

分析化学

Advances in

Analytical Chemistry

新进展

国家自然科学基金委员会化学科学部 组编

汪尔康 主编



科学出版社

www.sciencep.com

分析化学新进展

Advances in Analytical Chemistry

国家自然科学基金委员会化学科学部 组编

主 编 汪尔康

副主编 单孝全 常文保 梁文平

科学出版社

北 京

内 容 简 介

本书汇集了 50 余位在分析化学科研及教学第一线的专家学者的优秀研究成果,全面展示了近几年分析化学各个领域的新进展,同时对分析化学未来的发展方向也作了展望。全书由 8 篇,49 个专题组成:电分析化学、毛细管电泳分析、色谱分析、原子光谱/质谱分析、分子光谱分析、分析化学计量学、生化分析及生物传感器、形态分析等,内容丰富,资料新颖,可读性强。

本书适合分析化学及相关专业的研究生、教学及科研人员参考、阅读。

图书在版编目(CIP)数据

分析化学新进展 = Advances in Analytical Chemistry/汪尔康主编. —北京:科学出版社,2002

ISBN 7-03-010946-5

I. 分… II. 汪… III. 分析化学-科学研究-进展-中国 IV. O65-12
中国版本图书馆 CIP 数据核字(2002)第 087309 号

责任编辑:胡华强 杨向萍 / 责任校对:钟 洋

责任印制:安春生 / 封面设计:王 浩

科学出版社 出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

双青印刷厂 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2002 年 11 月第 一 版 开本:185(720×1000)

2002 年 11 月第一次印刷 印张:33

印数:1—2 500 字数:632 000

定价: 65.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈新欣〉)

《分析化学新进展》编委会

主 编 汪尔康

副主编 单孝全 常文保 梁文平

编 委 (以姓氏笔画为序)

马会民	于爱民	方肇伦	王小如	王柯敏	王俊德
庄乾坤	刘国詮	刘绍璞	许 禄	许国旺	江云宝
李隆弟	毕树平	汪尔康	陈 义	陈 坚	陈洪渊
张玉奎	张展霞	吴采樱	单孝全	林炳承	杨芑原
金文睿	金利通	金钦汉	罗立强	罗国安	欧庆瑜
欧阳政	倪永年	赵一兵	胡继明	俞汝勤	姚守拙
袁倬斌	莫金垣	常文保	梁 恒	梁逸曾	黄本立
章竹君	傅若农	焦 奎	童爱军	董绍俊	韩慧婉
蔡汝秀					

34.71.27

序

为了向整个科学界宣传和展示我国分析化学学科的发展和进步,全面总结 15 年来国家自然科学基金委员会资助分析化学学科基础研究所取得的成果和促进学科内部分支学科之间的相互了解及学科交叉研究,国家自然科学基金委员会化学部于 2001 年 5 月 9 日至 11 日在北京举办了分析化学研究成果报告会,多次受国家自然科学基金委员会资助的分析化学领域的 60 余名教授和研究人员参加本次会议并作了学术报告,其中包括 6 名中国科学院院士、1 名第三世界科学院院士及 6 名杰出青年基金获得者。本次大会所作的报告内容极其丰富,表明我国在这一领域已取得了一系列令人瞩目的研究成果。在所有这些研究成果中,很大一部分是以学术论文的形式发表的。科学家们在一些重要的国际学术刊物上发表了数量可观、质量上乘的论文,为我国在化学学科国际学术论文的总数跃升到第三位作出了重要的贡献。除此之外,我国的分析化学家们还出版了一系列重要著作,主持了一批重要的国际学术会议,不少科学家应邀担任国际刊物的编委并承担了重要的专辑编辑工作。这次研究成果报告会显示出我国的分析化学研究在整体水平上已有质的突破,在竞争激烈的国际舞台上已占有一席之地。

为了将这些研究成果奉献给全国从事分析化学基础研究工作的科研和教学人员,特别是分析化学领域中的青年工作者,在国家自然科学基金委员会化学部主持下,组成了由汪尔康院士任主编,北京大学、中国科学院生态环境研究中心及国家自然科学基金委员会化学部三位教授和研究员任副主编的编委会,编辑了《分析化学新进展》一书。该书着重介绍 15 年来在国家自然科学基金委员会资助下,分析化学学科所取得的部分重要优秀研究成果,具有很高的学术价值,反映了我国分析化学学科的最新进展。

本书由于篇幅的限制,难以全面反映分析化学基金项目的全部研究成果,还有许多专家的重要研究成果未能收集在本书内,他们同样为我国分析化学学科的发展作出了重要的贡献。在本书编辑过程中得到了撰稿人的积极支持,编委会成员也为此书付出了辛勤的劳动,在此谨向他们表示衷心的感谢。

金龙珠

国家自然科学基金委员会
化学科学部分析化学学科

目 录

第一篇 电分析化学

- 1 模拟生物膜体系的生物电化学研究 汪尔康 韩晓军 唐纪琳(3)
- 2 仿生催化传感与电分析化学新技术 陈洪渊(14)
- 3 酶促反应的电分析化学研究 高小霞 庄乾坤(32)
- 4 单原子、单分子和单细胞成像的观测研究 袁倬斌 胡健平 李 琚(41)
- 5 伏安酶联免疫分析及其在植物血清学检测技术中的应用
..... 焦 奎 张书圣 孙 伟(55)
- 6 毛细管电泳电化学检测法及单细胞分析 金文睿(63)
- 7 自由基电化学微型传感器及其在生命科学中的应用研究
..... 金利通 鲜跃仲(70)

第二篇 毛细管电泳分析

- 8 毛细管电泳研究及其在生命科学中的应用 林炳承(91)
- 9 毛细管电泳理论、方法发展及其在生物医药中的应用 罗国安 王义明(98)
- 10 高效毛细管电泳手性分离方法研究 欧庆瑜 李菊白 康经武等(109)
- 11 非平衡热力学分离理论与整体多段动态优化控制分离过程 梁 恒(119)
- 12 毛细管电泳理论研究的若干进展 陈 义(130)

第三篇 色谱分析

- 13 新型 HPLC 填料的研究与进展 赵 睿 苏天生 刘国詮(145)
- 14 有协同效应色谱分离介质的合成及应用研究 傅若农 顾峻岭等(154)
- 15 冠醚聚硅氧烷用作毛细管柱气相色谱固定相的研究
..... 吴采樱 曾昭睿 卢雪然等(163)
- 16 毛细管电泳和高效液相色谱用于尿中修饰核苷作可能的肿瘤标记物的
研究 许国旺 路 鑫 郑育芳等(175)
- 17 色谱用等离子体检测器的研究 于爱民 郑 健 师宇华等(185)

- 18 毛细管电色谱柱上富集理论与实践 张维冰 朱 军 张丽华等(194)

第四篇 原子光谱/质谱分析

- 19 原子光谱/质谱分析中空阴极灯/辉光放电灯的强短脉冲供电技术
..... 黄本立 杨芃原 弓振斌等(211)
- 20 微秒强脉冲辉光放电及其在质谱/光谱材料分析中的应用
..... 杨芃原 黄本立 王小如等(218)
- 21 光谱质谱联用新技术、新方法及其在中药研究中的应用
..... 王小如 庄峙厦 胡广林等(226)
- 22 自装固态图像检测器(PDA 或 CCD) - ICP 发射光谱仪及其应用
..... 张展霞 钱浩文 李文冲等(239)
- 23 微波等离子体炬原子光谱法的研究 金钦汉 张寒琦 于爱民等(247)

第五篇 分子光谱分析

- 24 多参数光化学传感器研究与纳米尺度上生物化学信息的超灵敏获取
..... 王柯敏 谭蔚泓(259)
- 25 非放射免疫分析的应用基础研究 常文保 李元宗 张新祥等(273)
- 26 共振瑞利散射及共振非线性散射在分析化学中的应用 刘绍璞(280)
- 27 基于直接测定吸光的分子光谱新技术研究 赵一兵(289)
- 28 光学识别试剂的研制与标记分析 马会民(298)
- 29 酶反应活性中间体的动态分析研究 蔡汝秀 林智信 刘志洪(306)
- 30 荧光多元猝灭响应光纤化学传感器、仪器系统及其在医药和环境分析中
的应用 陈 坚(314)
- 31 电荷转移荧光传感与分子识别 江云宝(321)
- 32 发光性受体的分子设计与分子识别 童爱军 李隆弟 董 赫等(331)
- 33 无保护和超分子组合流体室温磷光机理及应用研究
..... 李隆弟 童爱军 陈小康等(339)
- 34 激光分析与生物传感器新技术及其应用研究
..... 胡继明 叶 勇 马文涛等(350)
- 35 分析化学在空间上的延伸 王俊德 李 燕(362)

第六篇 分析化学计量学

- 36 化学计量学基础与方法学研究 俞汝勤(379)
- 37 复杂有机多组分体系的定性定量解析及其应用研究 梁逸曾(389)
- 38 有机化合物结构解析专家系统研究 许 禄 胡昌玉 郝军峰等(401)
- 39 分析化学信号处理新方法 莫金垣(410)
- 40 化学计量学在复杂波谱解析中的应用 倪永年(421)
- 41 基于神经网络和知识的 X 射线荧光无标样分析体系研究 罗立强(432)

第七篇 生化分析及生物传感器

- 42 微流控分析芯片研究进展 方肇伦 王世立(441)
- 43 化学与生物学中的液相压电传感检测进展 聂利华 姚守拙(448)
- 44 有机相生物传感器 董绍俊 陈 旭(455)
- 45 光学生物传感器及其在生命科学中的应用 章竹君(464)
- 46 微透析活体生化取样方法及其样品的痕量检测 韩慧婉(470)

第八篇 形态分析

- 47 形态分析与生物可给性 单孝全(485)
- 48 天然水中铝的形态分析及其生态毒理效应研究
..... 毕树平 杨小弟 干 宁等(500)
- 49 生物体中硒的有机形态的分析研究 欧阳政 蔡端仁 郑文杰(510)

第一篇

电 分 析 化 学

模拟生物膜体系的生物电化学研究

汪尔康 韩晓军 唐纪琳

(中国科学院长春应用化学研究所电分析化学国家重点实验室 长春 130022)

摘 要 本文简要介绍了以下几项基于模拟生物膜体系的工作:磷脂成膜过程及动力学、磷脂与无机离子作用所产生的通道行为、短杆菌肽的离子通道行为、磷脂与细胞色素c的作用、芦丁对抗坏血酸的催化氧化,膜中固定缬氨酶素和酶所研制的生物传感器。

关键词 模拟生物膜 电化学 生物传感器

一、引 言

生物膜包括细胞膜(质膜)、核膜、内质网、高尔基体、溶酶体膜、空胞膜和线粒体的内、外膜等,它们都是由蛋白质和脂类分子经有序排列组成的。在生命的进化过程中,膜的出现具有特殊的意义,质膜的形成是非细胞生物(如病毒、噬菌体)与细胞生物的一个重要分界点,细胞内膜体系的发展是细胞生物从低级向高级进化的反映。从现代观点来看,生物膜特有的脂双分子层结构和DNA双螺旋结构、蛋白质 α -螺旋结构一样,都是生命体系的基本结构,是细胞重要的特征之一。膜结构既是细胞结构的基本形式,也是生命活动的主要结构基础。生物膜研究已成为分子生物学中最令人瞩目和最活跃的研究领域之一。

由于质膜及各种内膜种类繁多,且制备涉及复杂的纯化过程,而用人工制备的脂双分子层当做生物膜的模型可模拟生物膜的某些基本特性,因此模拟生物膜的研究越来越受到人们的重视。生物膜的模型从层数上来分可分为单层膜、双层膜和多层膜。单层膜主要是指Langmuir-Blodgett(L-B)膜;脂双层膜又包括平板双层膜(planar bilayer)和脂质体(liposome),平板双层膜又可分为非支撑平板双层膜(又称黑膜,BLM)和支撑平板双层膜(s-BLM);多层膜主要指磷脂浇铸膜(cast lipid film)。

平板双层磷脂膜上的电化学研究,特别是循环伏安研究,源于Tien等人^[1-3]在20世纪80年代初所做的一系列开创性工作,并由此逐步建立起来。受BLM光电研究工作的启发,Tien小组^[4-6]最早用电化学方法研究了BLM的电子转移。

用电子导体修饰 BLM, 在膜的两侧加入氧化还原电对分别作为电子的给体和受体, 会出现很好的伏安响应。自 1989 年 Tien 等^[7]在新生的金属表面上成功地制备出支撑平板双层膜(s-BLM)以来, 支撑膜上的电化学研究开展了很多^[8,9]。支撑膜最主要的优点是比 BLM 稳定, 有实用价值, 另外它也很适合于现场的谱学研究。近几年有不少人从事在电极上浇铸多层磷脂膜的研究工作, 比较出色的是 Rusling 小组^[10,11]。他们发现在热解石墨(pyrolytic graphite, PG)电极上的浇铸膜对血红蛋白、肌红蛋白、细胞色素 P 450 以及光合作用反应中心的直接电子转移有促进作用。

电化学生物传感器的研究和开发从 20 世纪 80 年代起得到了快速的发展, 在生物模拟方面主要采用了脂双层模型。Tien^[12]对固体支撑 BLM 生物传感器的存在时间、稳定性、离子选择性以及被修饰的 BLM 作为免疫学、pH、H₂O₂、铁、尿素、碘化物、离子、分子等生物传感器和作为离子及分子探针作了评述。BLM 生物传感器可识别和测定许多生物活性物质, 如葡萄糖^[13]、谷氨酸^[14]、细胞色素 c^[15]等。在农药及代谢物检测方面, BLM 生物传感器已用于测定有机磷酸酯杀虫剂中的久效磷和氨基甲酸酯杀虫剂中的羧基呋喃, 较好地弥补了液相色谱法的不足^[16]。

在我们实验室, 从“液/液”界面到“液/膜”界面(导电高分子膜、离子交换膜)发展到现在的模拟生物膜的研究已 20 余年。目前我们已掌握了所有模拟生物膜的制备技术, 而且拥有多种表征模拟生物膜体系的手段, 包括: 电化学方法(伏安法、交流阻抗法、电容测量法、电化学发光法), 谱学和现场谱学电化学方法(紫外-可见吸收光谱、红外光谱、电喷雾质谱、圆二色光谱), 以及扫描探针显微镜及其电化学现场检测。我们最近着重于:

1. 研究模拟生物膜的制备方法, 以获得稳定性高和生物相容性好的膜。
2. 用多种谱学手段从原子、分子水平上研究模拟生物膜的结构及其形成过程。
3. 研究模拟生物膜对离子和电子的转移机理, 探索新的离子和电子载体及离子通道。
4. 发展模拟生物膜的界面电化学新技术、方法和理论, 揭示模拟生物膜电化学的实质和规律。
5. 利用模拟生物膜良好的生物相容性, 实现蛋白质和酶的直接电化学, 并研制以模拟生物膜为基础的新型生物传感器。

由于篇幅所限仅介绍一些最新的结果。

二、研究成果

1. 用扫描探针显微镜研究磷脂单层膜在疏水表面自组装形成模拟生物膜的动力学过程^[17]

确定生物膜的二维结构是目前生物学家面临的最具挑战性的问题之一。尽管对于磷脂的单层和多层的结构已进行了大量的研究,但是人们对于其形成和生长的机理还知之不多。我们以经典的支撑膜为研究对象,在云母(mica)表面自组装单层有机硅烷(十八烷基三氯硅烷,OTS),将磷脂单层组装到硅烷单层上,从而形成硅烷-磷脂杂化双层磷脂膜(HBM)作为模拟生物膜,利用原子力显微镜(AFM)及侧向力显微镜(LFM)研究了膜的形貌,得出了磷脂在疏水表面的“成核-生长-融合”的生长机制,并深入分析了成膜动力学。

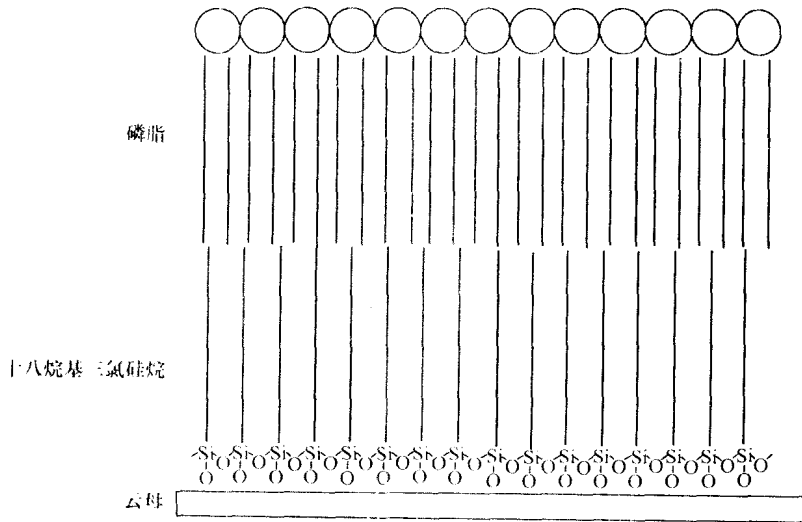


图1 磷脂/疏水基底(DMPC/OTS)双层膜的结构模型

从疏水基底在 1mg/mL DMPC 的癸烷/异丁醇溶液不同浸泡时间下所得的 AFM 图像中我们得到如下结论:在成膜液中浸泡 1s 后,基底即变得不均匀,出现岛状结构,其轮廓非常清晰,呈圆形;经过 2s, 5s, 10s 的浸泡,岛状结构变大;30s 后 50% 的基底被 DMPC 单层所覆盖,并且岛状结构变得连续起来;60s 后, DMPC 单层膜基本形成,略带有缺陷;120s 后 DMPC 单层膜完全形成。LFM 的结果与 AFM 的完全相同。

由于 DMPC 单层膜的生长取决于疏水的 OTS 基底在成膜液中的浸泡时间,根据 Langmuir 吸附等温式,单层膜的覆盖度与浸泡时间的关系为

$$q = 1 - \exp(-ckt) \quad (1)$$

式中, k 为一级速率常数; t 是浸泡时间; q 是 DMPC 单层平均覆盖度。根据实验结果和式(1)得出

$$k = 19.43 \pm 2.11 \text{ s}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{L}$$

2. 平板双层磷脂膜(BLM)的制备及短杆菌肽 D 的通道行为研究^[18]

作为与生物膜有最相似结构的模型之一的 BLM, 在研究生物膜的物质传输、信息传递及能量转换中作出了重大贡献, 而且在研究离子和电子的跨膜传输中有其独到之处。不同的电解池有不同的成膜方法, 这里我们采用嵌套式电解池成功地制备出完全符合要求的 BLM。我们将此 BLM 系统用于研究短杆菌肽 D(GD) 对一价离子的通透作用。

我们选择 H^+ 为研究对象, 以 LiClO_4 为支持电解质, 研究 GD 在卵磷脂(PC)构成的 BLM 中对 H^+ 的通透作用。发现短杆菌肽 D 的通道行为依赖于其在膜中的浓度。

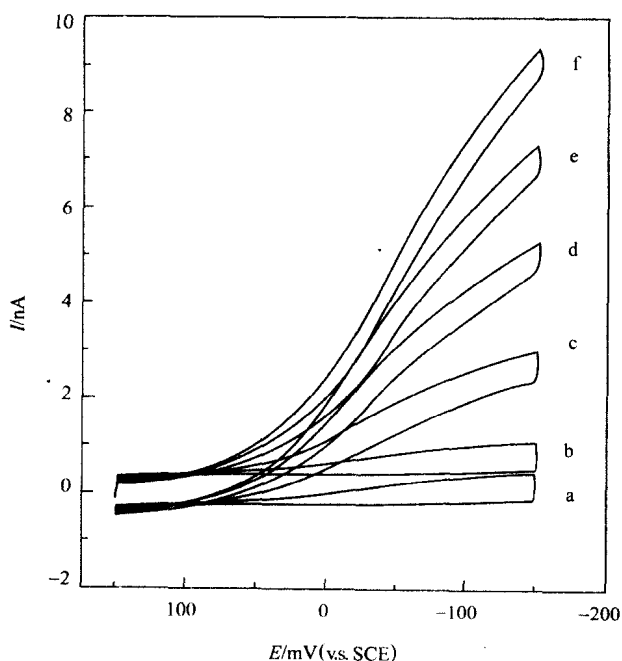


图2 $10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 H^+ 在不同时间下穿过 BLM 的循环伏安曲线

a. 0min; b. 15min; c. 25min; d. 30min; e. 35min; f. 40min;

扫速 $100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$

如图 2 所示, GD 浓度较低时(成膜液中 GD 与 PC 的物质的量之比是 1:1000), 只能选择性地通过 H^+ , 而 Li^+ 不能通过, 并且通道行为受膜两边所加电压控制。当电压小于 75mV 时, 通道打开; 当电压大于 75mV 时, 通道关闭。而当 GD 浓度较高时(成膜液 GD 与 PC 的物质的量之比是 1:10), 通道行为变得与电压无关, 通道始终打开, 实验中不加入 H^+ , Li^+ 也可以通过膜。

无论哪种情况, 通道电流都随时间逐渐增大, 在 40~50min 内达到稳定。短杆菌肽 D 在生物膜中主要是以甲酰基头对头(N-N)的方式形成螺旋二聚体, 依靠相互连接在甲酰基和 N—端氨基酸的 6 个分子内氢键保持稳定。短杆菌肽 D 所形成的通道的打开和关闭与分子内氢键的连接紧密相关。当短杆菌肽 D 的浓度非常低时, 其通道行为受膜两边所加电压控制, 电压高于 75mV, 由于分子内氢键断裂而通道关闭; 电压低于 75mV, 短杆菌肽 D 以二聚体方式存在, 所以通道打开。当短杆菌肽 D 在膜中的浓度较高时, 它总是以二聚体方式存在, 因此通道总是打开。

3. 基于磷脂膜的一种新型钾离子电容传感器^[19]

在刚处理好的金电极表面自组装一层硫醇, 然后在此表面上构筑二甲基二(十八烷基)溴化铵(DODAB, 一种人工磷脂)单层膜, 从而形成杂化膜(HBM)。再将其放到缬氨霉素的溶液中培养约 10h, 便可制备出对钾离子有选择性电容响应的传感器。目前, 已经有许多方法(如电位法、电流法等)用于 K^+ 的检测^[20,21], 然而仍有必要寻找一种快速、简便、可靠的检测方法, 电容测量可望实现这一目标。

图 3 显示了 $0.01\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris-HCl 缓冲溶液中不断加入不同浓度的 K^+ 电容值随时间的变化曲线。从图中我们可以看出, 与背景电容相比, 至少需要 $5.0\times 10^{-8}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 K^+ 才能引起电容信号的变化。该传感器的响应是很快的。在本实验的条件下, 在 $5.0\times 10^{-7}\sim 5.0\times 10^{-3}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的浓度范围内稳态电容信号跟溶液中 K^+ 的浓度的对数成线性关系。而且 K^+ 浓度的检测限可达 $5.0\times 10^{-8}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 低于通常采用的其他电化学方法。

4. 高氯酸根离子诱导支撑磷脂双层膜产生通道行为的电化学发光研究^[22]

我们曾用循环伏安法研究了钙离子诱导由十二烷基硫醇与卵磷脂(PC)构成的 HBM^[23]以及高氯酸根诱导玻碳电极上人工磷脂双层膜^[24]产生的离子通道行为。

现在我们选择人工磷脂 DODAB 为研究对象, 将它固定在铂电极表面上成功地制备出 s-BLM, 以高氯酸根离子为引发剂, 吡啶钌为探针, 通过检测 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 和 $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ 这一电化学发光体系发光强度的变化, 研究了由 ClO_4^- 引发的膜的通道行为的变化。

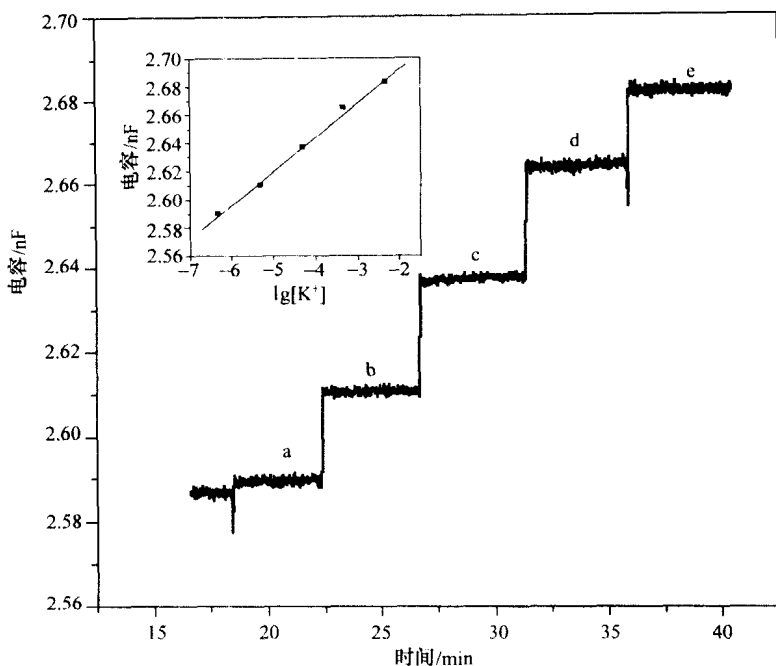


图3 在 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris-HCl ($\text{pH}=8.28$) 溶液中, Au/ME/DODAB + 缬氨酶对不同浓度 K^+ 的电容响应

K^+ 浓度 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$: a. 5.0×10^{-7} ; b. 5.0×10^{-6} ; c. 5.0×10^{-5} ; d. 5.0×10^{-4} ; e. 5.0×10^{-3}

内插图: K^+ 传感器的校正曲线

在图4中: a. 膜电极在 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaCl} + 0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 混合溶液中得到的 ECL 响应, 此时发光强度微弱, 说明 s-BLM 中的离子通道没有形成, 只有极少量 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 通过膜中缝隙到达电极表面参与发光; b. 当溶液中加入 $0.8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ClO}_4^-$, 发光强度增强, 说明 ClO_4^- 与 s-BLM 作用使离子通道打开, 大量 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 到达电极表面参与发光; c. 溶液中再继续加入 $3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{C}_2\text{O}_4^{2-}$, 发光强度显著增强, 这是因为 $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ 和 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 这一电化学发光体系更加灵敏; d. 在 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaCl} + 0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 混合溶液中加入 $3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{C}_2\text{O}_4^{2-}$, 发光强度较之曲线 c 降低很多, 说明 $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ 对 ClO_4^- 诱导 s-BLM 产生离子通道没有影响。

通过研究发光强度随 ClO_4^- 浓度变化可知道, 当 ClO_4^- 低于 $0.1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 发光强度很小且变化不大, 说明离子通道尚未形成; 当 ClO_4^- 浓度高于 $0.1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 随着 ClO_4^- 浓度的增加, 发光强度增加很快, 这是因为离子通道形成的数目在不断增加, 随着 ClO_4^- 浓度增加到 $1.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 后, 发光强度基本不

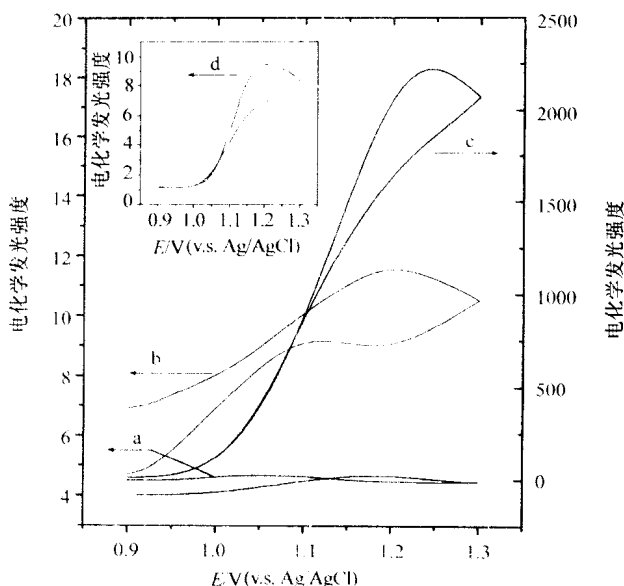


图4 s-BLM 修饰的铂电极的电化学发光行为

再增加,说明离子通道已被全部打开。

5. 细胞色素 c 与生物膜之间相互作用的电化学及谱学研究^[25]

细胞色素 c 是线粒体的外膜蛋白,在呼吸链上细胞色素 c 还原酶和细胞色素 c 氧化酶之间起着传递一个电子的重要作用,而且传递电子的速率应决定于其在线粒体膜上的结构。因此,了解细胞色素 c 与膜脂质之间的相互作用就显得尤为重要了。

图 5 为修饰了 4,4'-二硫联吡啶的金电极在 a. 细胞色素 c 溶液中, b. 细胞色素 c 与 DMPG 泡囊溶液中的循环伏安行为。比较 a 与 b 发现,细胞色素 c 的氧化还原行为从准可逆变为可逆,说明细胞色素 c 与 DMPG 泡囊作用后结构发生了变化。

远紫外 CD 谱对蛋白质分子的二级结构非常灵敏,对此研究表明,细胞色素 c 与 DMPG 作用后其 α -螺旋结构的含量没有变化。而近紫外 CD 谱可以检测蛋白质芳香性侧链的微环境和由于环境的变化引起的蛋白质的三级结构的改变。天然细胞色素 c 在与 DMPG 泡囊作用后,代表天然细胞色素 c 三级结构的特征 CD 谱带消失了,说明蛋白质的三级结构遭到破坏。Soret 区域的 CD 谱进一步表明了蛋白质松散的三级结构。