



БИООРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

том 6 • № 1 • 1980

УДК 547.953.07

ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ СИНТЕЗ ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ФОСФАТИДИЛЭТАНОЛАМИНА

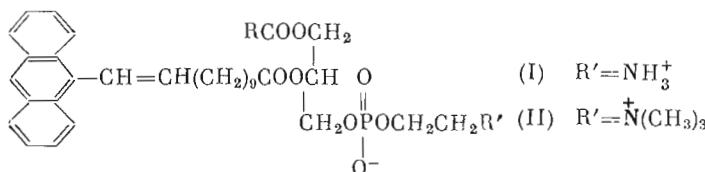
Молотковский Ю.Л. Г., Униковский В. И., Бергельсон Л. Д.

Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина
Академии наук СССР, Москва

Фосфолипиды, несущие флуоресцентные метки, являются целями инструментами для изучения биологических мембран. В литературе описан ряд синтезов флуоресцентных производных фосфатидилхолина [1–3]. Что касается другого важного класса фосфолипидов — фосфатидилэтаноламинов, то введение флуоресцентных меток проводилось лишь по аминогруппе: описаны синтезы N-дансил- [4] и N-(4-нитробенз-2-окса-1,3-диазол)фосфатидилэтаноламина [5]. Однако эти вещества значительно отличаются от природных фосфатидилэтаноламинов, так как у них объемная флуоресцентная группировка присоединена непосредственно к полярной части молекулы, которая из цвиттерионной становится кислой. Это затрудняет интерпретацию результатов, полученных при использовании указанных фосфолипидов в качестве зондов.

В настоящем сообщении описан синтез флуоресцентного фосфатидилэтаноламина (I), содержащего метку в жирнокислотной цепи, из соответствующего фосфатидилхолина (II) путем трансфосфатилирования этаноламином в присутствии фосфолипазы D.

Раствор 25 мг 1-ацил-2-[12-(9-антрил)-транс-додециеноил]-*sn*-глицеро-3-фосфохолина³ (II) (в положении 1 содержит остатки пальмитиновой и стеариновой кислот в соотношении 5 : 2, средний мол. вес 849)



в 2 мл эфира смешивали с раствором 2,5 мг CaCl₂ в 1,5 мл ацетатного буфера (pH 5,6), прибавляли 0,5 мл свежеперегнанного этаноламина, оттитрованного 1 н. HCl до pH 6, и затем 10 мг концентрата фосфолипазы D (ацетоновый порошок, приготовленный из белокочанной капусты по методике [6]). Смесь перемешивали 4 ч при 20°С, хроматографией на силикагеле в градиентной системе хлороформ — смесь метанола с 5 н. NH₄OH (9 : 1) выделяли 12 мг (50%) 1-ацил-2-[12-(9-антрил)-11-транс-додециеноил]-*sn*-глицеро-3-фосфоэтаноламина (I) в виде слабо-желтой аморфной массы. УФ-спектр в этаноле, $\lambda_{\text{макс}}$, нм (ϵ): 257 (141 000), 348 (6200),

368 (6800), 376 (6400). Спектр флуоресценции в этаноле ($\lambda_{\text{возб}}$ 365 нм): 410 и 428 нм. Найдено Р 4,1%. Для среднего мол. веса 789 вычислено Р 3,9%.

Флуоресцентный фосфатидилэтаноламин (I) индивидуален при ТСХ на силикагеле в нейтральной, кислой и основной системах. В системе хлороформ — метанол — вода (65 : 25 : 4) он имеет R_f 0,52, а природный (яичный) фосфатидилэтаноламин — 0,50 (обнаружение обоих фосфолипидов нингидрином и фосфорномolibденовой кислотой; флуоресцентный продукт виден также при УФ-облучении).

Образовавшаяся в ходе ферментативной реакции в небольшом количестве флуоресцентная фосфатидовая кислота не была выделена. Ее обнаружение было отмечено при контроле продуктов реакции с помощью ТСХ (R_f 0,35 при ТСХ на силикагеле без гипса в системе хлороформ — метанол — 7 н. NH_4OH , 65 : 35 : 8).

Хороший выход, полученный в настоящей работе при реакции транс-фосфатидилирования с фосфолипазой D, указывает на малую зависимость действия этого фермента от строения той части жирнокислотного остатка молекулы субстрата, которая удалена от сложноэфирной группы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Stoffel W., Michaelis G. (1976) Z. Physiol. Chem., 357, 7—19.
2. Monti J. A., Christian S. T., Shaw W. A., Finley W. H. (1977) Proc. Amer. Soc. Neu-rochem., 8, 75—76.
3. Молотковский Юл. Г., Дмитриев П. И., Никулина Л. Ф., Бергельсон Л. Д. (1979) Биоорганическая химия, 5, 588—594.
4. Shechter E., Gulik-Krzywicki T., Azerad R., Gros C. (1971) Biochim. et biophys. acta, 241, 431—442.
5. Monti J. A., Christian S. T., Shaw W. A. (1978) J. Lipid Res., 19, 222—228.
6. Yang C. F. (1969) in: Methods in Enzymol., v. XIV, p. 208.

Поступило в редакцию
16.VII.1979

AN ENZYMATIC SYNTHESIS OF FLUORESCENT PHOSPHATIDYLETHANOLAMINE

MOLOTKOVSKY YUL. G., UNKOVSKY V. I., BERGELSON L. D.

M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry, Academy
of Sciences of the USSR, Moscow

A fluorescently labeled phosphatidylethanolamine — 1-acyl-2-[12-(9-anthryl)-N-trans-dodecenoyl]-sn-glycero-3-phosphoethanolamine — was synthesized from the corresponding phosphatidylcholine by trans-phosphatidylation with cabbage phospholipase D.