

[Article]

www.whxb.pku.edu.cn

细胞色素 c 在硒代胱氨酸修饰电极上的直接电化学

梁敏思 白燕* 刘敏 郑文杰*

(暨南大学化学系, 广州 510632)

摘要: 采用电化学和接触角实验方法研究了硒代胱氨酸自组装膜修饰金电极(SeCys SAMs/Au)和十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)-硒代胱氨酸自组装复合膜修饰金电极(CTAB-SeCys SAMs/Au)的特性. 探讨了细胞色素 c (Cyt c)在 SeCys SAMs/Au 电极和 CTAB-SeCys SAMs/Au 电极上的电化学行为. 实验证明 SeCys 可促进 Cyt c 在电极上的氧化还原反应, 加入 CTAB 后其与 SeCys 之间的协同作用可在 Cyt c 与电极之间形成一个开放的通道, 促进作用更加明显, 且在一定浓度范围内, 随 CTAB 浓度(1×10^{-5} – 1×10^{-4} mol·L⁻¹)的增大, Cyt c 在 CTAB-SeCys SAMs/Au 电极上的氧化还原电流增大, 在接近临界胶束浓度处出现极大值. 在 CTAB-SeCys SAMs/Au 电极上 Cyt c 产生一对氧化还原峰, 其峰电位分别为 0.305 和 0.235 V, 其电化学过程受扩散控制. 光谱实验证实 SeCys 对 Cyt c 电化学过程的促进作用是由于 SeCys 与 Cyt c 中赖氨酸残基的结合.

关键词: 硒代胱氨酸; 细胞色素 c; 自组装; 表面活性剂

中图分类号: O646; O657

Electrochemical Reaction of Cytochrome c at Selenocystine Self-assembled Monolayers Modified Electrodes

LIANG Min-Si BAI Yan* LIU Min ZHENG Wen-Jie*

(Department of Chemistry, Jinan University, Guangzhou 510632, P. R. China)

Abstract: Properties of selenocystine self-assembled monolayers at gold electrode (SeCys SAMs/Au) and hexadecyltrimethylammonium bromide (CTAB)-selenocystine self-assembled bilayers at a gold electrode (CTAB-SeCys SAMs/Au) were investigated by electrochemical and contact angle experiments. The electrochemical behavior of cytochrome c (Cyt c) on SeCys SAMs/Au and CTAB-SeCys SAMs/Au electrodes are discussed. We show that SeCys and CTAB-SeCys can promote the redox reaction of Cyt c on these electrodes. The promoting effect of CTAB-SeCys is stronger than of SeCys. We found that the current of the redox reaction of Cyt c increased when the concentration of CTAB increased from 1×10^{-5} to 1×10^{-4} mol·L⁻¹. The maximum current was observed when the concentration was close to the critical micelle concentration (cmc) of CTAB. The redox peaks of Cyt c on the CTAB-SeCys SAMs/Au electrode are 0.305 and 0.235 V, respectively and the electrochemical behavior is diffusion controlled. The promoting effect of SeCys was found to be due to a combination of SeCys and remnant group of lysine in Cyt c.

Key Words: Selenocystine; Cytochrome c; Self-assemble; Surfactant

细胞色素 c(Cyt c)是一种以铁卟啉为辅基的可溶性色素蛋白, 其多肽链由 104 个氨基酸构成, 普遍存在于原核生物和真核生物中, 是构成细胞呼吸链的主要成员之一. 为揭示 Cyt c 在生物体内电子

传递反应的实质, 人们模拟其在生物体内的微环境, 开展了 Cyt c 在自组装膜(SAMs)上的直接电化学研究^[1-3]. 大量的研究表明, 基于含硫氨基酸在金电极上的强烈吸附构筑的 SAMs 可加速 Cyt c 电化

Received: November 13, 2008; Revised: December 17, 2008; Published on Web: January 13, 2009.

*Corresponding author. Email: tbaiyan@jnu.edu.cn, tzhwj@jnu.edu.cn; Tel: +8620-85220223.

国家自然科学基金(20771044)和广东省自然科学基金重点项目(05103295)资助

© Editorial office of Acta Physico-Chimica Sinica

学反应,是有效促进剂. Heberle 等^[4]证实了 L-半胱氨酸作为电极修饰剂能促进 Cyt c 的电化学行为是由于两者相互作用后 Cyt c 的活性基团比原来更接近电极表面;王升富等^[5]也证实了固定在 L-半胱氨酸自组装膜电极上的 Cyt c 保持了良好的生物活性和电化学活性. 含硒氨基酸在生物体内有着特殊的生物化学功能^[6,7],它主要是位于一些蛋白质的活性位置,催化体内的氧化还原反应^[8,9]. 硒与硫同族,同族效应使含硒氨基酸有可能促进 Cyt c 的电化学反应. 本研究借助 Se—Au 键和表面活性剂的增敏作用^[10]构建硒代胱氨酸(SeCys)的自组装膜修饰电极,探讨 Cyt c 在 SeCys 自组装膜上的电化学反应以及 SeCys 对 Cyt c 电化学反应的促进作用.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

BAS-100B 型电化学分析仪(BAS 公司,美国),LK2005 型电化学工作站(天津市兰立科化学电子高技术有限公司),CAM-PLUS 接触角测定仪(TANTEC 公司,德国),TU-1901 双光束紫外-可见分光光度计(北京谱析通用仪器有限公司),970CRT 荧光仪(上海分析仪器总厂). 硒代胱氨酸(SeCys)(纯度 $\geq 98\%$)和马心细胞色素 c(Cyt c VI 型,纯度 $\geq 99\%$)均为 Sigma 公司产品,使用前未经进一步提纯,铁氰化钾(纯度 $\geq 99.5\%$)、硝酸钾(纯度 $\geq 99\%$)、高氯酸(纯度 70.0%–72.0%)、高氯酸钠(纯度 $\geq 99.5\%$)、十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)(纯度 $\geq 99\%$)以及其它试剂均为分析纯,实验用水为二次蒸馏水.

1.2 修饰电极的制备

硒代胱氨酸自组装膜修饰金电极(SeCys SAMs/Au)的制备:依次用 Piranha 溶液($\text{H}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$ 体积比为 3:1)、乙醇溶液($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ 体积比为 1:1)和二次蒸馏水清洗金电极表面,然后将其在含有 Al_2O_3 粉末的金相沙纸上抛光成镜面,用二次蒸馏水清洗后在 $1.0 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ 溶液中于 1.100 V 到 -0.500 V 电位范围内循环扫描,直至达到稳定的曲线,然后在 $5.0\times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ Fe}(\text{CN})_6^{3-}+0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ KNO}_3$ 的混合溶液中扫描直到获得标准图形为止. 经电化学处理的金电极用二次蒸馏水超声清洗 5 min,氮气吹干后立即浸入含有 $1.0\times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 SeCys 溶液中,自组装 28 h 后取出,用二次蒸馏水冲洗除去电极周围的吸附物后,得到 SeCys SAMs/Au 电极,即可用于电化研究.

十六烷基三甲基溴化铵-硒代胱氨酸自组装复合膜修饰金电极(CTAB-SeCys SAMs/Au)的制备:将 SeCys SAMs/Au 电极在 $1\times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ CTAB 溶液中浸泡 2 h 即可得到 CTAB-SeCys SAMs/Au 复合膜修饰金电极^[11],用二次蒸馏水冲洗除去电极周围的吸附物后即可用于电化研究.

1.3 测试方法

电化学实验:以 Ag/AgCl 为参比电极,铂丝为对电极,工作电极分别为裸金电极和上述两种修饰电极,通氮气除氧气并在氮气饱和下进行电化学测试. $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ KNO}_3$ 溶液(pH=7.0)为底液, $5.0\times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 为探针离子进行循环伏安和交流阻抗研究. 以 $0.067 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸盐缓冲溶液(PBS)+ $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ NaClO}_4$ 为底液,对 1.6×10^{-7} 和 $3.2\times 10^{-7} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Cyt c 进行循环伏安研究.

接触角实验:以超纯水为滴定液,在 SeCys SAMs/Au 和 CTAB-SeCys SAMs/Au 电极表面垂直滴下,读数前液滴平衡 30–40 s,测量前进角,测量值的读数误差在 $\pm 1^\circ$ 以内.

光谱实验:测试 $6.5\times 10^{-6} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Cyt c 溶液和 $1.0\times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 SeCys 溶液的紫外-可见光谱. 测试 $3.2\times 10^{-8} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Cyt c 溶液和 $1.0\times 10^{-2} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 SeCys 溶液同步荧光光谱,激发波长为 200–500 nm,当设置的激发与发射的波长差 $\Delta\lambda$ 为 20 nm 时,发射波长为 220–520 nm.

2 结果与讨论

2.1 SeCys 自组装膜与 SeCys-表面活性剂复合膜的电化学特性

如图 1 曲线 a 所示, $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 在裸金电极上的氧化还原峰电位分别是 0.291 和 0.151 V,峰电位之差(ΔE_p)为 0.010 V. 与裸金电极相比,在 SeCys SAMs/Au 电极上(图 1 曲线 c) $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 的氧化还原峰电流大大减小,氧化还原峰电位分别是 0.366 和 0.063 V, ΔE_p 明显增大,为 0.303 V,表明 SeCys 已自组装在金电极表面. 在 KNO_3 溶液(pH=7.0)中 SeCys 膜带负电荷(等电点为 5.99),阻碍了离子探针 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 在电极上的电子传输. 与 SeCys SAMs/Au 电极相比, $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 在 CTAB-SeCys SAMs/Au 电极上的氧化还原峰电流增大(图 1 曲线 b),氧化还原峰电位分别是 0.308 和 0.087 V, ΔE_p 为 0.221 V. 因为带正电荷的 CTAB 与 SeCys 膜的羧基发生静电作用而相互吸引,减小了带负电的 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 与 COO^- 静电排

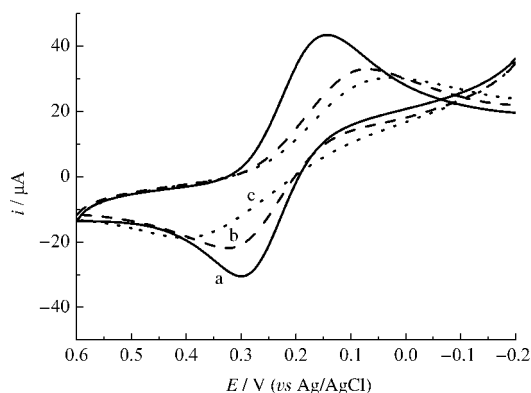


图 1 不同电极在 $5.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Fe}(\text{CN})_6^{3-} + 0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ KNO}_3$ 电解液中的循环伏安图

Fig.1 Cyclic voltammograms of different electrodes in $5.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Fe}(\text{CN})_6^{3-} + 0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ KNO}_3$ electrolyte

(a) bare gold electrode, (b) CTAB-SeCys SAMs/Au electrode, (c) SeCys SAMs/Au electrode

斥, 促进了电子转移^[12].

图 2 中谱线 a 为裸金电极上 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 的交流阻抗行为, 从低频部分到高频部分阻抗谱基本是一条直线, 表明在此条件下, 反应受扩散控制. 而在 SeCys SAMs/Au 电极上阻抗明显增大(图 2 谱线 c), 在中高频部分(大于 1 Hz)出现直径较大的半圆, 说明 SeCys 已自组装在金电极表面, 阻碍了离子探针 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 在电极上的电子传输, 在中高频部分反应由扩散控制转换为由动力学控制. 图 2 谱线 b 为 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 在 CTAB-SeCys SAMs/Au 修饰电极上的阻抗图, 与 SeCys SAMs/Au 电极相比(图 2 谱线 c), CTAB-SeCys SAMs/Au 电极的复平面阻抗图上中高频部分的半圆直径减小, 这也说明阳离子表面活性剂与 SeCys 静电吸引, 中和了电极表面上的负电荷, 减弱了膜对 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 的排斥作用.

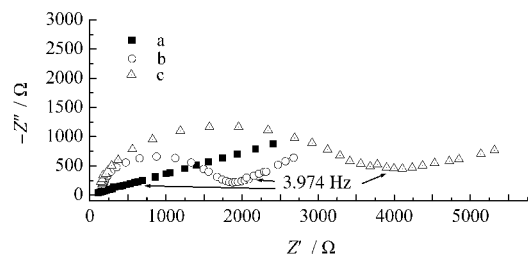


图 2 $5.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Fe}(\text{CN})_6^{3-} + 0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ KNO}_3$ 电解液在不同电极上的交流阻抗图

Fig.2 Impedance plots of $5.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Fe}(\text{CN})_6^{3-} + 0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ KNO}_3$ electrolyte on different electrodes

(a) bare gold electrode, (b) CTAB-SeCys SAMs/Au electrode, (c) SeCys SAMs/Au electrode

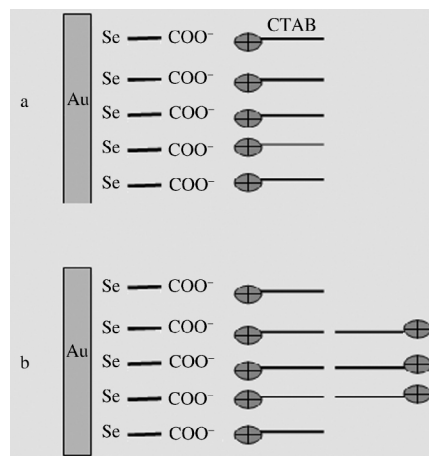


图 3 CTAB-SeCys SAMs/Au 电极在低浓度(a)和高浓度(b)的 CTAB 中的吸附机制

Fig.3 Adsorption mechanisms of CTAB-SeCys SAMs/Au electrode at low (a) and high (b) concentrations of CTAB

测量了 SeCys SAMs/Au 电极在不同浓度的 CTAB 溶液中浸泡 2 h 后的接触角, CTAB 的浓度为 $0, 1 \times 10^{-5}$ 和 $1 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时相应的接触角分别为 $36^\circ, 54^\circ$ 和 42° . 当采用不同浓度的 CTAB 制备修饰电极时, 测得其浓度小于 $1 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时有较高的峰电流, 由此可推测, 在低浓度 ($\leq 1 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的 CTAB 中浸泡后, 带负电荷的自组装膜与阳离子表面活性剂 CTAB 静电吸附形成定向单层, 表面覆盖层疏水基的碳氢链朝向水相(图 3(a)), 表面亲水性减小, 接触角增大. 在高浓度 ($> 1 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的 CTAB 中浸泡后, 已吸附的 CTAB 因疏水基的相互作用而形成二维缔合物, 覆盖层表面转变为带正电的亲水基团(图 3(b)), 亲水性增强, 接触角减小.

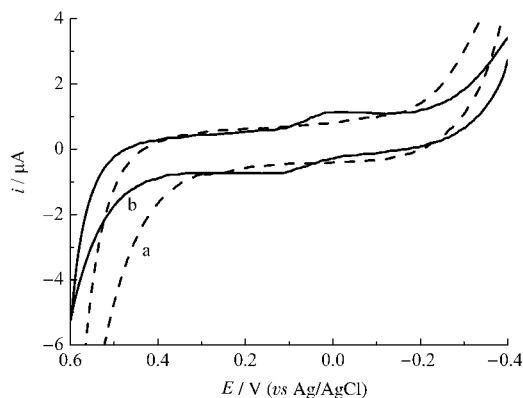


图 4 Cyt c 在 SeCys SAMs/Au 电极上的循环伏安图

Fig.4 Cyclic voltammograms of Cyt c on SeCys SAMs/Au electrode

(a) $0.067 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ PBS}(\text{phosphate-buffered solution}) + 0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaClO}_4$, (b) $1.6 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cyt c} + \text{(a)}$

2.2 Cyt c 的直接电化学研究

图4为Cyt c在SeCys SAMs/Au电极上的循环伏安图。1.6×10⁻⁷ mol·L⁻¹ Cyt c在SeCys SAMs/Au电极上出现了一对稳定的氧化还原峰(图4),其峰电位分别为0.113和-0.012 V,峰电位差ΔE_p为0.125 V,且氧化峰和还原峰电流基本相等,是一个准可逆的电化学过程.与Cyt c在L-半胱氨酸自组装膜修饰金电极上的峰电位(氧化还原峰电位分别为0.101和-0.111 V)^[5]相比,氧化峰比较接近,还原峰正移,说明SeCys SAMs/Au电极对Cyt c的还原过程有更好的促进作用.由于裸金电极在底液和Cyt c中均未出现氧化还原峰^[13],而且SeCys SAMs/Au电极在底液中于所研究的电位范围内无氧化还原峰出现,表明该氧化还原峰源于Cyt c,是Cyt c中心血红素中的Fe³⁺/Fe²⁺电对的氧化还原峰. SeCys自组装膜在pH=7.0的溶液中带负电荷,能与Cyt c血红素的赖氨酸残基形成氢键或盐桥,使Cyt c的血红素裂缝接近电极表面,从而有利于电荷传递的进行,这与含硫氨基酸作为Cyt c电化学反应有效促进剂原理相近^[4].

实验结果表明,PBS缓冲溶液的浓度在0.03–0.30 mol·L⁻¹范围内离子强度的变化对Cyt c在SeCys SAMs/Au电极上的电化学行为的影响不大,其峰电位和峰电流变化很小.当缓冲溶液的浓度大于0.30 mol·L⁻¹时,峰电流明显下降,而且离子强度越大,氧化还原峰的可逆性越差.可能是过高的离子强度削弱了Cyt c中赖氨酸残基与SeCys的羧基之间的静电作用力,使电子传递不可逆^[5].

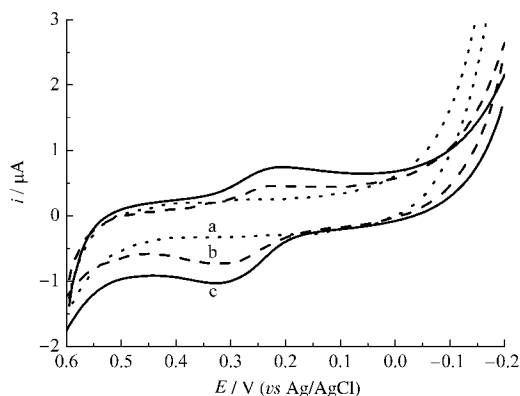


图5 Cyt c在CTAB-SeCys/Au SAMs电极上的循环伏安图

Fig.5 Cyclic voltammograms of Cyt c on CTAB-SeCys SAMs/Au electrode

(a) 0.067 mol·L⁻¹ PBS+0.1 mol·L⁻¹ NaClO₄, (b) 1.6×10⁻⁷ mol·L⁻¹ Cyt c+(a), (c) 3.2×10⁻⁷ mol·L⁻¹ Cyt c+(a)

图5为Cyt c在CTAB-SeCys/Au SAMs电极上的循环伏安图.从图5曲线a可以看出,CTAB-SeCys SAMs/Au电极在底液中未出现氧化还原峰.从图5曲线b可以看出,1.6×10⁻⁷ mol·L⁻¹ Cyt c在CTAB-SeCys SAMs/Au电极上出现了一对稳定的氧化还原峰,随着Cyt c的浓度增大,峰电流明显增大(图5曲线c),其峰电位分别为0.305和0.235 V,峰电位差ΔE_p为0.070 V,且氧化峰和还原峰电流基本相等,是一个准可逆的电化学过程.与在SeCys SAMs/Au电极上的循环伏安图(图4)相比,Cyt c的氧化峰峰电位正移约0.192 V,还原峰峰电位正移约0.247 V,证明CTAB-SeCys SAMs/Au电极对Cyt c的还原过程有更好的促进作用.峰电位差小于SeCys SAMs/Au电极,可逆性提高.

蛋白质的伸展由以下一个或两个作用驱动:已结合的亲和配基的电荷之间的静电排斥,它会导致排斥增加最终打开结构;表面活性剂的疏水尾巴向蛋白质的非极性区渗透,取代了蛋白质片基之间的疏水作用^[14].CTAB在SeCys SAMs/Au膜上的吸附模式(图3a)使得CTAB-SeCys SAMs/Au电极具有以上两个作用,Cyt c的肽链发生去折叠或某种程度的伸展而形成了一个开放的通道,使原来深埋于分子内部的血红素裸露出来,活性中心与电极表面之间的距离缩短,从而提高电子传递速率.

Cyt c在CTAB-SeCys SAMs/Au电极上不同扫描速率的循环伏安图及氧化还原峰电流(*i_p*)与扫描速率平方根(*v*^{1/2})的关系分别如图6和图7所示,在

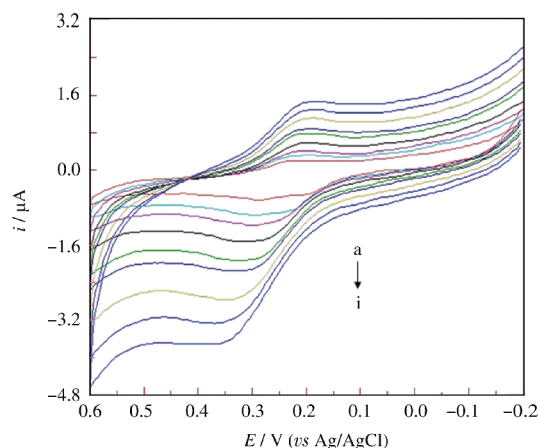


图6 Cyt c在CTAB-SeCys SAMs/Au电极上不同扫描速率时的循环伏安图

Fig.6 Cyclic voltammograms of Cyt c on CTAB-SeCys SAMs/Au electrode at different scan rates (*v*)

v/(mV·s⁻¹): (a) 10, (b) 20, (c) 30, (d) 50, (e) 80, (f) 100, (g) 150, (h) 200, (i) 250; c(Cyt c)=1.6×10⁻⁷ mol·L⁻¹

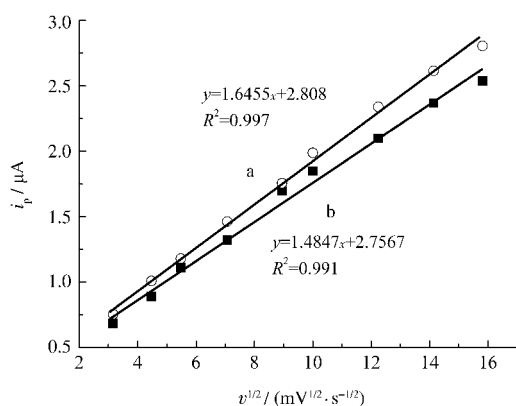


图7 峰电流与扫描速率的平方根的关系图

Fig.7 Plots of peak current versus the square root of the scan rate

(a) oxidation peak current, (b) reduction peak current

10–250 $\text{mV} \cdot \text{s}^{-1}$ 范围内, 峰电流随扫描速率的增加而增大, 且与 $v^{1/2}$ 呈良好的线性关系, 线性相关系数分别为0.997和0.991. 这表明 Cyt c 的电化学反应受扩散控制. 当扫描速率为 $10 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ 时, $E_{1/2}=(E_{pa}+E_{pc})/2=0.257 \text{ V}$ (其中, $E_{1/2}$ 为式电位, E_{pa} 为氧化峰电位, E_{pc} 为还原峰电位), ΔE_p 为 0.055 V , 表明该电极过程为单电子传递的可逆反应. 随着扫描速率的增大, 峰电位差从 0.055 V ($10 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$) 增大到 0.095 V ($250 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$), $E_{1/2}$ 最小值为 0.240 V , 最大值为 0.257 V .

由方程 $i_p=269n^{3/2}AD_s^{1/2}v^{1/2}C_0^{1/2}$ (其中, n 为电子转移数; $A=0.071 \text{ cm}^2$, 为电极面积; D_s 为表观扩散系数; $C_0=1.62 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 为电活性物浓度), 求得 Cyt c 的 D_s 为 $3.39 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. 与文献报道^[16,17]的表观扩散系数为同一数量级. 根据 Nicholson 方法^[18], 计算得异相电子转移速率常数(k^0)为 $1.15 \times 10^{-3} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$. 由此可说明, Cyt c 在 CTAB-SeCys SAMs/Au 电极上能表现出良好的电化学行为.

CTAB 在 $1 \times 10^{-5} \sim 1 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内, 随着 CTAB 浓度的增大, Cyt c 在 CTAB-SeCys SAMs/Au 电极上的氧化还原电流增大, 在接近临界胶束浓度(cmc)处出现极大值, 这表明 Cyt c 的信号是来自固定在表面活性剂中的 Cyt c, 因为固定在表面活性剂中的 Cyt c 的活性中心接近电极^[19].

从 Cyt c 在以上两种修饰电极的电化学研究可知, CTAB-SeCys SAMs/Au 电极可使 Cyt c 与电极之间形成一个开放的通道, 使 Cyt c 更易靠近电极表面, 所以 CTAB-SeCys SAMs/Au 电极对 Cyt c 的促进作用比 SeCys SAMs/Au 电极强.

2.3 Cyt c 与 SeCys 相互作用的谱学特征

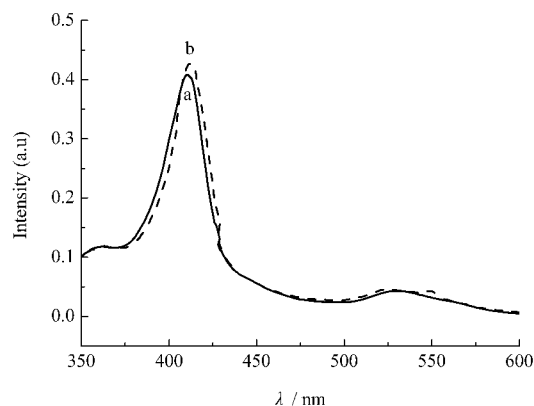


图8 Cyt c 的紫外-可见吸收光谱图

Fig.8 UV-Vis absorption spectra of Cyt c

(a) $6.5 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Cyt c, (b) $6.5 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Cyt c + $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ SeCys

血红素蛋白质在 410 nm 左右 Soret 吸收峰位置的改变可作为蛋白质是否变性的重要标志^[5]. 如图 8 所示, Cyt c 溶液和 Cyt c + SeCys 混合溶液的紫外-可见吸收光谱的最大吸收波长分别为 410 和 412 nm . 说明在共存体系中 Cyt c 没有发生变性, 这与 Cyt c 与 L-半胱氨酸相互作用的紫外-可见吸收光谱结果^[5]一致.

为了进一步证明 Cyt c 分子与 SeCys 分子的相互作用, 做了以下光谱实验. 用同步荧光技术可以研究 Cyt c 与促进剂胱氨酸的相互作用^[20]. 当设置激发波长与发射波长的波长差 $\Delta\lambda=20 \text{ nm}$ 时, Cyt c 的荧光光谱表现为酪氨酸残基的荧光峰(图 9 曲线 a), 最大发射峰波长为 282.1 nm . 在 Cyt c 溶液中加入 SeCys 溶液 2 min 后, 测定了 Cyt c 中的酪氨酸残

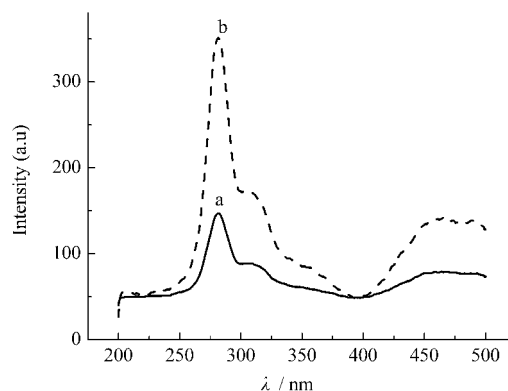


图9 Cyt c 中酪氨酸残基的同步荧光光谱图

Fig.9 Synchronous fluorescence spectra of tyrosine of Cyt c

(a) $3.2 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Cyt c, (b) $3.2 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Cyt c + $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ SeCys; $\Delta\lambda$ (the wavelength difference between excitation and emission wavelength)= 20 nm

基(图 9 曲线 b)的同步荧光光谱. 从图 9 可以看出, 酪氨酸残基的荧光峰峰位没发生变化而荧光强度增强, 这与胱氨酸作为促进剂的结果类似^[20]. SeCys 与 Cyt c 分子的赖氨酸残基通过氢键发生作用而减小了质子化氨基对酪氨酸残基的猝灭作用, 从而使酪氨酸残基的荧光增强, 表明 SeCys 与 Cyt c 分子表面的赖氨酸残基相结合. 正是由于 SeCys 与 Cyt c 的相互作用, 使 Cyt c 的血红素裂隙接近电极表面, 提高了 Cyt c 的电化学活性, 使其可以产生灵敏的伏安信号.

3 结 论

采用电化学和接触角实验方法研究了 SeCys SAMs/Au 电极和 CTAB-SeCys SAMs/Au 电极的特性. 探讨了 Cyt c 在 SeCys SAMs/Au 电极和 CTAB-SeCys SAMs/Au 电极上的电化学行为. 实验证明, SeCys 与 Cyt c 相互作用促进了 Cyt c 在电极上的氧化还原反应, 光谱实验证实 SeCys 对 Cyt c 电化学过程的促进作用是由于 SeCys 与 Cyt c 中赖氨酸残基的结合; CTAB 与 SeCys 之间的协同作用可在 Cyt c 与电极之间形成一个开放的通道, 因而 CTAB-SeCys 对 Cyt c 的电化学活性有更好的促进作用.

References

- Eddowes, M. J.; Hill, H. A. O. *J. Am. Chem. Soc.*, **1979**, **101**: 4461
- Yan, J.; Li, J. J.; Zhang, B.; Cai, S. M. *Acta Phys. -Chim. Sin.*, **2001**, **17**(12): 1126 [严捷, 李经建, 张波, 蔡生民. 物理化学学报, **2001**, **17**(12): 1126]
- Ding, X. Q.; Yang, M.; Hu, J. B.; Li, Q. L.; McDougall, A. *Microchimica Acta*, **2007**, **158**: 65
- Ataka, K.; Heberle, J. *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, **126**: 9445
- Sun, Y. X.; Wang, S. F. *Chin. J. Appl. Chem.*, **2005**, **22**(3): 295 [孙一新, 王升富. 应用化学, **2005**, **22**(3): 295]
- Xu, F.; Qiu, D. R.; Yang, P. Y. *Chemical World*, **2006**, **47**(4): 246 [徐芳, 邱德仁, 杨芃原. 化学世界, **2006**, **47**(4): 246]
- Uden, P. C.; Boakye, H. T.; Kahakachchi, C.; Tyson, J. F. *Journal of Chromatography A*, **2004**, **1050**(1): 85
- Berry, M. J.; Banu, L.; Larsen, P. R. *Nature*, **1991**, **349**: 438
- Hubert, N.; Walczak, R.; Carbon, P.; Krol, A. *Nucleic Acids Research*, **1996**, **24**(3): 464
- Vittal, R.; Gomathi, H.; Rao, G. P. *Electrochimica Acta*, **2000**, **45**(13): 2083
- Cheng, W. L.; Dong, S. J.; Wang, E. K. *Electrochem. Commun.*, **2002**, **4**(5): 412
- Yang, L.; Wei, W. Z.; Xia, J. J.; Tao, H.; Yang, P. H. *Analytical Sciences*, **2005**, **21**(6): 679
- Zhong, T. S.; Qu, Y. G.; Huang, S. S.; Li, F. S. *Microchimica Acta*, **2007**, **158**: 291
- Xiao, J. X.; Zhao, Z. G. Mechanism of surfactant application. Beijing: Chemical Industry Press, 2003: 466 [肖进新, 赵振国. 表面活性剂应用原理. 北京: 化学工业出版社, 2003: 466]
- Anson, F. *Electrochemistry and electroanalysis chemistry*. Trans. Huang, W. Z. Beijing: Peking University Press, 1983: 2 [电化学和电分析化学. 黄慰曾译. 北京: 北京大学出版社, 1983: 2]
- Tang, G. X.; Wu, X. Q. *Electrochemistry*, **1995**, **1**(2): 181 [汤国新, 吴霞琴. 电化学, **1995**, **1**(2): 181]
- Qu, X. G.; Sun, G. Q.; Yang, H. *Electrochemistry*, **1998**, **4**(3): 260 [曲晓刚, 孙公权, 杨辉. 电化学, **1998**, **4**(3): 260]
- Nicholson, R. S. *Anal. Chem.*, **1965**, **37**(11): 1351
- Chattopadhyay, K.; Mazumdar, S. *Bioelectrochemistry*, **2001**, **53**(1): 17
- Chou, J.; Qu, X. G.; Lu, T. H. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, **1997**, **17**(1): 108 [周菊, 曲晓刚, 陆天虹. 光谱学与光谱分析, **1997**, **17**(1): 108]