

生物物理学发展战略研究

生物物理学的现状、展望和发展战略

国家自然科学基金委员会生命科学部

中国生物物理学会

一九九一年

Q6
GJZ

-78



目 录

- 1、分子生物物理学 林克椿(1)
- 2、膜与细胞生物物理 林克椿(13)
- 3、感官和神经生物物理学 刁云程(25)
- 4、生物信息论与生物控制论 陈惟昌(42)
- 5、理论生物物理学 徐京华(52)
- 6、光生物物理学 程极济(55)
- 7、生物磁学与生物电磁学 吴本玠(71)
- 8、生物力学及生物流变学 吴云鹏(80)
- 9、生物物理技术 江丕栋(101)



A1C01023080

分子生物物理学

林克椿

北京医科大学 教授

一、分子生物物理学、研究内容与意义及其在生物物理学中的地位

二十世纪自然科学最重要的进展无疑是分子生物学，即用分子结构与功能关系的基本原理阐明生命现象的本质。对于以蛋白质和核酸作为核心内容的结构与功能的研究，在本世纪之所以能够取得极为迅速的发展，得力于化学与物理学的理论与技术的进展，其中又以五十年代用X射线衍射法对DNA和肌红蛋白的晶体结构分析取得突破性成功最令人瞩目，成为分子生物学发展的一个重要里程碑。

什么是分子生物物理学？它和分子生物学是什么关系？它在生物物理学中占有什么地位？

分子生物物理专著最早出现于1962年，作者R.B.Setlow和E.C.Pollard根据当时学科发展水平，认为“用小分子和大分子性质说明生物系统和生命现象的特征”，而研究分子的结构、分子如何运动到达被指定地点、有序分子的发育和能量转移关系则是研究的主要内容。1977年Volkenstein写了另一本“分子生物物理学”，把它归之为“生物过程与生物功能分子的分子物理学”，强调用量子力学和光谱等物理学理论和技术研究分子结构、平衡关系与性质，分子相互作用与转变动力学，并认为在以蛋白质和核酸为主要内容时，和生物物理化学相近，二者难以区别。1980年出版的三卷本“生物物理化学”就专门讨论生物大分子与复合物的构象，动力学与相互作用，其中第二卷专门讲述了各种物理方法的原理与应用。这一套书已成为美国各大学分子生物学的基本教材。在美国，除了生物物理学以外，还有九个大学成立了分子生物物理系，另有四个大学设有分子生物物理专业。专业介绍中强调“应用物理学理论与方法研究活体中的有机与无机分子，分子相互作用（包括基质、激素、突变剂与药物）、分子结构及如何装配成细胞器，物质在细胞与细胞器内外的输运、运动

及定位、结构与功能的关系、反应中的能量转变与构象改变”，并强调分子生物物理学研究目的是“满足人类了解生物对象和人、从而改进治疗、预防疾病”、即把理论研究和实践密切联系起来。

从以上历史的回顾可以总结如下：

1. 分子生物物理研究的对象是大分子和小分子以及分子聚集体；
2. 研究内容包括结构、动力学、相互作用、能量转换以及结构与功能的关系；
3. 研究方法包括理论与实验二部分。着重应用物理学的现代理论(量子力学、固体物理、凝聚态物理等)和技术(包括各种测定结构与分子物理性质的衍射技术、光谱技术与显微技术)。

从以上几点不难看出分子生物物理学是分子生物学的重要组成部分。以蛋白质分子的结构与功能研究为例，人们不仅需要了解其化学组成、化学性质和一些化学反应过程，更需要了解其空间结构和物理性质，以及如何进行专一性相互作用从而产生效应的原理。因此，不妨认为分子生物学的基础是建立在两个方面，即化学的与物理的两个方面，后者就是分子生物物理学。

生物物理学是综合应用物理学的理论与方法研究生命对象、性质与生命过程本质的一门学科。其中包括微观与宏观两个方面，所谓微观部分就是试图从分子水平阐明生命现象，从大分子、细胞器、细胞以至整体，所有以分子水平说明生命现象的研究都必须以分子生物物理作为基础，因此分子生物物理学又是生物物理学的最基本，也是极其重要的不可分割的一个组成部分。

分子生物物理学研究极大地推动了分子生物学的进展，也因此而影响到许多生物与医学部门，使之推进到分子水平。目前出现了分子遗传学、分子药理学、分子细胞学、分子免疫学、分子病理学、分子内分泌学与分子神经生物学等等，都说明分子生物学的出现极大地推动了整个生命科学的发展，在医学临床的诊断、治疗与预防中、在农业育种、病虫害防治中，也都产生重大影响。这些推动作用很自然地包含着分子生物物理学本身的发展。

二、分子生物物理学的国内外发展现状

由于分子生物物理学的重要作用，因而在历届国际生物物理学和各国生物物理学会中，以至与此相关的国际分子生物学、细胞学、生物化学、生理学、神经生物学等重要会议中，与分子生物物理有关的内容往往占有很重要的地位和数量上占有很大比例。这可以从国际生物物理会议近十年来的四届大会(1981、

1984、1987、1990)和近五年来美国五次全国生物物理会议(每年一次)的大会综合报告及专题讨论会中突出地表现出来。这些会议中与分子生物物理有关的内容广泛,包括蛋白质、核酸的结构、溶液构象、分子动力学、蛋白质与核酸、蛋白质与多肽(或蛋白质)的相互作用、酶的作用机理、蛋白折叠、离子通道的结构与输运、受体的结构与信号传输、水结构、大分子组装体、蛋白质工程以及与发展分子生物物理密切相关的各种技术与理论模型等等。从论文与报告的数量来看,一般都占整个会议全部内容中 $1/4-1/3$ 。从这二种会议的大会报告来看,蛋白质与核酸的结构、动力学、相互作用、蛋白折叠、受体与通道、结构设计等等是经常受到注意的重要课题。

分子生物物理学涉及的面很广,但就其核心内容来说应属生物大分子三维水平的结构及其功能。因此以下将以此为中心提出近年来发展迅速的五个问题加以较详细的说明,并为提出今后我国在发展分子生物物理方面应予考虑的战略方针作为依据。

1. 生物大分子结构的研究

生物大分子发挥其功能作用有赖于其整体的空间结构,因此对生物大分子三维结构的了解是分子生物物理最基本的问题之一。从本世纪五十年代开始至今的四十年中,一方面以X射线晶体结构分析的方法不断取得进展,另一方面,更接近于天然状态的研究方法也取得了突破性进展。

(1) 生物分子X射线衍射晶体结构分析的进展

用X射线衍射方法测定生物大分子由于其能给出精确、完整的结构至今仍然是其它方法无法取代的主要技术。自从1960年第一次测定肌红蛋白以来,测定方法和技术不断完善、成熟,加上计算机和探测器的改进,无论是分辨率和计算速度都有很大进展。至1990年4月的统计,原子座标已存入国际数据库的生物大分子总数已达535个,其中蛋白质为488,核酸37(tRNA8、DNA29),多糖10个,而且近年来增加速度越来越快。这些大分子结构的测定无疑极大地推动了有关生命现象的了解。以近五年来的发展为例,第一个膜蛋白光合反应中心的测定,对光合作用光反应的分子机理得到了进一步阐明;人感冒病毒的结构测定开辟了抗感冒病毒药物设计的新方向;人白细胞抗原HLA-A2晶体结构的测定,使细胞调节的免疫反应的分子基础得到了阐明;tRNA^{Ala}-合成酶+tRNA^{Ala}+ATP复合物的晶体测定,奠定了为说明tRNA合成酶与tRNA专一性识别(被称为

“第二遗传密码”)的结构基础;一系列转录调控蛋白(阻遏蛋白)及其与DNA(操纵基因片段)复合物的结构,则揭示了DNA与蛋白质专一识别与相互作用的结构机理。这些情况说明,结构测定已深入到复杂体系,并为基础理论和有重大应用价值的问题作出了有意义的贡献。今后的发展除继续提高分辨率、研究晶体生长的规律、更多研究复合物结构外,利用同步辐射加快数据收集速度、减少照射时间,使之适于动力学研究将是几个主要的方向。

(2)生物大分子溶液构象的研究

X射线衍射需要有晶体结构,如果活体中的大分子都以晶体状态存在,显然无法发挥其功能作用。实际存在于活体中的生物大分子更接近于溶液状态下的结构,而在不同环境下结构可能会发生变化。因此从六十年代中后期开始人们致力于大分子溶液构象的研究。遗憾的是这方面研究由于技术条件的限制,进展不是很大。而且常用的圆二色技术(CD)、荧光技术和核磁共振(NMR)等技术一般只能给出粗略的信息,例如 α 螺旋 β 折叠的百分数,或者局部区域的信息,远远不能得到类似X射线衍射那样精确的结构信息。这种状态直到八十年代初二维核磁共振(2D-NMR)发展起来之后才得到了根本的转变。2D-NMR不仅能较好地区分一般NMR谱中重叠在一起的峰,而且可以根据不同技术了解氢原子之间的偶合关系,从而测出氢原子之间的距离。如果分子(如蛋白质)的一级结构已知,则从2D-NMR图谱中很容易辨认出同一残基中的各个氢原子,以及相邻残基中的氢。这样就可以根据邻近氢原子之间的距离约束(而不是如X射线根据每个原子对X射线散射的结果)测出结构。自从1985年第一次得到完整的牛精液蛋白酶抑制剂(BUSI II A)溶液构象以来,至今已有20种蛋白和20种多肽用2D-NMR测定了结构。有意义的是有些蛋白质测定的晶体结构,在溶液状态下用2D-NMR和在晶态下用X射线得到的结果非常接近,例如牛胰酶抑制剂(BPTI)、大麦丝氨酸蛋白水解酶抑制剂2,马铃薯羧肽酶抑制剂(CPI), α -淀粉酶抑制剂(Tendamist)等;但是也有一些和X射线结果不尽相同,如金属硫蛋白,大肠杆菌含组氨酸的转磷蛋白(HPr)、 α -河豚毒素等,并由此对过去衍射所得结果或生化方法测出的一级结构进行了修正。由此可见,2D-NMR不仅仅是X射线衍射法的一种辅助手段,而是一种完全独立的方法,其最大优点在于可测溶液构象而无需结晶。在上述已经测定结构的20种蛋白中,将近一半至今并未获得晶体。此外,对于含多个结构域的蛋白与核酸的复合物,例如乳糖阻遏蛋白

(lacpressor)-DNA, 调节蛋白的锌指(Zincfinger)与DNA结合区, 以及膜的研究如磷脂微囊与蜂毒蛋白、膜高血糖素的作用、丝状噬菌体外壳蛋白等也都用2D-NMR得到了有意义的结果。

尽管如此, 由于发展时间还较短, 技术方法还在不断更新, 2D-NMR技术还未臻成熟的阶段, 目前还只能测定分子量小于1.5万的蛋白。解决这一问题的途径有三: 1). 用稳定同位素标记, 2). 用三维核磁共振(3D-NMR), 即把二个2D-NMR结合起来以增加分辨率, 3). 将多域蛋白质分解为较小区域。

2. 分子动力学

以X射线衍射为代表的分子结构研究给人们以一种错觉, 似乎生物大分子处于一种静止状态。实际上它只能给出每个原子所处的平均位置的信息。由于每个原子都受到与其相作用的其它原子的各种强力(如共价键、离子键)和弱力(如氢键、van der Waals力)的作用, 这种作用在较短时间内(例如 10^{-12} 秒)可以认为是一种弹性力。因此经过一段时间之后整个分子的结构将有所变化, 对于一个大分子, 特别是球蛋白, 处于表面的原子基团将比处于内部者运动更为剧烈。再推广来说, 分子的不同部分之间, 在不同时间范围之内也不断在彼此相对的运动, 例如肌红蛋白带氧前后形成O₂能出入的孔道。因此, 研究大分子中的原子、基团和不同区域的运动成为生物分子结构研究的一个新的阶段, 这就是分子动力学的阶段。

生物分子中可能具有的运动, 以球蛋白为例, 具有不同的尺度和范围, 如表1所示。为了适应不同运动的研究, 需要从理论与实验二个方面进行探讨。

表1 球蛋白分子运动的分类

运动尺度(300°K)

幅值	0.01--100Å
能量	0.1--100kcal
时间	10^{-15} -- 10^{-3} sec

运动的类型

局部运动: 原子涨落、侧链振动、环与“臂”的位移

刚体运动: 螺旋、区域(Domain)、亚单位

大尺度运动: 开启的涨落、折叠与去折叠

集体运动: 弹性体方式、偶联的原子涨落、孤子与其它非线性运动贡献

分子动力学理论方面的研究是从八十年代Karplus等人开始的，基本思想是写出每一个原子所在处的势能函数与原子座标关系，用牛顿力学方法计算不同时间每个原子的速度与位置。目前，最常用的是分子动力学模拟法(molecular dynamical simulation)，它以晶体衍射所得到的座标为出发点，用最小能量原理修正座标得到初位移，并指定温度，用Maxwell分布赋予速度，然后取一极端时间逐步积分，达到平衡为止。经过不同时间连续得出整个分子中每个原子运动图像。为了适应不同时间，还发展了一些其它方法，如随机动力学(stochastic dynamics)、谐振动力学(harmonic dynamics)、激活动力学(activated dynamics)和简化模型动力学(simplified dynamics)等等。

从实验方面，过去研究结构的许多技术，如X衍射与中子散射，光谱与波谱方法，如荧光、圆二色、红外、Raman散射，Mossbauer谱术、NMR(包括2D-NMR)等都在向时间分辨的方向发展。例如前述用同步辐射技术已能在 10^{-6} — 10^{-9} S内收集衍射数据，时间分辨的荧光分光光度技术可达到 10^{-12} S甚至更短。这些技术的发展对于验证分子动力学的计算结果甚至直接给出分子运动的图像都是极为重要的。

在八十年代中，分子动力学已经快速地发展与逐步推广，并对含血红素基团蛋白的结构与O₂和其它物质的出入、牛胰酶抑制剂、肝乙醇脱氢酶等酶的活性、Z-DNA、核酸-蛋白质的相互作用、大分子与水的作用、膜中蜂毒蛋白的 α 螺旋与通透性等问题进行了探讨。这类问题的研究成果显然大大丰富了人们对于生物大分子功能作用是如何实现的认识，今后对于酶作用机理、蛋白质折叠等重大问题必将发挥更大的作用。

3. 分子识别——分子间特异相互作用

分子识别在生命现象中具有极为普遍的意义。从DNA复制、DNA到mRNA的转录、从mRNA到蛋白质的转译、酶与底物、激素与受体、抗原与抗体的作用等，无处不体现着分子间的特异相互作用，可以说这种识别现象正是生命物质有别于无生命体系的一种特征，是生命物质亿万年进化的产物。然而分子如何进行识别的机理迄今仍未阐明，因而成为当前分子生物物理学的前沿课题之一。

以核酸和蛋白质的相互作用为例，由于X射线衍射对结晶的复合物研究的进展，这一问题取得了较大成果。近年来了解得最详细的是一系列基因转录调

节蛋白及其与DNA的复合物结构。目前三维结构已经测定的已有7个阻遏蛋白和5个这类蛋白与其DNA(操纵基因片段)的复合物的结构,揭示出识别作用的主要状况。归纳起来这种作用不外乎三种类型,即1)螺旋-转折-螺旋模块(helix-turn-helix motif)、2)锌指模块(zinc finger motif)、3)亮氨酸拉链模块(leucine zipper motif)。至于RNA,则由于其结构的柔性,不易直接得到信息。1989年首次报导了豆荚斑纹病毒(PBMV)中见到确定的RNA结构。最引人注意的是Yale大学Steitz小组报导tRNA合成酶-tRNA合成酶ATP复合物的晶体结构,见到了相互作用的专一性,被称为第二遗传密码,并为其解译奠定了基础。更复杂的是超分子体系,如核蛋白体的三维结构。例如细菌核蛋白体的分子量为230万,大亚基(50s)含35个不同的蛋白质和2个RNA链,小亚基(30s)含21个蛋白质和1个RNA链。最近活性核蛋白体颗粒已获结晶,并正在解析其三维结构,90年代应有希望在这一问题上有所突破。

尽管在核酸-蛋白质的特异作用方面已取得了一些成就,但仍然存在若干问题没有得到解决。第一是螺旋-转折-螺旋虽然给人以清晰的图象,说明其中一螺旋如何嵌入DNA深沟从而产生识别。但许多转录调节蛋白有相似的螺旋-转折-螺旋结构,然而利用于结合DNA的方法则不同,因此DNA上已知的碱基对与蛋白质上氨基酸的结合并无简单的识别密码,而是涉及H键、van der Waals力与离子作用的一个复杂网络。这种复杂性使预计识别特定DNA靶序列的新的阻遏蛋白的合成很困难。第二,至今许多结构资料大多与螺旋-转折-螺旋有关,还迫切需要了解其它模块的识别方式。第三,也是最重要的是和核酸结合的蛋白质在结合以后如何达到具有一定的功能作用,这将是今后的研究重点。第四,驱动大分子相对运动需要能量,这一能量来源的结构基础仍未阐明。

再以抗原-抗体作为识别研究的另一例子。B淋巴细胞分泌的抗体在免疫防御中起着中心作用,免疫球蛋白Ig则是血液中的主要蛋白质。免疫化学的主要课题就是要了解抗原-抗体结合的结构基础。在这方面的发展得力于近年来的细胞杂交技术、单克隆抗体生成和遗传工程的进展,了解到抗体的氨基酸序列差别如何影响结合部位的结构。最近用晶体学方法解决了三种抗溶菌体单抗识别不同的抗原决定簇,使抗体与流感病毒神经氨酸酶复合物的结构得以研究。另外对抗原的结构研究也有了进展。特别有意义的是抗体与肽抗原的作用问题,因为未来疫苗的发展依赖于和细菌或病毒蛋白序列相应的肽的利用,如人免疫

缺损病毒(HIV)。蛋白与由其得到的肽的抗原交叉反应的分子机理尚不清楚,这样就限制了免疫学的发展。对这类问题的研究,单靠X射线衍射是不够的,还要应用其它技术如NMR,其方法学的基础是利用一种Fv(Fab中的可变部分)的初步模拟结构,研究其与DNP-半抗原的相互识别关系。Stanford大学的McConnell用anti-DNP-spin label antibody,其主要目的是用部位特定的突变剂来探测决定结合部位结构的不同残基的重要性。Weizmann研究所的Anglistter等则研究抗体与霍乱毒素CTP(1988),主要目的有二:一是了解肽和抗体作用、抗体氨基酸序列的多样性如何影响结合部位的结构、抗体亲和性和特异性;二是对肽抗原不同的抗原结构定性,特别是表现在交叉反应,为此应用了TRNOE(转移核Overhauser效应)差谱,测Fab与标记及未标H的肽的差谱。如果应用新发展的同位素编辑技术及三维异核NMR有希望对整个抗体进行研究。

在抗原-抗体识别中最近对Fc段起一定作用的观点受到了重视。过去认为Fab绕铰链区的柔性是主要的,因此Ig一般取Y或T的形式,易于进行二价识别。Burton提出Fc段本身就有摇摆(wagging)运动,使整个IgG晶体中的Fc部分的电子密度几乎不存在,因而认为在识别作用中Fc也起到一定作用。

4. 蛋白质的折叠

目前对于编码基因的核苷酸序列如何翻译成多肽链氨基酸序列的过程已基本清楚,但是从一维信息如何进一步形成三维结构、即折叠的机理可以说基本不了解,因而是分子生物学尚未解决的基本问题之一,也是近年历次生物物理学会议必然包括在讨论会(或大会综述报告)中的一个热门课题。这一问题最近取得进展有二方面的原因:一是技术上的进展、特别是时间分辨结构测定技术的发展有可能研究析叠(或其反过程去折叠)过程的动力学,通过基因修饰和基因合成改造蛋白质结构与性能,来设计、重建新的蛋白质分子,其中必须了解残基序列如何影响和决定三维结构及其特征。

蛋白质折叠问题应该包含两个方面的内容:即体内新生肽链的折叠和体外变性蛋白的重折叠。前者由于技术方法方面的困难,目前还知之不多,当前有关折叠方面的知识大多来自对后者的研究。

蛋白质折叠中的主要问题如下:

(1)蛋白质折叠的热力学与动力学控制。目前多数人接受的观点是, 折叠

受到这二方面的控制，但如何通过确切的实验证据寻求使二者统一起来的折叠模型以指导整个研究则未解决。

(2) 辨识折叠的中间体，确证中间体的结构特征以了解折叠的途径。这也是难点和热点所在。已经有一些设计很巧妙的实验确认BPTI折叠中热力学上很重要的中间体和动力学上的中间体，它们都形成具有和天然结构类似的Subdomains，这对于了解折叠途径具有重要意义。

(3) 促进或催化折叠的物质(俗称“分子伴娘”)的研究。过去一直公认折叠是自发产生的，但近年来发现对于一些多亚基的物质，在折叠和组装中常需一些外源性蛋白质分子起促进和催化作用。在细胞内已发现了一系列这类物质。因此确认这类物质的存在、性质和作用，是了解蛋白质折叠的一个重要方面。

(4) 最后一个带根本性的问题是：折叠如何启动？这一问题虽然有一些实验资料的积累，但没有得出一个统一的对象。目前的研究集中在三个问题上，(1) 疏水性的消失(hydrophobic collapse)及其与融解的球状状态(molten globule state)之间的关系；(2) 肽段中可见到的稳定二级结构，(3) 使折叠稳定的特异相互作用。

以上是从分子生物物理学本身出发探讨其研究的五个(本文归纳为四个)带有根本意义的课题及其当前发展的趋势。除此之外，把分子生物物理学的进展应用于工程，诞生了所谓生物工程学，其中特别是蛋白质工程和酶工程更多地和分子生物物理学的发展有关。可以说，蛋白质工程中的生物物理问题更多地依赖于分子生物物理，以致国外近年来在国际会议中常引起很大关注，成为分子生物物理学的前沿课题之一。它对于生物高科技新领域的开发具有重要意义。其中主要的研究内容包括现有蛋白质的改造、蛋白质构象的预测、新的蛋白质分子的从头设计和以蛋白质为靶的药物设计等等。

三、我国分子生物物理学的发展现状及对今后中、近期战略方向和目标
的看法。

1. 我国的状况

我国生物物理学的发展已有30多年历史，分子生物物理从一开始就受到重视，但由于设备条件的限制，发展并不很快。直到60年代由人工合成胰岛素的
项目，在国家组织上海和北京的若干研究单位和大学的共同努力下，取得了举
世瞩目的成就，受到了国内外同行的重视。因此关于X射线晶体衍射和溶液构

象的研究才奠定了较好的基础，特别是衍射方面的研究，保留了一支精干的队伍，一直延续至今，条件也不断得到改善，可以说在生物大分子结构研究方面不仅在国内而且在国际上都占有一定地位。至于其它几个方面，例如溶液构象的研究、分子动力学的研究等，在国内分子生物物理界早有一定的认识，也有一些人员被派往国外进行学习、参与工作。但总的来说力量还比较薄弱，而且分散在几个孤立的据点上。“七五”规划期间开始注意到应该集中力量建设几个重点实验室和开展几个重大项目或重点课题加以支持，同时吸收国内有一定水平的人员共同参与。这一方面无疑是正确的，而且也取得了一定成果。但是由于人员不够稳定，设备条件的改善速度较慢以及其它原因，阻碍了这门分支学科的发展。尽管如此，1988年12月在厦门召开的第一届分子生物物理学学术会议，对这门分支学科的发展起到了推动作用，也是一次很好的检阅，说明我国生物物理学中，分子生物物理学的力量还是比较强的。在我国和日本的三次双边生物物理学会议来看，分子生物物理也始终占有一定的地位。

2. 对发展分子生物物理学的看法。

1) 前已述及，分子生物物理学既是生物物理学的基础，也是分子生物学的基础之一，更扩大来说，它是生命科学的各个分支学科向微观发展的需要。从这一战略目标来说，在我国大力支持分子生物物理学研究无疑是一项长期的任务。它的战略地位十分重要。它属于生命科学的基础研究，没有这类研究，既不可能在国际分子生物学领域的发展使我国占有与国力相称的相应地位，也不可能对当前普遍重视的、具有重要经济技术前景的生物工程的未来发展起到促进和推动作用。因此对于这门分支学科的发展已不限于生物物理学，而要从整个生命科学未来发展的高度加以重视。

2) 要注意国际发展动态，努力填补我国在发展分子生物物理学方面的薄弱或空白领域，使之至少能跟踪当前发展的水平。以生物大分子结构研究而言，晶体衍射的工作除了前面提到的本身还有待提高的问题以外，其发展已有一定限度。相对而言，溶液构象的研究、分子动力学的研究应该予以更多关注。

3) 分子生物物理学的发展在很大程度上依赖于技术手段的进步和开发。在未来的规划中，集中装备几个实验室，使之能迅速开展前沿性课题是必要的。但是对于能解决分子生物物理问题的一些新技术的开发同样应积极予以支持，而不能把它看作单纯的技术问题对待。其中物理学的最新成就如何加以利用应

该给予鼓励。例如扫描隧道显微术(STM)是1986年诺贝尔物理学得奖项目，在物理与化学方面已得到重视和较广泛的应用。但在生物对象中则还缺乏系统研究。然而这种技术在大分子及其复合物的观察中已显示其它技术无法比拟的优越性，显然它对于生物分子识别机理的研究将在很大的价值。对于这类刚出现苗头的技术，以及其它类似技术给予支持，很可能使我国能较快赶上国际前进的步伐。

3. 发展本学科的中近期战略方向和目标

针对我国发展本分支学科的需要，并结合现有的实际水平和今后十年内国家支持基础研究的可能性，拟提出下列方向和目标：

(1)建立关于生物大分子结构与动力学研究的基地，分别或有条件地集中进行X射线衍射晶体结构分析，溶液构象和动力学研究设备，使我国有能力研究当前这三方面所达到的现有水平；

(2)晶体结构分析，作逐步与中子衍射及同步辐射的应用结合起来，向时间分辨的方向前进；

(3)溶液构象的研究应加以重视，特别是用二维和三维核磁共振结合同位素标记及方法学的研究；

(4)分子动力学研究应建立起一支理论队伍，同时配合各种不同时间的动力学实验研究，以便较全面地对特定的几种生物分子从理论与实验两个方面加以说明。

以上4个方面总起来是为了在结构与动力学研究中建立基地，组织与培养人才队伍，赶上当前国际水平。在选题方面，应通过重大项目和重点课题适当集中，以便全面了解结构与功能的联系。

(5)识别作用机理的研究。在结构研究的基础上可先选择抗原与抗体、DNA与蛋白、酶与底物间的特异相互作用开始，进而发展到配体与膜受体、离子与通道的作用。

(6)蛋白质折叠的研究。首先建立各种检测折叠中间体的手段。研究去折叠过程及催化折叠的一些伴随物及其催化机理。积累一定经验后为研究折叠启动和新生肽折叠寻找解决途径。

(7)与蛋白质工程密切配合，研究蛋白质构象的预测，改善现有蛋白质的性能，如耐热、抗氧化、提高催化效能、对分子进行裁剪或残基替换以寻求新

的性能，以满足工程需要。

4. 近3—5年内应优先资助的前沿课题

关于近3—5年内(即“八五”规划期间)，应从配套研究的需要作为指导思想，鼓励上述各项研究的技术掌握、人才培养、条件创造作为中心，同时对已经有较好基础的研究项目鼓励其作出较系统的工作。具体内容可提出以下几点：

- (1)同步辐射在用于晶体结构分析；
- (2)2D—与3D—NMR对肽类物质的溶液构象分析；
- (3)各种时间分辨的光谱、波谱的使用，动力学方法的应用；
- (4)分子识别过程的研究，特别重视新的研究手段的应用；
- (5)蛋白质折叠的研究；
- (6)核酸与蛋白质相互作用的研究；
- (7)蛋白质修饰及其在生物工程中的应用。

5. 对基金委员会如何组织本学科发展的政策建议。

基金委员会过去在支持自然科学基础研究方面已经做了许多工作，在有限的资金条件下对于像分子生物物理等基础性很强的研究课题积极给予支持，是有成绩的，为了在今后十年内能更扎实地奠定基础，迅速做出成绩，提出下列建议供参考。

(1)分子生物物理课题既和分子生物学有关，也和生物物理学有关，因此关于这方面课题的定向确定与评审如只归在一个组内进行难免失之于偏颇。解决途径有二，一是联合评审，二是根据课题性质，二个组都有这方面的内容，由申请者自选。

(2)对于比较重大的课题，应利用目前正在进行的重大和重点两种课题的确定，要求组织协调，鼓励投标，公正评审，以做到集中较有能力的单位和个人参加。估计这类课题数量不可能太多，因此更应有选择地组织，而不能因人设题。

(3)分子生物物理的发展应同时重视相应技术的开发，因此，无论对于单项技术、或者与重大、重点课题相结合的技术，基金会都应给予特殊关注，在有条件时还应协助解决与不同学部的协作问题。

膜与细胞生物物理学

林克椿

北京医科大学 教授

一、膜与细胞生物物理学的研究内容与重要性

分子生物学在本世纪的极大成就很自然地鼓励人们转向较为复杂的有生命体系，其中最基本的单元就是细胞。细胞内广泛存在着的生物膜，包括细胞质膜、内质网膜、线粒体膜、核膜等等具有高度的组织性而又能完成多种不同的功能。由于其结构的相似性，膜的分子动力学研究已成为细胞生物物理学研究中的重点。膜与细胞生物物理学就是在分子生物物理研究的基础上，用分子运动的观点阐明膜与细胞的结构、物理性质、物理运动规律以及功能关系的一个分支学科。

对膜与细胞生物物理学的上述看法需要作两点说明：

1. 生物物理学作为一门学科，其对生命物质与生命过程的研究既包括微观的、也包括宏观的研究途径。膜与细胞物理性质作为一个整体，在涉及发育、分化等更高层次的问题时，单纯从微观研究是不够的。但是到目前为止，微观研究仍占主导地位，因此规划中更多涉及微观领域的研究。

2. 和细胞相比较，膜的研究更为深入，用分子生物物理学的知识与技术研究膜所得到的成果也更多。这是由于细胞比膜作为一个体系来说更为复杂的缘故。因此在本规划中膜生物物理的研究占有重要地位。但是应该看到，实际上许多过程的完整认识是和整个细胞不可分隔的，例如信息传递的过程、蛋白质的跨膜输运等等。所以膜生物物理的研究可以看作是从分子向细胞生物物理发展的一个桥梁阶段。

膜与细胞生物物理研究的重要性突出地表现在历届国际生物物理学会以及各国的生物物理学年会的大会综述报告、分组讨论会的题目以及科学增报分类题与数量之中。以最近三届(九年)国际生物物理大会的综述报告为例，1984年占1/2，1987年占3/5，1990年占1/3；再以最近五届(五年)美国生物物理年会

的大会报告和专题口头报告为例，所占比例在1/4到1/2之间。由此可见，膜与细胞生物物理学在整个生物物理学中已成为仅次于分子生物物理的一个重要领域。

造成这种状况的原因主要还在于物理学理论与技术的发展，极大地推动了生物分子、膜与细胞的研究。例如凝聚态物理学的发展使人们对膜的结构及其在不同条件下的相变、相分离等有了进一步的了解；核磁共振(NMR)和X射线小角衍射对水化脂结构的研究发现了前所未曾预料到的膜脂的非双层结构，从而必须对过去膜脂总是以双层形式存在的观点重新加以探讨以深入了解其功能意义；而各种光谱、波谱技术的发展，使人们不仅能研究膜中脂与蛋白的各种方式的运动，而且由于各种时间分辨光谱和波谱的进展得到动力学变化的特征，为研究各种生命过程的确切机理创造了良好的条件。

二、膜与细胞生物物理研究的国内外现状

膜与细胞生物物理所包含的内容是非常广泛的，为了给出一个比较清楚的图象，拟将其内容概括为膜的基本结构及其转变和膜的主要功能两大部份，在每一部份中再列出几个主要课题，以说明当前的发展趋势。

1. 膜的基本结构及其转变

自从1972年Singer与Nicholson提出生物膜的液态镶嵌模型以来，已经过去了将近20年，并已成为被公认的一种较合理模型。这一模型和过去许多年中提出过的其它模型不同之点主要在于膜脂与膜蛋白的动态性，即作为膜主要成份的脂与蛋白都在不停地作各种运动，以区别于以往的静态模型。随着理论与技术手段的不断发展，人们对于脂与蛋白的各种运动进行了深入的、定量化的研究，对由此而使膜具有的物理性质以及功能过程中的结构与动力学改变不断取得新的认识。尽管如此，还有一些基本问题尚未得到彻底解决。现举出几个重要方面如下：

(1) 脂的多型性问题。

一般认为膜脂在水化后形成脂双层，从而成为细胞内外的屏障，对于组成细胞膜的各种脂都应如此。然而1976年Luzzati以及随后以B. de Kruijff及M. Cullis为首的学者陆续发现，有些脂在水化以后并不形成双层，而是形成六角形相(Hexagonal phase)(包括I和II相)和立方体相(cubic phase)等多种非双层结构。开始他们把具有这类性质的脂称为非双层脂，例如磷脂酰乙醇胺(PE)，

心磷脂(CL)等等。后来发现,同一种磷脂在不同条件下可以形成双层,也可以转变为非双层,例如PE在高温下、CL在有 Ca^{2+} 条件下均将从双层转变为非双层,因而把这种转变称为脂的多型性(polymorphism)。近十余年来,国外以上述三个小组为主,对于各种不同脂及其混合体系的多型性行为,以及在多肽与蛋白质作用下诱导的非双层结构等,通过有效的几种主要手段已经详细进行了研究。国内也有一些学者进行了这类工作,并用扫描隧道显微术具体显示了这些非双层结构。这一问题的重要性在于生物膜中一般都含有易于形成非双层的脂,如果只要求膜起屏障作用,就无法理解生物膜中为何含有这类脂,以及这类脂在功能过程中起什么作用。这一问题如能得到解决显然将深化人们对生物膜结构与功能关系的了解。近年来虽然有少数说明某些生物膜在一些功能过程中存在非双层结构的迹象,但还远不能充分加以证实。由于转变往往在短时间内完成,因此一些学者转向这类脂对功能影响的研究;但也有一些学者在试图用时间分辨和各种技术捕捉多型性转变的证据。看来这二方面工作都是需要的,将能起到互补的作用。

(2)膜的分子动力学及其与膜性质相互关系的研究

近十余年来,应用荧光、圆二色、红外、拉曼(Raman)散射以及电子自旋共振(ESR)和核磁共振(NMR)等已经对膜中的脂与蛋白的各种运动进行了许多研究。1976年Hackenbrock用研究膜蛋白侧向扩散的技术证明电子传递链中不同组分具有不同的扩散速度,从而提出了电子传递的碰撞理论,革新了过去认为膜蛋白必须紧密跨膜逐个连结的观点。1990年他又证明不同组分的扩散频率足以影响电子传递的总体动力学过程,进一步发展了这一学说。膜脂与膜蛋白在不同条件下的运动改变不仅决定了膜的有序性,而且影响膜脂的流动性和膜蛋白的活动性,以及蛋白陷入膜脂的不同程度,从而影响膜的功能。许多疾病状态下流动性都有明显的改变,研究这种改变和影响因素间的关系有助于调整细胞的稳粘度适应(homeoviscous adaptation),进而达到治疗的目的。目前国内外已经研究过的疾病不下数十种,进一步成效还有待于分析原因及与细胞内或细胞核内过程的因果关系才能得到提高。

(3)膜脂与膜蛋白相互作用的研究

膜蛋白部分或全部处于膜脂环境之中,这二者之间的相互作用显然包括两个部分内容:一是膜脂对膜蛋白的影响,二是膜蛋白对膜脂的影响。和溶液中