

## [研究简报]

## 磷光寿命法研究稀土配合物的跨膜传输\*

马贵斌 郭玉玲 陈亮 赵建国 杨频 赵春贵

(山西大学化学系、分析测试中心, 太原, 030006)

关键词 磷光, 铽配合物, 细胞作用

从分子水平研究细胞与稀土离子及其配合物的作用机制和跨膜行为以及在细胞内作用的靶分子是阐明稀土生物效应的基础理论问题, 研究这一问题对指导稀土的应用意义重大. 要实现解决这一科学家梦寐以求的本质问题, 关键是要寻求切实可行的有效的研究方法. 室温磷光光谱分子探针技术在研究动物组织和细胞方面的应用发展非常迅速, 由于氧在各种组织中分布的差异, 因而对探针分子的磷光猝灭影响不同. 曾经有人用钆卟吩配合物为磷光探针研究了细胞组织的病变行为<sup>[1~2]</sup>. 本文选用的探针为稀土铽离子, 通过测定稀土铽离子的磷光寿命, 可以观察稀土离子与细胞的作用过程及在细胞中所处的环境.

## 1 仪器与试剂

LS-50 荧光磷光光谱仪(美国 PE 公司). 用 LS-50 光谱仪 Enzfitter 软件测量磷光寿命. 为了避免空气中氧的干扰, 用橡胶皮盖将石英比色池封口, 每次加样由微量进样器针头轻轻穿过橡胶皮盖插入溶液中加入待加样品.

小白鼠腹的肿瘤细胞由山西大学分子科学研究所动物培养室提供.

## 2 结果与讨论

2.1 铽离子配合物的磷光光谱的测定与配合物探针配体的选择 在 LS-50 光谱仪上固定激发波长  $\lambda_{ex}=350$  nm, 分别测定了稀土铽离子与 EDTA、乙二胺、乙酰丙酮、氨基酸和柠檬酸形成配合物的磷光光谱. 结果表明不同的配体对铽的磷光光谱影响不大, 其峰位相同, 铽与 EDTA 配合物的光谱如图 1 所示.

由图 1 可见, 在 490 nm、545 nm 和 600 nm 处出现了 3 个磷光发射峰. 我们采用荧光方式和磷光方式分别对同一样品进行了光谱测定, 发现其峰位和峰形相同, 但荧光比磷光的强度弱, 不同配体配位的铽离子, 其在相同实验条件下磷光的寿命略有变化, 但变化不大. 在相同条件下测定的 0.01 mol/L 的 Tb(EDTA) 和 0.01 mol/L 的 Tb(Cit)<sub>2</sub> 的磷光寿命分别为 1.03 ms 和 2.24 ms.

2.2 氧分子对磷光寿命的影响 氧是最有效的发光猝灭剂之一, 绝大多数发光物质, 均受到溶于溶液中的分子态氧的猝灭作用, 将 0.01 mol/L 的 Tb(Cit)<sub>2</sub> 配合物和 0.01 mol/L 的 Tb(EDTA) 配合物溶液移到石英比色池中, 在 LS-50 光谱仪上按照前面的方法, 一边加入除氧剂 Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, 一边测定其磷光寿命, 测定结果见图 2. 由图 2 可知, 随着 Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> 的不断加入, 配合物的磷光寿命呈现出增加的变化趋势, 可见当加入除氧剂时, 由于体系内氧的浓度减小, 表现出其对发光体的猝灭作用减小, 则磷光体寿命延长. 随着除氧剂浓度的增大, 除

收稿日期: 1996-05-25. 联系人及第一作者: 马贵斌, 男, 33 岁, 副教授.

\* 国家自然科学基金、山西省自然科学基金和山西省教育委员会青年学科带头人培养基金资助课题.

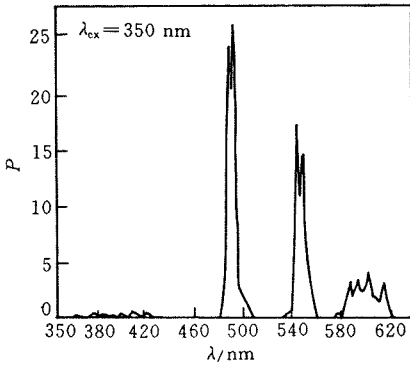


Fig. 1 The phosphorescent spectrum of coordination compound Tb(III) with EDTA

Concentration of complex: 0.01 mol/L; pH=7.0.

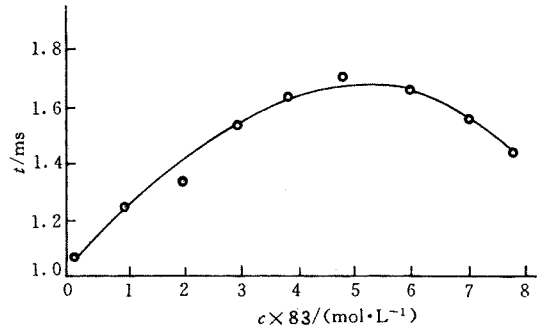


Fig. 2 The relation of phosphorescent life versus adding deoxygenation agent of Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>

氧剂本身也会导致发光体的磷光猝灭, 从而使其磷光寿命下降, 这表明除氧剂存在一个最佳浓度范围. 故在铽配合物探针处于不同氧含量的介质中, 可通过这种变化来测定其磷光寿命, 并以此判别其探针分子所处的介质氧存在的情况. 若两相中氧的含量不同, 则要确定铽离子配合物是否发生相转移, 可通过测定铽的磷光寿命的变化来实现.

2.3 铽配合物探针在模拟生物膜(或类脂膜)中的行为 使用重结晶纯化的表面活性剂十二烷基硫酸钠和十二烷基苯磺酸钠在溶液中模拟生物膜的双层排列, 并测定了铽的柠檬酸配合物探针在此模拟体系中磷光寿命的变化. 测定结果如图 3 所示.

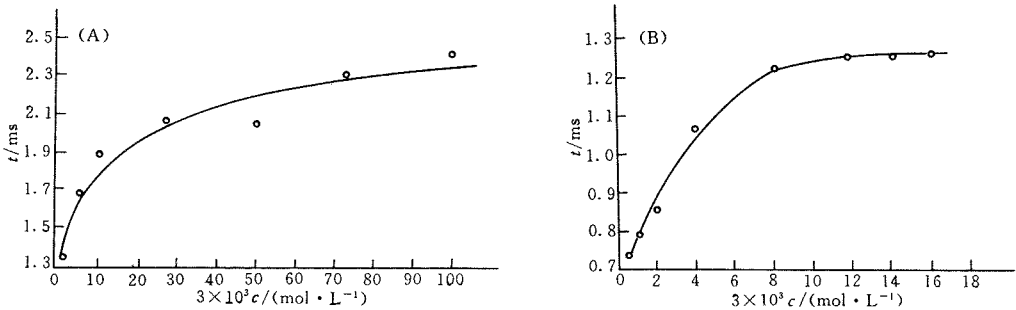


Fig. 3 The change of phosphorescent life of complex probe in lipid

The changed relationship of phosphorescence between complex Tb(III) with citric acid and concentration of sodium dodecylsulfate(A) and dodecylbenzene sulfonate(B)

由图 3 可见, 随着表面活性剂摩尔比的增大, 铽配合物的磷光强度增强, 磷光寿命增大. 由两种表面活性剂对其磷光寿命的影响相比较可见, 十二烷基苯磺酸钠的影响大. 由此可知, 铽配合物的分子探针不仅可以进入疏水的脂溶性双层膜介质中, 而且进入后其磷光强度和磷光寿命都有较大的增加, 因而铽的配合物分子探针可以通过测定磷光强度和磷光寿命的变化来判断其是否与生物膜发生作用, 是否可穿过脂性细胞膜而进入细胞体内.

2.4 铽配合物分子探针与细胞的相互作用 将小白鼠的腹水肿瘤细胞(1 × 10<sup>8</sup> 个/mL)与 0.02 mol/L 的稀土铽离子配合物按体积比 1 : 1 混合, 在相同的实验测定条件下, 测定了配合物的磷光寿命随时间的变化. 结果表明 Tb(EDTA) 配合物的磷光寿命几乎不随时间的改变而变化, 可见 Tb(EDTA) 配合物不会与肿瘤细胞发生作用, 也不可能穿越细胞膜, 故不能

作为研究稀土跨膜的细胞探针.  $Tb(Cit)_2$  配合物在细胞体系中, 随着时间变化, 呈现出先逐渐增大, 后逐渐减小, 最后趋于稳定的变化趋势. 由此可见,  $Tb(Cit)_2$  配合物与细胞发生了相互作用<sup>[3,4]</sup>, 故可作为研究稀土跨膜的配合物分子探针.

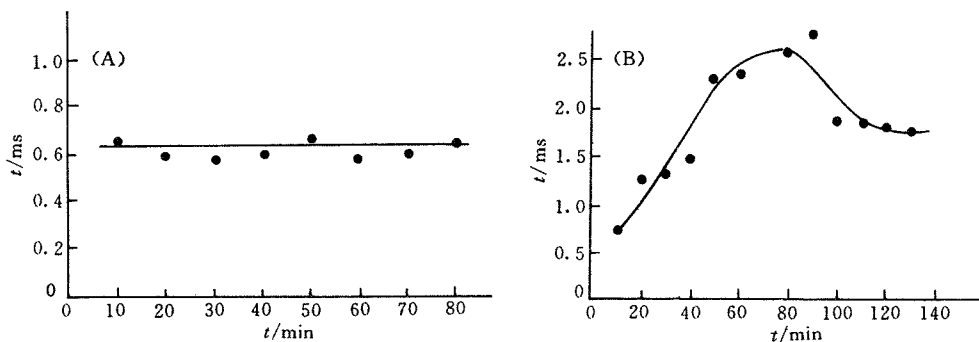


Fig. 4 The relation of phosphorescent life of  $Tb(III)$  complex with time in cellular systems

(A)  $Tb(EDTA)$ ; (B)  $Tb(Cit)_2$ .

### 参 考 文 献

- 1 Ross D. S., David F. W., Charles E. R. *et al.*. *Applied Optics*, 1992, **31**(19): 3 711
- 2 David F. W., George J. C.. *Cancer Research*, 1992, **52**: 3 988
- 3 ZHANG Shu-Gong(张树功), NIU Chun-Ji(牛春吉). *Rare Metal(稀有金属)*, 1989, **13**(1): 76
- 4 LI Rong-Chang(李荣昌), BO Yun-Hong(薄云红), SUN Hong-Ye(孙宏业) *et al.*. *Frontier Symposium on Bioinorganic Chemistry, Collection of Reports(生物无机化学前沿讨论会, 报告汇编)*, Taiyuan, 1994: A<sub>1.1</sub>—A<sub>1.4</sub>

## Studies on the Transmembrane of Rare Earth Coordination Compound by Phosphorescent Probe Method

MA Gui-Bin\*, GUO Yu-Ling, CHEN Liang,  
ZHAO Jian-Guo, YANG Pin, ZHAO Chun-Gui

(*Department of Chemistry, Shanxi University, Taiyuan, 030006*)

**Abstract** Varied behavior of luminophors phosphorescent life of rare earth terbium coordination compound as a molecular probe existing in different concentration quench of dioxygen and lipid system was studied by phosphorescent spectrum. The terbium coordination compound probe was applied to study the interaction between rare earth and cells. The research results show that the molecular probe of terbium coordination compound was an effective probe for applying to the study of transmembrane process for rare earth ions.

**Keywords** Phosphorescence, Terbium coordination compound, Cell interaction

(Ed.: G, X)