

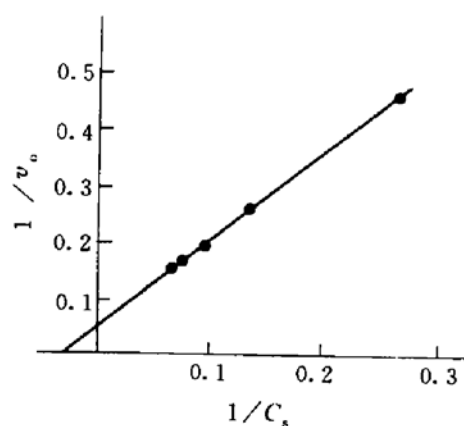


图6 微乳液中  $\frac{1}{v}$  对  $\frac{1}{C_s}$  双倒数曲线

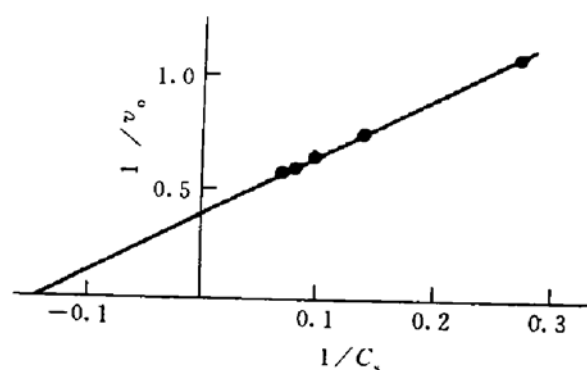


图7 水溶液中  $\frac{1}{v}$  对  $\frac{1}{C_s}$  双倒数曲线

### 参 考 文 献

- 1 Fendler J H. 程虎民等译. 膜模拟化学. 北京: 科学出版社, 1991: 200—208
- 2 Martinek K, Levashov A V, Klyachko N *et al.* Eur J Biochem, 1986; **155**: 453
- 3 Luisi P L, Henninger F, Joppich M *et al.* Biochem Biophys Res Commun, 1977; **74**: 1384

- 4 Ka ductase S S, Kumar Anil, Kumar Ajay. Biochem Int, 1989; **19**: 547
- 5 Klyachko N, Levashov A V, Martinek K. Mol Biol, 1984; **18**: 1019
- 6 Li Ganzuo, Friberg S E. J Dispersion Sci Technol, 1983; **4**: 19
- 7 蔡武城, 袁厚积. 生物物质常用化学分析法. 北京: 科学出版社, 1982: 8—10

**Study of Glucoamylase in W/O Microemulsion.** Li Ganzuo, Ren Xuezheng, Liu yan (School of Chemistry, Shandong University, Jinan 250100, China); Wang Funing, Zheng Hongying (Department of Biology, Shandong University, Jinan 250100, China).

**Abstract** The activity of glucoamylase has been investigated in W/O microemulsion of cetyltrimethyl ammonium bromide/n-pentanol/iso-octane/water system and compared with that in aqueous solution. It was observed that the optimum temperature and pH of the enzyme decreased, and the maximum hydrolysis rate of starch ( $V_m$ ) and Michaelis constant ( $K_m$ ) increased nearly 6 and 3 times, respectively in microemulsion compared with that in aqueous solution.

**Key words** microemulsion, glucoamylase, enzymic catalysis, cetyltrimethylammonium bromide

## 裂褶菌多糖的构象研究\*

周义发 张丽萍 杨庆尧\*\* 张翼伸

(东北师范大学生物系, 长春 130024)

**摘要** 从裂褶菌中提取一水溶性多糖 Sc1. 气相色谱, 高碘酸盐氧化, 甲基化分析等确定它为葡聚糖. 1-3 糖苷键构成其主链, 平均三分之一的主链残基在 6 位带有分枝. 红外光谱和三氧化铬氧化表明 Sc1 全部残基为  $\beta$  构型. 在不同的温度和不同的酸碱浓度状态下, 检查糖链与刚果红形成络合物的能力以

及 Sc1 水溶液的粘度和旋光值. 推测低温近中性 Sc1 主要呈单股螺旋构象. 升温或提高酸碱浓度导致有规则的螺旋构象转变成无规则的线团. 高碘酸盐氧化去掉分枝则多股螺旋比例在构象中增加.

**关键词** 裂褶菌多糖, 构型, 构象

裂褶菌多糖是一水溶性胞外多糖, 存在于细胞壁, 能分成多种级分. 国外已进行许多研究, 报道有较好的抗肿瘤活性. 本文对人工发酵产生的裂褶菌多糖的一个级分进行了构象行为的探讨.

## 1 材料和方法

### 1.1 样品制备

上海师范大学 Sc-2 菌株, 葡萄糖为碳源, 黄豆饼为氮源发酵培养 48h. 发酵液经超滤, 真空薄膜浓缩, 1:1 95% 的乙醇在 0—8℃ 醇析得一多糖. 此多糖溶在温水中, Sevag 法脱蛋白三次, 冰冻干燥得裂褶菌多糖 Sc1.

### 1.2 理化分析

SP-501 气相色谱仪 (国产) 测糖组成<sup>[1]</sup>. Alpha Centauri Firi 红外光谱仪测红外光谱, 溴化钾压片. 高碘酸盐氧化与 Smith 降解按文献<sup>[2]</sup>进行. Hakomori 法甲基化<sup>[3]</sup>, P-E910 气相色谱仪与 7070Z-HF 双聚焦质谱仪联机分析. 0.3mm×50m 毛细管柱, 3%OV-225 固定液, 恒温 170℃, 程序升温 110—205℃, 3℃/min. 样品与三氧化铬反应按文献<sup>[4]</sup>进行, 间隔一定时间取出部分样品进行气相色谱分析. Sc1 和高碘酸盐氧化后的样品分别与刚果红水溶液混合, 加氢氧化钠调 pH, 测不同氢氧化钠浓度下的最大吸收波长, Backman Du-8B 紫外可见分光光度计, 自动扫描. 乌氏四球毛细管粘度计常规方法测不同酸碱浓度及不同温度下的粘度. WXG-6 (国产) 自动旋光仪, 钠灯光源测旋光值.

## 2 结果和讨论

### 2.1 组成及结构

Sc1 呈白色丝状, 溶于热水, 冷水中略呈胶状. Sepharose CL-4B 柱层析出现单一峰, 分子量约 1 900 000. 气相色谱、高碘酸盐氧

化、甲基化分析等表明 Sc1 为葡聚糖, 纯度 95.5%. 1-3 连接构成其主链, 1/3 主链残基带有仅一个残基的侧链.

### 2.2 构型

Sc1 与三氧化铬作用, 2h 后全部反应. 文献<sup>[4]</sup>报道  $\alpha$  型吡喃糖不与三氧化铬反应,  $\beta$  型进行反应, 可见 Sc1 构型为  $\beta$  型. 其红外光谱在 890  $\text{cm}^{-1}$  处有  $\beta$  糖苷键引起的吸收峰.

### 2.3 构象

**2.3.1 与刚果红形成络合物试验** 刚果红与具有螺旋构象的多糖可形成络合物, 主要和单股螺旋部分结合. 络合物的最大吸收波长较刚果红移向长波<sup>[5]</sup>. Sc1 与刚果红络合物的最大吸收波长随氢氧化钠浓度而变化 (图 1).

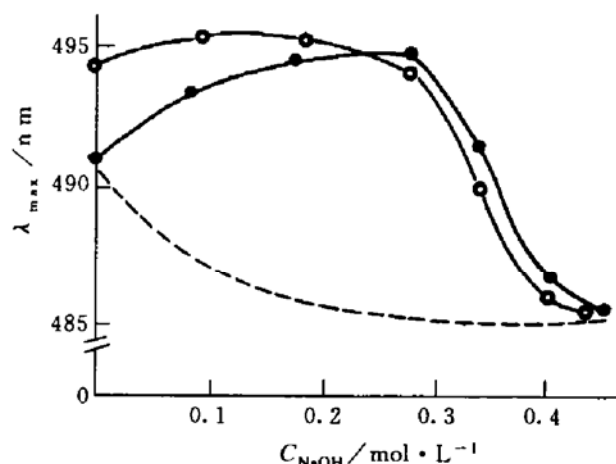


图 1 最大吸收波长与  $C_{\text{NaOH}}$  的关系

—○—: Sc1; —●—, 高碘酸盐处理的 Sc1;  
----: 纯刚果红.

氢氧化钠浓度小于 0.35mol/L, 吸收移向长波, 表明糖与刚果红形成络合物, Sc1 呈有规则的螺旋构象. 氢氧化钠浓度大于 0.35mol/L, 最大吸收波长降至基本与对照相同, 螺旋构象解体, 变成无规则的线团形式.

Sc1 经高碘酸盐处理除掉侧链, 此时与刚果红络合物的最大吸收波长变化同原来相似, 但略有不同. 最初随氢氧化钠浓度升高, 最大

吸收波长移向长波, 然后再降至和对照相近. 推测去掉侧链易形成螺旋构象, 且多股为主.

**2.3.2 粘度和旋光值随温度变化的关系** 多糖以螺旋构象存在其比浓粘度较无规则线团大, 多股比单股还要大; 旋光性也增强, 但单股比多股增强的幅度大, 可能因单股较多股有更大的空间不对称性<sup>[6]</sup>.

Sc1 水溶液比浓粘度  $\eta_{sp}$ , 旋光值  $[\alpha]_D$  与温度的关系见图 2.

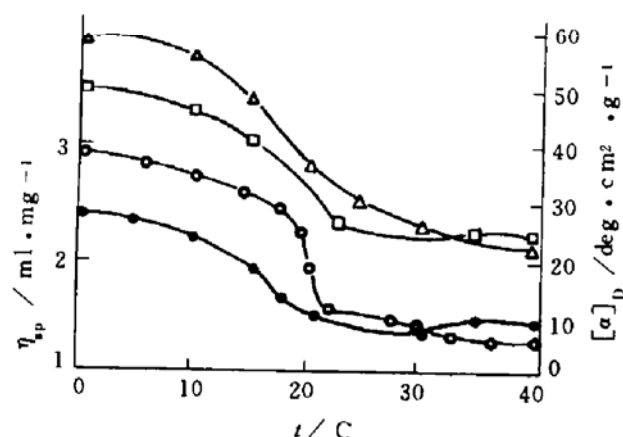


图 2  $\eta_{sp}$  和  $[\alpha]_D$  随温度的变化

●—●, Sc1 的  $\eta_{sp}$ , ○—○, 高碘酸盐氧化后的  $\eta_{sp}$ ,  $\Delta$ — $\Delta$ , Sc1 的  $[\alpha]_D$ , □—□, 氧化后的  $[\alpha]_D$ .

15℃附近  $\eta_{sp}$  和  $[\alpha]_D$  都明显下降, Sc1 构象由螺旋变成无规则的线团. 高碘酸盐氧化去掉侧链, 产生这种变化的温度在 20℃左右,  $\eta_{sp}$  变化比原来增大,  $[\alpha]_D$  变化比原来减小. 因此去掉侧链形成螺旋构象趋势增强, 三股螺旋的比例增大.

**2.3.3 比浓粘度与酸碱浓度的关系** 如图 3 所示, 氢氧化钠浓度高于 0.35mol/L, 盐酸浓度高于 0.2mol/L,  $\eta_{sp}$  有一显著变化, 发生螺旋到无规则线团的变化. 去掉侧链变化更明显, 因多股螺旋比例增加.

综上所述, Sc1 为葡聚糖, 主链为 1-3 连接, 侧链为 1-6 糖苷键. 低温近中性水溶液构象呈有规则的螺旋形式. 升高温度, 酸和碱都会破坏规则的螺旋构象. 去掉侧链形成螺旋构象的能力增强, 多股螺旋比例增加.

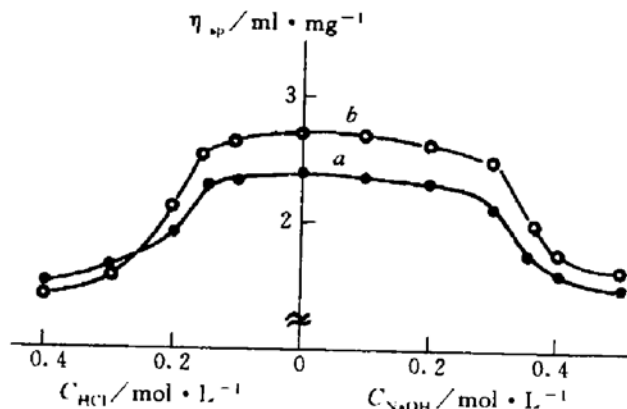


图 3  $\eta_{sp}$  随酸碱度的变化

●—●, Sc1 的  $\eta_{sp}$ , ○—○, 高碘酸盐氧化后的  $\eta_{sp}$ .

## 参 考 文 献

- 1 石德成, 张翼仲. 东北师大学报, 1982; 3: 43
- 2 Tomoda M. Chem Pharm Bull, 1972; 20: 119
- 3 Hakomori S. J Biochem (Tokyo), 1964; 55: 205
- 4 Hoffman J. Acta Chem Scand, 1972; 26: 661
- 5 Ohno N, Yadomae T. Carbohydr Res, 1987; 159: 293
- 6 Milas M, Rinaudo M. Carbohydr Res, 1986; 158: 191

**Conformational Studies on Schizophyllan.** Zhou Yifa, Zhang Liping, Yang Qingyao\*, Zhang Yishen (Department of Biology, Northeast Normal University, Changchun 130024, China; \* Department of Biology, Shanghai Normal University, Shanghai 200234, China).

**Abstract** A water soluble schizophyllan (Sc1) was isolated from the fungus *Schizophyllum commune*. Gas chromatography, periodate oxidation, methylation analysis and other experiments showed that the main chains are composed of (1-3) linked glucose residues one third of which have side chains in position 6. The result of oxidation with chromium trioxide and IR suggested that all residues of Sc1 are  $\beta$  configurations. The conformation of Sc1 was studied by complex-formation with Congo Red, and by the measurements of optical rotatory and viscosity. Sc1 takes mainly a single-helical conformation in

water solution at lower temperature. If the side chains are removed by periodate oxidation, the proportion of multiple-helical conformation will increase. The helical conformation

changes into disorder coil in acid, base, and at slightly higher temperature.

**Key words** schizophyllan, configuration, conformation

## 神经节苷脂 GM<sub>3</sub> 对 J6-2 细胞蛋白质磷酸化的影响\*

董 征 马克里 韩 锐\*\* 崔肇春

(大连医科大学生物化学教研室, 大连 116023)

**摘要** 通过研究神经节苷脂 GM<sub>3</sub> 对国人单核样白血病细胞系 J6-2 细胞蛋白质磷酸化的影响, 在 [ $\gamma$ -<sup>32</sup>P] ATP, GM<sub>3</sub>, ATP, Mg<sup>2+</sup> 与 J6-2 细胞液及颗粒两部分共同反应, 10min (30℃) 体系中, 观察到 GM<sub>3</sub> 对两部分蛋白质磷酸化的调节作用. GM<sub>3</sub> (100 μmol/L) 促进颗粒部分分子量为 180 000, 87 000, 78 000, 67 000, 43 000 及 31 000 的蛋白质磷酸化, 促进胞液部分分子量为 87 000 及 56 000 的蛋白质磷酸化, 而且能抑制 70 000 及 43 000 蛋白质磷酸化. 由于 GM<sub>3</sub> 已被前人证实能对 J6-2 细胞起分化作用, 其作用时间长达 4—6d, 很可能 GM<sub>3</sub> 对蛋白质磷酸化作用的调节是 GM<sub>3</sub> 促分化作用的早期信号.

**关键词** 神经节苷脂 (GM<sub>3</sub>), 白血病细胞, 蛋白质磷酸化

神经节苷脂 (ganglioside, Gl<sub>s</sub>) 广泛存在于各种脊椎动物细胞质膜的外侧面. 它不仅是细胞膜的构件单位, 而且可能在细胞的物质代谢、分化、增殖及肿瘤发生方面担任重要角色<sup>[1]</sup>. Gl<sub>s</sub> 对白血病细胞系促分化前后形态、功能、组织化学方面以及某些生化指标已有所报导<sup>[2]</sup>, 但对其促分化的机制仍属未知. 由于 Gl<sub>s</sub> 对蛋白激酶 C 作用的影响, 以及蛋白激酶 C 在信息传递中的重要作用, 有理由进一步探讨 GM<sub>3</sub> 对蛋白质磷酸化作用的影响, 尤其还应找出有磷酸化变化的蛋白质, 为进一步探讨 GM<sub>3</sub> 对蛋白质的生物学功能的影响奠定基础.

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

单核样白血病细胞系 J6-2 细胞 (中国医学科学院天津血液病研究所), 新生小牛血清 (大连旅顺龙头检验试剂厂), RPMI 1640 培养基 (美国 GIBCO 公司), [ $\gamma$ -<sup>32</sup>P] ATP (北京福瑞

生物工程公司), GM<sub>3</sub> 为自行提取纯化<sup>[3]</sup> (层析纯).

#### 1.2 方法

**1.2.1 J6-2 细胞培养** 用含 20% 小牛血清的 RPMI 1640 培养液, 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 孵育箱中培养.

#### 1.2.2 J6-2 细胞胞液及颗粒部分的制备<sup>[4]</sup>

收集对数生长期 J6-2 细胞, 用冷 PBS 洗两遍, 再用冷提取缓冲液 ( $\beta$ -glycerophosphate 80mmol/L; EGTA 20mmol/L; MgCl<sub>2</sub> 15mmol/L; Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub> 1mmol/L; NaF 10mmol/L; PMSF 1mmol/L; pH 7.6) 洗两遍. 匀浆液以 1000r/min 离心 10min, 去掉沉淀, 上清液以 100 000g 离心 1h, 上清液作为胞液部分, 沉淀溶解在含 0.1% Triton-X100 的提取缓冲液中, 作为颗粒部分. 用 Hartree 氏法<sup>[5]</sup>测定各部分

\*国家自然科学基金资助项目.

\*\*大连医科大学附属二院.

收稿日期: 1994-01-07, 修回日期: 1994-07-11