

一种基于 DPA 识别基团的可视化检测锌离子的荧光增强型探针

王维娜^{*,1} 郑元梅¹ 陈雪梅²

(¹ 湖北理工学院高等职业技术学院, 黄石 435003)

(² 湖北理工学院化学与材料工程学院, 黄石 435003)

摘要: 以 *N,N*-二(2-吡啶甲基)胺(DPA)为识别基团, 设计合成了一种用于检测 Zn^{2+} 的荧光增强型探针 WN, 在 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}/\text{Tris-HCl}$ (1:9, *V/V*, pH=7.4) 缓冲溶液中研究了它对 Zn^{2+} 的识别特性。实验结果表明, WN 对 Zn^{2+} 有较高的选择性和灵敏度, 它们之间的结合比为 1:1, 对 Zn^{2+} 的检出限为 $1.14 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。WN 能够快速可视化检测 Zn^{2+} , 在 HeLa 活细胞中对 Zn^{2+} 的荧光显微成像表明 WN 可应用于生物体的检测。

关键词: DPA; 锌离子; 荧光探针; 可视化检测; 荧光成像

中图分类号: O614.24¹ 文献标识码: A 文章编号: 1001-4861(2014)04-0872-07

DOI: 10.11862/CJIC.2014.159

A Fluorescence Enhancement Probe for Visual Detection of Zn^{2+} with Receptor Based on DPA

WANG Wei-Na^{*,1} ZHENG Yuan-Mei¹ CHEN Xue-Mei²

(¹ Higher Vocational Technical School, Hubei Polytechnic University, Huangshi, Hubei 435003, China)

(² School of Chemical and Materials Engineering, Hubei Polytechnic University, Huangshi, Hubei 435003, China)

Abstract: A fluorescence enhancement probe WN for detection of Zn^{2+} with receptor based on di-2-picolyamine (DPA) was synthesized and structurally characterized. Its recognition properties with Zn^{2+} had been investigated in $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}/\text{Tris-HCl}$ buffer solution (1:9, *V/V*, pH=7.4). The results showed that WN exhibited good sensitivity and selectivity to Zn^{2+} , and the stoichiometry of WN- Zn^{2+} complex was estimated to be 1:1, the detection limit of Zn^{2+} was estimated to be $1.14 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. WN was used for fast visual detection of Zn^{2+} and its intracellular Zn^{2+} imaging in living HeLa cells, indicated that it could be applied in biological detection. CCDC: 960510.

Key words: DPA; zinc ion; fluorescent probe; visual detection; fluorescent imaging

锌在元素周期表中位于 II B 族, 在人体中的含量仅次于铁, 是一种重要的人体必需的微量元素(日需量约 10~15 mg), 具有非常重要的生物学功能。 Zn^{2+} 是体内许多酶和转录因子(如碳酸酐酶、锌指蛋白等)的核心组成成分, 它直接参与体内细胞的生长发育、生殖、组织修复、基因转录、金属酶催化、神经传递、信号转导和免疫功能等生命代谢过程^[1-3]。人体内缺少了 Zn^{2+} 会导致免疫系统受损、免疫功能缺

陷等一系列疾病的产生, 此外, 它还与阿尔茨海默病 (AD)、癫痫症和缺血性中风等疾病有着密切关系^[4-6]。 Zn^{2+} 具有稳定的 d^{10} 电子构型, 常用的紫外光谱、圆二色谱、核磁共振、电子顺磁共振、循环伏安法等分析方法均不适用于测定 Zn^{2+} ^[7]。因此, 发展高效检测 Zn^{2+} 的方法, 一直都是化学家、生物学家和医学家所高度关注的研究领域之一。近年来, 快速、便捷地检测 Zn^{2+} 的荧光分子探针已经引起广泛关注,

收稿日期: 2013-10-13。收修改稿日期: 2013-12-09。

国家自然科学基金资助项目(No.51173060)。

*通讯联系人。E-mail: wnwang2013@163.com

但开发这类能在细胞、组织和活体中对 Zn^{2+} 进行定量分析和可视化成像的探针仍然是一大挑战^[8-11]。二(2-吡啶甲基)胺(DPA)是一种含氮的三齿配体,作为识别基团已经在 Zn^{2+} 荧光传感器的设计中得到了广泛应用^[12]。基于苯并噁唑类化合物的强烈荧光和较高荧光量子产率等光物理性能,本文以苯并噁唑作为荧光团,通过酰胺键将 DPA 组合在一起,设计合成了一种可用于检测 Zn^{2+} 的荧光探针 *N*-(2-(苯并[d]恶唑-2-基)苯基)-2-(二(吡啶-2-甲基)氨基)乙酰胺(WN)。该探针分子对 Zn^{2+} 有较好的选择性和灵敏度,能可视化检测 Zn^{2+} ,并在 HeLa 活细胞中实现了 Zn^{2+} 的成像。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

实验所用试剂均为市售分析纯。所用仪器为 X-5 显微熔点测定仪(温度计未经校正),Perkin-Elmer 2400 型元素分析仪,Applied Biosystems API 2000 LC/MS/MS 电喷雾质谱仪,Varian Mercury 400 MHz 核磁共振仪,Bruker AXS SMART 2000 CCD 单晶衍射仪,Fluoromax-P 荧光光谱仪,Leica DMI 3000B 倒置荧光显微镜,PHS-3C 型精密 pH 计。

1.2 探针 WN 的合成

中间体 1 和 2 参照文献的方法制备^[13-14],其合成路线见插图 1。将 0.29 g(1 mmol)中间体 1、0.20 g(1 mmol)中间体 2、0.14 g(1 mmol)碳酸钾和 0.05 g 催化量的碘化钾一起加入到 100 mL 烧瓶中,然后再加入 60 mL 乙腈,回流反应 24 h。过滤,所得滤液旋转蒸发,粗产品用硅胶柱分离(展开剂:乙酸乙酯/二氯甲烷,5:1,V/V)可得浅黄色的晶状粉末。产率 72%。m.p. 122.5~123.5 °C;¹H NMR(400 MHz,CDCl₃), δ : 8.94(d, J =7.6 Hz, 2H), 7.86~8.50(m, 5H), 7.02~7.72(m, 10H), 4.08(s, 4H), 3.50(s, 2H); ESI-MS: m/z 449(M^+); Anal. Calcd. for C₂₇H₂₃N₅O₂: C, 72.14; H, 5.16; N, 15.58。

Found: C, 72.28; H, 5.32; N, 15.46.

1.3 晶体的测定

选取大小为 0.20 mm×0.10 mm×0.10 mm 的浅黄色方块状化合物 WN 置于 Bruker Smart-2000 CCD 型单晶衍射仪上,采用石墨单色化的 Mo $K\alpha$ 射线(λ =0.071 073 nm),于 296(2) K,以 $\omega/2\theta$ 方式扫描,在 $1.56^\circ < \theta < 26.00^\circ$ 范围内共收集到衍射点 8 787 个,其中独立衍射点 4 489(R_{int} =0.025 2), $I > 2\sigma(I)$ 的可观测的衍射点 3 636 个, $-11 \leq h \leq 11$, $-11 \leq k \leq 11$, $-15 \leq l \leq 16$ 。全部衍射数据经 Lp 因子和经验吸收校正。晶体结构由直接法用 SHELXS-97 程序解出,部分非氢原子坐标是在以后的数轮差值 Fourier 合成中陆续确定的。对全部非氢原子的坐标及各向异性参数用 SHELXL-97 程序,以全矩阵最小二乘法基于 F^2 进行精修^[15-16]。表 1 给出标题配合物的晶体学数据,键长和键角数据见表 2,氢键数据见表 3。

CCDC:960510。

1.4 荧光光谱测量方法

配制 1 mmol·L⁻¹ 的 WN 乙醇储备液和 20 mmol·L⁻¹ Tris-HCl 缓冲液 (pH=7.4),各种金属离子(K⁺、Ca²⁺、Na⁺、Mg²⁺、Mn²⁺、Fe²⁺、Fe³⁺、Co²⁺、Ni²⁺、Cu²⁺、Zn²⁺、Cd²⁺、Pb²⁺、Hg²⁺) 储备液的浓度配制成 1 mmol·L⁻¹。测试荧光光谱时,用移液枪取 10 μ L WN 乙醇储备液,加入含有 1 mL Tris-HCl 缓冲体系(pH=7.4, $V_{\text{H}_2\text{O}}:V_{\text{EtOH}}$ =9:1)的荧光比色皿中,混合均匀后,使得测试溶液中 WN 浓度为 10 μ mol·L⁻¹,然后测定探针的荧光光谱数据。测试所用的激发波长为 355 nm,狭缝宽度为 5.0 nm/5.0 nm。

1.5 活细胞荧光成像

将培养好的 HeLa 细胞首先用磷酸缓冲溶液清洗 3 次,然后在 Tris-HCl 缓冲体系中加入 5 μ mol·L⁻¹ WN 溶液(pH=7.4, $V_{\text{H}_2\text{O}}:V_{\text{EtOH}}$ =9:1),在 37 °C 恒温孵育 30 min,再用磷酸缓冲溶液洗 3 次,将其放在倒置荧光显微镜下,观察细胞的荧光成像。再向上述

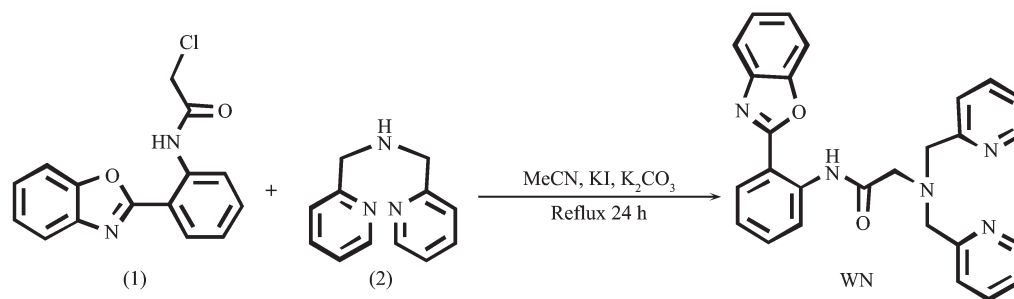


插图 1 荧光探针 WN 的合成路线

Scheme 1 Synthetic route of fluorescent probe WN

表 1 WN 的晶体学数据和精修参数

Table 1 Crystal data and structure refinements of WN

Formula	C ₂₇ H ₂₃ N ₅ O ₂	$\gamma / (^{\circ})$	99.476(3)
Formula weight	449.50	V / nm^3	1.150 0(4)
Temperature / K	296(2)	Z	2
Crystal size / mm	0.20×0.10×0.10	$D_c / (\text{g} \cdot \text{cm}^{-3})$	1.298
Crystal system	Triclinic	$F(000)$	472
Space group	$P\bar{1}$	Reflections collected / unique	8 787 / 4 489
a / nm	0.940 01(18)	R_{int}	0.025 2
b / nm	0.949 83(18)	Data / restraints / parameters	4 489 / 0 / 308
c / nm	1.311 4(3)	Final R indices ($I > 2\sigma(I)$)	$R_1=0.052\ 1$, $wR_2=0.159\ 4$
$\alpha / (^{\circ})$	92.085(3)	R indices(all data)	$R_1=0.063\ 3$, $wR_2=0.185\ 4$
$\beta / (^{\circ})$	94.402(3)	GOF on F^2	1.055

表 2 WN 的部分键长和键角数据

Table 2 Selected bond lengths (nm) and bond angles ($^{\circ}$) of WN

C(1)-N(1)	0.140 0(3)	C(3)-C(4)	0.135 9(4)	C(7)-N(2)	0.129 0(2)
C(7)-O(3)	0.137 2(2)	C(8)-N(2)	0.139 6(2)	C(8)-C(9)	0.139 7(3)
C(10)-C(11)	0.137 4(4)	C(13)-O(3)	0.137 6(2)	C(14)-O(1)	0.121 6(3)
C(14)-N(1)	0.135 6(2)	C(15)-N(3)	0.147 1(3)	C(16)-N(3)	0.146 4(3)
C(17)-N(4)	0.133 3(3)	C(21)-N(4)	0.133 5(3)	C(22)-N(3)	0.147 8(3)
C(23)-N(5)	0.134 3(3)	C(27)-N(5)	0.132 8(5)	C(24)-C(25)	0.137 8(4)
O(1)-C(14)-N(1)	125.7(2)	O(1)-C(14)-C(15)	119.3(2)	N(4)-C(21)-C(20)	124.5(2)
N(5)-C(23)-C(24)	122.8(3)	N(5)-C(23)-C(22)	115.4(2)	C(27)-C(26)-C(25)	119.0(3)
N(5)-C(27)-C(26)	124.2(3)	C(27)-N(5)-C(23)	116.7(3)		

表 3 WN 的氢键键长和键角

Table 3 Hydrogen bond lengths and bond angles of WN

D-H...A	$d(\text{D-H}) / \text{nm}$	$d(\text{H...A}) / \text{nm}$	$d(\text{D...A}) / \text{nm}$	$\angle(\text{DHA}) / (^{\circ})$
N(1)-H(1)···N(2)	0.086	0.205	0.275 8(2)	139
N(1)-H(1)···N(3)	0.086	0.232	0.275 7(3)	112
C(1)-H(2)···O(1)	0.093	0.225	0.286 3(3)	123
C(5)-H(5)···O(3)	0.093	0.238	0.274 6(2)	103
C(20)-H(20)···O(1)#1	0.093	0.251	0.337 2(3)	155
C(24)-H(24)···N(2)	0.093	0.254	0.346 7(3)	172

Symmetry codes: #1: $1+x, y, z$.

含 WN 的细胞培养液中加入 ZnCl_2 溶液 ($40\ \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), $37\ ^{\circ}\text{C}$ 恒温孵育 30 min, 用磷酸缓冲溶液清洗 3 次, 观察细胞的荧光成像。相对于细胞内的 WN 荧光强度, 对细胞的明亮视野也进行了成像, 放大倍数为 400 倍。

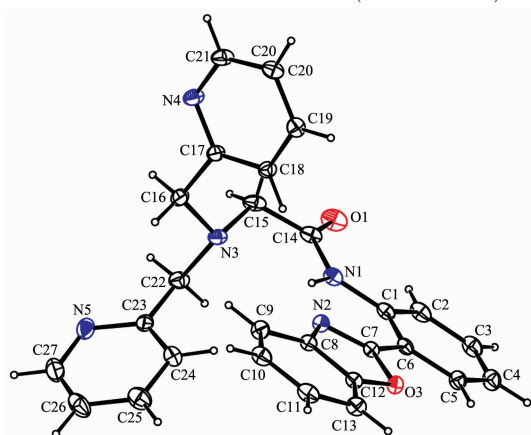
2 结果与讨论

2.1 探针 WN 的晶体结构

在碱性条件下, 通过伯卤代烃与仲胺的亲核取

代反应制得了荧光探针 WN(插图 1), 将其在二氯甲烷中溶解, 室温静置 2 天后可得到适合 X-射线单晶测试的淡黄色晶体。在荧光探针 WN 的晶体结构中(图 1), 苯并噁唑环和与之相连的苯环之间的夹角为 2.44° , 这构成了它的荧光部分。识别部分 DPA 的 2 个吡啶环质心之间的距离为 6.479 nm, 它们之间的二面角为 61.56° 。这 2 个吡啶环处于苯并噁唑环平面的上方和下方, 它们与苯并噁唑环质心的距离分别为 5.967 nm 和 5.539 nm。苯并噁唑环和吡啶环中

的 C-N 键长在 1.290~1.396 nm, 它们明显短于与 DPA 烷氨氮相连的 3 个 C-N 键长[C(22)-N(3), C(15)-N(3), C(16)-N(3)]的平均距离 1.471 nm(表 2)。2 个扭转角 C(14)-C(15)-N(3)-C(22)和 C(14)-C(15)-N(3)-C(16)的大小分别为 -82.23° , 155.98° , 这使得 DPA 的 2 个吡啶环以 V 构型向空间伸展。此外, 探针 WN 分子间通过 N-H $\cdots$ N, C-H $\cdots$ O 和 C-H $\cdots$ N 三种氢键使得整个分子形成了三维网络结构(图 2 和表 3)。



Ellipsoids are at the probability level of 30%

图 1 荧光探针 WN 的晶体结构

Fig.1 Crystal structure of fluorescent probe WN

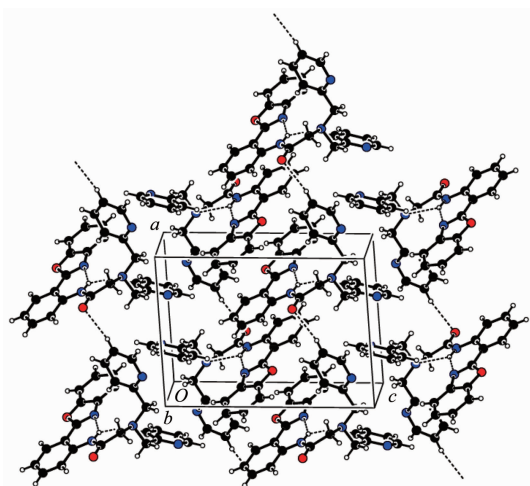


图 2 WN 的晶胞堆积图

Fig.2 Packing of WN in unit cell

2.2 Zn²⁺识别研究

在乙醇溶液中, 探针 WN 的最大激发波长(λ_{ex})为 355 nm, 最大发射波长(λ_{em})为 445 nm。我们首先考察了在 WN 的乙醇溶液中加入不同金属离子后的荧光光谱变化。经过优化测量条件, 选择 CH₃CH₂OH/Tris-HCl(1:9, V/V, pH=7.4) 缓冲体系进行识别实验。在 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 WN 溶液中, 分别加入

各种金属离子 (K^+ , Ca^{2+} , Na^+ , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Hg^{2+}), 实验发现, 在加入金属离子之前 WN 的荧光很弱, 在加入金属离子之后 Co^{2+} 和 Cu^{2+} 能在一定程度上淬灭 WN 的荧光, Zn^{2+} 却使它的荧光显著增强, 而其它各种金属离子对它的荧光几乎没有什么影响, 这说明 WN 对 Zn^{2+} 表现出较好的选择性识别(图 3)。为了进一步研究该荧光探针的选择性能, 我们进行了干扰测定实验, 检测结果如图 4 所示。当 Zn^{2+} 的浓度为 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 加入 10 倍量的各种干扰离子后, 大多数金属离子的存在几乎没有改变 WN 对 Zn^{2+} 的高选择性, 即 Zn^{2+} 仍然能导致 WN 类似的荧光变化, 但两种顺磁性的

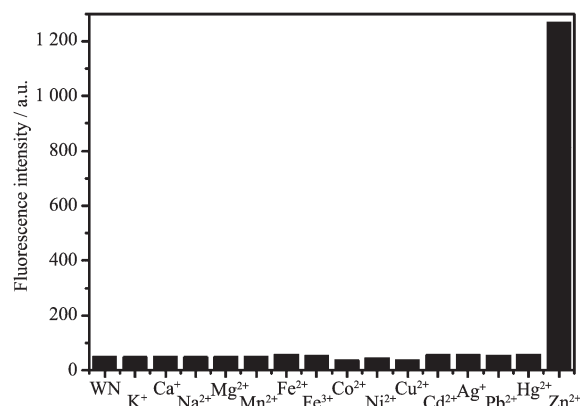


图 3 在 CH₃CH₂OH/Tris-HCl(1:9, V/V, pH=7.4) 缓冲溶液中, WN(10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 对不同的金属离子 (10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 的荧光响应

Fig.3 Fluorescent response of WN (10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) to different metal ions (10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) in CH₃CH₂OH/Tris-HCl buffer (1:9, V/V, pH=7.4)

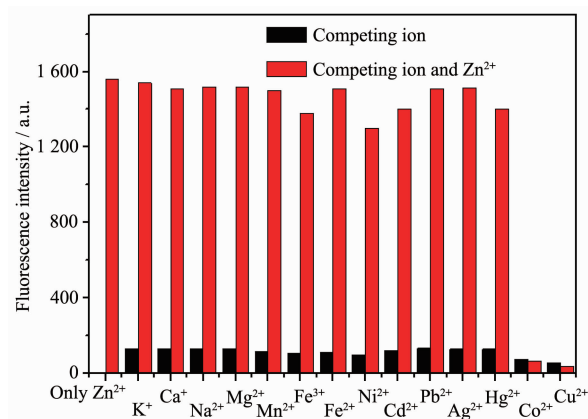
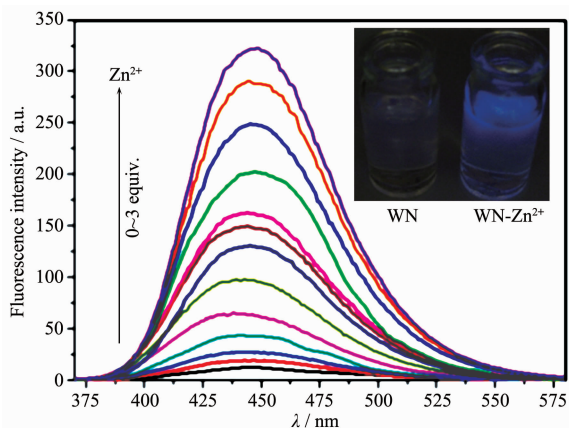


图 4 在各种金属离子(100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 的存在下 Zn^{2+} 对 WN(10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 荧光的影响

Fig.4 Effect of Zn^{2+} on WN (10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) in the presence of different metal ions (100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)

金属离子 Co^{2+} 和 Cu^{2+} 会猝灭 WN 的荧光, 这种现象在其它的金属离子传感器中也很常见^[17-18]。因此, WN 对 Zn^{2+} 有良好的选择性和较强的抗干扰能力。

探针 WN 对 Zn^{2+} 响应灵敏。荧光滴定实验结果显示, WN 的浓度为 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 随着 Zn^{2+} 的浓度逐渐增加, WN 的荧光强度逐渐增强 (图 5)。当 Zn^{2+} 浓度增大到 $30 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, WN 的荧光强度不再发生明显变化, 此时探针的荧光强度大约增强了 25 倍, 这表明溶液中的 WN 与 Zn^{2+} 之间的络合达到了平衡状态。在波长为 365 nm 的紫外灯照射下, 向 WN ($10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 中加入等量的 Zn^{2+} 后, 发现溶液的颜色由极其微弱的浅蓝色变成亮蓝色, 这种明显的颜色和荧光强度变化, 表明 WN 对 Zn^{2+} 有良好的识别作用, 能可视化检测 Zn^{2+} (图 5 插图)。



Inset: WN ($10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) in the absence and presence of Zn^{2+} under UV light (365 nm)

图 5 WN ($10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 随着 Zn^{2+} 浓度增加 ($0\sim 30 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 荧光强度的变化

Fig.5 Emission intensity of WN ($10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) changes with increasing concentrations of Zn^{2+} ($0\sim 30 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)

在实验中还发现, Zn^{2+} 在 $0.1\sim 1.8 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度范围内, WN 的荧光强度的增强与 Zn^{2+} 浓度呈现良好的线性关系 (线性相关系数: $R^2=0.993\ 64$), 如图 6 所示。这表明化合物 WN 可以用来定量检测 Zn^{2+} 浓度。根据文献的计算方法^[19], WN 对 Zn^{2+} 的检出限为 $1.14\times 10^{-8} \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。此外, 探针 WN 对 Zn^{2+} 的响应时间比较短 (图 7)。将 WN 与 Zn^{2+} 相互作用后, 在 λ_{em} 为 445 nm 处产生荧光响应信号并迅速达到最大值, 继续延长反应时间荧光强度基本不变。因此, WN 可以作为一种快速检测痕量 Zn^{2+} 的较高灵敏度荧光增强型探针。

我们还考察了 pH 值对探针 WN 识别 Zn^{2+} 的影

响。由图 8 可知, 在未加 Zn^{2+} 前, WN 在 $\text{pH}=2\sim 14$ 的范围内无明显荧光响应。当入 Zn^{2+} 后, WN 在 $\text{pH}=6\sim$

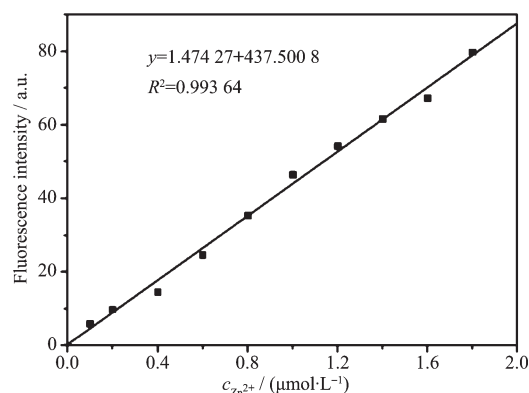


图 6 WN 的荧光强度随 Zn^{2+} 浓度 ($0.1\sim 1.8 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 变化的线性关系图

Fig.6 Fluorescence intensity of WN as a function of concentration of Zn^{2+} ($0.1\sim 1.8 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)

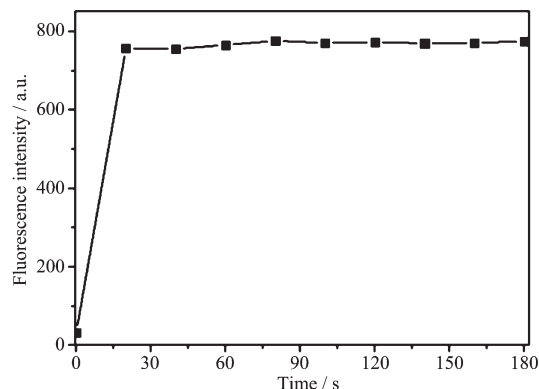


图 7 探针 WN ($10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 在加入 3 倍量的 Zn^{2+} 后的荧光响应与时间的关系

Fig.7 Response of fluorescence intensity of probe WN ($10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) in the presence of 3.0 equiv. of Zn^{2+} as a function of time

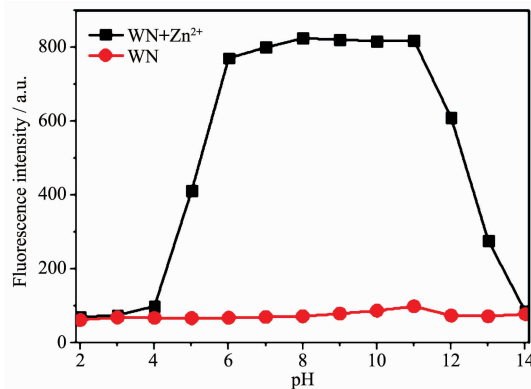


图 8 在 Zn^{2+} ($10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 存在或不存在的条件下, 不同 pH 值对 WN ($10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 荧光的影响

Fig.8 Effect of different pH values on WN ($10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) in the absence and presence of Zn^{2+} ($10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)

11 范围内产生强而稳定的荧光响应信号, 这表明 WN 可以在较宽的 pH 范围内对 Zn^{2+} 进行检测。

2.3 探针 WN 对 Zn^{2+} 的配位研究

我们通过等物质的量连续变化(Job's Plot)法, 研究了探针 WN 与 Zn^{2+} 的配比。测试时, 将 WN 和 Zn^{2+} 的总浓度一直保持为 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 使反应液中 Zn^{2+} 的物质的量分数在 0.1~0.9 之间变化, 然后

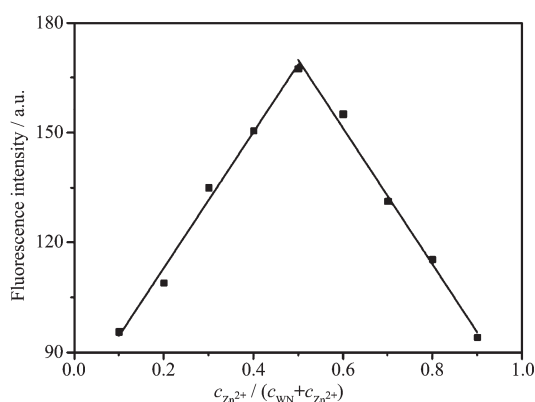


图9 WN 与 Zn^{2+} 配位的 Job's plot 图

Fig.9 Job's plot of coordination between WN and Zn^{2+} ($c_{\text{WN}} + c_{\text{Zn}^{2+}} = 10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)

测试反应体系的荧光强度在 λ_{em} 为 445 nm 处的荧光强度变化。如图 9 所示, 当 Zn^{2+} 的物质的量分数为 0.5 时, WN 与 Zn^{2+} 形成配合物的荧光响应强度最高, 表明 WN 与 Zn^{2+} 的配位比例为 1:1。

WN 与 Zn^{2+} 配位后荧光增强可能有三个方面的因素^[14,20]。首先, Zn^{2+} 配位后, WN 的螯合部分 DPA 中胺氮原子的孤对电子与荧光基团之间的光诱导电子转移(PET)过程被阻断; 其次, Zn^{2+} 与 WN 配位后, 所形成的配合物刚性会增强; 再次, WN 的酰胺氧原子与 Zn^{2+} 配位后, 会使其 $n\pi^*$ 轨道能级升高, $\pi\pi^*$ 轨道成为最低激发态轨道, 从而使原来 $n\pi^*$ 轨道上的非辐射跃迁消失, 这 3 种因素最终导致 WN 与 Zn^{2+} 配位后荧光显著增强。根据上述分析和荧光实验的结果, 并参考文献^[21-22], 我们推测 WN 与 Zn^{2+} 配位的机理如插图 2 所示。

2.4 探针 WN 在细胞中对 Zn^{2+} 的成像

将 $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 探针 WN 的乙醇溶液加入到培养好的 HeLa 细胞中, 在培养基中于 37°C 培养 30 min, 然后用倒置荧光显微镜观察细胞成像情况。如图 10(a) 所示, 在 HeLa 活细胞中并无荧光信号产

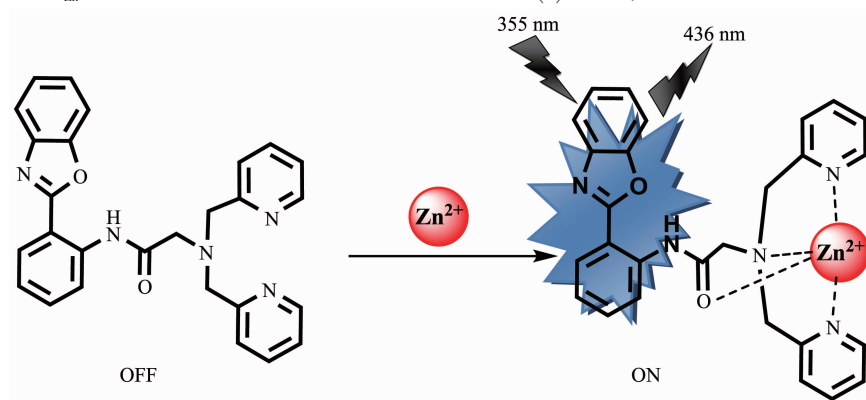
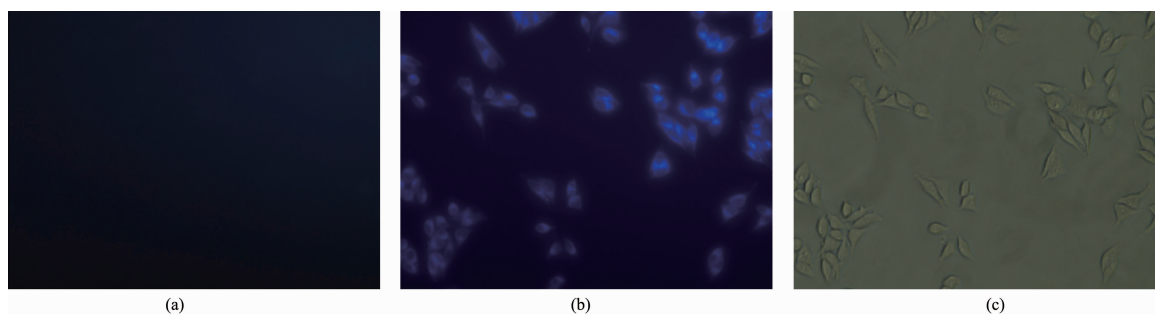


插图2 荧光探针 WN 与 Zn^{2+} 的可能配位机理

Scheme 2 Proposed mechanism of WN complexing with Zn^{2+}



(a) HeLa cells incubated with $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ WN for 30 min at 37°C ; (b) HeLa cells after treatment with $40 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Zn^{2+} for 30 min; (c) Bright-field images of HeLa cells

图10 WN 在 HeLa 细胞中的荧光成像图

Fig.10 Fluorescence images of HeLa cells treated with WN

生。再向上述含 WN 的细胞培养液中加入 Zn^{2+} ($40 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 并在 37°C 的条件下孵化 30 min, 可观察到 HeLa 活细胞呈现出明亮的蓝色荧光, 且细胞形态完好(图 10(b))。亮场图像图 10(c) 与图 10(b) 具有良好的重合度, 这表明探针 WN 具有良好的细胞渗透性和低毒性, 可以用于生物样品中 Zn^{2+} 的检测。

3 结 论

本文设计合成了一种荧光增强型的探针 WN, 在 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}/\text{Tris-HCl}$ (1:9, V/V, pH=7.4) 缓冲体系中, 它能快速地识别 Zn^{2+} , 而且具有较高的选择性和灵敏度, 可以实现对 Zn^{2+} 的可视化检测。此外, WN 在 HeLa 活细胞中实现了对 Zn^{2+} 的成像, 这对于检测环境中生物体内的 Zn^{2+} 将具有潜在的应用价值。

参考文献:

- [1] Xu Z, Yoon J, Spring D R. *Chem. Soc. Rev.*, **2010**, **39**:1996-2006
- [2] Frederickson C J, Koh J Y, Bush A I. *Nat. Rev. Neurosci.*, **2005**, **6**:449-462
- [3] Vallee B L, Falchuk K H. *Phys. Rev.*, **1993**, **73**:79-118
- [4] JIA Jia(贾佳), TANG Xian(唐茜), HE Ying-Fang(何颖芳), et al. *Chin. J. Org. Chem.*(有机化学), **2012**, **32**:1803-1811
- [5] Bush A I, Pettingell W H, Multhaup G, et al. *Science*, **1994**, **265**:1464-1467
- [6] Frederickson C J, Hernandez M D, McGinty J F. *Brain Res.*, **1989**, **480**:317-321
- [7] Yuan L, Lin W, Zheng, K, et al. *Chem. Soc. Rev.*, **2013**, **42**:622-661
- [8] Liu Z, He W, Guo Z. *Chem. Soc. Rev.*, **2013**, **42**:1568-1600
- [9] Du J, Hu M, Fan J, et al. *Chem. Soc. Rev.*, **2012**, **41**:4511-4535
- [10] Vendrell M, Zhai D, Er J C, et al. *Chem. Rev.*, **2012**, **112**:4391-4420
- [11] Xue L, Li G, Zhu D, et al. *Inorg. Chem.*, **2012**, **51**:10842-10849
- [12] DING Yu-Bin(丁煜宾), ZHU Wei-Hong(朱为宏), XIE Yong-Shu(解永树). *Prog. Chem.*(化学进展), **2011**, **23**:2478-2488
- [13] Chomitz W A, Minasian S G, Sutton A D, et al. *Inorg. Chem.*, **2007**, **46**:7199-7209
- [14] Chen M, Lü X, Liu Y, et al. *Org. Biomol. Chem.*, **2011**, **9**:2345-2349
- [15] Sheldrick G M. *SHELXS-97, Program for the Solution of Crystal Structures*, University of Göttingen, Germany, **1997**.
- [16] Sheldrick G M. *SHELXL-97, Program for the Refinement of Crystal Structures*, University of Göttingen, Germany, **1997**.
- [17] LIU Min(刘敏), TAN Hui-Long(谭慧龙), LIU, Zhi-Guo(刘治国), et al. *Chin. J. Org. Chem.*(有机化学), **2013**, **33**:1655-1667
- [18] TANG You-Yun(唐友云), LUO Chun-Hua(罗春花), WU Chao-Yang(吴朝阳), et al. *Acta Chim. Sinica*(化学学报), **2007**, **65**:1229-1233
- [19] Shortreed M, Kopelman R, Kuhn M, et al. *Anal. Chem.*, **1996**, **68**:1414-1418
- [20] Zhang H, Han L, Zacharias K A, et al. *Org. Lett.*, **2005**, **7**:4217-4220
- [21] Xu Z, Liu X, Pan J, et al. *Chem. Commun.*, **2012**, **48**:4764-4766
- [22] Xu Z, Baek K, Kim H N, et al. *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, **132**:601-610