

微过氧化物酶-11 与 Yb^{3+} 相互作用的 紫外-可见吸收光谱研究

李美林¹, 陈婷婷², 黄晓华¹, 冯玉英¹, 邢巍³, 陆天虹^{1, 3}

(1. 南京师范大学化学与环境科学学院 210097, 江苏, 南京)

(2. 南通大学化学化工学院 226007, 江苏, 南通)

(3. 中国科学院长春应用化学研究所, 130022, 吉林, 长春)

[摘要] 首次用紫外-可见(UV-vis)吸收光谱技术研究了微过氧化物酶-11(MP-11)与 Yb^{3+} 的相互作用的机理. 发现 Yb^{3+} 优先与 MP-11 分子中血红素卟啉环上的 2 个丙酮基团的羰基氧发生键合作用, 而且, 1 个 Yb^{3+} 与 MP-11 分子中 1 个丙酮基上的羰基氧发生键合作用. 这种相互作用使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, 但跃迁几率降低.

[关键词] 微过氧化物酶-11, Yb^{3+} , 紫外-可见吸收光谱

[中图分类号] O646, [文献标识码] A, [文章编号] 1001-4616(2005)01-0066-03

Study on Interaction between Microperoxidase-11 and Yb^{3+} Using UV-vis Absorption Spectroscopy

Li Meilin¹, Chen Tingting², Huang Xiaohua¹, Feng Yuying¹, Xing Wei³, Lu Tianhong^{1, 3}

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

(2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Nantong University, 226007, Nantong, China)

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

Abstract The mechanism of the interaction between microperoxidase-11 and Yb^{3+} was studied for the first time by using UV-vis absorption spectroscopic technique. It was found that Yb^{3+} is bound firstly to carbonyl oxygen of the metacetonic acid group in the heme group of the MP-11 molecule, and that an Yb^{3+} ion interacts with one carbonyl oxygen of the metacetonic acid group. This kind of the interaction results in the increase in the non-planarity of the porphyrin group in the heme group and the decrease in the energy for the $\pi-\pi^*$ transition. However, the probability of the $\pi-\pi^*$ transition is decreased.

Key words Microperoxydase-11, Yb^{3+} , UV-vis absorption spectroscopy

0 引言

稀土元素独特的电子层结构 $4f^{n-1}5d^16s^2$ 或 $4f^n6s^2$ ($n=1\sim 15$) 导致了它们特殊的物理化学性质, 这就决定了稀土元素在多学科中的重要地位. 例如农业(稀土微肥)、畜牧业(如饲料添加剂)、工业(如各种稀土工业材料、稀土催化剂等) 以及现代生物医学等. 随着稀土资源越来越广泛的使用, 稀土元素将不可避免地通过各种途径进入生命体系, 并对其产生极大的影响. 我国是世界上稀土资源最丰富的国家, 占世界稀土总储量的 76%, 位居首位. 开发利用丰富的稀土资源, 对我国国民经济的发展具有举足轻重的作用, 稀土应用已涉及到了国民经济发展的各个领域. 因此稀土应用大有作为, 稀土产业将不断发展. 近年来的研究表明, 稀土微肥对农作物从种子萌发根系与植株成长到开花结果都具有极为明显的激活作用, 对农作物的影响十分明显. 目前我国农田施用稀土面积累计 2.7 万 hm^2 (4 亿多亩), 为国家每年增产粮、棉、豆、

收稿日期: 2004-10-18.

基金项目: 国家自然科学基金(20243002)、国家计委稀土专项基金(GJX01100626)、江苏省科技厅高新技术基金(BG2001045)、江苏省教育厅高校自然科学基金(01KJB150006, 2000LHZ0000SJ1)、国家 "211" 工程重点学科建设资助项目.

作者简介: 李美林, 女, 1980—, 硕士研究生, 主要从事生物电化学的学习和研究, E-mail: meilin_li@163.com

通讯联系人: 陆天虹, 1943—, 研究员, 主要从事物理化学的教学与研究, E-mail: tianhonglu@263.net

油、糖、麻等约 20 亿 kg,而且作物的品质也得到了改善和提高,直接经济效益为 20 亿元之上,但稀土微肥使农作物增产和品质得到改善的机理还不了解。

大量生物机理的研究表明,稀土微肥在一定浓度范围内能增强植物细胞保护酶,如过氧化物酶等的活性^[1],但其化学机理尚不清楚^[2]。其主要原因是由于这些酶具有高化学活性、结构复杂、构象易变等特点,使研究这些酶与稀土离子相互作用比较困难。因此,在目前可选用一些与这些酶结构、性质、生物活性和功能相似的模型化合物来研究与稀土离子的相互作用,为进一步研究酶与稀土离子的相互作用打下基础。

本文选择与过氧化物酶结构、性质、生物活性和功能相似的小分子酶 MP-11 为模型化合物,MP-11 是细胞色素 c 水解的产物,其结构保留了细胞色素 c 中 11~21 位的氨基酸残基及活性中心血红素,其中半胱氨酸-14 和半胱氨酸-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 $\text{Fe}(\text{III})$ 的轴向第五配体与血红素相连,而 H_2O 作为 $\text{Fe}(\text{III})$ 的轴向第六配体^[3]。由于它相对分子质量较小,结构相对比较简单,又与三大植物细胞保护酶之一的过氧化物酶具有相同的活性中心,因此可以被用来作为过氧化物酶的模型化合物。其结构示意图如图 1 所示。本文用 UV-vis 吸收光谱的方法研究了 Yb^{3+} 与 MP-11 的相互作用的机理。

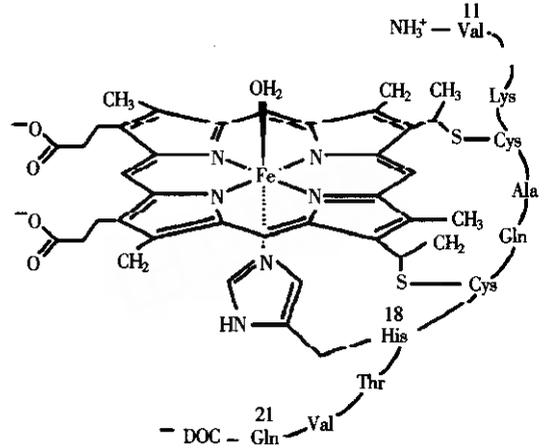


图 1 MP-11 分子结构示意图

1 实验

MP-11 为美国 Sigma 公司产品,使用前未经进一步纯化,纯度为 90%,其余试剂均为分析纯。无水 YbCl_3 根据文献^[4]制备:称取一定量的 Yb_2O_3 (纯度大于 99.9%),按比例加入 NH_4Cl ,用 1:1 的 HCl 溶解,趁热过滤,加热蒸发得的固体,装入升华管,抽真空并逐渐加热,在 100°C 左右抽 4 h,除去固体中剩余的水分,然后逐步升温,固体 NH_4Cl 全部升华到横管中,8 h 左右温度逐渐升到 430°C ,使氯化铵全部升华出来,得到无水 YbCl_3 。溶液用三次蒸馏水配制。

UV-vis 吸收光谱用德国 Perkin-Elmer 公司的 Lambda17 型 UV-vis 吸收光谱仪进行。在 8.5×10^{-6} mol/L MP-11 溶液中加入不同摩尔比的 YbCl_3 溶液,混合均匀并经 1 h 平衡后进行测量,以不含 MP-11 的测量溶液作参比溶液进行 UV-vis 吸收光谱测量。

2 结果和讨论

图 2 为不同摩尔比的 Yb^{3+} 和 MP-11 混合溶液的 UV-vis 吸收光谱图。由 MP-11 溶液的 UV-vis 吸收光谱(曲线 a)可观察到,在 190 nm 左右和 399 nm 处有 2 个强吸收峰,它们分别为 MP-11 分子中羰基吸收峰和血红素卟啉环上 $\pi-\pi^*$ 电子跃迁的特征谱带-Soret 带^[3]。

MP-11 浓度: 8.5×10^{-6} mol/L, Yb^{3+} 和 MP-11 的摩尔比 (a) 0 (b) 3 (c) 17。

当 Yb^{3+} 与 MP-11 的摩尔比为 3 时(曲线 b),首先,在 190 nm 处的吸收峰的吸光度比没有 Yb^{3+} 时下降了约 38%,表明 Yb^{3+} 与 MP-11 分子的肽链或血红素卟啉环上丙酮基的羰基氧发生了键合作用,这是由于稀土离子易与 O 键合^[4]。这个峰位于吸收光谱仪检测极限处,其峰位的移动不能测得。其次, Soret 带的峰位由 399 nm 红移至 409 nm,吸光度下降了约 35%, 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^[5]。由于 Yb^{3+} 与 MP-11 作用后,使 Soret 带的峰强和峰位都发生较大的变化,表明 Yb^{3+} 与 MP-11 分子中血红素辅基上的 2 个丙酮基中的羰基氧发生键合,因为即使 Yb^{3+} 与肽链上酰胺基中的羰基氧发生键合,由于肽链离血红素较远,不能对血红素的结构产生如此大的影响。当 Yb^{3+} 与 MP-11 摩尔比为 17 时(曲线 c),吸收光谱图与摩尔比为 3 时相似,只是在 190 和 409 nm 处的吸收峰的吸光度比摩尔比为 3 时稍有下降(曲线 b)。

图 3 是 MP-11 溶液与不同摩尔比的 Yb^{3+} 和 MP-11 溶液在 400 nm 处的吸光度差($A_{\text{MP-11}} - A$)对万方数据

Yb^{3+} 和 MP-11 的摩尔比的关系曲线. 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 Yb^{3+} 与 MP-11 摩尔比为 3 时, 接近一个稳定值. 当 Yb^{3+} 与 MP-11 摩尔比进一步增加时, $A_{\text{MP-11}} - A$ 值基本不变, 两条直线的相交点在摩尔比 2 处. 这一方面表明了当 Yb^{3+} 加入 MP-11 溶液后, 首先与 MP-11 中血红素卟啉环上 2 个丙酸基中的羧基氧发生键合, 而且 1 个 Yb^{3+} 离子与 1 个丙酸基中的羧基氧发生键合. 另一方面, 进一步证明了加入 Yb^{3+} 对 Soret 带吸收峰强度产生影响的主要原因是 Yb^{3+} 与 MP-11 中血红素辅基中的 2 个丙酸基的羧基氧发生键合, 因为当摩尔比大于 3 时, Soret 带的强度和峰位基本不再变化. 虽然在血红素辅基中的丙酸基只有 2 个, 但当摩尔比小于 3 时, 键合反应还可能不完全. 因此, 在摩尔比大于 3 时, $A_{\text{MP-11}} - A$ 值基本上不随摩尔比发生变化.

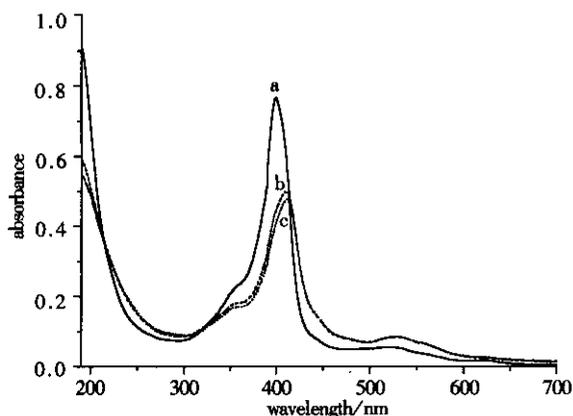


图2 不同摩尔比的 Yb^{3+} 和 MP-11 溶液的 UV-vis 吸收光谱图

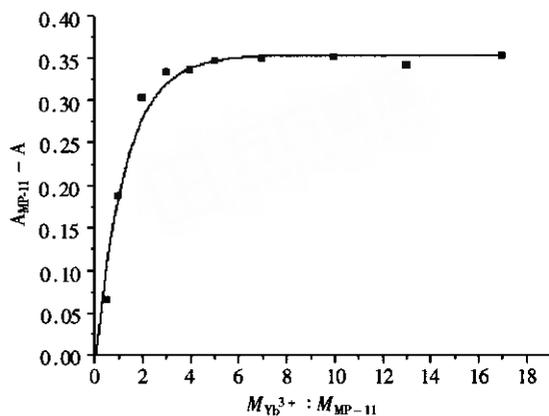


图3 MP-11 溶液与不同摩尔比的 Yb^{3+} 和 MP-11 混合溶液在 400 nm 处的吸光度差 ($A_{\text{MP-11}} - A$) 与 Yb^{3+} 和 MP-11 的摩尔比的关系曲线

3 结论

上述的 MP-11 与 Yb^{3+} 相互作用的 UV-vis 吸收光谱研究结果表明, MP-11 溶液中加入 Yb^{3+} 后, Yb^{3+} 优先与 MP-11 分子中血红素辅基上 2 个丙酸基中的羧基氧发生配位键合作用, 而且 1 个 Yb^{3+} 离子与 MP-11 分子中血红素辅基上 1 个丙酸基中的羧基氧发生键合作用. 这种相互作用导致了血红素的非平面性增加, $\pi - \pi^*$ 跃迁所需要的能量减少. 有关 Yb^{3+} 是否与肽链上的羧基发生键合作用及 Yb^{3+} 与 MP-11 相互作用对 MP-11 结构和性能的影响等方面的工作, 正在进一步研究中.

[参考文献]

- [1] Zhou Qing, Huang Xiaohua. Mitigative effect of La on glycine max seedlings under Pb-Cd compound pollution[J]. J Rare Earths, 1999, 17(4) 303—307.
- [2] 倪嘉缙, 主编. 稀土生物无机化学[M]. 北京: 科学出版社, 1995.
- [3] Melchionna S, Barteri M, Ciccotti G. Molecular dynamics of microperoxidases in aqueous and nonaqueous solutions[J]. J Phys Chem, 1996, 100(50): 19241—19250.
- [4] Taylor M D, Cater C P. Preparation of anhydrous lanthanide halides. Chem Rev, 1962, 62(6) 503—511.
- [5] Harbury H A, Loach P A. Oxidation linked proton function in heme Octa- and undecapeptides from mammalian cytochrome c [J]. J Biol Chem, 1960, 235(12) 3640—3645.
- [6] 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.
- [7] Craig J M, Mathias O S, Kevin M S, et al. Nonplanar distortion modes for highly substituted porphyrins[J]. J Am Chem Soc, 1992, 114(25) 9859—9869.

[责任编辑: 孙德泉]