

# 生物物理讲座

## 第四讲 生物膜

王宁翥

(南开大学物理系)

所有的细胞、无论是原核细胞还是真核细胞,都有一个共同的结构组分——膜。近年来,人们将细胞膜(又称质膜)和细胞的内膜系统(指细胞内不同膜相结构的膜)统称为生物膜。

近年来,发展了特殊的适于膜研究的物理技术,如膜光谱、各种光学探针、人工膜等,使我们对生物膜有更深入的了解。生物膜有许多功能,与生命科学中许多基本问题都有密切关系,如细胞起源、遗传、信息传递、生物能量转换、物质运转、激素作用、神经传导、细胞免疫、细胞识别、细胞分化和肿瘤发生等。正确认识膜的结构(尤其是其动态结构)和功能,不仅对揭开生命的奥秘有重大意义,而且对于解决工农业生产、医学和国防上的一些实际问题,也将发挥重要的作用。

### 一、生物膜的化学组成<sup>[1,2]</sup>

所有生物膜几乎完全由蛋白质和脂类组成,此外尚含有少量糖和金属离子等,在一些膜中水分约占15—20%左右。

各种生物膜组成成分的比例不一致,脂类与蛋白质所占的比例,其范围可从1:4到4:1。一般地说,膜中含蛋白质越多,其膜功能越多;相反,膜功能越简单,其膜蛋白质的种类和含量就越少。如神经髓鞘膜仅有三种蛋白质,这和冲动传导的良好绝缘性能有关,而线粒体内膜因含有电子传递和磷酸化酶系统,故含有30—40种蛋白质。

#### 1. 膜脂

膜上脂类以磷脂为主,还有胆固醇和糖脂。

磷脂主要是磷酸甘油酯,不同种类的磷脂性质不同,如二磷脂酰甘油属于酸性磷脂。在磷脂与蛋白质的相互作用上,往往会显示出蛋白质对磷脂的一定的专一性。例如,细胞色素氧化酶活力必需要有二磷脂酰甘油存在。磷脂上脂肪酸链的长短及其不饱和程度,与生物膜的流动性有密切关系。胆固醇在红细胞、肝细胞、有髓神经细胞的质膜中占有相当数量。由实验可知,它能防止磷脂碳氢链生成凝胶或结晶状态,因而保持了膜的流动性。膜脂虽然有很多种,但都有共同的结构特点:有一个亲水的极性基团的“头部”和两条疏水的碳氢链的“尾部”(见图1)。

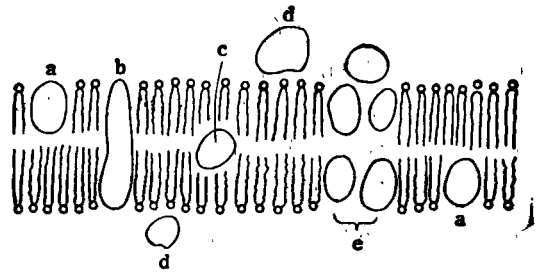


图1 外周蛋白与内嵌蛋白

脂类在膜的结构和功能中起着十分重要的作用,特别是对膜结构的物理性质有影响,如膜脂双分子层的分相现象及相变作用对膜功能的调节控制有重要作用。

膜上许多酶要求特定的磷脂。磷脂对酶的激活机理尚不清楚,一般认为它可能表现为:对酶作用底物的激活;可能激活酶本身,使其分子构象改变;作为酶系的组织者,保持许多酶蛋白排列的顺序性,如电子传递呼吸链酶系等。

## 2. 膜蛋白

细胞中有 20—25% 的蛋白质是与膜结构相联系的。膜蛋白可以分为两类：外周蛋白 (peripheral proteins) 和内嵌蛋白 (integral proteins)，如图 1 中的 d 是外周蛋白，其余为内嵌蛋白。

外周蛋白的主要特点是它们分布于膜的外表，通过静电作用及离子键和氢键与膜脂的极性头相结合，而不伸入到脂双分子层中改变介质的离子强度及 pH，或加入整合剂等就能把外周蛋白从膜上溶解下来，溶解下来的外周蛋白呈水溶性，不再聚合，与脂类不再形成膜结构，表现为一般水溶性蛋白的特征。线粒体膜的细胞色素 c、己糖激酶和红细胞膜的收缩蛋白 (spectrin) 等都属于这一类。

内嵌蛋白的主要特征为水不溶性。它们分布于脂双分子层中(如图 1 中的 c);有时甚至横跨全膜(图 1 中的 b);有时由多个亚基构成复合物与外周蛋白结合(图 1 中的 e);有时以疏水和亲水两部分分别与磷脂的疏水和亲水两部分结合(图 1 中的 a)。一般只有用表面活性剂和有机溶剂等剧烈的处理才能将内嵌蛋白从膜上溶解下来。一旦去掉有机溶剂或表面活性剂后，它又能再聚合成水不溶性的物质，或与脂类形成膜结构。视网膜杆状细胞圆盘中的视紫质 (rhodopsin) 分子、线粒体内膜中的细胞色素氧化酶分子等均属内嵌蛋白。

从膜蛋白的功能来看，大约可分为代谢、物质转运、细胞运动、信息传递和支持、保护等五类。

## 3. 糖类

生物膜中含有一定量的糖类，并且主要是以糖蛋白和糖脂的形式存在，分布于细胞膜的外表面。膜表面的寡糖链在细胞识别过程和配体-受体识别过程中起着一定作用，而寡糖链末端的唾液酸或神经氨酸的作用更为重要。若淋巴细胞表面失去神经氨酸，那么它就不再象正常情况下那样归于淋巴结和脾脏，而是集中到肝脏。正常细胞表面或肿瘤细胞表面的唾液酸在免疫化学中起着掩盖表面抗原不使其被识

别的作用。

## 二、生物膜结构模型<sup>[3,4]</sup>

生物膜中的蛋白质、脂类等在中如何排列和组织起来的？对此问题人们曾进行不少研究，提出过许多种说明膜结构的理论模型，下面介绍几种有代表性的和影响较大的模型(图 2)，并简略地叙述 1925—1977 年以来有关生物膜基本结构概念的发展。

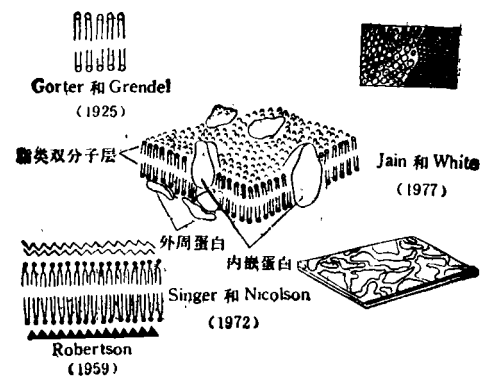


图 2 各种生物膜结构模型

### 1. 双分子层模型

1925 年，Gorter 和 Grendel 从红细胞膜中提取出脂质，通过对单分子层的压力-面积相互关系的研究，首次提出脂质在膜中组成双分子层结构的概念：红细胞的膜是两层类脂分子组成的，两层分子的碳氢链相对排列着。这是膜结构的一个基本特征。

### 2. 单位膜模型

三十年代到五十年代，生物膜结构的主要理论是单位膜概念。它是由 Danielli 和 Davson (1935 年) 提出的，后经修改由 Robertson (1959 年) 概括，提出所有生物膜都由单位膜组成的理论。该理论认为：连续的脂质双分子层是组成生物膜的主体；磷脂的非极性端向膜内侧，极性端向膜外侧；蛋白质则以单层肽链的厚度和  $\beta$  折叠形式，通过静电作用与磷脂极性端相结合，组成蛋白质-磷脂-蛋白质这种三夹板式的结构。

六十年代以后,应用了一系列新技术,证明所得的实验事实与单位膜的许多基本概念不符,所以又提出一些新模型,以解决蛋白质在膜结构中所起的作用,和以何种方式与膜相互联系等问题。虽然这些新模型各自强调的重点不同,但其共同点都是把生物膜看成静态的结构。六十年代后期和七十年代初期的工作,都证明生物膜具有流体的性质。1972年, Singer 和 Nicolson 根据生物大分子在水相中的热力学原理和膜蛋白磷脂的双型特性,进一步提出了液态镶嵌模型。

### 3. 液态镶嵌模型 (fluid mosaic model)

将生物膜看成是球形蛋白(主要是  $\alpha$ -螺旋结构)和脂质的二维排列的流体。从膜的横切面看,膜中球蛋白(内嵌蛋白)与磷脂的双分子层交错排列。内嵌蛋白的极性端突出膜表面伸向水相,而非极性端埋藏在膜脂的疏水部分;有些内嵌蛋白或其聚合体可横穿膜层,两端的极性部分伸向水相,中间的疏水部分与脂双分子层的脂肪链呈疏水性结合,外周蛋白与膜两侧的极性部分呈离子键结合。七十年代以来,人们通过大量物理实验证明了膜脂流动性是生物膜结构的又一基本特征。

近年来在生物膜结构的研究中,发现膜中某些脂质之间呈特异性结合,发现脂质分子相变时的协同效应(几十个以上的脂质分子同时相变),还发现膜结构的分相现象和各种脂相共存,包括界面脂以及由此产生的在膜平面上的区块结构等。1977年 Jain 和 White 提出了板块模型。

### 4. 板块模型

认为在流动的脂双分子层中存在许多大小不同、刚度较大的彼此独立移动的脂质“板块”(有序结构区),板块之间由无序流动的脂区(无序结构板块)所分割,它们之间可能处于一种连续的动态平衡之中。分布于膜内两半层的板块彼此相对独立呈不对称性,某些板块也有可能延伸到全部双分子层。板块内的各组分之间以疏水力相互作用,蛋白和脂质两者也可能形成另一种不同性质的长距离的有序组织。因此,

膜平面实际上是同时存在不同组织结构和性质的许多板块,它们的变化主要由板块内组分的构象和相互作用的特异性所决定,而膜功能的多样性也可能与板块的性质和变化有关。

从以上的介绍可以看出,在膜结构理论中,虽然液态镶嵌模型被人们广泛接受,但问题远未解决。

## 三、生物膜的特性<sup>[4-6]</sup>

根据膜的分子结构和人们对膜的认识,生物膜具有两个显著的特性: 不对称性和流动性。

### 1. 生物膜的不对称性

现在普遍认为细胞膜无论从结构或功能上来看都是不对称的。

#### (1) 膜脂分布的不对称性

一般地说,脂双分子层两侧的膜脂有组分上的不同,但这种不对称性不是绝对的,仅在含量比例上有差异。脂质在膜上不对称分布的原因还不很清楚。已知红细胞膜中,磷脂酰胆碱(PC)和神经鞘磷脂(SM)主要分布于膜外层,膜内层中以磷脂酰丝氨酸(PS)和磷脂酰乙醇胺(PE)为主。这表明了磷脂极性头部的大小可能是形成不对称分布的一个重要原因,即头部较小的PE,PS更容易紧密堆积在内层。另一个原因可能来自脂质和蛋白质的相互作用,如红细胞膜内侧表面收缩蛋白和酸性磷脂有较强的相互作用,从而增多了内侧的PS。

磷脂不对称性可使膜的两层流动性有所不同,这关系到膜蛋白的装配机制,关系到药物与电介质对细胞形态的影响,这方面的工作尚待进一步深入。

#### (2) 膜蛋白分布的不对称性

用冰冻蚀刻技术得到的生物膜两个剖面,清楚地看到颗粒分布并非是随机的,而有明显的差异。这说明有的蛋白对膜的一侧结合得紧,而对另一侧结合就差些。前面已提到红细胞膜中血型糖蛋白是内嵌蛋白,收缩蛋白是存在红细胞膜内侧表面的外周蛋白,此外  $\text{Na}^+$

$K^+$ -ATP 酶是贯穿双分子层的内嵌蛋白, 它的不对称取向能将  $Na^+$  泵出细胞而将  $K^+$  泵进细胞, 在其细胞质侧尚有催化 ATP 分解的位点可以提供泵的动力, 而强心苷、乌本苷之类的抑制剂, 其结合位点位于膜的外侧。膜蛋白分布的不对称性是绝对的, 且内、外层之间的翻转运动几乎不可能, 这就能保证膜两侧各自的特殊功能。

### (3) 膜上糖基分布的不对称性

所有哺乳动物细胞膜上的糖基都位于膜的外表面。糖蛋白的不对称性由蛋白质的不对称性来维持。糖脂的不对称性是由于糖基的亲水性, 因此糖脂要比磷脂更难以进行膜上的翻转运动。

生物膜结构上的不对称性, 保证了膜的方向性的功能, 而膜结构的不对称性, 保证了膜两侧在功能上的不同。

## 2. 生物膜的流动性

现在认为生物膜是液晶 (liquid crystal) 结构, 即其分子结构是有序的, 但又是可以流动的, 这是生物膜极为重要的特性。

### (1) 膜脂的动态特性

a. 脂分子的运动: 一些新技术, 如扫描差热术、核磁共振、电子自旋共振、同位素标记等方法, 都证明膜中脂分子的各种形式的运动与膜结构的流动性密切相关, 已知脂分子可能有以下五种运动方式(图 3)。

**脂肪酰链的旋转异构化运动:** 膜脂分子 C—C 键的旋转而引起的异构运动。这种旋转异构的速度很快, 以相关时间(旋转时分子重新恢复原来方向所需时间)计约为  $10^{-10}s$ 。在低温条件下, 烃链都呈全反式构型, 随着温度升高, 歪扭 (gauche) 构型逐渐增多, 流动性加大。

**膜脂烃链长轴的伸缩运动和围绕垂直于膜双分子层平面的振荡运动:** 这种分子内的运动速度大约少于  $10^{-9}s$ 。这种运动呈流动梯度现象, 就磷脂分子来说, 越向烃链的甲基端运动越快, 甘油骨架比烃链部分运动慢, 最慢的是极性基团部分。

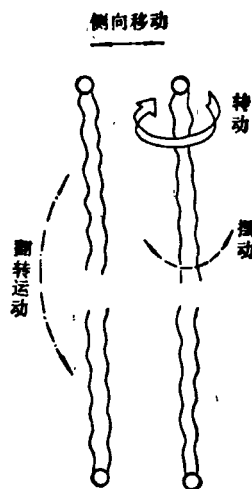


图 3 膜脂运动方式的示意图

**膜脂分子的旋转运动:** 膜脂分子可围绕与膜平面相垂直的轴进行旋转, 运动的平均相关时间为  $10^{-6}-10^{-9}s$ 。

**膜脂的侧向扩散运动:** 整个脂分子在二维膜平面中的扩散是改变其在膜中位置的主要方式。其速度用扩散系数  $D(cm^2/s)$  表示, 一般为  $10^{-8}cm^2/s$ 。

**膜脂分子的翻转运动 (flip-flop):** 膜脂分子从双分子层的一层翻至另一层的运动是一种极慢的交换运动。几种脂质翻转运动的半寿期都在几小时至几天以上。

b. 相变和分相: 细胞膜存在于水环境之中, 因此了解、掌握充分水化的脂与脂混合体系的相变是探讨膜结构与功能的重要手段。

单一脂质充分水化后形成脂双层, 其物理性质与温度密切相关。温度较高时, 烃链中歪扭构象增多, 活动性大, 结构呈液晶相; 温度降低后, 烃链平行于膜法线呈全反构象, 彼此平行、“坚硬”, 呈现出晶体的排列为晶体相。液晶相与晶体相之间的转变简称相变。相变发生在很窄的温度范围内, 是一种高度协同的效应, 发生转变的温度范围的中点称相变温度  $T_c$ 。  $T_c$  随脂质种类而异, 影响  $T_c$  的主要因素有三个: 烃链的长度越长,  $T_c$  越高; 烃链的饱和程度越大,  $T_c$  越高; 有同样饱和烃链的磷脂, 极性头部的

特性不同时,  $T_c$  也不同, 例如磷脂酰乙醇胺的  $T_c$  比磷脂酰胆碱的高 20—25℃。

晶体相至液晶相相变发生后, 由于烃链的柔曲度增大, 使脂双分子层厚度减小, 同时增大每个磷脂分子所占的面积和总容量, 因而也增加了脂分子的侧向压缩力, 而这有利于膜中蛋白的构象变化, 从而增大酶或其他功能蛋白的活性。

胆固醇在生物膜结构的调节机理中具有重要作用。实验证明, 相变温度以上, 胆固醇因能抑制磷脂分子烃链的旋转异构化运动, 减少歪扭构象的数量, 所以可以降低膜的流动性; 而在相变温度以下, 膜脂处于晶态排列时, 胆固醇又可诱发烃链的歪扭构象的产生, 从而阻止晶态出现, 使脂的相变区变宽甚至消失。

上面介绍的是单组分磷脂系统。生物膜的脂质是多成分的, 在一定温度范围内多成分磷脂系统中将有二个或二个以上的相混合共存的状态, 这种现象称为分相。已有实验表明, 分相发生时, 膜对物质的运输活性增高。

#### (2) 膜蛋白的运动

膜蛋白的运动可分为二类, 即被动扩散运动和细胞代谢驱使的运动。后一类是指膜蛋白与微管、微丝相结合形成复合体的运动, 膜脂流动性对其仅有间接的影响。现介绍直接受膜脂流动制约的膜蛋白被动扩散, 它可分为侧向扩散和旋转扩散。

a. 侧向扩散: Frye 和 Edidin (1970) 采用人和小鼠的细胞做细胞融合实验, 首先证明了这种运动方式。它可分三类: 自由扩散, 扩散系数  $D = 10^{-8} \sim 10^{-9} \text{ cm}^2/\text{s}$ , 如蛙视杆细胞外段圆盘膜视紫红质的侧向扩散; 限制扩散,  $D = 10^{-9} \sim 10^{-11} \text{ cm}^2/\text{s}$ , 如大鼠肌细胞表面乙酰胆碱受体的扩散; 基本不扩散, 如嗜盐菌紫膜的细菌视紫红质,  $D < 10^{-11} \text{ cm}^2/\text{s}$ 。

b. 旋转扩散: 首先用视杆细胞的视紫红质分子证明膜蛋白还能围绕与膜平面相垂直的轴进行旋转运动。一般地说, 膜蛋白的旋转扩散速度比侧向扩散更为缓慢。

### 3. 膜脂和膜蛋白的相互作用

很多内嵌蛋白周围有一层或数层紧密结合的脂分子, 称为“界面脂”, 其流动性大大低于不结合的流动脂区。实验证明, 肌质网膜  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶需要界面脂才能维持膜的最大活性。

很多膜上的酶活性主要依赖于脂质的非极性环境, 因而不表现对脂有特异性要求。非极性环境可能与保持酶蛋白的二级结构有关。酶蛋白对脂的极性端的要求, 表现为一定的特异性, 如  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ -ATP 酶要求酸性磷脂 (如磷脂酰丝氨酸)。

在宏观的生物界, 机体与外环境的协调统一是任何生物体得以生存的必要条件。在微观的分子水平, 蛋白质与其周围脂类的依存关系是细胞膜上的酶、受体、载体发挥功能的重要保证。

## 四、生物膜的功能<sup>[4,6]</sup>

生物膜具有多种功能, 首先它是细胞与环境间的界膜, 同时它的通透性是生活细胞维持正常的生理内环境和进行各种生理活动的基本要素。这种功能决定细胞能够有选择地从周围环境中摄取多种必需的离子和养分, 同时又不间断排出代谢废物和多余水分等。由于细胞膜选择通透性的存在, 所有细胞膜内外都存在离子浓度差和膜电位差, 而这两种特性与生物膜另外两种功能——能量转换和信息传递有密切关系。

### 1. 物质的选择性转运

从热力学的观点来分析, 凡是物质顺着浓度梯度, 即按照扩散作用方式进入细胞的过程是被动转运, 它不是耗能过程而是产能过程。凡是物质逆浓度梯度, 即与扩散方向相反, 由低向高处迁移物质, 称为主动转运过程, 而此过程必须有能量供应。下面分别介绍细胞内外物质交换的几种方式。

#### (1) 简单扩散

脂双分子层是膜的骨架, 物质由高浓度处经过膜向低浓度处移动的现象, 称为简单扩散。例如  $\text{O}_2$  向细胞内扩散,  $\text{CO}_2$  向细胞外扩散, 简

单扩散服从 Fick 定律。

### (2) 促进扩散 (facilitated diffusion)

一些亲水分子,如葡萄糖、氨基酸、嘌呤等需要膜上某些转运系统的帮助,才能顺着浓度梯度通透,这种通透方式称为促进扩散。它不服从 Fick 定律,但却显示饱和动力学的特征,即增大被转运物质的浓度到一定值时,转运速度趋于饱和。

对带电荷的离子,除了需要通道或载体的存在才能扩散到膜外,还依赖于膜内外的电位梯度,可以用能斯脱 (Nernst) 方程表达离子浓度引起的静止膜电位和浓度梯度的关系。

### (3) 主动转运

物质依赖于能量的逆浓度梯度的转运方式称为主动转运。膜主动转运过程自由能变化  $\Delta G$  可用下式表达:

$$\Delta G = RT \ln \frac{[I]_{in}}{[I]_{out}} + ZF\Delta\psi,$$

式中  $\Delta\psi$  为膜电位差,  $\Delta G$  表现为正值,因此过程需要能量输入才能进行。主动转运包括离子转运、化合物转运和膜的运动等三类。

a. 离子转运:表现出双向性和快速转运的特点,如神经和肌肉细胞的兴奋,上皮细胞的分泌等现象都属于离子转运。人体肌细胞内  $K^+$  浓度为膜外的 35 倍;膜外钠浓度为膜内的 12 倍,这种浓度差的形成和维持,是膜中专门转运离子的物质—— $Na^+-K^+$  泵把  $K^+$  泵入细胞而把  $Na^+$  泵出的结果。

b. 化合物的转运:生物膜对代谢化合物的转运,主要表现为单方向,速率也比离子转运

慢;质膜对糖的转运即为典型例子。

c. 膜的运动:通过细胞膜的变形、内折把物质包起来,由内吞作用将物质吞入细胞,而由胞吐作用将废物排出细胞。

## 2. 能量转换和信息传递

现以神经传递作用为例说明它既是生物膜能量转换的一种形式,又是生物膜信息传递的一种形式。

突触 (synapse) 是神经元间或神经元与肌细胞间接触的部位。突触膜分为前膜与后膜,其间隙 20—50 nm 称为突触间隙。当兴奋传至轴突时,突触囊泡通过胞吐作用把胞中的神经递质释放到间隙中,神经递质作用于突触后膜的受体蛋白,使其构象变化,打开离子通道,让离子通过,因而改变膜电位,产生动作电位,即把化学兴奋转为电兴奋沿轴突传递,将神经递质携带的“信息”传递下去。

人工制备的脂双分子层膜,开辟了研究复杂的生物膜功能与结构的新途径。

- [1] 杨托华编,医学细胞生物学概论,四川科学技术出版社,(1985),23—53.
- [2] M. D. Houslay and K. Stanley, Dynamics of Biological Membranes, John Wiley and Sons, New York, (1982).
- [3] 程极济、林克椿主编,生物物理学,人民教育出版社,(1982),132—157.
- [4] 刘培南、吴国利主编,基础分子生物学,高等教育出版社,(1983),144—186.
- [5] J. B. Finean and R. H. Michell, Membrane Structure, Elsevier/North-Holland Biomedical Press, (1981), 37—82.
- [6] B. Alberts et al., Molecular Biology of The Cell, Garland Pub., Inc., (1983).

## 1988 年第 7 期《物理》内容预告

九十年代物理学总论(美国物理学综评委员会);超荧光(柯细军);磁光学及其应用(孙金祚等);共线快离子束激光光谱(王永达);用光学传递函数评价象质的各种方式(周武元);偏振光中的算符及表示(董传华);电磁测井的物理基础(王秀江等);线性回归方向

选择的分析(李化平);由光电效应测定普朗克常数(傅银生);量子生物物理学(王磊光);生物大分子的相互作用(汪和睦);逆压电效应与电致伸缩效应(王矜奉);小球状蛋白质的低频振动式(蒋最敏);阿佛加德罗的分子假说及阿佛加德罗常数(万辅彬等)。