

γ 射线和电子束辐照对牛血清蛋白结构的影响

耿胜荣^{1,2}, 程薇^{1,2}, 廖涛^{1,2}, 熊光权^{1,2}, 李新^{1,2}, 钜晓艳^{1,2}, 陈洪国¹

(1. 非动力核技术湖北省协同创新中心, 湖北咸宁 437000)

(2. 湖北省农业科学院农产品加工与核农技术研究所, 湖北武汉 430064)

摘要: 为比较 γ 射线和电子束对牛血清辐照灭菌后蛋白损伤的差异, 将牛血清辐照 0~50 kGy 后, 测定蛋白浓度、浊度、疏水性以及纯化后白蛋白的二级结构、热稳定性和分子量大小的变化。结果表明, 牛血清辐照后蛋白浓度下降, 浊度和疏水性上升, 电子束辐照的变化幅度低于 γ 射线。以 10 kGy 剂量为转折点, 白蛋白的 α 螺旋含量先升后降, β 折叠含量先降后升, 变化范围分别为 0%~15.2% 和 40.6%~52.4%。自由卷曲含量始终呈上升趋势。牛血清辐照后白蛋白组分的 DSC 图出现放热杂峰, 出峰时间延长, γ 射线辐照的峰温随剂量增加 (77.4 °C 升至 79.1 °C) 而升高, 电子束辐照的趋势相反。辐照后白蛋白在 GPC 图中出现分布加宽的杂峰。这说明射线和电子束作用使牛血清同时发生交联和降解反应, 破坏白蛋白二级结构, 牛血清蛋白分子出现疏水基团外露, 浊度增加, 以及浓度下降的现象。常温辐照时电子束与 γ 射线效果差异不明显。

关键词: 牛血清白蛋白; γ 射线; 电子束; 特性; 结构

文章编号: 1673-9078(2016)12-211-217

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.12.033

Effects of γ Rays and Electron Beam Irradiation on Bovine Serum Albumin Structure

GENG Sheng-rong^{1,2}, CHENG Wei^{1,2}, LIAO Tao^{1,2}, XIONG Guang-quan^{1,2}, LI Xin^{1,2}, ZU Xiao-yan^{1,2}, CHEN Hong-guo¹

(1. Non-power Nuclear Technology Collaborative Innovation Center, Xianning 437000, China) (2. Institute for Farm Products Processing and Nuclear-Agricultural Technology, Hubei Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430064, China)

Abstract: To compare differences in bovine serum protein damage following sterilization by γ rays and electron beam irradiation, bovine serum was irradiated with 0~50 kGy and protein concentration, turbidity, and hydrophobicity were determined. The secondary structure and thermal stability of the albumin purified from this bovine serum were analyzed. The results showed that the protein concentration decreased, and the turbidity and hydrophobicity increased. And the changes induced by electron beam irradiation were smaller than those induced by γ rays. At the threshold dosage of 10 kGy, the α -helical content of albumin had increased and thereafter decreased, and β -fold content first decreased and thereafter increased, with ranges of change of 0~15.2% and 40.6~52.4%, respectively. The content of random coils always showed an increasing trend. After irradiation, the DSC plot of the albumin fraction from the bovine serum showed an exothermic peak with a prolonged time, and the peak temperature increased with increased dose (77.4 °C to 79.1 °C); electron beam irradiation showed the opposite trend. In the GPC plot, the miscellaneous albumin peaks exhibited widening after irradiation. This shows that the interaction between the radiation and the electron beam causes crosslinking reactions and degradation of bovine serum, which disrupts the secondary structure of albumin and exposes the hydrophobic groups of bovine serum albumin to the exterior, increasing turbidity and decreasing concentration. No significant difference between the electron beam and γ rays was found at normal temperatures.

Key words: bovine serum albumin; γ rays; electron beam; characteristics; structure

收稿日期: 2015-12-01

基金项目: 湖北省农业科学院青年科学基金项目 (2014NKYJJ23); 湖北省农业科技创新项目 (2016-620-000-001-036); 国家科技支撑计划 (2014BAA03B05)

作者简介: 耿胜荣 (1979-), 女, 副研究员, 主要从事蛋白质辐照特性研究和高分子辐射改性及机理研究

通讯作者: 陈洪国 (1969-), 男, 博士, 教授

牛血清是牛血浆去除纤维蛋白后形成的一种复杂混合物,其中含有各种血浆蛋白、多肽、生长因子与激素等,在体外细胞培养过程中起到转脂/铁、解毒、生物起始信号、抑制蛋白酶消化和促进细胞贴壁的作用,是细胞培养基的重要成分^[1]。随着现代生物制药技术的快速发展,细胞培养基作为细胞生长的物质基础,被广泛应用于细胞生物学和医学研究的各个领域,牛血清的需求量逐年递增。据统计2004年全球利用细胞培养技术生产的药物销售额260.51亿美元,占生物技术药物销售总额的68.72%。高质量的牛血清产品有良好的市场前景。

为排除牛血清原料中潜在的病源物威胁,我国在2010年版《中华人民共和国药典》中要求采用牛肾原代细胞培养法判别牛腹泻病毒,但是进一步的荧光抗体法检测病毒时,为试剂盒难以配备到相应病毒株^[2]。美国联邦管理法规第9号文件规定采用直接或间接免疫荧光染色法对胎牛血清外源病毒检测,包括20种病毒进行连传三代的中和抗体检测程序,并最终在56℃、30 min 灭活或-40℃ γ 射线照射25~35 kGy,该项技术没有大规模商业化应用。目前对辐照牛血清蛋白活性的破坏机制探索,以及病毒灭活的同时避免牛血清活性成分损伤的解决方法鲜见报道^[3]。

蛋白质处于不同的微环境下,其构象和活性发生相应的变化。目前国内外在牛血清蛋白与药物成分以及缓冲液离子间相互作用方面开展了大量的研究^[4-8],采用荧光光谱技术、圆二色谱、紫外光谱、电子顺磁共振、等温滴定微量热和排阻色谱技术研究pH值^[9]、Cu(II)、镍(II)^[10]、氧化锌量子点^[11]、盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱^[12]等物质与牛血清蛋白的相互作用过程中的蛋白内源荧光猝灭、紫外吸收、圆二色谱峰位及吸收强度与二级与三级结构变化的相关性。关于白蛋白与 γ 球蛋白分子间的迁移和聚集性^[13]也有部分研究。有报道采用SDS-PAGE法^[14,15]和醋酸纤维膜电泳法^[16]对血清中蛋白组分进行分析和鉴定,关于辐照对牛血清特性和结构的影响报道鲜见。

不同剂量率辐照在晶体管材料^[17]、吸水树脂^[18]、牛肉蛋白组分^[19]都有不同的损伤效应,本项目以液体牛血清为对象,对比经 γ 射线和加速器两种不同射线分别辐照0~50 kGy后,蛋白的结构和特性变化,为抑制牛血清辐照灭菌时蛋白损伤提供技术参考。

1 材料与方法

1.1 实验试剂与仪器

新生牛血清,浙江天杭生物科技有限公司;牛血

清白蛋白,国药集团化学试剂有限公司;蛋白标样(MBP- β -半乳糖苷酶,分子量175 ku;MBP-截短型- β -半乳糖苷酶,分子量80 ku;MBP-CBD,分子量58 ku;CBD-Mxe intein-2CBD,分子量46 ku;CBD-Mxe intein,分子量30 ku),Thermo公司。

γ 射线辐照源:⁶⁰Co源(装源量25.5万居里):湖北省辐照实验中心;高频高压电子加速器(10 MeV~20 KW):武汉爱邦高能技术公司;示差扫描量热仪:DSC200F3,德国Netzsch公司;紫外可见分光光度计(T6新世纪):北京普析通用仪器有限责任公司;圆二色谱(J-810):日本分光公司;荧光分光光度计(F93):上海茸研仪器有限公司;电泳仪(DYY-12):北京六一仪器厂。

1.2 实验设计

牛血清液体采用10 mL离心管分装,每管8 mL,共33管。辐照处理10组: γ 射线辐照10、20、30、40和50 kGy,电子束辐照10、20、30、40和50 kGy,均以未辐照样品为对照,共11个处理,每处理3个重复。辐照在常温下进行,均采用动态辐照的方式,照后立即取样进行检测,其余样品冻藏。采用硫酸亚铁剂量计跟踪的剂量结果为: γ 射线辐照组:9.80、19.65、29.50、39.75和49.40 kGy,平均剂量率约为60 Gy/min。电子束辐照组:9.90、19.80、29.70、39.60和49.50 kGy,剂量率为300 kGy/min。

1.3 照后样品的处理

取照后牛血清加入等体积磷酸缓冲液稀释后,再滴加饱和硫酸铵进行盐析,低温离心取上清液,经透析24 h后得到白蛋白部分,将其冷冻干燥后,待测CD、DSC和GPC。蛋白浓度和电泳取照后牛血清离心后的上清液测定。浊度和疏水性直接取样检测。

1.4 指标检测方法

蛋白浓度:按照考马斯亮蓝法(Bradford法)在595 nm处测吸光值,根据回归方程 $Y=0.6286X-0.0034$, $R^2=0.9958$ 计算蛋白浓度,其中X为吸光值,Y为蛋白浓度。

蛋白浊度:参照廖涛^[20]的方法进行,在280 nm处测定紫外吸光值,作为浊度值。

蛋白疏水性:参照廖涛^[20]的方法进行,取2 mL样品溶液,加入15 μ L 8-苯氨基-1-萘磺酸(ANS),在激发波长385 nm处扫描范围420~550 nm溶液的荧光强度,以荧光强度对应扫描波长做曲线。

蛋白组分:SDS-PAGE电泳法参照廖涛等^[20]操作

进行;

蛋白热稳定性: 精确称量粉末样品 5 mg, 水 10 mg, 装入铝坩埚, 压封盖。于常温下平衡过夜。以空铝坩埚为对照。温度程序为: 20 °C 升温至 90 °C, 升温速度 5 °C/min; 恒温 2 min; 90 °C 降温至 20 °C, 降温速度 5 °C/min, 恒温 2 min; 20 °C 结束。

二级结构: 圆二色谱法^[21], 精确称量白蛋白粉末, 用双蒸水配制成 0.25 mg/mL 的溶液, 以双蒸水为空白对照。采用 Spectra manager 程序检测, 扫描波长 190~260 nm, 数据进行 1 次采集, 采集频率 200 nm/min。

相对分子量: 凝胶渗透色谱法, 参考文献^[22]的方法进行。

1.5 数据统计分析

蛋白浓度、浊度及疏水性取三次平均值。二级结构含量采用 CD 色谱自带分析软件进行数据分析后, 取平均值。DSC 和 GPC 多次重复测定, 取重现性好的谱图进行数据分析。

2 结果与讨论

2.1 γ 射线和电子束辐照对牛血清蛋白浓度

和浊度的影响

辐照后牛血清的蛋白浓度和浊度测定结果见表 1。与对照相比, 经 γ 射线或电子束辐照 10 kGy 剂量的牛血清蛋白浓度均有较大幅度下降, 增大剂量后蛋白浓度的下降趋势变缓。两种辐照方式相比, 剂量低于 30 kGy 时, 电子束辐照的牛血清蛋白浓度高于 γ 射线辐照的, 剂量高于 30 kGy 时, γ 射线辐照的牛血清蛋白浓度高于电子束辐照。

与对照相比, 经 γ 射线或电子束辐照后牛血清蛋白的浊度升高, 并且随剂量的增加而增加; 两种辐照方式相比, γ 射线辐照的牛血清蛋白浊度始终大于电子束的。

牛血清辐照后浓度下降, 浊度增加, 推测与蛋白辐照交联, 进而导致溶解度下降有关。由于外界因素, 蛋白会发生聚集、浊度升高与沉淀的现象。徐幸莲等^[23]研究兔骨骼肌肌球蛋白时发现, 增加蛋白浓度时肌球蛋白聚集, 溶液浊度升高, 此时蛋白质的浓度与浊度呈正相关变化, 进一步增加浓度时, 蛋白质浊度达到峰值, 但蛋白的浓度下降。耿胜荣等^[22,24]在研究中发现, 固体明胶辐照后, 剂量超过 17.2 kGy 出现不溶物, 溶液态明胶蛋白辐照后溶解度下降, 不溶物较多, 同时浓度下降。可以发现, 无论有无水分存在, 蛋白辐照后的分解和交联反应均会发生, 导致浓度下降, 浊度升高。

由此可见, 牛血清辐照后蛋白浓度下降, 浊度上升。电子束辐照的变化幅度低于 γ 射线。

表 1 两种辐照方式下牛血清蛋白浓度和浊度的变化

Table 1 Changes in bovine serum protein concentration and turbidity between the two irradiation types

Dose/(kGy)	Concentration(A_{595})		Turbidity(A_{280})	
	γ -ray	electron beam	γ -ray	electron beam
0	2.37±0.00	2.37±0.00	3.71±0.00	3.71±0.00
10	2.21±0.00	2.24±0.00	3.89±0.01	3.52±0.00
20	2.23±0.00	2.27±0.00	3.92±0.00	3.85±0.00
30	2.25±0.00	2.25±0.01	3.81±0.01	3.99±0.00
40	2.23±0.01	2.20±0.01	4.00±0.00	3.82±0.00
50	2.22±0.00	2.14±0.00	4.03±0.01	3.97±0.01

2.2 γ 射线和电子束辐照对牛血清蛋白疏水性

的影响

牛血清辐照后蛋白的疏水性随剂量的增加逐渐上升, 当剂量大于 10 kGy 时和剂量大于 40 kGy 时, 增加幅度更明显 (见图 1a γ 射线和图 1b 加速器)。两种辐照方式相比, 电子束辐照牛血清的蛋白疏水性大于 γ 射线的, 尤其是当剂量大于 10 kGy 后更明显。

疏水基的相互作用是维持蛋白质三级结构的重

要作用力, 疏水键是疏水侧链为避开水相而群集在一起的一种相互作用力。牛血清辐照后疏水性提高, 说明蛋白分子表面暴露大量的疏水基团, 亲水基团在分子表面分布减少, 蛋白的三级结构被破坏, 这与蛋白浊度增加趋势一致。顾可飞和高美须^[25]的研究表明, 虾致敏蛋白的疏水性随剂量增加而增加, 本研究与报道结果相似。蛋白辐照后, 随着辐照剂量的增加, 疏水性的增加会逐渐过渡至蛋白的溶解性下降, 最终出现不溶于水的成分。

综上所述, 牛血清辐照后蛋白的疏水性随剂量的

增加而升高,当剂量大于 10 kGy 时,电子束辐照的牛血清其蛋白疏水性升高幅度大于 γ 射线辐照的。

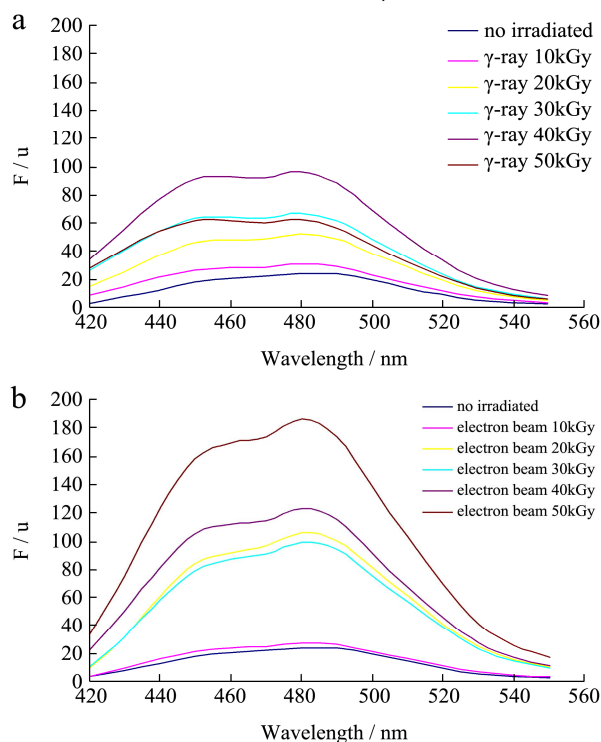


图1 两种辐照方式对牛血清蛋白疏水性的影响

Fig.1 Effect of the two irradiation types on bovine serum hydrophobicity

2.3 牛血清经 γ 射线和电子束辐照后白蛋白组分的热稳定性变化

牛血清辐照后,经盐析、透析和冻干处理,获得白蛋白粉末。白蛋白粉末与水按 1:2 混合、平衡后的差示扫描热流图见图 2 (图 2a 为 γ 射线辐照,图 2b 为电子束辐照),由于 γ 射线照射的牛血清交联程度较高,提取到的白蛋白有限,30 和 40 kGy 的样品极少,故无数据,下同。由图 2 可见,随着剂量的增加,降温凝胶峰变得尖锐,出现小杂峰。推测可能有不溶组

分,凝胶温度不同造成的。

表 2 列出辐照牛血清中各样品凝胶峰热流参数。随着辐照剂量的增加,白蛋白溶液降温凝胶的时间延长,凝胶温度下降,单位质量释放的热焓增加。两种辐照方式相比,电子束辐照的比 γ 射线辐照的出峰时间短,峰温高,峰热焓高。

在前期的明胶辐照中发现,明胶凝胶温度下降,熔化温度升高,这与本研究部分相似。凝胶温度下降,主要由于可溶部分蛋白含量减少造成,这与本研究蛋白浓度下降、浊度升高及疏水性升高的结果完全吻合。

综上可见,牛血清辐照后白蛋白分子发生了交联,形成了凝胶杂峰,大分子导致在较高的温度下可以凝胶,但凝胶时间延长。

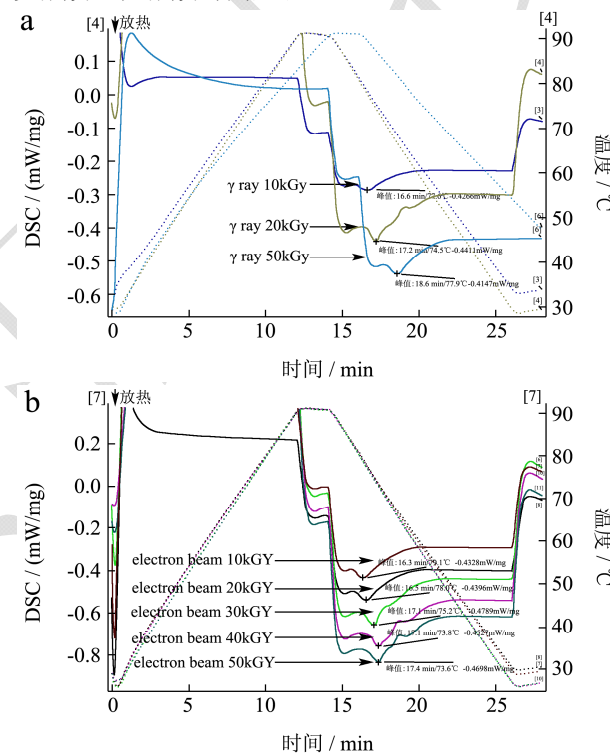


图2 γ 射线和电子束辐照后牛血清中白蛋白组分热稳定性变化

Fig.2 Change in thermal stability of the bovine serum albumin component after γ ray or electron beam irradiation

表 2 不同辐照处理牛血清纯化后白蛋白 DSC 参数分析

Table 2 DSC parameter analysis of BSA purified from bovine serum after different irradiation treatments

Treat	Peak time/min	Peak temperature/ $^{\circ}$ C	Heat flow/(mV/mg)
γ -ray10 kGy	16.60	77.60	-0.43
γ -ray 20 kGy	17.20	74.50	-0.44
γ -ray 50 kGy	18.60	77.90	-0.42
Electron beam10 kGy	16.30	79.10	-0.43
Electron beam 20 kGy	16.50	78.00	-0.44
Electron beam 30 kGy	17.10	75.20	-0.48
Electron beam 40 kGy	17.40	73.80	-0.45
Electron beam 50 kGy	17.40	73.60	-0.47

2.4 牛血清经 γ 射线和电子束辐照后白蛋白组

分的二级结构

从辐照牛血清中纯化和冻干得到白蛋白粉末，配制 0.25 mg/mL 溶液进行圆二色谱扫描，结果见图 3(图 3a 为 γ 射线辐照，b 为电子束辐照)。BSA 溶液的 CD 光谱在靠近 192 nm 有一个强烈的正谱带，210 nm 和 222 nm 处的两个负特征肩峰谱带，表明 BSA 溶液含有 α 螺旋结构。这与陆锡锋等^[26]的研究相同。随着辐照剂量的增加， α 螺旋结构特征的峰型和正谱带均变弱，振幅变小。

表 3 列出各辐照处理样品白蛋白二级结构相对百分含量。对照的 α 螺旋、 β 折叠、 β 转角和无规卷曲四种结构分别为 14.6%、47.4%、3.6%和 34.3%。前三种的含量和为 65.6%。随着辐照剂量的增加，两种辐照方式的处理均呈现相同的趋势： α 螺旋结构含量先增加，后大幅减少； β 折叠结构含量先减少，后明显增加； β 转角结构含量呈增加的趋势，而无规卷曲的结构含量逐渐增加。前三种结构的和在辐照剂量低于 30 kGy 时变化不大，高于此值以后明显降低。

这说明，在小剂量辐照时（10 kGy）， β 折叠转变为 α 螺旋结构、 β 转角和少量的无规卷曲，但有序结构总量和自由卷曲含量均基本不变；当剂量进一步增加时（约 20 kGy），大量的 α 螺旋转变为 β 折叠、 β

转角和无规卷曲，有序结构总量下降，相反无规卷曲含量升高。

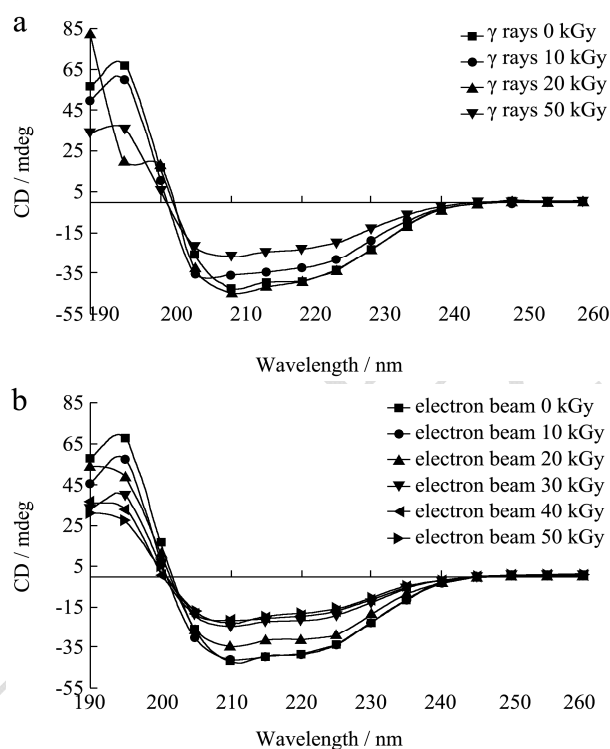


图3 γ 射线和电子束辐照后牛血清中白蛋白组分的圆二色谱变化

Fig.3 Change in circular dichroism in the bovine serum albumin component after γ ray or electron beam irradiation

表 3 不同辐照处理牛血清纯化后白蛋白二级结构的含量

Table 3 Secondary structure content of BSA purified from bovine serum after different irradiation treatments

Treat	α -helix/%	β -sheet/%	β -angle/%	h+b+t/%	Random coil/%
0 kGy	14.60	47.40	3.60	65.60	34.30
γ -ray 10 kGy	19.70	40.60	5.10	65.40	34.50
γ -ray 20 kGy	17.10	43.70	4.90	65.70	34.30
γ -ray 50 kGy	4.50	48.20	5.60	58.30	41.70
electron beam 10 kGy	15.20	45.60	4.40	65.20	34.80
electron beam 20 kGy	9.70	48.50	4.20	62.40	37.60
electron beam 30 kGy	1.70	52.40	3.40	57.50	42.50
electron beam 40 kGy	0.40	52.20	3.70	56.30	43.70
electron beam 50 kGy	0.00	51.40	4.70	56.10	43.80

2.5 牛血清经 γ 射线和电子束辐照后分子量变

化

牛血清经辐照 30 kGy 后、纯化所获得白蛋白组分的凝胶渗透色谱图如下图 4，以未辐照的为对照。未辐照牛血清呈现 1 个峰（小峰为溶剂峰），峰型窄而尖锐，出峰时间为 30~35 min 之间，响应值 20806 mV，

分散度 1.21302，数均分子量 Mn、重均分子量 Mw 和粘均分子量 Mp 分别为 20、24 和 20 ku；经 γ 射线辐照后，白蛋白包含 4 个未完全分开的组分，出峰时间提前至 25 min，响应值分别为 86573、15721 和 843 mV，分散度为 1.600315，Mn、Mw 和 Mp 分别为 14、23 和 15 ku；经电子束辐照后，白蛋白包含 3 个未完全分开的组分，出峰时间提前至 25 min，响应值分别为 144027、12536 和 636 mV，分散度为 1.343124，

Mn、Mw 和 Mp 分别为 160、215 和 144 ku。

可见,牛血清辐照后白蛋白同时发生分解和交联反应,形成分散度大的大分子和小分子混合物,在凝胶渗透色谱图中表现为出峰时间早和延迟的现象,形成连峰。

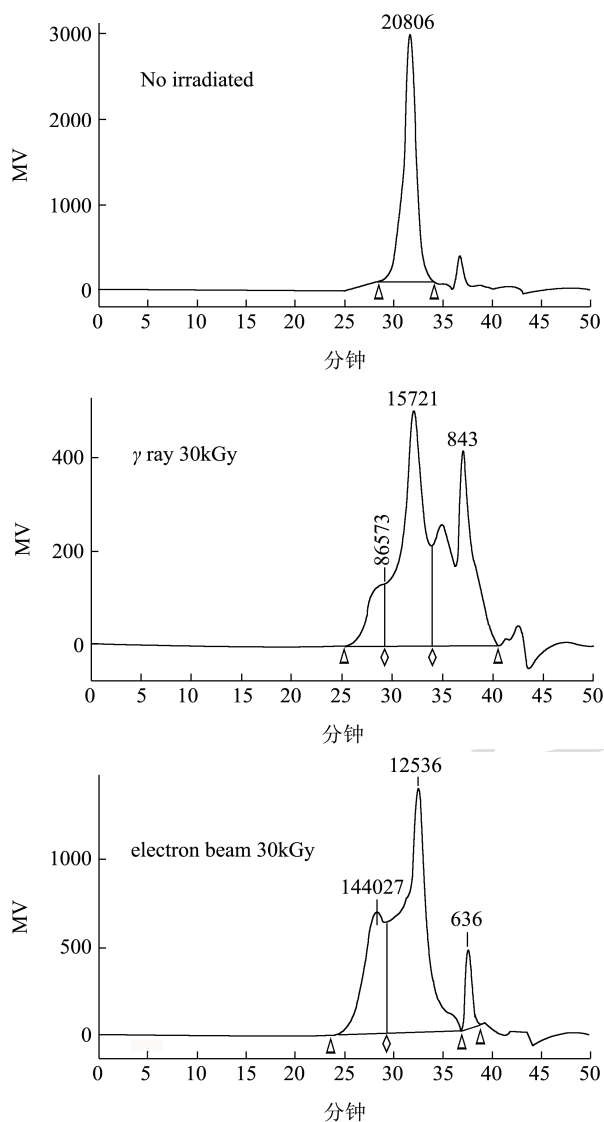


图4 不同辐照处理牛血清纯化后白蛋白 GPC 图谱

Fig.4 GPC chromatograms of BSA purified from bovine serum after different irradiation treatments

3 结论

牛血清辐照后蛋白的结构和特性的改变如下:

3.1 未辐照牛血清的蛋白浓度和浊度分别为 2.366 ± 0.004 mg/mL 和 3.710 ± 0.003 A₂₈₀, 辐照后蛋白浓度下降,浊度上升。电子束辐照的变化幅度低于 γ 射线。

3.2 牛血清辐照后蛋白的疏水性随剂量的增加而升高,当剂量大于 10 kGy 时,电子束辐照的牛血清其蛋白疏水性升高幅度大于 γ 射线辐照的。

3.3 牛血清辐照后白蛋白分子发生了交联,热流图中出现凝胶杂峰,凝胶温度升高,但凝胶时间延长,说明组分不均匀性;由于同时发生分解反应,形成分散度大的大分子和小分子系列混合物,在凝胶渗透色谱图中出峰时间提前,且有延迟峰。

3.4 未辐照牛血清的 α 螺旋结构、 β 折叠、 β 转角和无规卷曲的含量分别为 14.6%、47.4%、3.6% 和 34.3%。白蛋白在小剂量辐照时 (10 kGy), β 折叠可转变为三种结构: α 螺旋结构、 β 转角和少量的无规卷曲,但 α 螺旋结构、 β 折叠和 β 转角的总量基本不变;当剂量进一步增加时 (约 20 kGy),大量的 α 螺旋转变为 β 折叠、 β 转角和无规卷曲,无规卷曲含量升高。

参考文献

- [1] 张宝红,张为宇,韩忠燕,等.牛血清中蛋白组分初步分析及其对细胞培养的影响[J].动物医学进展,2009,30(1):33-37
ZHANG Bao-hong, ZHANG Wei-yu, HAN Zhong-yan, et al. A preliminary analysis of the protein compositions of bovine serum and its effect on cell culture [J]. Progress in Veterinary Medicine, 2009, 30(1): 33-37
- [2] 乔自林,冯玉萍,李明生,等.我国新生牛血清的生产现状[J].西北民族大学学报(自然科学版),2009,30(76):43-45
QIAO Zi-lin, FENG Yu-ping, LI Ming-sheng, et al. Present status on newborn calf serum processing in china [J]. Journal of Northwest University for Nationalities (Natural Science), 2009, 30(76): 43-45
- [3] 黄汝多,查向栋,李振华,等.XeCl 准分子紫外激光辐照生物大分子 BSA(V)对其蛋白质结构的影响[J].激光生物学报,2007, 16(4):379-389
HUANG Yu-duo, ZHA Xiang-dong, LI Zhen-hua, et al. The effect of XeCl excimer laser radiation on biomacromolecule structure of BSA(V) [J]. Acta Laser Biology Sinica, 2007, 16(4): 379-389
- [4] Shan B, Shu C, Yun-fei L. Determination of bovine serum albumin under ultraviolet irradiation by resonance light scattering spectra [J]. Journal of Analytical Science, 2013, 29(1): 97-100
- [5] Rizwan W, Sourabh D, Mohd S K, et al. Optical analysis of zinc oxide quantum dots with bovine serum albumin and bovine hemoglobin [J]. J. Pharm. Innov., 2014,9: 48-52
- [6] Zhang Q, Ni Y, Kokot S. Molecular spectroscopic studies on the interaction between ractopamine and bovine serum albumin [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2010, 52(2): 280-288
- [7] P N N, S A C, S T N. Interaction between a potent

- corticosteroid drug-dexamethasone with bovine serum albumin and human serum albumin: a fluorescence quenching and fourier transformation infrared spectroscopy study [J]. *J. Photochem. Photobiol. B*, 2010, 100(3): 147-159
- [8] Zou M, Zhang L, Wang J, et al. Investigation on interaction and sonodynamic damage of fluorescein derivants to bovine serum albumin (BSA) under ultrasonic irradiation [J]. *Spectrochimica Acta. Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2013, 110(6): 364-376
- [9] Valeria V, Fabio L, Maurizio L, et al. Thermal aggregation of bovine serum albumin at different pH: comparison with human serum albumin [J]. *Eur. Biophys. J.*, 2007, 36: 717-725
- [10] Yi Z, Dean E, Wilcox. Thermodynamic and spectroscopic study of Cu (II) and Ni (II) binding to bovine serum albumin [J]. *J. Biol. Inorg. Chem.*, 2002, 7: 327-337
- [11] Rizwan W, Sourabh D, Mohd S k, et al. Optical analysis of zinc oxide quantum dots with bovine serum albumin and bovine hemoglobin [J]. *J. Pharm. Innov.*, 2014, 9: 48-52
- [12] 周洁,玉延华,朱平川,等.园二色和等温滴定微量热技术研究盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱与人血清白蛋白的作用机制 [J].*分析试验室*,2014,33(4):432-435
ZHOU Jie, YU Yan-hua, ZHU Ping-chuan, et al. Analysis on Ephedrine Hydrochloride/Pseudoephedrine Hydrochloride-Human Serum Albumin Interaction by Circular Dichroism and Isothermal Titration Calorimetry [J]. *Chinese Journal of Analysis Laboratory*, 2014, 33(4): 432-435
- [13] Sumie Y, Yukio A, Shigeo K. Determination of molecular mobility of lyophilized bovine serum albumin and γ -globulin by solid-state ^1H nmr and relation to aggregation susceptibility [J]. *Pharmaceutical Research*, 1996, 13(6): 926-930
- [14] 刘爱国,吴子健,管美玲,等.牛血清中纤维蛋白原的检测与分离[J].*食品科学*,2009,32(30):250-252
LIU Ai-guo, WU Zi-jian, GUAN Mei-ling, et al. Use of SDS-PAGE electrophoresis for separation and determination of fibrinogen in bovine serum [J]. *Food Science*, 2009, 32(30): 250-252
- [15] 杨贵强,徐绍刚,王建,等.几种鲑鳟鱼血清蛋白非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳的研究[J].*海洋与湖泊*,2013,44(4):1068-1072
YANG Gui-qiang, XU Shao-gang, WANG Jian, et al. Serum protein of several salmons by native polyacrylamide gel electrophoresis [J]. *Oceanologia Et Limnologia Sinica*, 2013, 44(4): 1068-1072
- [16] 于婧文,霍明章,李艳花,等.2 种缓冲液对血清蛋白醋酸纤维膜电泳效果对比研究[J].*山西大同大学学报(自然科学版)*,2013, 29(5):54-57
YU Jing-wen, HUO Ming-zhang, LI Yan-hua, et al. Two-way quantum communication protocol based on Non-maximally entangled states [J]. *Journal of Shanxi Datong University (Natural Science)*, 2013, 29(5): 54-57
- [17] 孙亚宾,付军,许军,等.不同剂量率下锗硅异质结双极晶体管电离损伤效应研究[J].*物理学报*,2013,19:196104
SUN Ya-bin, FU Jun, XU Jun, et al. Study on ionization damage of silicon-germanium heterojunction bipolar transistors at various dose rates [J]. *Acta Phys. Sin.*, 2013, 19: 196104
- [18] 黎青,杨平华,魏敏.剂量率对 γ 射线制备农用吸水树脂性能的影响[J].*核化学与放射化学*,2014,3:175-180
LI Qing, YANG Ping-hua, WEI Min. Effect of dose rate on radiation synthesis of superabsorbent resin [J]. *Journal of Nuclear and Radiochemistry*, 2014, 3: 175-180
- [19] 王宁,王晓拓,丁武,等.辐照剂量率对牛肉脂肪和蛋白氧化及蛋白特性的影响[J].*现代食品科技*,2015,31(8):122-129
WANG Ning, WANG Xiao-tuo, DING Wu, et al. Effect of dose rate on lipid and protein oxidation and the properties of beef proteins [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2015, 31(8): 122-129
- [20] 廖涛,叶敏,熊光权,等.辐照对克氏原螯虾致敏蛋白质生化性质的影响[J].*湖北农业科学*,2014,53(24):6082-6085
LIAO Tao, YE Min, XIONG Guang-quan, et al. Effects of irradiation on biochemical properties of allergic protein in *procambarus clarkia* [J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2014, 53(24): 6082-6085
- [21] 丁成荣,高晓茹,许莉,等.紫外和圆二色谱研究三环唑与牛血清白蛋白的相互作用[J].*农药*,2010,49(1):29-38
DING Cheng-rong, GAO Xiao-ru, XU li, et al. The interaction between tricyclazole and bovine serum albumin by UV and circular dichroism [J]. *Agrochemicals*, 2010, 49(1): 29-38
- [22] 耿胜荣,汪兰,廖涛,等. $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线辐照剂量对明胶特性和结构的影响[J].*原子能科学技术*,2014,48(3):512-517
GENG Sheng-rong, WANG Lan, LIAO Tao, et al. Effect of dosage on property and structure of gelatin irradiated by $^{60}\text{Co}\gamma$ -ray [J]. *Atomic Energy Science and Technology*, 2014, 48(3): 512-517
- [23] 徐幸莲,韩敏义,林丽军,等.兔骨骼肌肌球蛋白溶液浊度和溶解度研究[J].*南京农业大学学报*,2003,26(4):93-96
XU Xing-lian, HAN Min-yi, LIN Li-jun, et al. Study on the turbidity and solubility of myosin solution from rabbit

- skeletal muscles [J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2003, 26(4): 93-96
- [24] 耿胜荣,组晓艳,李新,等.明胶 $^{60}\text{Co}\gamma$ 辐照灭菌过程中的水分和氧气效应[J].食品工业科技,2014,12:144-146,161
GENG Sheng-rong, ZU Xiao-yan, LI Xin, et al. Effect of water and oxygen on gelatin crosslinking during process of $^{60}\text{Co}\gamma$ irradiation [J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 12: 144-146, 161
- [25] 张明琦,高美须,支玉香,等.辐照对蟹过敏蛋白生化性质和抗原性的影响[J].中国农业科学,2009,42(9):3259-3264
ZHANG Ming-qi, GAO Mei-xu, ZHI Yu-xiang, et al. Effects of irradiation on biochemical properties and antigenicity of crab allergen [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2009, 42(9): 3259-3264
- [26] 陆锡锋,杨旭日,翁建全,等.圆二色光谱法研究 Se 形态与牛血清蛋白的相互作用[J].分析化学,2009,37(增刊):150
LU Xi-feng, YANG Xu-ri, WENG Jian-quan, et al. Study on interaction between Se form and bovine serum albumin by circular dichroism spectroscopy [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2009, 37(Sup.): 150