

综述与专论

类脂双层 (BLM) 概念及其实验进展 ——BLM 的 40 年

毕只初*

(中国科学院化学研究所分子科学中心胶体和界面实验室, 北京 100080)

H. T. TIEN, A. L. OTTOVA

(Membrane Biophysics Laboratory, Department of Physiology, Michigan State University, East Lansing, Michigan 48824, USA)

摘要 类脂双层研究的动力是来自生物世界. 虽然 1961 年首次报道生物体外的双层类脂膜 (BLMs) 自组装, 但从 Hooke (1672 年) 起, 实验科学家一直在处理有关 BLM 类型的界面吸附现象. BLMs (或平面的类脂双层) 已应用在许多方面, 即从基础的膜生物物理学到实际的爱滋病研究, 从通过水光分解的太阳能转换, 到应用支持双层类脂膜 (σ -BLMs) 的生物传感器的发展, 到包括细胞凋亡 (apoptosis) 在内的光生物学. 综述了类脂双层概念的起源及其实验进展, 以及 BLMs 用作某些生物膜模型的最新研究. 此外, 简要描述近来有关通过 σ -BLMs 来发展生物传感器的工作.

关键词 双分子类脂膜, 化学传感器, 自组装, 界面现象, 重组

学科分类号 Q648, Q73

1 类脂双层概念的起源

今天人们普遍认为类脂双层构成了所有生物膜的基本结构. 人们公认类脂双层为生物膜的模型仅有约 75 年左右. 然而, 类脂双层的概念起源更早, 并且可追溯到三百多年前. 它是从物理学家和发明家 Hooke 的 Hooke 定律骨架开始的, 他于 1665 年提出“细胞”这个术语来描述用他原始的显微镜观察到的软木片基本结构. 亦是偶然机会, 同是 Hooke 在显微镜下研究了常见的皂泡, 并于 1672 年描述了他的观察^[1]. 大约 30 年后, Newton 估计了“最黑”皂泡的厚度为 $3/8 \times 10^{-6}$ 英寸^[2], 相当于 9.5 nm, 这与现代测量值极其符合.

对皂泡中‘黑洞’的早期观察在生物膜类脂双层概念的发展及随后在双分子类脂膜 (平面类脂双层和球形脂质体) 的实验过程有深远的影响. 关于这方面, 本文将深入讨论分子的自组装 (即分子集合成热力学稳定及更加有序的结构). 毫无疑问, 这些令人兴奋的发展的灵感来源于生物界, 例如, 自然界使用自组装策略创造复杂的、有功能的结构, 除了上述细胞膜的类脂双层, 还有诸如手性蛋白层及 DNA. 许多研究者已经报道了自组装体系, 诸如 L-B 单层和多层, 人工自组装的总览, 包括

两性分子, 列于表 1.

Table 1 Experimental self-assembling interfacial amphiphilic systems

表 1 实验室自组装的界面两亲体系

体系	界面
1. 肥皂膜	空气 水 空气
2. 单层膜	空气 分子膜 水
3. 多层膜	空气 分子膜 水
4. 双层膜 (BLMs 和脂质体)	水 类脂双层 水
5. 核孔膜上的 BLMs	水 类脂双层 水
6. 金箔上的单层膜	空气 分子膜 金
7. 金属支持的 BLMs (σ -BLMs)	水 类脂双层 金属
8. 盐桥支持的 BLMs (σ -BLMs)	水 类脂双层 水凝胶

注: 垂直线 (|) 表示一个界面.

热力学促成自组装, 如果两性磷脂 (例如卵磷脂, PC) 分子在水中, 烃链将远离含水溶液. 它们将全部到达水面 (像油在水中一样) 或者它们能彼此相对. 伴随着烃链彼此相对, 磷脂两性分子能够形成两个不同的构造. 一为胶束, 它可以被描述为类脂极性基团在外而烃链挤到一起的小球; 另一

* 通讯联系人.

Tel: 010-64857458, E-mail: ottova@pilot.msu.edu,

tien@msu.edu, zcbi@ipc.ac.cn

收稿日期: 2000-11-20, 接受日期: 2001-02-20

个即为类脂双层 (图 1).

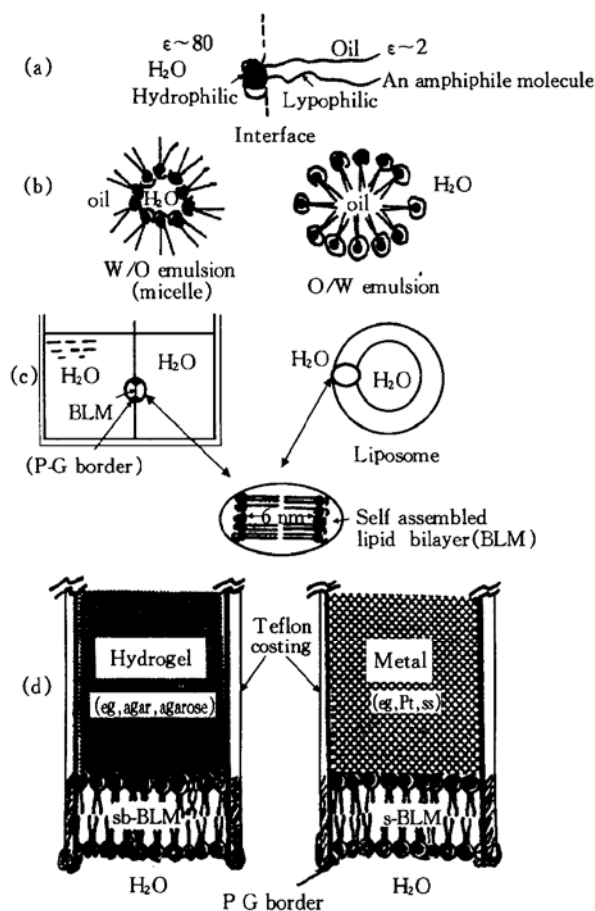


Fig. 1 Supramolecular structures at interfaces

图 1 在界面的超分子结构

(a) 油-水界面; (b) 乳状液; (c) 平面类脂双层 (BLM) 和脂质体; (d) 在基质上支撑的 BLMs.

从 20 世纪 40 年代开始, 对生物膜的研究分为两个专业方向: a. 利用 X 射线和电子显微镜等逐渐复杂的物理化学技术更加详尽地阐述类脂双层的概念; b. 模型膜体系的发展使得物理学、生物化学及生理学的过程可以被孤立而在分子级别上加以分析. 前者的方法导致单元膜的提议, 这最终导致所谓生物膜流体静力学模型的诞生^[3]. 研究的另一个方向在玻璃试管内类脂双层的重组方面达到了顶点^[4]. 本文将从膜生物物理学的观点更为详尽地讨论实验双层类脂膜, 尤其是平面类脂双层 (BLMs) 的使用. 对于脂质体体系感兴趣的读者可参阅 Bangham 的最新著述^[5] (图 2).

图 2 进一步说明一个能分割开两个水溶液的类脂双层的构造; 约 5 nm 长的疏水烃链处于流动态并形成双层的内核, 而直径约 0.8 nm 的亲水极性基团以液晶的形式组装成有序的排列. 这种类脂双层约 6 nm 厚.

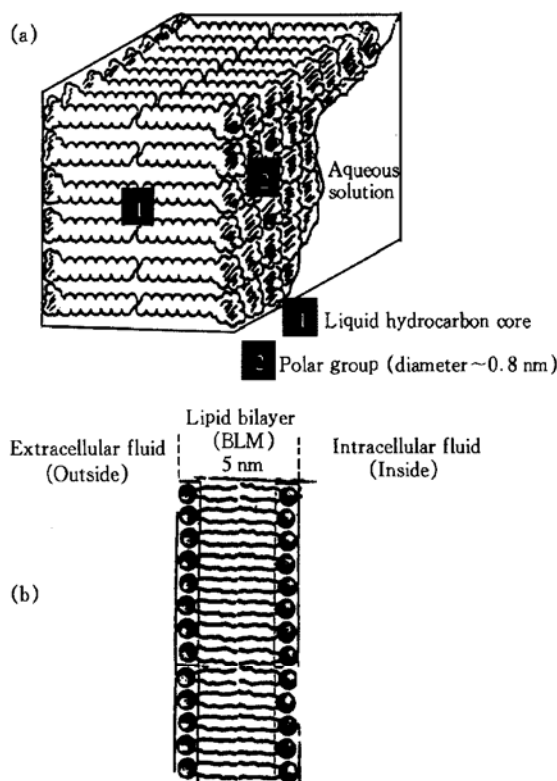


Fig. 2 (a) The lipid bilayer of biomembranes; (b) The lipid bilayer with fluid and self-sealing properties as an independent entity was reconstituted *in vitro* in the early 1960s
图 2 (a) 生物膜的类脂双层; (b) 具有流动和自组装性质的在体外重组的类脂双层

(经许可从 The Journal of Theoretical Biology, 1967, 16: 97~110 复制)

在 20 世纪 60 年代早期, Rudin 和他的合作者们认识到在皂膜变薄的最后阶段是由一个夹在含水溶液中的两类脂单层构成. 他们指出, 一个水中的皂泡或者一个从脑分离物中形成的 BLM, 有许多类似生物膜的物理和化学性质, 如被刺破是自动密封的. 一旦经某些蛋白质 (如涂以 EIM, 见后) 修饰, 这个大约 6 nm 厚、电‘惰性’的结构将被激活, 展现出类似神经膜作用电位的那些特征性质^[6,7]. 前面主要介绍了 BLM 的历史起源. BLM 体系已广泛地用于研究包括生物能、光合成、免疫学和生物传感器发展的多种物理学、化学及生物学现象. 在对生物膜结构进化的简短总结后, 本文的剩余部分将描述 BLM 体系的发展.

2 双层类脂膜 (BLMs) 的实验进程

生物膜结构的双层模型可以简单地陈述如下: 所有的生物膜基本结构均由一个双分子类脂层 (即一个类脂双层) 及吸附其上的非类脂层 (大多是蛋

白质) 构成. 在双层的内部, 烃链被伦敦-范德华力结合在一起. 支持双分子层模型的最有力证据是由 Rudin 和他的合作者们于 1960 年发现的平面构型的‘黑’类脂膜的形成^[6,7]. 在此要陈述的是, 后来由许多研究小组开展的实验论证了双层类脂膜 (BLMs) 是生物膜极好的实验模型. 这之后不久,

Bangham^[5]发现了球形构型的类脂囊泡即球形脂质体. 由于平面 BLMs 和球形脂质体的实用性, 这使得首次研究分隔两含水溶液的超薄 (~ 6 nm) 类脂双层的电性质和传输现象成为可能. 在生物膜结构发展史上具有里程碑意义的贡献列于表 2.

Table 2 The lipid bilayer concept: origins and its experimental evolution

表 2 类脂双层概念: 起源及其实验进展

年代	观察者	实验发现及结果
1665	R. Hooke	对软木片的显微观察所拟定的词“细胞”, 至今仍在使用
1672	R. Hooke	在肥皂泡里的“黑洞” ^[1]
1704	I. Newton	最黑肥皂膜的厚度: 9.5 nm ^[2]
1877	W. Pfeffer	人造的渗压计及血浆膜
1890s	E. Overton	橄榄油/水 分配系数与细胞膜的类脂性质 ^[6]
1917	I. Langmuir	单层膜技术; 两亲分子在界面的定向 ^[6,7]
1920s	H. Fricke	红血球的电学测量; 血浆膜的厚度小于 10 nm ^[6]
1925	E. Gorter & F. Grendel	红血球由两个类脂单层组成; 并由此提出专门的双层小叶模型 ^[3]
1940s	Davson & Danielli	蛋白质-类脂双层-蛋白质 夹层模型, 这是一个新颖的建议
1950s	Robertson	电子显微术-单位膜的概念 ^[6]
1961	Rudin <i>et al</i>	重组类脂双层的 BLM 技术 ^[7]
1965	Bangham <i>et al</i>	具有类脂双层结构的脂质体, 囊泡 ^[5]

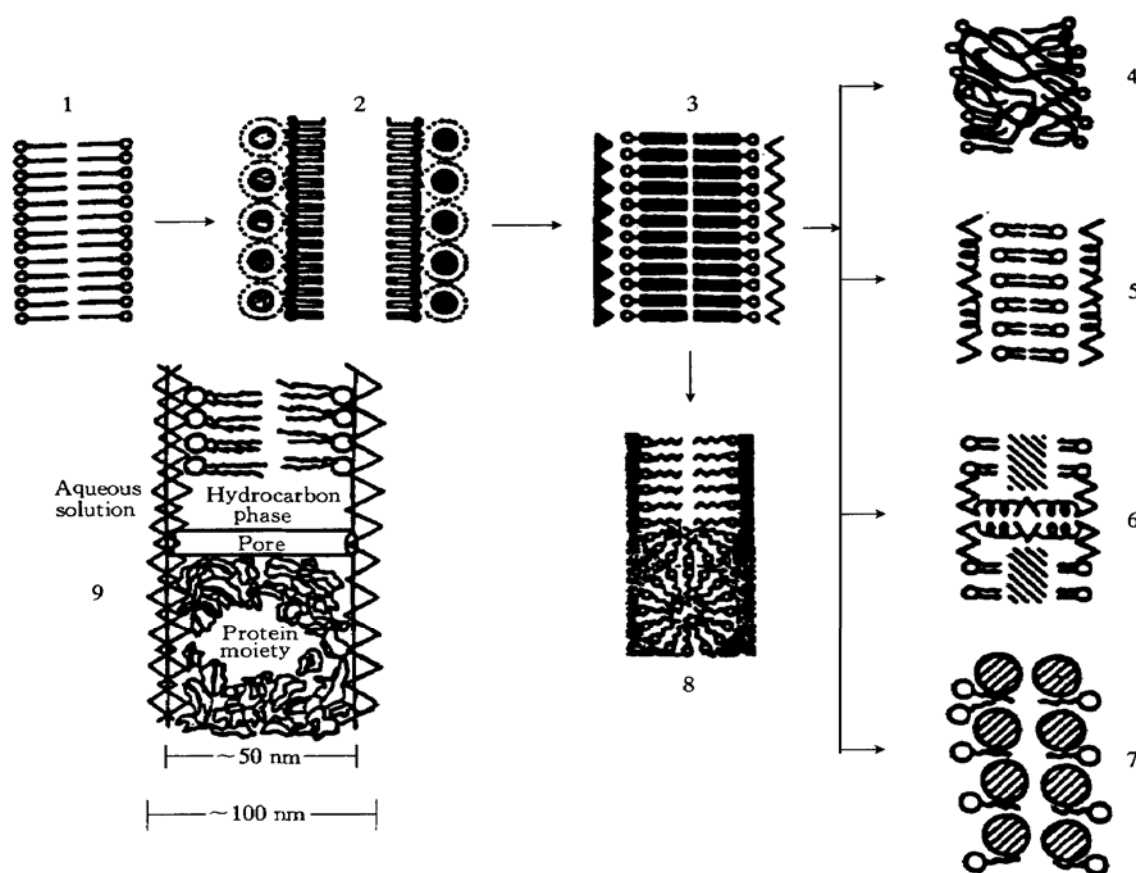


Fig. 3 Evolution of models of biomembranes^[7]

图 3 生物膜模型的发展^[7]

因为膜的功能和结构是同一类脂双层的‘两肋’，从当前的工作看来生物膜大体的亚显微结构是：类脂以双层结构的形式为蛋白质和其他组分提供骨架，这些组分在类脂双层中是可变的。膜类脂双层事实上是可流动的而且与橄榄油有一致性（粘度约 $1 \text{ mPa} \cdot \text{s}$ ）。这样，类脂、蛋白质和其他组分被观察到在类脂双层范围内能够自由的伸展，在那个功能实体内，诸如受体、离子通道、色素、酶等都可被嵌入。在分子水平上，类脂和蛋白质均展示了不对称性；而细胞内部的结构也不同于外部。这是为解释膜两侧物质主动运输而必须如此。膜内酶或免疫遗传素的能动位置被发现仅在类脂双层的一侧。最后，这个动态的、流动的、不对称的类脂双层结构也能让我们洞察膜体系内各种形式的能量转化及细胞间和细胞内溶质的交换，信息和信号转化等机理^[6, 7]（图 3）。

3 使用 BLMs（平面类脂双层）的膜重组

将膜磷脂与蛋白质和其他膜组分分开的最奇特性是它的两亲性或双重的水-油溶解性。它们是界面活性的并且能够在两个完全不互溶的油-水世界里架起一座桥梁。一个突出的现实例子是卵磷脂（或 lecithin，蛋黄的主要成分之一），它像在蛋黄酱中那样能使油水乳液稳定。由于两性性质的缘故，磷脂分子的两个区域在油和水中有相反的溶解性（图 1）。因此，卵磷脂分子易于同时以双层的形式自组装。对于其他膜组分、蛋白质和碳酸盐来说，类脂双层可以被认为是一个‘二维的溶剂’。这些主要的分子和其他膜组分被镶嵌在流动的类脂双层内，利用非共价键力-疏水的相互作用结合在一起。

关于膜的流动性，带有羟环结构的胆固醇起到了一个突出的作用，它的极性羟基位置仅紧挨着磷酸基端。刚性环与毗邻磷酸基端脂肪酸链的区域相互作用。这种相互作用降低了脂肪酸外层部分的流动性，使得膜的这一区域即使在更高的温度下也很坚硬。另一方面，胆固醇的插入干扰了脂肪酸之间的相互作用，因此在低温时维持了流动性。由于胆固醇拥有较小的亲水极性基，使得它能够从类脂双层的一侧后滚翻到另一侧。胆固醇的一个重要影响是对膜的流动性；它增加了磷脂的填充密度。例如，髓磷脂不仅在胆固醇中含量高而且在饱和脂肪酸中的含量也是高的，而线粒体和细菌很少或不含胆固醇，但是在不饱和脂肪酸中的含量是高的。胆

固醇也是血液中脂蛋白复合物的组成成分并且它也是动脉硬化症中动脉壁形成薄板的组成之一。在适中的温度下（ $\sim 100^\circ\text{C}$ ），胆固醇易于在空气中氧化；被称为氧化胆固醇的终产物已在许多 BLMs 的研究中应用^[6, 7]。

许多蛋白质像磷脂一样是亲油亲水性：它们的疏水部分与内部即类脂的疏水部分有一个紧密接触的区域。穿膜区域包括像在 RBC 中的 α 螺旋，其他许多类脂双层结构的受体包括血小板生长基因的受体、胰岛素、生长激素等。蛋白质部分的插入类脂双层，极性区域与类脂的极性端相互作用并且与细胞内的流体相互作用。就这族受体而言，聚肽链可以穿膜多次（通常 7 次）。蛋白质可以让一个穿膜通道穿过它或者担当离子泵的角色。例如，*H. halobium* 的细菌视网膜色素（bR）形成了一个像水晶一样的排列，包含镶嵌在类脂双层中的 7-螺旋柱状体^[6, 7]。

由于生物膜的多样性，研究者们使用了不同的技术和模型以便于探索诸如离子积累或主动运输、神经脉冲的导电性、能量的转化、蛋白质的合成、离子和分子的渗透障碍、免疫反应、噬菌作用和胞饮作用等物理和化学条件下基本的生命过程。好的生物膜模型应当拥有一个蛋白质、碳酸盐及其复合物相互作用的普遍存在的类脂双层结构。时至今日，两个最广泛使用的模型膜是类脂双层和球形脂质体构型。自从平面 BLMs 和球形脂质体从普通两亲类脂和相关化合物衍生以来，它们两类是相互补充的^[6, 7]。二者均是广泛用作研究各种物理、化学和生物现象的极好的模型膜体系。在这些膜中，已经镶嵌了许多实体：a. 聚肽和通道蛋白；b. 色素，电子受体，给体和包括诸如 TPP，PLC，TCNQ，TTF 及球烯（即 C_{60} ）等的许多高度不稳定化合物的中间体；c. 氧化蛋白质和金属蛋白质（如细胞色素 c，硫氧还蛋白）；d. 参与配体-受体对相互作用的化合物。这样，自从 BLMs 诞生以来的 40 年中，它与脂质体一道被广泛用作生物膜模型^[6, 7]。特别地，BLMs 已经被用作解释生物膜功能的分子历程，诸如离子传感^[8]，物质输送^[9]，稳定性^[10]，选通通道^[11]，信号转化^[12]，动力学^[13]及生物传感器^[14]等等。在本文中，我们简略地关注一些实验 BLMs 研究最重要的部分。在此之前，将作一些与皂泡紧密联系的回顾，正如已经间接提到的，在 1960 年它为 BLMs 的形成提供了必要的洞察。许多研究者已经对超薄流动膜开展了突出的研究，从

稳定性, 泡沫的渗透性, 乳状液和平面类脂双层的理论和实际的研究, 到 BLMs 断裂的过程. 例如, Exerowa 等^[9]已经识别了在稳定的 BLMs 和液膜中引起局部变化的干扰因素. 其中的一些研究者已经公布了探测 BLMs 断裂可能起源的问题并且指出了对脂质体-脂质体, 脂质体-病毒或病毒-细胞融化研究领域所使用方法的关系^[6, 7]. 顺着这条主线, 在细胞膜中被称为 electroporation 的现象也应涉及^[15]. 此现象发生在膜紧密接触处电脉冲达到 10^6 V/cm, 持续时间在 μ s 和 ms 之间. 实际应用之一是为瞬间基因表达的细胞转变感染. 其他应用包括药物的缓释胶囊和细胞中蛋白质的插入. 这可能是膜蛋白通过改变它的机械性质而影响了类脂双层的 electroporation. 有关平面类脂双层和脂质体自组装研究的综述可参阅文献^[6, 7].

3.1 作为原生质膜模型的 BLMs

3.1.1 红血球: 红血细胞 (RBC) 原生质膜是一个从结构和功能方面论证生物膜复合物的极好例子. 在 RBCs 中, 原生质膜蛋白与类脂的比率大约是 1. 有两种主要的结构蛋白: 血型糖蛋白和阴离子通道蛋白. 前者拥有单一的穿类脂双层单元并且与细胞的识别有关, 而后的通道蛋白至少横越类脂双层 6 倍. 并且参与了 CO_2 /重碳酸盐和 Cl^- 的传送.

3.1.2 用于嗅觉系统的修饰 BLMs: 气味引起人们强烈的思维和感情. 据说每个人能够分辨一万种不同的气味, 但描述一个人没有经历过的气味几乎是不可能的. 显然气味接收器极其类似于包括与 G-蛋白相连的七束膜接受器的视网膜色素 (见后). 一旦气味激发, 很可能在气味接收器中会发生某些构象变化, 引发生物化学激流, 导致在脑中电信号的产生. 为了发掘在膜水平上嗅觉系统是如何起作用的, 例如, 三个结构相关的有味物质在包含牛蛙嗅觉感受器的 BLM 上被测试. 许多观察显示这些有气味物质共同之处是亚结构的存在^[6, 7].

3.1.3 在 BLMs 中 Porins 的活性: 因为选择性和活化能二者均低, 糖分子的穿膜扩散通过含水狭缝发生. 这些狭缝或通道是由被称为 porin 的矩阵蛋白构成, 它已经在 BLM 中被重组^[6, 7]. 电子衍射表明重组形成高度连贯的水晶式排列. 早先报道了^[8]离子扩散势和 BLMs 两端电整流被 EIM (激发-诱导-分子, 一种通道形成蛋白, 见后) 活化. 在这方面, 来自大肠杆菌的通道形成蛋白已列入 BLMs 中且被广泛的研究^[6, 7].

3.2 BLM 作为线粒体膜模型

一般来说线粒体膜被分为两类——外层膜和内层膜 (嵴). 后者包含所有的细胞色素和其他酶. Green 及其合作者已经获得了四个蛋白质片段, 而 Pullman 等及 Racker 已经分离了所谓的 F-片段, 即一种对寡霉素敏感的 ATP 酶, 并且指出它是一个直径为 8.5 nm 的球体.

3.3 BLM 作为神经膜模型

今天, 在精液、细菌和高等植物的原生质膜, 骨骼肌肉的肌质网 (SR), 鼠大脑皮层的突触小泡膜, 鱼皮肤粘液等当中均发现了离子通道. 作为攻击的武器, 生物体释放的许多毒素是以聚肽为基础的离子通道形成物, 诸如皮肤坏死毒素, 溶血素, brevetoxin 及蜜蜂毒液^[6, 7]. 其中最有趣的是, Pasternak 及其同事们建议, 为了解决在平面类脂双层和未受损细胞间的差异 (这也是今天许多实验室中的情况), 未受损细胞应当同时被研究. Koo, Bayer, Yeaman 及其同事们^[16]报道了使用 BLMs 作为人工细菌膜的模型, 诱导纤维蛋白的血小板和杀微生物蛋白质 (tPMP-1) 之间的相互作用. tPMP-1 是一个小的阳离子肽并且具有抗许多细菌和真菌病原 (包括 *Staphylococcus aureus*) 的有效杀微生物活性. 与此项研究相关是, Piller 及其同事们报道了来自人体免疫缺陷病毒 1 号附属蛋白质 (Vpr) 在 BLMs 中形成了阳离子选择性通道, 能够通过引发内部的钠流使未受损的人工培养的神经细胞去极化, 导致细胞的死亡. 自从 Vpr 在 AIDS 病人的精液和脑脊髓液中被发现以来, 这些由 Piller 等获得的结果对 AIDS 病理学具有重要的意义.

3.4 BLM 作为光敏膜模型

1968 年发现在填加色素双层类脂膜 (p-BLMs) 中的光电效应, 紧接着被用来阐明光合作用的机理, 尤其是基本的量子转化步骤, 其中光诱导电荷分为电子和空穴导致 BLM 反侧的氧化还原反应. 这主要是因为超薄类脂双层 (~ 5 nm) 能够承受超过 250 kV/cm 的电场强度. 此外, 类脂双层的介电性质 (未修饰 BLM 的典型电阻是大于 $10^8 \Omega \cdot \text{cm}^2$) 阻止了热力学有利的逆反应 (即电子和空穴的再结合), 否则在自然界光合作用中氧气和含碳化合物的产生将是不可能的. 这样, 过去几十年来以填加色素的 BLM 研究为基础, 许多研究者正在尝试一些实际的应用, 如模拟自然界光合作用膜利用太阳能, 这已被许多出版物所证实^[6, 7].

例如, Bi 及其同事们^[17]报道了一种分解水的光电化学电池.

Wray 及其合作者研究了 HIV-1 特殊的附属蛋白膜范围 (V_{pu}MA) 的结构. 这结构是与前面为 V_{pu}NMA 定义的 BLMs 中离子传导膜狭缝的形成不一致的. 三个选择性标记肽的线宽和化学漂移数据是与螺旋聚肽的穿膜排列相一致的.

光合成的色素是非常易发生变化, 并不适合长期研究和实际应用. 一种方法是将填充色素的 BLMs 用诸如 CdS, CdSe, Fe₂O₃ 及 CuInS₂ 等无机半导体取代. 这样, 一类新型的光电化学电池, 名为 SC-SEP (代表半导体隔膜光电化学电池) 的电池被发展. 因为它产生光电效应及电化学效应, SC-SEP 电池能够将水分解成氢气和氧气. SC-SEP 电池的发展是以含色素 BLMs 的工作中获得的经验及从我们了解的大自然设计的绿色植物光合作用机理为基础^[9].

4 支撑 BLMs 作为器件和传感器

就实际应用而言, 传统的体系有一个主要的缺陷, 那就是它的不稳定性, 很少能够持续 8 小时以上. 从而做了许多努力来稳定这个作为基础研究和实际应用的极其精细的类脂双层^[14]. 如今在金属和盐桥支撑物 (分别被称为 *s*-BLMs 和 *sb*-BLMs) 上形成高度稳定的 BLMs 是切实可行的. 值得指出的是, 在所有其他体系中令人感兴趣的化合物是被固定在刚性的类似固体的结构中 (如聚合物), 而在 BLM 中是被镶嵌的. 镶嵌意味着双层类脂膜中感兴趣的物质 (即膜修饰物诸如聚肽, 蛋白质, 电子受体, 供体, 组织或整个细胞) 是相对自由的顺应它的周围环境. 类脂双层的功能是借助特定的修饰物调节, 假定它们的活性构型仅仅存在于疏水类脂环境. 此外, 类脂双层的存在极大地减少了背景噪声 (界面) 和有效地排除了亲水活性化合物到达探测表面, 因而引发了预想不到的反应. 从专一性、选择性和设计的观点来看, 支撑平面类脂双层是一个镶嵌许多感兴趣物质的理想自然环境. 因而, *s*-BLMs 体系为生物传感器的发展提供了一个广泛的机会. 迄今, *s*-BLMs 已经在金属导线 (即不锈钢), 导电 SnO₂ 玻璃, 凝胶底物及微芯片等上形成^[14]. 例如, Umezawa 及其同事^[14]报道了在含离子通道接受器的生物膜拟态选通中, 修饰探针的化学传感. 已讨论此种化学选通传感器的多功能性和一般性质, 并且提供了 Buhlmann 等最新研究

的明确例子. 与早先描述的嗅觉紧密联系的是味觉. Hayashi, Yama, Uji, Toko, Ozaki 及 Yoshida 已经报道了包含一个单孔的硅夹层上形成的 BLM 中含苦味化学物、苦味酸的效应^[6, 7].

4.1 在 BLMs 上的氧化还原反应

在没有光照的情况下, 引用了电子隧道理论. 例如, Yamada 及其同事们^[18]使用交流的电化学阻抗显微镜 (EIS) 报道了在被 TCNQ 饱和的 BLMs 中, Co (phen)₃^(2+ / 3+) 及 Fe (CN)₆^(4- / 3-) 的异相电子转移速率常数. Winter, Gala 及其同事们和 Asaka 等也已经报道了支撑类脂双层的相关研究. 当涂有 Zr 酞青的 *s*-BLM 被光激发时, 在作用光谱紧密的与光吸收器的吸收光谱平行的情况下, 记录了电压和电流. 这样, 含有色素的 *s*-BLMs 能够起像光传感器或光子激发的开关或探测器的功能^[6, 7].

4.2 Apoptosis 和 *s*-BLMs

至少有三种方法可探测 apoptosis (次序细胞死亡)^[6, 7]; 其中之一是 DNA laddering. 关于此, 已经报道了以分析含 MCF-7 核酸 *s*-BLMs apoptosis 的光电化学为基础的新方法. *s*-BLMs 电池对白光 (200 ~ 800 nm) 有响应. 在 apoptosis 被 Taxol (paclitaxel, 一种抗癌药物) 诱导时, 电池的光电流下降, 表明核酸 DNA 的退化. 沿 DNA 双螺旋和核酸骨架的电子转移在解释时被采用. 对此, 我们应当关注光动力学治疗 (PDT), 一种对某些癌症非常有效的治疗方法. PDT 解决了瘤-局部化感光剂的管理, 而它随后被光活化. 这种治疗方法导致一系列对瘤组织不可逆光损坏的生物化学过程, 即一种 apoptosis. 这样, 如果将与 *s*-BLM 有关的 apoptotic 体系新的光电分析方法和 PDT 结合, 那么一种估价自由细胞核 apoptosis 的迅速且敏感的方法可能被发展. 这种新方法一旦成功, 对判断通常在 PDT 中使用的感光剂功效亦是有用的. 为了达到这个目的, Rokiskaya 及其同事们^[13]已经报道了在 BLM 电性质中酞青的效应——一种强有力的光动力学感光剂^[6, 7].

最后, 应当涉及一组最奇特的化合物, 即富勒烯, 它是物质科学中最感兴趣的. 例如, 富勒烯 C₆₀ 是一个极好的电子中间体, 行为像 *ir*-型半导体. 它也是很强的疏水剂. 因而, 对于这类化合物, BLM 是一个理想的环境^[6, 7]. 我们已经研究了含 C₆₀ *s*-BLM 两端的电子转移, 它能起到电子运输载体和感光剂的双重作用. Tsionsky 等及其他的研究

者们^[12]研究了涂有分子碘或富勒烯 C₆₀ 的 BLM 的电荷转移。人们期望富勒烯能够在未来光动力学治疗和器件发展中起重要的作用。

5 总结与展望

传统 BLMs (平面类脂双层) 和后来的 *s*-BLMs 及 *sb*-BLMs 的发展已经使第一次直接研究分割两相的 5 nm 超薄膜, 尤其是作为生物膜模型的电性质和传输现象成为可能。经过 40 多年的广泛研究, 现在生物膜已经被认为是自然界传感器和分子器件的基本结构。为了解 BLMs 中的相关功能, 各种化合物诸如离子泵, 酶, 受体, 色素, 组织等已经被镶嵌^[6, 7]。其中的一些化合物使得 BLMs 展示了非线性现象和光电效应。自组装类脂双层——所有膜中最重要的成分, 是处于液晶和动力学态。以自组装类脂双层、蛋白质、碳酸盐以及它们的复合物为基础的一个功能细胞膜体系, 应当从电子和分子的角度加以考虑; 它能够支持离子和/或电子传输, 并且是细胞作用的区域, 因为它对能量转化或信号的传递起一个‘器件’的作用。正如凭我们的直觉了解的那样, 这样的体系必须起某种传感器的作用, 能够收集、处理信息并且以此信息为基础传递感应。今天, 由于许多学科和技术包括界面化学、电化学、patch-clamp 技术、光谱学、微电子学等的应用, 平面类脂双层研究已经成为了一个成熟的领域^[19, 20]。例如, 在膜重组实验中, 细胞内信号的传递是从膜接受器开始的。在本文中涉及的研究领域包含了多个学科的高度交叉。而重点被放在基础研究。过去的工作已经得益于各个科学分支思想的融合。生物拟态法对实际的应用是独特的并且展示了激动人心的发展前景。我们能够收集自然界成功产物的设计原理并且将它们应用到我们的研究和发展中, 这也许是分子药物学和高等生物传感器最终可依赖的方法。

参 考 文 献

- Hooke R. Royal Society Meeting. In: Birch T ed. The History of the Royal Society of London. London: A Miller, 1672. 1757~1758
- Newton I. Opticks Reprinted Edition, New York: Dover, 1952. 215~232
- Gorter E F, Grendel J. Expt Med, 1925, **41** (2): 439~444
- Boys C V. Soap Bubbles: Their Colours and the Forces which Mould Them. New York: Dover, 1959. 1~10
- Bangham A D. Surrogate cells or Trojan horses. BioEssays, 1995, **17** (3): 1081~1088
- Tien H T, Ottova A L. Membrane Biophysics: As Viewed From Experimental Bilayer Lipid Membranes (Planar Lipid Bilayers and Spherical Iposomes). Elsevier, Amsterdam and New York: Elsevier, 2000. 1~648
- Tien H T, Ottova A L. From self-assembled bilayer lipid membranes (BLMs) to supported BLMs on metal and hydrogel substrates to practical applications. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 1999, **149** (1~3): 217~233
- Wallace D A, Recent advances in the high resolution structures of bacterial channels: gramicidin A. J Structural Biol, 1998, **121** (1): 123~141
- Exerowa D, Kruglyakov P M. Foam and Foam Films. Amsterdam: Elsevier, 1998. 1~10
- Czajkowsky D M, Iwamoto H, Cover T L, *et al.* The vacuolating toxin from *Helicobacter pylori* forms hexameric pores in lipid bilayers at low pH. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, **96** (4): 2001~2006
- Prenner E J, Lewis R N, Kondejewski L H, *et al.* Differential scanning calorimetric study of the effect of the antimicrobial peptide gramicidin S on the thermotropic phase behavior of phosphatidylcholine, phosphatidylethanolamine and phosphatidylglycerol lipid bilayer membranes. Biochim Biophys Acta, 1999, **1417** (1): 211~223
- Mejia-Alvarez R, Kettlun C, Rios E, *et al.* Unitary Ca²⁺ current through cardiac ryanodine receptor channels under quasi-physiological ionic conditions. J Gen Physiol, 1999, **113** (2): 177~186
- Rokitskaya T I, Block M, Antonenko Y U, *et al.* Photosensitizer binding to lipid bilayers as a precondition for the photoinactivation of membrane channels. Biophys J, 2000, **78** (5): 2572~2580
- Umezawa Y, Kihara S, Suzuki K, *et al.* Molecular recognition at liquid-liquid interfaces: fundamentals and analytical applications. Special Issue of Analytical Sciences, 1998, **14** (1): 1~245
- Tsong T Y. Electroporation of Cell. Membranes Biophys J, 1991, **60** (2): 297~306
- Koo S P, Bayer A S, Kagan B L, *et al.* Membrane permeabilization by thrombin-induced platelet microbicidal protein 1 is modulated by transmembrane voltage polarity and magnitude. Infect Immun, 1999, **67** (5): 2475~2481
- Bi Z C, Qian Y Y, Zhao X L, *et al.* Photosensitization systems of covalently linked phthalocyanine complexes in both BLMs and tin oxide photo voltaic cell. Photochem Photobiol, 1994, **59** (1): 111~115
- Yamada H, Shiku H, Matsue T, *et al.* Electron transfer at a planar bilayer-lipid membrane incorporated with 7, 7, 8, 8-tetracyanoquinodimethane studied by ac-impedance spectroscopy. Journal of Physical Chem, 1993, **97** (38): 9547~9549
- Klemic K G, Buck E, Klemic J F, *et al.* Quartz “microchip” partitions for improved planar lipid bilayer recording of single channel currents. Biophys J, 2000, **78** (3): 1575
- Seitz M, Ter-Ovansyan E, Hausch M, *et al.* Formation of tethered supported bilayers by vesicle fusion onto lipopolymer monolayers. Langmuir, 2000, **16** (14): 6067~6070

The Lipid Bilayer Concept and Its Experimental Realization

BI Zhi-Chu^{*}

(*Colloid & Interface Laboratory, Molecular Science Center, Institute of Chemistry,
The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China*)

H. T. TIEN, A. L. OTTOVA

(*Membrane Biophysics Laboratory (Giltner Hall), Department of Physiology, Michigan State
University, East Lansing, Michigan, 48824, USA*)

Abstract The development of conventional BLMs (planar lipid bilayers) and later π -BLMs and sb-BLMs, have made it possible for the first time to study, directly, electrical properties and transport phenomena across a 5 nm ultrathin film separating two phases, in particular as models of biomembranes. As a result of extensive studies over the past 4 decades, biomembranes have now been recognized as the basic structure of Nature's sensors and molecular devices. To impart relevant functions in BLMs, a variety of compounds such as ionophores, enzymes, receptors, pigments, tissues, etc. have been embedded. Some of these incorporated compounds cause the BLMs to exhibit non-linear phenomena and photoelectric effects. The self-assembled lipid bilayer, the most crucial component of all biomembranes, is in a liquid-crystalline and dynamic state. Such a system, as we know intuitively, must act as some sort of a transducer capable of gathering information, processing it, and then delivering a response based on this information. Today, planar lipid bilayer research is a matured field of endeavor, as a result of applications of many disciplines and techniques including interfacial chemistry, electrochemistry, patch-clamp techniques, spectroscopy, microelectronics, and others. In membrane reconstitution experiments, for example, the evidence is that intracellular signal transduction begins at membrane receptors. The research area covered in this paper is highly interdisciplinary. Emphasis has been placed on basic research. The past work has been benefited by a cross-fertilization of ideas among various branches of sciences. The biomimetic approach to practical applications is unique and full of exciting possibilities. We can glean the design principles from Nature's successful products and apply them to our research and development from which molecular medicine and advanced biosensors may ultimately depend.

Key words bimolecular lipid membranes, biosensors, self-assembly, interfacial phenomena, reconstitution

^{*} Corresponding author. Tel: 86-10-64857458, E-mail: ottova@pilot.msu.edu, tien@msu.edu, zchi@ipc.ac.cn

Received: November 20, 2000 Accepted: February 20, 2001