

质 膜

作结构和功能研究的模型膜

B. D. 冈珀茨 著

科 学 出 版 社



北林图 A00061502

质 膜

作结构和功能研究的模型膜

B. D. 冈珀茨 著

梁 康 译



262400

科 学 出 版 社

1 9 8 1

内 容 简 介

本书系阐述质膜的结构与功能, 以及利用模型膜作生物膜的结构和功能研究的论著, 可供从事生物化学、细胞学、生物学和医学的研究人员和大院校有关专业的师生参考。

B. D. Gomperts

THE PLASMA MEMBRANE

Models for Structure and Function

Academic Press, 1976

质 膜

作结构和功能研究的模型膜

B. D. 冈珀茨 著

梁 康 译

*

科学出版社出版

北京朝阳门内大街137号

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经营

*

1981年3月第一版 开本: 787×1092 1/32

1981年3月第一次印刷 印张: 7 5/8

印数: 0001—3,220 字数: 170,000

统一书号: 13031·1498

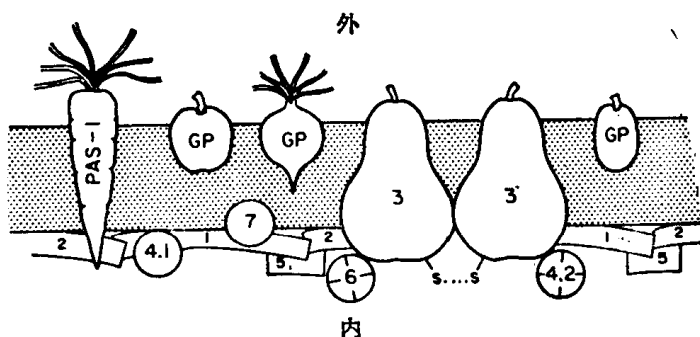
本社书号: 2060·13—10

定价: 1.20 元

序 言

膜模型和模型膜

近来膜的研究对无论那位生物学者都已成为一个亟待解决的课题;对一些自负兼跨这两门学科的人来说,了解现代膜科学常用的行话几已成为时尚的必需。无须向《新科学家》或《科学美国人》的读者解释“流体镶嵌”一词意指膜结构的一个概括模型^[1];对许多人来说,只须提到原始作者 Singer 和 Nicolson (大概象往年的 Watson 和 Crick 吧?) 就立刻使人想出在向科学事业前哨驰骋的一片情景。用来说明现代膜科学的描述性速记已经被巧妙地用一种对本书绝大多数读者肯定有意义的方式^[2](那怕复制时不带解说词)加以缩短。



对于任何生物学家,实际上对于任何对细胞学有兴趣的人来说,使用这样容易记忆和绘图的方法,其困难在于任何无

所不包的描述一旦用到个别的结构就要失败。这就是生物的千姿万态的本性。这并非那些首先把简化符号应用到复杂形态的人们的过失，因为产生出最后的速记的那些详尽的描述恐怕是有根据的。问题在于我们自己的眼、耳和理解力都有弱点。我们大多数人都乐于以太过简单的概念去代替长期努力所获得的知识 and 理解。举例来说，在生物能力学中由于太随便地接受了“高能磷酸键”这一概念所造成的恶果，对膜科学来说是应该很好注意的教训^[3]。

由于这些理由，只要有可能的话，我就尽量不用这种简化的概念描述，尽管在一、二处不能避免这种描述，因为要完全避免就会是吹毛求疵了，况且我又不想重写我们这一学科的历史。“脂类双分子层”一词也是一项描述性的速记，里面含有很丰富的学问：我并无不好意思地始终使用这一词，不过，但愿我已对此提供了足够的细节使读者对这一名词的深刻含义有了一定的确切认识。

当今在膜科学领域中出现的令人兴奋的事件的一部分原因，是在于五、六十年代仪器设备的巨大技术发展，这一发展便使对愈加复杂的结构能提出愈来愈多的种种特殊问题。这样一来，X线衍射、量热术、核磁共振和其他种种光谱学技术都应用到烃、肥皂、磷脂上，也应用到“较简单的”生物膜上，而现在也应用到在原来位置上的很多组织上。另一种说明任何一种结构的方法是应用固定法和电子显微镜，利用这一方法可以观察到分辨率限度内的离析出来的异常的细节，而不是空间和时间平均化了的信号。近20年来，在仪器设备和生物材料处理两方面都有了巨大的进步。技术的进步在多方面使理解力的提高成为可能；显然，我们可以尝试只依据从种种仪器测量获得的资料就来描述膜的结构：的确在许多的场合里有人应用这种完全有效的分析方法来描述生物膜结构。

我采用的是另一种方法，我想对生物膜结构和功能作出基本上是综合性质的描述。现代化仪器的技术当然重要，虽然我决定划些有点武断的框框，所以只要稍微翻阅一下课文就会发现所有“外在探针”（特别是自旋标记物和荧光）的文献都没有引用。这无疑不是小看这些文献的重要性，因为我们不时从外在探针应用所获得的一些资料中产生出新的见解，而在膜结构的动态方面更是如此。然而，我认为这些技术太容易为没有经验的人们所应用。例如初步的荧光测定很容易进行，因而总是得出大量的杂乱无章的资料，而从长远地看，这些资料可以证明是很难整理成为有用的知识的。老实说来，这些技术最好还是由那些具有根本辨别力的人们去解释；这一情况对读者也是一样。当然，对任何技术都是这样，但是我们终归要从某一点开始。每个科学工作者应当了解一些诸如物态和相变的知识，这样就可以懂得由量热测定得到的资料。当我们接触到X线和NMR时，我们就较为冒险，不过这里就以NMR为例，也只需首先懂得它是一种光谱就行。我们现在用它来搜集资料正象人们利用还原的和氧化的细胞色素的吸收光谱一样，那就没有什么障碍了（这时我们不管NMR的理论基础是什么），而我们就可把NMR作为跳板过渡到更高深的认识。

1957年出版的一本教科书中出现“这里同样缺乏关于磷脂功能作用的正面证据…如胆固醇那样…”这句话确是令人感到吃惊。无疑地，在膜成分化学，先是脂类近来是膜的特殊蛋白质化学的发展之后，现在无论怎样强调磷脂在膜结构和功能的重要性都不会过分。然而，我们如果把上面那句话一直引到结尾“……还有说明一大类脂类的困难，这些脂类有卵磷脂、三种经典的‘脑磷脂’缩醛磷脂、神经鞘磷脂、脑苷脂和神经节苷脂”^[4]，我们就会发现在某些意义上我们大概进展得

并不太快。最明确地说明个别的膜组分的重要性的一种方法是通过模型膜的发展来作出的；而用一些确定的组分由人工造成的结构正好具有生物膜的某些性质；我介绍生物膜结构和功能这一课题正是以此为基础的。

在写作本书过程中，承很多友人给予帮助、提出意见并予协助。有些朋友实际上是我个人所不认识的，对读者来说都是不难知道他们是谁的。我感谢 Durward Lawson 先生慷慨供给多幅尚未发表过的电子显微镜图。本书原文在写作的多个阶段承 Roger Dean、Patrick Riley、Clare Fewtrell、Robert Simmons 和 Martin Raff 诸位博士们阅读。Paul Mueller 博士读过第 3 章的一部分，John Foreman 博士阅读了第 4 章的一部分。所有的人都提出了很宝贵的意见，我没有全都接受下来。因此，所有事实引证的错误和遗漏以及判断的差错应由我自己负责。

B. D. 冈珀茨

1976 年 10 月

参 考 文 献

- [1] Singer, S. J. and Nicolson, G. L. (1972). The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science*, **175**, 720.
- [2] Steck, T. L. (1974). The organization of proteins in the human red blood cell membrane. *J. Cell Biol.* **62**, 1.
- [3] Banks, B. E. C., (1969). Thermodynamics and biology. *Chemistry in Britain*, **5**, 514.
- [4] Lovern, J. A. (1957). "The Chemistry of Lipids of Biochemical Significance." Methuen, London.

目 录

序言	iii
膜模型和模型膜	iii
第一章 膜结构模型	1
为什么从模型膜入手?	1
膜的物质	2
分子组织: 单分子层	8
磷脂相行为: 水化作用的影响	14
磷脂的热相行为	19
脂质体: “功能性质”	30
双分子层: 气界面	34
双分子层: 水性界面	35
第二章 生物膜的结构	55
关于生物膜中分子组织性的早期证据	55
电子显微镜	58
X 线衍射	62
冻裂法电子显微术	73
膜蛋白质	83
红细胞膜——生物学细胞膜的模型?	102
第三章 诱导离子通透性	116
流动的离子载体	116
孔和孔道	138
诱导电兴奋性	164
第四章 作为细胞生物学工具的脂质体和离子载体	191

引言.....	191
由抗体和补体产生的细胞溶解.....	191
钙和细胞活动的表达：作为细胞生物学诊断工具的 离子载体.....	209
总结.....	225

第一章 膜结构模型

为什么从模型膜入手？

生物的结构是由化学分子组成的，而控制其反应性的规律和在化学里控制反应性的规律都是一样的。但生物有个专一的生物学特征，它在化学和物理科学中是看不到的；这个专一的特征就是功能。所有的生物结构都具有功能，而所有我们认识的生物结构都是从它们的最优化功能能力上发展出来的（按达尔文主义的意义讲）。这概括可由走兽易见的外貌一直延伸到代谢过程中间产物的分子。膜自然也包括其中。膜是由分子组成的；这就必须遵循物理和化学的规律。但是膜也是为执行功能而发展出来的。

探讨膜功能问题的一条途径是研究生物膜是怎样不同于（或相似于）那些不具任何功能的“膜”的^[1,2,3]。这就是模型膜；它们通常是（虽不总是）由从生物膜得来的分子所组成的惰性结构。对这些惰性结构，现在就可以插入“功能性”中心（往往是微生物产生的毒性物质），并因此以有选择性和简化的方式重现生物运载现象中一些最高度发展了的形式。作为这样的例子，如动作电位的产生、氧化还原阈、激素对渗透压性水移动的控制和光触发电导改变等都已在用生物来源物质适当处理过的模型膜上得到描述。按照这条思路，我们可以开始去发现什么是生物学所特有的，因为如果没有关于模型膜的描述，我们就没有一条基底线：我们无从确切知道生物发展所需要克服的是些什么问题。

在本章描述的一些模型膜(脂质体)大概类似远古的前生物的膜结构,它首次使内部和外部得以区别开来^[4]。根据这个道理,我们可以这样讲,在生物结构之前先讨论模型膜这种思路是合乎年代的先后顺序的。

膜 的 物 质

我们首先应当考虑那些该用作构成模型膜的物质的性质,这是构成模型膜的第一步。在1899年,Overton^[5]就预言生物细胞膜里存在脂肪物质,这是远在分离脂肪和分析它们的化学性质的技术得到发展之前。他把植物根细胞放在含有种种穿透性溶质的高渗蔗糖溶液里,记录质壁分离(即被膜限制的细胞在由植物细胞壁包围着的固定空间里的收缩作用)的开始时间。用显微镜观察,广泛和持续的质壁分离表示溶质慢穿透;迅速的抑制作用表示快穿透,一般说来,已经证明那些穿透性溶质是易溶于乙醚和油脂者,从而推断出原生质是由一个脂性屏障包围住的。Overton甚至进而大胆提出所假设的脂肪屏障或许含有卵磷脂和胆固醇。生物膜的其他主要组成是蛋白质和糖。

磷脂

用氯仿、甲醇和水的混合物作提取,可以把膜的脂类和非脂类物质分开。然后可用层析方法把这些脂类分成各个种类。在各种生物膜当中,最容易制得不为其它细胞结构掺杂的是哺乳类的红细胞膜;往往认为(轻率地)它就是真正意义的“膜”的同义语(参见第二章102页)。它的脂类组成大概是其他哺乳类细胞质膜的代表。它大约含10%糖脂,其余部分由磷脂和胆固醇各占约一半,大多数的模型膜也正是用这些物

质构成的。

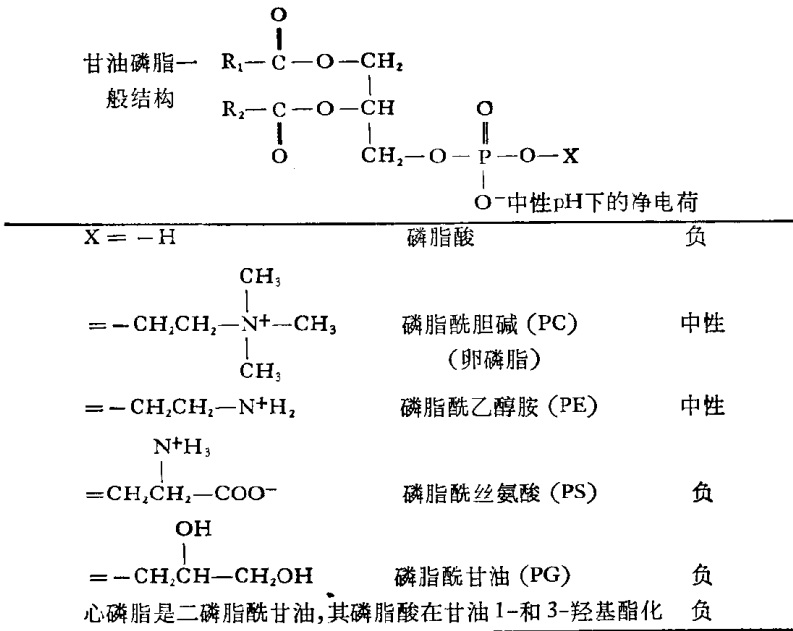


图 1 甘油磷脂的结构。

在本书中使用简化命名法描述磷脂化学。最好还是以例说明: diC18:0 磷脂酰胆碱(或 diC18:0PC)表示一种磷脂酰胆碱,其烃链都是 18 个碳原子不含双键的,即,二硬脂酰磷脂酰胆碱。18:0/18:1 PE 表示一种磷脂酰乙醇胺,其 R₁ 含 18 个碳原子并且完全饱和(硬脂酰)而 R₂ 也含 18 个碳原子但有一双键(油酰),即,1-硬脂酰-2-油酰-磷脂酰乙醇胺;并不特别指出双键在烃链上的位置。叙述性名称“卵磷脂”留作代表纯化的天然提取物磷脂酰胆碱混合物,例如“蛋黄卵磷脂”这个名目指从蛋黄提纯的磷脂酰胆碱。

现在让我们来考虑磷脂的化学,尤其是那些可以影响它们作为膜的主要结构成分的作用的专一特征。磷脂叫做兼亲性 (αμφιπαθεια, 都亲的意思) 物质。查看一下甘油磷脂的通式就能说明其原因了(图 1)。

兼亲性

R₁ 和 R₂ 是 12 至 24 个碳原子的长链脂肪酸。R₁ 往往是

饱和的,而 R_2 (决定于其长度) 却可含高达六个烯属双键。从同类来源分离出的单一磷脂可能含有链长和饱和程度不同的种种脂肪酸。对蛋黄磷脂酰胆碱的一个代表性样品的分析(水解后作气-液层析)就能很好的说明问题,它具有下述的组成^[6]:

烃链	% (脂肪酸总量 W/W)	烃链	% (脂肪酸总量 W/W)
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		

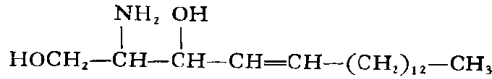
注意,完全饱和的组分在这个例子中才刚超过总脂肪酸的40%。可能它们都只处在 R_1 位上。那个磷脂“头部基团”把亲水特性给予分子尾端,否则这个分子就只有简单脂肪物质的性质了。因此烃链寻求一个亲脂的环境,而头部基团则寻求水性环境。容易看出磷脂赋有界面特性,以其尾部朝向一面而头部向着另一面。图1列举一些较常见的磷脂的结构。磷脂酸并非膜的真正的脂类,只不过是使用磷脂酶D(甘蓝汁)水解磷脂酰胆碱后所得。在甘油上酯化的磷酸根给了这物质一个负电荷。磷脂酰胆碱(PC)是个电中性的两性离子,也是大多哺乳动物细胞膜的主要的中性磷脂。磷脂酰乙醇胺(PE)在生理的pH下是电中性的两性离子,而当pH大于9时,其氨基解离使得该分子带上负电荷。磷脂酰丝氨酸(PS)在中性pH时由于有一个正电荷的氨基和两个负电荷基团(羧基和磷酸基)而净得负电荷。磷脂酰甘油(存在于植物和低等生物的膜)和心磷脂(存在于线粒体内膜)只带有磷酸基团的负电荷。



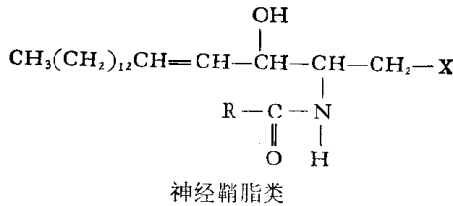
北林图 A00061502

神经鞘脂类

在图 2 列出了一些神经鞘脂类的通式。这里的共同特点是神经鞘氨醇:

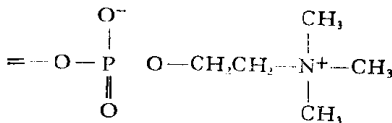


最好把它看成一个直链醇 (C_{18}), 具有独一的双键和在 2 位和 3 位碳原子上分别有氨基和羟基取代。神经鞘脂只带单个脂肪酸残基, 它是通过酰胺键在神经鞘氨醇的 C_2 上连接着的。典型的神经鞘脂的脂肪酸是完全饱和的, 以 C_{18} (硬脂酸) 和 C_{24} (桉焦油酸) 为主。神经鞘磷脂是髓磷脂的主要脂类(也是人类红细胞膜的一个重要组分), 它是 N-脂酰基神经鞘氨醇 C_1 被磷酸胆碱酯化而成的衍生物, 这个磷酸胆碱给了神经鞘磷脂头部基团以和磷脂酰胆碱一样的两性离子性质。脑苷脂类和神经节苷脂类从在 C_1 连接上糖苷键而衍生出来的。连接到这些分子上的比较复杂的糖的结构具有抗原性, 它们并且可能在细胞识别上起着一定的作用, 但对其确切作用所知尚



$\text{X} = -\text{OH}$

神经酰胺



神经鞘磷脂

= 简单的糖组成的多糖可以有 N-乙酰化

脑苷脂

= 含 N-乙酰神经氨酸 (NANA, 即乙酰唾液酸) 的多糖

神经节苷脂

图 2 神经鞘脂类结构。

262400

• 5 •

少。(对于磷脂,神经鞘脂和有关物质的化学和结构方面,在参考文献[7]里有很出色的介绍。)

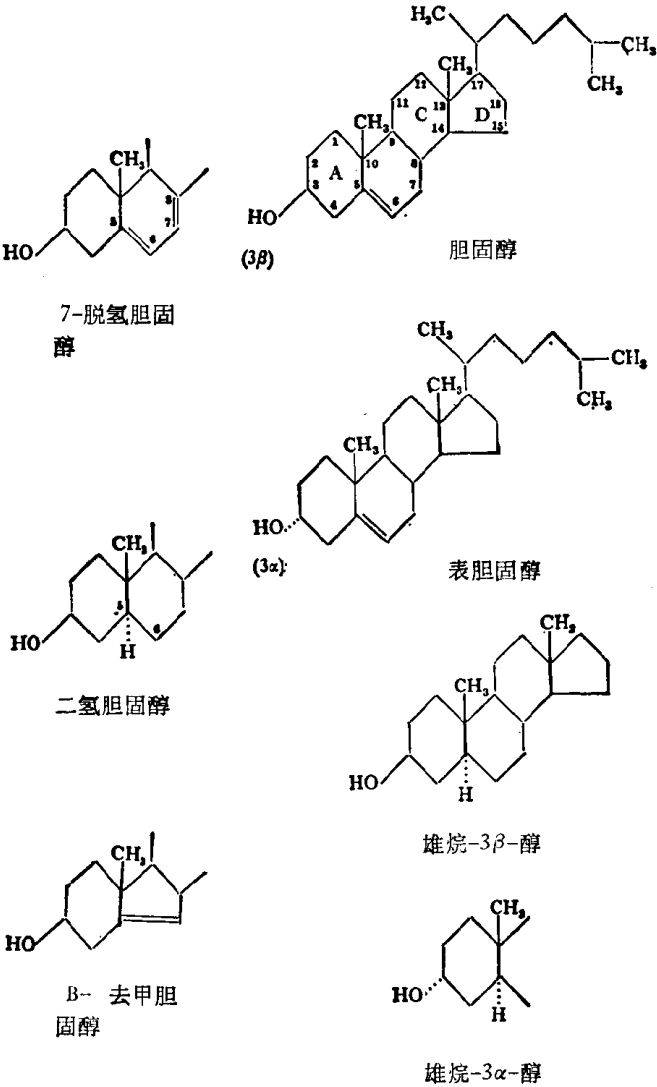
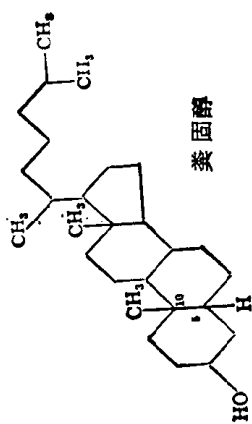
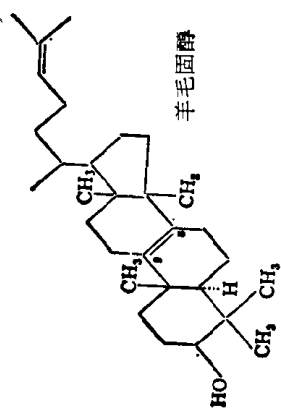


图3 (a) 胆固醇和一些相关固醇的结构。



类固醇



羊毛固醇

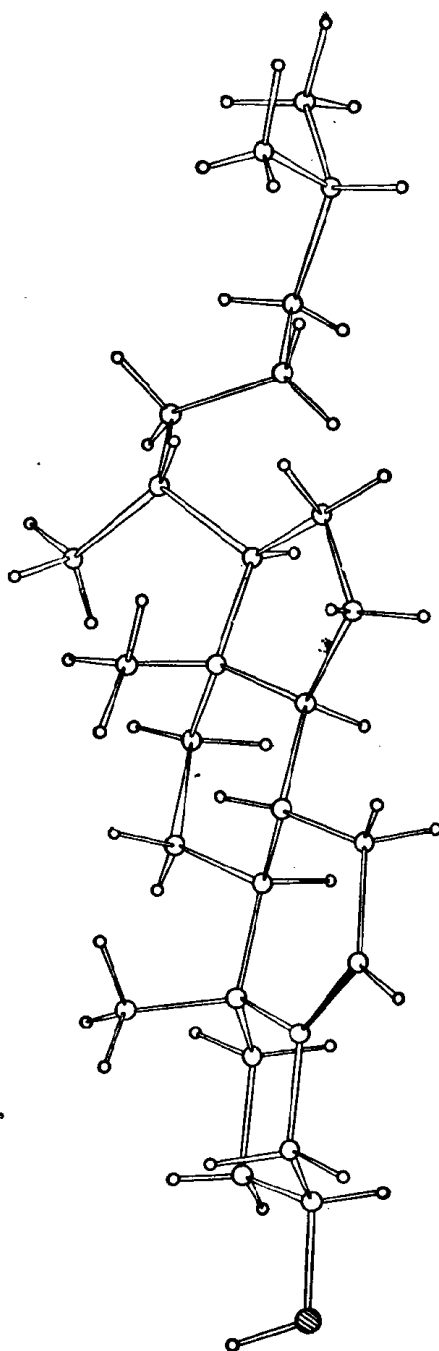


图 3 (b) 胆固醇分子模型素描。

胆固醇

在图 3 列出了胆固醇和某些有关固醇的结构。胆固醇是所有哺乳类组织的质膜的主要成分，但它却实质上不存在于某些细胞器如线粒体内膜。在大多数质膜里，它和磷脂以等克分子比例并存。象磷脂那样，它也具备兼亲性，来自 β 构象羟基（亦卧在 C_3 的赤道位置）的存在和分子其它部分的疏水性质，这些特点保证胆固醇按照把羟基提供给极性头部所占据的区域，而把疏水部分给了酯化的脂肪酰残基占据的区域这种方式排列着。胆固醇的疏水部分分为两个不同的区段，即组成胆固醇核心的四个环和附在 C_{17} 上的脂肪族尾巴。胆固醇核心的稠合环形成刚性的板样构造，要不是在 C_{10} 和 C_4 上装上的甲基（可以从图 3 的胆固醇模型上看出来）赋予了立体性，那它就是个扁平的分子了。那个在 C_{17} 上的脂肪族尾巴并不复杂，还可自由弯曲和旋转。

分子组织：单分子层

在膜科学的所有实验当中，最重要的是 Gorter 和 Grendel^[8] 两人在 50 年前演示磷脂在红细胞膜中可能组织成一个相对着的双分子层的实验。他们用丙酮来提取红细胞，并把测量过的脂类提取物放在 Langmuir 槽的水面上。Langmuir 槽是深约 1 厘米的长方形容容器，装满水性介质。它装配了一个浮障，在两端有白金刷防止表面物质漏过浮障。加入的提取物浮在水面上，它受限制于槽的三面固定的边和那个浮障之间。然后移动浮障，使表面物质限制在越来越小的面积里，终于在水面上形成一张连在一起的单分子薄膜。维持这一表面薄膜所需的力已被测出。这原先是由用一根扭力金属丝和光