 体系的荧光强度明显增大, 且荧光峰位置发生蓝移。这可能是由于量子点表面与 BSA 分子之间存在静电或配位作用^[8], 形成稳定的 L-Cys-CdS-BSA 复合物, 一方面 BSA 对 L-Cys-CdS 量子点起到进一步的表面修饰作用, 减少了量子点的表面缺陷, 从而使荧光增强; 另一方面, 量子点表面的羧基与 BSA 表面的氨基可以共价结合, 使量子点表面电荷减少, 从而降低了 L-Cys-CdS 量子点周围分子的定向极

基金项目 新乡医学院资助项目。

作者简介 郭伟(1980-), 女, 河南新乡人, 硕士, 讲师, 从事纳米材料在生物学中的应用研究。

收稿日期 2009-07-20



注:A 为紫外光谱图;B 为荧光光谱图。

Note:A, UV spectra; B, Fluorescence spectra.

图1 量子点 L-Cys-CdS(a)和 L-Cys-CdS-BSA 复合物(b)的紫外光谱和荧光光谱

Fig.1 UV and fluorescence absorption spectra of L-Cys-CdS QDs(a) and L-Cys-CdS-BSA complex(b)

化率,使其斯托克斯(Stokes)位移减小,所以荧光发射光谱发生了蓝移^[9]。

2.2 BSA 浓度对复合物荧光强度的影响 将不同浓度 BSA 溶液与量子点溶液按体积比 1:1 相互混合,监测所形成 L-Cys-CdS-BSA 复合物的荧光强度,得到 BSA 溶液浓度与 L-Cys-CdS-BSA 复合物的荧光强度的关系(图 2)。由图 2 可知,随着 BSA 浓度的增加,与量子点复合后荧光强度明显增大,在一定范围内荧光强度与 BSA 浓度几乎呈线性关系;继续增加其用量则荧光强度变化缓慢,可能是因为随 BSA 量的增加,它与量子点复合的量也增加,对量子点的表面包覆效果越好,从而减少了量子点的表面缺陷,使得量子点的荧光产率增加。而在量子点表面存在着有限的结合位点,当复合未达到平衡之前,复合物的荧光强度随 BSA 浓度的增加变化很大,复合达平衡后,其荧光强度受 BSA 浓度的影响就很小^[10]。

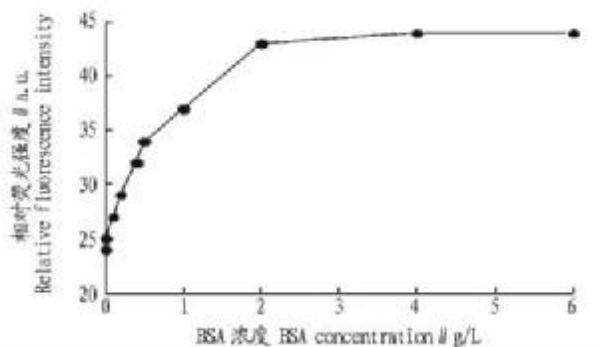
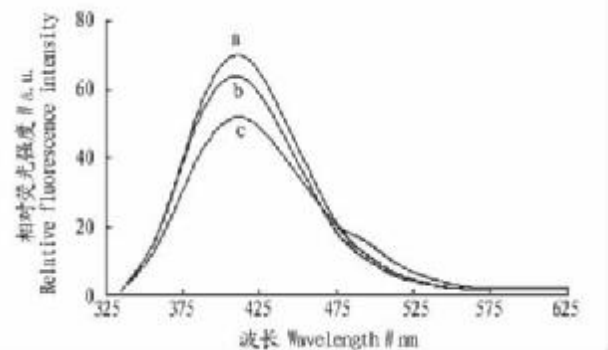


图2 BSA 浓度与 L-Cys-CdS-BSA 复合物荧光强度的关系

Fig.2 Relationship between of BSA concentration and the fluorescence intensity of L-Cys-CdS-BSA complex

2.3 pH 值对复合物荧光强度的影响 将浓度 1.0 g/L BSA 溶液在不同酸度下与 pH 值 7.0 L-Cys-CdS 量子点溶液复合,分别测定其荧光强度,结果见图 3。当 BSA 溶液的 pH 值为 4.5 时,其与量子点形成的复合物所产生的荧光强度最大; pH 值为 5.5 的 BSA 溶液与量子点形成的复合物荧光强度次之;而 pH 值为 7.0 的 BSA 溶液与量子点形成的复合物的荧光强度最小。半胱氨酸的等电点为 pH 值 5.02,该试验中所配 L-Cys-CdS 溶液 pH 值为 7.0,因此该量子点表面荷负电; BSA 的等电点为 pH 值 5.5,因此试验中配制 pH 值 4.5 的 BSA 溶液,其表面荷正电;pH 值 5.5 的 BSA 溶液,其表面呈电中性。BSA 与量子点之间的作用力可能包括静电作用,并

且在一定条件下占主导地位,因此,当调节二者荷电性相反时,其相互作用最强,对量子点的表面包覆效果最好,荧光强度最大。



注:a 指 pH 值 4.5;b 指 pH 值 5.5;c 指 pH 值 7.0。

Note:a, pH value of 4.5; b, pH value of 5.5; c, pH value of 7.0.

图3 BSA 溶液酸度与 L-Cys-CdS-BSA 复合物荧光强度的关系

Fig.3 Relationship between the acidity of BSA solution and the fluorescence intensity of L-Cys-CdS-BSA complex

3 结论

在室温条件下,以水为溶剂,用简便的方法成功地合成了具有良好水溶性和生物相容性的 L-Cys-CdS 量子点,并采用紫外和荧光光谱研究了该量子点与 BSA 的相互作用、BSA 溶液浓度及酸度对量子点-BSA 溶液荧光强度的影响。试验结果表明,L-Cys-CdS 量子点与 BSA 形成的复合物发光性能更强;复合物的荧光强度随 BSA 浓度的增加变化很大,复合达平衡后,其荧光强度受 BSA 浓度的影响就很小;当 BSA 溶液的 pH 值为 4.5 时,其与量子点荷相反电性时,所形成的复合物产生的荧光强度最大。笔者推测 BSA 与量子点之间的作用力可能包括静电作用,并且在一定条件下占主导地位。试验结果为进一步将优良光学性质的水溶性量子点应用于生物样品的测定打下基础,对量子点用作蛋白质探针研究具有一定的指导意义。

参考文献

- [1] BRUCHE M J, MORONNE M, GIN P, et al. Semiconductor nanocrystals as fluorescent biological labels[J]. Science, 1998, 281: 2013 - 2016.
- [2] 谭翠燕, 梁汝强, 阮康成. 量子点在生命科学中的应用[J]. 生物化学与生物物理学报, 2002(1): 1 - 5.
- [3] CHAN W C, NIE S. Quantum dot bioconjugates for ultrasensitive nonisotopic detection[J]. Science, 1998, 281(5385): 2016 - 2018.

(下转第 16239 页)

放约 90 d, 萌发率可达 70.0% 以上^[40]; 低温层积是解除八棱海棠 (*Malus robusta*) 种子休眠的有效方法^[41], 层积 80 d 后即可解除种子休眠, 但赤霉素溶液浸泡后, 再低温层积可显著缩短层积时间; 秤锤树 (*Sinojackia xylocarpa*) 种子经浓硫酸处理 2 d, 再用 500 mg/L GA₃ 处理后, 在室外低温层积一冬, 发芽率可达 40.0%, 而对照种子则未萌发^[42]; 狷实 (*Kolkwitzia amabilis*) 种子打破休眠的最佳方法为浓硫酸处理 15 min, 并用 400 mg/L 赤霉素处理^[43]; 东北刺人参 (*Oplopanax elatus*) 种子需要先温暖层积以完成胚的分化与生长, 然后转入低温层积完成生理后熟^[44]。

4 结语

随着研究方法和手段的不断改进, 人们对于种子休眠机理的认识必将更进一步的深入, 破除种子休眠的方法将更进一步的完善。

参考文献

- [1] 颜启传. 种子学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001.
- [2] 杨期和, 尹小娟, 叶万辉, 等. 顽拗型种子的生物学特性及种子顽拗性的进化[J]. 生态学杂志, 2006, 25(1): 79-86.
- [3] LANG G A. Plant dormancy [M]. Oxford: CAB International Pergamon Press, 1996.
- [4] 杨期和, 叶万辉, 宋松泉, 等. 植物种子休眠的原因及休眠的多形性[J]. 西北植物学报, 2003, 23(5): 843-937.
- [5] ROLSTON M P. Water impermeable seed dormancy [J]. The Bot Rev, 1978, 44(3): 365-396.
- [6] 许桂芳, 刘明久, 席世丽, 等. 破除红蓼种子休眠研究初报[J]. 种子, 2005, 24(1): 24-25.
- [7] 何保良, 王林辉, 胡英, 等. 打破紫云英种子休眠方法初探[J]. 作物研究, 2007(2): 126-127.
- [8] 孙婷, 刘鹏, 徐根娣. 栝楼种子休眠特性分析[J]. 中国农业科学, 2008, 41(12): 4273-7280.
- [9] 唐安军, 龙春林, 刀志灵. 种子休眠机理研究概述[J]. 云南植物研究, 2004, 26(3): 241-251.
- [10] 韩建国. 实用牧草种子学[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 1997.
- [11] 周元. 滇青冈种子的萌发[J]. 植物生理学通讯, 2003, 39(4): 325-326.
- [12] 林珊珊, 蔡汉权, 赖钟雄, 等. 浓硫酸与沸水浸泡对厚荚相思种子离体萌发的影响[J]. 种子, 2005, 24(8): 34-40.
- [13] 熊丹, 陈发菊, 梁宏伟, 等. 珍稀濒危植物连香树种子萌发的研究[J]. 福建林业科技, 2007, 34(1): 36-39.
- [14] 孙跃春, 樊奋成, 张英俊. 预冷打破种子休眠的研究进展[J]. 种子, 2004, 23(10): 52-53.
- [15] 周洪英, 金平, 邹天才. 温度对南方红豆杉种子萌发的影响[J]. 贵州科学, 1998, 16(2): 116-119.
- [16] 金鹰, 陈宇, 王莉, 等. 影响琼花种子休眠的因素[J]. 植物生理学通讯, 2005, 41(5): 610-612.
- [17] 叶安华, 龙启炎, 周国林, 等. 不同沙藏处理对水芹种子发芽的影响[J]. 种子, 2005, 24(11): 67-68.
- [18] 李铁华, 彭险峰, 喻助林, 等. 楠木种子休眠与萌发特性的研究[J]. 中国种业, 2008(1): 43-45.
- [19] 甘阳英, 李绍华, 宋松泉, 等. 不同种源的葡萄种子休眠及其解除的研究[J]. 生物多样性, 2008, 16(6): 570-577.
- [20] 盛晋华, 张雄杰, 刘宏义, 等. 肉苁蓉种子后熟阶段内源激素含量变化[J]. 种子, 2006, 25(4): 1-7.
- [21] 徐秀梅, 张新华, 王汉杰. ⁶⁰Co γ 射线辐照对马蔺种子萌发的影响[J]. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2003, 27(1): 55-58.
- [22] 徐盛春, 沈晓贤, 王世恒, 等. 丝瓜种子破除休眠的研究[J]. 种子, 2006, 25(1): 41-42.
- [23] 刘丽莉, 冯涛, 严明理, 等. 几种破除美洲商陆种子休眠的方法[J]. 植物生理学通讯, 2007, 43(4): 795-796.
- [24] 李铁华, 周佑勋, 段小平, 等. 香果树种子休眠和萌发的生理特性[J]. 中南林业学院学报, 2004, 24(2): 82-84.
- [25] 郑健, 郭守华, 宋瑜, 等. 臭椿种子萌发最适条件研究[J]. 西北植物学报, 2007, 27(5): 859-863.
- [26] 杨慧玲, 刘健全. 重要藏药川西獐牙菜种子萌发的研究[J]. 云南植物研究, 2005, 27(3): 295-300.
- [27] 郑艳玲, 孙卫邦, 赵兴峰. 极度濒危植物华盖木的种子休眠与萌发[J]. 植物生理学通讯, 2008, 44(1): 100-102.
- [28] 陈伟, 杨楼, 马绍宾. 濒危药用植物桃儿七种子的萌发特性初探[J]. 种子, 2008, 27(4): 49-51.
- [29] 史锋厚, 朱灿灿, 沈永宝, 等. 南京椴种子的萌发与休眠[J]. 福建林业学院学报, 2008, 28(1): 48-51.
- [30] 李铁华. 木荷种子休眠与萌发特性的研究[J]. 种子, 2004, 23(6): 15-17.
- [31] 李秀霞, 王波, 翟登攀, 等. 榛树种子的休眠和萌发[J]. 植物生理学通讯, 2003, 39(2): 137-138.
- [32] 胡小文, 武艳培, 王彦荣, 等. 豆科种子休眠破除方法初探[J]. 西北植物学报, 2009, 29(3): 568-573.
- [33] 周颂东, 罗鹏. 不同药剂对破除播娘蒿种子休眠的效应[J]. 四川师范学院学报: 自然科学版, 1998, 19(3): 300-303.
- [34] 房丽宁, 李青丰, 李淑君, 等. 打破苔草种子休眠方法的研究[J]. 草业科学, 1998, 15(5): 39-48.
- [35] 黄碧琦, 张维金, 张泽煌. 茄子种子打破休眠的预处理技术[J]. 福建农业大学学报, 1998, 27(2): 166-171.
- [36] 刘自刚. 桔梗种子休眠解除方法研究[J]. 种子, 2009, 28(1): 72-75.
- [37] 程喜梅, 叶永忠, 卫蔚. 外种皮对香果树种子休眠的影响[J]. 林业实用技术, 2008(3): 3-5.
- [38] 杨期和, 廖富林, 温献环, 等. 三药槟榔种子休眠与萌发的研究[J]. 广西植物, 2005, 25(6): 549-554.
- [39] 刘杰, 刘公社, 齐冬梅, 等. 聚乙二醇处理对羊草种子萌发及活性氧代谢的影响[J]. 草业学报, 2002, 11(1): 59-64.
- [40] 符近, 奇文清, 顾增辉, 等. 南川升麻种子休眠与萌发的研究[J]. 植物学报, 1998, 40(4): 303-308.
- [41] 付红祥, 汤庚国, 魏晓杰. 八棱海棠种子解除休眠方法的研究[J]. 林业科技开发, 2007, 21(1): 31-33.
- [42] 史晓华, 黎念林, 金玲, 等. 秤锤树种子休眠与萌发的初步研究[J]. 浙江林学院学报, 1999, 16(3): 228-233.
- [43] 何志, 唐宇丹, 石雷, 等. 狷实种子休眠特性研究[J]. 园艺学报, 2008, 35(10): 1505-1510.
- [44] 刘继生, 张鹏, 沈海龙, 等. 东北刺人参种子萌发影响因子的研究[J]. 植物学通报, 2005, 22(2): 183-189.

(上接第 16231 页)

- [4] WU C L, ZHAO Y B. CdS quantum dots as fluorescence probes for the sensitive and selective detection of highly reactive Hse-ions in aqueous solution [J]. Anal Bioanal Chem, 2007, 388: 717-722.
- [5] LIU M C, SHI G Y, ZHANG L, et al. Quantum dots modified electrode and its application in electroanalysis of hemoglobin [J]. Electrochemistry Communications, 2006, 8: 305-310.
- [6] 崔庆新, 赵学武, 王磊, 等. 新型荧光探针量子点在生命科学和药学中的应用[J]. 中国药理学杂志, 2008, 43(1): 4-6.
- [7] 刘辉, 李文友, 尹洪宗, 等. CdS 纳米粒子与半胱氨酸相互作用的研究[J]. 高等学校化学学报, 2005, 9(26): 1618-1622.
- [8] 王雪婷, 于俊生, 谢颖. 水溶性 CdSe/CdS 量子点的合成及其与牛血清蛋白的共轭作用[J]. 无机化学学报, 2007, 23(7): 1185-1193.
- [9] 林章碧, 苏星光, 张皓, 等. 用水溶液中合成的量子点作为生物荧光标记物的研究[J]. 高等学校化学学报, 2003, 24(2): 216-220.
- [10] 张爱梅, 闫炜, 王怀生. CdTe/CdS 量子点-蛋白质与头孢曲松钠的相互作用[J]. 分析化学, 2008, 36(4): 444-448.