

# 光合膜膜脂在八种海洋硅藻中的分布研究

陈德莹<sup>1</sup>, 徐继林<sup>1</sup>, 严小军<sup>1\*</sup>, 周成旭<sup>1</sup>

(1 宁波大学 应用海洋生物技术教育部重点实验室, 浙江 宁波 315211)

**摘要:** 利用超高效液相色谱-四级杆-飞行时间串联质谱(UPLC-Q-TOF-MS)对 8 种海洋硅藻的四种主要光合膜膜脂的分子结构和组成进行了定性定量分析。结果表明,海洋硅藻中 MGDG 含量最高,占四种光合膜膜脂的 40%~70% 左右, SQDG 其次占 10%~40%, 而 PG 在 4%~20% 之间, DGDG 占 5%~20%; 其中,各脂类分子的含量在 0.14~99.79 nmol/mg 干藻之间,而 C<sub>16:3</sub>/C<sub>16:3</sub>-MGDG, C<sub>20:5</sub>/C<sub>16:3</sub>-MGDG, C<sub>20:5</sub>/C<sub>16:2</sub>-DGDG, C<sub>20:5</sub>/C<sub>16:1</sub>-DGDG, C<sub>16:1</sub>/C<sub>16:1</sub>-DGDG, C<sub>14:0</sub>/C<sub>14:0</sub>-SQDG, C<sub>14:0</sub>/C<sub>16:0</sub>-SQDG, C<sub>14:0/16:1</sub>-SQDG, C<sub>14:0</sub>/C<sub>16:3</sub>-SQDG 和 C<sub>18:1</sub>/C<sub>18:1</sub>-PG 等脂类分子在 8 种海洋硅藻的每一类膜脂中均有分布;与高等植物膜脂的脂肪酰基分布不同的是,海洋硅藻的 MGDG 与 DGDG 的 sn-2 位上的脂肪酸全部为 C<sub>16</sub> 酸,可推断是通过类似高等植物典型的原核途径合成,而 C<sub>16</sub> 酸和 C<sub>18</sub> 酸在 SQDG 和 PG 的 sn-2 位上均有分布,可推断 SQDG 和 PG 存在原核和真核两种合成途径。

**关键词:** 海洋硅藻, 光合膜膜脂, 超高效液相色谱-四级杆-飞行时间串联质谱  
中图分类号: P736.4 文献标志码: A 文章编号: 0253-4193(2009)06-0110-09

## 1 引言

无论是高等植物还是原核生物,构成光合膜(类囊体膜)的甘油脂主要有四种,它们是单半乳糖甘油二酯(MGDG)、双半乳糖甘油二酯(DGDG)、硫代异鼠李糖甘油二酯(SQDG)和磷脂酸甘油((PG),另有极少量的磷脂酰胆碱(PC)<sup>[1]</sup>。近年来的研究表明,它们在影响光合作用的效率<sup>[2-3]</sup>、帮助植物体适应生态条件的改变<sup>[4]</sup>等方面起着非常重要的作用。

海洋微藻是海洋中最主要的光合生物,硅藻是其最重要的组成,其季节、种类的变化对海洋生态环境、海区生产力、全球碳循环等方面起着重要的作用<sup>[5-7]</sup>。光合膜膜脂的合成和代谢直接左右着微藻种群的繁衍,所以有必要把每一种结构不同功能不一的脂类分子研究清楚。针对海洋微藻膜脂的研究,大多研究者采用将脂类皂化衍生化后用气相色

谱-质谱连用(GC-MS)的方法测定总脂中的脂肪酸组成<sup>[8-9]</sup>,也有研究者通过薄层层析色谱(TLC)把各类光合膜膜脂分开,再分别通过酶解后进行 GCMS 分析的手段研究了脂肪酸在甘油脂中不同酰基位置的分布<sup>[10]</sup>。近年来软电离技术的应用为研究生物膜脂提供了一种崭新的研究方法<sup>[11-14]</sup>,本文利用超高效液相色谱-四级杆-飞行时间质谱联用分析系统(UPLC-Q-TOF-MS),分析了 8 种海洋硅藻中每一类光合膜脂的分子结构和分子组成,为海洋硅藻的生态学、营养学及其化学分类学等进一步研究提供理论依据。

## 2 材料与方法

### 2.1 仪器与试剂

ACQUITY 超高效液相色谱分析系统,配置 ACQUITY 自动进样器; Q-TOF Premier 高分辨

收稿日期: 2009-03-27; 修订日期: 2009-08-24。

基金项目: 教育部长江学者与创新团队项目(IRT0734); 浙江省自然科学基金(Y506131); 国家科技支撑计划(2007BAD43B09)。

作者简介: 陈德莹(1983-),女,安徽省霍邱县人,在读硕士生,主要从事海洋生物研究。E-mail: deyingchen0913@gmail.com

\* 通讯作者: 严小军(1967-),男,江苏省苏州市人,教授,博士生导师。E-mail: xiaojunyan@hotmail.com

四极杆与飞行时间串联质谱仪(美国 WATERS 公司); ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> 色谱柱(50 mm × 2.1 mm, 1.7 μm)(美国 WATERS 公司); Masslynx 4.1 数据处理系统(美国 WATERS 公司); 超纯水系统(法国 MILLIPORE 公司); CASY-TT 颗粒粒度计数分析仪(德国 CASY 公司)。单半乳糖甘油二酯(MGDG, 50 mg/5mL 氯仿)、双半乳糖甘油二酯(DGDG, 50 mg/5mL 氯仿)、硫代异鼠李糖甘油二酯(SQDG, 25 mg/5mL 氯仿)的混合标准品(TLC, 英国 Lipid Products 公司); 抗氧化剂 2, 6-Di-tert-butyl-4-methylphenol (BHT) (>99.9%)、色谱纯甲酸(美国 SIGMA-ALDRICH 公司); 其他试剂均为色谱纯(美国 TEDIA 公司); 纯水由超纯水系统制备。

## 2.2 硅藻的培养

8种海洋硅藻(表1)由宁波大学海洋生物实验室藻种室提供, 培养海水(盐度28)经0.45 μm 醋酸纤维滤膜过滤后煮沸冷却, 培养液采用“浙江水产学院三号液”配方(100 mg/dm<sup>3</sup> KNO<sub>3</sub>, 10 mg/dm<sup>3</sup> KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 20 mg/dm<sup>3</sup> Na<sub>2</sub>SiO<sub>3</sub>, 0.25 mg/dm<sup>3</sup> MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, 2.50 mg/dm<sup>3</sup> FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 10 mg/dm<sup>3</sup> EDTA-Na<sub>2</sub>, 6 μg/dm<sup>3</sup> VB<sub>1</sub>, 0.05 μg/dm<sup>3</sup> VB<sub>12</sub>)。藻种在2500 mL的锥形瓶中(20±2) °C下自然光培养, 每天摇动数次, 并用颗粒粒度计数分析仪测量藻类密度, 藻类细胞在平台期收集, 冷冻干燥后备用。

## 2.3 样品制备

按 Bligh-Dyer 法<sup>[15]</sup>提取总脂后, 有机相减压蒸干称重, 计算总脂的含量。总脂经硅胶层析分成中性脂和极性脂两部分, 极性脂部分进行 LC-MS 分析。所有溶剂中均加入 50 μg/cm<sup>3</sup> 的 BHT。

## 2.4 LC-MS 分析

色谱条件: 进样 5 μL, 流动相为 95:5 水/异丙醇(V/V)溶液(A)和 95:5 乙腈/异丙醇(V/V)(B), 流速 0.3 mL/min, 柱后 1:4 分流进入质谱。分析 SQDG 和 PG 时, 流动相中加入 0.1% 氨水; 分析 MGDG 和 DGDG 时, 流动相中加入 0.001 mmol/dm<sup>3</sup> 的甲酸钠。洗脱梯度为: 10 min 内 B 从初始 50% 升至 92%, 保持 9 min, 在 1 min 内升至 100%, 保持 5 min, 再在 1 min 内降至 50% 平衡 5 min。

质谱条件: 采用电喷雾电离(ESI)源, 离子源温度 100 °C, 脱溶剂温度 250 °C, 脱溶剂氮气流速 400 L/h, 锥孔反吹氮气 0。四极杆扫描范围 m/z 100-1200。TOF 离子飞行方式采用 V 模式。使

用亮脑啡肽作为外标物对目标离子进行精确质量锁定。测定 SQDG 时, 采用负离子电离模式, 毛细管电离电压 2.5 kV, 取样锥孔电压 70 V, 碰撞室能量看分析目的不同采用 5~60 V 不等。测定 MGDG 和 DGDG 时, 采用正离子模式时, 毛细管电离电压 2.5 kV, 取样锥孔电压 70 V, 碰撞室能量看分析目的不同采用 5~60 V 不等。

## 2.5 光合膜膜脂的定性定量分析

根据特征碎片离子确定各类脂的种类和酰基组成, 根据酰基碎片离子信号强度之间的关系进一步确定各酰基的位置。向每一个样品中加入标准脂, 根据待测组分的信号强度跟标准物信号强度之间的相对大小, 半定量出每一个脂类分子在样品中的摩尔浓度。

## 3 结果与讨论

### 3.1 光合膜膜脂的定性定量分析

针对微藻膜脂的研究, 大多是研究微藻总脂中的脂肪酸组成。也有研究者把四类光合膜膜脂通过 TLC 分开, 然后通过酶解的方法, 确定出不同类型膜脂在不同酰基位置上的混合脂肪酸组成<sup>[8-14]</sup>。至今未见微藻光合膜膜脂详细分子结构组成的报道。

利用 UPLC-Q-TOF-MS 分析系统, 在上述的液质条件下, 硅藻的极性脂部分在 BEH C<sub>18</sub> 柱上能够得到很好的分离。在相应的检测模式下, 不同的光合膜膜脂能产生不同的特征碎片离子: 正离子模式下, MGDG 产生 m/z 243 的特征碎片离子, DGDG 产生 m/z 405 特征碎片离子; 负离子模式下, SQDG 产生 m/z 225 的特征碎片离子, PG 产生 m/z 227 和 m/z 171 两个的特征碎片离子。利用仪器中的 MS<sup>E</sup> 功能, 在高能量的总离子流(TIC)图中提取各特征碎片离子的 EIC 图, 再在低碰撞能量的 TIC 图中找到与其出峰位置对应的离子峰。飞行时间质谱是一种高分辨质谱, 测定的离子 m/z 与真实值误差小于 5 × 10<sup>-6</sup>, 所以根据测定得到的各离子峰精确 m/z 数值就可以得到各离子的元素组成, 从而根据特征碎片离子推断出每一个色谱峰的糖脂种类以及每一个糖脂分子上的两种脂肪酰基组成。正离子模式较高的碰撞能量(45~65 V)下, MGDG 和 DGDG 二级质谱中 sn-1 位丢失羧酸产生的峰强度总是比 sn-2 位丢失羧酸产生的峰强度高, 负离子模式下, 随着碰撞能量增加(45~65V), SQDG

二级质谱中,  $sn-2/sn-1$  羧基阴离子丰度比值增加; 同样, 负离子模式下, 随着碰撞能量的增加 (20~45 V), PG 的二级质谱中,  $sn-2$  位羧基阴离子的峰强度总是高于  $sn-1$  羧基阴离子的峰强度。根据以上质谱学规律, 可以确定出各脂类分子中脂肪酰基所处的位置(表 2-5)。

Shui G H 等报道在低浓度范围内, 不同脂类的离子响应值是线性相关的, 可加入内标对各种生物活性极性脂进行半定量分析<sup>[16]</sup>, Sommer U 等基于 LC-MS 法对复杂脂类混合物进行分析时也采用了类似的半定量分析<sup>[17]</sup>。故在样品中加入内标, 对其中的 MGDG, DGDG, SQDG 和 PG 分别进行了半定量分析(表 2-5)。

### 3.2 海洋硅藻中光合膜脂的组成

高等植物类囊体膜脂的大致比例为: 50% 左右的 MGDG、30% 左右的 DGDG, SQDG 和 PG 各占 5%, 12% 左右, 另外还有少量的 PC(磷脂酰胆碱)<sup>[18]</sup>。而在海洋硅藻中, 虽然 MGDG 含量也是最

高(占四种光合膜脂的 40%~70% 左右), 但 SQDG 和 PG 的含量也相对较高, SQDG 在 10% 到 40% 之间, PG 在 4%~20% 之间, DGDG 含量与高等植物膜脂组成相比则相对较低(5%~20% 之间)。这样的脂类组成与蓝细菌很相似(59% MGDG, 17% DGDG, 16% SQDG 和 8% PG)<sup>[19]</sup>, 其相似性也许是由于硅藻的类囊体和蓝细菌光合膜都未分化形成类似于高等植物叶绿体内垛膜的基粒与基质片层结构, 这给有关硅藻叶绿体可能起源于二次内共生学说<sup>[20]</sup> 提供了又一种依据。

四种光合膜脂的比例在高等植物中很接近, 而在 8 种硅藻中变化非常大, 这可能跟不同种类硅藻所需要的营养条件不同有关。Van Mooy 研究了不同区域的大洋中浮游植物 SQDG 与 PG 的比值, 发现正常磷酸盐水平下, 同一海域内不同硅藻中 SQDG/PG 含量有很明显差别, 而当磷酸盐含量缺乏时, 不同硅藻中 SQDG/PG 比值变化幅度达 2~130 倍<sup>[21]</sup>。

表 1 8 种海洋硅藻中各光合脂占总光合膜脂的比例

编号	种名	MGDG (%)	DGDG (%)	SQDG (%)	PG (%)
ATOC	根管藻 <i>Rhizosoleni</i> sp	56.57	10.93	28.67	3.83
ATOX	骨条藻 <i>Skeletonema</i> sp	44.76	13.15	33.80	8.29
COS2	圆筛藻 <i>Coscinodiscus</i> sp	54.40	5.63	26.02	13.95
HGNJ2	未鉴定硅藻	47.35	19.40	24.30	8.95
NSP1	菱形藻 <i>Nitzschia</i> sp	43.72	4.28	30.63	21.37
SKSPXS0711	骨条藻 <i>Skeletonema</i> sp	71.24	14.21	10.85	3.70
SCXMB02	中肋骨条藻 <i>Skeletonema costatum</i>	49.02	3.70	39.41	7.87
GSP	冠盘藻 <i>Stephanodiscus</i> sp	70.99	6.53	18.44	4.04

### 3.3 硅藻光合膜脂酰基分布

分析了 8 种硅藻膜脂的分子组成(表 2-5), 同一种脂的不同分子的含量有很大差别。MGDG 在 0.68~99.79 nmol/mg 干藻, DGDG 0.29~15.21 mol/mg 干藻之间, SQDG 在 0.14~57.24 nmol/mg 干藻之间, PG 在 0.31~14.72 nmol/mg 干藻之间。虽然各种硅藻中膜脂分子种类有所不同, 但都含有一些共同的组分, 而且这些组分相对含量均较高: 8 种硅藻的 MGDG 均含有  $C_{16:3}/C_{16:3}$  ( $sn-1$  位/ $sn-2$  位酰基脂肪酸, 下类同)、 $C_{20:5}/C_{16:3}$  分子, DGDG 均含有  $C_{20:5}/C_{16:2}$ ,  $C_{20:5}/C_{16:1}$  和  $C_{16:1}/C_{16:1}$  分子, SQDG 均含有高含量的  $C_{14:0}/C_{14:0}$ ,  $C_{14:0}/C_{16:0}$  和一定量的

$C_{14:0}/C_{16:3}$  分子, PG 则均含有  $C_{18:1}/C_{18:1}$  分子。

4 种光合膜脂中, PG 和 SQDG 的脂肪酸不饱和度水平很接近, 相对较低, 而 MGDG 的不饱和程度最高。MGDG 是类囊体膜最主要的光合脂, 其分子呈锥形, 具有非双层结构特征, 有利于膜蛋白的包装<sup>[22]</sup>, 这种结构的形成正是由于其所含脂肪酸的高不饱和度。另外, 有研究表明, 通过脂肪酸侧链原位加氢可以改变膜脂的不饱和度, 而如果分子结构中含有高比例的多不饱和脂肪酸, 那么即使有一定量的双键被氢化, PS iv 和 PS Ⅱ 的电子传递活性也不会受到抑制, 而且叶绿体的结构基本没有变化<sup>[23]</sup>。这表明类囊体膜脂中含有高比例的不饱和



续表 2

[M+Na] <sup>+</sup> m/z	sn- 1/sn- 2	ATOC	ATOX	COS2	HGNJ2	NSPI	SKSPXS0711	SCXMB02	GSP
747.53	16: 1/ 16: 2				3.14		11.52		33.55
747.53	16: 0/ 16: 3	8.9						2.48	8.04
747.55	16: 3/ 16: 0	16.69				6.14			
747.56	16: 1/ 16: 2	4.23		19.83					
749.51	16: 1/ 16: 1	19.27		18.02	3.87	2.47	9.41		
749.56	16: 2/ 16: 0	33.28	6.32						
749.57	16: 0/ 16: 2					6.24			
749.57	16: 2/ 16: 0							3.22	5.5
751.6	16: 0/ 16: 1		32.92	8.01		5.38			99.79
753.6	16: 0/ 16: 0		4.69						
765.51	18: 4/ 16: 4					2.39			9.38
767.53	18: 3/ 16: 4					2.32			
767.53	18: 4/ 16: 3								2.95
769.54	18: 3/ 16: 3		1.56	9.72					
769.54	18: 2/ 16: 4					5.31			
771.56	18: 3/ 16: 2					3.15			
771.56	18: 4/ 16: 1								9.18
777.65	18: 2/ 16: 0		4.36						
785.56	18: 2/ 16: 4					0.89		4.61	
787.62	18: 2/ 16: 3		11.79					28.01	
791.53	20: 5/ 16: 4				5.33	2.2			20.03
793.56	20: 5/ 16: 3	13.64	15.1	19.62	16.59	7.43	49.04	11.72	15.13
795.49	20: 5/ 16: 2			25.44	13.19	6.92			19.41
795.53	20: 4/ 16: 3	6.4	18.17						
797.51	20: 5/ 16: 1		14.52	7.9	13.01		19.25	26.39	14.34
797.55	20: 4/ 16: 2	2.31							
799.56	20: 5/ 16: 0	15.83			0.68				
799.58	20: 4/ 16: 1		11.95						

表 3 8 种海洋硅藻 DG DG 的组成及含量 (nmol/ mg 干藻)

[M+Na] <sup>+</sup> m/z	sn- 1/sn- 2	ATOC	ATOX	COS2	HGNJ2	NSPI	SKSPXS0711	SCXMB02	GSP
885.63	14: 0/ 16: 1			3.57		2.01		1.16	2.44
899.64	15: 0/ 16: 1								1.32
905.51	16: 3/ 16: 2								0.66
909.62	16: 2/ 16: 1					1.09			
911.63	16: 1/ 16: 1	0.56	2.45	0.38	5.79	0.76	8.45	1.24	7.42
913.67	16: 0/ 16: 1	3.23	5.57	0.29	2.57	0.69	1.84	0.96	
913.66	16: 1/ 16: 0								9.3
915.58	16: 1/ 16: 3	4.46							
917.6	16: 1/ 16: 2	5.77							



续表 4

[M-H] <sup>-</sup> m/z	sn-1/sn-2	ATOC	ATOX	COS2	HGNJ2	NSPI	SKSPXS0711	SCXMBO2	GSP
833 46	20:5/16:3				0 46				2 25
833 58	19:1/16:0		1.73						
835 47	16:2/20:5				1 77				
839 5	20:5/16:0								4 29
845 55	18:1/18:1			1 79	0 19	1 16	0 77	1 68	
847 57	18:1/18:0		1.96						
847 57	18:0/18:1				0 14		0 3	0 97	
849 58	18:0/18:0		1.15						
859 47	18:4/20:5						0 37	0 67	
859 47	20:5/18:4								13 62
859 56	19:1/18:1			2 2		1 93		2 1	
859 57	18:1/19:1				0 41				
861 58	19:1/18:0		5.03			0 74		0 69	
875 6	24:1/14:0	0 38							

表 5 8种海洋硅藻 PG 的组成及含量(nmol/mg 干藻)

[M-H] <sup>-</sup> m/z	sn-1/sn-2	ATOC	ATOX	COS2	HGNJ2	NSPI	SKSPXS0711	SCXMBO2	GSP
705 47	15:0/16:1			0 86		2 51			
707 49	15:0/16:0	0 97		1 04		0 94			
715 5	16:2/16:1		8.04						
717 56	16:1/16:1	1 25	4.74	2 53		2 4		0 71	1 33
719 5	16:0/16:1	0 7	1.87	14 72	1 12	7 84		2 3	9 72
721 5	16:0/16:0				1 75				
733 51	15:0/18:1			3 38					
743 55	16:2/18:1	1 23							
745 5	16:1/18:1					2 43		0 92	
745 5	18:1/16:1				1 55				3 05
747 5	16:0/18:1	0 67		1 08		1 03		1 04	
747 5	18:1/16:0				4 53				1 45
749 54	16:0/18:0		0.79						
755 53	19:1/16:3						1 83	1 34	
757 54	19:1/16:2						2 17	1 02	
759 56	19:1/16:1						1 84	1 85	
763 47	20:5/16:2					4 15			
765 49	20:5/16:1					2 11			
771 52	18:2/18:1				0 64				
773 53	18:1/18:1	1 03	3.21	5 64	3 46	1 98	2 94	7 54	6 03
775 55	18:0/18:1		4.54	0 93					0 37
787 56	19:1/18:1	0 52	2.27	4 16	0 31	7 03	1 78		1 13
789 57	19:1/18:0	0 87		0 39		0 36			
791 48	22:6/16:1	3 24							
801 57	19:1/19:1			3 8		2 05			

## 参考文献:

- [1] MURATA N, SIEGENTHALER P A. Lipids in Photosynthesis: Structure, function and Genetics [M]. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1998: 1—20
- [2] ANDERSSON M X, STRIDH M H, LARSSON K E, et al. Phosphate deficient oat replaces a major portion of the plasma membrane phospholipids with the galactolipid digalactosyl- diacylglycerol [J]. FEBS letters, 2003, 537(1—3): 128—132
- [3] HARTEL H, BENNING C. Can digalactosyldiacylglycerol substitute for phosphatidylcholine upon phosphate deprivation in leaves and roots of Arabidopsis? [J]. Biochem Soc Trans, 2000, 28(6): 729—732
- [4] JONES M R. Lipids in photosynthetic reaction centres: structural roles and functional holes [J]. Prog Lipid Res, 46(1): 56—87
- [5] FIELD C B, BEHRENFELD M J, RANDERSON J T, et al. Primary Production of the Biosphere: Integrating terrestrial and oceanic components [J]. Science, 1998, 281(5374): 237—240
- [6] MANN D G, CHEPURNOV V A, DROOP S J M. Sexuality, incompatibility, size variation, and preferential polyandry in natural populations and clones of *Sellaphora pupula* (baccillariophyceae) [J]. J Phycol, 1999, 35(1): 152—170
- [7] BRZEZINSKI M A, PRIDE C J, FRANCK V M et al. A switch from  $\text{Si}(\text{OH})_4$  to  $\text{NO}_3^-$  depletion in the glacial Southern Ocean [J]. Geophys Res Lett, 2002, 29(12): 5 1—5 4
- [8] SANINA N M, GONCHAROVA S N, KOSTETSKY E Y. Fatty acid composition of individual polar lipid classes from marine macrophytes [J]. Phytochemistry, 2004, 65(6): 721—730
- [9] BIGOGNO C, KHOZIN-GOLDBERG I, BOUSSIBA S, et al. Lipid and fatty acid composition of the green oleaginous alga *Parietochloris incisa*, the richest plant source of arachidonic acid [J]. Phytochemistry, 2002, 60(5): 497—503
- [10] 许亦农, 王则能, 严小军, 等. 褐藻 *Ectocarpus fasciculatus* 甘油酯合成过程中脂肪酸在甘油酯中的位置分布 [J]. 科学通报, 2002, 47(13): 998—1002
- [11] BRÜGGER B, ERBEN G, SANDHOFF R, et al. Quantitative analysis of biological membrane lipids at the low picomole level by nano-electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. Proc Natl Acad Sci, 1997, 94(6): 2339—2344
- [12] WELTIR, WANG X. Lipid species profiling: a high-throughput approach to identify lipid compositional changes and determine the function of genes involved in lipid metabolism and signaling [J]. Curr Opin Plant Biol, 2004, 7(3): 337—344.
- [13] HAN X, GROSS R W. Shotgun lipidomics: electrospray ionization mass spectrometric analysis and quantitation of cellular lipidomes directly from crude extracts of biological samples [J]. Mass Spectrom Rev, 2005, 24(3): 367—412
- [14] GUELLA G, FRASSANITO R, MANCINI I. A new solution for an old problem: the regiochemical distribution of the acyl chains in galactolipids can be established by electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2003, 17(17): 1982—1994
- [15] BLIGH E G, DYER W J. A rapid method for total lipid extraction and purification [J]. Can J Biochem Physiol, 1959, 37(5): 911—923
- [16] SHUI G H, BENDT A K, PETHE K. Sensitive profiling of chemically diverse bioactive lipids [J]. Journal of Lipid Research, 2007, 48(9): 1976—1984
- [17] SOMMER U, HERSCOVITZ H, WELTY F K, et al. LC-MS based method for the qualitative and quantitative analysis of complex lipid mixtures [J]. J Lipid Res, 2006, 47(4): 804—814
- [18] JOYARD J, TEYSSIER E, MIEGE C, et al. The Biochemical machinery of plastid envelope membranes [J]. Plant Physiol, 1998, 118(3): 715—723
- [19] WADA H, MURATA J. *Synechocystis* PCC6803 mutants defective in desaturation of fatty acids [J]. Plant and Cell Physiology, 1989, 30(7): 971—978
- [20] ARM BRUST E V, BERGES J A, BOWLER C, et al. The genome of the diatom *Thalassiosira pseudonana*: ecology, evolution, and metabolism [J]. Science, 2004, 306(5693): 79—86
- [21] VAN MOOY B A, FREDRICKS H F, PEDLER B E, et al. Phytoplankton in the ocean use non-phosphorus lipids in response to phosphorus scarcity [J]. Nature, 2009, 458(7234): 69—72
- [22] MURPHY D J. The importance of non-planar bilayer regions in photosynthetic membranes and their stabilisation by galactolipids [J]. Febs Letters, 1982, 150(1): 19—26
- [23] RESTALL C J, WILLIAMS P, PERCIVAL M P, et al. The modulation of membrane fluidity by hydrogenation processes: ④ The hydrogenation of biomembranes of spinach chloroplasts and a study of the effect of this on photosynthetic electron transport [J]. Biochim Biophys Acta, 1979, 555(1): 119—30
- [24] 徐继林, 严小军. 脂类分析在海洋微藻化学分类学上的研究进展 [J]. 海洋通报, 2004, 23(2): 65—72
- [25] SOMERVILLE C, BROWSE J. Plant Lipids: Metabolism, Mutants, and Membranes [J]. Science, 1991, 252(5002): 80—87



- [26] BROWSE J, SOMERVILLE C. Glycerolipid synthesis: Biochemistry and regulation [J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1991, 42: 467—506
- [27] ROUGHAN P G, SLACK C R. Cellular organization of glycerolipid metabolism [J]. *Annu Rev Plant Physiol*, 1982, 33: 97—132
- [28] MONGRAND S, BESSOU LE J J, CABANTOU S F, et al. The C<sub>16:3</sub>/C<sub>18:3</sub> fatty acid balance in photosynthetic tissues from 357 plant species [J]. *Phytochemistry*, 1998, 49 (4): 1049—1064

## Distribution of photosynthetic glycerolipids in 8 diatoms

CHEN De-ying<sup>1</sup>, XU Ji-lin<sup>1</sup>, YAN Xiao-jun<sup>1</sup>, ZHOU Cheng-xu<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> Key Laboratory of Ministry of Education for Applied Marine Biotechnology, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

**Abstract:** In this work, an exhaustive qualitative and quantitative profiling of the photosynthetic glycerolipids fraction of the 8 microalga diatoms was carried by Ultra Performance Liquid Chromatography – Electro-spray ionization – Quadrupole – Time of Flight Mass Spectrometry (UPLC–ESI–Q–TOF–MS). In the diatom thylakoids membrane, monogalactosyldiacylglycerol (MGDG) and digalactosyldiacylglycerol (DGDG) account for about 40%~70% and 5%~20% of the total membrane lipids, respectively. The anionic sulfoquinovosyldiacylglycerol (SQDG) as well as the likewise anionic phosphatidylglycerol (PG) contribute between 10%~40% and 4%~20% each. In the 8 diatoms, the molecular species of photosynthetic glycerolipids had been determined with content ranged from 0.14 to 99.79 nmol/mg dry weight. The predominant species of MGDG were those with C<sub>16:3</sub>/C<sub>16:3</sub> and C<sub>20:5</sub>/C<sub>16:3</sub>; Three main molecular species of DGDG in the 8 diatoms always contained C<sub>20:5</sub>/C<sub>16:1</sub>, C<sub>20:5</sub>/C<sub>16:2</sub> and C<sub>16:1</sub>/C<sub>16:1</sub>; The major molecular species of SQDG were those containing combinations of C<sub>14:0</sub>/C<sub>14:0</sub>, C<sub>14:0</sub>/C<sub>16:0</sub>, C<sub>14:0</sub>/C<sub>16:1</sub> and C<sub>14:0</sub>/C<sub>16:3</sub>; All the PG classes contained the C<sub>18:1</sub>/C<sub>18:1</sub> as the main molecular species. The data also indicated that MGDG and DGDG are biosynthesized through prokaryotic pathway exclusively within the chloroplast, because all the fatty acids linked at sn-2 position are several C<sub>16</sub> fatty acids in MGDG and DGDG. On the other hand, PG and SQDG have a typical mixed biosynthetic pathway (both prokaryotic pathway and eukaryotic pathway) because the fatty acids at sn-2 position include both C<sub>16</sub> and C<sub>18</sub> fatty acids.

**Key words:** diatom; photosynthetic membrane lipids; UPLC–Q–TOF–MS