

• 研究论文 •

## 鞘磷脂和神经节苷脂对磷脂酰乙醇胺混合脂超分子体系液晶态立方相 $Im3m$ 和 $Pn3m$ 结构影响的研究

孙润广<sup>\*,a</sup> 张 静<sup>b</sup>

(<sup>a</sup> 陕西师范大学物理学与信息技术学院生物物理与生物医学工程研究室 西安 710062)

(<sup>b</sup> 陕西师范大学食品工程系分析测试实验室 西安 710062)

**摘要** 用磷脂酰乙醇胺(DEPE)、鞘磷脂(Sphingomyeline, Sph)、神经节苷脂(Gm1)和胆固醇(Chol)模拟了生物膜超分子体系液晶态结构, 通过用小角 X 射线衍射(SAXD)对混合脂体系液晶态结构进行了研究, 鉴定出了两种立方相: 即  $Im3m(Q^{229})$  和  $Pn3m(Q^{224})$  结构. 实验发现, 鞘磷脂的含量对 DEPE 膜的结构有一定的影响, 随着鞘磷脂浓度的增加, 混合脂体系的液晶态结构发生了由  $Im3m(Q^{229})$  到  $Pn3m(Q^{224})$  的变化. 神经节苷脂(Gm1)的含量对混合脂体系的液晶态结构也有一定的影响, 当神经节苷脂(Gm1)含量达到某一临界值时, 混合脂体系的液晶态结构发生了从  $Im3m(Q^{229})$  到  $Pn3m(Q^{224})$  的变化. 当 DEPE-Shp-Gm1 超分子聚集体中含有胆固醇时, 胆固醇的极性头部(—OH)与磷脂酰乙醇胺(DEPE)、鞘磷脂(Shp)、神经节苷脂(Gm1)的极性头部通过氢键相互作用形成液晶态立方相  $Im3m(Q^{229})$  结构, 再通过疏水/亲水相互作用形成稳定的  $Pn3m(Q^{224})$  结构.

**关键词** 生物膜; 液晶态立方相; 小角 X 射线衍射

## Effect of Sphingomyeline and Monosialioganglioside-Gm1 on the Phase Behavior of the Super-molecular Structures of 1,2-Dielaidoyl-*sn*-glycero-3-phosphatidyl-ethanolamine: Cubic Phase $Im3m$ to $Pn3m$ Transition in Liquid Crystalline State Phase

SUN, Run-Guang<sup>\*,a</sup> ZHANG, Jing<sup>b</sup>

(<sup>a</sup> Laboratory of Biophysics and Biomedical Technology, College of Physics and Information Technology, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062)

(<sup>b</sup> Laboratory of Analytical Test, Department of Food Engineering, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062)

**Abstract** It has been investigated that the super-molecular structures in liquid crystalline states are made up of DEPE (1,2-dielaidoyl-*sn*-glycero-3-phosphatidyl-ethanolamine), sphingomyeline, monosialioganglioside-Gm1 and cholesterol by small angle X-ray diffraction. The effect of sphingomyeline on DEPE film was determined. A structure transition from  $Im3m(Q^{229})$  to  $Pn3m(Q^{224})$  occurred with increasing sphingomyeline concentration in the super-molecular structures. The effect of monosialioganglioside-Gm1 content on the super-molecular structures was also determined. At a critical concentration of monosialioganglioside-Gm1, the structure transition from  $Im3m(Q^{229})$  to  $Pn3m(Q^{224})$  occurred. The effect of the addition of cholesterol on DEPE-Shp-Gm1 super-molecular structure has also been investigated. There exists an interaction between the polar head (—OH) of cholesterol and that of DEPE, sphingomyeline, monosialioganglioside-Gm1 by oxygen-halogen bond, to form cubic phase of liquid crystalline states. A  $Pn3m(Q^{224})$  struc-

\* E-mail: sunrunguang@snnu.edu.cn; zhangjin@snnu.edu.cn

Received October 16, 2006; revised and accepted December 26, 2006.

国家自然科学基金(No. 20572067)和教育部科学技术研究重点(No. 104167)资助项目.

ture was further formed by hydrophilic/hydrophobic interaction.

**Keywords** biomembrane; cubic phase in liquid crystalline states; small angle X-ray diffraction

生物膜除以脂双层为主要结构特征外, 是否还具有其它结构, 一直是人们感兴趣的问题<sup>[1~7]</sup>. 有人曾对磷脂酰乙醇胺及其水系结构的多型性进行研究, 发现磷脂酰乙醇胺脂质体通常处于六角相<sup>[8]</sup>, 在适当温度和含水量的条件下能自然形成六角相( $H_{II}$ )<sup>[9]</sup>. 钠盐或 PEG500 能诱导 DEPE (1,2-Dielaidoyl-glycero-3-phosphatidyl-ethanolamine) 形成  $Im3m(Q^{229})$  立方液晶相<sup>[10,11]</sup>, 发生相变时立方相挤入片层相和六角相之间<sup>[12]</sup>. 最近 Wang 和 Quinn<sup>[13]</sup> 研究发现胆固醇能诱导 POPE 形成立方相  $Pn3m$ , 而  $\alpha$ -维生素 E 促使 DLPE 形成的立方相  $Pn3m$  与其含量有关<sup>[14]</sup>. Feng 等<sup>[15]</sup> 研究发现, 葡糖脑苷脂能促使 POPE 形成  $Pn3m$  和  $Im3m$  与  $L_{\alpha}$  相共存, 当对其加热或冷却时, 发现  $Pn3m$  与  $H_{II}$  和  $L_{\alpha}$  相共存. 研究表明, 混合脂体系液晶态立方相  $Pn3m$  和  $Im3m$  可能与生物膜的组成密切相关.

为了深刻理解生物膜组成成分之间的相容性、微区形成以及这些复合结构分子的分布情况, 有人曾对磷脂、胆固醇、糖脂类以及一些化学物质形成的复合膜进行了研究<sup>[12~18]</sup>, 发现生物膜的双亲分子在水溶液中形成各种中间相, 随着双亲分子密度的增加, 经历六角相[具有圆或椭圆(ribbon)截面柱形胶束在空间形成六角形的点阵], 立方相(球形胶束在空间形成立方点阵), 直至双连通(脂类双层把水或油分成互相交织而又不相连通的结构)及三连通的结构[脂类双层之间被一种成分(水或油)充胀, 而双层两侧被另一种成分填充]. 我们曾用小角 X 射线技术研究了酸、盐、醇等化学物质对生物膜液晶态结构的影响, 发现了三个新液晶态结构. 研究表明, 在外界环境的影响下生物膜的液晶态可以从双层相变成非双层相. 这些非双层相除常见的立方相和六角相外, 还存在一些更复杂的中间相. 有些化学物质有使生物膜的液晶态趋于形成非双层相的作用<sup>[19~20]</sup>. 最近 Feng 等<sup>[15,21,22]</sup> 用小角 X 射线技术研究了磷脂酰乙醇胺相行为, 发现葡糖脑苷脂能促使 POPE 形成  $Pn3m$  和  $Im3m$  与  $L_{\alpha}$  共存相. 许多混合脂体系都会发生相分离形成微区. 这些微区很可能具有非常重要的生物学意义. 一些感染性疾病、心血管疾病、肿瘤、肌营养不良症等可能与生物膜液晶态的结构变化与功能紊乱有密切关系, 也可能与液晶态立方相的纳米结构有关, 是一个值得认真探讨与研究的问题.

针对这个问题, 我们在前期工作的基础上, 受 Feng 等工作的启发, 对生物膜的骨架分子鞘磷脂(Sphingo-

myeline, Shp)、神经节苷脂(Gm1)、胆固醇(Chol)和磷脂酰乙醇胺形成的混合脂超分子体系的液晶态结构进行了研究. 以磷脂酰乙醇胺、鞘磷脂、神经节苷脂和胆固醇为研究对象, 通过小角 X 射线技术对其超分子体系液晶态结构进行了测定, 在混合脂体系中鉴定出了两个液晶态立方相结构, 发现鞘磷脂、神经节苷脂的浓度变化能引起混合脂体系液晶态立方相结构从  $Im3m(Q^{229})$  到  $Pn3m(Q^{224})$  变化. 这些发现对弄清生物膜结构变化与功能紊乱之间的关系提供了部分理论和实验依据, 具有重要的生物学意义.

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

1,2-反十八碳-3-磷脂酰乙醇胺(1,2-Dielaidoyl-*sn*-glycero-3-phosphatidyl-ethanolamine, DEPE)、胆固醇(Cholesterol, Chol)、鞘磷脂(Sphingomyeline, Sph)、神经节苷脂(Monosialoganglioside-Gm1)购于 Sigma (USA) 公司, 其结构式如图 1 所示. 其它化学试剂购于上海试剂公司.

### 1.2 样品制备

将磷脂酰乙醇胺、鞘磷脂、神经节苷脂和胆固醇按实验要求分别共溶于乙醚中; 将 1/15 mol 磷酸盐缓冲液(PBS, pH 7.4)置于烧瓶中, 放在磁力加热搅拌器上高速搅拌, 温度控制在 60~70 °C 范围内. 在搅拌的同时, 用微量注射器将溶有药物的乙醚(标准大气压下乙醚沸点 34.6 °C)溶液缓慢加入, 加完后在上述温度范围内继续搅拌 90 min, 除去乙醚, 然后密闭保存在电热恒温培养箱中待用, 温度控制在(60±2) °C. 样品的组成见表 1.

### 1.3 小角 X 射线散射(SAXS)实验

小角 X 射线衍射(SAXD)图谱在日本理学 D/max-rB 型旋转阳极 X 射线衍射仪上测得. 样品用浴式超声波发生器振荡 30 min, 将其充分混匀后, 置于特制样品架上进行小角 X 射线衍射测定. 用闪烁计数器作为 X 射线探测系统, 将光信号转换成电信号输入计算机进行数据处理. 测试条件: Cu K $\alpha$  辐射,  $\lambda=0.154056$  nm, Ni 滤波片, 管压为 40 kV, 管流为 100 mA, 扫描速度为 0.5 (°)/min, 时间常数为 2 s, 样品均在室温进行测定, 小角 X 射线衍射数据见表 2.

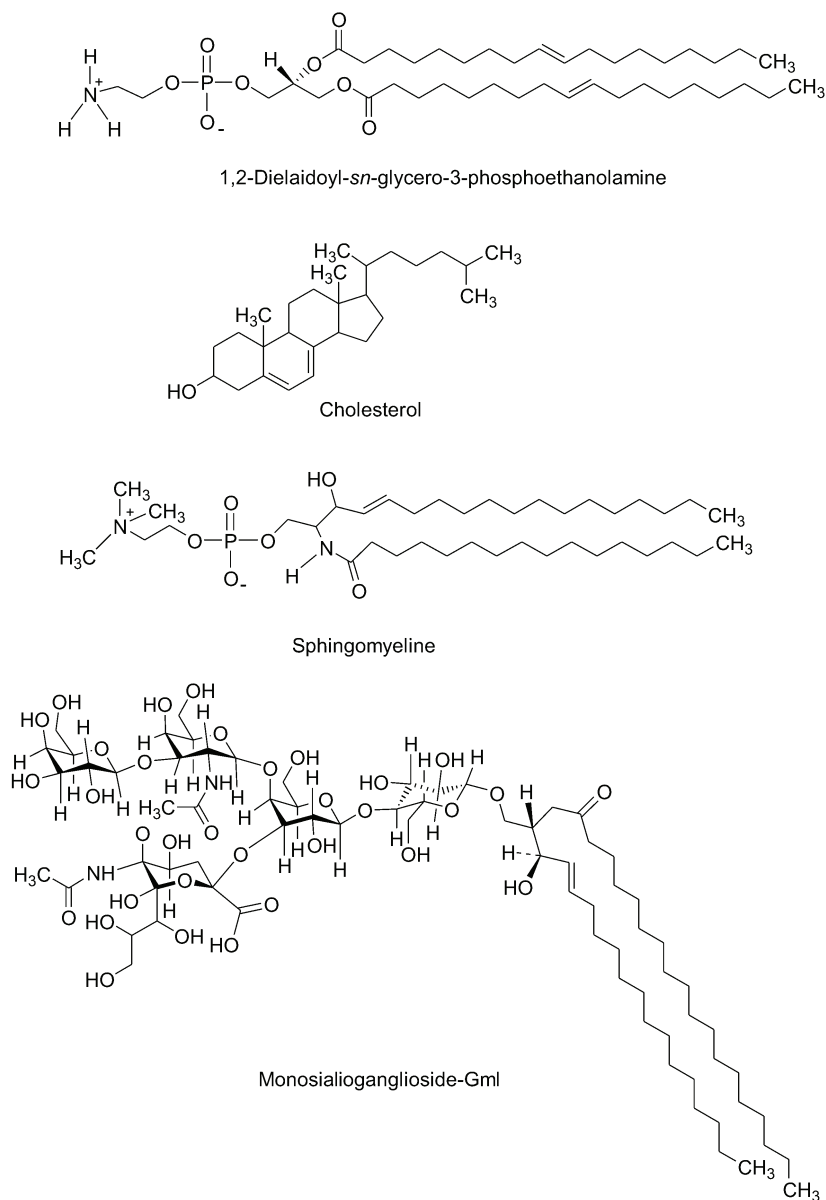


图1 1,2-反十八碳-3-磷脂酰乙醇胺、胆固醇、鞘磷脂、神经节苷脂的结构式

Figure 1 Structures of 1,2-dielaidoyl-*sn*-glycero-3-phosphoethanolamine, cholesterol, sphingomyeline and monosialoganglioside-Gm1

表1 样品的组成成分(摩尔分数)

Table 1 The composition of samples (molar fraction)

Sample No.	Composition	$x(\text{Sph})/\%$	$x(\text{Gm1})/\%$	$x(\text{Chol})/\%$
11	DEPE+Sph	0.5	—	—
12	DEPE+Sph	1.0	—	—
13	DEPE+Sph	1.5	—	—
21	DEPE+Gm1	—	0.5	—
22	DEPE+Gm1	—	1.0	—
23	DEPE+Gm1	—	1.5	—
31	DEPE+Sph+Chol	0.5	—	15
32	DEPE+Sph+Chol	1.5	—	15
41	DEPE+Sph+Gm1+Chol	1.0	0.5	15
42	DEPE+Sph+Gm1+Chol	1.0	1.0	15
43	DEPE+Sph+Gm1+Chol	1.0	1.5	15

表 2 脂筏超分子结构的 X 射线衍射的晶面间距与空间比率

Table 2 The ratios and spacing of the set of lattice planes of the X-ray diffraction of lipid rafts super-molecular structures

Sample No.	The spacing of the set of lattice planes/nm	Ratio
11	18.830, 13.315, 9.411, 7.685, 6.655, 5.952, 5.433, 5.030, 4.706 14.715, 10.408, 8.498, 7.354, 6.582, 6.008, 5.204, 4.906, 4.651	$\sqrt{2} : \sqrt{4} : \sqrt{6} : \sqrt{8} : \sqrt{10} : \sqrt{12} : \sqrt{14} : \sqrt{16}$ $\sqrt{2} : \sqrt{3} : \sqrt{4} : \sqrt{5} : \sqrt{6} : \sqrt{8} : \sqrt{9} : \sqrt{10}$
12	18.820, 13.310, 9.412, 7.685, 6.655, 5.953, 5.434, 5.031, 4.705 14.708, 10.400, 8.492, 7.354, 6.578, 6.012, 5.204, 4.907, 4.651	$\sqrt{2} : \sqrt{4} : \sqrt{6} : \sqrt{8} : \sqrt{10} : \sqrt{12} : \sqrt{14} : \sqrt{16}$ $\sqrt{2} : \sqrt{3} : \sqrt{4} : \sqrt{5} : \sqrt{6} : \sqrt{8} : \sqrt{9} : \sqrt{10}$
13	14.708, 10.400, 8.492, 7.354, 6.578, 6.012, 5.204, 4.907, 4.651	$\sqrt{2} : \sqrt{3} : \sqrt{4} : \sqrt{5} : \sqrt{6} : \sqrt{8} : \sqrt{9} : \sqrt{10}$
21	20.193, 14.272, 10.076, 8.227, 7.125, 6.373, 5.818, 5.386, 5.038, 4.751, 4.506, 4.297, 4.114	$\sqrt{2} : \sqrt{4} : \sqrt{6} : \sqrt{8} : \sqrt{10} : \sqrt{12} : \sqrt{14} : \sqrt{16} :$ $\sqrt{18} : \sqrt{20} : \sqrt{22} : \sqrt{24}$
22	20.185, 14.248, 10.075, 8.226, 7.124, 6.372, 5.817, 5.385, 5.039, 4.751, 4.506, 4.297, 4.114 15.770, 11.150, 9.103, 7.884, 7.052, 6.438, 5.575, 5.256, 4.986, 4.754	$\sqrt{2} : \sqrt{4} : \sqrt{6} : \sqrt{8} : \sqrt{10} : \sqrt{12} : \sqrt{14} : \sqrt{16} :$ $\sqrt{18} : \sqrt{20} : \sqrt{22} : \sqrt{24}$ $\sqrt{2} : \sqrt{3} : \sqrt{4} : \sqrt{5} : \sqrt{6} : \sqrt{8} : \sqrt{9} : \sqrt{10} :$ $\sqrt{11}$
23	15.770, 11.150, 9.103, 7.884, 7.052, 6.438, 5.575, 5.256, 4.986, 4.754	$\sqrt{2} : \sqrt{3} : \sqrt{4} : \sqrt{5} : \sqrt{6} : \sqrt{8} : \sqrt{9} : \sqrt{10} :$ $\sqrt{11}$
31	16.682, 11.795, 9.630, 8.340, 7.461, 6.810, 5.898, 5.560, 5.275	$\sqrt{2} : \sqrt{3} : \sqrt{4} : \sqrt{5} : \sqrt{6} : \sqrt{8} : \sqrt{9} : \sqrt{10}$
32	16.044, 11.345, 9.263, 8.022, 7.173, 6.550, 5.673, 5.348 6.495, 3.750, 3.246, 2.502, 2.454	$\sqrt{2} : \sqrt{3} : \sqrt{4} : \sqrt{5} : \sqrt{6} : \sqrt{8} : \sqrt{9} : \sqrt{10} :$ $1 : \sqrt{3} : 2 : \sqrt{7}$
41	16.044, 11.345, 9.263, 8.022, 7.173, 6.550, 5.673, 5.348, 5.074	$\sqrt{2} : \sqrt{3} : \sqrt{4} : \sqrt{5} : \sqrt{6} : \sqrt{8} : \sqrt{9} : \sqrt{10}$
42	14.236, 10.068, 8.218, 7.117, 6.365, 5.813, 5.034, 4.745, 4.502	$\sqrt{2} : \sqrt{3} : \sqrt{4} : \sqrt{5} : \sqrt{6} : \sqrt{8} : \sqrt{9} : \sqrt{10}$
43	16.044, 11.345, 9.263, 8.022, 7.173, 6.550, 5.673, 5.348, 5.074	$\sqrt{2} : \sqrt{3} : \sqrt{4} : \sqrt{5} : \sqrt{6} : \sqrt{8} : \sqrt{9} : \sqrt{10}$

## 2 结果与讨论

### 2.1 鞘磷脂对 DEPE 立方结构的影响: $Im3m/Pn3m \rightarrow Pn3m$ 的转变

如图 2a 所示, 在 DEPE 中加入  $x=0.5\%$  的鞘磷脂, 其 DEPE-Shp 超分子体系的衍射线空间分别对应于空间群  $Im3m(Q^{229})$  和  $Pn3m(Q^{224})$  的结构. 根据晶格常数  $a$  与晶面间距  $d_{hkl}$  和晶面指数  $hkl$  的关系, 以  $S_{hkl}$  与  $\sqrt{h^2 + k^2 + l^2}$  为坐标作图, 得到一条通过零点的直线, 斜率为  $a$  值的倒数, 由此求得  $Im3m(Q^{229})$  和  $Pn3m(Q^{224})$  的晶格常数分别是 26.626 和 20.805 nm. 实验结果表明, DEPE-Shp 超分子体系处于  $Im3m/Pn3m$  共存的液晶态立方相结构. 随着鞘磷脂浓度的增加, DEPE-Shp 超分子体系中发生了从  $Im3m(Q^{229})$  到  $Pn3m(Q^{224})$  的结构转变, 与此相应的鞘磷脂摩尔分数是  $x=1.0\%$ . 当 DEPE 中含  $x=5\%$  的鞘磷脂时, DEPE-Sph 超分子体系衍射线空间对应于  $Pn3m(Q^{224})$  液晶态立方相结构(图 2b), 晶格常数是 20.800 nm. 实验结果表明, 鞘磷脂对 1,2-反十八碳-3-磷脂酰乙醇胺(DEPE)结构的影响依赖于鞘磷脂的浓度(见表 3).

在 DEPE-鞘磷脂超分子系统中, 高浓度的鞘磷脂诱导形成  $Pn3m$  结构, 低浓度的鞘磷脂促使形成  $Pn3m$  和  $Im3m$  共存的液晶态立方相结构. 在  $Im3m/Pn3m$  液晶态

立方相结构共存时, 晶格常数比是 1.28 (26.625/20.805 = 1.2798). 实验证实 DEPE 分子的极性区存在分子间静电力作用, 即相邻分子间带负电的磷酸基团和带正电的氨基之间相互作用. 在单层膜中这种作用主要发生在同层 DEPE 分子间; 在多层膜中这种作用发生在相邻的两层间, 减弱了同层间的相互作用, 从而使多层膜的间距增大. 因此, 多层膜受其它因素影响较小, 稳定性较好, 明显优于单层膜<sup>[23]</sup>. DEPE 分子在不同 pH 值时极性头磷酸基团的解离状态不同, 形成分子间氢键的状态也不同. 在 pH 值为中性时, DEPE 的磷酸基团带一个负电荷, 氨基带一个正电荷, 分子仍为中性, 难以离解成为 DEPE(-)形式, 但相邻的分子可以通过 van der Waals 力、分子间静电相互作用达到平衡, 形成有序结构; 在 pH 为碱性和酸性时 DEPE 分子成为半解离 DEPE(-1/2) 和 DEPE(-1-1/2) 的解离状态, 相邻分子形成的分子间氢键数减少, 得到的单分子膜有序性降低<sup>[23,24]</sup>.

### 2.2 神经节苷脂(Gm1)对 DEPE 立方结构的影响: $Im3m \rightarrow Im3m/Pn3m \rightarrow Pn3m$ 结构的转变

加入少量神经节苷脂(Gm1)到 DEPE-Gm1 超分子体系中, 促使其形成液晶态立方相结构. 在  $x(Gm1)=0.5\%$  时, 与 DEPE-Gm1 超分子体系的间距(nm)相应的密勒指数是(110), (200), (211), (220), (310), (222),

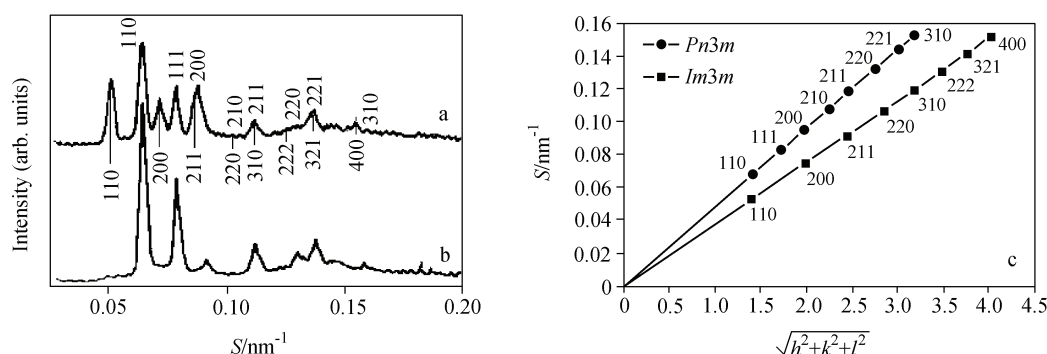


图2 脂筏超分子结构的X射线图

(a) 在  $x(\text{鞘磷脂})=0.5\%$  时, 脂筏超分子体系的衍射线图谱与空间群  $Im3m/Pn3m$  的结构相符, 相应的晶格常数分别是 26.626 和 20.805 nm. (b) 在  $x(\text{鞘磷脂})=1.5\%$  时, 脂筏超分子体系被诱导形成立方相结构, 晶格常数是 20.800 nm

Figure 2 The X-ray pattern of lipid rafts super-molecular structures

(a) At  $x(\text{sphingomyeline})=0.5\%$ , the X-ray pattern of lipid rafts super-molecular structures has a structure identical to that recorded for the  $Im3m/Pn3m$  mixtures obtained, with lattice constant 26.626 and 20.805 nm respectively. (b) At  $x(\text{sphingomyeline})=1.5\%$ , lipid rafts super-molecular structures were induced to form a cubic phase with lattice constant 20.800 nm

表3 鞘磷脂、神经节苷脂和胆固醇对脂筏超分子结构的影响

Table 3 Effect of sphingomyeline, monosialoganglioside and cholesterol on lipid rafts super-molecular structures

Sample	$x(\text{Sph})/\%$	$x(\text{Gm1})/\%$	$x(\text{Chol})/\%$	$d_{\text{max}}/\text{nm}$	$a/\text{nm}$	Liquid crystalline phase
DEPE+Sph	0.5	—	—	18.830/14.715	26.626/20.805	$Im3m/Pn3m$
DEPE+Sph	1.0	—	—	18.820 (14.708)	26.612 (20.800)	$Im3m \rightarrow Pn3m$
DEPE+Sph	1.5	—	—	14.708	20.800	$Pn3m$
DEPE+Gm1	—	0.5	—	20.193	28.553	$Im3m$
DEPE+Gm1	—	1.0	—	20.185/15.770	28.542/22.298	$Im3m/Pn3m$
DEPE+Gm1	—	1.5	—	15.770	22.298	$Pn3m$
DEPE+Sph+Chol	0.5	—	15	16.684	23.591	$Pn3m$
DEPE+Sph+Chol	1.5	—	15	16.044/6.495	22.686/7.5	$Pn3m/H_{II}$
DEPE+Sph+Gm1+Chol	1.0	0.5	15	16.044	22.690	$Pn3m$
DEPE+Sph+Gm1+Chol	1.0	1.0	15	14.236	20.130	$Pn3m$
DEPE+Sph+Gm1+Chol	1.0	1.5	15	16.044	22.690	$Pn3m$

(321), (400), (411/330), (420), (332), 对应于  $Im3m(Q^{229})$  结构. 根据晶格常数  $a$  与间距  $d_{hkl}$  和密勒指数  $hkl$  的关系, 求得它的晶格常数是 28.553 nm. 在  $x(\text{Gm1}) < 1.0\%$  时, 混合脂超分子体系是处于  $Im3m(Q^{229})$  结构. 在  $x(\text{Gm1}) = 1.0\%$  时, 发生从  $Im3m(Q^{229})$  结构到  $Pn3m(Q^{224})$  结构的变化. 混合脂超分子体系属于  $Im3m/Pn3m$  共存的液晶态立方相结构. 在  $x(\text{Gm1}) > 1.0\%$  时, 混合脂超分子体系是处于  $Pn3m(Q^{224})$  结构, 它的晶格常数是 22.298 nm. 随着神经节苷脂(Gm1)浓度在混合脂超分子体系中的增加, 液晶态立方相的晶格常数减小. 空间群  $Im3m(Q^{229})$  和  $Pn3m(Q^{224})$  晶格常数的比率是 1.28. 研究发现, 加入神经节苷脂改变了液晶态立方相的结构. 在含有高浓度的鞘磷脂中, 当 Gm1 浓度增大时, 在混合脂超分子体系中,  $Pn3m(Q^{224})$  比  $Im3m(Q^{229})$  更稳定(见表 3).

神经节苷脂(Gm1)的存在允许磷脂酰乙醇胺(PE)系

统形成液晶态立方相. 在较高的神经节苷脂(Gm1)含量 ( $x=1.5\%$ ) 中, 空间群( $Pn3m$ )结构在 DEPE/Gm1 混合体中形成. 在较低神经节苷脂(Gm1)含量中, 至少两个 ( $Im3m, Pn3m$ ) 结构被发现. 在我们的实验中, 从  $Im3m$  到  $Pn3m$  的转变中没有发现  $Ia3d$  相. 我们认为, 在 DEPE/Gm1 系统中, 通过组分浓度的改变, 可能诱导  $Im3m$  转变成  $Pn3m$ . 在 DEPE 系统中加入鞘磷脂、神经节苷脂、胆固醇, 可能诱导  $Im3m$  通过表面结构的变化形成  $Pn3m$ , 而没有任何结构的破坏. 由此可见, 生物膜液晶态结构的多形性问题是一个十分有趣且值得深入研究的课题, 对揭示生命科学的基本规律具有重要意义.

### 2.3 胆固醇对模拟生物膜结构的影响: $Pn3m \rightarrow H_{II}$ 相结构的转变

加入一定含量的胆固醇 [ $x(\text{Chol}) = 15\%$ ] 到 DEPE-Shp 超分子体系中, 实验发现, DEPE-Shp-Chol 超分子体

系的晶面间距(nm)的比率是  $\sqrt{2} : \sqrt{3} : \sqrt{4} : \sqrt{5} : \sqrt{6} : \sqrt{8} : \sqrt{9}$ , 表明 DEPE-Shp-Chol 超分子体系处在  $Pn3m(Q^{224})$  结构. 当模拟生物膜超分子体系样品中含有少量的鞘磷脂 [ $x(\text{鞘磷脂})=0.5\%$ ] 时, 小角 X 衍射结果 (见表 2) 表明属  $Pn3m(Q^{224})$  结构, 晶格常数是 23.591 nm.

在  $x(\text{鞘磷脂})=1.5\%$  时, 加入  $x=15\%$  胆固醇到 DEPE-Shp-Chol 超分子体系中, 能促使形成  $Pn3m(Q^{224})$  和六角相  $H_{II}$  共存相, 即  $Pn3m(Q^{224})/H_{II}$ .  $Pn3m(Q^{224})$  结构的晶格常数是 22.686 nm. 六角相  $H_{II}$  的晶格常数是 7.5 nm.

在低浓度神经节苷脂溶液 [ $x(\text{Gm1})=0.5\%$ ] 中, 混合脂超分子体系是  $Pn3m(Q^{224})$  结构, 晶格常数为 20.130 nm. 胆固醇对混合脂超分子体系的影响结果表明, 无论在高浓度的神经节苷脂溶液 [ $x(\text{Gm1})=1.5\%$ ] 中, 还是在低浓度的神经节苷脂溶液 [ $x(\text{Gm1})=0.5\%$ ] 中, 它均有助于体系形成  $Pn3m(Q^{224})$  结构. 胆固醇对  $Pn3m(Q^{224})$  结构具有稳定作用 (见表 3).

胆固醇是极为重要的生物分子, 一般集中分布在作为细胞边界的外周膜上, 在生物膜结构和功能中扮演着重要的角色. 它是类固醇激素 (steroid hormones) 和胆汁酸 (bile acids) 合成的前体. 胆固醇的合成和利用对人体健康和疾病防治具有重要作用. 如冠状动脉硬化在临床上的特征是胆固醇的变态沉积 (abnormal deposition) 和脂蛋白 (lipoproteins) 胆固醇增多, 这些沉积物最终导致动脉硬化症<sup>[26]</sup>. 为了防止胆固醇在人体的过量堆积和变态沉积, 必须对胆固醇的合成和利用进行严格控制. 胆固醇 (Chol) 对 DEPE-Shp 超分子聚集体的影响表明, 在高的鞘磷脂浓度中胆固醇有利于形成  $Pn3m(Q^{224})$  和六角形  $H_{II}$  液态有序共存相. 在低的鞘磷脂浓度中, 胆固醇促使 DEPE-Shp 超分子聚集体形成  $Pn3m(Q^{224})$  的液晶态结构. 在 DEPE-Shp-Gm1-Chol 超分子聚集体中, 胆固醇有助于形成稳定的  $Pn3m(Q^{224})$  的液晶态结构. 这是因为胆固醇只有一个 3-OH 极性头部, 当 DEPE-Shp-Gm1 超分子聚集体中含有胆固醇时, 胆固醇的极性头部 (—OH) 与磷脂酰乙醇胺 (DEPE)、鞘磷脂 (Shp)、神经节苷脂 (Gm1) 的极性头部通过氢键相互作用形成液晶态立方相  $Im3m(Q^{229})$  结构, 它再通过疏水/亲水相互作用形成稳定的  $Pn3m(Q^{224})$  结构. 胆固醇的加入扰乱 DEPE 分子脂酰链的旋转异构化运动, 降低了膜的流动性, 对 DEPE 单分子膜有比较显著的稳定作用. 胆固醇与磷脂分子的相互作用研究表明, 膜呈液晶态时脂类中的胆固醇含量增加, 具有增大有序性, 降低流动性的作用. 人体内过多的胆固醇将导致膜流动性减小, 使膜硬化<sup>[27]</sup>. 适当控制体内的胆固醇含量对健康是有益的, 这对认识

生命的本质, 不断促进生物学的发展具有重要意义.

### 3 结论

利用磷脂酰乙醇胺 (DEPE)、鞘磷脂 (Sphingomyeline, Shp)、神经节苷脂 (Gm1) 和胆固醇 (Chol) 的自组装特性, 模拟了生物膜超分子体系液晶态结构, 通过用小角 X 射线衍射对其超分子体系液晶态结构的测定, 发现了两个液晶态立方相结构  $Im3m(Q^{229})$  和  $Pn3m(Q^{224})$ . 鞘磷脂的含量对 DEPE 膜的结构有一定的影响, 随着鞘磷脂浓度的增加, 混合脂超分子液晶态立方相结构发生了由  $Im3m(Q^{229})$  到  $Pn3m(Q^{224})$  结构的变化. 神经节苷脂 (Gm1) 的含量对混合脂超分子结构也有一定的影响, 当神经节苷脂 (Gm1) 含量达到某一临界值时, 混合脂超分子液晶态立方相结构发生了从  $Im3m(Q^{229})$  到  $Pn3m(Q^{224})$  结构的变化. 胆固醇的极性头部 (—OH) 与磷脂酰乙醇胺 (PE)、鞘磷脂 (Shp)、神经节苷脂 (Gm1) 的极性头部通过氢键相互作用形成液晶态立方相  $Im3m(Q^{229})$  结构, 它再通过疏水/亲水相互作用形成稳定的  $Pn3m(Q^{224})$  结构. 胆固醇的加入扰乱了 DEPE 分子脂酰链的旋转异构化运动, 降低了膜的流动性, 对 DEPE 单分子膜有较显著的稳定作用.

### References

- 1 Duyl, B. Y.; Ganchev, D.; Chupin, V.; Kruijff, B. *FEBS Lett.* **2003**, 547, 101.
- 2 Onofrio, T. G. D.; Binns, C. W.; Muth, E. H. *J. Biol. Phys.* **2002**, 28, 605.
- 3 Zhai, X. H.; Bartelc, M.; Brezesinski, G.; Rattay, B.; Mohwald, H.; Lia, J. B. *Chem. Phys. Lipids* **2005**, 133, 79.
- 4 Li, Q.-R.; Ma, J.; Tan, L.; Wang, C.; Li, N.; Li, Y.-S.; Xu, G.-W.; Li, J.-T. *Sci. China, Ser. C* **2005**, 35, 373 (in Chinese).  
(李秋荣, 马健, 谭力, 王畅, 李宁, 李幼生, 许国旺, 李介涛, 中国科学 C 辑, **2005**, 35, 373.)
- 5 Allen, T. M.; Hong, K.; Papahadjopoulos, D. *Biochemistry* **1990**, 29, 2976.
- 6 Sun, R.-G.; Zhang, J. *Chem. J. Chin. Univ.* **2003**, 24, 1256 (in Chinese).  
(孙润广, 张静, 高等学校化学学报, **2003**, 24, 1256.)
- 7 Zhang, J.; Sun, R. G. *Chin. Phys.* **2002**, 11, 776.
- 8 Onofrio, T. G. D.; Binns, C. W.; Muth, E. H. *J. Biol. Phys.* **2002**, 28, 605.
- 9 Seddon, J. M. *Biochim. Biophys.* **1990**, 1031, 1.
- 10 Tenchov, B.; Koynova, R.; Rapp, G. *Biophys. J.* **1998**, 75, 853.
- 11 Koynova, R.; Tenchov, B.; Rapp, G. *Biochim. Biophys. Acta* **1997**, 1326, 167.
- 12 Angelova, A.; Ionov, R.; Koch, M. H. J.; Rapp, G. *Arch.*

- Biochem. Biophys.* **2000**, 378, 93.
- 13 Wang, X. Y.; Quinn, P. J. *Biochim. Biophys. Acta* **2002**, 1564, 66.
- 14 Wang, X. Y.; Yu, Z. W.; Quinn, P. J. *Biophys. Chem.* **1999**, 82, 91.
- 15 Feng, Y.; Yu, Z. W.; Quinn, P. J. *Chem. Phys. Lipids* **2003**, 126, 141.
- 16 Riniaa, H. A.; de Kruij, B. *FEBS Lett.* **2001**, 504, 194.
- 17 Angelova, A.; Ionov, R.; Koch, M. H. J.; Rapp, G. *Arch. Biochem. Biophys.* **2000**, 378, 93.
- 18 Zhang, J.; Sun, R.-G. *Acta Chim. Sinica* **2006**, 64, 1993 (in Chinese).  
(张静, 孙润广, 化学学报, **2006**, 64, 1993.)
- 19 Sun, R.-G.; Zhang, J.; Wang, Y.-C. *Sci. China, Ser. B* **1997**, 27, 261 (in Chinese).  
(孙润广, 张静, 王永昌, 中国科学 B 辑, **1997**, 27, 261.)
- 20 Sun, R.-G.; Zhang, J.; Qi, H. *Acta Chim. Sinica* **2002**, 60, 841 (in Chinese).  
(孙润广, 张静, 齐浩, 化学学报, **2002**, 60, 841.)
- 21 Feng, Y.; Yu, Z. W.; Quinn, P. J. *Chem. Phys. Lipids* **2002**, 114, 149.
- 22 Feng, Y.; Rainteau, D.; Chachaty, C.; Yu, Z. W.; Wolf, C.; Quinn, P. J. *Biophys. J.* **2004**, 86, 2208.
- 23 Yuan, C.-B.; Fu, D.-G.; Ding, D.-S.; Lu, Z.-H.; Liu, J.-Z. *Sci. China, Ser. B* **1997**, 27, 152 (in Chinese).  
(袁春波, 付德刚, 丁德胜, 陆祖宏, 刘举正, 中国科学 B 辑, **1997**, 27, 152.)
- 24 Mu, Y.-D.; Liu, H.-G.; Zhang, R.-J.; Huang, W.; Feng, X.-S. *Chin. J. Appl. Chem.* **2005**, 22, 823 (in Chinese).  
(牟英迪, 刘洪国, 张人杰, 黄伟, 冯绪胜, 应用化学, **2005**, 22, 823.)
- 25 Boggs, J. M. *Biochim. Biophys. Acta* **1987**, 906, 353.
- 26 Chen, L.; Xu, C.-M.; Yuan, J.-G.; Pan, H.-Z. *Prog. Biochem. Biophys.* **2003**, 30, 54 (in Chinese).  
(陈岚, 许彩民, 袁建刚, 潘华珍, 生物化学与生物物理进展, **2003**, 30, 54.)
- 27 Wang, J.-X.; Zhang, X.-T.; Jiang, X.-H.; Li, Y.-C.; Huang, Y.-B.; Du, Z.-L. *Prog. Biochem. Biophys.* **2004**, 31, 969 (in Chinese).  
(王景雪, 张兴堂, 蒋晓红, 李蕴才, 黄亚彬, 杜祖亮, 生物化学与生物物理进展, **2004**, 31, 969.)

(A0610168 PAN, B. F.; DONG, H. Z.)