

# 猪心肌高铁肌红蛋白荧光光谱测定条件的 确定及功能域的指认

吴名草<sup>1</sup>, 金邦荃<sup>1</sup>, 冯玉英<sup>2</sup>, 陈许明<sup>1</sup>, 黄鹤勇<sup>2</sup>

(1. 南京师范大学食品科学与营养系, 江苏 南京 210097)

(2. 南京师范大学分析测试中心, 江苏 南京 210023)

**[摘要]** 以纯猪心肌高铁肌红蛋白(pMetMb)为对象,建立荧光光谱条件并经同步荧光指认其主要功能域。研究表明,以 600 nm/min 扫描速度和中等响应时间为基本条件,pMetMb 的适宜荧光光谱条件分别是 20 mmol/L pMetMb、10 nm 狭缝宽度和 270 nm 或 430 nm 为激发光波长。经同步荧光光谱解析,酪氨酸(Tyr-)、色氨酸(Trp-)和铁卟啉环(heme-Fe<sup>3+</sup>)荧光特征峰分别在 312、355 和 630 nm 处。270 nm 是 Trp-和 Tyr-适宜激发光波长,而 430 nm 是 heme-Fe<sup>3+</sup>适宜激发光波长。与马肌红蛋白(hMb)比较,其 Trp-和 heme-Fe<sup>3+</sup>荧光光谱特征峰出现红移。430 nm 可激发 630 nm 处 heme-Fe<sup>3+</sup>,发生电子迁移和能量跃迁。随着 Trp-和 heme-Fe<sup>3+</sup>特征峰的红移,推测 pMetMb 中 heme-Fe 由五配位高自旋(Fe<sup>2+</sup>)转变为六配位低自旋(Fe<sup>3+</sup>)。

**[关键词]** 功能域,卟啉环-Fe<sup>3+</sup>,电子与能量跃迁,猪心肌高铁肌红蛋白,荧光光谱

**[中图分类号]** S828 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1001-4616(2015)02-0059-06

## Fluorescence Spectra Assignment of Domains in Pig Cardiac Metmyoglobin Under Energy Excitation

Wu Mingcao<sup>1</sup>, Jin Bangquan<sup>1</sup>, Feng Yuying<sup>2</sup>, Chen Xuming<sup>1</sup>, Huang Heyong<sup>2</sup>

(1. Department of Food Science and Nutrition, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China)

(2. Analysis and Testing Center, Nanjing 210023, China)

**Abstract:** Purified pig cardiac metmyoglobin (pMetMb) was used to study its functional domains under the suitable fluorescence conditions. When 600 nm/min scanning speed and the medium response time were set up, the optimal fluorescence conditions for pMetMb spontaneous (emission) fluorescence were 20 mmol/L pMetMb, 10 nm slit width with 270 nm or 430 nm excitation wavelength, respectively. By the resolve of the synchronous fluorescence spectra, the domains of tyrosine (Tyr), tryptophan (Trp) residue and heme-Fe<sup>3+</sup> group were located at 312 nm, 355 nm and 630 nm, respectively. Those were their special emission peaks of fluorescence spectra. 270 nm was the optimal excitation wavelength for Tyr and Trp residues, while 430 nm was optimal for heme-Fe<sup>3+</sup> group. At those locations their powerful spontaneous fluorescence spectra were found. Compared with horse myoglobin (hMb-heme-Fe<sup>2+</sup>), the Trp residue and heme-Fe<sup>3+</sup> fluorescence spectra of pMetMb appeared as redshift from 595 nm to 630 nm. The results also showed that if excitation wavelength was far away from another molecule (as 270 nm for heme-Fe<sup>3+</sup> group), spontaneous fluorescence was quenched without inducing clearly electron transfer and energy transition. However in a short-distance, a 430 nm excitation wavelength could induce the fluorescence emission of heme-Fe<sup>3+</sup> group at 630 nm mostly. In a summary, it was suggested that high-spin pentacoordination of Mb-heme-Fe<sup>2+</sup> was changed into low-spin hexacoordination of MetMb-heme-Fe<sup>3+</sup>.

**Key words:** domains, Heme-Fe<sup>3+</sup>, electron and energy transition, pig cardiac metmyoglobin, fluorescence spectra

肌红蛋白(Myoglobin, Mb)是一种氧结合的血色素蛋白,主要以氧合肌红蛋白(Oxymyoglobin, Mb-O<sub>2</sub>)、高铁肌红蛋白(Metmyoglobin, MetMb)和二氧化碳肌红蛋白(Mb-CO<sub>2</sub>) 3 种形式存在,分别呈现鲜红色、红

收稿日期:2014-04-18.

基金项目:江苏省自然科学基金(BK2009402)、江苏省农业科技自主创新资金项目(CX(11)1301).

通讯联系人:金邦荃,博士,教授,研究方向:食品科学和营养学. E-mail:jinbangquan@njnu.edu.cn

褐色和蓝紫色<sup>[1,2]</sup>. Mb 由一条肽链与一个血红素(卟啉环, heme)所组成, 其中 heme 位于肽链的折缝中, 被肽链中氨基酸残基(Amino acids-, AA-)的疏水基团所包围<sup>[3,4]</sup>. Heme 为一个大  $\pi$  共轭体系, 分别由 4 个吡咯基团和 4 个甲基桥联而成, 中心区域的组氨酸(His)与  $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$  链接, 五配位高自旋型的 heme- $\text{Fe}^{2+}$ (Mb)和六配位低自旋型的 heme- $\text{Fe}^{3+}$ (MetMb)不断相互转换, 以完成  $\text{O}_2$  携带和运输, 以保证心肌供氧和肉色鲜红<sup>[5,6]</sup>.

前人在马肌红蛋白(hMb)荧光光谱的研究中注意到, heme- $\text{Fe}^{2+}$  的适宜激发波长和发射波长分别在 550 nm 和 595 nm, 其 heme 中的  $\text{Fe}^{2+}$  离子可被其他二价离子所置换, 如  $\text{Cu}^{2+}$  或  $\text{Zn}^{2+}$ , 而影响正常的携  $\text{O}_2$  能力<sup>[7,8]</sup>. Mb 的携氧能力是血红蛋白(hemoglobin, Hb)的 20 倍, 其氧化态形式 MetMb 近年来被研发为心肌损伤临床医学检验的生物标记物, 也可以作为肉品品质研究和鉴定的标志物<sup>[9,10]</sup>.

为此, 本研究借助荧光光谱学方法来研究猪心肌高铁肌红蛋白(pMetMb)的分子结构动态变化, 进而为开发 MetMb 试剂盒打下基础, 使其可用于心肌损伤早期诊断、肉品品质研究和优秀运动员的选拔等领域.

## 1 材料与方法

### 1.1 pMetMb

按本实验室所申请专利(专利号: CN200610037909.X)<sup>[11]</sup>中所述方法从猪心肌中制备, 纯度  $\geq 95\%$ .

### 1.2 仪器

LS50-B 荧光分光光度计(PEPKIN-ELMER), UV-6000PC 紫外可见分光光度计(上海安锐).

### 1.3 光谱条件

600 nm/min 扫描速度和中等响应时间; 狭缝从 2.5 nm 到 15.0 nm, 共设 5 个宽度; 荧光光谱的激发波长为 240~280 nm, 间隔为 10 nm; 同步荧光光谱的波长为 20 nm、40 nm、60 nm、80 nm 和 167 nm<sup>[8,12]</sup>(表 1).

表 1 普通荧光和同步荧光光谱条件设计

Table 1 Design of fluorescence and synchronous fluorescence spectroscopy

处理	重复变量 $n$	MetMb/(mmol/L)	狭缝/nm	激发光波长/nm	激发光与发射光波长差 $\Delta\lambda$ /nm
1	3	60	2.5	240	20
2	3	20	5	250	40
3	3	2	7.5	260	60
4	3	0.2	10	270	80
5	3	0.02	15	280	167

注: 每处理设 3 个重复.

### 1.4 图谱分析与数据处理

采用 Origin 6.0 软件(GF3S5-9489-7800000)对 pMetMb 荧光图谱进行解析, 荧光图谱由计算机作信号加权平均并绘图输出, 峰位误差小于 5%. 同时应用 SPSS 10.0 软件(ISBN7-980009-06-1)对所有数据进行统计学分析和显著性检验. 全文图中均以  $\bar{X}$  表示,  $P < 0.05$  和  $P < 0.01$  分别表示为处理间差异显著和极显著.

## 2 结果与讨论

### 2.1 适宜 pMetMb 发光浓度的选择

采用方法 1.3 比较了不同浓度 pMetMb 对荧光强度的影响, 结果见图 1. 由图 1 可以看出, 当激发波长为 270/430 nm、光栅狭缝 10 nm 时, 在 280~800 nm 范围内 pMetMb 呈现出两个荧光发射峰. 当浓度达到 20 mmol/L 时( $P < 0.01$ ), pMetMb 分子中总氨基酸残基(tAA-)和 heme- $\text{Fe}^{3+}$  出现理想的荧光发射峰, 分别在 330 nm 和 630 nm 处. 当蛋白浓度上升到 60 mmol/L( $P < 0.01$ ), 呈现出高强度的荧光发射峰, 有可能掩蔽其他荧光发光物质; 当浓度过低(0.02 mmol/L), pMetMb 则出现荧光猝灭现象. 因此, 20 mmol/L 为适宜 pMetMb 的发光浓度.

对 hMb 的大量研究表明, hMb 在 320 nm 和 597 nm 处具有 2 个荧光发射峰, 前者是 hMb 肽链中芳香族氨基酸残基的荧光发射特征峰, 后者是 heme- $\text{Fe}^{2+}$  特征峰<sup>[9,10]</sup>. 且蛋白质中只有芳香族氨基酸残基具有

自发荧光<sup>[13]</sup>,因此,pMetMb 在 330 nm 处的荧光发射峰由芳香族氨基酸残基提供;且 pMetMb 的 heme-Fe 荧光特征峰相对于 hMb 有所红移,有可能是 heme 中的  $\text{Fe}^{2+}$  氧化为  $\text{Fe}^{3+}$  造成的。

Veberg 等<sup>[14]</sup>研究了猪骨骼肌中 heme- $\text{Fe}^{3+}$  的荧光光谱特征,当用 Zn 元素取代 heme 中的 Fe 元素,发现 heme- $\text{Zn}^{2+}$  荧光光谱区域位于 590 nm,类似于 hMb 的 heme- $\text{Fe}^{2+}$  特征区域;但猪骨骼肌中 heme- $\text{Fe}^{3+}$  荧光光谱区域则位于 636 nm 和 705 nm,特征峰出现明显红移现象,且与本试验中 pMetMb 的 heme- $\text{Fe}^{3+}$  荧光特征峰(630 nm)更为接近。表明,pMetMb 中 heme 中  $\text{Fe}^{2+}$  氧化成  $\text{Fe}^{3+}$ ,其功能域发生红移,可能提示心肌缺血或肉色无法还原(图 1)。

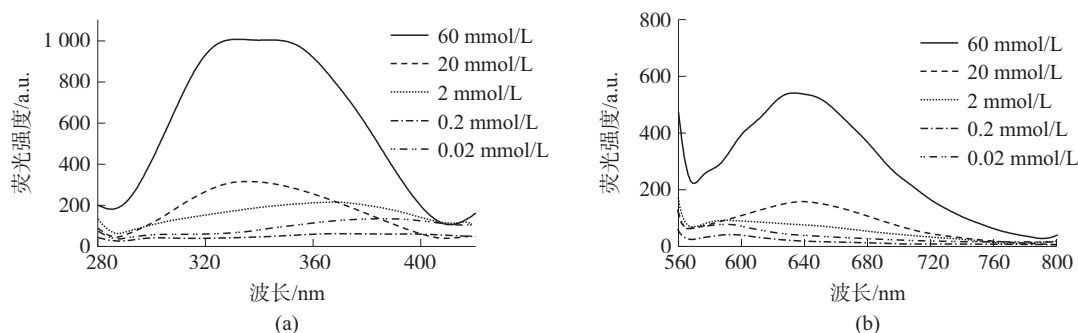


图 1 不同浓度的 pMetMb 荧光光谱

Fig. 1 Fluorescence spectra of pMetMb with different concentrations

## 2.2 pMetMb 荧光检测最适狭缝

pMetMb 浓度为 20 mmol/L,激发波长为 270 nm 或 430 nm 时,比较了不同狭缝宽度对 pMetMb 荧光发射强度的影响。结果表明,随着狭缝增宽,pMetMb 荧光发射峰强度逐渐增强,并在 15 nm 狭缝达到最大值( $P < 0.01$ );但是 15 nm 狭缝宽度过宽会导致外源光对特征峰的干扰<sup>[15,16]</sup>,而当狭缝宽度为 10 nm 时,tAA-和 heme- $\text{Fe}^{3+}$  的荧光特征峰依然出现在 330 nm 和 630 nm 处。因此适宜的狭缝宽度选择为 10 nm(图 2, $P < 0.05$ )。

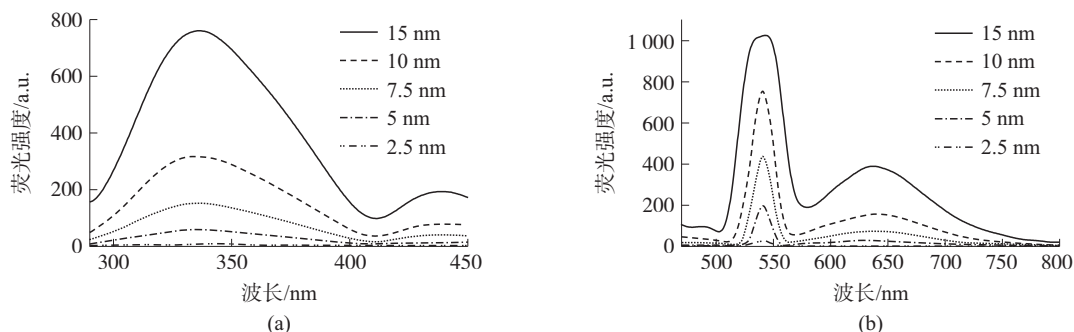


图 2 不同狭缝宽度的 pMetMb 荧光光谱

Fig. 2 Fluorescence spectra of pMetMb at the different slit width

## 2.3 适宜 pMetMb 激发光波长的选择

激发波长从 240 nm 到 280 nm,间隔为 10 nm,来观测 pMetMb tAA-的特征峰的变化。结果发现,tAA-在 330 nm 处出现典型的发射光谱,因此 270 nm 是该物质 tAA-适宜的激发光波长(图 3a, $P < 0.01$ )。由于 heme- $\text{Fe}^{3+}$  激发光微弱,430 nm 为 heme- $\text{Fe}^{3+}$  的 Soret 带的波长,因而以 330 nm 和 430 nm 为它的发射波长,反推 heme- $\text{Fe}^{3+}$  适宜的激发光波长。结果进一步发现 330 nm 和 430 nm 发射波长在 430 nm 处重叠,并以 430 nm 呈现的 heme- $\text{Fe}^{3+}$  激发光波长更为理想,故选择 430 nm 为 heme- $\text{Fe}^{3+}$  适宜的激发光波长(图 3(b), $P < 0.01$ )。

用 270 nm 或 430 nm 作为激发光波长,进一步验证 630 nm 处是否存在 heme- $\text{Fe}^{3+}$  特征发射光谱(图 3c, $P < 0.01$ )。经紫外扫描,409 nm 是 heme- $\text{Fe}^{3+}$  的适宜吸收波长或位点,进一步证明 630 nm 处发射光谱为 heme- $\text{Fe}^{3+}$ (图 3d)。pMetMb 在 603 nm 处仅呈现微弱荧光发射峰(激发光波长=270 nm,图 3c 中小图);但其在 630 nm 处出现明显的 heme- $\text{Fe}^{3+}$  荧光特征峰(激发光波长=430 nm,图 3c),意味着荧光激发只能在一定的距离内引起电子转移和能量跃迁。当距离过长时,如 270 nm 处激发 630 nm 的 heme- $\text{Fe}^{3+}$ ,不能引起远端 heme- $\text{Fe}^{3+}$  电子转移和能量跃迁,故不产生相应的特征发射峰。但在相对短距离内,如 430 nm

处激发 630 nm 的 heme-Fe<sup>3+</sup>, 可产生显著的电子转移和能量跃迁, 并表达出明显的特征峰, 表明荧光激发的能量跃迁呈距离衰减. 其他研究也表明<sup>[17]</sup>, 自然状态下 MetMb 中的 heme 在近端具有 2 个色氨酸残基 (Trp-), 分别在肽链的第 7 和第 14 位. 当 Trp-被激发后, 其能量会跃迁到 heme, 从而荧光强度衰变或猝灭<sup>[18]</sup>.

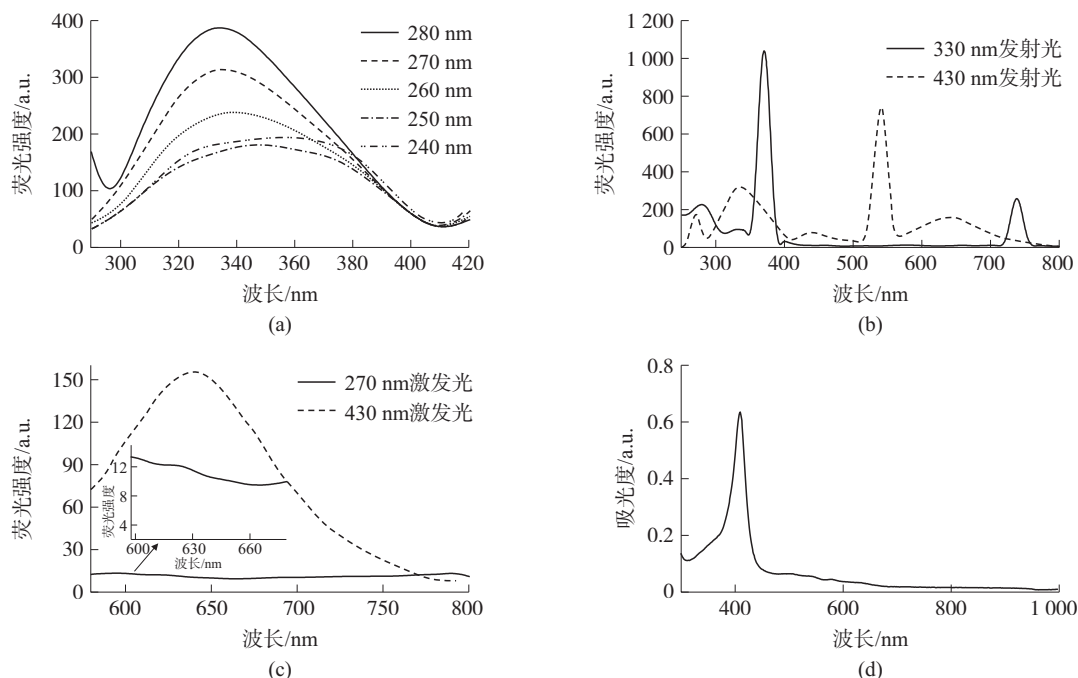


图 3 不同激发光波长下 pMetMb 的光谱 (a.总氨基酸残基发射光谱;b.卟啉环残基发射光谱;  
c.二激发光的卟啉环发射光谱;d.卟啉环的紫外吸收光谱)

Fig. 3 Fluorescence and ultraviolet spectra of pMetMb at different excitation wavelength (a.Fluorescence emission spectra of tAA-; b.Fluorescence excitation spectra of heme-Fe<sup>3+</sup>; c.Fluorescence emission spectra of heme-Fe<sup>3+</sup> at different excitation wavelength; d.Ultraviolet spectrum of heme-Fe<sup>3+</sup>)

## 2.4 同步荧光解析 pMetMb 功能域

普通荧光检测时 3 种芳香族氨基酸残基 (色氨酸残基 Trp-、酪氨酸残基 Tyr- 和苯丙氨酸残基 Phe-) 的激发光谱和发射光谱相互重叠和交叉, 不易区分; 而同步荧光, 采用  $\Delta\lambda$  可有效区分单一物质的特征荧光光谱<sup>[19]</sup>. 研究中还认为 MetMb 具有 heme 和 Fe 离子等潜在的发光基团, 也有必要对其进行鉴别<sup>[20]</sup>. 为此, 交互采用浓度梯度和  $\Delta\lambda$  梯度对 pMetMb 中相应的官能团进行甄别.

对 pMetMb 进行同步荧光光谱解析, 312 nm 荧光特征峰由 Tyr-提供 (图 4a,  $\Delta\lambda = 20$  nm); 355 nm 荧光特征峰由 Trp-提供 (图 4c,  $\Delta\lambda = 80$  nm); 630 nm 荧光特征峰由 heme-Fe<sup>3+</sup> 提供 (图 4d,  $\Delta\lambda = 167$  nm).

根据蛋白质中氨基酸残基的亲水性, 可以分为亲水残基和疏水残基; 其中 Tyr-为亲水残基, 其位于蛋白质肽链结构的尾端和高级结构的外部, 容易受到外部环境的干扰而发生特征荧光光谱位移<sup>[21,22]</sup>. 当  $\Delta\lambda = 20$  nm 时 hMb 中 Tyr-荧光发射峰在 299 nm<sup>[23]</sup>, 同样 pMetMb 中 Tyr-在 20 nm  $\Delta\lambda$  条件下被激发时, 其 312 nm 特征峰的吸光值可达到最大值; 当给予不同浓度时, pMetMb 中 Trp-特征峰发生微弱位移, 符合蛋白质高级结构中 Tyr-的基本属性.

Trp-则位于蛋白质高级结构的内部, 多呈疏水性, 荧光特征峰发射波长一般不受环境因素所影响<sup>[24]</sup>. 当 Trp-暴露在极性环境中, 如水介质中, 其最大荧光特征峰位于 350 ~ 353 nm 之间<sup>[25,26]</sup>. 本研究中 pMetMb Trp-在 80 nm  $\Delta\lambda$  激发条件下, 其 Trp-荧光特征峰在 355 nm 处达到最大值; 当给予不同浓度的 pMetMb 溶液, 仅表现为 Trp-荧光强度的强弱, 符合蛋白质高级结构中 Trp-的基本属性.

heme-Fe<sup>2+/3+</sup> 是 Mb 和 Hb 的核心官能团, 位于球蛋白 4 条肽链折叠而成的亚基之中, 由咪唑基团 N 原子和 Fe 原子相互配位, 并由二硫键 (-S-S-) 将 heme-Fe 与肽链形成稳定结构<sup>[27,28]</sup>. hMb 高级结构的荧光光谱显示其 heme-Fe<sup>2+</sup> 在 597.27 nm 处呈现其特征荧光发射峰, 为五配位高自旋 (five coordinate high span, 5-cHs) 结构, 而 630 nm 为六配位低自旋 (six coordinate low span, 6-cLs) 的结构发射峰<sup>[29,30]</sup>. pMetMb 的同

步荧光光谱主要表现为 630 nm 处 heme-Fe<sup>3+</sup> 荧光特征峰,表明 pMetMb 中的 heme-Fe<sup>2+/3+</sup> 官能团主要为 heme-Fe<sup>3+</sup> 的 6-cLs 构象。

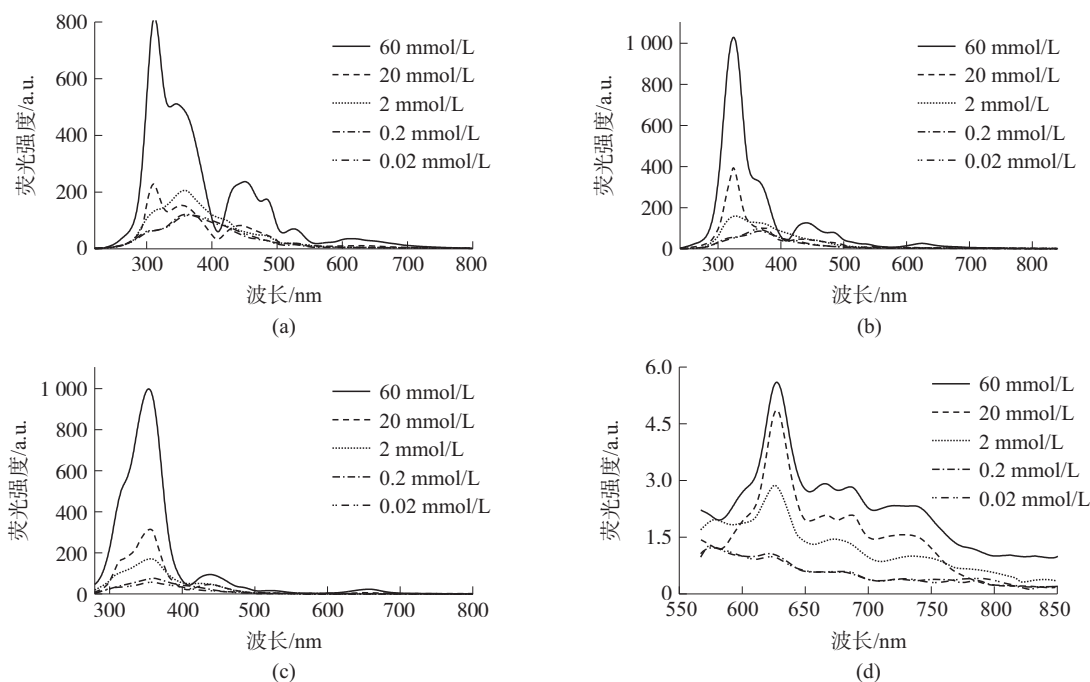


图 4 pMetMb 的同步荧光光谱

Fig. 4 pMetMb synchronous fluorescence spectra of (a)  $\Delta\lambda = 20$  nm; (b)  $\Delta\lambda = 40$  nm; (c)  $\Delta\lambda = 80$  nm; (d)  $\Delta\lambda = 167$  nm

### 3 结论

pMetMb 适宜的荧光光谱条件分别是 20 mmol/L、10 nm 狭缝宽度和 270 nm 或 430 nm 激发光波长。其中 270 nm 和 430 nm 分别是氨基酸残基和 heme-Fe<sup>3+</sup> 的适宜激发光波长。经同步荧光进一步解析,适宜条件下 pMetMb 的最大荧光发射光谱主要有 3 个功能域特征峰,312 nm 为 Tyr-发射峰,355 nm 为 Trp-发射峰,630 nm 为 heme-Fe<sup>3+</sup> 发射峰;其中 Tyr-和 heme-Fe<sup>3+</sup> 荧光光谱较 hMb 的 Tyr-和 heme-Fe<sup>2+</sup> 红移,提示 heme-Fe 中的配位键由 Fe<sup>2+</sup> 高自旋五配位转变为 Fe<sup>3+</sup> 低自旋六配位,使得血红素残基有效结合 O<sub>2</sub> 分子,可作为心肌缺氧或肉品新鲜度鉴定标记物。

### [参考文献]

- [1] 应丽莎,赵东方,傅阳,等. 迷迭香对生鲜猪肉颜色变化与抗氧化稳定性的影响[J]. 食品科学,2012,33(5):1-6.
- [2] 王玮,汤祥明,金邦荃. 高铁肌红蛋白含量和高铁肌红蛋白还原酶活性与冷鲜肉肉色稳定性关系的研究[J]. 食品科学,2008,29(7):94-97.
- [3] Jia Y P, Zheng X F, Hu J H. Interaction between the metal ion in the active site of cytochrome C and copper sulfate by ultraviolet spectroscopy[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2001, 21(1):54-56.
- [4] Biesaga M, Pyrzyńska K, Trojanowicz M. Porphyrins in analytical chemistry: a review[J]. Talanta, 2000, 51(2):209-224.
- [5] Wakamatsu J, Okui J, Ikeda Y, et al. Establishment of a model experiment system to elucidate the mechanism by which Zn-protoporphyrin IX is formed in nitrite-free drycured ham[J]. Meat Science, 2004, 68(2):313-317.
- [6] Wackerbarth H, Kuhlmann U, Tintchev F, et al. Structural changes of myoglobin in pressure-treated pork meat probed by resonance Raman spectroscopy[J]. Food Chemistry, 2009, 115(4):1194-1198.
- [7] 剑菊,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.
- [8] 冯玉英,杨辉,顾晓天,等. 荧光光谱法研究肌红蛋白活性中心铁卟啉与铜离子的相互作用[J]. 光谱学与光谱分析, 2003, 23(3):532-534.
- [9] Eases D, Gallagher E J, Lannaccone R. Six-hour versus 12-hour protocols for AMI;CK-MB in conjunction with myoglobin[J].



- The American Journal of Emergency Medicine, 2001, 19(3): 182–185.
- [10] Mancini RA, Hunt MC. Current research in meat color[J]. Meat Science, 2005, 71(1): 100–121.
- [11] 汤祥明, 金邦基, 刘兴余. 从心肌中提取纯化高铁肌红蛋白的方法: 中国, 200610037909.X[P]. 2006-07-12.
- [12] 周华伟, 曹洪玉, 唐乾, 等. 光谱法研究高铁肌红蛋白活性中心与咪唑基的配位反应[J]. 无机化学学报, 2011, 27(13): 445–450.
- [13] Sreerama N, Venyaminov S Y, Woody R W. Estimation of the number of  $\alpha$ -helical and  $\beta$ -strand segments in proteins using circular dichroism spectroscopy[J]. Protein Science, 1999, 8(2): 370–380.
- [14] Veberg A, Sorheim O, Moan J, et al. Measurement of lipid oxidation and porphyrins in high oxygen modified atmosphere and vacuum-packed minced turkey and pork meat by fluorescence spectra and images[J]. Meat Science, 2006, 6(73): 511–520.
- [15] Ma J Y, Zheng X F, Guo M, et al. Investigation on the photo-induced deoxygenization process of myoglobin in solution with fluorescence spectroscopy (Chapter Three) [J]. Science in China, Ser B, 2008, 38(1): 55–59.
- [16] Zhang P Y, Zhang J B, Yu X C, et al. Synthesis, characterization and photochemical characteristic of magnesium tetraphenyl porphyrin[J]. Acta Physico-Chimica Sinica, 2008, 24(1): 143–146.
- [17] Santiago P S, Moreira L M, Almeida E V, et al. Giant extracellular glossocolex paulistus hemoglobin (HbGp) upon interaction with cetyltrimethylammonium chloride (CTAC) and sodium dodecyl sulphate (SDS) surfactants: dissociation of oligomeric structure and autoxidation[J]. Biochimica Biophysica Acta, 2007, 1770(1): 506–517.
- [18] Liu W J, Guo X G, Guo R. The interaction between hemoglobin and two surfactants with different charges[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2007, 41(5): 548–557.
- [19] Eaton W A, Hochstrasser R M. Single-crystal spectra of ferrimyoglobin complexes in polarized light[J]. Chem Phys, 2003, 49(3): 985–996.
- [20] Wu D, Xu G Y. Study on protein-surfactant interaction by spectroscopic methods[J]. Acta Physico-Chimica Sinica, 2006, 22(2): 254–260.
- [21] Wei X F, Ding X M, Liu H Z. Spectral study of the microenvironment change of aromatic amino-acid residues in BSA induced by pH[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2000, 20(4): 556–559.
- [22] 王守业, 徐小龙, 刘清亮, 等. 荧光光谱在蛋白质分子构象研究中的应用[J]. 化学进展, 2001, 13(4): 257–260.
- [23] Moreria L M, Santiago P S, Almeida E V, et al. Interaction of giant extracellular glossocolex paulistus hemoglobin (HbGp) with zwitterionic surfactant N-hexadecyl-N,N-dimethyl-3-ammonio-1-propanesulfonate (HPS): effects of oligomeric dissociation[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2008, 61(1): 153–163.
- [24] 尹燕霞, 向本琼, 佟丽. 荧光光谱法在蛋白质研究中的应用[J]. 实验技术与管理, 2010, 27(2): 33–36.
- [25] Santiago P S, Moreira L M, Almeida E V. Giant extracellular glossocolex paulistus hemoglobin (HbGp) upon interaction with cetyltrimethylammonium chloride (CTAC) and sodium dodecyl sulphate (SDS) surfactants: dissociation of oligomeric structure and autoxidation[J]. Biochimica Biophysica Acta, 2007, 1770(1): 506–517.
- [26] 颜梅, 陈欣, 孙舒婷, 等. 荧光光谱法研究二溴羟基卟啉与蛋白质的结合作用原理[J]. 光谱学与光谱分析, 2008, 28(6): 1322–1326.
- [27] Imai H, Munakata H, Uemori Y, et al. Chiral recognition of amino acids and dipeptides by a water-soluble zinc porphyrin[J]. Inorganic Chemistry, 2004, 43(4): 211–213.
- [28] Karr P A, Zandler M E, Beck M, et al. Predicting the site of electron transfer using DFT frontier orbitals: studies on porphyrin attached either to quinone or hydroquinone, and quinhydrone self-assembled supramolecular complexes[J]. Journal of Molecular Structure: THEOCHEM, 2006, 765(1): 91–103.
- [29] Wu C, Xu B, Zhao J, et al. Ferrocene-substituted dithio-o-carborane isomers: influence on the native conformation of myoglobin protein[J]. Chemistry-A European Journal, 2010, 16(29): 8914–8922.
- [30] Murakami H, Nishi T, Toyota Y. Determination of structural parameters of protein-containing reverse micellar solution by near-infrared absorption spectroscopy[J]. The Journal of Physical Chemistry B, 2011, 115(19): 5877–5885.

[责任编辑: 顾晓天]