# 羟基磺基甜菜碱表面活性剂与 DNA 相互作用研究

王子涵,段泽峰,朱海林\*,张婷婷,胡志勇,孙永强 (中北大学化学与化工学院,山西太原,030051)

摘 要:采用电导率、紫外光谱、粒度分析、Zeta电位以及荧光光谱等方法研究两种羟基磺基甜菜碱两性表面活性剂(HSB-12、HSB-14)与 DNA的相互作用。结果表明: HSB-12/DNA体系和 HSB-14/DNA体系的等电点范围为6~9;随着 NaBr浓度增加,表面活性剂/DNA体系的透过率增加,粒径减小,微极性减小;与 pH=8相比,pH=5时表面活性剂/DNA体系的透过率更高,粒径更小。

关键 词: 羟基磺基甜菜碱表面活性剂; DNA; 等电点; 相互作用

作者简介: 王子涵,硕士研究生,主要从事功能性表面活性剂的合成与性能研究。

通信作者简介: 朱海林,教授,博士,主要从事功能性表界面材料的研究。E-mail:zhuhailin@nuc.edu.cn。



王子涵

DNA 是生命体中不可或缺的一类重要的生物大分子, 被广泛应用于生物医药、纳米技术以及材料科学等领域门。 表面活性剂可与 DNA 相互作用形成复合物后可作为载体使 用,研究表面活性剂与 DNA 的相互作用对于 DNA 分离、纯 化、基因转染均有重要的理论指导作用<sup>[2]</sup>。Mel'nikova等研 究发现, DNA分子在十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)的诱 导下会发生由线圈状向小球状的结构变化,即 DNA分子发 生了凝聚[3],并通过研究证实每一个凝聚态的复合物仅包含 着一个 DNA 分子 [4]。 Zhu 等 [5] 研究了在磷酸二氢钠一磷酸氢 二钠缓冲液(PBS)中 DNA 与十六烷基氯化吡啶(CPC)、 十二烷基苄基二甲基氯化铵(BAK12)以及十六烷基三甲基 氯化铵(CTAC)形成的复合物的颗粒大小变化过程。邹明 静等<sup>16</sup>研究了鲑鱼精 DNA与阳离子表面活性剂十四烷基二 甲基苄基氯化铵(TDMBA)的相互作用,通过研究发现, 二者可通过静电作用结合形成缔合物微粒,在620 nm处出 现较强的共振光散射峰,且其散射光强度随鲑鱼精 DNA质 量浓度的增加线性增强。

目前表面活性剂与 DNA 相互作用的研究多集中在阳离子表面活性剂诱导 DNA 发生构象变化,对于两性表面活性剂与 DNA作用的研究相对较少。本文对羟基磺基甜菜碱两性表面活性剂与 DNA间的相互作用进行研究,以期可以为基因治疗过程中的 DNA 提纯、基因体外转染后移至体内等提供有效的理论数据和研究办法,促进非病毒载体在基因治疗领域的研究和发展,降低病毒载体给本体带来的侵染,加强基因治疗领域的成功率。

## 1. 实验部分

#### 1.1 实验试剂

羟基磺基甜菜碱两性表面活性剂(HSB-12, HSB-

14),实验室自制<sup>[7]</sup>;三羟甲基氨基甲烷(Tris),湖北帝鑫化工厂;乙二胺二乙酸二钠(EDTA),苏州品诺化工厂;氢氧化钠,杭州恒鑫达化工有限公司;浓盐酸,郑州化工厂;溴化钠,腾达化工厂;鲑鱼精 DNA,sigma aldrich公司;芘(光谱纯,重结晶自制)。

#### 1.2 实验仪器

K-100表面张力仪,德国 Kruss公司;UV759紫外可见分光光度计,上海精密科学仪器有限公司;F-2500荧光光度计,日本日立公司;DDS-307A型电导率仪,山海佑科仪器仪表有限公司;粒度及 Zeta 电位测量仪,美国Brookhaven 公司。

#### 1.3 溶液的配制

#### 1.3.1 Tris-EDTA缓冲溶液的配制

称取 12.1140 g 三羟甲基氨基甲烷(Tris)溶于 70 mL超 纯水中,加入浓盐酸,调节 pH=8.0 以及 pH=5.0,定容至 100 mL,配成 Tris 母液。

称 18.6120 g乙二胺二乙酸二钠(EDTA),加入到 200 mL的超纯水中,剧烈搅拌使其完全溶解,调节 pH=8.0 以及 pH=5.0,定容至 250 mL,配成 EDTA 母液。

取7.5 mL Tris-HCl 母液、2.25 mL EDTA 母液,加入适量超纯水定容至500 mL,室温保存。

#### 1.3.2 NaBr溶液缓冲液的配制

分别称取5.1445 g、2.5723 g NaBr溶解于不同 pH的 Tris-EDTA缓冲溶液中, 定容至500 mL。

# 1.3.3 DNA 溶液的配制

称取0.0200 g DNA于适量 NaBr缓冲溶液, 定容至500 mL, 配成 DNA溶液。

#### 1.4 测试方法

## 1.4.1 电导率测试

用 DNA 溶液制备一系列浓度的表面活性剂 /DNA 待测

液,298.15 K恒温2小时,使用电导率仪测试待测液的电导率。

#### 1.4.2 透过率测试

用 DNA溶液制备一系列浓度的表面活性剂 /DNA 待测液, 298.15 K 恒温 2 小时,采用紫外 - 可见分光光度计测待测液的紫外可见透射光谱。

#### 1.4.3 粒径的测试

采用动态光散射仪测试表面活性剂/DNA溶液聚集体的粒径。其中,激光波长为660 nm,固定散射角为90°。

#### 1.4.4 Zeta 电位

测量不同溶液体系的 Zeta 电位时, 先打开仪器预热半小时, 设置好相应的参数, 样品槽的温度为298.15 K, 然后将配制好的一系列表面活性剂/DNA混合溶液放入样品槽中开始测试, 实验数据由仪器自带的软件来处理。

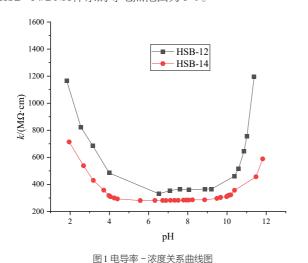
#### 1.4.5 荧光发射光谱

采用荧光分光光度测试 DNA/表面活性剂混合溶液的 荧光发射光谱,激发波长335 nm,扫描速度1500 nm/min,激发狭缝5.0 nm,发射狭缝2.5 nm,反应时间0.04 s。

# 2. 结果与讨论

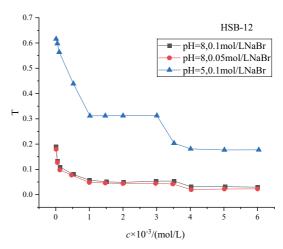
## 2.1 电导率

图1为 HSB-12/DNA溶液和 HSB-14/DNA溶液的电导率随 pH的变化曲线。有图可知,HSB-12/DNA体系和HSB-14/DNA体系的等电点范围为6~9。



#### 2.2 透射率

图2为不同 pH及 NaBr浓度条件下两性表面活性剂 / DNA体系的透过率随表面活性剂浓度的变化趋势图。



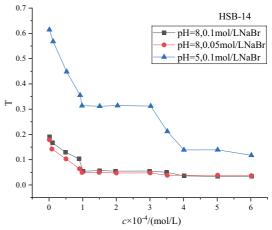


图2透过率-表面活性剂浓度关曲线

从图2可知,对于固定的表面活性剂,在表面活性剂浓度极低时,透过率随浓度的增加显著减小,当浓度增加至某一范围,透过率随浓度的增加基本保持不变,继续增加表面活性剂浓度,透过率再次随表面活性剂浓度增加而降低,随后又有一个平台区,说明两种羟基磺基甜菜碱表面活性剂存在两个临界聚集浓度,且HSB-14的临界聚集浓度比HSB-12的要低近1个数量级。

由图2还可知,NaBr的加入会引起透光率的变化。这是由于NaBr会导致扩散双电层被压缩,使所形成的聚集体受到压缩而变小;同时,NaBr的加入增强了体系的静电相互作用,但是此静电相互作用相对较弱,使得双电层压缩成为主要影响因素<sup>[8]</sup>。因此,随着添加 NaBr添加量的增加,形成较大聚合物的能力越弱,透过率越大。

从图2还可以看出,pH=5时体系的的透过率明显高于pH=8时体系的透过率,这是因为pH=5小于体系等电点,此时表面活性剂表现为阳离子表面活性剂的特性,体系中的阳离子及H<sup>+</sup>对DNA舒展的双螺旋结构有着一定的压缩作用,对整个表面活性剂/DNA体系有一定的压缩作用,使得所形成的粒子团整体偏小。

#### 2.3 粒径

图3为表面活性剂/DNA体系在不同pH及NaBr浓度 条件下,体系粒径随表面活性剂浓度的变化趋势图。

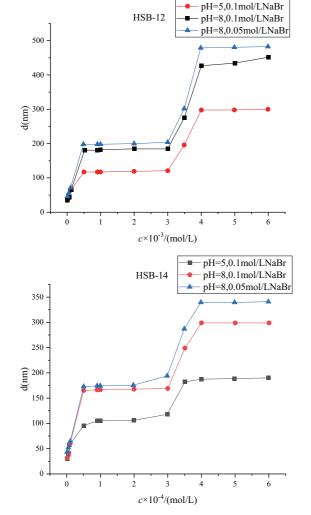


图3表面活性剂/DNA粒子有效直径与表面活性剂浓度的关系曲线

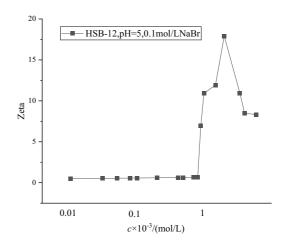
从图3可知,对于固定的表面活性剂,在表面活性剂浓度极低时,随着表面活性剂浓度的增加,表面活性剂/DNA体系的粒径增加显著。此后,继续增加表面活性剂浓度,表面活性剂/DNA体系的粒径基本保持不变,继续增加表面活性剂浓度至某一值后,表面活性剂/DNA体系的粒径再次随表面活性剂浓度增加而增大,直至达到第二个平台区,这与HSB-12/DNA体系以及HSB-12/DNA体系均有两个临界聚集浓度有关。在表面活性剂浓度较低时,表面活性剂/DNA体系的粒径迅速增加是由于表面活性剂与DNA结合成小聚集体,随表面活性剂浓度的增加,小聚集体的粒径不断增大,聚集为稍大的聚集体,此时,表面活性剂/DNA体系正由双螺旋结构向线圈状转变<sup>[9]</sup>;当表面活性剂/DNA体系达到了饱和状态,粒径不再随表面活性剂浓度发生变化,只是达饱和状态表面活性剂/DNA体

系的数目在增加;继续增加表面活性剂的浓度,表面活性剂 /DNA体系的粒径再次随表面活性剂浓度增加而增大,此时,HSB-12/DNA体系由线圈状向小球状转变 <sup>[9]</sup>;直至表面活性剂 /DNA体系再次达到新的饱和状态。

从图3还可看出,对于固定的表面活性剂/DNA体系,当pH值一定时,增加NaBr浓度,体系的粒径随之减小,这主要是由于NaBr使双电层压缩所致;当NaBr浓度一定时,pH=5时表面活性剂/DNA体系的粒径要小于pH=8时表面活性剂/DNA体系的粒径,这是因为pH=5时,表面活性剂体现为阳离子特性,体系中阳离子及H<sup>+</sup>对DNA舒展的双螺旋结构有着一定的压缩作用,从而使所形成的粒子直径减小。

# 2.4 Zeta 电位

图 4 是 HSB-12/DNA 体系和 HSB-14/DNA 体系在不同 pH 时的 Zeta 电位随两性表面活性剂浓度的变化趋势图。



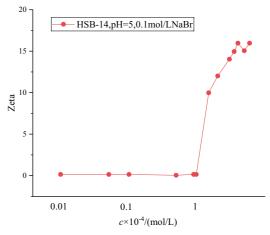
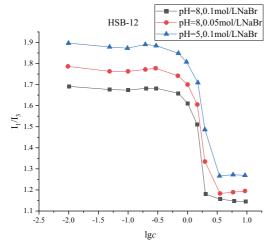


图4 Zeta电位-表面活性剂浓度关系曲线

从图4可以看出,pH=5的情况下,在表面活性剂浓度 极低时,体系的 Zeta 电位数值基本保持为零;当表面活性 剂浓度增加至临界聚集浓度时,表面活性剂/DNA体系的 Zeta 电位的数值开始变为正值,这可能是由于因为在酸性 条件下,表面活性剂展现为阳离子的特性,体系内部 DNA 分子上的负电荷不断与 HSB-12或 HSB-14分子中的正电荷相结合,从而使表面活性剂 /DNA 体系的 Zeta 电位数值在达到临界聚集浓度之后呈现出正值。

#### 2.5 荧光分光光度法

图 5 为 HSB-12/DNA 体系和 HSB-14/DNA 体系在不同 pH及不同 NaBr浓度的条件下, $I_1/I_3$ 值随两性表面活性剂 HSB-12浓度的变化趋势图。



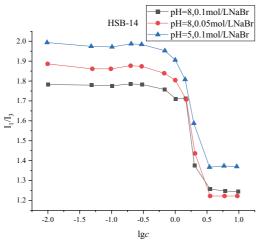


图 5 I1/I3 值随表面活性剂浓度的变化曲线

花探针进行测量的发射光谱第一个峰的峰值与第三个峰的峰值之比  $I_1/I_3$ ,可以测定芘所处的微环境, $I_1/I_3$ 值的变化可以用来检测溶液中胶束形成以及聚集的状态  $^{[10]}$ 。从图 5可知,对于表面活性剂 /DNA体系,pH一定时,NaBr的浓度增加, $I_1/I_3$ 最终稳定值减小,体系所处的微极性越弱。当 NaBr的浓度一定时,pH=5 时表面活性剂 /DNA体系的  $I_1/I_3$ 值高于 pH=8 时体系的  $I_1/I_3$ 值,说明 pH=5 时,体系所处环境的微极性较强。

由图5还可以看出,HSB-14/DNA体系起始的 $I_1/I_3$ 值 高于HSB-12/DNA体系相应的数值,并且HSB-14/DNA 体系最终的  $I_1/I_3$  稳定值也比 HSB-12/DNA 体系的高。这说明 HSB-14 体系所处环境的微极性大于 HSB-12 体系所处环境的微极性。

# 3. 结论

- (1) HSB-12/DNA体系和 HSB-14/DNA体系的等电点 范围为6~9。
- (2) pH=5时,HSB-12/DNA体系和HSB-14/DNA体系的 Zeta 电位为正值,羟基磺基甜菜碱表面活性剂与 DNA 分子间静电相互作用增强,压缩 DNA 双螺旋结构,使得体系粒径更小,透过率更大。
- (3) NaBr浓度增加,离子型表面活性剂胶束的双电层结构被压缩,HSB-12/DNA体系和HSB-14/DNA体系的透过率增大,粒径减小。

#### 参考文献

- [1] 刘惠中. DNA参与阴/阳离子表面活性剂的聚集行为、聚集体结构与性能研究 [D]. 博士学位论文. 青岛:山东大学,2020
- [2] 王万霞. 偶联表面活性剂及其与 DNA 相互作用研究 [D]. 硕士学位论文. 上海: 华东理工大学, 2010
- [3] Mel' nikova S M, Sergeyev V G, Yoshikawa K. Discriete coil-globule transition of large DNA induced by cations surfantant [J]. Chemical. Society, 1995, 117(9): 2401–2408
- [4] Mel' nikova S M, Sergeyev V G, Yoshikawa K. Transition of double-stranded DNA chains between random coil and compact globule states induced by cooperative binding of cationic surfactant [J]. Chemical.Society., 1995, 117(40): 9951–9956
- [5] Zhu D. M., Evans R. K.. Molecular Mechanism and Thermodynamics Study of Plasmid DNA and Cationic Surfactants Interactions [J]. Langmuir, 2006, 22(2): 3735–3743
- [6] 邹明静,董懿萱,穆昀,等. 鲑鱼精 DNA-阳离子表面活性 剂体系的共振光散射光谱分析及应用 [J]. 当代化工,2023,52(4):771-774
- [7] 朱海林, 胡志勇, 王建龙, 曹端林. 系列羟基磺基甜菜碱表面活性剂的合成及胶束化行为研究. 日用化学工业, 2012, 42(6): 405-409
- [8] Xiaofang Zhao, Yazhuo Shang, Honglai Liu. Complexation of DNA with cationic gemini surfactant in aqueous solution [J]. J. Colloid Interface Science, 2007, 314: 478–483.
- [9] Wang Y L, Dubin P L, Zhang H W. Interaction of DNA with catinic micelles: effects of micelle surface charge density, micelle shape, and ionic strength on complexatuin and DNA collapse [J]. Langmuir, 2001, 17(5): 1670–1673.
- [10] R. Zana, M. In, H. Levy, G. Duportail. Alkanediyl-  $\alpha$ ,  $\omega$ -bis (dimethylalkylammonium bromide). 7. Fluorescence probing studies

# 中国日化科技

of micelle micropolarity and microviscosity[J]. Langmuir, 1997, 12: 5552-5557.

# Study on the Interaction Between the Hydroxy-sulfobetaine Surfactant and DNA

Wang Zi-han, Duan Ze-feng, Zhu Hai-lin\*, Zhang Ting-ting, Hu Zhi-yong, Sun Yong-qiang (School of Chemistry and Chemical Engineering, North University of China, Taiyuan, Shanxi 030051)

Abstract: The interaction between two hydroxy-sulfobetaine amphoteric surfactants (HSB-12, HSB-14) and DNA

was investigated through complementary analysis like conductivity measurement, ultraviolet spectroscopy, particle size analysis, Zeta potential, and fluorescence spectrophotometric method. The results showed that the isoelectric point of HSB-12/DNA system and HSB-14/DNA system is in the range of  $6\sim9$ . With the increase of NaBr concentration, the transmittance is increased, while the particle size and micropolarity are reduced. The surfactant/DNA system exhibits higher permeability and smaller particle size at pH=5

compared to the system at pH=5.

Keywords: Hydroxy-sulfobetaine Surfactant; DNA; isoelectric point; interaction

