

不同环境介质中溴化乙锭的三维荧光光谱研究*

鄢 远 许金钩** 陈国珍

(厦门大学化学系, 厦门 361005)

关键词 溴化乙锭 三维荧光光谱法 荧光探针 胶束

溴化乙锭(EB)是一种应用于 DNA 研究最常用及较理想的荧光探针^[1]. 由于仅双链 DNA 能使 EB 的荧光明显增强, EB 常用来作为双链 DNA 的结构探针. 在一定意义上, 生物大分子可以认为是一种有序化介质, 在不同类型有序介质中 EB 的三维荧光光谱特征将可以更好地帮助理解 EB 与 DNA 的作用机理. 因此系统研究 EB 的荧光特性具有一定的意义.

本文研究了不同环境介质中 EB 的三维荧光光谱特性, 这是文献未见报道的. 实验发现 EB 在阴离子胶束十二烷基硫酸钠(SDS)、非离子胶束聚氧化乙烯(9,5)对-特辛苯酚(Triton X-100)、阳离子胶束溴化十六烷基三甲基铵(CTAB)、有序介质 β -环糊精(β -CD)和甘油等不同的环境介质下, 三维荧光光谱的变化呈现出较强的谱图特征. 现象表明 EB 的三维荧光光谱不仅能很好地用来指示所处环境的特征(极性、粘度), 同时可以有效地区分不同类型的胶束及进一步说明胶束结构.

1 实验部分

Hitachi-650 10S 荧光分光光度计(日本日立公司), 自编多功能数据采集系统; 所用试剂均为分析纯试剂, 二次去离子-重蒸水.

于 10 mL 容量瓶中, 加入 pH7.0 Tris 缓冲液 2.0 mL, 不同介质溶液若干, EB 溶液 $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 稀至刻度, 摇匀. 于 Hitachi-650 10S 荧光分光光度计上用自编多功能数据采集系统采集三维荧光光谱(加相互垂直偏振片以消除散射光的干扰), 狭缝宽度(激发、发射)均为 5 nm.

2 结果与讨论

2.1 不同环境介质中 EB 的三维荧光光谱

EB 在水溶液、SDS, Triton X-100, CTAB, β -CD 和甘油等不同环境介质中的三维荧光光谱如图 1 所示, 其荧光峰 ($\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}}$ (nm)) 依次分别为 475/594, 520/604, 555/604, 475/594, 475/594 和 545/604, 在 Triton X-100 中为双峰, 另一峰为 475/604 nm. 实验表明, EB 在阳离子胶束 CTAB 和有序介质 β -CD 中荧光峰及强度基本没有变化, 而在阴离子胶束 SDS、非离子胶束 Triton X-100 及高粘度介质甘油等介质中荧光峰发生了明显的红移, 峰形也表现出对不同环境介质较强的指纹特征. 显示 EB 是一种阳离子荧光探针^[2], 可以用来区分不同类型的有序介质.

1994-11-15 收稿, 1995-03-21 收修改稿

*国家自然科学基金资助项目

**联系人

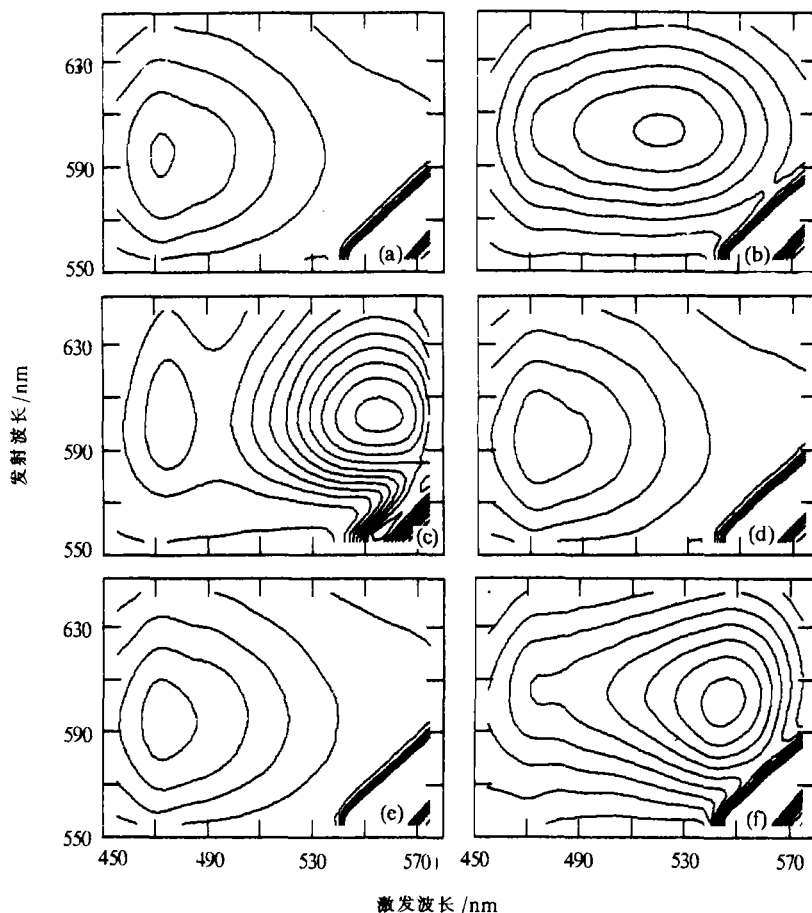


图 1

2.2 EB 三维荧光光谱指纹特征的机理探讨

试验 EB 荧光强度随 SDS 介质浓度的影响 (见图 2), 表明加入少量 SDS (未达到 cmc), EB 的荧光强度即迅速增大, 当 SDS 与 EB 的浓度比为 1:1 时, 荧光强度达最大值 (约提高 5 倍). SDS 在胶束形成前为“预胶束”^[3] 状态, EB 首先进入 SDS “预胶束”中, 由于一般胶束比水溶液的极性较低, 粘度较高^[4,5], 因而促使 EB 发生异构化 (荧光偏振度下降亦说明), EB 分子中苯基发生旋转^[6], 从而引起 EB 的三维荧光光谱变化 (荧光峰明显红移和峰形变宽). 随着 SDS 浓度的进一步提高, EB 的荧光强度在 cmc (8.1×10^{-3} mol/L)^[7] 时仅出现一个小峰, 说明胶束的形成对 EB 的荧光特性影响不明显. 这是因为当溶液中 SDS 的浓度超过 cmc 时, 由于受 SDS 表面阴离子的影响, EB 难以进入其胶束内核, 而只是嵌入其胶束表层, 因而 EB 所处的微环境较 SDS “预胶束”基本没有变化.

试验 EB 荧光强度随 Triton X-100 浓度的影响 (见图 3), 荧光强度随着 Triton X-100 浓度的提高而提高, 峰 $\lambda_{ex}/\lambda_{em}=475/604$ nm 在胶束 cmc (3.0×10^{-4} mol/L)^[7] 时达到一平台, 后略有下降. 峰 555/604 nm 的荧光强度随 Triton X-100 浓度的增加有明显的增强, 在 Triton X-100 浓度达到 7.0×10^{-4} mol/L 时才达到一平台 (提高约 40 倍). 这可解释为非离子胶束 Triton X-100

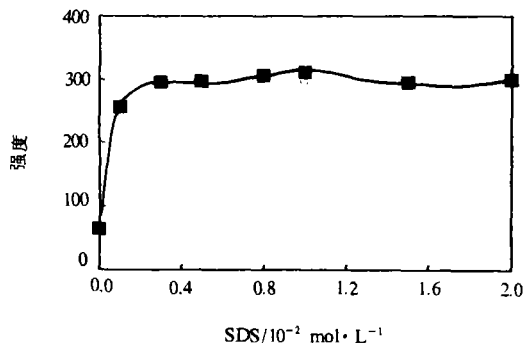


图 2 试验 EB 荧光强度随 SDS 介质浓度的影响

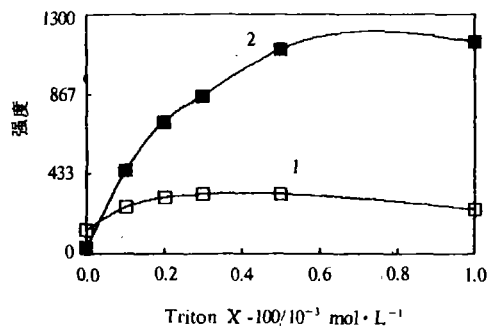


图 3 试验 EB 荧光强度随 Triton X-100 浓度的影响

的表面电荷较 SDS 弱得多, 从而 EB 能较完全地进入了 Triton X-100 胶束内核中, 在胶束内核同时存在 EB 的两种异构体形式, 从而表现为两个峰并且分别和水溶液、SDS 胶束介质中相似. 同时由于 EB 进入胶束位置的差异, 故所处微环境性质的差异 (极性更弱、粘度更高) 使得这两个峰分别又与水溶液和 SDS 相比有一定的差异.

进一步试验 EB 在甘油介质中的三维荧光光谱变化, 表明 EB 随着甘油浓度的提高, 所处微环境介质极性不断降低, 粘度不断提高, 荧光峰发生了较大的变化, 荧光强度随之不断提高, 在 99% 甘油介质中提高约 8 倍. 同时比较 EB 在 SDS、Triton X-100 胶束介质中的变化情况, 说明不仅粘度是影响 EB 发生异构化一个影响因素^[9], 极性也许是一个更重要的影响因素.

2.3 结论

运用三维荧光光谱分析新技术能提供丰富的光谱信息的特点, 研究了 EB 在不同类型的胶束 (SDS, CTAB 和 Triton X-100) 及有序介质 β -CD、高粘度介质甘油中的三维荧光光谱, 结果表明 EB 是一种很好的环境荧光探针, 可以用来区分不同类型的胶束, 进一步阐明胶束结构不同位置性质 (粘度、极性) 差异. 这个特点也将使得 EB 在 DNA 构象研究中得到更广泛的应用.

参 考 文 献

- 1 Schurr J M, Fujimoto B S, Wu P *et al.* In: Lakowicz J R ed. *Topics in Fluorescence Spectroscopy*. New York: Plenum Press, 1992. 137
- 2 程极济著, 光生物物理学. 北京: 高等教育出版社, 1987
- 3 江云宝, 许金钩, 陈国珍. 表面活性剂水溶液中芘的激基缔合物的形成. *化学学报*, 1991, 49: 850
- 4 Sudholter E J R, Engberts J B F N. Salt effects on the critical micellar concentration, Iodide counterion binding, and surface microplarity of 1-methyl-4-dedecylpyridinium iodide micelles. *J Phys Chem*, 1979, 83: 1854
- 5 Turro N J, Gratzel M, Braun A M. Photophysical and photochemical processes in micellar systems. *Angew Chem Int Ed Eng*, 1980, 19: 675
- 6 Sommer J H, Nordlund T M, McGuire M *et al.* Picosecond time-resolved fluorescence spectra of ethidium bromide: evidence for a nonactivated reaction. *J Phys Chem*, 1986, 90: 5173
- 7 Hinze W L, Singh H N, Baba Y *et al.* Micellar enhanced analytical fluorimetry. *Trends Anal Chem*, 1984, 3: 193