

自组装 DNA 与 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+ / 3+}$ 相互作用的表面增强拉曼光谱法研究

董丽琴, 周剑章, 吴玲玲, 董平, 林仲华

(厦门大学固体表面物理化学国家重点实验室, 厦门大学化学系物理化学研究所, 厦门 361005)

摘要 对金基体上自组装 ssDNA 及 dsDNA 与钴邻菲啉配合物离子 ($[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+ / 3+}$) 相互作用进行电化学现场表面增强拉曼光谱 (SERS) 研究, 获得相互作用位点及相互作用模式的信息. dsDNA 与 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+ / 3+}$ 存在一定的嵌插作用, 即配合物通过配体邻菲啉 (phen) 环以嵌插模式结合在碱基 A-T 及 G-C 富集区, 同时与磷酸二酯键 PO_2 结合, 并伴随 dsDNA 螺旋构象由 B 型向 A 型转变; 而 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+ / 3+}$ 则是以静电模式与 ssDNA 的磷酸二酯键 PO_2 及脱氧核糖组成的骨架相互作用.

关键词 ssDNA; dsDNA; $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+ / 3+}$; 表面增强拉曼光谱 (SERS); 相互作用

中图分类号 O646

文献标识码 A

文章编号 0251-0790(2003)02-0315-05

DNA 与其它分子相互作用的研究对于阐明小分子对核酸的复制和转录的影响、DNA 靶标药物与 DNA 的相互作用机制研究以及疾病的起源具有重要意义. 为寻找抗肿瘤和抗病毒药物研究提供了理论和物质基础^[1]. 研究所采用的研究方法包括紫外/可见吸收光谱、荧光光谱、拉曼光谱、SERS 谱和红外光谱等^[1-4]. SERS 技术灵敏度高, 对于电化学及气相环境界面的现场表面振动光谱识别具有其独特的优点^[5]和指纹印迹能力^[3], 是进行药物及金属配合物与其靶标物相互作用研究的有效手段之一^[1, 3].

已有研究发现^[6], 随离子强度的提高, dsDNA/Au 与 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+ / 3+}$ 的相互作用模式从静电作用 (离子强度 $\mu < 40 \text{ mmol/L}$) 向嵌插作用 (离子强度 $\mu > 40 \text{ mmol/L}$) 过渡. 而对于 ssDNA/Au 与 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+ / 3+}$ 的相互作用模式, 尽管此时 DNA 为单链, 但是相互结合仍然存在, 此种相互作用的确切本质尚不清楚, 未见有关 DNA 与 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+ / 3+}$ 相互作用的分子振动光谱研究报道.

本工作在对自组装 ssDNA 及 dsDNA 吸附取向的电化学现场 SERS 研究^[7, 8]基础上, 对 ssDNA 及 dsDNA 与 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+ / 3+}$ 相互作用进行电化学现场 SERS 研究, 为二者相互作用机制提供分子水平的识别信息.

1 实验部分

1.1 金电极的预处理

按照文献^[7]方法将金电极抛光、超声清洗、化学清洗、粗糙化处理、淋洗等.

1.2 ssDNA 及 dsDNA 与 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+ / 3+}$ 相互作用实验方法

当 ssDNA 及 dsDNA 吸附取向的现场 SERS 研究^[7]进行完毕, 在其它实验条件均不变的情况下, 从参比电极一侧将上述电解池内的缓冲溶液小心吸出, 再加入 $10 \mu\text{mol/L}$ $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+} / 10 \text{ mmol/L}$ Tris-50 mmol/L NaCl (pH = 7.2) 溶液 (整个过程注意保证前述测试所选光谱采样点不变), 分别进行 ssDNA 及 dsDNA 与 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+ / 3+}$ 相互作用的现场 SERS 研究; 在体系 $10 \mu\text{mol/L}$ $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+} / 10 \text{ mmol/L}$ Tris-50 mmol/L NaCl (pH = 7.2) 中进行裸金基体上 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+ / 3+}$ 的现场 SERS 研究, 并测定相应体系的电化学循环伏安行为.

收稿日期: 2001-12-24.

基金项目: 国家自然科学基金 (批准号: 29803007)、教育部科技研究重点项目 (批准号: 99177) 和教育部博士点基金资助.

联系人简介: 林仲华 (1941 年出生), 男, 教授, 博士生导师, 从事电化学研究. E-mail: zhlin@xmu.edu.cn. <http://www.cnki.net>

1.3 仪器及条件

电化学实验采用 CHI 660 型综合测试仪; 金基体的电化学粗糙化在 Model 273 恒电位仪上进行; SERS 实验采用法国 DILOR 公司生产的 LabRam 型共焦显微 Raman 光谱仪, 激发波长为 632.8 nm (红光), 谱仪分辨率为 2 cm^{-1} , 频率测定范围为 $500\sim 1\,800\text{ cm}^{-1}$, 测定采用散焦方法; 利用恒电位仪控制电极电位. 本文中所给定的电极电位均相对于饱和甘汞电极, 所有实验测定均在室温下进行, 所有试剂均为分析纯, 配合物 $[\text{Co}(\text{phen})_3\text{Cl}_2]$ 按文献[9]方法制备. 实验用溶液以超纯水配制.

2 结果与讨论

2.1 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$ 的电化学现场 SERS 谱随电极电位的变化

图 1 为裸金基体上 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$ 的电化学现场 SERS 谱, 其相应谱带归属参见文献[10~13]. 归属于配体 phen 的特征 SERS 谱带证实配合物在金基体表面存在一定的吸附.

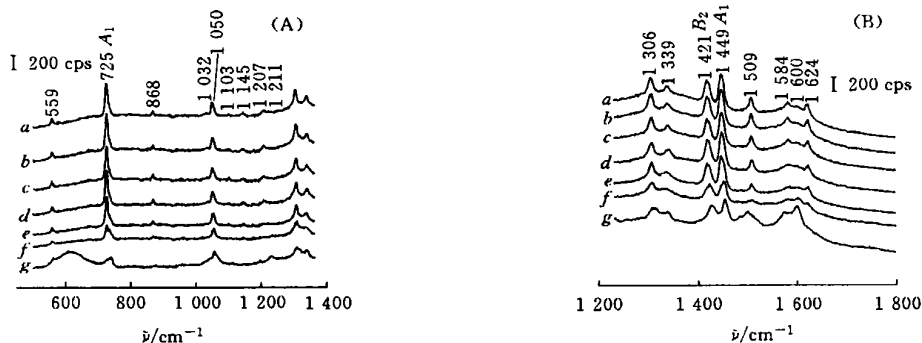
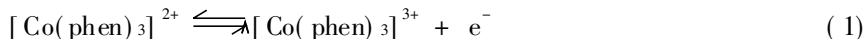


Fig. 1 The electrochemical *in situ* SERS spectra of $10\ \mu\text{mol/L}$ $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+}$ adsorbed on the bare gold substrate in the $500\text{--}1\,350\text{ cm}^{-1}$ region (A) and $1\,250\text{--}1\,800\text{ cm}^{-1}$ region (B) at different potentials

Potential/mV: a. -400 ; b. -300 ; c. -200 ; d. 0 ; e. 200 ; f. 400 ; g. 600 . Polarization direction: a—g. In all the *in situ* SERS experiments, measurements were made in $10\ \mu\text{mol/L}$ $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+}$ / $10\ \text{mmol/L}$ Tris- $50\ \text{mmol/L}$ NaCl (pH = 7.2) solution.

比较不同电极电位时 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$ 的 SERS 谱带强度及频率的变化时发现, 当电极电位在 $-400\sim 200\text{ mV}$ 范围内变化时, 配体 phen 的 SERS 谱带强度及频率几乎不变. 当电极电位为 400 mV 时, 谱带强度降低, 但频率变化较小. 其中, 配体 phen A_1 振动的 725 及 1449 cm^{-1} 谱带及 1421 cm^{-1} 的 B_2 振动谱带的强度降低 40% 左右, 但频率基本不变. 随电极电位正移, 由于发生了如下的电子传递反应^[6]:



部分配合物以 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{3+}$ 形式存在. 随电极电位正移, phen 的 SERS 谱带强度降低但频率几乎不变, SERS 谱的这一变化规律表明, 配体 phen 未受到电子传递反应的影响, 即传递的电荷主要定域于配合物离子的分子轨道, 且 $\text{Co}(\text{phen})_3$ 中心离子的原子轨道对此做出主要贡献^[14]. 电极电位为 600 mV 时, 609 cm^{-1} 处出现一个宽峰, 其归属于配体 phen 的 A_2 面外振动谱带. 但是, 当电极电位从 600 mV 再反向折回到 400 mV 时, 此谱带迅速消失, 而这一变化并未改变中心金属离子的电子构型, 因此 609 cm^{-1} 谱带的出现可能与配合物分子的吸附取向变化有关.

借助于 SERS 表面选择定则^[15] 可获得基体表面分子吸附取向的信息. 吸附分子沿表面法线方向取向时, 环面内振动 SERS 谱带比环面外振动的 SERS 谱带强; 反之, 其 SERS 谱带面外振动强于面内振动, 产生原因与振动模式沿表面法线方向极化率张量的大小有关, 大者相应的谱带强. 钴邻菲 啉配合物分子具有八面体结构, 609 cm^{-1} phen 的面外振动谱带的出现可能是由于此时配合物离子的取向使得 3 个邻菲 啉分子平面较大程度地平行于基体表面.

2.2 ssDNA 及 dsDNA 与 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$ 相互作用的现场 SERS 谱

ssDNA 及 dsDNA 在基体表面的吸附取向直接影响到与其它分子的相互作用. 根据我们的现场

SERS 研究结果^[7,8], 随电极电位正移, ssDNA 及 dsDNA 在金基体表面吸附取向由垂直变为平躺. 因此, 与之在同一采谱样点及同样实验条件下进行 ssDNA 及 dsDNA 与 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$ 相互作用的电化学现场 SERS 研究可得到相互作用位点及由于相互作用所引起的 DNA 吸附取向变化等分子水平的识别信息.

2.2.1 ssDNA 及 dsDNA 与 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$ 相互作用的现场 SERS 谱随电极电位的变化 图 2 为 ssDNA 与 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$ 相互作用的现场 SERS 谱. ssDNA 与 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$ 相互作用的现场 SERS 谱亦随电极电位而变. 当电极电位在 $-400 \sim 0 \text{ mV}$ 范围内时, 谱带强度及频率几乎不变. 电极电位为 200 mV 时, 碱基 A 环振动并有 C6 位氨基振动引起的 719 cm^{-1} 肩峰强度明显降低, 1447 cm^{-1} 谱带强度降低约 40%; 此外, 由于电子传递反应(1)的发生, phen 的 A_1 振动的 725 cm^{-1} 谱带及 B_2 振动的 1421 cm^{-1} 谱带强度降低 30% 左右. 随着电极电位正移, ssDNA 及 phen SERS 谱带强度降低幅度较大. 这是由于随着电位正移, ssDNA 在金基体表面由垂直吸附取向变为斜插/平躺吸附取向, 这与 ssDNA 吸附取向的现场 SERS 研究得到的结论是一致的^[7,8], 且 ssDNA 与 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$ 的相互作用并未改变 ssDNA 在金基体表面的吸附取向. 邻菲啉的 SERS 谱带强度随电位正移而降低, 但频率基本未变, 这表明配体未受到电子传递反应的影响. 电极电位为 $-400 \sim 600 \text{ mV}$ 范围内, 均未出现 609 cm^{-1} 谱带, 这可能是由于 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$ 与 ssDNA 的相互作用, 使配合物的吸附取向受到一定的限制.

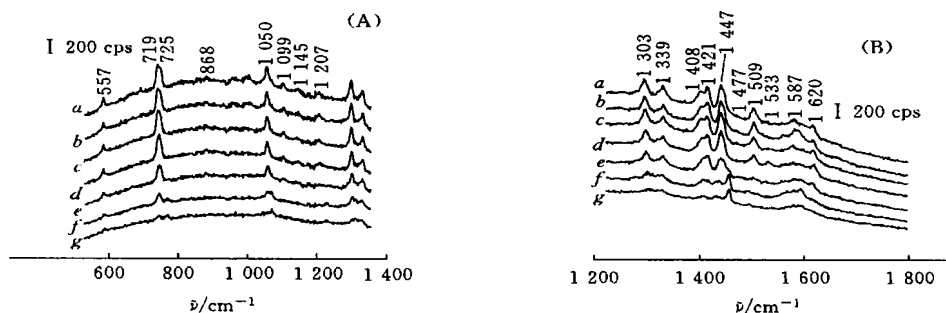


Fig. 2 The electrochemical *in situ* SERS spectra of $10 \mu\text{mol/L}$ $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+}$ adsorbed on the self-assembled ssDNA gold substrate in the $500\text{--}1350 \text{ cm}^{-1}$ region (A) and $1250\text{--}1800 \text{ cm}^{-1}$ region (B) at different potentials

Other conditions are the same as in the Fig. 1.

随电极电位正移, dsDNA 与 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$ 相互作用的现场 SERS 谱[图 3(A), (B)]亦具有一定的变化规律. 当电极电位在 $-400 \sim 0 \text{ mV}$ 范围内变化时, SERS 谱带强度及频率基本维持恒定. 电极电位到 200 mV 时, 由于电子传递反应(1)的发生, 部分 SERS 谱带强度降低约 30%, 但谱带频率随电极电位变化很小, 表明配体未受到电子传递反应的影响. 当电极电位为 400 mV 时, SERS 谱带强度降低幅度达 90% 左右, 谱带强度的大幅度降低是由于 dsDNA 吸附取向变化及电子传递反应(1)所致.

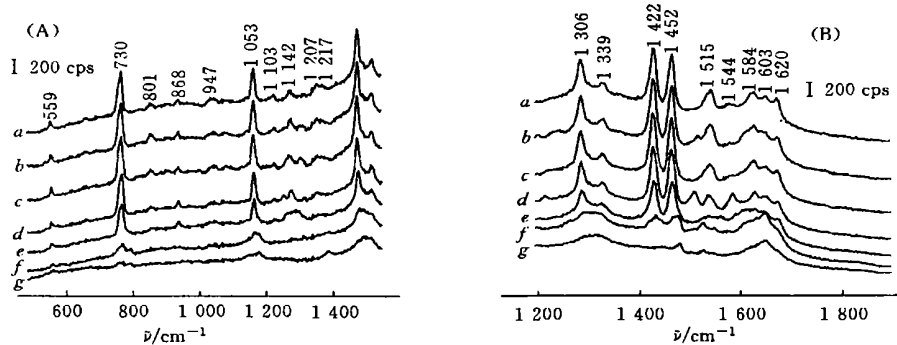


Fig. 3 The electrochemical *in situ* SERS spectra of $10 \mu\text{mol/L}$ $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+}$ adsorbed on the self-assembled dsDNA gold substrate in the $500\text{--}1350 \text{ cm}^{-1}$ region (A) and $1250\text{--}1800 \text{ cm}^{-1}$ region (B) at different potentials

与 ssDNA 和 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$ 相互作用的现场 SERS 谱结果类似, 当电极电位在 $-400 \sim 600 \text{ mV}$ 范围内变化时, 始终未出现 609 cm^{-1} 的配体 phen A_2 面外振动谱带, 这可能是由于配合物离子与 dsDNA 的相互作用导致其配体环平面不能自由选择取向。

因此, 随着电极电位正移, 由于 ssDNA 及 dsDNA 吸附取向变化以及配合物离子的电子传递反应导致其与 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$ 相互作用的现场 SERS 谱带强度降低, 归属于配体 phen 的谱带频率变化很小, 表明配体未受到电子传递反应的影响。此外, ssDNA 及 dsDNA 与 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$ 相互作用并未改变其在金基体表面的吸附取向, 但配合物分子选择取向的自由则由于相互作用而受到一定的限制。

2.2.2 ssDNA 及 dsDNA 与 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$ 相互作用模式及作用位点的分子振动光谱识别 根据以上的分析, 将 ssDNA (或 dsDNA) 与 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$ 相互作用的现场 SERS 谱与同一电极电位时 ssDNA (或 dsDNA) 及 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$ 的现场 SERS 谱进行比较分析, 可获得相互作用的信息。

电极电位为 -400 mV 时, 与 ssDNA 的现场 SERS 谱相比, ssDNA 与 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$ 相互作用的现场 SERS 谱中, DNA 碱基振动的特征谱带频率变化很小, 因此可初步推断, ssDNA 与 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$ 的相互作用模式不可能是嵌插或沟槽作用。磷酸二酯键对称伸缩振动的 822 cm^{-1} 谱带强度降低并红移, 脱氧核糖振动的 956 cm^{-1} 谱带强度亦降低, 表明 ssDNA 与 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$ 相互作用后, 其链骨架的磷酸二酯键 PO_2 和脱氧核糖均受到影响。而配体 phen 的特征振动谱带其频率基本维持恒定。因此, $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$ 与 ssDNA 相互作用后, 配体 phen 环并无明显的结构变化, 即二者的结合未引起 ssDNA 与配体 phen 环周界显著的键合作用^[16]。对其它电极电位时相应的 SERS 谱进行比较也具有如上的变化规律。因此, ssDNA 与 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$ 的相互作用模式可能主要为静电作用, 其作用位点可能在磷酸二酯键 PO_2 和脱氧核糖组成的骨架上。

将电极电位为 -400 mV 时的 dsDNA 与 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$ 相互作用的现场 SERS 谱与 dsDNA 现场 SERS 谱进行比较可以发现, dsDNA 与 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$ 相互作用后, 碱基 G, C 振动的 1550 cm^{-1} 谱带蓝移到 1544 cm^{-1} , 且谱带强度变化较大, 表明 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$ 与 dsDNA G-C 富集区发生了相互作用, 磷酸二酯键对称伸缩振动的 825 cm^{-1} 谱带移向 801 cm^{-1} 。 $805 \sim 818 \text{ cm}^{-1}$ 范围内的谱带是 dsDNA 以 A 型螺旋结构存在的特征, 而 $825 \sim 838 \text{ cm}^{-1}$ 范围谱带则是 dsDNA 以 B 型螺旋结构存在的特征^[17]。因此, $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$ 与 dsDNA 相互作用导致 dsDNA 螺旋构象的变化, 即从 B 型构象转化为 A 型构象。此外, 碱基 A 环振动并有 C6 位氨基振动的 725 cm^{-1} 谱带及归属于碱基 A 振动的 1507 cm^{-1} 谱带分别蓝移到 730 及 1515 cm^{-1} ; 配体 phen 的面内变形振动的 A_1 振动的 725 cm^{-1} 谱带及 phen 环 C=C 及 C=N 伸缩振动的 A_1 振动 1509 cm^{-1} 谱带均蓝移, 相应的 2 个谱带分别出现在 730 及 1515 cm^{-1} 处。这些事实表明, $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$ 与 dsDNA A-T 富集区亦发生了相互作用, 同时, phen 环与 dsDNA 相互作用时, phen 环发生结构上相对显著的变化。

对其它电极电位时的 SERS 谱进行比较, 也得到如上的结论。因此, $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$ 与 dsDNA 相互作用时, 很可能是 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$ 配合物通过部分配体 phen 环以嵌插模式结合在 dsDNA 碱基 A-T 及 G-C 富集区, 同时配合物的一部分与磷酸二酯键 PO_2 相互作用, 导致 DNA 双螺旋由 B 型转变为 A 型构象。

2.2.3 ssDNA 及 dsDNA 吸附取向对其与 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$ 相互作用的影响 裸金基体上吸附的 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$ 的现场 SERS 谱 [图 1(A), (B)] 中, 当电极电位为 600 mV 时, 仍有较强的振动谱带, 归属于配体 phen; 自组装 ssDNA 及 dsDNA 与 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$ 相互作用的现场 SERS 谱 (图 2 和图 3) 中, 电极电位为 600 mV 时, 所有 SERS 信号, 不论是面内振动还是面外振动谱带, 都变得很弱, dsDNA 与 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$ 相互作用的现场 SERS 谱变化尤其明显。这可能是由于在较正的电位下, ssDNA 及 dsDNA 在金基体表面的吸附取向为平躺吸附取向^[7,8], 基体表面 DNA 分子处于相对无序的状态, 且 DNA 分子链间可能有一定的缠绕, 由于空间因素的制约, 不利于 ssDNA 及 dsDNA 与 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$ 的相互作用, 引起部分配合物离子脱附, 导致配合物 SERS 信号减弱。

参 考 文 献

- [1] LIU Jun(刘 军), LUO Guo-An(罗国安), WANG Yi-Ming(王义明) *et al.*. *Acta Pharmaceutica Sinica*(药学报)[J], 2001, **36**(1): 74—78
- [2] Chen W., Turro C., Friedman L. E. *et al.*. *J. Phys. Chem. B*[J], 1997, **101**(35): 6 995—7 000
- [3] Nabiev I., Baranov A., Chourpa I. *et al.*. *J. Phys. Chem. B*[J], 1995, **99**(5): 1 608—1 613
- [4] Neault J. F., Tajmir-Riahi H. A. *et al.*. *J. Phys. Chem. B*[J], 1998, **102**(9): 1 610—1 614
- [5] Zou S. Z., Williams C. T., Chen E. K. Y. *et al.*. *J. Phys. Chem. B*[J], 1998, **102**(45): 9 039—9 049
- [6] Pang D. W., Abruna H. D.. *Anal. Chem.*[J], 1998, **70**(15): 3 162—3 169
- [7] DONG Li-Qin(董丽琴), ZHOU Jian-Zhang(周剑章), WU Ling-Ling(吴玲玲). *Chem. J. Chinese Universities*(高等学校化学学报)[J], 2002, **23**(12): 2 303—2 308
- [8] Dong L. Q., Zhou J. Z., Wu L. L.. *Chem. Phys. Letts.*[J], 2002, **354**: 458—465
- [9] Schilt A. A.. *Analytical Applications of 1,10-Phenanthroline and Related Compounds*[M], Oxford: Pergamon Press, 1969
- [10] Krishnan K., Plane R. A.. *Spectrochimica Acta*[J], 1969, **25A**: 831—837
- [11] Thornton D. A., Watkins G. M.. *Spectrochimica Acta, Part A*[J], 1991, **47**(6): 1 085—1 096
- [12] Paola C., Temperini Marcia L. A., Rubim J. C. *et al.*. *Spectrochimica Acta, Part A*[J], 1999, **55**: 2 411—2 421
- [13] Zawada K., Bukowska J.. *J. Molecular Struc.*[J], 2000, **555**(1/3): 425—432
- [14] Corio P., Rubim J. C.. *J. Phys. Chem.*[J], 1995, **99**(35): 13 217—13 223
- [15] Gao X. P., Davies J. P., Weaver M. J.. *J. Phys. Chem.*[J], 1990, **94**(17): 6 858—6 864
- [16] Butler C. A., Cooney R. P., Denny W. A.. *Applied Spectroscopy*[J], 1994, **48**(7): 822—826
- [17] Ke W. Z., Yu D. W., Wu J. Z.. *Spectrochimica Acta, Part A*[J], 1999, **55**(5): 1 081—1 090

Surface Enhanced Raman Scattering(SERS) Studies on the Interaction Between Self-assembled DNA and $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$

DONG Li-Qin, ZHOU Jian-Zhang, WU Ling-Ling, DONG Ping, LIN Zhong-Hua*
 (State Key Laboratory for Physical Chemistry of the Solid Surface, Department of Chemistry,
 Institute of Physical Chemistry, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract The electrochemical *in situ* SERS study of the interaction between $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$ and ssDNA as well as dsDNA self-assembled on the gold substrate are conducted here for the first time, and the molecular-level information of interaction is obtained. *In situ* SERS spectroscopic evidence shows that $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$ binds dsDNA *via* both the intercalative mode into the A-T and G-C-rich regions and the electrostatic mode with $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$ -PO₂ interaction. A partial reduction of B-DNA structure of dsDNA in favor of A-DNA occurs upon $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$ -dsDNA interaction. While $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$ binds ssDNA probably *via* electrostatic mode with $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$ -backbone interaction.

Keywords ssDNA; dsDNA; $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+/3+}$; Surface Enhanced Raman Spectroscopy(SERS); Interaction

(Ed.: I, X)