



## 拟菊酯对 DMPC 脂质体膜脂排列影响的荧光偏振研究

周哲 丛蓉娟

刘毓谷

(厦门大学化学系, 厦门 361005)

(同济医科大学环境毒理室, 武汉 430030)

**关键词** 拟菊酯, DMPC 脂质体, 荧光偏振度, 荧光猝灭

拟菊酯是一类新型农药, 其生物活性与结构有关, 如含氟基拟菊酯在哺乳动物脑组织中与  $\gamma$ -氨基丁酸受体-离子载体复合物空间特异性结合, 而不含氟基拟菊酯并非如此<sup>[1]</sup>。Stelzer 等<sup>[2]</sup>用荧光法研究了氯菊酯、氰菊酯等对大鼠淋巴细胞膜的影响, 认为上述两类拟菊酯基本上以同样的方式影响膜脂排列。为深入探讨氯菊酯和氰菊酯对膜脂排列的影响, 及研究北京菊酯和杀灭菊酯对膜脂结构的影响, 本文用荧光法探讨了上述四种拟菊酯对二肉豆蔻酰磷脂酰胆碱(dimyristoyl-phosphatidyl-choline, DMPC) 脂质体结构的影响。

### 1 材料与方 法

#### 1.1 材料

DMPC 由上海有机所合成。DPH(1,6-diphenyl-1,3,5-hexatriene)(G. R.) 为瑞士 Fluka AG 产品。Tris(hydroxymethyl)aminomethane(G. R.) 为 Merck 产品。各拟菊酯的来源和化学结构见文献[3]。其余试剂均为国产 A. R. 试剂。

#### 1.2 方法

DMPC 脂质体制备时超声温度为 35℃, 荧光标记水浴温度为 18℃, 详细步骤及荧光偏振度( $P$ )的测量见文献[3]。

### 2 结果与讨论

随着温度的变化, 不同浓度的拟菊酯对  $P$  的影响见图 1。

由图 1a 可看出, 在凝胶态氯菊酯降低  $P$  值。氯菊酯浓度较低时,  $P$  降低较大, 随其浓度增加  $P$  降低幅度变小; 在液晶态, 氯菊酯则增加  $P$  值, 氯菊酯浓度较低时  $P$  增加较大, 当氯菊酯浓度达到一定范围后,  $P$  变化趋于平稳。

由图 1b, c 和 d 可知, 氰菊酯、杀灭菊酯和北京菊酯这几种含氟基拟菊酯, 在凝胶态, 低浓度时降低  $P$  值; 随着拟菊酯浓度增加,  $P$  又有一定程度的回升。

在液晶态, 含氟基拟菊酯增加  $P$  值, 随着其浓度增加,  $P$  增加幅度增大。

图 2 显示了在 9℃(凝胶态)和 30℃(液晶态)不同浓度的拟菊酯对  $P$  的影响。可以看出, 氯菊酯(不含氟基的拟菊酯)和含氟基拟菊酯对  $P$  的影响有所不同。凝胶态(图 2a)时, 氯菊酯降低  $P$  值, 当其浓度达到  $5.0 \times 10^{-6}$  mol/L 就有明显作用, 且随浓度增加影响程度增大。含氟基拟菊酯对  $P$  影响情况较复杂, 当其浓度介于  $5.0 \times 10^{-6}$  mol/L 和  $1.0 \times 10^{-4}$  mol/L 之间, 则增加  $P$ ; 当其浓度高于  $1.0 \times 10^{-4}$  mol/L,  $P$  又略有下降。在液晶态(图 2b), 氯菊酯的浓度低于  $3.0 \times 10^{-5}$  mol/L 时, 对  $P$  影响不大; 当其浓度高于  $3.0 \times 10^{-5}$  mol/L 时,  $P$  略有增加; 含氟基拟菊酯浓度低于  $1.0 \times 10^{-5}$  mol/L, 对  $P$  影响不大。但当其浓度高于  $1.0 \times 10^{-5}$  mol/L 时,  $P$  开始明显增加。Lakowicz 等<sup>[4]</sup>指出含有多个氯原子的化合物在一定条件下会产生荧光碰撞猝灭。Stelzer 等<sup>[2]</sup>认为氟基具有明显的 DPH 荧光碰撞猝灭性质。

根据拟菊酯对 DPPC 脂质体结构影响的研究结果<sup>[5]</sup>, 可以认为这四种拟菊酯既具有干扰 DMPC 脂质体中磷脂有序排列的能力, 又有引起 DPH 荧光碰撞猝灭的性质, 而氟基的导入使拟菊酯荧光碰撞猝灭的能力大大提高, 所以含氟基拟菊酯的荧光猝灭能力远大于氯菊酯。

在凝胶态(图 2a), 氯菊酯的加入降低了磷脂的有序排列, 因而  $P$  降低, 随着氯菊酯浓度的增加, 对磷脂有序结构的破坏作用加剧, 故  $P$  进一步降低。但氯菊酯在 DMPC 脂质体中存在荧光碰撞猝灭, 荧光碰撞猝灭增加  $P$ , 因此, 与氯菊酯对 DPPC 脂质体  $P$  影响的结果<sup>[5]</sup>相比, 各个浓度的氯菊酯对 DMPC 脂质体  $P$  的影响不如相应浓度氯菊酯对 DPPC 脂质体  $P$  的影响程度大。

对含氟基拟菊酯来说, 当含氟基拟菊酯的浓度低

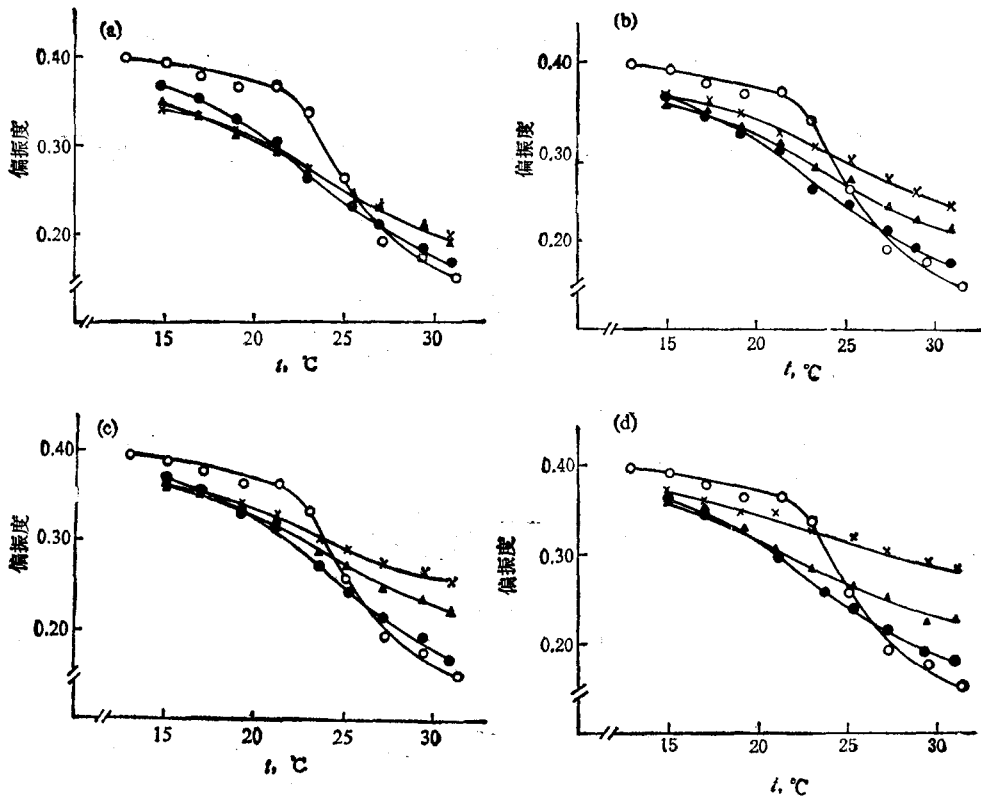


图 1 温度和拟菊酯的浓度对 DPH 标记 DMPC 脂质体 P 值的影响  
 (a) 氯菊酯; (b) 杀灭菊酯; (c) 氯氟菊酯; (d) 北京菊酯, 拟菊酯的浓度为: ○—○ 0;  
 ●—●  $1.0 \times 10^{-3}$  mol/L; ▲—▲  $5.0 \times 10^{-3}$  mol/L; ×—×  $1.0 \times 10^{-4}$  mol/L

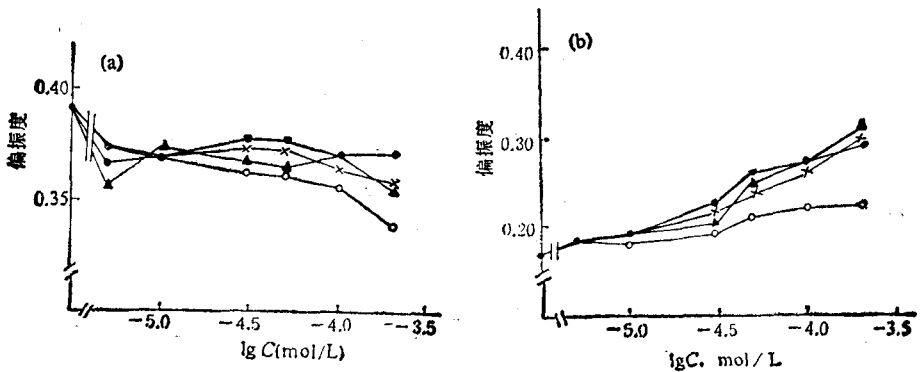


图 2 9°C(a) 和 30°C (b) 时拟菊酯的浓度对 DPH 标记 DMPC 脂质体 P 值的影响  
 ○—○ 氯菊酯; ▲—▲ 杀灭菊酯; ×—× 氯氟菊酯; ●—● 北京菊酯

于  $5.0 \times 10^{-6}$  mol/L 时, 虽然也存在碰撞猝灭作用, 但以干扰磷脂有序排列的作用为主, 因而 P 下降; 当含氟基拟菊酯的浓度高于  $5.0 \times 10^{-6}$  mol/L 而低于  $1.0 \times 10^{-4}$  mol/L (磷脂/拟菊酯 = 1:1, mol/mol), 拟菊酯主要以碰撞猝灭影响 P, 因而 P 增大; 当它们的浓度高于  $1.0 \times 10^{-4}$  mol/L (即含氟基拟菊酯的摩尔数大于

磷脂的摩尔数) 时, 虽然荧光碰撞猝灭作用增加, 但它们干扰磷脂有序排列的能力也大有提高, 所以 P 又略有下降。

在液晶态(图 2b), 此时磷脂排列无序, 通过干扰磷脂排列进而影响 P 已不大可能, 所以当氯菊酯浓度低于  $3.0 \times 10^{-5}$  mol/L 时, 氯菊酯对 P 影响不大; 当其

浓度高于  $3.0 \times 10^{-5} \text{mol/L}$  时, 由于其荧光碰撞猝灭作用增加, 所以  $P$  又略有增加。对含氰基拟菊酯来说, 当它们的浓度低于  $1.0 \times 10^{-5} \text{mol/L}$  时, 碰撞猝灭作用并不明显, 基于与低浓度时拟菊酯同样的原因,  $P$  变化不大, 但当它们浓度高于  $1.0 \times 10^{-5} \text{mol/L}$  时, 碰撞猝灭作用有所增加,  $P$  开始增大, 当它们的浓度达到  $3.0 \times 10^{-5} \text{mol/L}$  时,  $P$  则明显增大。比较图 2a 和图 2b, 可以看出各个浓度的拟菊酯在凝胶态增加  $P$  的能力不如在液晶态大。

比较拟菊酯对 DPPC<sup>[3]</sup> 和 DMPC 脂质体  $P$  的影响, 仅在 DMPC 脂质体中观察到了拟菊酯的荧光碰

撞猝灭作用。DPPC 疏水尾较 DMPC 疏水尾多 2 个碳原子, 因而 DPPC 脂质体膜的厚度较 DMPC 脂质体的大, 因此上述现象可能是由于膜中 DPH 和拟菊酯相对位置的改变而引起的。

### 参 考 文 献

- 1 Lawrence L J, Casida J E. *Science*, 1983; 221: 1399
- 2 Stelzer K J, Gordon M A. *J Immunopharmacol*, 1984; 6(4): 389
- 3 周哲, 丛蓉娟, 刘毓谷. 环境科学学报, 1991; 11(2): 199
- 4 Lakowicz J R, Hogen D. *Chem Phys Lipids*, 1980; 26: 1

## C<sub>4</sub>, C<sub>3</sub>, CAM 植物叶磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶分子聚体的比较

焦 德 茂

(江苏省农业科学院农业生物遗传生理所, 南京 210014)

**关键词** 磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶, 分子聚体, C<sub>4</sub> 植物, C<sub>3</sub> 植物, CAM 植物

磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 (PEPC) 广泛存在于所有植物不同部位(或器官)中<sup>[1]</sup>, 在 C<sub>4</sub> 和 CAM 植物的 CO<sub>2</sub> 固定上起着重要作用。近几年来在 C<sub>3</sub> 植物中也加强了有关 PEPC 的研究<sup>[2,3]</sup>。本文用 SDS 和原性凝胶电泳的方法, 比较不同光合型植物和不同环境条件下 PEPC 分子亚基和聚体的差异, 为进一步研究代谢功能的调节和分子聚体的关系提供依据。

### 1 材 料 与 方 法

**1.1 植物材料** C<sub>4</sub> 植物用玉米 (*Zea mays*), 品种为 Golden Cross Bantam。CAM 植物用 *Argentea*。在温室中进行盆栽, 在生长箱中进行光照及黑暗处理, 每天光照 12h, 光照强度 34000 勒克斯 (lx), 温度 30℃; 黑暗 12h, 温度 20℃。

**1.2 PEPC 提取** 玉米、*Argentea* PEPC 提取参照 Jiao 等<sup>[4]</sup> 和 Wu 等<sup>[5]</sup> 的方法, 小麦 PEPC 系 Sigma 产品。

**1.3 聚丙烯酰胺凝胶电泳 (PAGE)** 测定 PEPC 亚基分子量用加 0.1% SDS 凝胶, 浓度为 7%; 测定 PEPC 聚体分子量用不加 SDS 的凝胶 (原性凝胶电泳), 浓度为 7.5%。凝胶大小为 7.3cm × 8.3cm。SDS-PAGE 电泳缓冲液 0.025mol/L Tris-HCl, 0.192

mol/L 甘氨酸, pH8.3。

PEPC 活性染色按 Karn<sup>[6]</sup> 的方法, PEPC 谱带

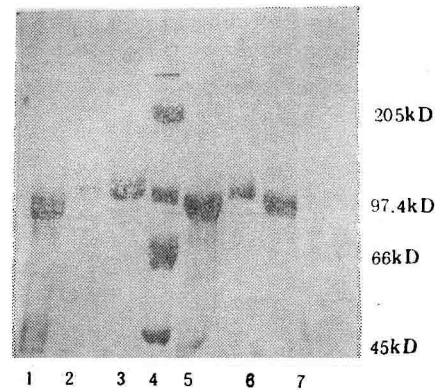


图 1 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳图谱

C<sub>4</sub>, 玉米, CAM *Argentea*, C<sub>3</sub> 小麦叶 PEPC 亚基分子量比较 1. C<sub>3</sub> 小麦 2. C<sub>4</sub> 玉米 3. CAM *Argentea* 4. 标准蛋白 5. C<sub>3</sub> + C<sub>4</sub> 6. CAM + C<sub>3</sub> 7. CAM + C<sub>4</sub>