莱氏衣原体膜糖脂组成及相变行为*

黄 芬　赵宝贞　文德成
（中国科学院生物物理究研所，北京）
钱 玉 民
（中国科学院长春应用化学研究所）

关键词　莱氏衣原体、糖脂、脂双层、六角形 II 结构

糖脂是莱氏衣原体膜上主要成分，一般约占膜脂质 50% 左右．关于糖脂在膜上的生理功能至今了解很少．本文对一种新的莱氏衣原体 AIH 089 菌株膜糖脂组成及其物理性质进行了研究．冰冻断裂电子显微镜结果表明单葡萄糖甘油二酯脂质体形成六角形 II 结构，而双葡萄糖甘油二酯形成脂双层结构．

一、材料与方法

细胞生长：莱氏衣原体 AIH 089 菌株细胞培养参照文献[1]．

糖脂分离分析方法[2]：莱氏衣原体 AIH 089 菌株细胞经离心收集后，加入一定量水饱和正丁醇抽提，然后在旋转蒸发器中蒸干，用氯仿：甲醇：水(8:4:3，V/V) 进一步抽提脂质．待溶剂分层后，取下相溶液，用氮气除去溶剂，样品经洗涤后加至硅酸柱，分别用氯仿：丙酮 (1:1，V/V) 及丙酮为洗脱剂，即可获单葡萄糖甘油二酯 (MGDG) 及双葡萄糖甘油二酯 (DGDG)．上述糖脂再用硅胶 G 薄层层析进一步纯化，展开剂为氯仿：丙酮：醋酸(6:6:1，V/V) 糖脂用碘蒸气熏蒸染色，根据比移 (Rf) 鉴定 MGDG 及 DGDG．

脂质体制备：除以重蒸水代替缓冲液外，其余操作参照文献[3]．

冰冻断裂电子显微镜技术：操作步骤参照文献[3]．

脂肪酸分析用气相色谱分析 MGDG 及 DGDG 中脂肪酸组成，具体操作参照文献[4]．

图 1　薄层层析分离莱氏衣原体 AIH089 膜上糖脂
A. DGDG；B. MGDG；C. 未知．
溶剂系统：氯仿：丙酮：醋酸 (6:6:1，V/V)

二、结果与讨论

莱氏衣原体膜糖脂组成主要为单葡萄糖甘油二酯和双葡萄糖

本文 1987 年 10 月 9 日收到．
* 国家自然科学基金资助项目．

表 1　莱氏衣原体 AIH 089 菌株膜上 MGDG 与 DGDG 脂肪酸组成

糖脂种类	脂肪酸链长及含量百分数						
	12:0	14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2
MGDG	11.21	4.11	44.47	痕量	12.37	23.97	3.00
DGDG	0.63	2.11	45.54	痕量	12.79	30.50	8.43

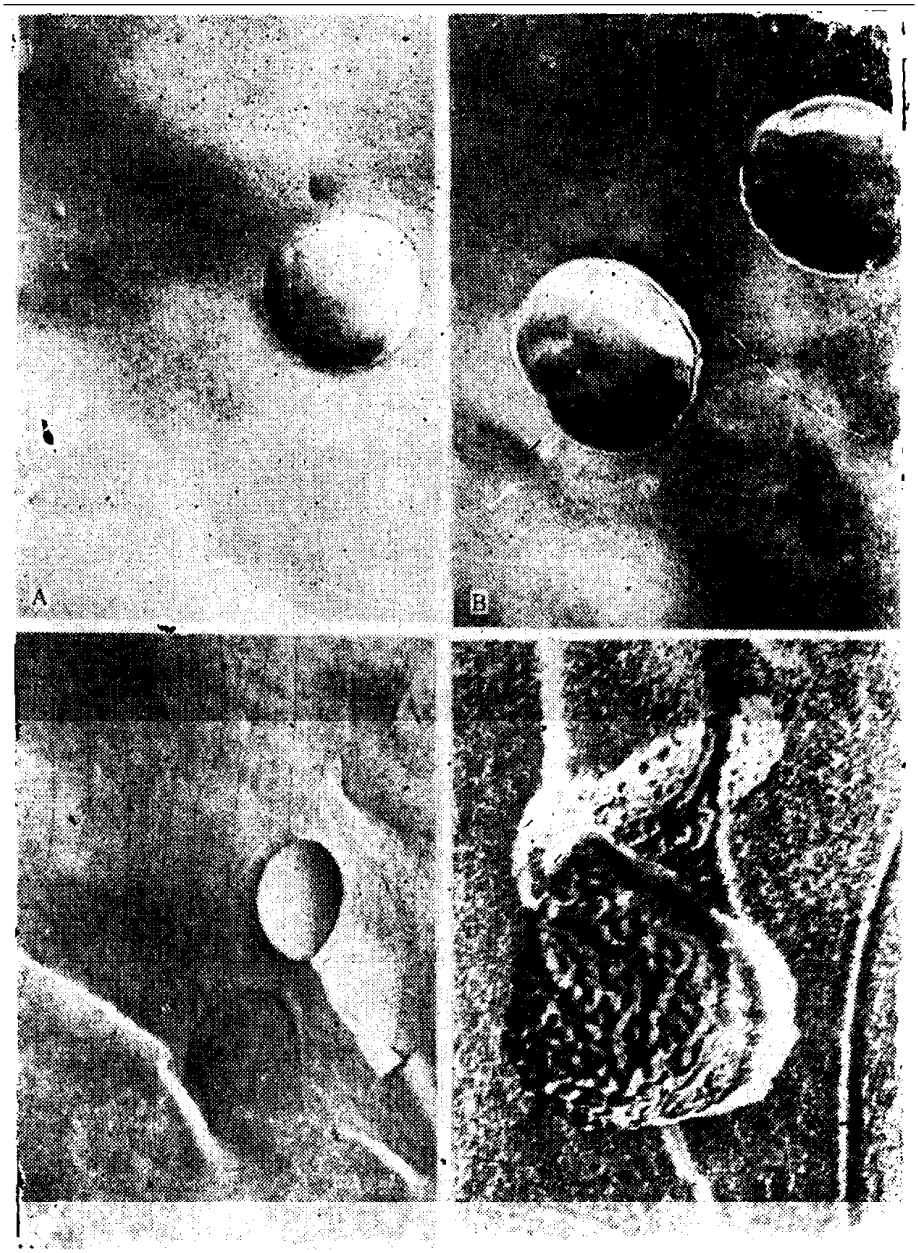


图 2　莱氏衣原体 AIH 089 膜上纯化的糖脂形成脂质体冰冻断裂电镜照片
A. MGDG/DGDG (25℃) ×52500;　B. MGDG/DGDG (55℃) ×52500;
C. MGDG (25℃) ×52500;　D. MGDG (55℃) ×105000

甘油二酯.图 1 为单向薄层层析分离出莱氏衣原体 AIH 089 菌株膜糖脂，结果分离出三个斑点，其中 A，B 分别为 DGDG 与 MGDG，C 为未知成分，DGDG 含量比 MGDG 为

高.脂肪酸分析结果表明，MGDG 中 16 碳与 18 碳脂肪酸约占总脂肪酸 80% 左右，DGDG 16 碳加 18 碳脂肪酸约占 90% 左右(表 1).

冰冻断裂电镜结果表明,MGDG 加 DGDG 混合脂质体在 25℃ 时为脂双层结构(图 2A)，在 55℃ 时可观察到少量类脂颗粒，而 MGDG 脂质体在 25℃ 时冰冻断裂面也为脂双层结构(图 2C)，当 MGDG 脂质体在 55℃ 时，脂质体冰冻断裂面出现六角形 II 结构(图 2D).

1979 年 Verkleij 等[5] 首次提出生物膜上存在各种结构，除脂双层为其基本结构外，尚存在六角形 II 结构. 这种六角形 II 结构与生物膜上某些重要生理功能有关，如细胞融合、Ca^{2+} 的运送等等.近年来不少模型膜实验结果支持了这种假说,并已得到广泛重视.我们曾发现山莨菪碱能促进磷脂酰乙醇胺[6] 心磷脂以及二油酰磷脂酰胆碱脂质体从脂双层转变为六角形 II 结构[3]. 糖脂是莱氏衣原体膜中重要组分，但对其结构功能的研究很少. 主要困难是不易得到一定数量的糖脂供研究用. Wieslender 等[7]曾用 ^{1}HNMR 与小角 X 衍射技术研究莱氏衣原体 A 菌株膜糖脂的相变行为，发现其中 MGDG 在生理温度可由脂双层转变为六角形 II 结构. 莱氏衣原体 AIH 089 菌株膜糖脂组成及其性质的研究至今未见报道. 我们发现该菌株膜糖脂组成与莱氏衣原体 A 菌株膜上糖脂相似,但比例却不相同.在棕榈酸与油酸混合培养基中生长的莱氏衣原体 A 菌株膜上 MGDG 与 DGDG 含量几乎相等,而 AIH 089 菌株膜上 DGDG 含量却明显比 MGDG 为高. 冰冻断裂电镜实验结果表明 MGDG 加 DGDG 混合糖脂脂质体中当 DGDG 为主要成分时形成脂双层结构，而 MGDG 脂质体则易形成六角形 II 结构. 据文献报道莱氏衣原体膜上 MGDG 只能形成六角形 II 结构[8]我们发现 AIH 089 膜上分离出 MGDG 很难形成脂质体，即使有时形成脂质体但数量很少形态也不够典型，进一步的研究正在进行中.

致谢： 本工作得到本所电镜室鲁崎唔同志大力支持,特致谢意.

参 考 文 献

[1] Chen, J. W. et al., *Biochim. Biophys. Acta*, **777**(1984), 151—154.
[2] 赵宝贞等，生物化学与生物物理进展，**4**(1986)，56—58.
[3] 黄芬等，科学通报，**31**(1986)，7：542—543.
[4] 付一工等，生物物理学报，**1**(1985)，181—198.
[5] Verkleij, A. J. et al., *Nature*, **279**(1979), 162—163.
[6] 黄芬等，科学通报，**30**(1985)，8：614—616.
[7] Wieslander, A. et al., *Bichim. Biophys. Acta*, **512**(1978), 241—253.
[8] De Kruiff, B. et al., in *The Enzymes of Biological Membranes*, 2nd ed., Vol. 1, Membrane structure and dynamic, Plenum Press, New York, 1985, 131—204.