

文章编号: 1005-5630(2025)06-0054-06

DOI: 10.3969/j.issn.1005-5630.202402150021

振动强耦合对白蛋白光谱特性和功能性质的影响

储亚豪, 张峰

(上海理工大学 光电信息与计算机工程学院, 上海 200093)

摘要: 用振动强耦合(vibrational strong coupling, VSC)调节结构性质的方法逐渐被大众所熟知。置于光学谐振腔内的分子系统受到能量影响可能会发生性质改变。牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)是一种常用的蛋白质,当性质发生改变时,它的变化效果尤为明显。当用谐振腔将其调节至与水分子共振耦合的状态时,溶液状态下的BSA性质会改变。调节水分子与腔模式之间的耦合强度时,白蛋白自身的结合效果会随着耦合强度的改变发生相应改变。利用3种不同的表征方法,发现BSA的光谱性质发生了显著变化。该研究首次证实,通过VSC技术可实现蛋白质功能性质的物理调控,为生物医药领域开发新型蛋白调控策略提供了重要思路。

关键词: F-P 微腔; 振动强耦合; 荧光检测

中图分类号: O 431 **文献标志码:** A

The impact of vibrational strong coupling on the spectral characteristics and functional properties of albumin

CHU Yahao, ZHANG Feng

(School of Optical-Electrical and Computer Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China)

Abstract: The method of regulating the structural properties through vibrational strong coupling (VSC) is gradually becoming known to the public. The molecular system placed in an optical resonator may undergo changes in properties due to energy impact. Bovine serum albumin (BSA) is a commonly used protein, and its effects on different changes are particularly pronounced. When using a resonant cavity to adjust to a state resonantly coupled with water molecules, it affects the properties of BSA albumin in solution. By tuning the coupling strength between water molecules and cavity modes, it is observed that the binding effect of albumin itself changes correspondingly with the coupling strength. Furthermore, by employing three different characterization methods, significant changes in its spectral properties are discovered. This study is the first to confirm that the physical regulation of protein functional properties can be achieved through VSC technology,

收稿日期: 2024-02-15

第一作者: 储亚豪(1999—), 男, 硕士研究生, 研究方向为量子光学。E-mail: 53130178@qq.com

通信作者: 张峰(1978—), 男, 教授, 研究方向为量子光学。E-mail: fzhang@usst.edu.cn

providing important insights for developing novel protein modulation strategies in the field of biomedicine.

Keywords: F-P microcavity; vibrational strong coupling; fluorescence detection

近年来, 人们致力于寻找一种全新的改变分子材料化学性质的方法。振动强耦合^[1-3](vibrational strong coupling, VSC)的方法逐渐被大众所熟知。分子材料置于法布里-珀罗(Fabry-Pérot, F-P)光学谐振腔(F-P 微腔)内, 会产生一种全新的光物质形态, 其能级结构发生分裂, 形成 2 个新的能级, 即所谓的极性态 P^+ 和 P^- 。它们可以用来增强各种现象, 并且会在 $0.1 \sim 1.0$ eV 形成拉比分裂^[4], 如图 1 所示。这种方法可以使所需要的特定官能团与键位产生振动, 从而可应用于生命活动研究等方面。需要注意的是, 这种强耦合的作用在黑暗环境中也能发生。

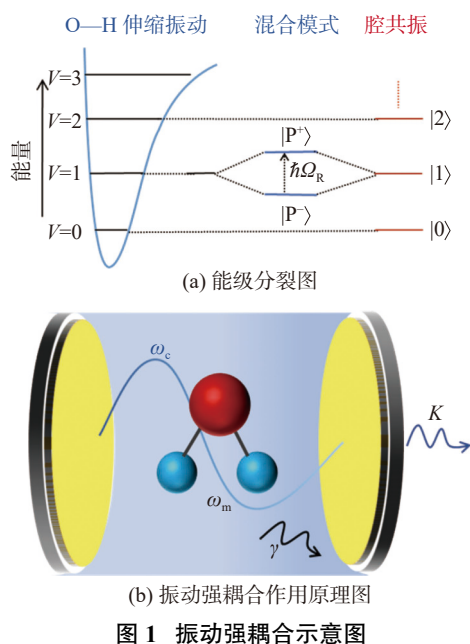


图 1 振动强耦合示意图

牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA), 是牛血清中的一种球蛋白, 在体内具有转运功能, 可与血液中的药物结合, 并将其转运到器官, 它是生物体内重要的蛋白质之一。相较于其他蛋白分子, 白蛋白的性质极不稳定, 外部环境中的微小变化都会对其产生影响^[5-7]。Cherkasova 等^[8]发现特定波段的太赫兹光以及一些化学物质都能改变 BSA 的构象。Vergauwe 等^[9]证明了聚-

L-谷氨酸(poly-L-glutamic acid, PLGA)和 BSA 在后者的天然折叠被大量保留的条件下的振动强耦合效应。而强耦合机制要求裸分子跃迁和腔模的线宽都小于真空拉比分裂。他们估算了 BSA 的真空拉比分裂约为 67.1 cm^{-1} , 分裂能量大于裸跃迁或腔模线宽。Gu 等^[3]也证明了具有 O—H 伸缩振动的 VSC 可以影响 58% 的重组酶聚合酶扩增法的反应效率。基于研究者对蛋白质等大分子的研究以及其 VSC 的效果, 选择 BSA 作为本次振动强耦合实验的材料。

采用 F-P 光学腔进行研究, 将高浓度的 BSA 溶液注入微腔内, 反应一段时间, 以探究振动强耦合对蛋白质分子性质的影响规律。采用紫外可见近红外分光光度计、圆二色光谱仪以及酶标仪等作为检测工具, 探究 BSA 的构象变化。结果显示, 振动强耦合有望用于蛋白质结构及功能特性的研究, 并为它们在各种生化过程中的动态研究提供新的方法。

1 材料和方法

1.1 F-P 微腔的制作

实验中, 制作 F-P 微腔采用了启东生物有限公司定制的 CaF_2 窗片, 用离子溅射仪在其表面溅射 10 mm 厚的金膜, 之后通过旋涂仪(固定转速为 3 000 r/min)将特定厚度的聚甲基丙烯酸甲酯(polymethyl methacrylate, PMMA)涂敷在金膜上, 如图 2(a)所示。PMMA 溶液的配制是将 42 g PMMA 颗粒溶于 644 mL 甲苯溶液中。旋涂完成后, 将该 CaF_2 窗片转移至烘箱, $120 \text{ }^\circ\text{C}$ 烘烤 3 h。最后, 通过不同大小的聚酯薄膜隔片来调整整个 F-P 微腔大小。在红外光谱仪上, 以正入射拍摄红外透射光谱, 如图 2(b)所示。F-P 微腔是用上述组件和 2 个相隔一定距离的平行反射镜制备的, 该距离的计算式为

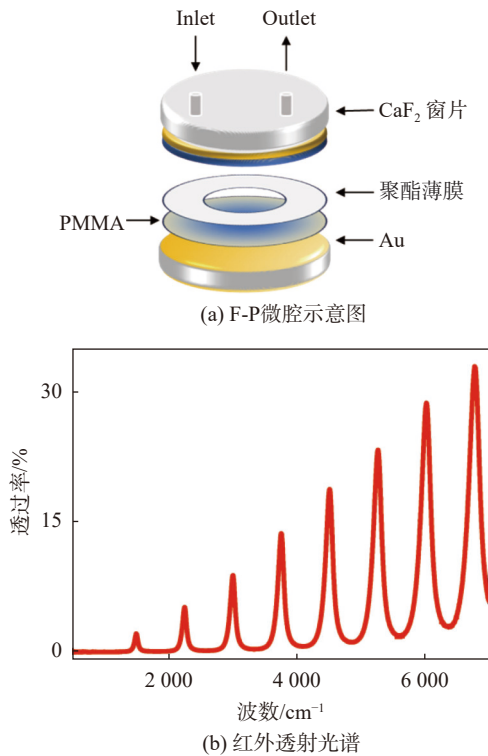


图 2 F-P 微腔及红外透射光谱
Fig. 2 Fabrication of F-P microcavity and infrared transmission spectrum

$$L = \frac{10^4 * m}{2 * n * \nu} \quad (1)$$

$$L_1 = \frac{10^4}{2 * n * F} \quad (2)$$

式中： L 为微腔的腔距； m 为腔模式（1，2，3…）； n 为微腔内介质的折射率； ν 为波数； F 为自由光谱范围，即相邻两个峰值之间的平均距离； L_1 为当 $m=1$ 时，F-P微腔中2个反射镜之间的实际距离，它是振动强耦合的最佳条件^[10]。在本实验中，主要选择的腔模式为6。

1.2 紫外检测

所用紫外可见近红外分光光度计由美国安捷伦公司生产，型号为CARY 5000。配制400 mg/mL的BSA水溶液，震荡摇匀，使充分溶解。向2个腔距为8.8 μm的F-P微腔中注入纯水，于紫外光谱仪中检测，标定基线。然后，取出F-P微腔内纯水，注入BSA溶液，每隔10 min检测一次紫外光吸收情况，并加以记录，将所测结果减去基线，得到相应结果。

1.3 原二色光谱检测

使用的圆二色光谱（circular dichroism spectroscopy, CD）仪型号为Chirascan Plus（英国）。配制100 mg/mL的BSA水溶液，置入F-P微腔中，静置45 min后，将微腔中液体用注射器全部抽出。将取出的溶液进行离心震荡，随后加水稀释至0.07 mg/mL，在圆二色光谱仪中，先用纯水检测背景，之后加入样品，分别检测相同浓度下腔内腔外的圆二色光谱变化。

1.4 荧光检测

所用酶标仪由美国伯腾仪器有限公司生产，型号为Synergy。将BSA粉末溶于0.1 mol/L的tris-HCl缓冲液（pH 8.0）中，配制成质量浓度为100 mg/mL的溶液。将该溶液加入微腔，静置45 min后，用注射器将液体全部取出。离心震荡后，取1 μL加水稀释至0.1 mg/mL。将孕酮粉末溶于无水乙醇（质量分数为98%），配制成浓度为1 000 μmol/L的溶液。先将0.1 mg/mL的BSA溶液的荧光强度记为 F_0 ，之后加入孕酮，搅匀震荡，再次测得的荧光强度记为 F_1 。记录不同腔距时 F_1/F_0 的强度变化。

2 结果和讨论

首先，通过对超纯水进行强耦合处理，相较于正常的红外吸收光谱可发现振动强耦合条件下的水在傅里叶红外光谱中有2个特别的吸收峰，即以3 401 cm⁻¹为中心的O—H伸缩吸收带和1 665 cm⁻¹处的弯曲模式吸收带^[11]，如图3(a)所示。当光子以不同的入射角照射F-P光学谐振腔时，拉比分裂会发生变化^[12]。从图3(b)可以观察到F-P微腔的拉比分裂能的变化，所测得的729 cm⁻¹处最小真空拉比分裂远大于O—H伸缩以及弯曲振动吸收带。这表明，BSA具有实现强光-物质相互作用的能力。由于入射角与极化激子态之间存在相关性，因此保持正入射对于维持VSC同样至关重要。理论上，振动耦合强度取决于拉比频率。拉比频率是物质跃迁与谐振腔模之间能量交换的频率。白蛋白溶液中，水主要起溶剂作用，因此改变溶剂分子的性质，可能会对溶液的光谱性质以及白蛋白的结合能力产生影

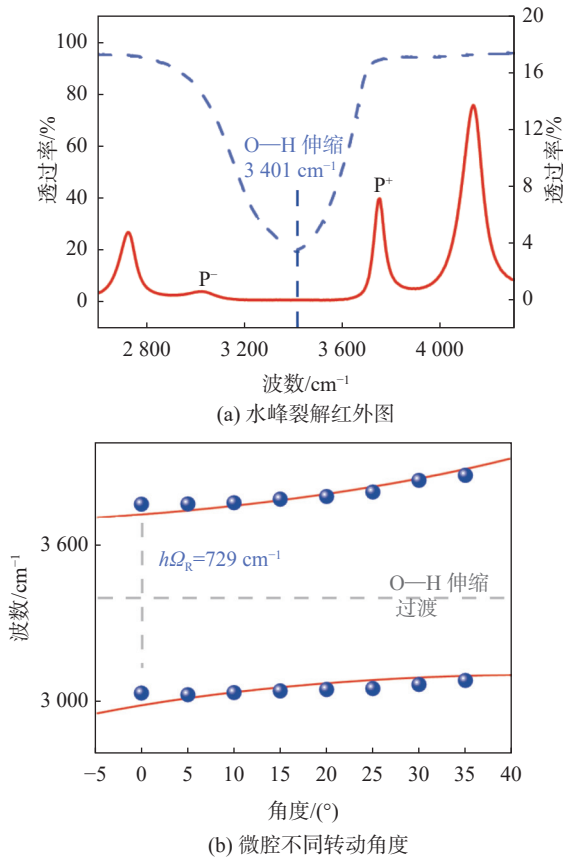


图 3 振动强耦合实现验证

Fig. 3 Validation of resonant strong coupling

响, 从而能够证明所制作的 F-P 腔能够产生与 BSA 溶液的强耦合效应。

首先, 配置高浓度的 BSA 溶液, 利用紫外可见近红外分光光度计检测 BSA 溶液的动力学变化。采用原位检测法, 先在微腔内注入溶剂测得基线, 再将 BSA 溶液注入 F-P 微腔内, 根据不同的时间, 分别记录紫外吸收的动力学变化。在本实验中, 所使用的紫外可见近红外分光光度计具有支架配件, 可适配所使用的 F-P 微腔液体池, 每隔 10 min 进行一次紫外检测, 便于观察 VSC 对白蛋白紫外吸收值的影响随着时间的变化。结果发现, BSA 溶液在 F-P 微腔的作用下, 在 210~250 nm 波段发生了蓝移, 如图 4(a) 所示。蛋白质吸收谱的主要贡献者是色氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸的氨基酸残基, 这些基团一部分位于分子内部的疏水环境中, 而另一部分则位于分子表面。色氨酸的 2 个氨基酸残基在 BSA 分子中具有不同的位置, 振动强耦合的水合作用会改变水分子的能级状态, 进而可能会改变发色团

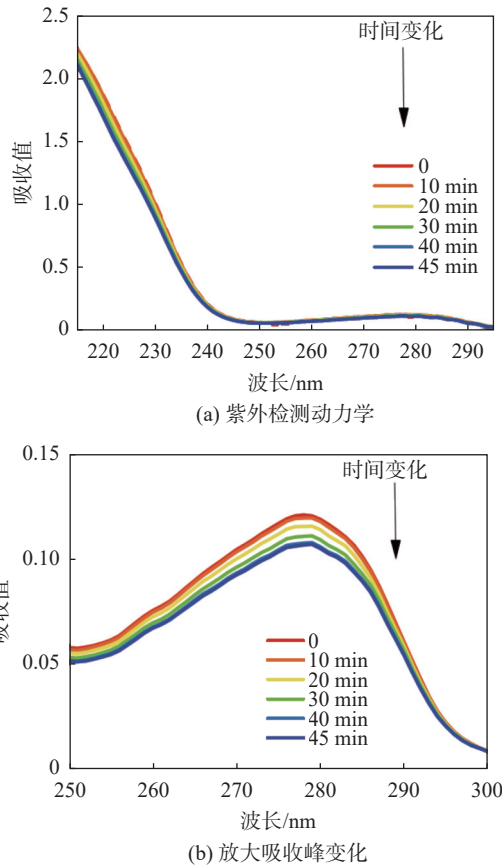


图 4 BSA 的紫外检测图谱

Fig. 4 Ultraviolet detection spectrum of BSA

的微环境, 影响 BSA 溶液的吸收特性。结果显示, BSA 在 280 nm 处的吸收峰的位置产生了明显变化, 如图 4(b) 所示。

BSA 主要由 α -螺旋结构和卷曲区域组成, 形成酰胺 I 带。为了进一步证明 VSC 对 BSA 的结构构象能够产生影响, 采用标准蛋白多肽进行检测。将经过振动强耦合后的 BSA 溶液与正常环境下的 BSA 溶液进行圆二色图谱分析。需要注意的是, 为减小误差, 要保证两者的质量浓度相同, 图谱分析结果见图 5(a)。经过 VSC 反应后的 BSA 溶液的 CD 光谱正负区域的振幅都有所下降。其中, α 折叠以及不规则卷曲在 VSC 的作用下发生了小幅度的降低, 然而 β 结构则升高了, 使 BSA 的二级结构发生了变化。牛血清白蛋白 CD 光谱的变化主要是由谐振腔的水合作用所导致的 BSA 分子结构中 α 螺旋以及卷曲部分数量的变化引起的, 结果见图 5(b)。强耦合技术可用于研究蛋白质和酶的二级、三级或四级结构调控, 可能为揭示其结构稳定性与功

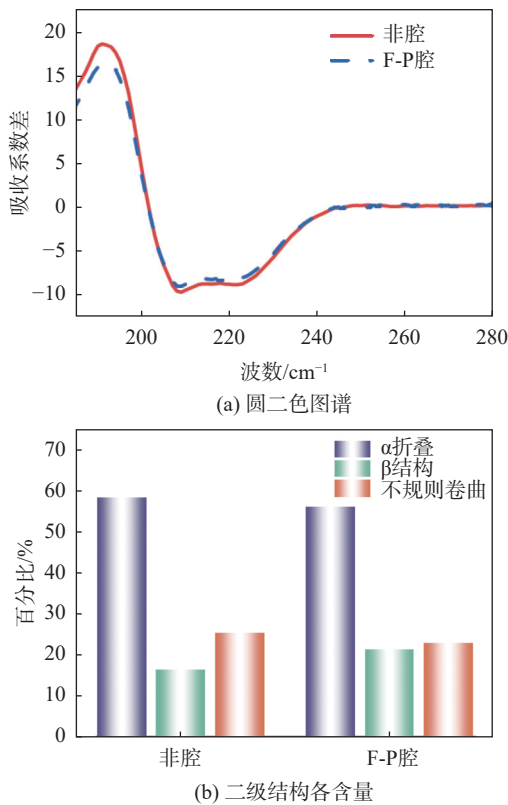


图 5 BSA 的 CD 分析
Fig. 5 CD analysis of BSA

能提供新见解。

黄体酮和 BSA 的结合是由于两者存在特定的相互作用力。黄体酮在 BSA 的结合位点 I 处与其结合，导致 BSA 的内源荧光猝灭。在荧光检测时，牛血清白蛋白在 280 nm 的激发波长下会产生 340 nm 的荧光。当加入一定量的孕酮溶液后，再进行检测，发现其荧光值有较大变化，这是因为它们之间会发生疏水作用，氢键作用和范德华力等非共价相互作用，从而使孕酮分子与牛血清白蛋白结合在一起，发生荧光猝灭。BSA 溶液在谐振腔内经 0.5 h 的强耦合作用后，白蛋白的孕酮结合参数会发生变化，可以通过酶标仪进行荧光检测，观察对应荧光值的变化。结果表明，随着反应的进行，谐振腔内与腔外的结合常数发生了明显变化。与非腔的 BSA 和孕酮结合的相对荧光强度来看，微腔状态下的相对荧光强度整体降低，尤其在靠近强耦合点时，强度下降将近 10%。由此可见，VSC 增强了 BSA 溶液与孕酮的结合效果，如图 6(a) 所示。为了进一步证明反应速率的变化是由 O—H 振动与微腔模式耦合引起的，对谐振腔不同腔距的对照组进

行了记录。绘制了不同微腔距离下的相对影响强度散点图，发现其变化趋势与水的红外透射光谱相符合，如图 6(b) 所示，蓝色曲线为水的红外透射谱，红色圆点为荧光检测结果。

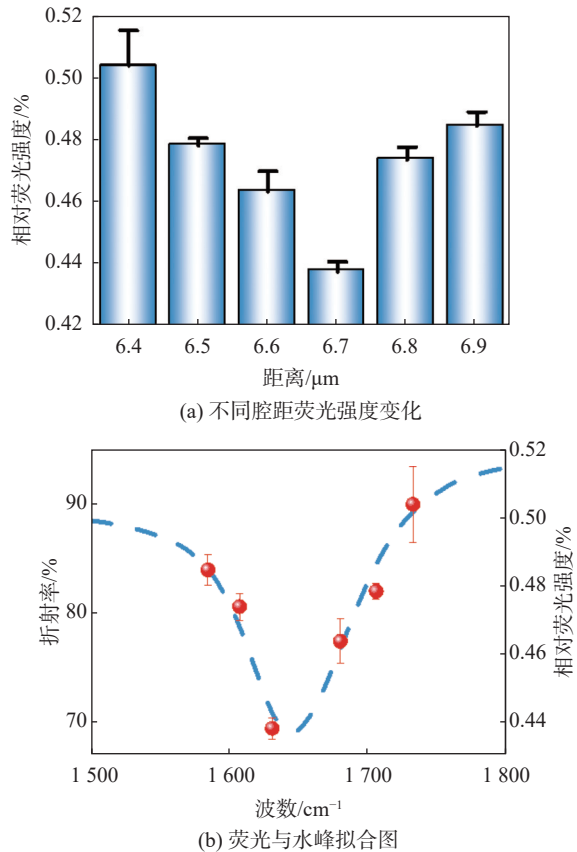


图 6 结合常数分析
Fig. 6 Analysis of association constant

3 总 结

研究表明，在保持蛋白质原生构象的条件下，成功实现了牛血清白蛋白与光学腔模式的分子振动的强耦合，为蛋白质研究提供了新的途径。由于水对生命至关重要，因此水性 VSC 将会获得越来越多的生物医学领域的关注。尽管 VSC 在生物反应系统中的作用尚未完全被理解，但这也为后续全新的非化学反应方法改变蛋白质结构提供了一种新思路。

参考文献：

[1] HIRAI K, HUTCHISON J A, UJI-I H. Molecular

- chemistry in cavity strong coupling[J]. *Chemical Reviews*, 2023, 123(13): 8099 – 8126.
- [2] XIONG W. Molecular vibrational polariton dynamics: what can polaritons do?[J]. *Accounts of Chemical Research*, 2023, 56(7): 776 – 786.
- [3] GU K H, SI Q K, LI N, et al. Regulation of recombinase polymerase amplification by vibrational strong coupling of water[J]. *ACS Photonics*, 2023, 10(5): 1633 – 1637.
- [4] GAUTIER J, LI M H, EBBESEN T W, et al. Planar chirality and optical spin-orbit coupling for chiral fabry-perot cavities[J]. *ACS Photonics*, 2022, 9(3):778 – 783.
- [5] NEMOVA E F, CHERKASOVA O P, NIKOLAEV N A, et al. A study on molecular mechanisms of terahertz radiation interaction with biopolymers based on the example of bovine serum albumin[J]. *Biophysics*, 2020, 65(3): 410 – 415.
- [6] TANKOVSKAIA S A, ABROSIMOVA K V, PASTON S V. Spectral demonstration of structural transitions in albumins[J]. *Journal of Molecular Structure*, 2018, 1171: 243 – 252.
- [7] SORIAGA A B, SANGWAN S, MACDONALD R, et al. Crystal structures of IAPP amyloidogenic segments reveal a novel packing motif of out-of-register beta sheets[J]. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2016, 120(26): 5810 – 5816.
- [8] CHERKASOVA O P, FEDOROV V I, NEMOVA E F, et al. Influence of terahertz laser radiation on the spectral characteristics and functional properties of albumin[J]. *Optics and Spectroscopy*, 2009, 107(4): 534 – 537.
- [9] VERGAUWE R M A, GEORGE J, CHERVY T, et al. Quantum strong coupling with protein vibrational modes[J]. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 2016, 7(20): 4159 – 4164.
- [10] BAI J Q, WANG Z X, ZHONG C J, et al. Vibrational coupling with O-H stretching increases catalytic efficiency of sucrase in Fabry-Pérot microcavity[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2023, 652: 31 – 34.
- [11] GARCIA-VIDAL F J, CIUTI C, EBBESEN T W. Manipulating matter by strong coupling to vacuum fields[J]. *Science*, 2021, 373(6551): eabd0336.
- [12] SHALABNEY A, GEORGE J, HUTCHISON J, et al. Coherent coupling of molecular resonators with a microcavity mode[J]. *Nature Communications*, 2015, 6: 5981.

(编辑: 李晓莉)