

生物学研究概说

膜生物化学

E. 西姆 著



科学出版社

· 生物学研究概说 ·

膜 生 物 化 学

E. 西姆 著

李敏媛 译

童坦君 校

科 学 出 版 社

1 9 8 5

1986年4月11日

内 容 简 介

生物膜是一切细胞的基本结构之一，有其独特的生物学功能。它包括质膜与细胞内膜体系。本书简明地介绍了膜生物化学的基本概念及其最新进展。全书共分五章，内容包括膜的组成，膜的分子结构与功能，膜的生物合成等。

本书可供从事生物化学、细胞学、生物学和医学研究人员及大专院校有关专业的师生参考。

E. Sim

Outline studies in biology MEMBRANE BIOCHEMISTRY

Chapman and Hall, 1982

• 生物学研究概说 •

膜 生 物 化 学

E. 西姆 著

李敏媛 译

童坦君 校

责任编辑 吴铁双

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 各地新华书店经售

*

1985年9月第 一 版 开本：787×1092 1/32

1985年9月第一次印刷 印张：2 7/8

印数：0001—5,650 字数：63,000

统一书号：13031·2981

本社书号：4634·13—10

定价：0.70 元

目 录

第一章 导论.....	(1)
第二章 生物膜	(3)
2.1 生物膜的组成.....	(4)
2.2 磷脂双层	(5)
2.2.1 脂双层概念的来历	(5)
2.2.2 电镜和模型膜	(7)
2.2.3 X射线衍射研究.....	(9)
2.2.4 核磁共振 研究	(10)
2.2.5 同双层结合的 蛋白质.....	(11)
2.3 双层的流动性	(13)
2.3.1 膜双层横断面的流动性梯度	(14)
2.3.2 膜双层平面中脂类的流 动 性	(16)
2.3.3 双层平面中膜蛋白的活 动 性	(18)
2.4 关于膜结构流动镶嵌模型的几点保留意见	(20)
第三章 膜脂	(23)
3.1 脂酰链.....	(24)
3.2 相的转变	(26)
3.2.1 胶态-液晶态相互转换的 检 测 法	(26)
3.2.2 相变温度的影响 因素	(28)
3.2.3 脂与脂的镶 嵌	(29)
3.2.4 生物膜的相变及其不均一 性	(32)
3.3 双层两侧的不对称性.....	(36)
3.3.1 生物膜的不对称 性	(36)

3.3.2	模型膜的不对称性	(38)
3.3.3	脂类不对称分布的形成和维持	(39)
第四章	膜蛋白	(43)
4.1	膜固有蛋白	(43)
4.1.1	膜固有蛋白的促溶方法	(44)
4.1.2	膜固有蛋白的一般性质	(46)
4.1.3	膜蛋白的拓扑图象	(48)
4.1.4	血型糖蛋白类分子	(49)
4.1.5	组织相容性抗原和类似排列的蛋白质	(52)
4.1.6	贯穿双层的其它膜蛋白	(53)
4.1.7	只露出在双层胞质面的膜蛋白	(54)
4.1.8	盘曲 (zig-zag) 蛋白质	(54)
4.1.9	与脂类共价结合的蛋白质	(56)
4.2	膜外周蛋白	(57)
4.2.1	细胞骨架	(58)
4.2.2	红细胞细胞骨架	(58)
4.2.3	其它细胞的细胞骨架	(60)
4.2.4	被膜泡	(62)
第五章	膜的生物合成	(67)
5.1	膜脂的合成	(67)
5.1.1	磷脂的合成	(67)
5.1.2	胆固醇合成	(69)
5.2	膜蛋白的合成	(70)
5.3	膜固有蛋白的合成	(70)
5.3.1	横穿膜的蛋白质	(71)
5.3.2	信号顺序	(72)
5.3.3	其它穿膜蛋白	(75)
5.3.4	盘曲固有蛋白	(76)

5.3.5 不横跨膜双层的膜固有蛋白	(77)
5.3.6 多亚基蛋白质	(77)
5.4 膜外周蛋白	(77)
5.5 细胞内定位的影响因素	(78)
5.5.1 糖苷化作用	(79)
5.5.2 与其它蛋白质的结合和蛋白酶水解作用	(81)
5.5.3 与脂类的结合	(82)
5.5.4 原核生物同真核生物的比较	(82)
5.6 膜的转换	(83)

第一章 导 论

虽则所有细胞都具有膜，然而不同的细胞类型，膜系统的差别很大，即使在同一细胞内的膜系统也是很不相同的。例如，原核生物，如革兰氏阴性细菌（如大肠杆菌）的外膜和内膜的组成就很不相同。再如某些光合细菌（如 *Rhodopseudomonas capsulata*）的光合色素是浓集在称为载色体（chromatophores）的膜的专门化的凹折部分中。真核细胞中，除了围绕细胞质的膜（质膜）以外，根据形态学观察，已描述了多种膜系统，其中最突出的是线粒体和叶绿体。线粒体发现于所有需氧呼吸的真核细胞中，叶绿体则存在于所有光合作用的植物细胞内。在高度分化的细胞，还可以鉴定出膜系统的进一步修饰。这类膜系统包括神经细胞的髓鞘、视网膜杆状细胞光受体膜的视盘以及肝细胞的与分泌蛋白质的合成有关的广泛的粗面内质网。真正引起争论的是：伴随任何细胞的功能专门化的，究竟是质膜的局部专门化，还是干脆发展了一种新的膜系统？某些RNA动物病毒也具有膜。那些病毒由宿主细胞萌芽而出，取得了宿主细胞的一部分质膜，作为它们自身的膜，即所谓“被膜（envelope）”。

鉴于与膜系统相关的专门化的行列如此广泛，仅仅认为生物膜是起屏障作用，将内外隔开的半透膜，这样的概念显然已不够完善。

考虑到生物膜功能的多样性，看来不可能在一本专题的小册里把膜生物化学作为唯一的题目来讨论，特别是在研究

与膜有关的细胞器时，发现与特殊的亚细胞膜系统相关的功能愈来愈多。尽管如此，对各种生物膜的结构来说，仍有一种概念性的基本认识，专化的膜只表示“一个主题的多样化”而已。

本书的目的是作为膜生物化学的新进展的指南。对膜的有关研究，过去五年发表了大量文献。在膜蛋白结构方面，这点更是突出，其直接原因是单克隆抗体技术的产生和基因核苷酸顺序的快速测定等新技术的发展。本书将首先介绍一些实验证据，这些实验证据的积累，有利于膜结构、脂双层概念以及随后的流动镶嵌模型等概念的统一。根据最近研究结果，对关于膜结构的普遍性的观点已作了修改，并讨论了这些概念的局限。

随后两章将分别介绍膜组成部分，在强调不同系统的差异时，同时指出正在显现的结构上的共同性。最后一章将集中介绍目前所了解的膜的生物合成与膜的转换。

与科学的其它分支一样，本书自始至终将强调膜生物化学的进展与技术的发展和应用是不可分的。为此，在介绍有关膜的资料时，将同时介绍其研究方法，而不另行介绍方法学。假定读者已具有生物化学与细胞生物学的一定基础知识，本书还是在每章结尾时附以参考文献和书目，以备复习或进一步阅读之需。

第二章 生物膜

研究生物膜的结构与生物化学的任何一方面，都有赖于获得纯的膜体系，这样才能得出有意义的生物化学分析结果。

膜的分离技术取决于膜的类型，尽管低渗溶破法对哺乳动物细胞膜^[1]来说已经足够，但植物叶绿体内膜和外膜的纯化却需要广泛的亚细胞成分的分段分离技术^[2]。因此，性质搞得最清楚的膜，是来源丰富、易于分离纯化的那些生物膜。这些膜包括人的红细胞膜，还有视网膜杆状细胞的外段膜和神经髓鞘（图2.1）。其它一些不易提纯的膜，例如，植物细胞的质膜，对它们的研究还仅仅是开始。

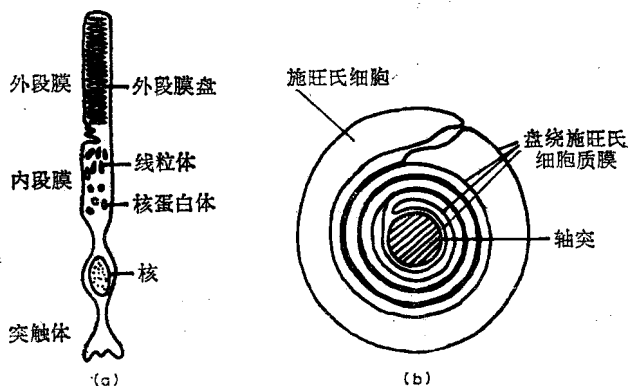


图2.1 (a) 视网膜杆状感光细胞的示意图，视盘由外段膜的质膜折叠而成^[3]。

(b) 神经轴突的横切面，髓鞘由施旺氏细胞的质膜盘绕轴突而形成^[4]。

2.1 生物膜的组成

生物膜主要是由脂类、蛋白质、糖类与水共同组成，构成膜的水分子大约占总重量的20%。有机成分的相对含量差别很大，髓鞘含有脂类80%，而线粒体内膜仅含有25%的脂类（表2.1）。

磷脂在生物膜的脂类组成中占优势，而糖脂在植物细胞生物膜中也很丰富。由图2.2可见膜的主要脂类结构。

表2.1 生物膜总的组成^[5,6]

	干 重 %		
	蛋白质	脂 类	糖
髓鞘	18	79	3
人红细胞	49	43	8
视网膜杆状细胞外段膜	51	49	—
大鼠肝线粒体内膜	76	24	< 2
大鼠肝线粒体外膜	52	48	—
沙门氏伤寒杆菌内膜	65	35	—
沙门氏伤寒杆菌外膜	44	20	37 (脂多糖)

磷脂含有同甘油酯化的脂肪酰链和带电荷的或两性解离的“头基团 (head group)”。在动物细胞主要的磷脂是磷脂酰胆碱 (PC)，而在细菌占优势的脂类是磷脂酰乙醇胺 (PE)，大多数动物细胞膜都发现有神经磷脂。虽然神经磷脂也符合磷脂结构均带有脂酰链和两性头基团这一总则，但它属于另一类磷脂。在动物细胞中胆固醇含量很多，而细菌却不能合成胆固醇。

生物膜中的糖类，不是和脂类共价结合，就是同蛋白质共价结合。动物细胞中的糖脂由神经磷脂的前身物神经酰胺产生，这些糖脂属于糖鞘脂类。在动物细胞，质膜含糖比细胞内的膜成分多，这些糖是与质膜结合的。在植物细胞和细菌中糖脂普遍存在，但这类糖脂属于糖甘油酯（图 2.2），虽然一般少于10%，但它的功能是很重要的，糖蛋白或糖脂的许多分子具有识别作用（见第四章）。细菌的膜蛋白通常未经糖苷化，但所有细菌的细胞壁表面带有大量的糖，革兰氏阴性菌的外膜脂多糖很丰富，而革兰氏阳性菌有很厚的肽葡聚糖（peptidoglycan）的细胞壁，这些糖直接暴露在细胞表面。

2.2 磷脂双层

生物膜主要脂类的结构（图2.2）都具有一种适合于脂双层概念的共同特性，它们都是两性分子（amphipathic），既有亲脂区，也有亲水区。极性基团由带电荷的两性解离的磷脂的头部基团，糖脂的糖基和胆固醇的羟基组成。极性基团可面向膜的含水外层。而那些脂构成的疏水区域，则与水隔绝，在脂双层的内面，按热力学最适宜的情况而排列^[4]。

2.2.1 脂双层概念的来历

活细胞由膜包绕的事实在一个多世纪前已经确立，1855年Nageli发现完整无损的细胞能随着周围环境渗透强度的变化而调节其体积。这些研究后来又被 Overton^[7]所发展，Overton发现非极性分子比极性分子容易通过细胞膜，根据这些研究他首次提出细胞膜的脂类性质。1925年关于膜结构的概念有了明显的进展，Gorter和 Grendel^[8]首先提出了

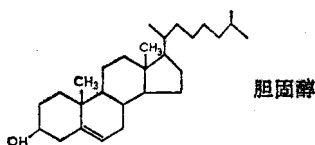
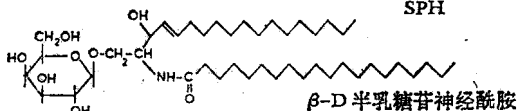
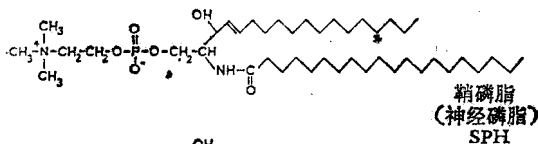
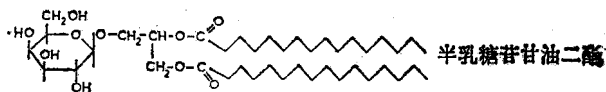
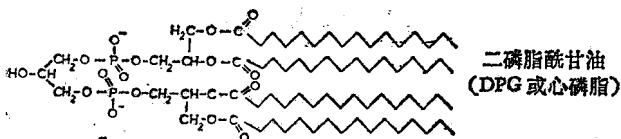
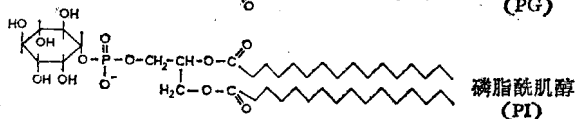
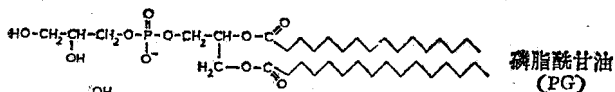
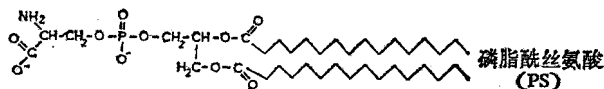
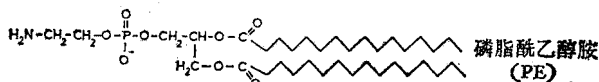
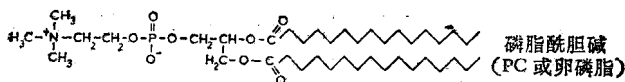


图2.2 生物膜脂类

脂质双层的概念。他们将红细胞膜提取得到的脂排成单层，然后将此脂单层所占面积与相应数量红细胞的膜表面所占面积作比较，发现提取得到的脂类可覆盖面积是这些细胞表面的两倍。由此提出了细胞膜是脂双层的概念。他们的错误首先在于用丙酮提取红细胞膜，而丙酮是不能全部提出所有脂类的，第二个错误是，他们从干燥的红细胞计算其表面积，因而测得值偏低。现在清楚了，他们的实验如果正确进行的话，是得不到他们所得的结果；而且现在知道，存在于红细胞表面某些部位的不是脂类而是蛋白质，尽管有些批评意见，包绕细胞的半透膜屏障是脂双层的概念毕竟吸引了那时的生物学家。自此，这一概念在膜的生化家的心目中占了统治地位。

十年后由Danielli^[9]提出的蛋白质与膜相关的概念，是为了说明膜和水之间的表面张力与油、水界面间的表面张力的明显不同。他提出膜是由脂双层和表面覆盖着蛋白质的脂双层组成的。脂类和蛋白质无疑是生物膜的主要成分，但是这些组成成分在膜内的相对位置如何，是争论更多的问题。有人提出了蛋白质形成膜的基本结构的设想，而另外一些人则主张“脂类-蛋白质混合微粒”（‘mixed lipid-protein micelle’）的排列图式（见参考文献〔10〕）。

2.2.2 电镜和模型膜

即使根据电镜掌握的证据，看来可以确定脂双层的存在（图2.3），关于膜结构还是有不同的看法。从表现为三层的电镜图象里可以看到，在电子稠密的双层之间，有一疏水的夹心层。而电子显微镜像片是由薄层电子显微镜所得，为了获得这样的照片，需准备大量样品。样品首先用戊二醛固定，然后用四氧化锇处理，乙醇脱水后，环氧树脂包埋，并

切成薄于50nm的薄片。在电镜观察前，最后再用重金属盐，例如柠檬酸铅染色。有人认为用薄层电镜观察到“电车轨道”图象，可能是在脂和水的界面中四氧化钨蓄积的结果，而不是双层的电子稠密基团的着色。

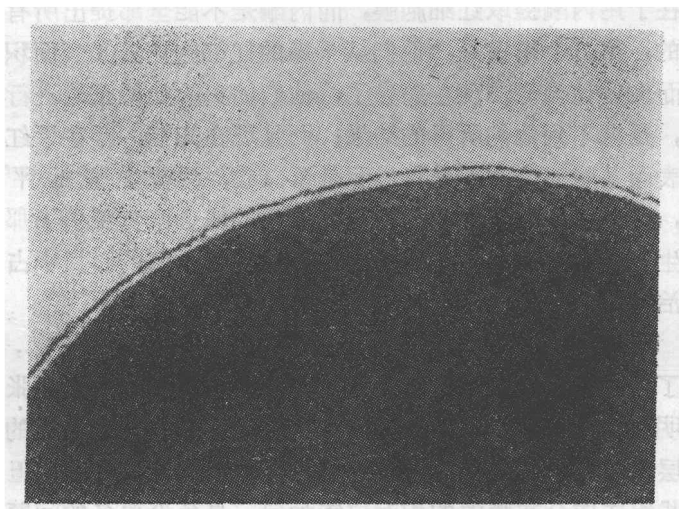


图2.3 红细胞切片的电子显微镜像 (J.D.Rohertson博士赠送)

另一类型的电镜检查法，负染色法的应用为磷脂模型膜两侧极性基团的暴露提供了间接证据。模型膜已经广泛地用于膜生化学的研究，一般常用的模型系统有多层脂质体和单层囊泡^[11]。脂质体可将磷脂混合在水溶液中而制备，产生的混合物呈乳状，如果此溶液用高频率的声波处理，就形成直径大约25nm的单层小囊泡，此时溶液呈半透明。负染色电镜法无需固定标本，虽则要让一种金属盐，通常是磷钨酸盐，渗入样品的水层，如图2.4所示，在膜两边都有水层。用磷脂制备的小囊泡也可发现与多层脂质体同样的情况。这证明与水层相结合的极性头基暴露在膜的两边。

2.2.3 X射线衍射研究

X射线衍射的研究进一步证明了磷脂双层的存在，用于这种研究的样品是不需经过化学处理的。产生良好X射线衍射图形的样品，需具有重复结构。有两种不同的生物膜可提供这样的系统，它们是髓鞘和视网膜杆状细胞外段膜（见图2.1）。

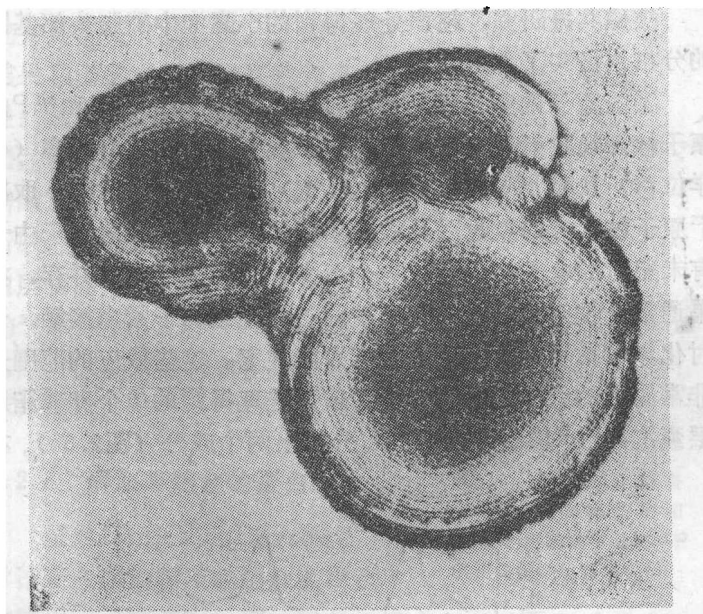


图2.4 负染多层脂质体的电子显微镜相片（由Dr.S.Knutton提供）

髓鞘和视网膜杆状细胞外段膜的电子密度测绘图彼此十分相似，同时与水化了的磷脂的X射线衍射图形也很类似（图2.5）。电子密度测绘图提供了很清楚的证据^[12, 13]，表明两个“背靠背”的磷脂分子，其电子密集的磷酸基被脂酰链分隔，相距4nm。虽然非重复结构产生的X射线衍射图形质

量较差,现在从聚集的红细胞、支原体^[14]和病毒被膜^[15]也可获得像图2.5那样的电子密度测绘图。因为这些膜蛋白的蛋白质成分完全不同,可见其相同的电子密度测绘图是由脂类成分所引起。这样的研究证明了生物膜双层结构明显的普遍性。

2.2.4 核磁共振研究

核磁共振研究,超声处理得到的小囊泡中磷脂头部基团的分布也证实了双层假说。

某些原子的原子核,例如 ^1H 、 ^2H 、 ^{13}C 、 ^{19}F 和 ^{31}P 的原子核都吸收射频电磁辐射。原子核所吸收的辐射频率(化学位移)及吸收的频率范围(线宽),除其它考虑外,取决于原子核本身的吸收以及核周围的化学环境。顺磁离子由于有未配对的电子,因而有一个很大的偶极磁场与其并存,如果通常吸收射频辐射的原子核同这种顺磁离子紧密接触,这时化学位移可能改变,或线宽可能变宽。这些效应的范围是非常局限的^[16]。因而对于用超声处理得到的单个卵磷脂双层囊泡, ^{31}P 核磁共振信号可分辨出两个成分(图2.6a)。在

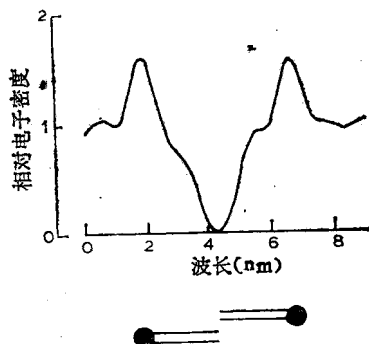


图2.5 单层神经鞘磷脂横切面的电子密度测绘图^[12]

磷酸基团存在的局部环境中导入一种起“增宽”作用的顺磁离子，例如 Co^{2+} ，以改变这种环境时，与 Co^{2+} 毗邻的磷酸基团的核磁共振信号可因此变宽以至消失。由图2.6b即可见到原有的一个峰因此被除去的情况。如果在 Co^{2+} 存在的条件下，用超声处理制备囊泡，然后再加入EDTA以螯合囊泡外的顺磁离子，则另一较小的峰变宽并且消失（图2.6c）。对这一结果和类似实验的最好解释可能是：两个峰相当于两类磷酸基团，较大的峰相当于向囊泡外的磷酸基^[16]。由于囊泡如此之小，所以外层磷脂的分子数目相当于内层磷脂数目的两倍。各种磷脂的 ^{31}P 核磁共振信号的化学位移不同，因而可以各自识别^[16]，并不混同。

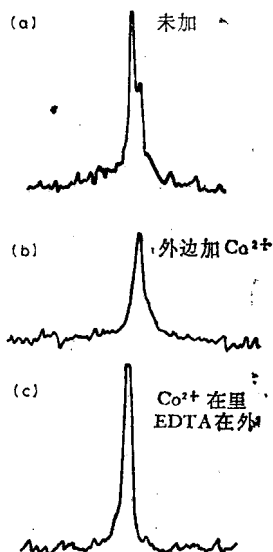


图2.6 用声波处理制备的二软脂酰磷脂酰胆碱囊泡，顺磁离子对其 ^{31}P 核磁共振谱的影响^[16]

2.2.5 同双层结合的蛋白质

虽然Danielli和Davson^[17]讨论蛋白质和脂双层结合的模式时使用了“镶嵌”一词，但他们没有考虑过伸展状态的蛋白质有利于伸向膜脂表面的哪一面。据推测伸展状态的蛋白质是一种 β 片层构型，Robertson将这种概念应用于他的“单位膜”假说。然而将膜的圆二色性光谱与已知多肽结构的光谱相比较，表明大多数膜蛋白表现为 α 螺旋而不是 β 片层。现在通常都认为虽然有的蛋白质和膜的两面都结合，但蛋白质也可穿入膜双层。-