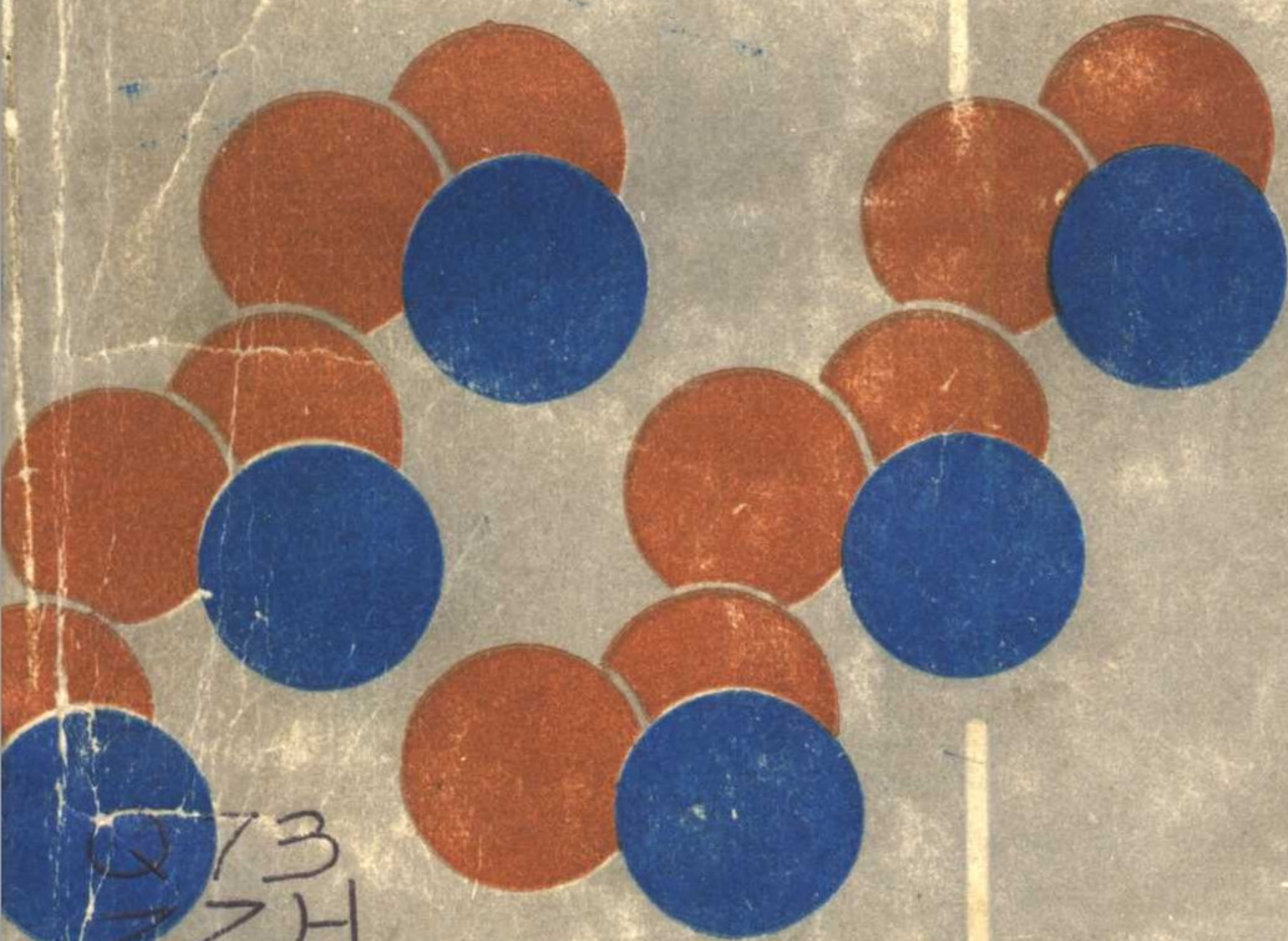


● 膜生物物理学

● 张志鸿 刘文龙 编著

MO SHENGWU WULIXUE ● MO SHENGWU WULIXUE



Q73
ZZH

高等教育出版社

生物物理学教学参考丛书

膜生物物理学

张志鸿 刘文龙 编著

高等教育出版社

内 容 提 要

本书为“生物物理学教学参考丛书”之一，系由复旦大学生物物理学专业历届使用的教材修改而成，内容丰富，共八章。前四章主要从生物物理学角度讨论生物膜的物理化学特性和动态结构，试图给对膜生物学感兴趣的读者提供较系统、深入的基础。后四章内容涉及膜上分子间的相互作用、细胞内膜系统、生物膜的功能、人工膜及其实际应用。本书还介绍了膜生物物理学中常用的一些研究方法，以利于对概念的了解及进一步的研究。

本书内容涉及的范围较广，且不少是近年来的研究进展，因此不仅适用于高等院校生物物理学专业的师生教学或参考，也可供有关膜生物学、膜医学等工作学习参考。

生物物理学教学参考丛书

膜生物物理学

张志鸿 刘文龙 编著

*

高等教育出版社出版

新华书店上海发行所发行

商务印书馆上海印刷厂印刷

*

开本 850×1168 1/32 印张 9.625 字数 230,000

1987年10月第1版 1987年10月第1次印刷

印数 0,001—1,900

ISBN 7-04-000058-X/Q·2

书号 13010·01442 定价 2.15 元

内 容 提 要

本书为“生物物理学教学参考丛书”之一，系由复旦大学生物物理学专业历届使用的教材修改而成，内容丰富，共八章。前四章主要从生物物理学角度讨论生物膜的物理化学特性和动态结构，试图给对膜生物学感兴趣的读者提供较系统、深入的基础。后四章内容涉及膜上分子间的相互作用、细胞内膜系统、生物膜的功能、人工膜及其实际应用。本书还介绍了膜生物物理学中常用的一些研究方法，以利于对概念的了解及进一步的研究。

本书内容涉及的范围较广，且不少是近年来的研究进展，因此不仅适用于高等院校生物物理学专业的师生教学或参考，也可供有关膜生物学、膜医学等工作学习参考。

生物物理学教学参考丛书

膜生物物理学

张志鸿 刘文龙 编著

*

高等教育出版社出版

新华书店上海发行所发行

商务印书馆上海印刷厂印刷

*

开本 850×1168 1/32 印张 9.625 字数 220,000

1987年10月第1版 1987年10月第1次印刷

印数 0,001—1,900

ISBN 7-04-000058-X/Q·2

书号 13010·01442 定价 2.15 元

目 录

引言	1
第一章 生物膜的组成	3
§ 1 脂质	3
§ 2 蛋白质	14
第二章 脂质双分子层膜的物理化学特性	28
§ 1 脂质的多形性	28
§ 2 脂质双分子层膜的相变	44
§ 3 脂质双分子层膜的分相	77
第三章 生物膜的结构	84
§ 1 流动镶嵌模型	84
§ 2 红细胞膜结构	86
§ 3 嗜盐菌紫膜结构	100
§ 4 非双分子层结构存在的可能性	110
第四章 生物膜的流动性	119
§ 1 膜上分子的扩散	119
§ 2 研究流动性的定量方法	126
§ 3 膜流动性的生物学意义	155
§ 4 膜蛋白流动性的限制	162
第五章 脂质和蛋白质的相互作用	169
§ 1 周围蛋白质和膜的结合	169
§ 2 蛋白质功能和脂质状态的关系	170
§ 3 边界脂质	175
第六章 生物膜的装配	179
§ 1 病毒的装配	179
§ 2 膜蛋白的生物合成和装配	181
§ 3 膜脂质的生物合成和装配	188

§ 4	质膜的装配.....	191
第七章	生物膜的功能	193
§ 1	物质的选择性转运.....	193
§ 2	能量转换.....	219
§ 3	信息传递.....	236
第八章	人工膜及其应用	256
§ 1	双分子层脂膜的制备.....	256
§ 2	双分子层脂膜的界面性质.....	261
§ 3	双分子层脂膜的厚度.....	265
§ 4	双分子层脂膜的通透性质.....	269
§ 5	双分子层脂膜的电特性.....	272
§ 6	BLM 用于研究生物膜	280
§ 7	脂质体作为药物或其他活性分子的携带者.....	296

引 言

自 1972 年 Singer 和 Nicolson 提出生物膜的“流动镶嵌模型”以来,关于生物膜的研究有了飞跃的进展。目前,生物膜已成为分子生物学中的一个很重要的研究领域。从近几年来出版的有关杂志、专著、国际学术会议论文集等资料中可以明显看出,不但有关生物膜的论文数量迅速增多,而且涉及到许多领域,生物膜已成为生物物理学、生物化学、细胞学、生物工程、免疫学、遗传学、药理学、人工脏器学、肿瘤病因学,甚至化学工程等方面所研究的课题。

膜在整个细胞结构和功能上的重要性已越来越被大家重视。真核细胞中各个细胞器,就是依据膜的隔室区分的。质膜在细胞内外物质运输、维持细胞内外的离子平衡、信息传递、细胞间的识别及细胞运动等重要的生命过程中起着关键性的作用;内质网膜是许多重要蛋白质的合成场所,同时内质网膜和高尔基器膜是糖链的合成和加工的场所;线粒体膜和类囊体膜上的电子传递过程已得到详细的研究,这些产能性膜的重要性已是不言而喻的;其他细胞器膜也同样有其固有的特性和功能。除上述的之外,细胞内各种物质的定向运输和定位、各种细胞骨架组分的功能发挥、物质从细胞向外分泌及内食,及至病毒感染细胞等过程都无不在膜的舞台上展现的。对生物膜、人工膜的研究成果,不但推动了从分子水平上对细胞生命过程的研究,而且业已得到实际的应用。如,“膜与疾病”的关系已出版了数本专著;脂质体技术现已列入了“生物工程”的一个方面,给市场提供了临床诊断和治疗用的产品;在农业、化工等领域中也都有不少实用的开发研究报导。

我们编写本书的目的不是对上列诸方面都进行系统的介绍,而主要是从生物物理学角度介绍膜的基本结构和物理化学特性,因为只有理解和掌握了这些内容才更有助于我们对各种各样的膜功能及其应用的深入研究。在膜的结构方面主要是介绍动态结构。所涉及的研究材料是大家用得最为广泛的人工脂质膜、红细胞膜、嗜盐菌紫膜等。要搞清膜的结构和特性就必须先从方法着手,因此,本书介绍了几种常用的研究方法,其中有散射方法(X线衍射、拉曼散射、荧光测量)、磁共振方法(自旋标记 ESR、NMR)、热分析法(差示扫描量热法)和冰冻蚀刻电子显微术。在介绍这些方法时着重阐述它们的基本物理概念及其在生物膜研究中的适用性,但不准备在具体方法学上多加赘述。几种细胞内膜系的特性及功能在“生物膜的装配”一章中述及。“生物膜功能”一章主要介绍物质的跨膜运输、化学渗透假说及信息传递中生物膜的作用。生物膜研究的实用性将在最后一章“人工膜及其应用”中论及。

书中有相当一些资料是最近几年的文献报导,其中有些问题尚有争论。随着研究工作的深入开展,相信我们对生物膜的结构和功能,进而对于生命科学会有更多的认识,同时也将会在实际应用中造福于人类。

第一章 生物膜的组成

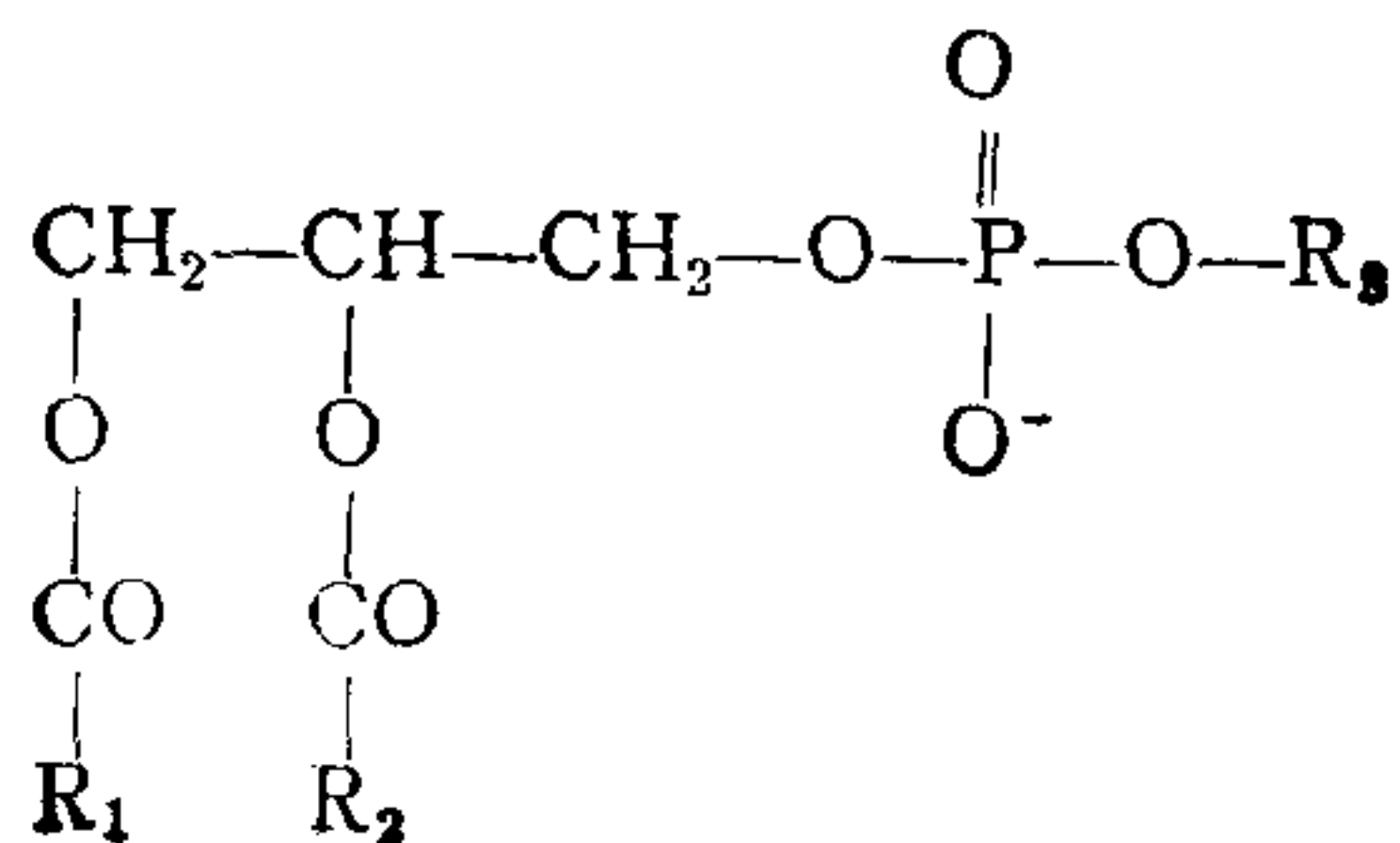
质膜及细胞内膜系统统称为“生物膜”。它们有一个共同的特征,即经饿酸固定后,在电镜下呈现出黑-白-黑(电子密度高-低-高)的三层结构,厚度在 8 nm 左右,组成成分主要是脂质、蛋白质及糖类。这些组分的有机排列及相互作用形成了生物膜的特有结构,并且赋予各种生物膜的特定功能。其中量最多的是脂质和蛋白质,精确的相对含量随各种膜而异。一般的规律是,代谢旺盛的膜含有较多的蛋白质。例如,神经纤维的髓鞘含 75% 干重的脂质,而线粒体内膜中脂质则为 25%,二者剩下的主要是蛋白质。这种量上的差异亦表明了脂质主要是给其上的蛋白质提供结构上的骨架。此外,不到 10% 干重的是糖类,生物膜中糖类都是以糖脂或糖蛋白的形式存在。同生物膜相结合的水约占总量的 20%,还有不少整合着的钙及镁离子。

§ 1 脂 质

生物膜中的脂质以极性脂质为主。一般可分为磷脂、胆固醇和糖脂三大类。

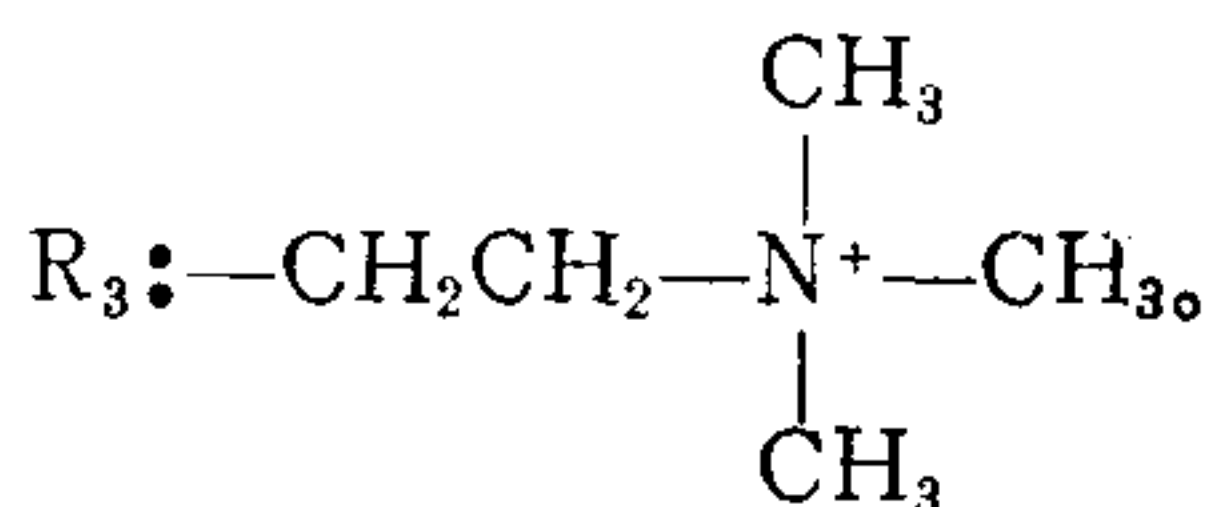
(一) 磷脂

一般结构式:



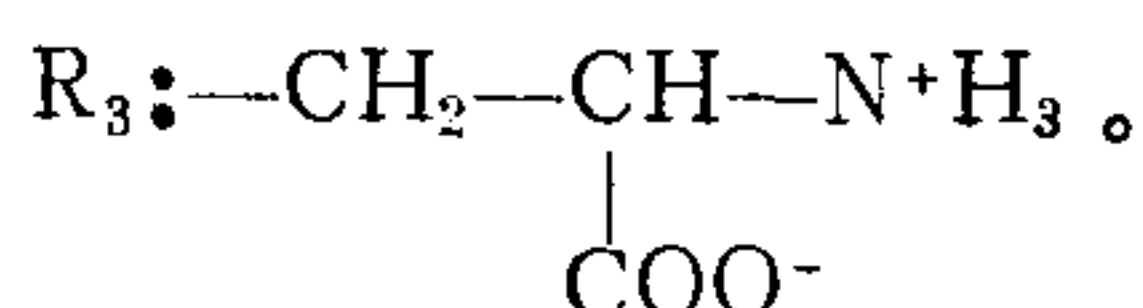
常见的有以下几种:

(1) 磷脂酰胆碱(phospha-tidylcholine, 缩写 PC)



又名卵磷脂 (lecithin)。它是动物细胞膜中最广泛存在的一种磷脂, 约占总脂质的一半。

(2) 磷脂酰丝氨酸(phospha-tidylserine, 缩写 PS)



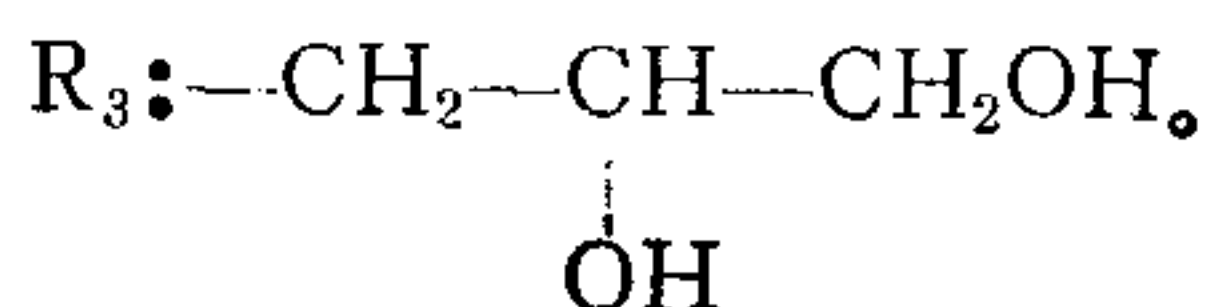
最早是从脑磷脂中提取出, 往往以 K^+ 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 或 Mg^{2+} 的盐类形式存在于组织中。

(3) 磷脂酰乙醇胺(phospha-tidylethanolamine, 缩写 PE)



旧名脑磷脂(cephalin), 是脑等组织中乙醇不溶性磷脂, 实际上至少是三种磷脂——PE、PS 和肌磷脂(PI)的混合物。PE 是细菌细胞膜的主要磷脂, 其脂肪酸烃链一般包含比 PC 较多的不饱和键。

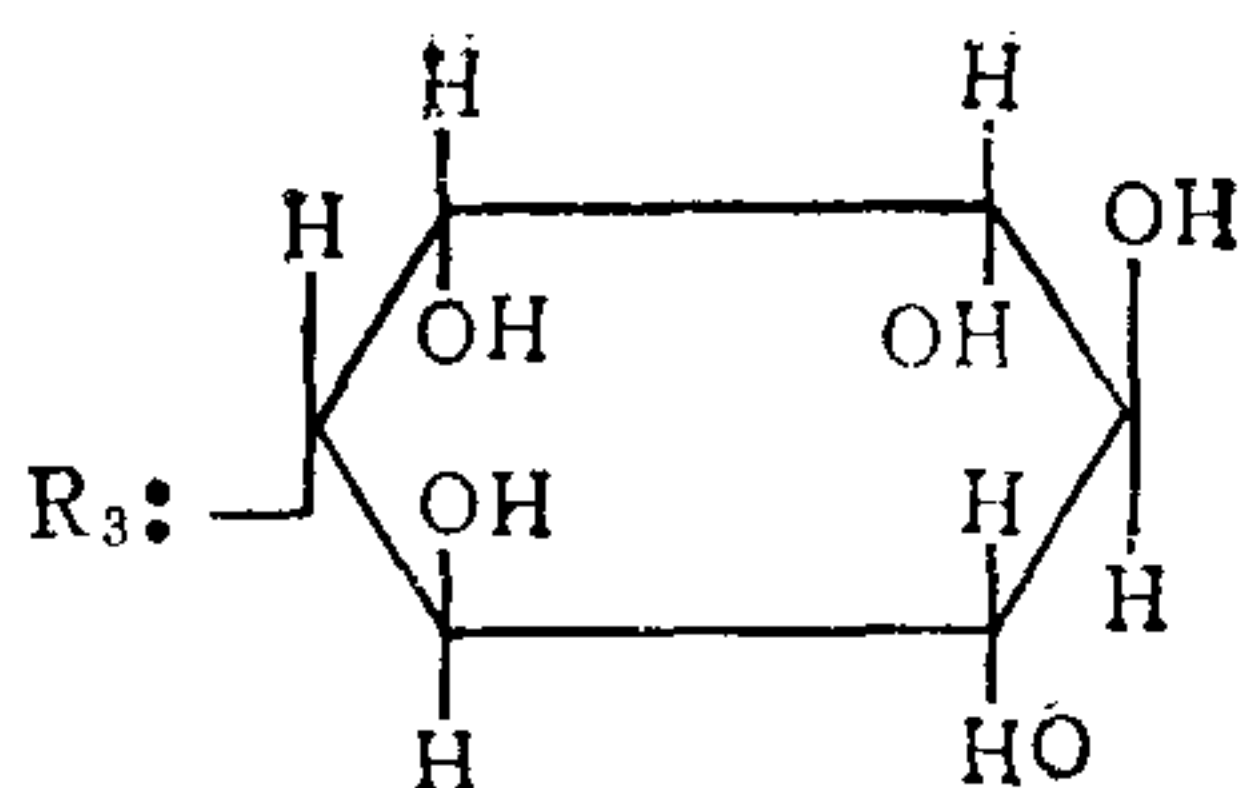
(4) 磷脂酰甘油(phospha-tidylglycerol, 缩写 PG)



动物细胞中甚少, 而在植物中则占整个膜结构磷脂量的 10~20% (叶绿体中为 50~60%), 革兰氏阳性菌中则高达 70%。PG 也是心磷脂生物合成的前体。

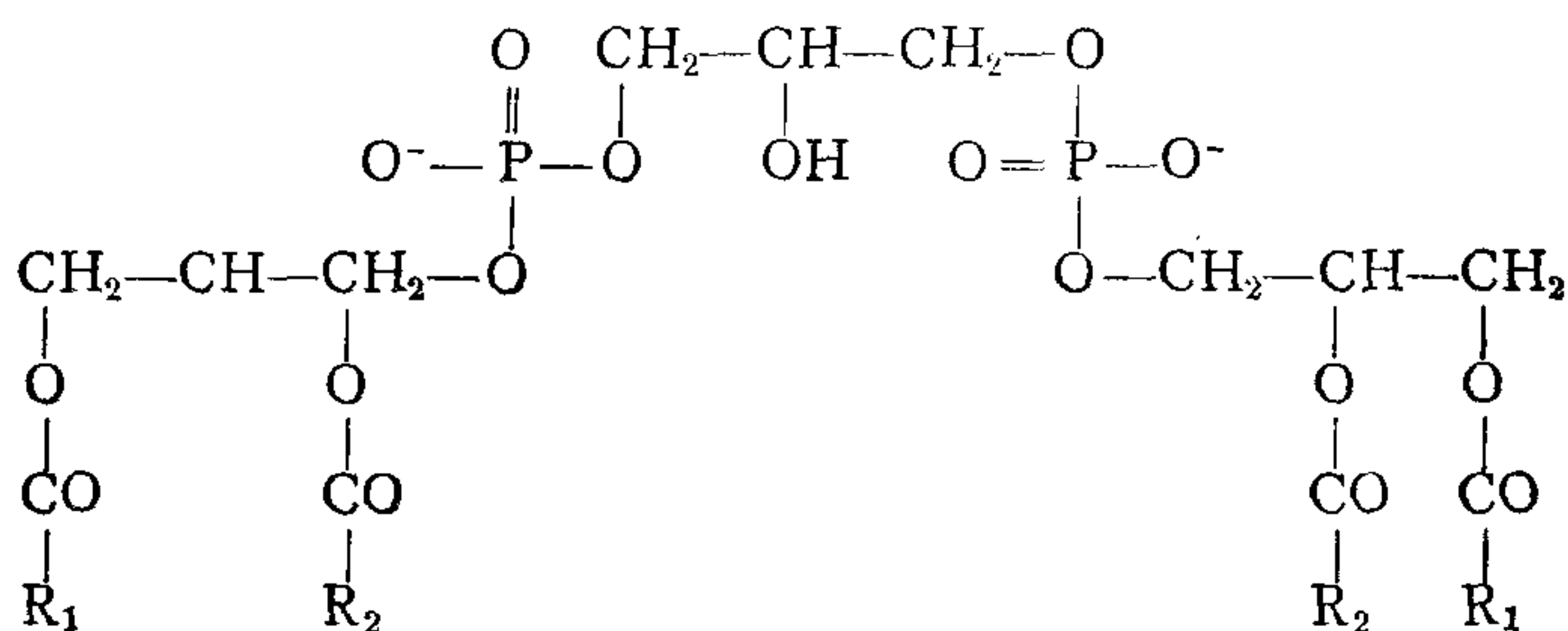
(5) 磷脂酸(phosphatidic acid, 缩写 PA) $R_3: -H$ 。

(6) 磷脂酰肌醇(phospha-tidylinositol, 缩写 PI)



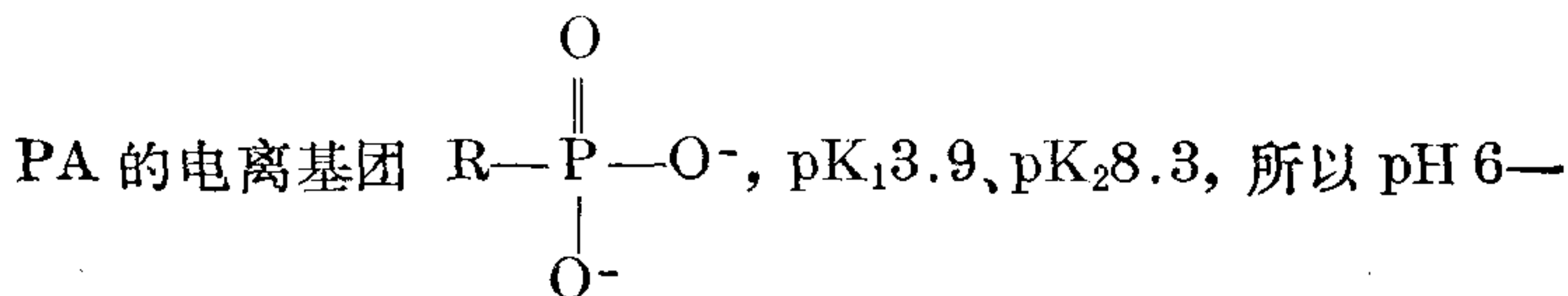
膜上的含量虽很少,但最近发现,它在细胞信息传递过程中起着相当重要的作用(见第七章 § 3)。

(7) 心磷脂(cardiolipin, 缩写 CL)



又称二磷脂酰甘油(Diphosphatidylglycerol), 缩写 DPG。主要存在于线粒体、叶绿体及许多细菌中。

磷脂结构式中, R_1 、 R_2 表示脂肪酸烃链。 R_1 一般是饱和的, R_2 可能包含多达 6 个双键。在一般情况下, 天然膜中脂肪酸链的碳原子数为 14~24 个, C_{16} 、 C_{18} 、 C_{20} 占 80% 以上, 奇数的小于 2%。不饱和脂肪酸中, 18:1、18:2、20:4 占 90% 以上。有多个双键时, 每个双键都由亚甲基隔开, 因此共轭作用不会发生。



7 时净电荷为 -1, 而在 pH 9 左右的碱性环境下则为 -2。磷酸的二级解离常数 pK^{1-2} , pH 7 时荷负电, PC、PE 的氨基解离常数 pK 分别是 13、10, 中性 pH 时荷正电, 故 PC、PE、SM(鞘磷脂, 下述)

的净电荷为 0。生理 pH 下, 丝氨酸带一个负电荷及一个正电荷, 所以 PS 像 PI、PG 一样, 净带一个负电荷, OL 则带二个负电荷。这些磷脂的不同荷电性影响着磷脂在生物膜中的分布、磷脂和蛋白质、金属离子的相互作用等。

表 1.1 是几例今后常见磷脂中的脂肪酸成分。

表 1.1 磷脂中常见的脂肪酸成分

名 称	分 子 式	符号
豆蔻酸(myristic acid)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$	$\text{C}_{14:0}$
棕榈酸(palmitic acid)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$	$\text{C}_{16:0}$
硬脂酸(stearic acid)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$	$\text{C}_{18:0}$
油 酸(oleic acid)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	$\text{C}_{18:1}$
亚油酸(linolic acid)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_2(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$	$\text{C}_{18:2}$
花生四烯酸(arachidonic acid)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_4(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	$\text{C}_{18:4}$

EPC (蛋黄卵磷脂) 是鸡蛋黄中的 PC, 它是常用的一种膜磷脂, 其脂肪酸组成见表 1.2。对于其他各种生物膜中的磷脂也都表现出 R_1 、 R_2 的多样性。

表 1.2 EPC 的脂肪酸组成

链	重量百分比(%)	链	重量百分比(%)
16:0	26.2	20:2	2.8
16:1	2.0	20:4	5.4
18:0	15.1	20:5	2.8
18:1	31.9	22:5	2.8
18:2	12.2	22:6	4.4
18:4	2.8		

(引自 Fettiplace 等, 1971)

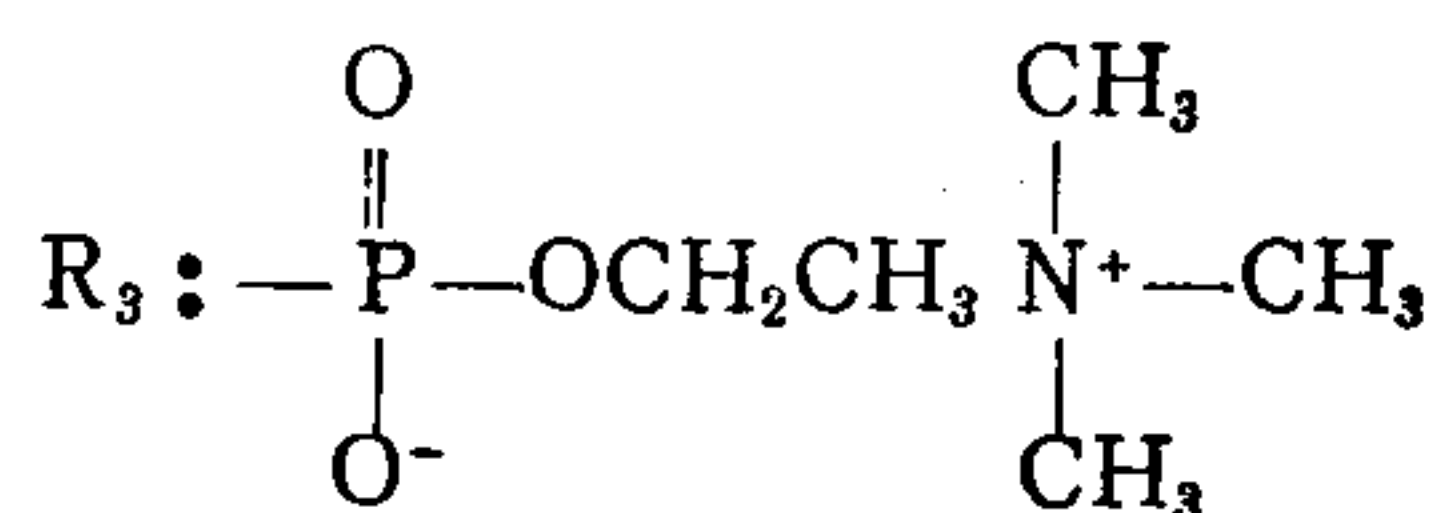
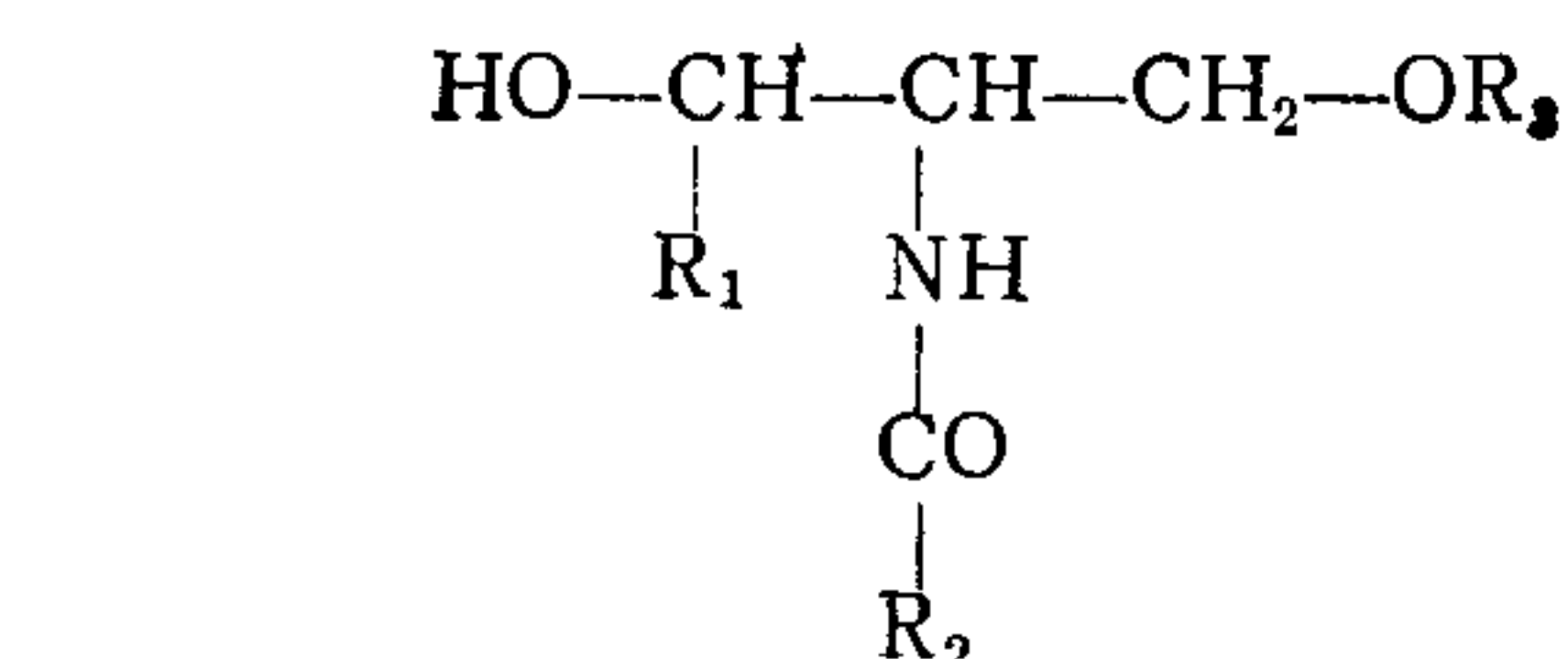
由于生物膜磷脂组成的复杂性，在人工膜模型的研究中经常使用组成较简单的合成磷脂，例如：

二豆蔻酰磷脂酰胆碱——dimyristoylphosphatidylcholine, 缩写 DMPC;

二棕榈酰磷脂酰胆碱——dipalmitoylphosphatidylcholine, 缩写 DPPC;

二油酰磷脂酰胆碱——dioleoylphosphatidylcholine, 缩写 DOPC。

此外，尚有一种重要的磷脂，称鞘磷脂(sphingomyelin)，缩写 SM 或 Sph，结构式如下：



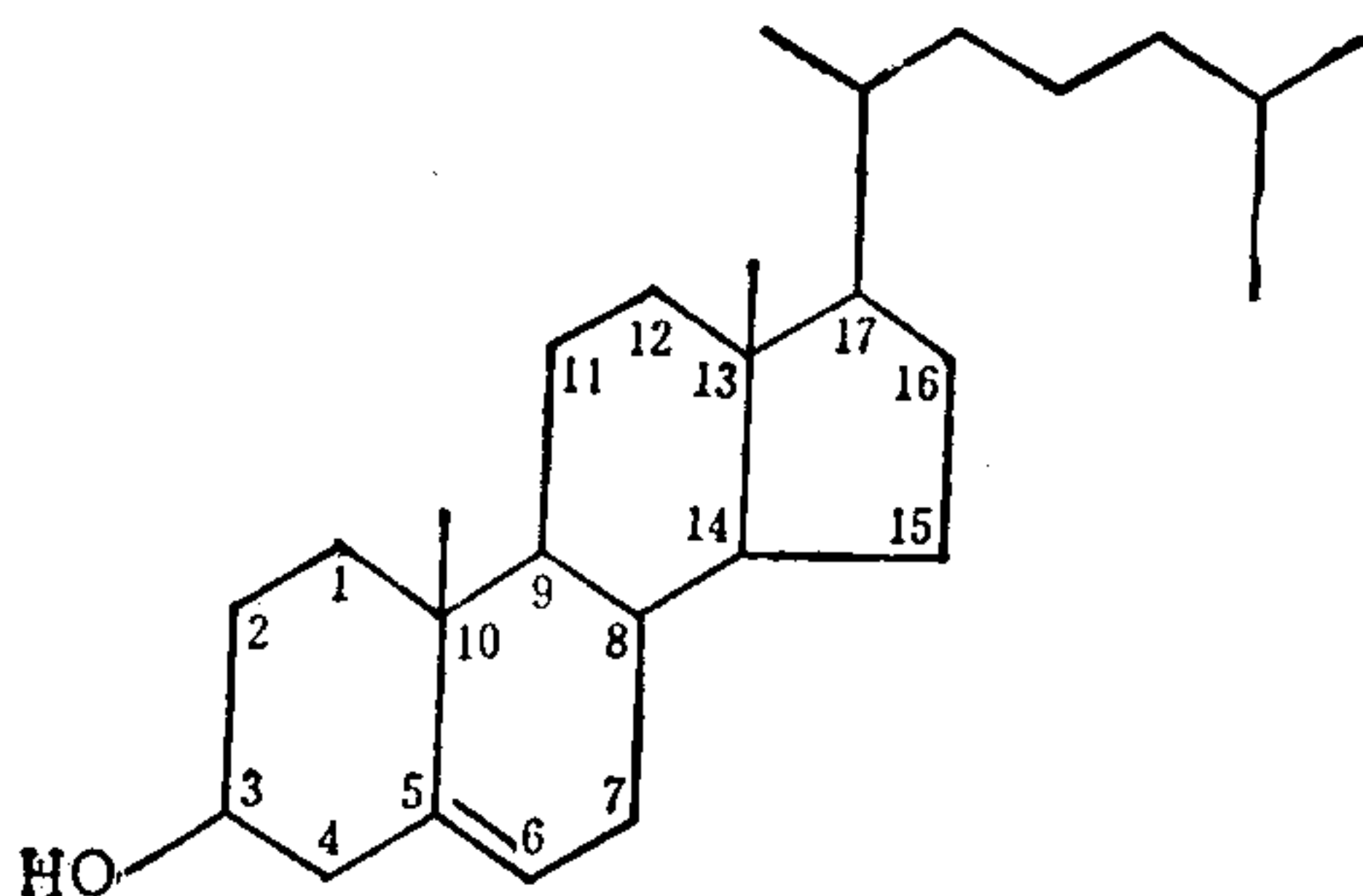
鞘磷脂大量存在于动物的脑、神经、血液、肾等组织中，植物及微生物细胞中很少。

与 SM 结构类似的脂质有鞘氨醇(sphingosine, $\text{R}_3: -\text{H}$, $\text{R}_2\text{CO}: -\text{H}$)、神经酰胺(ceramide, $\text{R}_3: -\text{H}$)。鞘磷脂、鞘氨醇和神经酰胺统属鞘脂(sphingolipid)。

上述磷脂是生物膜中脂质的主要组成成分，如对于人红细胞膜，约占总脂质的 74%。

(二) 胆固醇

哺乳类细胞的质膜中胆固醇含量甚丰富,约占总脂质的45%。此外,溶酶体膜、高尔基体膜中都有丰富的含量。多数组织的内质网膜及线粒体膜中含量少。胆固醇分子的结构和其他脂质相比有相当大的不同,它由一个大的平面类固醇和一个羟基组成。



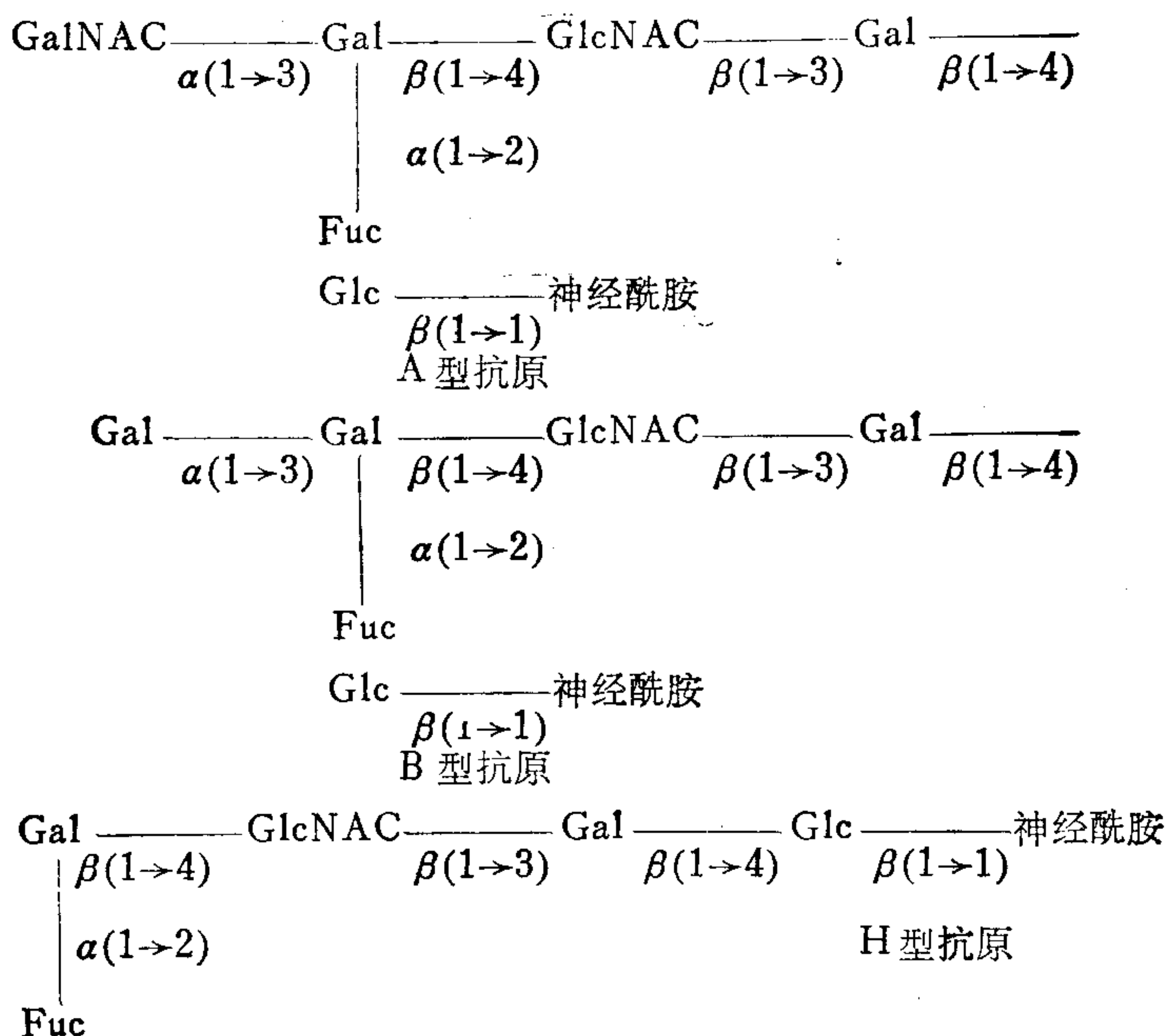
人红细胞膜中约占总脂质的 25%。换算成分子比近于 1:1。大多数动物细胞膜都近于这个比例。胆固醇在细胞膜中的作用还不很清楚,较为肯定的意见是胆固醇能提高双分子层的机械稳定性及调节膜的稳定性。例如,不能合成胆固醇的突变动物细胞株,其细胞会很快溶解,除非在培养液中加入胆固醇。加入的胆固醇掺入到质膜中,因而稳定了脂质双分子层,使细胞正常生长。在微生物及高等植物中,类似于胆固醇的是豆固醇、谷固醇(植物中)、麦固醇(酵母中)等。

(三) 糖脂

在一般情况下,动物细胞中糖脂主要以鞘糖脂的形式存在。就目前所知,红细胞膜中的糖脂都属鞘糖脂,它是在神经酰胺的醇基上结合糖的产物。

虽然糖脂含量很少,但随动物种属、器官的差别甚大,它仅存在于质膜的外表面。人红细胞膜,糖脂成分不下于 20 种,它们是

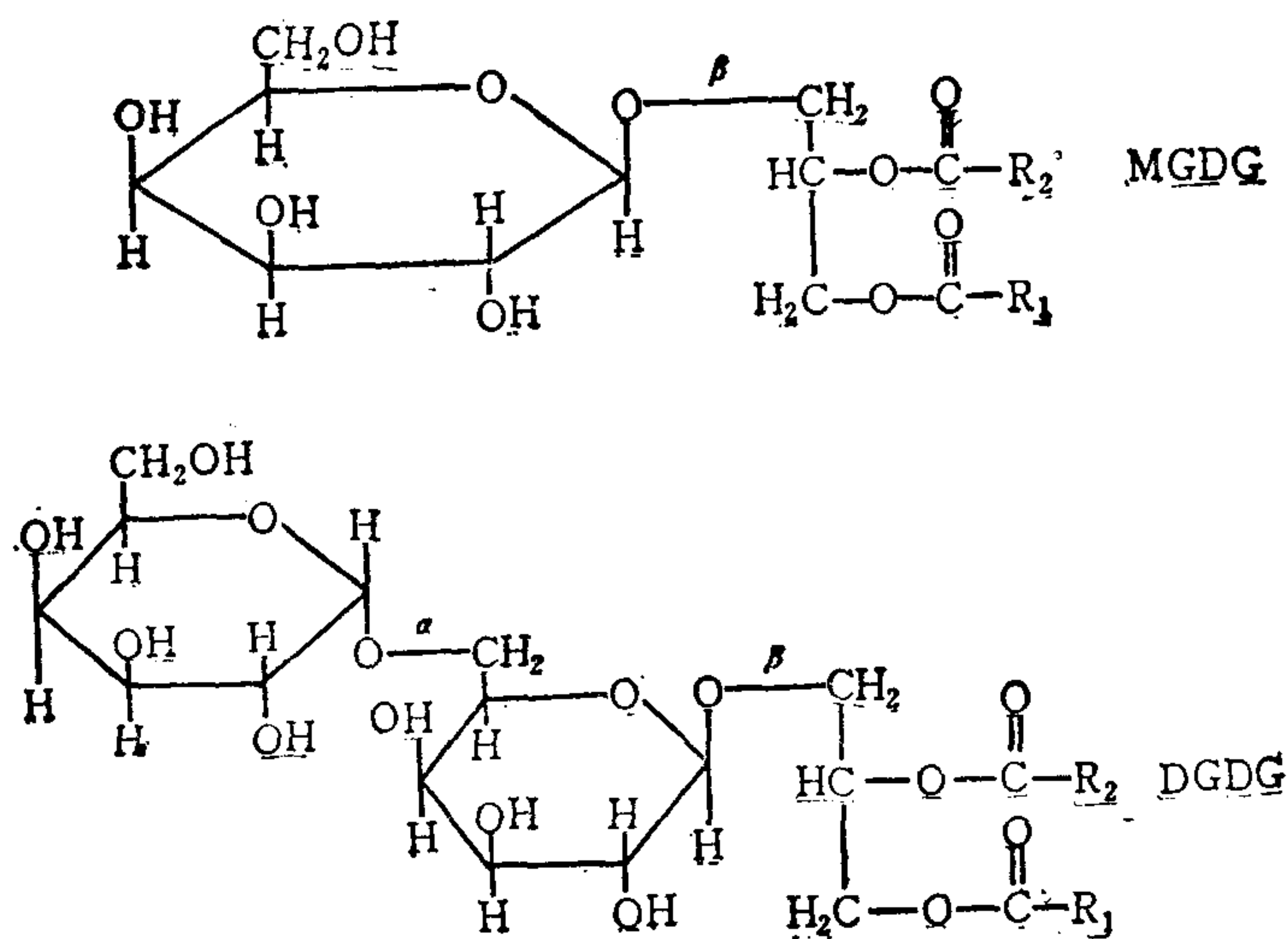
ABH(O)、Lewis、P、Ii 等血型的活性物质。例如,决定 ABO 血型的三种抗原是:



其中, Glc 为葡萄糖, Gal 为半乳糖, Fuc 为岩藻糖, GalNAc 为乙酰氨基半乳糖, GlcNAc 为乙酰氨基葡萄糖。

○ 血型的人,血清中有抗 A、抗 B 的抗体,但细胞不带 A 或 B 抗原,而是带 H 抗原,它是 A、B 抗原的中间前体。A 血型者细胞带 A 抗原,血清中有抗 B 抗体。B 血型的反之。AB 血型者,带这二种抗原,但无抗 A 或抗 B 的抗体。

糖脂中含糖很多，因此极性相当高，特别是培养细胞的细胞膜，糖脂占脂质的 20%，且包含有许多酸性糖脂，尤其是唾液酸，又名 N-乙酰神经氨酸，缩写 NANA。因此，膜荷负电，它是细胞表面负电荷的主要来源，也是不少激素及毒素的受体。以人红细



(四) 脂质的分子形态

从上述磷脂、胆固醇、糖脂的组成分析,可见一个重要的特征,它包括一个极性的头部(亲水性部分)和一个烃链的尾部(疏水性部分),如图 1.1。它既有亲水性的部分又有亲脂性的部分,一般称之为两亲性(amphipathic)分子,这对维持膜(包括人工膜、生物膜)的稳定结构是极为必要的。

饱和烃链为全反式(all-trans)构象时,各原子间的相互作用使体系的位能最小,也即最稳定,此时整个烃链呈现 Z 字型(图 1.2)。C—C 键的旋转产生旋转异构体。反式构象旋转 120° 变为扭转式(gauche)构象(图 1.3)。

整条烃链的旋转异构化可取多种型式。例如,图 1.4b 中发生单一的 gauche 异构,可以看到,烃链的弯折过大,在脂质双分子层膜中它严重地阻碍着邻近烃链的空间运动。而 c 构象时,烃链仍近于保持为直线型,取这种构象的几率较大。它是相隔一个 C—C 键的 g^+ 及 g^- 异构化,名之为 gtg 弯折。它使烃链缩短一个 CH_2