科 学 通 报
第 39 卷 第 16 期 CHINESE SCIENCE BULLETIN 1994 年 8 月

金属离子对鞘磷脂脂双层极性头构象的影响*

袁春波 赵大庆 裴奉奎 倪嘉缵
(中国科学院长春应用化学研究所稀土化学与物理开放实验室，长春 130022)
赵 冰 黄 芬
(吉林大学分子光谱和分子结构开放实验室，长春 130023) (中国科学院生物物理研究所，北京 100080)

关键词 金属离子、鞘磷脂、核磁共振、Raman 光谱

稀土毒理学以及稀土离子作为钙离子的探针的研究受到普遍关注，人们对稀土离子的生物化学性质进行了广泛研究[1]. 作者[2]曾报到了金属离子对 DPPC 脂质体的极性头构象的影响. 鞘磷脂是神经组织细胞膜的重要磷脂组分，和 DPPC 有相似的极性头. 本文利用核磁共振结合 Raman 光谱研究了金属离子对鞘磷脂脂双层的极性头构象的影响.

1 材料和方法

牛脑鞘磷脂系Sigma 公司产品，D_2O(99.8%) 和 $CaCl_2$(分析纯) 系北京化工厂产品. $GdCl_3$, $EuCl_3$ 和 $LaCl_3$ 溶液分别用 99.99% 的 Gd_2O_3, Eu_2O_3 和 La_2O_3 溶于盐酸，除去过剩酸，浓度用 EDTA 标定. 核磁共振实验在 Varian Unity 400 型核磁共振仪上进行. 实验温度 50°C. 质子的 T_1 值测定采用反转恢复法. 二维 NOESY 谱采用的脉冲序列为 $(\pi/2\text{-}t_1\text{-}\pi/2\text{-}t_m\text{-}\pi/2\text{-}t_2)n$. 为了压制 J 偶合交叉峰，在混合时间引入 10% 的随机变化. 核磁样品的制备参照文献[2].

Raman 光谱在 Brucker 公司 RFS-100 Fourier 变换 Raman 光谱仪上得到. 激光器为 Nd-YAG (1.064μm)，检测器为 InSb，激光功率 100mW. 扫描速度 1 次/s, 2000 次累加，平均分辨率 4cm^{-1}，样品制备依照文献[3]，实验温度为 18℃ .

2 结果和讨论

2.1 稀土离子和鞘磷脂(SPM)脂双层的键合位置

表 1 鞘磷脂(SPM)脂质体 ^1H NMR 谱线归属及 T_1 值

化学位移 (ppm)	归属	T_1(s)*	
		0.1mol/L SPM	0.01 mol/L SPM + 0.02 mmol/L Gd^{3+}
0.88	CH_3	0.85	0.83
1.28	$(CH_2)n$	0.71	0.67
2.00	CH_2CON	0.70	0.65
3.22	$N(CH_3)_3$	0.43	0.32
3.66	CH_2N	0.42	0.33
4.29	CH_2OP	0.36	0.19
5.29	CH=CH	0.70	0.60

1993-11-13 收稿，1994-04-02收修改稿.
* 国家攀登计划稀土基础研究、吉林大学分子光谱和分子结构开放实验室资助项目.

表1给出了鞘磷脂脂质体的^{1}H NMR的谱线归属以及引入稀土离子Gd^{3+}前后T_1值. 由于Gd^{3+}为弛豫离子，距离Gd^{3+}越近的氢原子其T_1值减小越大. 从表1可以看到，靠近磷氧基团的氢原子T_1值变化最大. 这说明稀土离子是键合到鞘磷脂脂双层的极性头磷酸基团部位，即稀土离子和磷酸基团的氧原子配位.

2.2　稀土离子和鞘磷脂(SPM)作用的2D NOESY谱研究

我们用2D-NOESY谱考查了稀土离子对极性头构象的影响. 图1给出了鞘磷脂以及鞘磷脂与稀土Eu^{3+}作用的2D-NOESY谱，其中SPM/Eu^{3+}的摩尔比为2:1. 从图1(a)可以看

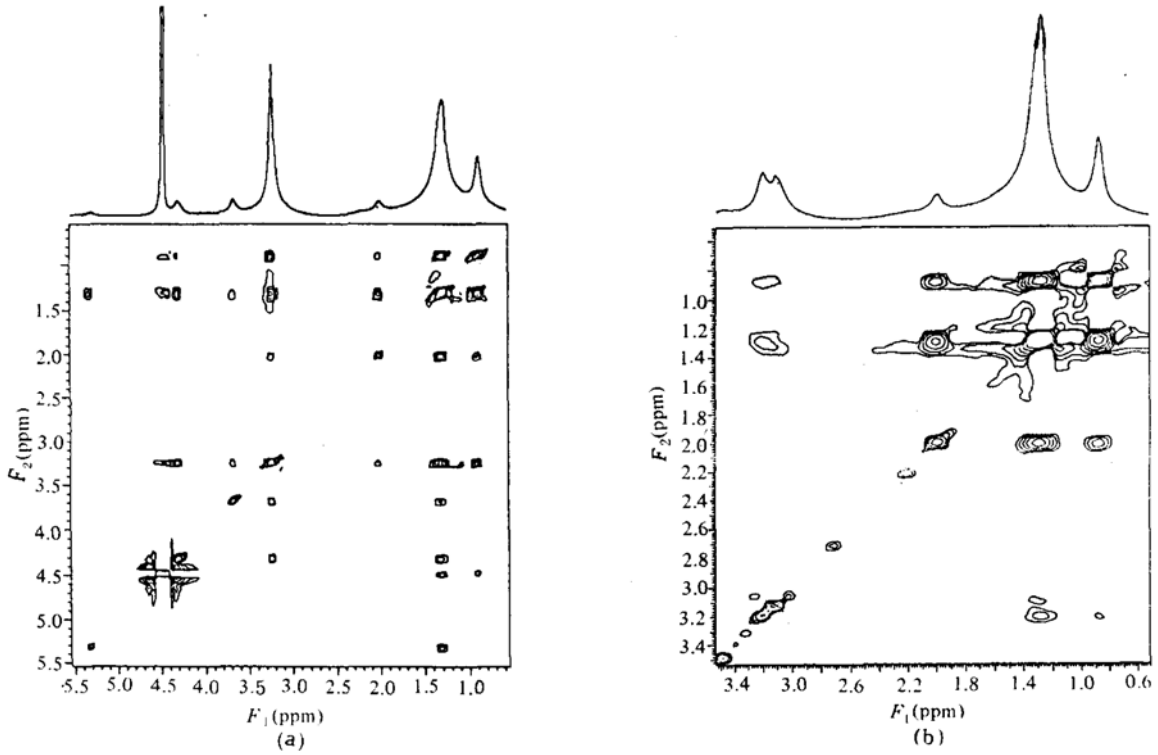


图1　鞘磷脂(a)以及鞘磷脂和Eu^{3+}(b)作用的2D-NOESY

到鞘磷脂脂双层的极性头的$N(CH_3)_3$的质子峰和脂酰链亚甲基$(CH_2)_n$的质子峰有NOE相关峰，说明这两个基团的空间距离在5 A以内. 说明与二棕榈酰磷脂酰胆碱(DPPC)相同，鞘磷脂脂双层的极性头也处于平行于膜平面方向伸展. 加入稀土离子Eu^{3+}后，由于Eu^{3+}只能结合于脂双层的外层，只对外层的^{1}H峰产生顺磁位移影响. 从图1(b)可以看到$N(CH_3)_3$的^{1}H峰发生分裂，外层峰向高场移动. 但不论是内层还是外层，都存在$N(CH_3)_3$和亚甲基$(CH_2)_n$的^{1}H NOE相关峰，而且它们的相对强度变化很小，说明不论是内层还是外层，$N(CH_3)_3$和$(CH_2)_n$的空间距离还在5A以内. 这就要求极性头平行膜平面伸展. 因此，我们认为金属离子的作用没有改变极性头的空间取向.

2.3　$CaCl_2$, $LaCl_3$和鞘磷脂作用的FT-Raman光谱研究

鞘磷脂以及与0.1 mol/L $CaCl_2$, 0.1 mol/L $LaCl_3$作用的Raman光谱(14000 — 600 cm^{-1})示于图2.

图2 谱峰的归属列于表2. 胆碱头的C-N 全对称伸缩振动峰对O-C-C-N^+的骨架构象

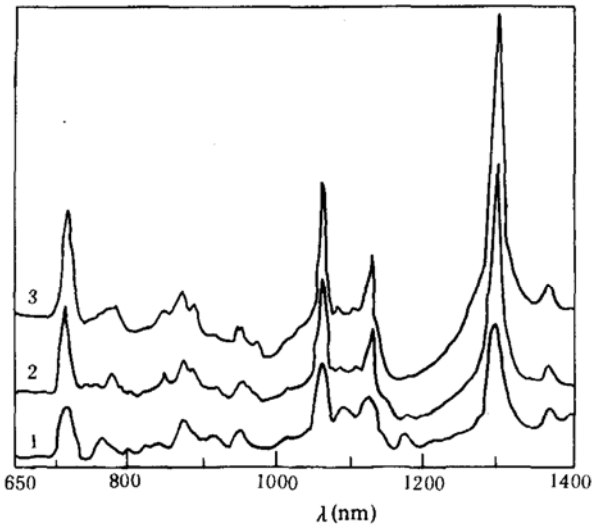


图2 鞘磷脂以及鞘磷脂与 $CaCl_2$, $LaCl_3$ 作用的 Raman 光谱
1. 鞘磷脂, 2. 鞘磷脂+0.1mol/L $CaCl_2$, 3. 鞘磷脂+0.1mol/L $LaCl_3$

表2 鞘磷脂的 Raman 谱峰归属

峰值(cm^{-1})	归 属	参考文献
717	C_4N^+ 全对称伸缩振动	[4]
1063	C-C-C 全反式 B_{1g} 模式振动	[5]
1090	C-C-C 旁式构象振动	
1128	C-C-C 全反式 A_g 模式振动	
1296	$(CH_2)_n$ 面内扭曲振动	[6]

敏感[4]. 当O-C-C-N^+处于 gauche 构象时, C-N 振动峰出现在 717cm^{-1}, 页处于 trans 构象时, C-N 振动位移至 770cm^{-1}. 因此可以用来考察金属离子对鞘磷脂极性头构象的影响. 不论加入 0.1mol/L $CaCl_2$ 或 0.1mol/L $LaCl_3$ 溶液, C-N 的全对称伸缩振动峰 717cm^{-1} 都没有发生峰位的移动, 而且也没有出现 770cm^{-1} 峰. 这一结果说明金属离子键合到极性头的磷酸部位没有引起极性头构象的改变, 即 O-C-C-N^+ 依然为 gauche 构象, 极性头的空间取向没有发生变化, 这与 2D-NOESY 的结果一致.

早期的 NMR 研究[5] 认为, 稀土离子的作用改变了 DPPC 极性头的空间取向, 即 O-C-C-N^+ 由gauche 转变为 trans 构象. 极性头由平行膜平面变成垂直膜平面, 建立了经典的金属离子作用模型. 而现代核磁方法[2] 和 Raman[3] 的结果均表明金属离子的作用没有引起 DPPC 发生这种构象和空间取向的变化, 极性头依然平行于膜平面. 从我们实验结果可知, 鞘磷脂在多价金属离子作用下和 DPPC 一样, 没有发生构象的变化, 极性头仍平行膜平面伸展.

参 考 文 献

[1] Evans, C. H., *Biochemistry of Lanthanides*, Plenum Press, New York, 1990, 339.
[2] 赵大庆、高新风、倪嘉缵等, 科学通报, 1993, **38** (12): 1094—1097.
[3] Akutsu, H., Suezaki, Y., Yoshikawa, W. *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta*, 1986, **854**: 213.
[4] Akutsu, H., *Biochemistry*, 1981, **20**: 7359.
[5] Snyder, R. G., *J. Chem. Phys.*, 1967, **47**: 1316.
[6] Snyder, R. G., Schachtschneider, J. H., *Spectrochim. Acta*, Part A, 1963, **19**: 85.
[7] Hauser, H., Phillips, M. C., Levine, B. A. *et al.*, *Nature*, 1976, **261**: 390.