

竹红菌甲素和马心肌红蛋白相互作用的光谱研究

吴晓红, 周家宏, 魏少华, 顾晓天, 冯玉英

(江苏省生物医药功能材料工程研究中心 210097, 江苏, 南京)

[摘要] 利用紫外可见吸收光谱和荧光光谱研究了竹红菌甲素(HA)与肌红蛋白(Mb)的相互作用. 结果表明两者的相互作用主要存在于竹红菌甲素与马心肌红蛋白分子中的氨基酸残基之间.

[关键词] 肌红蛋白, 竹红菌甲素, 相互作用

[中图分类号] O657, [文献标识码] A, [文章编号] 1001-4616(2004)04-0061-02

竹红菌甲素(HA)是从生长于我国云南箭竹上的一种寄生真菌—竹红菌中提取的天然色素, 研究结果表明该化合物具有优良的光动力性质, 被公认为是一种极有应用前景的光疗药物^[1-3]. 但是作为一种具有临床应用可能性的光疗药物, HA 在注射入生物体内后, 必然会有少量 HA 吸附到其它组织上, 从而导致该组织的损伤. 但是到目前为止, 尚未见有关 HA 毒副作用的研究报道. 本文利用紫外可见吸收光谱和荧光光谱研究了 HA 与马心肌红蛋白(Mb)在稳态时的相互作用, 为进一步探讨 HA 对生物体内蛋白质损伤提供基础.

1 实验部分

1.1 试剂

竹红菌甲素为中国科学院理化技术研究所提供, 马心肌红蛋白为美国 Sigma 公司产品, 其它试剂均为分析纯试剂, 实验用水为二次去离子水.

1.2 仪器

紫外可见吸收光谱和荧光光谱实验分别采用 Perkin Elmer 公司的 Lambda17 型紫外可见吸收光谱仪和 LS 50 B 型荧光光谱仪.

2 结果与讨论

2.1 吸收光谱

根据文献^[4]报道, Mb 在 409 nm 的强吸收峰是血红素辅基的特征谱带, 280 nm 附近的吸收峰属于 Mb 分子中的氨基酸残基. 当向该溶液中加入 HA 后, Mb 位于 409 nm 处的特征吸收峰的峰位没有发生改变, 吸收强度有微弱增强, 而在 280 nm 处的吸收峰在其吸收强度呈现出不断增强的同时, 峰位也渐渐向短波长方向移动. 该现象说明 HA 仅与 Mb 分子外部的氨基酸残基之间存在着相互作用, 而对 Mb 分子中的血红素辅基没有明显影响. 这是由于 Mb 分子结构是外圆中空的, 其中具有极性的氨基酸残基几乎全部分布在分子表面, 而非极性氨基酸残基分布在分子的内部, 使得其内部呈一个疏水空穴, 血红素辅基就被包裹在该空穴的中间^[5], 因此, HA 和血红素辅基之间就不可能存在着直接的相互作用, 而只能与 Mb 分子外部的氨基酸残基发生相互作用.

收稿日期: 2004-07-01.

基金项目: 江苏省教育厅自然科学基金资助项目(03KJB150059、04KJB150068), 南京师范大学优秀高层次人才启动基金(184070H2B43), 青年基金资助(113030BQ41).

作者简介: 吴晓红, 女, 1981—, 江苏省生物医药功能材料工程研究中心硕士研究生, 主要从事光谱分析的学习与研究.

E-mail: wxhsmile@tom.com

通讯联系人: 冯玉英, 女, 1953—, 江苏省生物医药功能材料工程研究中心副研究员, 主要从事光谱分析和功能材料等领域的研究.

E-mail: yyfeng@njnu.edu.cn

万方数据

2.2 荧光光谱

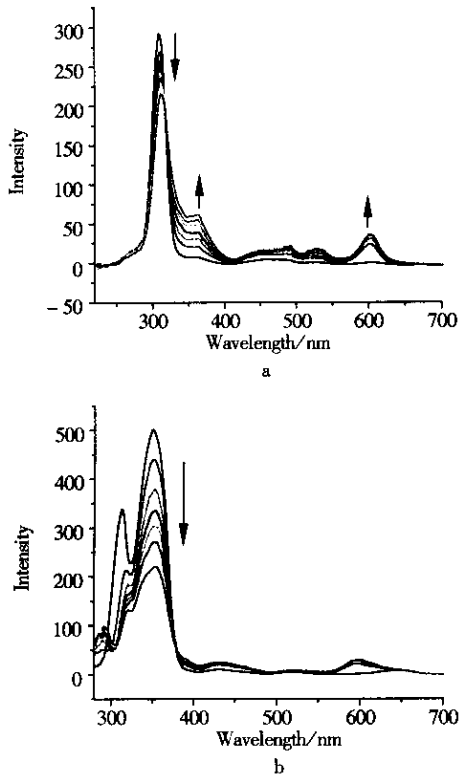
荧光光谱实验表明,当激发波长为 280 nm 时,Mb 在 300 nm ~ 600 nm 之间存在一个很强的荧光发射峰,它是由 Mb 分子中的色氨酸残基和酪氨酸残基共同产生的^[6].当向 Mb 溶液中逐渐加入 HA 后,Mb 位于 333 nm 处的荧光发射峰的强度也不断降低,同时峰位略微向短波长移动.这是由于 HA 与 Mb 分子中的氨基酸残基发生了相互作用,从而导致其分子中色氨酸残基和酪氨酸残基荧光发射峰的猝灭.

2.3 同步荧光光谱

由于色氨酸残基和酪氨酸残基发射的荧光在普通荧光图上区别不开,因此为了更好地了解 HA 猝灭 Mb 荧光的机理,我们采用了同步荧光光谱技术.根据文献[7]报道,当选择 $\Delta\lambda = 20$ nm 时,Mb 的荧光光谱表现为酪氨酸的荧光,而当 $\Delta\lambda = 80$ nm 时,为色氨酸的荧光.比较两种氨基酸残基的荧光被 HA 猝灭的程度可以发现(见图 1),HA 与 Mb 分子的色氨酸残基发生相互作用的强度大于其与酪氨酸残基的作用.

3 结论

上述实验的结果表明,稳态时 HA 与 Mb 相互作用发生在 HA 和 Mb 分子外部的氨基酸残基之间,和 Mb 分子内部的血红素辅基没有直接的相互作用.另外,HA 主要是猝灭 Mb 分子中色氨酸残基的荧光.



(a : $\Delta\lambda = 20$ nm , b : $\Delta\lambda = 80$ nm)

图 1 马心肌红蛋白与竹红菌甲素相互作用的同步荧光光谱

[参考文献]

[1] 蒋丽金. 竹红菌素的结构、性质、光化学反应及反应机制 [J]. 科学通报, 1990, 35(21): 1608—1616.
[2] Lown J W Can. Photochemistry and photobiology of perylenequinones [J]. J Chem, 1997, 75(2): 99—119.
[3] Diwu Zhenjun. Novel therapeutic and diagnostic applications of hypocrellins and hypericin [J]. Photochem Photobiol, 1995, 61(6): 529—539.
[4] 怀特 A, 汉德勒 P, 史密斯 E L. 生物化学原理 [M]. 北京: 科学出版社, 1978. 110—120.
[5] 丑菊. 细胞色素 c 和肌红蛋白的同步荧光光谱和电化学的研究 [博士学位论文]. 长春: 中国科学院长春应用化学研究所, 1995.
[6] Lakowicz J R. Principles of Fluorescence Spectroscopy [M]. New York: Plenum Press, 1983. 341.
[7] 丑菊, 杜江燕, 冯玉英, 等. 肌红蛋白的同步荧光光谱 [J]. 分析化学, 2001, 29(2): 219—221.

Study on the Interaction Between Hypocrellin A and Myoglobin Using Spectral Methods

Wu Xiaohong, Zhou Jiahong, Wei Shaohua, Gu Xiaotian, Feng Yuying

(Jiangsu Research Center of Bio-medical Functional Material Enagineering, 210097, Nanjing, China)

Abstract The interaction of myoglobin and hypocrellin A was studied by UV-Vis spectroscopy and fluorescence spectroscopy. The results indicated that the interaction occurred between hypocrellin A and aminophenol.

Key words myoglobin, hypocrellin A, interaction

[责任编辑: 孙德泉]