

茶叶多糖对卵磷脂胆固醇酰基转移酶活性的影响

王淑如 朱力军¹

(生物化学研究室)

关键词 茶叶; 多糖; 载脂蛋白 A-I; 卵磷脂胆固醇酰基转移酶

卵磷脂胆固醇酰基转移酶(EC 2.3.1.43)简称 LCAT 是由肝脏微粒体合成后分泌进入血液的,其主要作用是将卵磷脂 C₂ 位上脂酰基转移至游离胆固醇(FC)分子的 3 位羟基上,生成胆固醇酯(CE)和溶血卵磷脂。当 CE 生成时,所形成的 FC 浓度差有利于组织细胞上 FC 移至高密度脂蛋白(HDL),并运至肝脏代谢,所以,在脂蛋白代谢中,LCAT 活力的提高有利于胆固醇(Ch)的清除。众所周知,Ch 与动脉粥样硬化有密切关系。因此,降低 Ch 的量是防止动脉粥样硬化形成的因素之一。

1 材料

752 紫外光栅分光光度计;高速冷冻离心机;超速离心机;二酶试剂(上海第十八制药厂);DEAE-Sephadex A-50、硫酸右旋糖酐 500 号(D.S 500)、Sephadex G-200 均为 Pharmacia 产品。十二烷基硫酸钠为 Serva 公司产品。甲叉双丙烯酰胺为 Aldrich 产品,茶叶多糖按文献[4]法从安徽屯溪绿茶中制得。其它试剂均为国产分析纯。

2 方法

2.1 载脂蛋白 A-I(apoA-I)的制备

按文献[1][2]进行,首先制得高密度脂蛋白(HDL),再通过脱脂、Sephadex G-200 柱层析等步骤而制得高纯度的 apoA-I。

2.2 LCAT 的制备

按 Doi 法^[3]以人血浆为原料,经正丁醇、硫酸铵沉淀,再经 DEAE-Sephadex A-50 柱层析及羟基磷灰石柱层析等精制而得。

2.3 蛋白质定量及底物制备

蛋白质定量按 Lowry 法,底物制备按文献[5]法,底物中游离胆固醇的测定按文献[5][6]法。

2.4 LCAT 活力测定

LCAT 活力测定按文献[7]方法,酶活力以每小时、每毫升酶液中胆固醇酯化量表示(即 mol/L/h/ml 酶液)。

3 结果

3.1 apoA-I 的鉴定

纯化的 apoA-I 经 SDS-PAGE 鉴定为单一蛋白染色带,分子量为 2.7×10^4 道尔顿,与文献报道一致^[8]。

3.2 LCAT 的鉴定

LCAT 经羟基磷灰石纯化后活力有很大提高,SDS-PAGE 鉴定为单一区带,分子量约为 6.7×10^4 道尔顿。

3.3 激活剂(apoA-I)对 LCAT 的影响

反应系统中无 apoA-I 时,酶无活性,apoA-I 在 0~3 $\mu\text{g/ml}$ 内与酶活性呈直线关系,大于 8 $\mu\text{g/ml}$ 时,酶活力不再升高。

3.4 TP 对酶活性的影响

实验结果表明,当测定系统中含有 TP 但不含有 apoA-I 时,酶不显示活性。若 TP 与 apoA-I 同时预先加入反应系统,则 TP 可提

高酶的活力, TP 量 $> 1.6 \text{ mg/ml}$ 时, 酶活力提高约 20% (图 1), 当此系统中同时增加 TP 及 apoA-I 的量时, 酶活力又被进一步提高。但当 TP 未与 apoA-I 同时预先加入反应系统而是最后将 TP 与酶一同加入测定系统时, 酶活力即保持在 apoA-I 存在情况下的原有水平而不被提高, 这说明 TP 对 LCAT 的作用需依赖于 apoA-I 的存在。此外, TP 尚具有保护 apoA-I 的作用, 例如, TP 能降低 apoA-I 对温度的敏感性, 系统中无 TP 时, 温度由 40°C 升至 50°C , 酶活力下降 50%, 当 TP 存在时, 酶活力只下降 14% (图 2)。

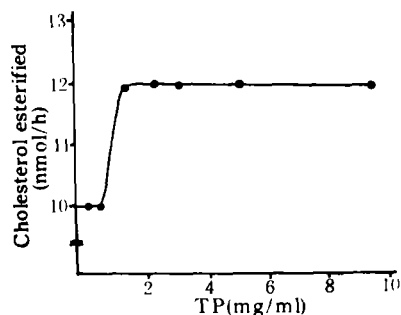


Fig 1. The effect of TP on the activity of LCAT

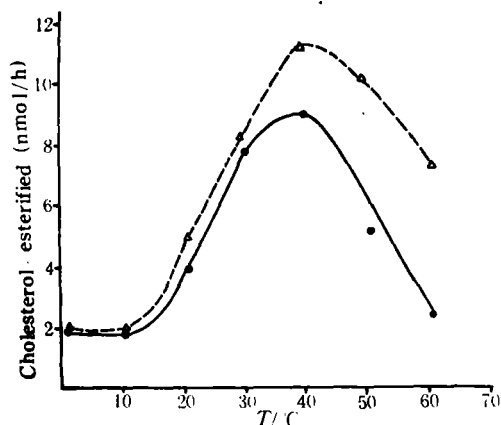


Fig 2. The effect of TP on LCAT activity under different temperature

--- presence of TP; — absence of TP

4 讨论

TP 对 LCAT 活力无直接影响, 是间接通

过 apoA-I 而发挥作用。已知 apoA-I 是 LCAT 的激活剂, 当 apoA-I 不存在时, LCAT 无活力。TP 可使 apoA-I 的激活作用增加, 由此推测可能由于 TP 与 apoA-I 结合后, 改变了 apoA-I 的构象, 使其更有利于激活 LCAT 或增强 apoA-I 抗不利因素的能力。apoA-I 的氨基酸组成分析表明, 其中含有很多碱性氨基酸, 在反应 pH 条件下, 带正电荷, 而 TP 在同样条件下带有很多负电荷, 电荷作用可使二者极易结合。

文献报道^[9], 磷脂能使载脂蛋白的 α -螺旋增强。这是因为载脂蛋白具有带正、负电荷的氨基酸分布在两性螺旋结构的极性表面, 其中带负电荷的氨基酸主要集中在螺旋表面中心一条狭窄的区带中, 带正电的氨基酸分布在表面两侧, 磷脂中带负电荷的磷酸基团与螺旋表面的正电荷结合而导致 α -螺旋的增强。从 TP 的化学组成分析得知其中葡萄糖醛酸含量为 80%^[4], 其分子亦含较多带负电荷的酸性基团, 故推测 TP 可能有类似于磷脂的作用, 同 apoA-I 结合而改变 apoA-I 的构象, 使其更利于同脂类结合, 从而加速胆固醇的清除进而降低血脂水平, 这一理论性的推测尚需进一步实验证实。

此外, TP 对脂代谢有关的另一种酶脂蛋白脂酶 (LPL) 亦有增加活性的作用^[10], 这些实验均为 TP 的降血脂作用作了生化机理方面的初步探讨。

参考文献

- 1 王克勤, 陈保生, 何锦林等. 人血清脂蛋白的研究. 中国医学科学院学报, 1979; 1(1): 21
- 2 王克勤, 陈保生, 王大宝. 人血清脂蛋白的代谢. 生理科学, 1982; 2(9): 23
- 3 Doi Y, Nishida T. Lecithin-cholesterol acyltransferase from human plasma. *Methods in Enzymology*, 1981; 71: 753
- 4 王丁刚, 王淑如. 茶叶多糖的分离、纯化、分析及降血脂作用. 中国药科大学学报, 1991; 22(4): 225
- 5 周国英, 费正. 应用气相色谱法和人工底物脂质体测定人和大鼠血清卵磷脂胆固醇酰基转移酶活力. 生物化学和生物物理学报, 1987; 19(4): 266
- 6 蒋完成, 庄庆祺, 梅美珍. 卵磷脂胆固醇酰基转移酶活性的简易测定法. 上海第一医学院学报, 1985; 12(2): 155
- 7 Bartholome M, Niedmann D, Wieland H, et al. An optimized

- method for measuring Lecithin-cholesterol acyltransferase activity, independent of the concentration and quality of the physiological substrate. *Biochim Biophys Acta*, 1981; 664(2): 327
- 8 王克勤, 解用虹. 鸭血清脂蛋白的研究. 中国医学科学院学报, 1983; 5(2): 79
- 9 Jackson RL, Morrisetti JD, Gotto AM. The mechanism of lipidbinding by plasma lipoproteins. *Mol Cell Biochem*, 1975; 8(1): 43
- 10 朱力军, 王淑如. 脂蛋白脂酶的制备及茶叶多糖对该酶的影响. 中国药科大学学报, 1992; 23(5): 287

Effect of Tea Polysaccharide on Lecithin-Cholesterol Acyltransferase

Wang Shuru, Zhu Lijun

Division of Biochemistry

We have investigated some effects of tea polysaccharide (TP) on LCAT. The results showed that the effects of TP on LCAT depended on apoA-I. TP has no direct effects on LCAT in the absence of apoA-I. When the amount of apoA-I is increased, the effects of TP on LCAT are enhanced.

Key words Lecithin-cholesterol acyltransferase; Tea leaves; Polysaccharide; apoA-I;

NMR 波谱表面线圈探头研制成功

一种用于活体小动物 NMR 实验的体内³¹P NMR 表面线圈探头,最近由我校物理学教研室研制成功。该探头克服了常规检测技术的一些缺陷,能在正常生理条件下,无损伤地在分子水平上,对活的生命体中各部位如心脏、肝脏、大脑、肿瘤乃至细胞等进行定量研究,并可进行长时间的观测,达到国际同类产品水平。它具有灵敏度高、信息量大、技术灵活多样和无需改造现有核磁共振仪的特点,适合于有窄孔和宽孔 NMR 超导谱仪的科研单位进行小动物活体 NMR 实验,稍加调整,也适合于对含有其它原子核如¹⁹F、²³Na、¹³C 等成份的部位进行定量研究。

核磁共振表面线圈技术是近几年发展起来的一项高技术,在生物医学和药理学中有广泛的应用。它可用于定量观测药物和毒物与大分子的作用,例如(1)药物与蛋白质结合,(2)药物与酶结合,(3)配体与受体结合,(4)药物与核酸结合,(5)药物与磷脂、生物膜作用,(6)半抗原与抗体。

该技术还可用于代谢研究,如(1)能量代谢,可测定生物体内磷酸肌酸、ATP、ADP、糖磷及无机磷。根据其中一些峰的化学位移或弛豫时间可测定细胞内 pH、Mg²⁺ 等浓度;根据磷酸肌酸和无机磷峰的消长,可对心脏、肝脏、大脑、肌肉等部位,由于缺氧、缺血对代谢的影响,进行定量分析。(2)可定量测定生物体内各部位特别是肿瘤等病变组织中的药物及其代谢物的浓度。(3)糖、氨基酸代谢。(4)膜转运。

在核磁共振成像中,采用该技术制成用于各部位的表面线圈,可大大提高成像的分辨率。

(物理学教研室 朱好勤)