

胆固醇对心磷脂脂质体多形性的影响

鲁崎晤 文德成 赵宝贞 黄 芬

(中国科学院生物物理研究所,北京)

关键词 胆固醇、心磷脂、脂双层、六角形 II 结构

胆固醇是生物膜上重要组分,它在生物膜上具有特殊的生理功能,如调节生物膜脂的流动性,影响膜的通透性等。关于胆固醇对生物膜上心磷脂多形性的影响过去报道极少,并认为胆固醇对心磷脂无明显作用。本文研究了胆固醇对牛心磷脂脂质体相变行为的影响,结果表明,胆固醇能促进心磷脂脂质体从脂双层转变为六角形 II 结构。

一、材料与方 法

胆固醇与牛心磷脂均为美国 Sigma 公司产品。薄层层析表为单一成分。

1. 脂质体制备 取一定量心磷脂(溶于氯仿溶液)加入不同克分子比胆固醇,混合均匀,真空干燥成薄层,在冰箱中放置过夜,心磷脂-胆固醇混合物用 Tris-HCl 缓冲液重悬 (pH 7.0),脂质体最终浓度为 40mg/ml,用国产 YKH-1 型液体快速混合器振荡 12min (温度 55℃),则形成脂质体。取纯心磷脂脂质体作为对照。

2. 冰冻断裂电子显微镜技术 取一定量胆固醇-心磷脂混合脂质体悬液,滴入样品台,在温度平衡条件下,将样品台迅速投入液氮冷冻,样品在 Balzers BAF_{400D} 冰冻断裂装置内断裂,真空度为 1×10^{-6} mbar,铂-碳投影,复形用氯仿-甲醇清洗,然后在 JEM-100CX 电子显微镜下观察。

二、结果与讨论

过去我们曾报道山莨菪碱能促进磷脂酰乙醇胺或心磷脂脂质体形成类脂颗粒或六角形 II 结构^[1,2]为了探讨胆固醇对心磷脂脂质体多形性的影响,我们分别在心磷脂中加入不同浓度的胆固醇,采用冰冻断裂电子显微镜技术,观察脂质体冰冻断裂面出现的变化(图 1 所示)。可观察到胆固醇能促进心磷脂形成六角形 II 结构。图 1a 为心磷脂脂质体在 55℃ 时的冰冻断裂图片。脂质体断裂面为光滑状,反映心磷脂脂质体在高温时仍为脂双层结构,当胆固醇-心磷脂克分子比为 0.3:1 时,在混合脂质体冰冻断裂面出现类脂颗粒和管状条纹,其重复距离为 14nm。图 1b 即表明六角形 II 结构的出现。随着胆固醇的浓度增加,管状条纹更加明显,条纹间的重复距离为 11nm(图 1d)。有的管状中有少量类脂颗粒出现(图 1c)。由此证明胆固醇能使心磷脂从脂双层转变为六角形 II 结构。为了排除二价阳离子的干扰,我们在缓冲液中加入 0.2mol/l EDTA 仍获同样实验结果。

本文 1987 年 10 月 4 日收到。

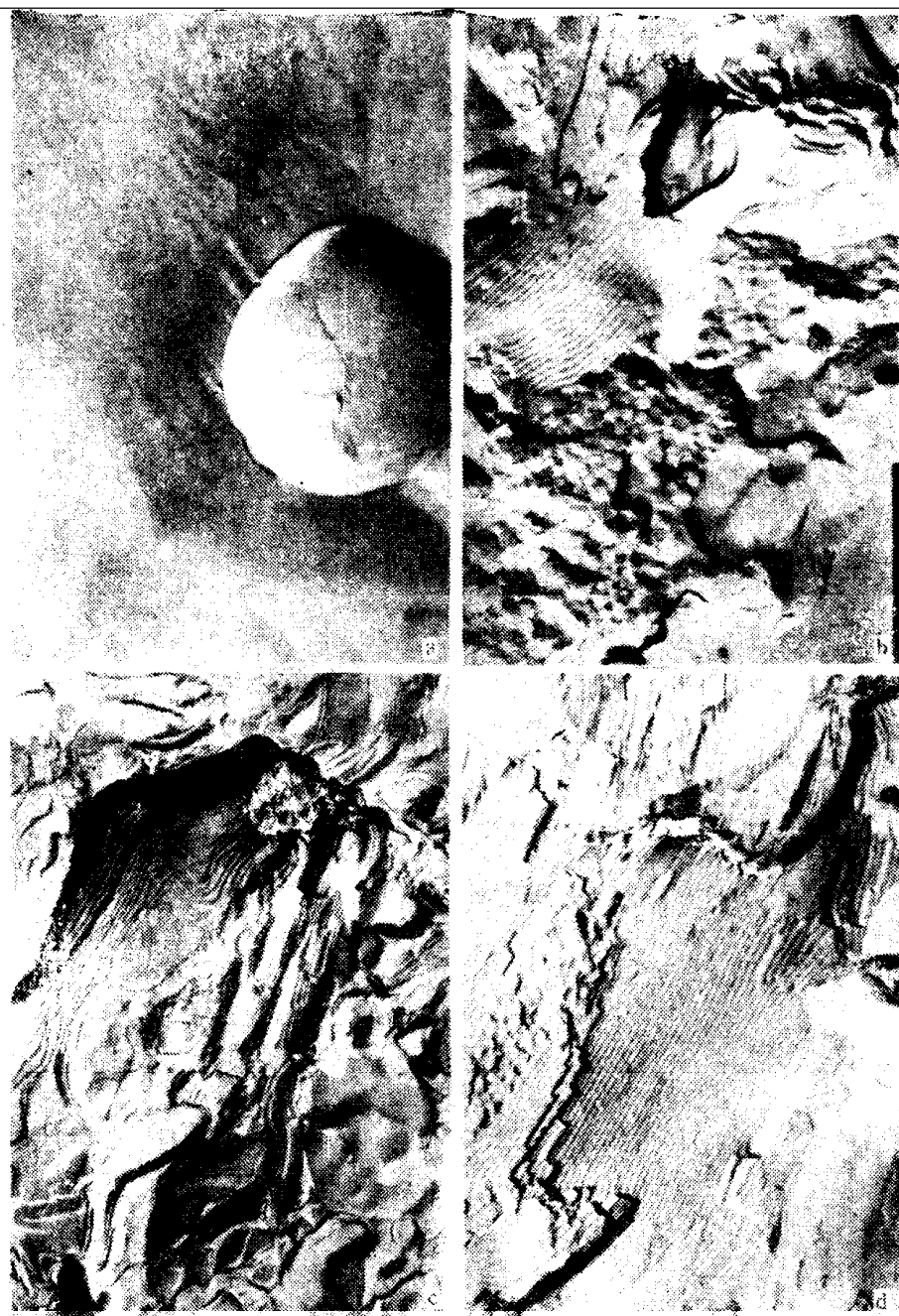


图1 胆固醇-心磷脂脂质体冰冻断裂电子显微镜照片

- a. 心磷脂脂质体(55℃), $\times 34650$;
- b. 胆固醇/心磷脂(0.3/1, 克分子比)(55℃), $\times 52500$;
- c. 胆固醇/心磷脂(0.5/1, 克分子比)(55℃), $\times 34650$;
- d. 胆固醇/心磷脂(0.5/0.5, 分子比)(55℃), $\times 52500$

胆固醇对生物膜上脂质多形性的影响过去曾有一些报道, ^{31}P -NMR 结果表明,胆固醇能促进磷脂酰乙醇胺脂质体形成六角形 II 结构^[3]。冰冻断裂电镜结果表明,胆固醇在二油酰磷脂酰乙醇胺及二油酰磷脂酰胆碱混合的脂质体体系中,也能促进混合脂质体形成类脂颗粒及六角形 II 结构^[4]。胆固醇对心磷脂脂质体多形性的影响极少有人研究。最近有人采用稳态荧光及 ^{31}P -NMR 技术研究胆固醇对心磷脂脂质体的作用,但都未见明显影响^[5]。我们曾发现山莨菪碱能促进心磷脂脂质体形成六角型 II 结构^[2]。现有实验结果表明,胆固醇也能促进心磷脂脂质体形成六角形 II 结构,心磷脂脂质体六角形 II 结构的形成随胆固醇浓度增高而增加。这说

明胆固醇在心磷脂脂质体体系中,有明显地降低其脂双层稳定性的作用。

生物膜上存在非双层类脂结构这一事实已经肯定。最近不少人正开始探讨生物膜上六角形 II 结构的出现与生物膜的生理功能的关系,一般认为生物膜上六角形 II 结构的出现与细胞融合, Ca^{2+} 的运送等重要生理功能有关。据报道,胆固醇能促进肌细胞融合^[6]。研究胆固醇对磷脂形成六角形 II 结构与生物膜生理功能的关系十分重要。有关的研究工作正在进行。

参 考 文 献

- [1] 黄芬等,科学通报, 30(1985),8: 614—616.
- [2] Hwang, F. et al., *Biochim. Biophys. Acta*, 860 (1986), 713—716.
- [3] Cullis, P. R. et al., *Biochim. Biophys. Acta*, 570(1978), 207—218.
- [4] Van Venetic, R. et al., *Biochim. Biophys. Acta*, 645(1981), 262—269.
- [5] Gallay, J. et al., *Biochemistry*, 25(1986), 2650—2656.
- [6] Horwitz, A. F., *J. Cell Biol.*, 77(1978), 334—357.