

文章编号:2095-0411(2016)05-0028-06

新型光敏性表面活性剂对 BSA 的光控构象研究

刘文杰,杜 涛,王 亮,袁 华,左士祥,姚 超
(常州大学 石油化工学院,江苏 常州 213164)

摘要:合成出一种新型光敏性表面活性剂-偶氮苯-4-氧己基三甲基溴化铵(AZO-OHTAB),通过核磁共振谱及质谱分析表征其结构,通过电导率法、表面张力法以及紫外可见分光光谱法探讨其光敏性能,并对对比分析 365nm 紫外光与可见光下其结构及聚集状态的变化。研究表明,365nm 光照射可使 AZO-OHTAB 发生反式向顺式结构转变,并明显增加其临界胶束浓度(cmc)值。进一步探索其与牛血清白蛋白(BSA)的相互作用,研究表明,反式 AZO-OHTAB 与 BSA 相互作用明显强于顺式 AZO-OHTAB 与 BSA 的相互作用,通过冷冻蚀刻-透射电镜及流体力学半径的测定可以证明 365nm 紫外光对 AZO-OHTAB 与 BSA 的相互作用具有光控构象效应。

关键词:光敏表面活性剂;偶氮苯;牛血清白蛋白;光控

中图分类号:O 648.11

文献标志码:A

doi:10.3969/j.issn.2095-0411.2016.05.005

The Optically Controlled Conformational Studies of BSA with Novel Photosensitive Surfactants

LIU Wenjie, DU Tao, WANG Liang, YUAN Hua, ZUO Shixiang, YAO Chao
(School of Petrochemical Engineering, Changzhou University, Changzhou 213164, China)

Abstract: The novel photosensitive surfactant-azobenzene-4-oxohexyl trimethyl ammonium bromide (AZO-OHTAB) was synthesized. The product was characterized by ^1H NMR, LC-MS, conductivity, surface tension and UV visible spectrophotometry, and then compared the change of structure and aggregation state in UV light at 365nm and visible light. The results showed that the structure of AZO-OHTAB changed from trans to cis structure and the critical micella concentration (cmc) values significantly increased at the 365nm light irradiation. The interaction mechanism between AZO-OHTAB with bovine serum albumin (BSA) was investigated by freeze etching-TEM and the measurement of hydrodynamic radius. Results showed that the interaction between the trans AZO-OHTAB with BSA was stronger than the cis AZO-OHTAB with BSA, and the UV light at 365nm could control the conformational change in the interaction of BSA and AZO-OHTAB.

Key words: photosensitive surfactant; azobenzene; bovine serum albumin; optically controlled

表面活性剂是构筑功能性软物质和介观聚集体的一类重要两亲分子。当把光敏基团引入表面活性剂分子结构中时,由于光敏基团可响应光刺激的独

特性,光敏表面活性剂的性质和聚集行为也会受到光的影响,因此,可以利用光刺激去调控表面活性剂的理化性质,这种方法简单易操作,不用加入其

收稿日期:2016-03-30。

基金项目:江苏省自然科学基金资助项目(BK20130247)。

作者简介:刘文杰(1980—),男,江苏兴化人,博士,讲师,主要从事胶体与界面化学研究。通讯联系人:姚超(1969—),
E-mail:yaochao420@163.com

他组份即可实现,常被用来调节物质的各种性能,因此成为调控软物质性能的重要手段,光响应表面活性剂体系也成为人们感兴趣的课题^[1-3]。

近年来,蛋白质-表面活性剂相互作用的领域越来越受到重视^[4],因为在生产实践和科学研究中,常出现表面活性剂和蛋白质相互作用的问题。Ghosh等^[5]研究了胃蛋白酶与阳离子表面活性剂的相互作用研究,发现在pH在5.0和8.0的时候两者之间相互作用力主要体现为疏水作用力,当pH增大至10时,主要体现为静电作用力。Borysik等^[6]通过分子模拟计算研究了表面活性剂与蛋白质的相互作用。而Kang等^[7]研究了一种新型离子液体表面活性剂与BSA的相互作用。本课题组近年来系统研究了CTAB、SDS、DTAB以及非离子表面活性剂Triton X-100等与牛血清白蛋白及血红蛋白的相互作用机理^[8-10]。但迄今为止,有关蛋白质-表面活性剂相互作用研究的深度和广度都远远不能令人满意。而新型光敏性表面活性剂作为一种光调控开关表面活性剂,其与蛋白质的相互作用研究也正引起人们的关注。

有关偶氮苯表面活性剂体系与牛血清白蛋白(Bovine Serum Albumin,BSA)的相互作用及光控BSA构象变化的研究仍相对较少。因此,本文合成出一种新型光敏性表面活性剂-偶氮苯-4-氧己基三甲基溴化铵(AZO-OHTAB),并研究其光控结构变化及与BSA的相互作用,探讨光照条件下AZO-OHTAB对BSA构象的调控模式,为蛋白质光开关调控的设计提供新型途径。

1 实验部分

1.1 实验试剂

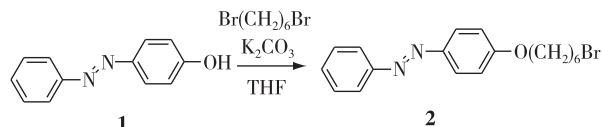
牛血清白蛋白(BR,国药集团化学试剂有限公司);1,6-二溴己烷(>97%,国药集团化学试剂有限公司),四氢呋喃、碳酸钾等试剂(AR,国药集团化学试剂有限公司);水为二次蒸馏水。

1.2 实验方法

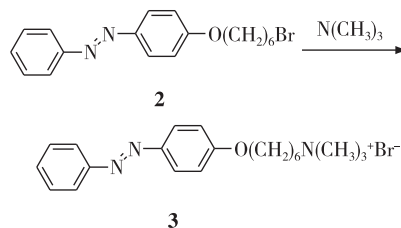
1.2.1 偶氮苯-4-氧己基三甲基溴化铵的合成

化合物1与1,6-二溴己烷(6倍当量)溶于干燥的四氢呋喃中,加入6倍当量碳酸钾,回流24h,TLC检测,反应完全。旋蒸去掉四氢呋喃后,用二氯甲烷萃取,取上层有机层,用饱和食盐水洗两遍后旋干得到粗产物。用柱层析(V(石油醚):V(乙酸乙

酯)=10:1)得到化合物2,为红褐色固体。



化合物2溶于四氢呋喃中,通过管子通入3倍当量的三甲胺气体,室温搅拌48h后,过滤得到化合物3,为黄色固体。



1.2.2 核磁共振波谱的测定

在 $25.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$ 下,以重水溶解AZO-OHTAB,TMS为内标,测定其 ^1H NMR(Bruker AC 500)。

1.2.3 质谱测定

液相色谱-质谱联用仪(LTQ型,美国Thermo Fisher),配备电喷雾电离源(ESD,实验采用正离子采集模式,采集质量范围 m/z 为50~2000, N_2 为雾化气和辅助气,He为碰撞气;以 $\text{CH}_3\text{OH}-\text{H}_2\text{O}$ (体积比为1:1)为流动相,流速 $300\mu\text{L}/\text{min}$)。

1.2.4 电导率的测定

①在 $25.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$ 下,分别测定365nm紫外光照射30min以及未照射前AZO-OHTAB/ H_2O 体系的电导率;②在 $25.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$ 下,分别测定BSA($3.0 \times 10^{-6}\text{mol}/\text{L}$)加入前后不同AZO-OHTAB/ H_2O 体系的电导率(电导率仪,DDS-11A,上海雷磁新泾仪器有限公司)。

1.2.5 表面张力的测定

①在 $25.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$ 下,利用吊环法分别测定365nm紫外光照射30min以及未照射前AZO-OHTAB/ H_2O 体系的表面张力;②在 $25.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$ 下,分别测定BSA($3.0 \times 10^{-6}\text{mol}/\text{L}$)加入前后不同AZO-OHTAB/ H_2O 体系的表面张力(表面张力仪,K100,上海精科仪器设备有限公司)。

1.2.6 紫外-可见吸收光谱的测定

①以水作参比,室温下于 $1\text{cm} \times 1\text{cm}$ (长 \times 宽)石英比色皿中分别测定365nm紫外光照射30min以及未照射前AZO-OHTAB/ H_2O 体系的紫外-可见吸收光谱;②以水做参比,室温下于 $1\text{cm} \times 1\text{cm}$ (长 \times 宽)石英比色皿中测定BSA紫外-可见吸收光谱,以一定浓度的AZO-OHTAB溶液做参比,测定

同浓度 AZO-OHTAB 溶液中 BSA 的紫外-可见吸收光谱。将上述溶液经 365nm 紫外光照后,用同样的方法测定 BSA 的紫外-可见吸收光谱(UV-3600 型分光光度计,日本 Shimadzu 公司)。

1.2.7 冷冻蚀刻-透射电子显微镜的测定

将恒温保存的不同体系中 BSA 样品滴入样品杯并迅速投入液氮中冷冻固定。在液氮环境下,将样品杯放入样品座上,然后送入冷冻蚀刻仪真空腔中,冷冻条件为 -120°C , $3.0 \times 10^{-5} \text{ Pa}$ 。以 45° 角向样品断裂面喷镀铂,然后以垂直方向喷镀碳层。取出样品,放入乙醇中,待复型漂下后,用铜网将复型捞起,晾干,在透射电子显微镜下观测并拍照(TEC-NAI 12 Philip Apparatus Co., USA)。

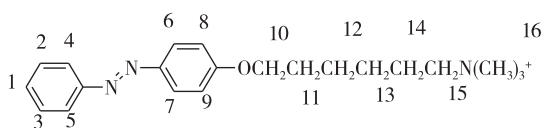
1.2.8 流体力学半径的测定

以静/动态光散射仪(ALV/DLS/SLS-5022,德国 ALV 公司)测定本实验体系中 AZO-OHTAB 与 BSA 聚集体的粒径分布。该静/动态光散射仪配备有圆柱形的 He-Ne 激光光源(1145p-3803 型),同时连接有 ALV SP-86 数字相关器,测试中散射角为 90° ,输出功率为 22mW,波长为 632.8nm;累加时间为 240~300s,重复扫描 2 次以上。所有样品均经过 $0.45 \mu\text{mol/L}$ 或 $0.80 \mu\text{mol/L}$ 的 Milliporesterile 薄膜过滤到经丙酮内外除尘的 DLS 样品池中,然后在实验温度下恒温至平衡。

2 结果与讨论

2.1 AZO-OHTAB 的合成及表征

合成所得偶氮苯-4-氧己基三甲基溴化铵(AZO-OHTAB),其结构式如下:



经 ^1H NMR 检测, δ 7.79 处的一组双重峰为苯环上 4,5 两个氢的吸收峰, J 为 10Hz; δ 7.73 处的一组双重峰为苯环上 6,7 两个氢的吸收峰, J 为 10Hz; δ 7.54~7.49 处的多重峰为苯环上 1,2,3 位置 3 个氢的吸收峰; δ 7.08~7.06 处的双重峰为苯环上 8,9 两个氢的吸收峰, J 为 10Hz。脂肪链上, δ 4.12 处的三重峰为与 O 相邻的 CH_2 的氢的吸收峰,其 J 为 5Hz; δ 3.33 处的三重峰为与 N 相邻的 CH_2 的氢的吸收峰,其 J 为 5Hz; δ 3.05 处的单峰

为与 N 相邻的 3 个 CH_3 的氢的吸收峰; δ 1.92~1.80 的多重峰为脂肪链上 11,12,13,14 处 8 个氢的吸收峰。此外,液质 LCMS (ESI^+) 检测发现 $m/z=340$ 为化合物正离子的质谱峰。综上所述,该化合物结构正确,为本实验目标产物 AZO-OHTAB。

图 1 为不同光照条件下 AZO-OHTAB/ H_2O 体系的紫外-可见吸收光谱。由图 1 可知,在可见光条件下,体系在 356nm 处出现明显的吸收,被归结为 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁^[11]。而当体系经 365nm 紫外汞灯照射 30min 后,其 356nm 处的吸收峰消失,而在 330nm 及 445nm 处出现新的吸收峰,表明光照施加给体系能量后,偶氮苯发生异构化,由反式结构转变为顺式结构,此时发生 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁,对应 445nm 的吸收峰^[12-13]。可以看出,在可见光下, AZO-OHTAB 主要表现为反式构型,而在 365nm 紫外光照 30min 后, AZO-OHTAB 可由反式构型转变为顺式构型。

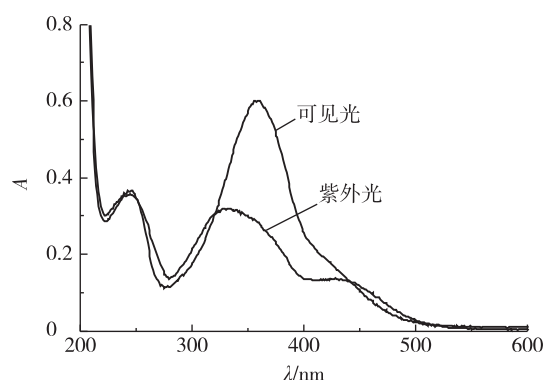


图 1 不同光照射下 AZO-OHTAB/ H_2O 体系的紫外-可见吸收光谱

Fig.1 UV-Vis spectra of AZO-OHTAB in water with UV or Vis irradiation

图 2 所示为不同光照条件下 AZO-OHTAB/ H_2O 体系电导率(κ)与 AZO-OHTAB 浓度(C)的关系。由图 2 可见,随着 AZO-OHTAB 浓度的增加,体系电导率整体呈上升趋势,首先增长较快后增长较慢。仔细分析可见,在可见光体系下,曲线拐点处 AZO-OHTAB 浓度约为 1.0 mmol/L ,而当体系经过 365nm 紫外光照射 30min 后,拐点处 AZO-OHTAB 浓度约为 1.21 mmol/L 。由于该拐点可揭示表面活性剂的临界胶束浓度(cmc)^[14],因此,图 2 表明 365nm 紫外光照使得 AZO-OHTAB 的 cmc 增大,由于光照可使得 AZO-OHTAB 由反式结构转变为顺式结构,说明 AZO-OHTAB 顺式构型的

cmc 大于反式构型。这主要是由于顺式结构的极性远大于反式结构^[15-16],故降低了表面活性剂的疏水性,因此 AZO-OHTAB 的 cmc 增大。

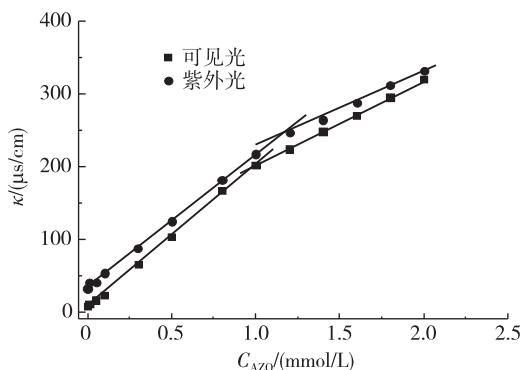


图2 不同光照射下 AZO-OHTAB/H₂O 体系电导率与浓度的关系

Fig.2 Electric conductivity of AZO-OHTAB/H₂O systems with the concentration of AZO-OHTAB in UV or Vis irradiation

图3所示为不同光照条件下 AZO-OHTAB/H₂O 体系表面张力(γ)与 AZO-OHTAB 浓度(C)的关系。由图可知,随着 AZO-OHTAB 浓度的增加,表面张力首先快速降低后基本不变,两条曲线都出现明显拐点,可见光体系下,拐点处 AZO-OHTAB 浓度约为 0.8mmol/L,而当体系经过 365nm 紫外光照射 30min 后,拐点处 AZO-OHTAB 浓度约为 1.0 mmol/L,由于该拐点对应 AZO-OHTAB 的 cmc^[17],与图2讨论相同,表明紫外光照使得 AZO-OHTAB 的 cmc 增大,即紫外光照使得 AZO-OHTAB 由反式构型转变为顺式构

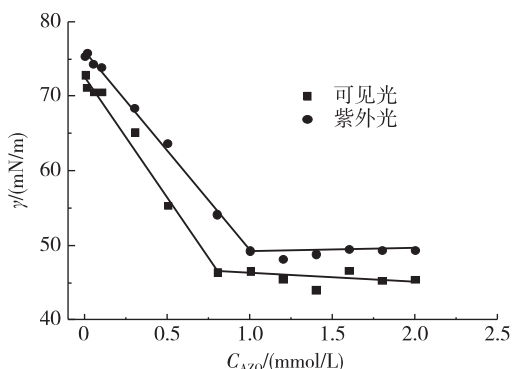


图3 不同光照射下 AZO-OHTAB/H₂O 体系表面张力与浓度的关系

Fig.3 Surface tension of AZO-OHTAB/H₂O systems with the concentration of AZO-OHTAB in UV or Vis irradiation

型。同时比较图2和图3可见,两种方法测定所得 AZO-OHTAB 的 cmc 值略有不同,这主要是由于表面活性剂的特性所决定,不同的测定方法均依据表面活性剂溶液的物理化学性质的突变,然而不同性质随浓度变化的机理有所不同,故随浓度变化的改变率也不同^[18]。

2.2 AZO-OHTAB 与 BSA 的相互作用

图4所示为不同体系中 BSA 的紫外-可见吸收光谱。曲线(a),(b),(c)分别为 BSA 水溶液,BSA/顺式 AZO-OHTAB 水溶液以及 BSA/反式 AZO-OHTAB 水溶液的紫外-可见吸收光谱。由图中曲线(a)可以看出,在水溶液体系中,BSA 在 278nm 处有明显吸收,这与文献^[19]报道的 BSA 的特征吸收峰一致。曲线(b)为顺式 AZO-OHTAB 水溶液中 BSA 的紫外-可见吸收光谱,可以看出,此时 BSA 的吸收波长为 275nm,相对于曲线(a)发生了蓝移,且吸收峰的强度略有变小,由于 BSA 的紫外光谱的特征吸收峰主要是由其肽链上的色氨酸残基(Trp)引起,Trp 是高度疏水的非极性基团^[20],此吸收峰位置的变化可以反映出 Trp 所处微环境的改变,AZO-OHTAB 的加入使得 Trp 的疏水性减弱,这说明 AZO-OHTAB 与 BSA 之间存在相互作用,且主要表现为疏水作用,该作用使得 Trp 所处疏水环境发生改变,极性增加,从而使得 BSA 的吸收峰位置发生蓝移。进一步比较曲线(c),不难发现,反式 AZO-OHTAB 水溶液中 BSA 的吸收峰变为 270nm,且强度更弱,这说明反式 AZO-OHTAB 与 BSA 的相互作用要强于顺式 AZO-OHTAB 与 BSA 的相互作用,进一步扰乱 Trp 所处疏水微环境。

图5为不同结构表面活性剂水溶液中 BSA 的

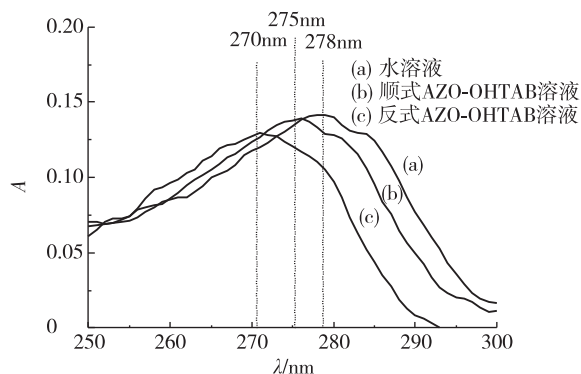


图4 不同体系 BSA 的紫外-可见吸收光谱

Fig.4 UV-Vis spectra of BSA in different systems

冷冻蚀刻-透射电镜照片,图中(a),(b),(c)分别为 BSA 水溶液,BSA/顺式 AZO-OHTAB 水溶液以及

BSA/反式 AZO-OHTAB 水溶液的冷冻蚀刻-透射电镜照片。

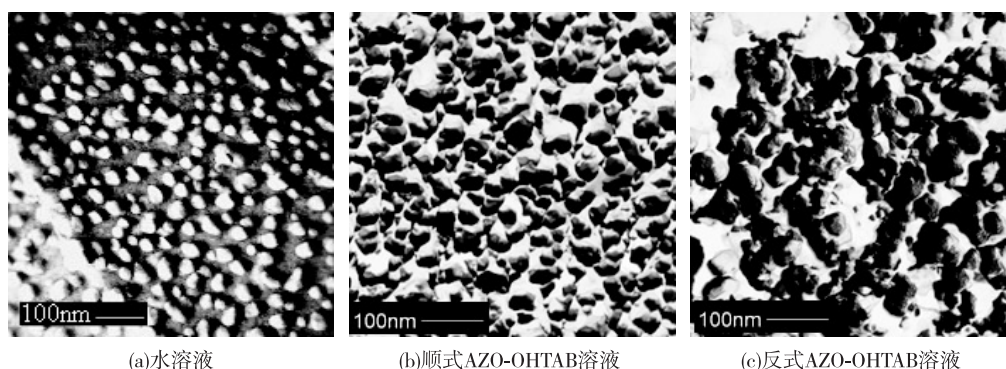


图 5 不同体系中 BSA 的冷冻蚀刻-透射电镜照片

Fig.5 Freeze-fractured images of BSA in different systems

由图 5(a)可见,BSA 在水溶液主要表现为球形,文献报道,BSA 蛋白分子大小约为 5~6nm,而照片中球状结构明显大于该尺寸,这可能也是由于 BSA 在水溶液中发生自聚集而形成^[21]。图 5(b)为顺式 AZO-OHTAB 水溶液中 BSA 的 TEM 照片,由于表面活性剂分子质量相对蛋白分子而言较小,且本实验中表面活性剂浓度未超过 cmc,故 TEM 图中未出现表面活性剂的分子有序组合体,所以图中球状结构应该为 BSA 的蛋白分子聚集体,由图可见,相比较图 5(a),BSA 分子结构发生的一定的松散,表明 BSA 球状结构被影响而有部分展开。进一步比较图 5(c),可以发现,图 5(a)中 BSA 分子结构更为松散,表明 BSA 球状结构展开更为明显。说明 AZO-OHTAB 的加入使得 BSA 发生肽链翻转而结构松散,同时,反式 AZO-OHTAB 与 BSA 的相互作用要强于顺式 AZO-OHTAB 与 BSA 的相互作用,使得 BSA 肽链展开更甚。这与前面紫外可见吸收光谱(图 4)的研究结论是相似的。

图 6 为不同体系中聚集体的粒径分布示意图,图中曲线(a),(b),(c)分别为 BSA 水溶液,BSA/顺式 AZO-OHTAB 水溶液以及 BSA/反式 AZO-OHTAB 水溶液的粒径分布情况。由曲线(a)可见,水溶液体系中,BSA 的粒径分布主要集中在 5nm 左右,这与文献报道是相对应的^[21],其中也存在少量的 30nm 左右的聚集体,说明 BSA 在水溶液中也是有部分聚集体存在。曲线(b)为顺式 AZO-OHTAB 水溶液中聚集体的粒径分布,由图可见,30nm 处的峰高明显增加,说明相对 BSA 水溶液而言,BSA/顺式 AZO-OHTAB 聚集体的数量相对增加,而且峰略有红移,表明聚集体大小也是增加的,

进一步比较曲线(c),可以发现,原 30nm 处的吸收峰明显红移,且峰高也明显增加,同样可以说明 BSA/反式 AZO-OHTAB 体系中聚集体的大小及数量也是增加的,且可以看出,反式 AZO-OHTAB 体系中 BSA 与表面活性剂的相互作用应该要强于顺式 AZO-OHTAB 体系中的相互作用。

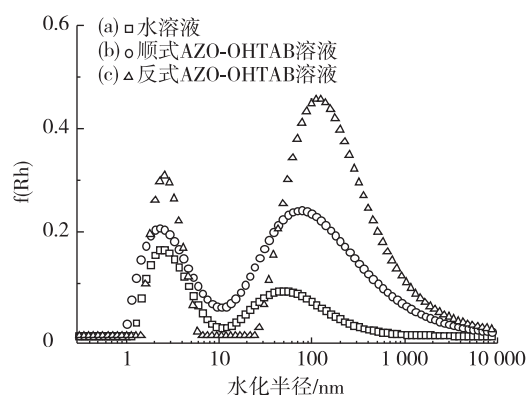


图 6 不同体系的光散射测定体系中聚集体粒径分布

Fig.6 Particle size distribution of aggregates in the light scattering measurement of different systems

3 结 论

1)成功合成出偶氮苯-4-氧己基三甲基溴化铵(AZO-OHTAB),利用¹H NMR 及质谱对其进行表征,确定其为目标产物。

2)通过紫外可见分光光度法研究,发现在 365nm 紫外光和可见光照射下,其最大吸收峰位置分别在 356nm 和 445nm,验证了它具有良好的光控结构变化特性。相比较处于可见光下的反式构型,AZO-OHTAB 的 cmc 在光照转变为顺式构型后明

显增大。

3) AZO-OHTAB与BSA之间存在相互作用,这种作用力主要表现为疏水作用力,AZO-OHTAB可能插入到BSA的疏水空腔,使得BSA的肽链结构部分展开,由于反式构型的AZO-OHTAB分子具有更强的疏水性,故其与BSA的相互作用要强于顺式构型的AZO-OHTAB分子。

参考文献:

- [1] ANTOINE D, MIHO Y, YAN-JUN L, et al. UV-induced bursting of cell-sized multicomponent lipid vesicles in a photosensitive surfactant solution[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2012, 134(10): 4898-4904.
- [2] 龙坚,田森林,何珊珊,等. 光敏可逆表面活性剂4-丁基偶氮苯-4'-(乙氧基)三甲基溴化铵的合成及其光化学行为[J]. *精细化工*, 2013, 30(10): 1108-1111.
- [3] 宋冰蕾,赵剑曦. 光敏季铵盐 Gemini 表面活性剂 a4-6-m 在气/液界面的吸附[J]. *物理化学学报*, 2009, 25(10): 2020-2025.
- [4] 曹洪玉,张莹莹,唐乾,等. 不同类型表面活性剂与蛋白质作用研究进展[J]. *大连大学学报*, 2014, 35(6): 62-68.
- [5] SUBHAJIT G, SUBHRAJYOTI D, TRILOCHAN P, et al. Solution behavior and interaction of pepsin with carnitine based cationic surfactant; fluorescence, circular dichroism, and calorimetric studies [J]. *Journal of Physical Chemistry B*, 2015, 119(39): 12632-12643.
- [6] BORYSIK A J. Structure and dynamics of a protein-surfactant assembly studied by ion-mobility mass spectrometry and molecular dynamics simulations[J]. *Analytical Chemistry*, 2015, 87(17): 8970-8976.
- [7] GURBIR S, TEJWANT SINGH K. Ionic liquid surfactant mediated structural transitions and self-assembly of bovine serum albumin in aqueous media; effect of functionalization of ionic liquid surfactants[J]. *Journal of Physical Chemistry B*, 2015, 119(33): 10573-10585.
- [8] WENJIE L, XIA G, RONG G. The interaction of hemoglobin with hexadecyltrimethylammonium bromide[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2005, 37(5): 232-238.
- [9] WENJIE L, XIA G, RONG G. The interaction between hemoglobin and two surfactants with different charges [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2007, 41(5): 548-557.
- [10] WENJIE L, RONG G. The Photostabilization of hemoglobin in triton X-100 aqueous solution and triton X-100/*n*-C₅H₁₁OH/H₂O microemulsion[J]. *Photochemistry & Photobiology*, 2010, 86(4): 835-843.
- [11] YUTAKA T, KENGO F, TATSUYA H, et al. Photo-induced demulsification of emulsions using a photoreponsive gemini surfactant[J]. *Langmuir*, 2014, 30(1): 41-47.
- [12] LIUDMILA L, NINO L, DIETER N E. Light-tunable plasmonic nanoarchitectures using gold nanoparticle-azo-benzene-containing cationic surfactant complexes [J]. *Journal of Physical Chemistry C*, 2015, 119: 3762-3770.
- [13] ANNE-LAURE M L N, TED C. LEE J. Photoreversible DNA condensation using light-responsive surfactants [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2006, 128: 6400-6408.
- [14] 王俊,宋程,李翠勤,等. 树枝状大分子与表面活性剂相互作用的研究进展[J]. *化学通报*, 2016, 79(2): 99-105.
- [15] SHUHUA P, QIPENG G, HUGHES T C, et al. Reversible photorheological lyotropic liquid crystals [J]. *Langmuir*, 2014, 30(3): 866-872.
- [16] 王广,赫奕,李香辉,等. 具有光活性含偶氮苯基团的新型表面活性剂的合成和性质[J]. *东北师大学报(自然科学版)*, 2007, 39(1): 63-66.
- [17] 苑再武,苑敬,吕鑫,等. 多糖类大分子与表面活性剂相互作用的研究进展[J]. *物理化学学报*, 2013, 29(3): 449-459.
- [18] 赵国玺,朱玮瑶. 表面活性剂作用原理[M]. 北京:中国轻工业出版社, 2003: 246.
- [19] 张静,陈薇晓,张唯,等. 荧光各向异性结合同步荧光法研究1-羟基萘与牛血清白蛋白的相互作用[J]. *高等学校化学学报*, 2015, 36(8): 1511-1516.
- [20] 魏晓芳,丁西明,刘会洲. pH 诱导牛血清白蛋白芳香氨基酸残基微环境变化的光谱分析[J]. *光谱学与光谱分析*, 2000, 20(4): 556-559.
- [21] 宁爱民,孟磊,赵仲麟,等. 牛血清白蛋白与十二烷基硫酸钠作用的机理[J]. *物理化学学报*, 2013, 29(12): 2639-2646.

(责任编辑:殷丽莉)