

# 十二羰基三铁与 DNA 相互作用的紫外和荧光光谱研究

王平红<sup>1</sup>, 张寅峰<sup>2</sup>, 张 岐<sup>1\*</sup>, 陈尚文<sup>1</sup>, 袁文兵<sup>1</sup>, 吴姗姗<sup>1</sup>

1 海南大学精细化工海南省重点实验室, 海南 海口 570228

2 中国科技大学生命科学院, 安徽 合肥 230027

**摘 要** 采用紫外-可见吸收光谱、荧光光谱等法研究了十二羰基三铁簇合物与小牛胸腺 DNA 的相互作用。在簇合物存在下, DNA 的紫外吸收光谱产生了明显的增色效应。荧光光谱表明簇合物的荧光强度随 DNA 的加入其荧光强度增加, 说明簇合物与 DNA 之间发生了插入作用。

**关键词** 十二羰基三铁; DNA; 紫外吸收光谱; 荧光光谱; 插入作用

中图分类号: O657.3 文献标识码: A 文章编号: 1000-0593(2007)12-2550-03

## 引 言

化学和生物学学者在 20 世纪研究生物酶时发现金属酶的活性中心有金属原子簇骨架结构, 随后开展了大量新的金属原子簇化合物的探索。在表征结构的基础上, 进行了大量有关包括催化活性在内的理化性质研究<sup>[1]</sup>。这些化合物在发展新型金属亲合色层材料、手性均相催化剂、临床用金属螯合剂和生物螯合模型等方面有着重要的意义<sup>[2]</sup>。金属原子簇化合物除具有催化性能外, 大都有一定的生理、生化功能<sup>[3]</sup>。同样, 许多金属配合物具有特有的生物、生理功效, 作为临床药物的顺铂和卡铂, 还有糖胺类配合物的研究也受到很大重视<sup>[4, 5]</sup>。研究表明许多金属配合物具有与 DNA 相互作用的能力, 配合物结构不同与 DNA 作用的方式也不同, 引起科学界极大的兴趣, 成为国际新研究热点之一。然而, 尽管最初金属原子簇化合物是在生命体内发现的, 但这些化合物是否也能与 DNA 作用? 作用方式如何? 有没有可能选择性的定位裂解 DNA 的能力? 据目前所知, 还没有这方面的研究报道。为此, 本文选用了较为普通的原子簇化合物十二羰基三铁, 采用电子吸收光谱和荧光光谱方法对其与 DNA 相互作用进行了研究。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

UV757CRT 紫外-可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司); 970CRT 荧光分光光度计(上海精密科学仪器有

限公司); ZF-6 型三用紫外分析仪(上海嘉鹏科技有限公司); 320-S pH 计(上海梅特勒-托利多仪器有限公司)。

三(羟甲基)氨基甲烷(Tris)(生化试剂); 小牛胸腺 DNA (ctDNA)(华美生物工程公司)溶于  $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  Tris- $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl 缓冲溶液(pH 7.08); 溴化乙锭(EB)(上海国药集团化学试剂有限公司); 十二羰基三铁(A Johnson Matthey Company); 其他试剂均为分析纯, 用前未作进一步处理。实验用水为二次蒸馏水。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 羰基铁对 DNA 紫外吸收光谱的影响

在 10 mL 比色管中加入  $1.824 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  (以 P 计<sup>[6]</sup>)的 DNA 溶液 2 mL, pH 7.08 的 Tris-HCl 缓冲溶液 3 mL, 再加入不同量的羰基铁簇合物溶液, 稀释至刻度。以相应试剂空白做参比, 在波长 229~319 nm 扫描记录紫外光谱。

#### 1.2.2 簇合物对 EB-DNA 体系吸收光谱的影响

在 10 mL 比色管中依次加入 3 mL DNA 溶液, Tris-HCl 缓冲溶液 3 mL, EB 溶液( $\rho(\text{EB}) = 1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 200  $\mu\text{L}$ , 再加入不同量的羰基铁簇合物溶液, 稀释至刻度。以相应试剂空白做参比, 扫描波长为 395~600 nm 的紫外可见光谱。

#### 1.2.3 簇合物对 DNA 荧光强度的影响

在 10 mL 比色管中, 依次加入  $1.786 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的羰基铁簇合物 2 mL 及不同体积的  $1.824 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 DNA 溶液, 用 pH 7.08 的 Tris-HCl 缓冲液稀释至刻度, 摇匀, 室温反应 0.5 h 后在激发波长 261 nm 及发射波长 586.3 nm 的条件下测定簇合物的荧光强度, 以不加 DNA 时体系的荧光值为参比, 计算相对荧光强度。

收稿日期: 2006-03-28, 修订日期: 2006-06-30

基金项目: 国家自然科学基金项目(20361003)和海南省自然科学基金项目(20302)资助

作者简介: 王平红, 女, 1977 年生, 海南大学理工学院化工系硕士研究生 \* 通讯联系人 e-mail: hnzqf8@163.com

## 2 结果与讨论

许多化合物都能与 DNA 发生作用, 这些化合物包括简单金属离子, 金属络合物, 抗菌素, 致癌剂, 生物染色剂等。多年的研究表明, 化合物与 DNA 的作用方式主要表现为 3 个方面: (1) 插入 DNA 双链之间, 与 DNA 中的碱基等基团相互作用<sup>[7]</sup>; (2) 进入 DNA 的大小沟中与 DNA 的某些基团结合<sup>[8]</sup>; (3) 与 DNA 中的原子形成共价键结合<sup>[9]</sup>。

### 2.1 化合物与 DNA 作用的电子吸收光谱研究

具有双螺旋结构的 DNA 分子中由于含有芳香性碱基和磷酸生色基团, 使其电子吸收光谱在 260 nm 左右有一强吸收峰。由于 DNA 的碱基是许多药物与之相结合的位点, 结合药物后会导致上述特征吸收峰的位移, 因而在 DNA 溶液中加入一定量的  $\text{Fe}_3(\text{CO})_{12}$ , 观察 DNA 的特征吸收峰是否发生位移, 可粗略知道  $\text{Fe}_3(\text{CO})_{12}$  是否与 DNA 发生了作用。一般而言, 如发生作用必然在电子吸收光谱上有所表现, 反之则不一定成立<sup>[10]</sup>。

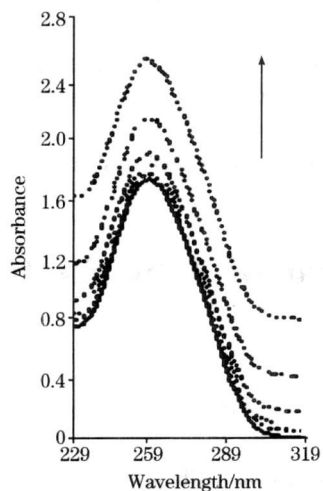


Fig 1 Ultraviolet absorption spectra of the interaction between  $\text{Fe}_3(\text{CO})_{12}$  and DNA. Arrow shows the intensity changes with increasing  $\text{Fe}_3(\text{CO})_{12}$  concentration

$\text{Fe}_3(\text{CO})_{12}$  与 DNA 作用的电子吸收光谱结果见图 1。从中我们可以看出: 在未加入羰基铁之前, DNA 的特征吸收峰在 260 nm。当加入化合物后, 体系的吸收光谱呈现明显的增色效应, 但 DNA 的特征吸收峰值变化不明显, 可以认为羰基铁与 DNA 的碱基作用而破坏 DNA 的双螺旋结构, 从而产生增色效应。

### 2.1 $\text{Fe}_3(\text{CO})_{12}$ 与 DNA 作用的电子吸收光谱研究

EB 在可见光区 478 nm 左右有一特征吸收 (见图 2, 曲线 b), 而 DNA 及簇合物在可见光区均无明显吸收。当 EB 与 DNA 作用形成 EB-DNA 体系后, 体系的吸收峰强度稍微降低 (曲线 e), 且峰位也显著红移至 504 nm, 移到 506 nm; 但当

加入羰基铁后, 吸收峰又蓝移至 504 nm (曲线 a, c, d), 且吸收峰的强度相对 EB-DNA 体系有所增大。随着羰基铁浓度的增大, 吸收峰的强度也越大。这表明羰基铁与 DNA 发生了类似于 EB 与 DNA 之间的插入作用<sup>[11]</sup>。

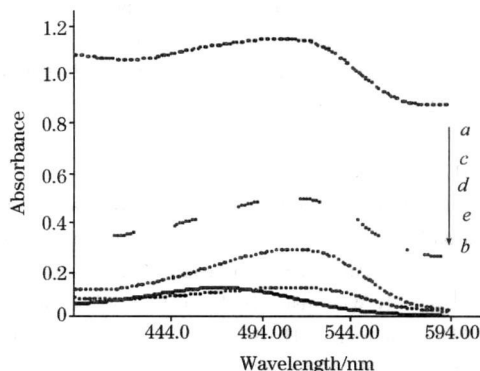


Fig 2 Effects of  $\text{Fe}_3(\text{CO})_{12}$  on the ultraviolet absorption spectra of DNA-EB system

b: EB; e,  $r = 0$ ; d:  $r = 0.13$ ; c:  $r = 1.3$ ;  
a:  $r = 6.9$ ,  $r = c_{\text{Fe}_3(\text{CO})_{12}}/c_{\text{DNA}}$

### 2.3 DNA 对羰基铁簇合物的发光增强效应

在水溶液中, 溶剂与簇合物分子间的碰撞导致的能量交换对发光有一定的猝灭作用。当簇合物与 DNA 结合, 特别是以插入方式结合后, 受到 DNA 疏水环境的保护, 使得发光增强。图 3 为簇合物的相对发光强度 (相对于没有加入 DNA) 随 DNA 的加入的变化曲线。从图中可以看出, 在 DNA 的存在下, 簇合物的荧光强度有较大的增强, 即产生了明显的增色效应。增色效应是由于 DNA 的碱基与嵌入其间的小分子产生电子相互作用引起的<sup>[12, 13]</sup>。羰基铁不溶于水, 当进入到 DNA 的疏水区域时, 减小了与水分子的碰撞, 也可导致荧光强度的增加。DNA 的加入引起铁簇合物荧光强度增加的现象, 与已知的一些嵌入试剂在 DNA 存在时荧光强度增加的现象是一致的<sup>[14, 16]</sup>, 由此推测, 羰基铁可能嵌入到 DNA 的碱基对中。

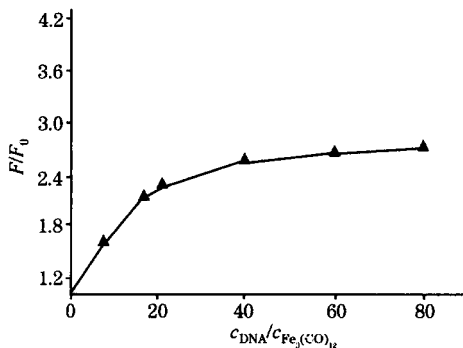


Fig 3 Emission enhancement of the  $\text{Fe}_3(\text{CO})_{12}$  cluster after addition of DNA

$c_{\text{Fe}_3(\text{CO})_{12}} = 1.786 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ;  
 $c_{\text{DNA}} = 0; 8; 18; 20; 40; 60; 80 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$

## 参 考 文 献

- [ 1 ] Harantounian A S. *Inorganic Chimica Acta*, 1986, 124(3): 137.
- [ 2 ] Michael J A, Laurance D H. *Can. J. Chem.*, 1982, 60: 2229.
- [ 3 ] Jonel H. *Coord. Chem. Rev.*, 1990, 99: 253.
- [ 4 ] YE Yong, HU Ji-ming, ZENG Yur e (叶 勇, 胡继明, 曾云鹮). *Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)*, 2001, 21(5): 623.
- [ 5 ] SUN Kai, XU Guang-zhi, XU Yanyang, et al(孙 凯, 徐广智, 徐艳阳, 等). *Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)*, 1991, 11(3): 7.
- [ 6 ] Reichmann M E, Rice S A, Thomas C A, et al. *J. Am. Chem. Soc.*, 1954, 76: 3047.
- [ 7 ] Wilson W D, Jones R L, in ed., Whittingham M S, Jacobson A J. *Intercalation Chemistry*, New York: Acadmic Press, 1982, 445.
- [ 8 ] Waring M J. *Ann. Rev. Biochem.*, 1981, 50: 159.
- [ 9 ] Jeffrey A M, Weinstein I B, Jeannette K W, et al. *Nature*, 1977, 269: 348.
- [ 10 ] WANG Ping-hong, ZHANG Qi, WANG Lirfang, et al(王平红, 张 岐, 王流芳, 等). *Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)*, 2006, 26(5): 941.
- [ 11 ] LU Jixin, ZHANG Guizhu, HUANG Zhi na, et al(卢继新, 张贵珠, 黄志娜, 等). *J. Acta Chimica Sinica(化学学报)*, 2002, 60(6): 967.
- [ 12 ] Long E C, Barton J K. *Accounts of Chemical Research*, 1990, 23: 271.
- [ 13 ] CHEN Guozhen, HUANG Xiarzhi, ZHENG Zhuzi, et al(陈国珍, 黄贤智, 郑朱梓, 等). *Fluorescence Analytical Method(荧光分析法)*. Beijing: Science Press(北京: 科学出版社), 1990. 118.
- [ 14 ] LI Laisheng, HUANG Weidong, et al(李来生, 黄伟东, 等). *J. Acta Chimica Sinica(化学学报)*, 1999, 57: 572.
- [ 15 ] YANG Ping, GAO Fei, MA Guibin(杨 频, 高 飞, 马贵斌). *Introduction Bioinorganic Chemistry Guide(生物无机化学导论)*. Xi'an: Xi'an Jiaotong University Press(西安: 西安交通大学出版社), 1991. 155.
- [ 16 ] LIN Qir yue, HU Ruiding, ZHENG Xiaohua(林秋月, 胡瑞定, 郑孝华). *Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)*, 2004, 24(8): 988.

## Study on the Interaction between $\text{Fe}_3(\text{CO})_{12}$ and DNA by Electronic and Fluorescence Spectrophotometry

WANG Ping-hong<sup>1</sup>, ZHANG Yir feng<sup>2</sup>, ZHANG Qi<sup>1\*</sup>, CHEN Shang-wen<sup>1</sup>, YUAN Wen-bing<sup>1</sup>, WU Sharr-shan<sup>1</sup>

1. Province Key Laboratory of Refined Chemistry, Hainan University, Haikou 570228, China

2. College of Life Science, University of Science and Technology of China, Hefei 230027, China

**Abstract** The interaction between  $\text{Fe}_3(\text{CO})_{12}$  and DNA was investigated by absorption and spectra, fluorescence spectra. The absorption of EB-DNA system in the presence of  $\text{Fe}_3(\text{CO})_{12}$  showed that  $\text{Fe}_3(\text{CO})_{12}$  could partly sustain the place of EB. The result of fluorescence spectra suggested that  $\text{Fe}_3(\text{CO})_{12}$  could enhance the fluorescence intensity of DNA sharply. All the experimental results indicated that the intercalative binding mode was the major model for the interaction of  $\text{Fe}_3(\text{CO})_{12}$  cluster complex with DNA.

**Keywords**  $\text{Fe}_3(\text{CO})_{12}$ ; DNA; UV absorption spectra; Fluorescence spectra; Intercalative binding mode

(Received Mar. 28, 2006; accepted Jun. 30, 2006)

\* Corresponding author