

## 二价金属离子与牛血清白蛋白的相互作用

高兴军, 郭明, 李兵, 郭建忠, 李铭慧

(浙江农林大学 理学院, 浙江 临安 311300)

**摘要:** 采用荧光光谱法和紫外光谱法研究了5种二价金属离子与牛血清白蛋白(BSA)的相互作用, 通过生物大分子猝灭反应机制和结合位点模型研究发现锌离子  $Zn^{2+}$ , 镍离子  $Ni^{2+}$ , 钴离子  $Co^{2+}$  和钙离子  $Ca^{2+}$  均可导致牛血清白蛋白内源荧光猝灭,  $Zn^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$  和  $Co^{2+}$  离子半径处在正常范围, 能有效进入牛血清白蛋白结合位点与牛血清白蛋白结合形成超分子配合物, 使牛血清白蛋白的二级结构发生改变, 主要表现为静态猝灭。 $Ca^{2+}$  离子半径较大, 受空间位阻影响不能有效进入结合位点对 BSA 二级结构影响较小, 不能与 BSA 形成配合物, 表现为动态猝灭; 而  $Mg^{2+}$  由于大的水合半径阻碍了  $Mg^{2+}$  与牛血清白蛋白的有效碰撞, 使电子或能量的转移受阻, 从而导致  $Mg^{2+}$  对牛血清白蛋白内源荧光无猝灭作用。图3表2参16

**关键词:** 动物学; 金属离子(II); 牛血清白蛋白(BSA); 荧光光谱; 紫外光谱

**中图分类号:** S852.5      **文献标志码:** A      **文章编号:** 2095-0756(2013)05-0777-07

## Interactions of bivalent metal ions and bovine serum albumins

GAO Xingjun, GUO Ming, LI Bing, GUO Jianzhong, LI Minghui

(Faculty of Science, Zhejiang A & F University, Lin'an 311300, Zhejiang, China)

**Abstract:** To obtain the principal of the interactions among bovine serum albumins (BSA) and the bivalent metal ions, the interactions of five bivalent metal ions ( $Zn^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ , and  $Mg^{2+}$ ), and BSA were studied using fluorescence spectroscopy and ultraviolet spectroscopy. Also, a quenching reaction mechanism of biomacromolecules was used with the site binding model, and quenching of the intrinsic fluorescence of BSA was found by adding  $Zn^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ , and  $Ca^{2+}$ . For the appropriate ionic radius of  $Zn^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ , and  $Co^{2+}$ , a supramolecular complex was formed among the metal ions and BSA by effectively entering the binding site of the BSA. At the same time, the secondary structure of BSA was changed and manifested as static quenching. But the supramolecular complex could not be formed between BSA and  $Ca^{2+}$  for the influence of the steric hindrance due to a greater ionic radius of  $Ca^{2+}$ . Additionally, since the metal ion  $Mg^{2+}$  had a much greater hydrated radius than the other divalent ions, an effective collision between  $Mg^{2+}$  and BSA was prevented. Therefore, the metal ion  $Ca^{2+}$  was only manifested as dynamic quenching, and metal ion  $Mg^{2+}$  had no quenching effect on the intrinsic fluorescence of BSA.  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  other than the ions  $Zn^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ , and  $Co^{2+}$ , had no interactions with BSA. [Ch, 3 fig. 2 tab. 16 ref.]

**Key words:** zoology; metal ion (II); bovine serum albumin; fluorescence spectroscopy; ultraviolet spectrum

金属离子在生命体中具有重要的生理功能。几种较常见的二价金属离子如钙  $Ca^{2+}$ , 镁  $Mg^{2+}$ , 钴  $Co^{2+}$ , 镍  $Ni^{2+}$ , 锌  $Zn^{2+}$  等在生命体中发挥着关键的作用。人体中的钙集中分布在骨骼、血液、细胞间液及软组织中, 参与从骨骼形成、神经以及大脑的思维活动直至人体的生长发育、健脑益智和延缓衰老等生命过程; 镁对心脏血管具有重要的保护作用, 有“心血管卫士”之称; 钴可经消化道进入人体, 它最初

收稿日期: 2012-10-31; 修回日期: 2012-01-09

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(21207117)

作者简介: 高兴军, 实验师, 从事蛋白质生化性质研究。E-mail: gaoxj@zafu.edu.cn

储存于肝和肾,然后储存于骨、脾、胰、小肠及其他组织<sup>[1]</sup>,参与核酸、胆碱、蛋氨酸的合成及脂肪和糖代谢;镍可与血清中的L-组氨酸和 $\alpha$ -巨球蛋白相结合<sup>[2]</sup>,并可通过血清中血清蛋白运送到身体其他部位,起到激活肽酶、增强胰岛素降血糖、刺激生血等功能;锌在绝大部分组织中都有极微量的分布,是体内数十种酶的主要成分,对促进淋巴细胞增殖,维持上皮和黏膜组织正常,促进伤口愈合及校正味觉失灵等均有妙用。这些金属离子在体内的生理功能与它们在体内的运输存在着莫大的联系。而血清白蛋白是血浆中含量最丰富的蛋白质,在血液中起维持血浆渗透压、血液缓冲剂、金属离子载体和输送其他内源、外源性物质的作用<sup>[3]</sup>。研究金属离子与血清白蛋白的荧光猝灭光谱对揭示金属离子在体内的输送、释放和生理功能有着至关重要的意义<sup>[4-5]</sup>。引起蛋白质荧光猝灭的原因有动态和(或)静态猝灭,动态猝灭主要是由碰撞引起的,是一种电子或能量转移过程,不会影响蛋白质的两级结构和生理活性。而静态猝灭是因为配合作用,通常是产生了不发荧光的配合物,对蛋白质的两级结构和生理活性产生影响。因此,有必要对金属离子对血清蛋白构象的影响进行研究,以深入探讨两者的结合本质与规律<sup>[6]</sup>。牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)是来源于牛血清中的一种主要载体蛋白,被广泛用于小分子参与的生物体内运输的相关研究。本研究选用 $Zn^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ 等5种离子为代表,用荧光光谱法和紫外吸收光谱法对诱导的牛血清白蛋白构象变化进行了研究,并对这几种离子与牛血清白蛋白作用的异同进行了比较分析,在于揭示生命体中多种二价离子与牛血清白蛋白的结合规律。

## 1 试验材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

F-4500型荧光分光光度计(Hitachi,日本);UV-2550型紫外-可见分光光度计(Shimadzu,日本);ZD-2型精密酸度计(上海雷磁仪器厂,中国);FA1004B型电子天平(上海衡平仪器仪表厂,中国)。

牛血清白蛋白(BSA,  $\geq 98\%$ ),三羟甲基氨基甲烷(Tris, 保证试剂GR)均购于上海华美生物工程公司。硝酸镁、硝酸钙、硝酸镍、硝酸钴、硝酸锌、盐酸均为分析纯AR。实验用水为双蒸去离子水。配置 $0.10\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , pH 7.40三羟基氨基甲烷-氯化氢缓冲溶液( $0.10\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氯化钠维持离子强度),用此缓冲溶液配置 $1.00\times 10^{-4}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 牛血清白蛋白及 $0.10\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的金属离子( $M^{2+} = Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ )储备液。

### 1.2 研究方法

牛血清白蛋白-金属离子 $M^{2+}$ 溶液体系的荧光光谱测定:分别移取1.0 mL牛血清白蛋白溶液于9只10.0 mL具塞试管,依次加入 $0.10\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的同种金属离子 $M^{2+}$  0, 100, 200, ..., 800  $\mu\text{L}$ ,用缓冲溶液稀释至刻度,摇匀进行荧光光谱测定。测定时发射与激发狭缝宽度均为2.5 nm,扫描速度为 $1\ 200\text{ nm}\cdot\text{min}^{-1}$ ,激发波长为280.0 nm,室温下绘制290.0~450.0 nm发射光谱,记录最大荧光强度。重复以上操作3次,分别取平均值。

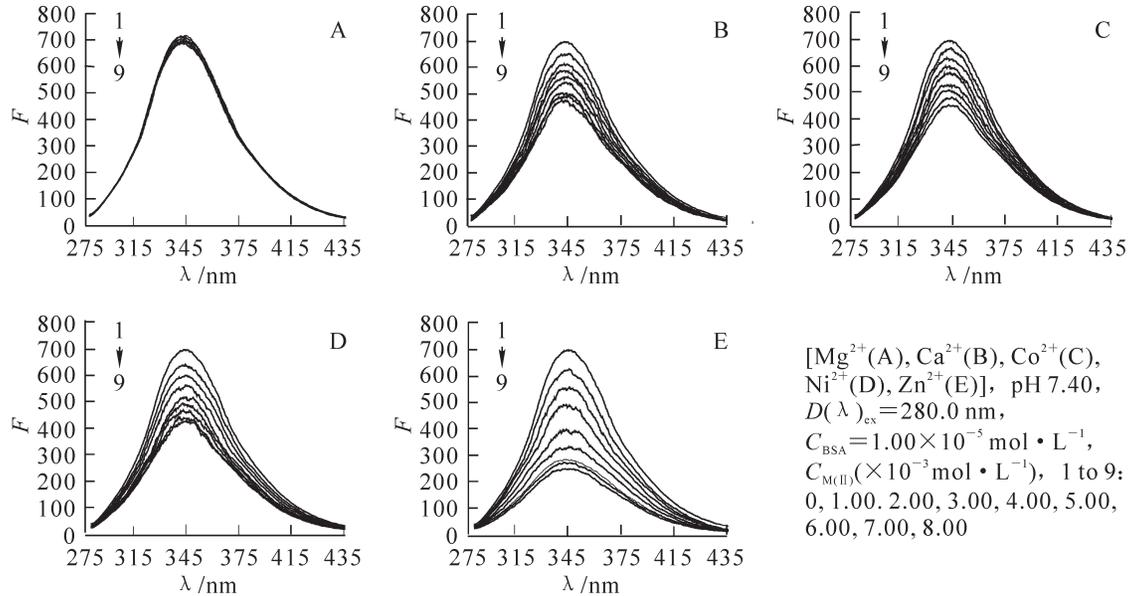
牛血清白蛋白-金属离子 $M^{2+}$ 溶液体系的紫外吸收光谱测定:分别移取1.0 mL牛血清白蛋白溶液于6只10.0 mL具塞试管,其中5只加入 $0.10\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的各种金属离子 $M^{2+}$  300  $\mu\text{L}$ ,所有试管用缓冲溶液稀释至刻度,摇匀,以缓冲溶液为空白对照测定紫外吸收光谱。

## 2 结果与分析

### 2.1 金属离子 $M^{2+}$ 对牛血清白蛋白的荧光猝灭效应

图1为相同牛血清白蛋白浓度( $1.00\times 10^{-5}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )时,各种金属离子 $M^{2+}$ -牛血清白蛋白体系290.0~450.0 nm荧光发射光谱图。实验中测得未加牛血清白蛋白的金属离子缓冲溶液的荧光强度非常小(图1A),对牛血清白蛋白在其最大发射波长处的荧光强度影响可忽略不计。从图1可见:随着体系中 $M^{2+}$ 的增加,荧光发射峰的峰形和峰位置并没有发生变化,除 $Mg^{2+}$ 对牛血清白蛋白几乎无猝灭作用外(图1A),其他金属离子对牛血清白蛋白的发射荧光强度随着金属离子浓度的增加在343.0 nm附近呈有规律的降低。不同金属离子对牛血清白蛋白猝灭效果为: $Zn^{2+}$ 对牛血清白蛋白的猝灭效果最强(图1E); $Ni^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ 对牛血清白蛋白的猝灭作用次之( $Ni^{2+}$ 的猝灭作用略大于 $Co^{2+}$ )(图1D, C); $Ca^{2+}$ 对牛血清白蛋白的猝灭效果最小(图1B)。同时,将这几种金属离子半径比较(表1)发现:二价金属离子半径越小,金

属离子对牛血清白蛋白的猝灭作用越强。这说明二价金属离子离子半径越小，越能克服空间位阻，与牛血清白蛋白大分子的生色团接触，使荧光猝灭的效应得到加强。



(Mg<sup>2+</sup>(A), Ca<sup>2+</sup>(B), Co<sup>2+</sup>(C), Ni<sup>2+</sup>(D), Zn<sup>2+</sup>(E)), pH=7.40, λ<sub>ex</sub>=280 nm, C<sub>BSA</sub>=1.00×10<sup>-5</sup> mol·L<sup>-1</sup>, C<sub>M(II)</sub>(×10<sup>-3</sup> mol·L<sup>-1</sup>), 1 to 9: 0, 1.00, 2.00, 3.00, 4.00, 5.00, 6.00, 7.00, 8.00.

图 1 不同浓度 M<sup>2+</sup>与牛血清白蛋白反应体系的荧光光谱图

Figure 1 Fluorescence quenching of BSA in the presence of various concentrations of M<sup>2+</sup>

荧光猝灭符合下式<sup>[7]</sup>：

$$F_0 / F = 1 + k[M] \tag{1}$$

式(1)中：F<sub>0</sub>和F分别表示加入猝灭剂前后所测得的荧光强度值，[M]为猝灭剂的浓度(mol·L<sup>-1</sup>)，k为Stern-Volmer猝灭过程速率常数<sup>[8-9]</sup>(L·mol<sup>-1</sup>)。

由图1实验数据：生物大分子荧光强度变化F<sub>0</sub>/F随猝灭剂浓度[M]变化的Stern-Volmer曲线方程分别为F<sub>0</sub>/F=57.800 0[M]+1.014 6(Ca<sup>2+</sup>)，F<sub>0</sub>/F=70.000 0[M]+0.958 0(Co<sup>2+</sup>)，F<sub>0</sub>/F=79.500 0[M]+1.012 3(Ni<sup>2+</sup>)，F<sub>0</sub>/F=260.900 0[M]+0.764 7(Zn<sup>2+</sup>)。随着金属离子浓度的增加，F<sub>0</sub>/F值逐渐增加，且两者的线性关系良好，金属离子Ca<sup>2+</sup>，Co<sup>2+</sup>，Ni<sup>2+</sup>和Zn<sup>2+</sup>对牛血清白蛋白的荧光猝灭过程速率常数k值见表1。

表 1 Ca<sup>2+</sup>，Co<sup>2+</sup>，Ni<sup>2+</sup>和Zn<sup>2+</sup>与牛血清白蛋白相互作用的猝灭相关参数

Table 1 Quenching constants of Ca<sup>2+</sup>，Co<sup>2+</sup>，Ni<sup>2+</sup>and Zn<sup>2+</sup> to BSA

	BSA-Ca	BSA-Co	BSA-Ni	BSA-Zn
R(M <sup>2+</sup> )/Å	0.990 0	0.745 0	0.690 0	0.600 0
k/(L·mol <sup>-1</sup> )	57.800 0	70.000 0	79.500 0	260.900 0
R	0.991 7	0.992 0	0.996 8	0.983 3

由于生物大分子的最大动态猝灭过程的速率常数k<100 L·mol<sup>-1</sup><sup>[10]</sup>，Zn<sup>2+</sup>对牛血清白蛋白的荧光猝灭过程速率常数大于100，可以断定Zn<sup>2+</sup>对牛血清白蛋白的荧光猝灭过程不是由于2种物质碰撞引起的动态猝灭，而是由于Zn<sup>2+</sup>与牛血清白蛋白形成了配合物引起的静态猝灭。Ca<sup>2+</sup>，Co<sup>2+</sup>和Ni<sup>2+</sup>与牛血清白蛋白的猝灭过程速率常数都在100附近，其是否属静态猝灭后续进一步说明。

## 2.2 金属离子与牛血清白蛋白结合的平衡常数及结合位点测算

设生物大分子P与猝灭剂M有n个相同且独立的结合位点，则两者之间的配合反应表示为：



平衡常数k<sub>0</sub>为：

$$k_0 = [M_n P] / [M]^n [P] \tag{3}$$

式(2)(3)中:  $[P]$ 是游离荧光体浓度,  $[M]$ 是猝灭剂浓度,  $[M_n P]$ 是配合物浓度。若荧光体总浓度为  $[P_0]$ , 则  $[P_0] = [P] + [M_n P]$ 。当  $[M] \gg [P_0]$  时,

$$k_0 = ([P_0] - [P]) / [M]^n [P] \quad (4)$$

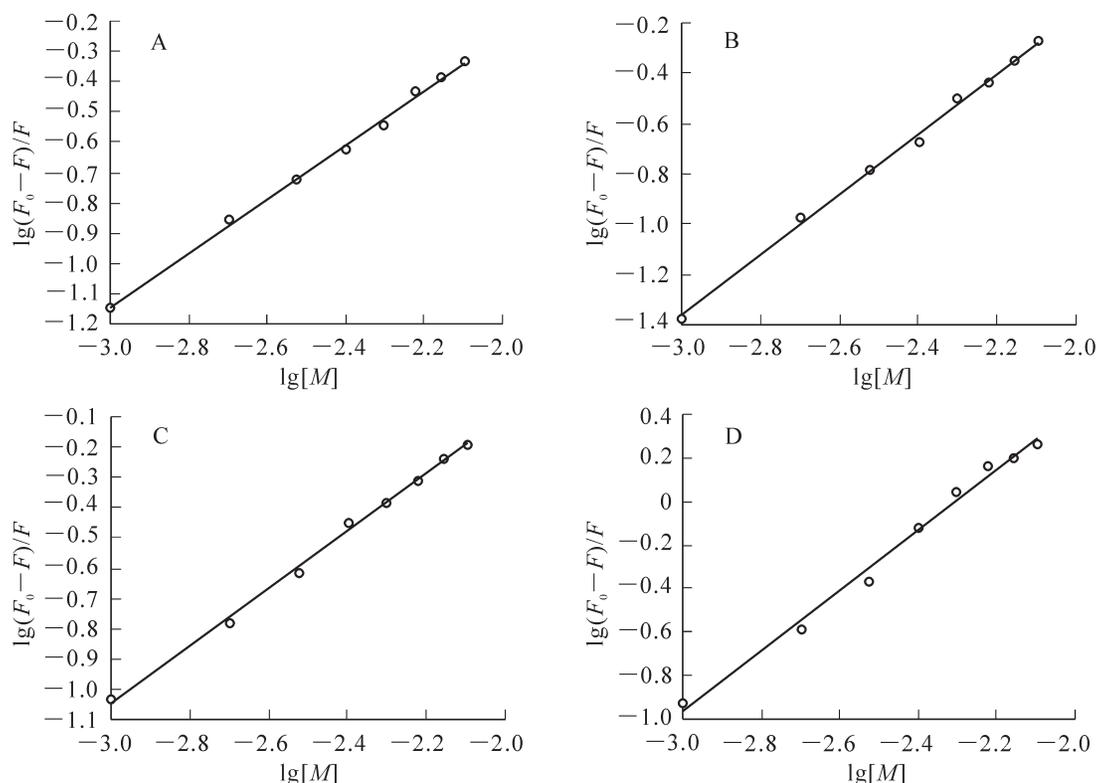
在静态猝灭中, 荧光体系的强度与其游离弄度量呈正比(形成配合物为非荧光性的):

$$[P]/[P_0] = F/F_0 \quad (5)$$

由(4)和(5)式可得

$$\lg((F_0 - F)/F) = \lg k_0 + n \lg[M] \quad (6)$$

按照(6)式处理图1数据, 将  $\lg[(F_0 - F)/F]$  对  $\lg[M]$  进行拟合, 得到拟合曲线(图2A, 钙; 图2B, 钴; 图2C, 镍; 图2D, 锌), 进而计算求得  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  与牛血清白蛋白的结合常数  $k_0$ , 结合位点  $n$ , 相关参数见表2。



$\text{Ca}^{2+}$ (A),  $\text{Co}^{2+}$ (B),  $\text{Ni}^{2+}$ (C),  $\text{Zn}^{2+}$ (D),  $C_{\text{BSA}} = 1.00 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

图2  $\lg[(F_0 - F)/F]$  对  $\lg[M]$  方程图

Figure 2 Plots of  $\lg[(F_0 - F)/F]$  to  $\lg[M]$

由图2和表2可见: 式(6)得到的拟合曲线具有良好的线性关系,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  and  $\text{Zn}^{2+}$  与牛血清白蛋白的结合常数  $k_0$  较大, 且结合数  $n \approx 1$ , 说明  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  与牛血清白蛋白能够有效的结合形成配合物, 促使大分子构象发生改变, 对牛血清白蛋白的猝灭属于静态猝灭; 而  $\text{Ca}^{2+}$  与牛血清白蛋白的结合常数较小, 其结合位点数  $n < 1$ , 因而判断  $\text{Ca}^{2+}$  与牛血清白蛋白不能有效的结合, 对牛血清白蛋白构象的改变影响不大, 属于动态猝灭。

表2  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  与牛血清白蛋白反应的结合参数

Table 2 Binding parameters of  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  and  $\text{Zn}^{2+}$  to BSA

	BSA-Ca	BSA-Co	BSA-Ni	BSA-Zn
$k_0 / (\text{L} \cdot \text{mol}^{-1})$	35.180 0	175.340 0	64.640 0	64.480 0
$n$	0.897 8	1.202 2	0.951 3	1.388 2
$R$	0.997 1	0.997 0	0.997 5	0.989 7

对照表1中各二价离子与牛血清白蛋白猝灭过程速率常数  $k$  值, 说明若  $k < 57.8$ , 则二价金属离子

对牛血清白蛋白的猝灭属碰撞引起的动态猝灭，若  $k > 70.0$ ，则二价金属离子对牛血清白蛋白的猝灭是金属离子与牛血清白蛋白结合形成配合物引起的静态猝灭。为进一步验证结论的可靠性，下面从金属离子对牛血清白蛋白构象的影响上做进一步说明。

### 2.3 金属离子对牛血清白蛋白构象的影响

牛血清白蛋白的 pH 7.40 三羟基氨基甲烷-氯化氢(tris-HCl)缓冲溶液，分别在 230.0, 280.0 nm 处出现吸收峰(图 3)，其中 280.0 nm 处的吸收峰是牛血清白蛋白分子中的色氨酸和酪氨酸的芳香环的  $\pi-\pi^*$  跃迁 B 带吸收和 C=O 的  $n-\pi^*$  跃迁 R 带吸收所致，该吸收带与蛋白质二级结构中的  $\alpha$ -螺旋含量有关<sup>[11]</sup>，而 230.0 nm 处的吸收峰则主要是由芳香环的  $\pi-\pi^*$  跃迁引起的。

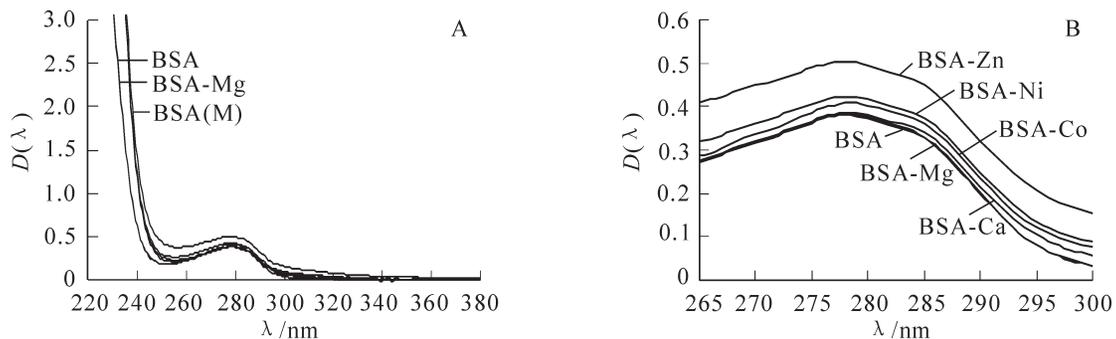


图3 相同浓度的金属离子  $M^{2+}$  对牛血清白蛋白紫外光谱的影响

Figure 3 UV spectra of the BSA in the same concentration of various metal cation  $M^{2+}$

由图 3A 可见：在各种离子浓度相同的条件下， $Mg^{2+}$  对牛血清白蛋白的 230.0 nm 和 280.0 nm 处的吸收峰吸收强度和位移没有任何影响，可以断定， $Mg^{2+}$  与牛血清白蛋白不发生相互作用， $Mg^{2+}$  的存在不会改变牛血清白蛋白构象； $Co^{2+}$ 、 $Ni^{2+}$  和  $Zn^{2+}$  存在下，牛血清白蛋白 230.0 nm 处吸收峰强度增强且峰位明显向高波长移动近似相同的位移，而 280.0 nm 处吸收峰吸收峰位置基本不变但强度增强(图 3B)，这说明  $Co^{2+}$ 、 $Ni^{2+}$  和  $Zn^{2+}$  对牛血清白蛋白分子  $\pi-\pi^*$  跃迁的影响具有一致性，而 280.0 nm 处吸收强度的差异主要是由 C=O 的  $n-\pi^*$  跃迁 R 带吸收所致，这说明这 3 种离子与牛血清白蛋白借助分子间力形成超分子配合物，牛血清白蛋白多肽链  $\alpha$ -螺旋结构发生改变，导致分子内部的色氨酸和酪氨酸残基的芳香环疏水基团裸露，蛋白质分子结构发生了变化<sup>[12-14]</sup>。

由图 3B：3 种金属离子与牛血清白蛋白结合对分子结构影响的大小顺序为  $Zn^{2+} > Ni^{2+} > Co^{2+}$ 。这与这 3 种金属离子与牛血清白蛋白结合猝灭过程常数的关系非常一致，充分说明这 3 种金属离子对牛血清白蛋白荧光的猝灭不是由于碰撞引起的动态猝灭，而是主要由于形成了配合物使蛋白分子结构发生改变而引起的静态猝灭。 $Ca^{2+}$  虽然在 230.0 nm 与  $Co^{2+}$ 、 $Ni^{2+}$  和  $Zn^{2+}$  的对牛血清白蛋白的影响一致，但是在 280.0 nm 处牛血清白蛋白吸收峰的大小和位移都没有发生改变，这说明  $Ca^{2+}$  虽然能借助分子间力影响牛血清白蛋白分子的  $\pi-\pi^*$  跃迁，但是对牛血清白蛋白多肽链  $\alpha$  螺旋结构 C=O 的  $n-\pi^*$  跃迁没有产生太大影响，对牛血清白蛋白构象影响很小，说明  $Ca^{2+}$  并没有与牛血清白蛋白有效结合， $Ca^{2+}$  对牛血清白蛋白的猝灭属动态猝灭。

## 3 讨论

$Ca^{2+}$ 、 $Co^{2+}$ 、 $Ni^{2+}$  和  $Zn^{2+}$  等虽然同属第 3 周期二价金属离子，都能对牛血清白蛋白的荧光产生猝灭作用，猝灭作用大小顺序为  $Zn^{2+} > Ni^{2+} > Co^{2+} > Ca^{2+}$ ，对照这几种离子的离子半径不难发现，猝灭作用的大小顺序与这几种金属离子的离子半径刚好相反，即离子半径越小猝灭作用越强。但根据结合位点模型和紫外光谱分析判断  $Co^{2+}$ 、 $Ni^{2+}$  和  $Zn^{2+}$  对 BSA 的猝灭属静态猝灭，而  $Ca^{2+}$  对牛血清白蛋白的猝灭属动态猝灭。这可能与蛋白分子中金属离子结合位点处的空间位阻有关。理论上这几种二价金属离子都应该能与金属离子结合形成配合物，但是由于受到结合位点附近结构域的空间位阻的影响，只有离子半径较小的金属离子  $Co^{2+}$ 、 $Ni^{2+}$  和  $Zn^{2+}$  能够有效进入结合位点，而  $Ca^{2+}$  由于自身的离子半径较大，受到结构域

空间位阻的阻挡作用,不能有效进入结合位点所致。因而,影响二价金属离子与牛血清白蛋白结合的因素除二价离子半径外,还受牛血清白蛋白结合位点附近结构域的空间位阻的影响。

Mg<sup>2+</sup>属第2周期二价金属离子,离子半径远小于讨论的其他几种金属离子,能够轻易克服空间位阻到达结合位点,但是结果显示,Mg<sup>2+</sup>甚至不对牛血清白蛋白的荧光产生猝灭作用。主要原因可能是Mg<sup>2+</sup>具有最小的离子半径,最大的水合半径和最高的电荷密度,其水合半径是其离子半径的400倍,而Ca<sup>2+</sup>的水合半径与其离子半径之比才25倍<sup>[15-16]</sup>,如此大的水合半径阻碍了Mg<sup>2+</sup>与牛血清白蛋白的有效碰撞,使电子或能量的转移受阻,从而导致Mg<sup>2+</sup>对牛血清白蛋白荧光无猝灭作用。

由此可见:金属离子半径对牛血清白蛋白荧光猝灭起着重要的作用,这主要受到牛血清白蛋白分子结合位点附近结构域的空间位阻的影响。离子半径太大,金属离子不能有效进入结合位点。但是具有较小离子半径的Mg<sup>2+</sup>可能由于离子周围水合半径过大的影响而不能与牛血清白蛋白发生有效的碰撞来引起电子或能量转移,对牛血清白蛋白荧光无猝灭作用。另外,可以推测,在结合位点处与金属离子参与成键的基团应该至少在2个以上。牛血清白蛋白分子上多个基团与金属离子的协同成键,才导致BSA的结构发生变化,造成牛血清白蛋白荧光的猝灭。

#### 参考文献:

- [1] 李青仁, 苏斌, 李胜钊. 微量元素钴、镍与人体健康[J]. 广东微量元素科学, 2008, **15**(1): 66 - 70.  
LI Qingren, SU Bin, LI Shengchuan. Trace element cobalt, nickel and human health [J]. *Guangdong Trace Element Sci*, 2008, **15**(1): 66 - 70.
- [2] 徐兴涛, 郭明, 吴志武, 等. 大土黄苷与牛血清白蛋白结合反应机制及金属离子的介导作用[J]. 浙江农林大学学报, 2011, **28**(3): 349 - 358.  
XU Xingtao, GUO Ming, WU Zhiwu, *et al.* Binding interactions between rhaponticin and bovine serum albumin with mediation of metal ions [J]. *J Zhejiang A & F Univ*, 2011, **28**(3): 349 - 358.
- [3] GELAMO E L, SILVA C, IMASATO H, *et al.* Interaction of bovine (BSA) and human (HSA) serum albumin with ionic surfactants: spectroscopy and modeling [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2002, **1594**(1): 84 - 99.
- [4] SADLER P J, VILES J H. <sup>1</sup>H and <sup>113</sup>Cd NMR investigation of Cd<sup>2+</sup> and Zn<sup>2+</sup> binding sites on serum albumin competition with Ca<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>[J]. *Inorg Chem*, 1996, **35**: 4490 - 4496.
- [5] KATHIRAVAN A, ANANDAN S, RENGANATHAN R. Interaction of colloidal TiO<sub>2</sub> with human serum albumin: a fluorescence quenching study [J]. *Colloids Surf A Physicochem Eng Aspects*, 2009, **333**: 91 - 95.
- [6] 秦身钧, 申金山, 李艳廷, 等. 稀土金属离子及pH诱导牛血清白蛋白构象变化的同步荧光光谱研究[J]. 中国稀土学报, 2004, **22**(3): 393 - 397.  
QIN Shenjun, SHEN Jinshan, LI Yanting, *et al.* Synchronous fluorescence spectral studies on conformational change of BSA induced by rare earth ions and pH [J]. *J Chin Rare Earth Soc*, 2004, **22**(3): 393 - 397.
- [7] 李丙阳, 童路, 邹本田. 血浆中茶碱的薄层色谱测定[J]. 药学学报, 1985, **20**(5): 398 - 400.  
LI Bingyang, TONG Lu, ZOU Bentian. TLC determination of theophyllin in plasma [J]. *Acta Pharm Sin*, 1985, **20**(5): 398 - 400.
- [8] 马贵斌, 高飞, 任斌知, 等. 荧光法研究药物分子与人血清白蛋白的结合作用[J]. 化学学报, 1975, **53**(12): 1193 - 1197.  
MA Guibin, GAO Fei, REN Binzhi, *et al.* Study on the interaction of human serum albumin and drug molecules by the fluorescence method [J]. *Acta Chem Sin*, 1975, **53**(12): 1193 - 1197.
- [9] JIANG Chongqiu, GAO Mingxia, MENG Xianzhe. Study of the interaction between daunorubicin and human serum albumin and the determination of daunorubicin in blood serum samples [J]. *Spectrochim Acta Part A Mol Biomol Spectrosc*, 2003, **59**(7): 1605 - 1610.
- [10] 卞伟, 卫艳丽, 王亚萍, 等. 荧光法研究咖啡因和茶碱与牛血清白蛋白相互作用[J]. 光谱学与光谱分析, 2006, **6**(3): 505 - 508.  
BIAN Wei, WEI Yanli, WANG Yaping, *et al.* study on interaction of caffeine and theophylline with bovine serum albumins [J]. *Spectrochim Acta Part A Mol Biomol Spectrosc*, 2006, **26**(3): 505 - 508.
- [11] 张丽, 秦德志, 杨维春, 等. Pb<sup>2+</sup>-牛血清白蛋白复合体系中蛋白质二级结构的研究[J]. 分析测试学报, 2006, **25**(12): 2055 - 2058.

- 2010, **29**(7): 721 – 725.
- ZHANG Li, QIN Dezhi, YANG Weichun, *et al.* Study on the secondary structure of protein in solution containing  $Pb^{2+}$  and bovine serum albumin [J]. *J Instr Anal*, 2010, **29**(7): 721 – 725.
- [12] 张立伟, 杨频, 王芳. 二价铜、锌离子对盐酸巴马亭与牛血清白蛋白结合反应光谱的影响研究[J]. 无机化学学报, 1999, **15**(4): 26 – 30.
- ZHANG Liwei, YANG Pin, WANG Fang. Spectroscopic studies on binding of palmatine hydrochloride to bovine serum albumin influenced by zinc and copper [J]. *Chin J Inor Chem*, 1999, **15**(4): 26 – 30.
- [13] 周秋华, 王彦卿, 张红梅, 等. 吡虫啉与牛血红蛋白相互作用的光谱研究[J]. 分析测试学报, 2007, **26**(3): 368 – 372.
- ZHOU Qiuhua, WANG Yanqing, ZHANG Hongmei, *et al.* Spectroscopic studies on the interaction between imidacloprid and bovine hemoglobin (BHb)[J]. *J Instr Anal*, 2007, **26**(3): 368 – 372.
- [14] 魏欣, 茹炳根. 二价铅离子与金属硫蛋白相互作用的研究 [J]. 中国生物化学与分子生物学报, 1999, **15**(2): 289 – 295.
- WEI Xin, RU Binggen. The Interaction of two divalent lead ion with metallothionein [J]. *Chin J Biochem & Mol Biol*, 1999, **15**(2): 289 – 295.
- [15] 郭照辉, 张德元, 毛丹丹, 等. 植物  $Mg^{2+}$  转运蛋白与相关基因及其功能的研究进展[J]. 生命科学研究, 2008, **12**(3): 207 – 210.
- GUO Zhaohui, ZHANG Deyuan, MAO Dandan, *et al.* Progress on the function of magnesium transport proteins and genes in plant [J]. *Life Sci Res*, 2008, **12**(3): 207 – 210.
- [16] DAVID G K, MICHAEL E M. Structure properties and regulation of magnesium transport proteins[J]. *Bio Metals*, 2002, **15**: 261–270.

## 欢迎订阅 2014 年《南京林业大学学报(自然科学版)》

《南京林业大学学报(自然科学版)》创刊于 1958 年, CN 32-1161/S, ISSN 1000-2006, 是江苏省教育厅主管、国内外公开发行的全国性林学与林业工程为主的学术期刊。该刊拥有以南京林业大学、中国林业科学研究院、国内一些综合性重点大学、农林院校、理工院校以及国外有关科研机构和大学等单位的研究人员为主体的作者队伍。

该刊是中文核心期刊、中国自然科学核心期刊、科技部“中国科技论文统计源期刊”和中国科学院“中国科学引文数据库统计源期刊”, 曾连续多次荣获中国高校科技期刊优秀期刊等多项全国性优秀期刊奖。连续收录《南京林业大学学报(自然科学版)》的著名检索期刊和数据库有: 美国《化学文摘》、美国剑桥科学文摘、日本科学技术文献速报、英国“国际农业与生物科学研究中心”数据库、英国《动物学记录》、哥白尼文摘、中国科技论文引文数据库、中国科学引文数据库、《中国学术期刊文摘》、《中国生物学文摘》和中国林业科技文献数据库等。

《南京林业大学学报(自然科学版)》为双月刊, 大 16 开本, 150 页左右, 单月月底出版。每期定价 20 元。国外由中国国际图书贸易总公司(北京 399 信箱)发行, 国内由江苏省报刊发行局总发行, 全国各地邮局收订。如当地邮局订阅不便或错过征订时间, 也可直接向该刊编辑部汇款订阅。

地址: 210037 南京市龙蟠路 159 号《南京林业大学学报(自然科学版)》编辑部。发行电话: 025-85427076, 发行电子信箱: xuebao\_3@njfu.edu.cn。