

# $\text{Eu}^{3+}$ 与微过氧化物酶-11 相互作用的研究

张林群<sup>1</sup>, 李美林<sup>1</sup>, 黄晓华<sup>1</sup>, 冯玉英<sup>1</sup>, 陆天虹<sup>1,2</sup>

(1. 南京师范大学化学与环境科学学院, 江苏 南京 210097)

(2. 中国科学院长春应用化学研究所, 吉林 长春 130022)

**[摘要]** 用紫外-可见(UV-Vis)吸收光谱法和循环伏安法研究了  $\text{Eu}^{3+}$  与微过氧化物酶-11(MP-11)相互作用, 发现一个  $\text{Eu}^{3+}$  离子与一个 MP-11 分子中血红素基团的两个丙酸基的羧基氧发生强的配位作用, 导致 MP-11 分子中血红素基团的非平面性、电化学可逆性和 Fe(III) 的暴露程度增加。

**[关键词]** 微过氧化物酶-11, 铕, 配位作用

**[中图分类号]** O646 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1001-4616(2006)02-0063-03

## Study on Interaction Between $\text{Eu}^{3+}$ and Microperoxidase-11

Zhang Linqun<sup>1</sup>, Li Meilin<sup>1</sup>, Huang Xiaohua<sup>1</sup>, Feng Yuying<sup>1</sup>, Lu Tianhong<sup>1,2</sup>

(1. School of Chemistry and Environmental Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China)

(2. Changchun Institute of Applied Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130022, China)

**Abstract:** The interaction between  $\text{Eu}^{3+}$  and microperoxidase-11 (MP-11) was studied via the UV-Vis absorption spectroscopy and cyclic voltammetry. It was found that one  $\text{Eu}^{3+}$  ion can coordinate strongly with two carboxylate oxygen of two propionic acid groups of the heme group in one MP-11 molecule, leading the increase in the non-planarity of the porphyrin ring, exposure degree of Fe(III) in the heme group and the reversibility of the electrochemical reaction of MP-11.

**Key words:** microperoxidase-11, europium, coordination

## 0 引言

近年来, 由于稀土离子可以促使农作物增产和品质的改善, 稀土微肥开始大规模使用, 因此稀土离子将不可避免地通过各种途径进入生命体系, 并对其产生影响。生物方面的研究表明, 稀土微肥在一定浓度范围内能增强植物细胞保护酶如过氧化物酶等的生物活性, 但其化学机理尚不明白<sup>[1]</sup>。其中, 由于酶具有高化学活性、结构复杂、构象易变等特点, 使研究酶与稀土离子相互作用比较困难。本文选用与过氧化物酶在结构、性质、生物活性和功能上相似的模型化合物 MP-11 来研究它与稀土离子相互作用, 为进一步研究酶与稀土离子相互作用的机理打下基础。

MP-11 是细胞色素 c 在胃蛋白酶和胰蛋白酶作用下水解而得到的产物, 具有与过氧化物酶相似的活性中心和生物活性, 它保留了细胞色素 c 的 11-21 的氨基酸残基和血红素, 其中半胱氨酸-14(Cys-14)和半胱氨酸-17(Cys-17)通过硫醚键与血红素基团相连, 组氨酸-18 的咪唑基团作为血红素基团中心的 Fe(III) 第五配体与血红素相连, 而  $\text{H}_2\text{O}$  作为 Fe(III) 的第六配体(图 1)<sup>[2]</sup>。

## 1 实验部分

MP-11 为美国 Sigma 公司产品, 分子量为 1 861.9, 纯度为 90%, 使用前未经进一步纯化。无水  $\text{EuCl}_3$

收稿日期: 2005-12-06.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(20243002)、国家计委稀土专项基金资助项目(GJX01100626)、江苏省科技厅高新技术资助项目(BG2005040)和国家“211”工程重点学科建设项目。

作者简介: 张林群, 1969—, 硕士研究生, 主要从事生物电化学的学习与研究。E-mail: zllq105@hotmail.com

通讯联系人: 陆天虹, 1943—, 研究员, 主要从事生物电化学和化学电源的教学与研究。E-mail: tianhonglu@263.net

的制备参见文献[3],所用  $\text{EuCl}_3$  溶液浓度用 EDTA 标定.其余试剂均为分析纯,溶液用 3 次蒸馏水配制.  $\text{Eu}^{3+}$  和 MP-11 的混合溶液都在配制 1 h 后进行测量,以保证  $\text{Eu}^{3+}$  和 MP-11 相互作用达到平衡状态.

UV-Vis 吸收光谱用德国 Perkin-Elmer 公司的 Lambda17 型 UV-Vis 吸收光谱仪和 0.5 cm 吸收池进行.测量溶液中 MP-11 的浓度固定为  $8.5 \mu\text{mol/L}$ ,所有的测量均以不含 MP-11 的测量溶液作参比溶液.

电化学实验用美国 EG&G PAR 公司的 Model 273A 恒电位仪及常规的三电极体系电化学池进行.参比电极为饱和甘汞电极(SCE),辅助电极为铂丝,工作电极为玻碳电极.玻碳电极经  $\text{Al}_2\text{O}_3$  粉末抛光后,用 3 次蒸馏水超声、淋洗干净.测量溶液中,MP-11 和 NaCl 的浓度分别固定为  $3.0 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$  和  $0.1 \text{ mol/L}$ .电位扫描速率为  $100 \text{ mV/s}$ ,实验前通氮 30 min 以除去溶液中的氧,实验在氮气保护和  $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$  下进行.

## 2 结果与讨论

图 2 为不同摩尔比的  $\text{Eu}^{3+}$  和 MP-11 溶液的 UV-Vis 吸收光谱.由图 2 曲线 a 可见,MP-11 在 190 nm 左右和 399 nm 处有 2 个强吸收峰,它们分别为 MP-11 分子中羰基的吸收峰和血红素卟啉环上  $\pi-\pi^*$  电子跃迁的特征谱带,即 Soret 带<sup>[4]</sup>.当  $\text{Eu}^{3+}$  和 MP-11 的摩尔比为 0.5 时(图 2,曲线 b),190 nm 左右的吸收峰的吸光度下降 33%,表明  $\text{Eu}^{3+}$  与 MP-11 分子中肽链或血红素卟啉环上丙酸基的羧基氧发生了键合作用,这是因为稀土离子易与氧键合<sup>[5]</sup>.这个峰位于吸收光谱仪检测极限处,因此其峰位的移动不能测得.其次,Soret 带的峰位由 399 nm 红移至 401 nm,吸光度下降了约 30%.Soret 带峰位的红移表明,血红素卟啉环的非平面性增加, $\pi-\pi^*$  跃迁所需要的能量减少,峰强的下降表明  $\pi-\pi^*$  电子跃迁几率降低<sup>[6]</sup>.由于  $\text{Eu}^{3+}$  与 MP-11 作用后,使 Soret 带的峰强和峰位都发生较大的变化,而血红素辅基上只有 2 个丙酸基中含有氧,而且,这丙酸基团离血红素中的卟啉环很近, $\text{Eu}^{3+}$  与丙酸基团中的氧键合后,易使血红素卟啉环的结构发生较大的变化.虽然 MP-11 分子中的肽链上也有含氧基团,但由于这些含氧基团离血红素卟啉环较远,因此即使  $\text{Eu}^{3+}$  与肽链上酰氨基中的羰基氧发生键合,也不会对血红素的结构产生如此大的影响.另外,MP-11 的肽链在氢键作用下形成螺旋状的结构<sup>[7]</sup>,使肽链上的羰基基团被包埋在肽链的疏水基团中,因此, $\text{Eu}^{3+}$  与 MP-11 中肽链上的羰基氧基本上不发生键合作用.以上的分析表明, $\text{Eu}^{3+}$  主要与 MP-11 分子中血红素辅基上的 2 个丙酸基中的羰基氧发生键合.当摩尔比进一步增加至 1 以上时,峰位和峰强都基本不变(图 2,曲线 c-g).

图 3 是 MP-11 溶液在 400 nm 处的吸光度( $A_{\text{MP-11}}$ )和不同摩尔比的  $\text{Eu}^{3+}$  和 MP-11 混合溶液在 400 nm 处的吸光度( $A$ )的差与  $\text{Eu}^{3+}$  和 MP-11 摩尔比的关系曲线.由图可见, $A_{\text{MP-11}} - A$  值在开始时随摩尔比的增加而迅速增加.当摩尔比为 1.5 时,基本上达到一个稳定值.当摩尔比进一步增加时, $A_{\text{MP-11}} - A$  值基本不变.2 条直线切线的相交点在摩尔比 1 左右.上述的结果表明 1 个  $\text{Eu}^{3+}$  与 MP-11 分子血红素上的 2

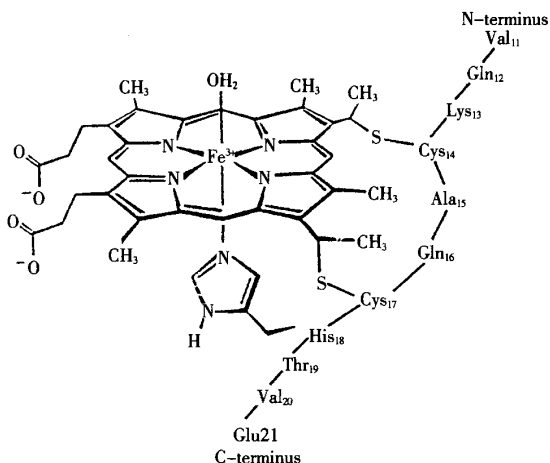
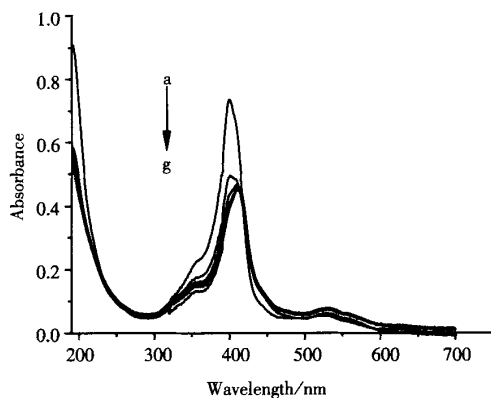


图 1 MP-11 分子的结构图



(a) 0, (b) 0.5, (c) 1.0, (d) 1.5, (e) 2.0, (f) 3.0, (g) 4.0  
图 2 不同摩尔比的  $\text{Eu}^{3+}$  和 MP-11 溶液的 UV-Vis 吸收光谱

个丙酸基中的羧基氧发生键合。

图4为Eu<sup>3+</sup>、MP-11、Eu<sup>3+</sup>+MP-11在0.1 mol·L<sup>-1</sup>NaCl溶液中在玻碳电极上的循环伏安图。由图4曲线a可观察到一对Eu<sup>3+</sup>的氧化还原峰,它们的峰电位分别为-0.587和-0.691 V。MP-11的氧化还原峰峰电位分别在-0.349和-0.458 V处,峰电位差 $\Delta E_p$ 为109 mV,氧化还原峰峰电流基本相等(图4,曲线b),表明MP-11在玻碳电极上的电化学反应是准可逆的,氧化还原式电位 $E^{\circ'}$ 为-0.404 V。在图4曲线c中,MP-11的氧化还原峰峰电位分别在-0.358和-0.419 V处, $\Delta E_p$ 为61 mV,氧化还原峰峰电流基本相等,表明在Eu<sup>3+</sup>存在时,MP-11在玻碳电极上的电化学反应也是准可逆的, $E^{\circ'}$ 为-0.389 V。由于其 $\Delta E_p$ 比纯MP-11的要小48 mV,表明其电化学反应的可逆性增加。这是由于Eu<sup>3+</sup>与MP-11相互作用使其血红素的非平面性增加,导致血红素中Fe(III)的暴露程度增加而引起的。另外,Eu<sup>3+</sup>的氧化还原峰基本消失,这表明Eu<sup>3+</sup>基本上都与MP-11中的含氧基团发生了键合。

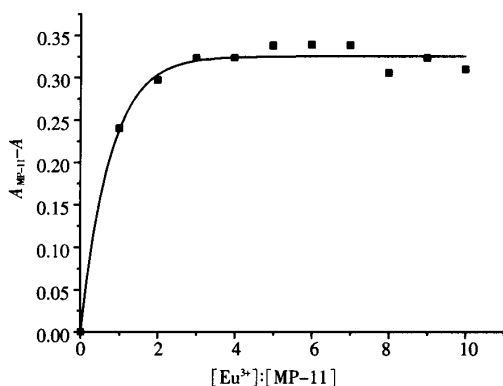


图3  $A_{MP-11}$ 与Eu<sup>3+</sup>和MP-11摩尔比的关系曲线

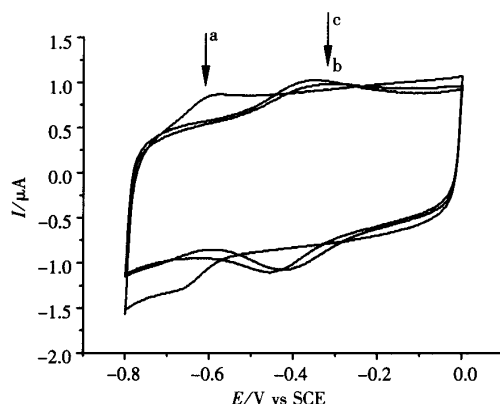


图4 (a)  $3.0 \times 10^{-5}$  mol/L Eu<sup>3+</sup>; (b)  $3.0 \times 10^{-5}$  mol/L MP-11; (c)  $3.0 \times 10^{-5}$  mol/L Eu<sup>3+</sup> +  $3.0 \times 10^{-5}$  mol/L MP-11在0.1 mol/L NaCl溶液中在玻碳电极上的循环伏安曲线

### 3 结论

当Eu<sup>3+</sup>与MP-11发生相互作用时,Eu<sup>3+</sup>主要与MP-11中血红素基团的两个丙酸基的羧基氧发生强的配位作用,导致MP-11分子中血红素基团的非平面性、暴露程度和电化学可逆性增加。由于Eu<sup>3+</sup>与MP-11摩尔比大约为1时,反应基本完全,因此,一个Eu<sup>3+</sup>离子与一个MP-11分子中血红素基团的两个丙酸基团中羧基氧发生配位作用。进一步的研究正在进行中。

### 【参考文献】

- [1] 倪嘉缙. 稀土生物无机化学[M]. 2版. 北京: 科学出版社, 1995: 27-187.
- [2] Paul K G. The porphyrin component of Cytochrome c and its linkage to the protein[J]. Acta Chem Scand, 1951, 5: 389-405.
- [3] Taylor M D, Cater C P. Preparation of anhydrous lanthanide halides[J]. Chem Rev, 1962, 62(6): 503-511.
- [4] Medforth C J, Senge M O, Smith K M, et al. Nonplanar distortion modes for highly substituted porphyrins[J]. J Am Chem Soc, 1992, 114(25): 9859-9869.
- [5] Limay S N, Saxeua M C. Relative complexing tendencies of O-O, O-N and O-S donor ligands in some lanthanide-EDTA mixed-ligand complexes[J]. Can J Chem, 1986, 64(6): 865-870.
- [6] Sparks L D, Medforth C J, Park M S, et al. Metal dependence of the nonplanar distortion of octaalkyltetraphenylporphyrins[J]. J Am Chem Soc, 1993, 115(2): 581-592.
- [7] Melchionna S, Barteri M, Ciccotti G. Molecular dynamics of microperoxidases in aqueous and nonaqueous solutions[J]. J Phys Chem, 1996, 100(50): 19241-19250.

【责任编辑:丁蓉】