

# 硫代乙酸 /DNA 修饰金电极的电化学行为研究

张 环

(甘肃省农业科学院农业质量标准与检测技术研究所, 甘肃 兰州 730070)

**摘要:** 采用循环伏安法, 在  $K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6$  溶液体系中, 分别对裸金电极, 硫代乙酸自组装单分子膜 (Self-assembled monolayers: SAMs) 修饰的金电极、二次自组装技术制备的 Au/硫醇/DNA 混合双层膜 (Hybrid Bi-layer Membranes, HBMs) 修饰的金电极的电化学行为进行了表征。结果表明, 硫代乙酸自组装单分子膜使 DNA 和可能与 DNA 相互作用的生物物质避免了与金电极表面的直接接触, 从而防止可能发生的变性。利用自组装单分子膜对电极的封闭作用, 可以消除由吸附产生的对金属电极的毒化。

**关键词:** 自组装单分子膜; 硫代乙酸; DNA; 修饰电极; 循环伏安法

**中图分类号:** O657.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-1463(2015)09-0021-03

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1463.2015.09.008

SAMs 作为制备超薄有序膜的一种新技术, 为研究表面和界面现象提供了分子水平上精确控制界面性质的理想方法, 从而迅速成为有关学科研究的焦点<sup>[1-5]</sup>。利用 SAMs 膜技术已成功地研制了一类优良的化学修饰电极。该类型的 SAMs 包括有机硅烷在羟基化表面 ( $SiO_2/Si$ 、 $Al_2O_3/Al$ 、玻璃等); 醇和胺在铂表面, 硫醇、二硫化物和硫化物

在金、银、铜表面; 脂肪酸在金属氧化物表面; 膦酸在金属磷酸盐表面及异腈在铂表面。近年来, 有关硫化物在金表面形成单分子层的报道日益增多, 将硫醇自组装到金电极表面形成的单分子层膜因具有优良的稳定性和有序性, 而受到人们越来越多的关注<sup>[6]</sup>, 然而, 对自组装单分子层研究最广泛并且最深入的是烷基硫醇类物质在 Au 表面

收稿日期: 2015-05-27; 修订日期: 2015-06-11

作者简介: 张 环(1979—), 女, 甘肃会宁人, 实验师, 主要从事分析化学及农产品质量检测研究工作。联系电话: (0)13919859386。E-mail: bxy0516@sina.com。

高、工艺长度、茎粗、单株茎重、千粒重等降低, 原茎和种子产量明显下降<sup>[11]</sup>。杜刚等研究显示, 亚麻全生育期日数随播期的延后而缩短, 株高随播期的延后而变矮, 单株茎重随播期的延后而降低<sup>[12]</sup>。本研究也得出了胡麻播种越晚产量越低的相似的结论。另据近几年观察, 兰州地区胡麻白粉病发生较为严重, 胡麻青果期如遇连阴雨, 白粉病极易爆发流行, 且播种越晚白粉病发生越严重, 这也是播种越晚胡麻产量越低的原因之一。

## 参考文献:

- [1] 韩相鹏, 魏周全, 陈爱昌, 等. 定西市胡麻田杂草种类及群落调查[J]. 甘肃农业科技, 2014(6): 34-37.
- [2] 马 琪, 祁德富, 马国良. 小油菜播期与密度对黄条跳甲危害程度的影响[J]. 中国油料作物学报, 1998, 20(3): 73-76.
- [3] 祁德富, 马 琪. 油菜不同播期与密度条件对茎象甲危害程度的影响[J]. 青海大学学报(自然科学版), 1999, 17(2): 35-37.
- [4] 黄荣汉, 谢新民, 曾 伟, 等. 小麦早熟品种播期与禾谷缢管蚜消长[J]. 西南农业大学学报, 1996, 18(6): 523.

- [5] 徐承娥, 沙吾列, 玛依拉, 等. 油菜不同播期对菌核病发生及产量的影响[J]. 农村科技, 1999(3): 10-11.
- [6] 李宝英, 郑铁军, 郭玉莲. 土壤温湿度及播期对玉米丝黑穗病发生的影响[J]. 植物保护, 2006, 32(2): 61-63.
- [7] 潘云平, 李洪奎, 刘 磊. 不同播期防治秋萝卜花叶病毒病试验研究[J]. 植物医生, 2007, 20(4): 37-39.
- [8] 张总泽, 刘双平, 罗礼智, 等. 向日葵播期对防治向日葵螟和黄萎病的影响[J]. 植物保护学报, 2010, 35(5): 413-418.
- [9] 张崇贤. 牧草播期与杂草发生[J]. 云南畜牧兽医, 1987(3): 33.
- [10] 高风云, 张 辉, 贾霄云, 等. 不同播期对亚麻产量和品质的影响[J]. 中国麻业科学, 2014, 36(3): 146-150.
- [11] 朱 炫, 杨风刚, 羊国安, 等. 播期对云南冬季亚麻经济性状及产量的影响[J]. 中国麻业科学, 2011, 33(5): 244-246; 257.
- [12] 杜 刚, 白永刘, 毕永兴, 等. 播期对亚麻主要经济性状及产量影响的研究[J]. 中国麻业科学, 2009, 31(4): 258-260; 266.

(本文责编: 郑立龙)

的自组装。目前,利用自组装单分子膜技术在分子水平上按人们预期的目标进行设计 SAMs 被广泛研究<sup>[3,5]</sup>,而通过巯基(-SH)在 Au 表面自组装制备 DNA 修饰电极的方法尚未见报道。笔者采用先进的一SH 化合物自组装,得到自组装单分子层(SAM)后,对其进行电化学测试,再在 SAM 上共价键合或吸附固定 DNA 的方法制备 DNA 修饰电极,并对得到的 DNA 修饰电极进行电化学表征,以期为基因传感器、DNA 与其他分子的相互作用、以及 DNA 识别分析提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

1.1.1 仪器 电化学系统 CH-Instruments work station660(美国CH公司)电极系统为传统三电极系统,铂丝电极为对电极,饱和甘汞电极(SCE)为参比电极,工作电极为膜修饰的金电极)。Branson 200 超声清洗仪(美国),PHS 3C 型酸度计(上海)。

1.1.2 试剂 硫代乙酸( $\text{CH}_3\text{COSH}$ ,分析纯,天津市光复科技发展有限公司生产);小牛胸腺 DNA(北京华美生物工程公司生产);双蒸水;电解质[5 mmol/L的 $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6/\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ 溶液];丙酮(天津市光复科技发展有限公司生产);Tris(天津市光复科技发展有限公司生产);无水乙醇(天津市光复科技发展有限公司生产)。0.5 mol/L Tris 溶液配制:先准确称取 3.028 5 g Tris,用双蒸水定容至 50 mL,用 pH 酸度计将 pH 调至 5,使 Tris 溶液浓度为 0.5 mol/L。

### 1.2 方法

1.2.1 金电极的预处理 封装金电极(D=3 mm 纯度大于 99.99%)。首先将金电极分别用 0.3  $\mu\text{m}$  和 0.05  $\mu\text{m}$  的  $\text{Al}_2\text{O}_3$  仔细抛光,分别在丙酮,乙醇和二次水中超声波清洗,每次 5 min,再用  $\text{N}_2$  干燥,在 -0.2 ~ 0.8 V 范围内作循环伏安扫描,检测电极是否达到实验要求。支持电解质溶液为:  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6/\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$  (5 mmol/L) 溶液体系,要求其氧化还原峰电位差  $\Delta E_p < 75\text{mV}$ 。

1.2.2 硫醇自组膜的制备 配制 5 mmol/L 硫代乙酸溶液,将处理好的金电极从无水乙醇中取出并置于装有半瓶 5 mmol/L 硫代乙酸溶液的青霉素瓶中,盖好塞子,并用胶带缠好进行自组装一定时间,通常不少于 24 h<sup>[7]</sup>。金电极在 5 mmol/L 硫代乙酸/丙酮溶液中浸泡 24 h,取出,用水冲洗后,即得到硫代乙酸自组装单分子层修饰电极

(SAM/Au),再依次用无水乙醇、二次蒸馏水冲洗,以除去表面物理吸附的分子,然后用高纯  $\text{N}_2$  吹干表面溶剂,立即进行电化学测试。测试溶液中含有相同浓度的  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$  和  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ ,测试前溶液通高纯  $\text{N}_2$  以除去溶解氧。

1.2.3 DNA 修饰电极的制备 取 50 mL 0.5 mol/L Tris 溶液配置成 DNA 的 Tris 溶液,然后将硫代乙酸自组装单分子膜(SAMs)修饰后的金电极放入配置好的 DNA 的 Tris 溶液中静置 24 h。然后取出用水冲洗后即得到含有 Au/硫醇/DNA 双层膜(Hybrid Bi-layer Membranes, HBMs)的硫代乙酸自组装层膜修饰电极(DNA/SAM/Au),再依次用无水乙醇、双蒸水冲洗,以除去表面物理吸附的分子,然后用高纯  $\text{N}_2$  吹干表面溶剂,立即进行电化学测试。测试溶液中含有相同浓度的  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$  和  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ ,测试前溶液通高纯  $\text{N}_2$  以除去溶解氧。

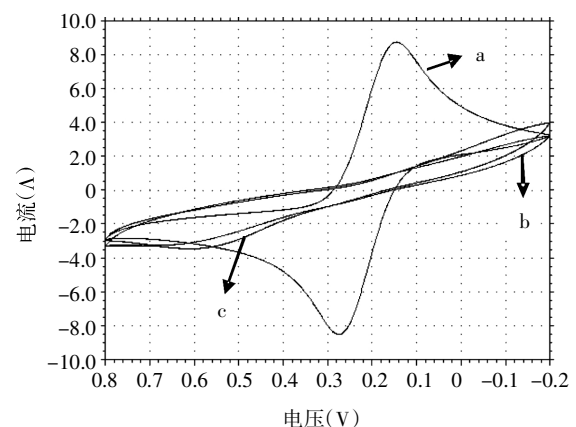
## 2 结果与分析

### 2.1 裸金电极电化学行为表征

$\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$  和  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$  与 DNA 具有很强的相互作用。以此为指示剂来表征 DNA 修饰电极,结果表明,裸金电极在 5 mmol/L 的  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6/\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$  溶液中表现出可逆的电化学行为(图 1 a),其反应由  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$  的扩散所控制,循环伏安曲线呈现一对可逆的氧化还原峰,当金被自组装膜修饰后,在 -0.2 ~ 0.8 V 的扫描范围内  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$  的氧化还原峰完全消失,并呈现倒“S”形的极化曲线。

### 2.2 硫代乙酸自组装单分子膜修饰的金电极电化学行为表征

硫代乙酸自组装单分子膜修饰的金电极在 5



(a, 裸金电极; b, 巯基乙酸修饰电极; c, DNA 修饰电极。)

图1 DNA修饰电极在5 mmol/L  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6/\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$  溶液中的循环伏安

mmol/L 的  $K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6$  溶液中还原峰与氧化峰的差值明显降低, 表现出可逆的电化学行为(图1 b), 其反应由  $Fe(CN)_6^{3-}/Fe(CN)_6^{4-}$  的扩散所控制。结果表明, 硫醇自组装膜对界面电子转移有强烈的阻碍作用, 当电极表面修饰自组装膜后,  $Fe(CN)_6^{3-}/Fe(CN)_6^{4-}$  溶液中的循环伏安行为则由可逆变成了循环伏安曲线上的氧化峰与还原峰之间的间距减小, 峰变平缓, 电极反应的可逆性变差。

### 2.3 Au/硫代乙酸/DNA 混合双层膜修饰的金电极电化学行为表征

Au/硫代乙酸/DNA 混合双层膜修饰的金电极在 5 mmol/L 的  $K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6$  溶液中的电化学行为, 其反应仍由  $Fe(CN)_6^{3-}/Fe(CN)_6^{4-}$  的扩散所控制(图1)。结果表明, 相比较硫代乙酸自组装单分子膜修饰的金电极曲线 b 而言, 图象没有太大的变化, 但当电位为 0.3 ~ 0.8 V 时, 峰电流还是有所降低; -0.2 ~ 0.3 V 时, 峰电流有所升高; 0.8 V 时, 电流与硫代乙酸自组装单分子膜修饰的金电极时的相同; 0.3 V 时, 氧化还原峰电流达到一致; -0.2 V 时, 电流值增大到 40  $\mu A$ , 电极反应的可逆性相比裸金电极明显变差。

### 3 小结与讨论

1) 应用循环伏安法研究了硫代乙酸 SAM 修饰金电极, 并利用二次自组装技术制备了 Au/硫醇/DNA 混合双层膜(HBMs)的金电极在含  $Fe(CN)_6^{3-}/Fe(CN)_6^{4-}$  溶液中的电化学行为, 并对其进行了表征。结果表明, 硫代乙酸自组装单分子膜使 DNA 和可能与 DNA 相互作用的生物物质避免了与金电极表面的直接接触, 从而防止可能发生的变性, 同时利用自组装单分子膜对电极的封闭作用, 可以消除由吸附产生的对金属电极的毒化。无“针孔”缺陷的 SAM 修饰电极在  $Fe(CN)_6^{3-}/Fe(CN)_6^{4-}$  溶液中表现出倒“S”形的极化曲线, 还原峰与氧化峰差值较大; 硫代乙酸自组装单分子膜修饰的金电极在  $Fe(CN)_6^{3-}/Fe(CN)_6^{4-}$  溶液中, 曲线平缓, 还原峰与氧化峰差值小, 电极反应的可逆性变差, 这种现象可能与自组装膜自身的膜电阻有关。

2) 由于膜电阻的存在, 使测得的电极电位包括了在膜上的电位降。当膜的电阻足够大时, 几乎所有的电位降都集中在膜上, 这时所表现出来的 CV 行为将主要反映膜的电阻随电位变化特性<sup>[8]</sup>。Au/硫代乙酸/DNA 混合双层膜修饰的金电极在  $Fe(CN)_6^{3-}/Fe(CN)_6^{4-}$  溶液中曲线平缓, 与硫代乙酸

自组装单分子膜修饰的金电极相比, 图象没有太大的变化, 但峰电流有所降低。这可能是因为由于 SAM 的结构特点, 使其为 DNA 的固定提供了一个稳定、均一、反应位点多的理想表面, 并可根据不同的需要, 提供不同官能团的表面, SAM 使 DNA 和可能与 DNA 相互作用的生物物质避免与电极表面的直接接触, 从而可以防止可能发生的变性。同时利用 SAM 对电极的封闭作用, 可以消除由吸附产生的对金属电极的毒化。采用在金表面先修饰硫代乙酸 SAM, 再自组装 Au/硫醇/DNA 混合双层膜(HBMs)是可靠和较理想的 DNA 修饰电极的制备方法, 制备的 DNA 修饰电极将在电化学基因传感器和 DNA 与其他分子的相互作用研究等方面有应用价值。

### 参考文献:

- [1] H W GAO, P QIN, C LIN, *et al.* Electrochemical DNA biosensor for the detection of listeria monocytogenes using to luidine blue as a hybridization indicator [J]. Journal of the Iranian Chemical Society, 2010, 7(1): 119-127.
- [2] KUI JIAO, TAO YANG, JIE YANG, *et al.* Immobilization and hybridization of DNA based on magnesium ion modified 2, 6-pyridinedicarboxylic acid polymer and its application for label-free PAT gene fragment detection by electrochemical impedance spectroscopy [J]. Science in China Series B(Chemistry), 2007, 50(4): 538-546.
- [3] HASHIMOTO K ITO K, ISHIMORI Y. Sequence-specific gene detection with a gold electrode modified with DNA probes and an electrochemically active dye [J]. Anal. Chem., 1994, 66: 3 830.
- [4] PANG D W, ABRUA H D. Micromethod for the investigation of the interactions between DNA and redox active molecules [J]. Anal. Chem., 1998, 70(3): 162-164.
- [5] KELLEY S O, BARTON J K, JACKSON N M, *et al.* Electrochemistry of methylene blue bound to a DNA modified electrode [J]. Bioconjugate Chem., 1997, 8 (1): 32-35.
- [6] 汪海燕, 杨绳岩, 王世君. 界面可控硫醇 SAMs 纳米金修饰金电极的电化学行为研究 [J]. 分析测试学报, 2012, 31(7): 868-872.
- [7] 李俊新, 崔晓丽, 童汝亭. 金上硫醇自组装膜研究进展 [J]. 河北师范大学学报 (自然科学版), 2000, 26 (2): 233-236.
- [8] 崔晓丽, 蒋殿录, 李俊新, 等. 硫醇在金电极上的 SA 单分子层膜的电化学研究 [J]. 高等学校化学学报, 1999, 20(5): 800-802.

(本文责编: 杨杰)