

生物膜研究在生物物理研究所的兴起与发展

杨福愉*

(中国科学院生物物理研究所, 北京 100101)

摘要 生物膜研究是现代生物学研究的前沿方向之一, 本文对文革结束以后生物膜研究在中国科学院生物物理研究所(下称生物物理所)的兴起与发展进行了系统回顾. 文革结束后, 中国科学院领导了解到国外生物膜研究迅速发展的情况, 迅即派遣以生物物理所杨福愉为组长, 包括生物化学研究所、动物研究所、植物研究所、上海实验生物研究所等六人的代表团前往联邦德国进行考察. 考察结束后院领导根据多学科交叉对生物膜研究的重要作用, 组织了生物物理所、植物所、中国医学科学院、北京医科大学等单位联合申报国家自然科学基金委员会重大项目“膜脂-膜蛋白的相互作用及其在医学和农业上的应用”, 并获得立项. 与此同时, 院领导建议由中国生物物理学会、中国生物化学会和中国细胞生物学会共同组织生物膜学术讨论会. 首次会议于1979年3月在北京友谊宾馆举行, 以后每3年召开1次, 从未中断, 有力地促进了生物膜研究的交流与发展. 2003年举行的第200届香山会议专门组织讨论21世纪生物膜研究在中国的布局, 进一步推动了生物膜研究的发展. 本文还重点阐述了中国科学院生物物理研究所在生物膜研究方面所取得的代表性成果: a. 金属离子通过膜脂-膜蛋白相互作用调控生物膜能量转换、物质运输及信号转导的分子机制; b. 提出“克山病是一种心肌线粒体病”的重要观点; c. 发现溶酶体内含有为量甚微、一般认为是消化酶的胰凝乳蛋白酶, 并阐明了它通过溶酶体膜外泄后参与细胞凋亡的作用机制; d. 确定了通过调控线粒体动态变化而干预肿瘤细胞迁移侵袭的新靶标. 最后, 特别值得一提的是, 2004年, 常文瑞与植物研究所匡廷云等在《自然》(*Nature*)发表了《菠菜中主要捕光色素复合体2.72 Å分辨率的晶体结构分析》的研究论文, 2005年饶子和与徐建兴等在《细胞》(*Cell*)发表了《猪心线粒体呼吸链复合体II的晶体结构》的研究论文, 充分标志着我国生物膜研究已在国际上占据一席之地. 2004年, 徐涛研究员因其在囊泡转运方面的丰厚学术积淀, 作为首席科学家组织一批生物膜专家承担了国内首个生物膜973项目, 这标志着国内生物膜研究开始进入一个新的发展时期.

关键词 生物膜, 多学科交叉, 多单位协作

学科分类号 Q73

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2014.00276

生物膜包括细胞外周的质膜以及胞内的膜系(在真核细胞尤为丰富, 包括核膜、线粒体、高尔基体、溶酶体、内质网膜等, 在植物细胞还有叶绿体等). 我国科学家在生物膜与神经传导、能量转换等方面曾做过不少工作, 但对生物膜本身的基础研究开展比较晚. 在1956年制订的《我国科技发展的12年规划》中也提及这方面的内容, 但当时称之为“片层结构”.

1 爱国主义是推动、发展我国生物膜研究的巨大动力

“文革”十年中原来的科研工作基本停止. 在此期间曾有少数科学家有机会出访, 当他们回国向有关领导汇报时, 常常带回国外生物膜研究

十分活跃的信息, 有的还形象地说“到处是生物膜”. 因此, “文革”结束后不久中国科学院生物学部领导迅速批准组成一个生物膜考察小组于1978年5月赴西德进行短期调研. 该小组由中国科学院生物物理研究所杨福愉任组长, 组员包括林其谁(中国科学院上海生物化学研究所)、刘树森(中国科学院动物研究所)、顾国彦(中国科学院上海实验生物研究所)、林世清(中国科学院植物研究所)以及生物物理研究所王玉英翻译.

* 通讯联系人.

Tel: 010-64889871, E-mail: yangfy@sun5.ibp.ac.cn

收稿日期: 2014-09-30, 接受日期: 2014-10-08

这个决定下达后, 一则大家感到十分兴奋, 二则又深感任务异常艰巨, 因为在十年动乱中, 相关的工作都已中断, 如今要出国考察, 必然要进行成果交流. 小组成员为此专门研究过多次, 并勉强凑出一篇《中国生物膜研究的概况》. 虽然大家对这种言之无物的稿件很不满意, 但它的确反映实际情况, 也只能见机行事了.

考察小组到达西德慕尼黑(马普学会总部所在的城市)以后, 从接机开始到参观每一个单位的过程都受到超规格接待, 这使刚从“文革”噩梦中醒来的我们感慨不已. 但是, 另一方面令人难堪的是, 每到一参观单位, 主人们除热情向我们介绍研究成果外, 有的还专门组织报告会, 由他们的研究人员或进修外宾作报告. 当问及中方是否做学术报告时, 我们都显得特别尴尬. 出国前准备的那份介绍中国生物膜研究概况的稿子, 原本还想拿出来宣读一下, 但参观西德方面安排的几个研究所之后, 实在感到差距太大, 难以出手. 这样, 我们这个考察小组不是与同行交流, 实际上是一次单向学习. 当时的那种羞愧与懊恼, 终生挥之不去. 我想考察小组成员除了在业务上有较大收获外, 在这方面也是刻骨铭心的. 这也是小组成员回国后积极推动国内生物膜研究的主要动力. 回国后部分团员先后去国外实验室进修, 以便补偿“文革”十年业务上的荒废, 以利再战. 部分年龄偏大的(包括本人在内)则选择留在国内, 在比较困难的条件下, 为今后国内生物膜研究的发展做些铺路石子的工作. 与此同时, 积极参与国内外举行的有关生物膜的专业会议或邀请国外生物膜研究方面著名专家来华讲学以提高业务水平.

2 组织全国三大学会举办全国生物膜定期讨论会

赴西德考察生物膜研究小组回国后, 花了一定时间将总结做好, 以便向中国科学院领导汇报, 记得当时院副秘书长秦力生、生物局局长过兴先同志以及外事局、生物局等有关同志都参加了汇报会. 由于考察汇报内容比较丰富而且举例比较具体细致, 到会人士都很满意. 秦力生、过兴先等同志都主张应尽快落实措施推动生物膜研究. 除经费方面给予一定支持外, 生物局领导根据多学科交叉研究生物膜的特点, 建议由中国生物物理学会、中国生物化学学会与中国细胞生物学学会共同定期联合组织生物膜学术交流会以促进生物膜研究在我国尽快发

展. 本人当时兼任上述三个学会的理事, 因此, 与中国生物化学学会林其谁同志, 中国细胞生物学顾国彦先生商讨后, 这一建议很快付诸实现. 1979年3月, 第一次生物膜结构与功能学术讨论会在北京友谊宾馆隆重召开, 而且协商决定以后每三年召开一次, 由三个学会轮流主持, 从未中断(表1). 今年将迎来第十三次会议. 由于会议的宗旨一开始就明确“办会民主, 参加单位不分大小, 鼓励各种形式的交流, 尽量听取各种不同意见, 力求完美”, 参会代表普遍感到参加生物膜学术会议除学术上得益外, 心情也感到很舒畅. 因此参会人数不断增加. 第一次会议只有100余人, 2012年的第12次会议已增加至230人. 根据形势的发展, 为加强与国际同行的交流, 决定从2009年第十次会议开始名称改为“第一次国际暨第十次全国膜生物学研讨会”, 会议语言改为英语, 在海外学习或工作以及外籍生物膜专家来参会的人数也逐步增加. 有一点需要说明, 由于各学会的改造和内部调整, 经协商并同意从2003年以后全国生物膜学术会议改由中国生物物理学会单独主持. 但每次会议仍有很多从事生物膜研究的中国生物化学学会和中国细胞生物学会的会员前来参加. 此外, 1984年, 在国际生物化学学会、国际生物物理学会生物能力学小组和中国科学院的支持下, 在北京还组织了一次国际生物膜与生物能力学学术讨论会, 这些活动都对推动我国生物膜研究起了很好的作用.

3 为贯彻多学科交叉发展生物膜研究组织力量向自然科学基金会申请首批重大项目

1987年原来附属于中国科学院的国家自然科学基金会开始独立运行, 除面上和重点项目外, 还设有重大项目. 它的立项要求比较高, 我们认为, 为了发展生物膜研究, 组织并申请重大项目还是具备条件的. 为此由生物物理研究所发起并积极与清华大学生物系, 中国科学院植物研究所, 中国医学科学院基础医学研究所, 北京医科大学生物物理系联系. 经过反复酝酿与讨论, 决定申请重大项目“膜脂-膜蛋白相互作用及其在医学和农业上的应用”. 主持人为杨福愉、黄芬(生物物理研究所), 项目分别从线粒体膜、支原体膜、叶绿体膜、红细胞膜及人工膜对膜脂-膜蛋白的相互作用进行研究, 并联系农业、医学实际, 探索植物抗冷性和细胞衰老的分子机理. 具体课题包括: 二价金属离子与膜脂-膜蛋白相互作用(杨福愉主持)、支原体膜

表 1 历次全国生物膜学术研讨会记事 (1979 年~2012 年)

序号	会议名称	时间	地点	简况	综述 / 特邀报告
1	第一届生物膜的结构与功能学术讨论会	1979.3	北京	报告 28 篇(汇编成专集, 发表在由科学出版社主办的《生物科学参考资料》(第 13 集)专刊上	综述和研究报告
2	第二届生物膜的结构与功能学术讨论会	1982.10	北京	会议摘要 5 专题, 127 篇	
3	第三届生物膜学术讨论会	1985.10	四川 成都	会议摘要 8 专题, 159 篇	
4	第四届生物膜学术讨论会	1990.5	江苏 苏州	会议摘要 10 专题, 219 篇, 代表 141 人	综述报告 4
5	第五届全国生物膜学术讨论会	1993.4	海南 海口	会议摘要 11 专题, 302 篇	综述报告 6
6	第六届全国生物膜学术讨论会	1996.8	吉林 延吉	会议摘要 21 专题, 183 篇	综述报告 12 (含 1 日本科学家)
7	1997 中国青年学者《生物膜研究的前沿》学术研讨会	1997.12	北京	会议摘要 5 专题, 81 篇, 代表近 100 人(含美国、加拿大、德国、瑞士和香港地区等华人青年学者)	
8	第七届全国生物膜学术讨论会	1999.11	云南 昆明	论文摘要 12 类, 138 篇	综述报告 10
9	第八届全国暨 2003 海内外生物膜学术研讨会	2003.3	广西 北海	9 主题, 2 专题, 论文摘要 110 篇, 代表 161 位. 研究生(15 人)工作交流和评比, 科学墙报展	特邀报告 8
10	生物膜与重大疾病学术研讨会	2004.12	海南 三亚	会议摘要 7 专题, 46 篇	邀请报告 30
11	第九届全国暨 2007 海内外生物膜学术研讨会	2007.10	湖北 宜昌	会议摘要 9 专题, 95 篇. 代表 170 人. 研究生(13 人)工作交流和评比.《生物化学与生物物理进展》出版专刊	邀请报告 34 (其中, 海外华人 8, 匈牙利 1),
12	第一届国际暨第十届全国膜生物学研讨会	2009.7	广西 桂林	4 专题, 会议摘要 101 篇, 代表 192 人. 报告 37 人. 8 个国家 19 名外国代表. 研究生(10 人)工作交流和评比	特邀报告 2
13	第二届国际暨第十一届全国膜生物学研讨会	2010.11	浙江 宁波	4 专题, 会议摘要 103 篇, 代表 197 人(9 个国家). 研究生(9 人)工作交流和评比. 科学墙报展. 科普报告(2 人)	特邀报告 2, 邀请报告 44(其中, 国外 10 人中教授 6 人; 海外华人 8 人中, 教授 6 人, 副教授 4 人).
14	第三届国际暨第十二届全国膜生物学研讨会	2012.11	广东 珠海	7 专题, 会议摘要 109 篇, 代表 230 人(6 个国家和香港地区), 研究生(9 人)工作交流和评比	特邀报告 2, 邀请报告 56 个

蛋白及膜脂性质的研究(黄芬主持)、捕光色素蛋白在叶绿体类囊体膜上的横向迁移与膜脂关系(匡廷云主持), 膜蛋白对脂多型性的影响及其生物学意义(林克椿主持), 老化红细胞膜脂、膜蛋白的变化及抗衰老药物的作用机制(潘华珍、赵南明、黄芬主持), 膜脂 - 膜蛋白的相互关系与植物抗寒性的研究(简令成、匡廷云、杨福愉主持), 研究膜脂与膜蛋白相互作用的近代生物物理方法(赵南明主持). 先后参加项目共达 40 余人.

由于选题比较明确, 加之参加单位原有基础各具特色, 因此, 在工作中既能发挥各自优势又分工协作, 取长补短. 立项任务的完成比较顺利, 也取得了丰硕成果. 5 年来共发表论文 119 篇, 其中国际刊物 37 篇, 《中国科学》3 篇, 《科学通报》14 篇, 其他学报类期刊 65 篇. 超过预定目标. 同时还培养了一批青年科技人才.

上述重大项目“膜脂 - 膜蛋白相互作用及其在医学和农业上的应用”的详细内容已由山东科学技术出版社在 1996 年出版. 后来, 基金会因故暂时中止第二批重大项目的组织, 但通过几年协作、了解与磨合, 参加该项目的人员仍然保持比较紧密的联系, 后来不少人成为我国生物膜研究的主要负责人或骨干力量.

4 共同争取成立生物大分子国家重点实验室

生物物理研究所生物大分子国家重点实验室在邹承鲁院士动议领导下, 梁栋材院士与杨福愉院士一起经过多方面长期争取, 终于在 1991 年正式被验收成立. 它由酶与蛋白质、结构生物学和膜生物学三部分组成. 它的成立以及连续多次在全国评比中获得优秀无疑对我国生物膜的发展起着有力的推动作用.

5 部分成果简介

在介绍这部分内容时总感到有点遗憾。通过西德考察深知研究生物膜需要多学科交叉, 但结合我国情况, 除了物质条件与国外先进国家有较大差距外, 主要是缺少一支精干稳定的队伍。有条件出国的都纷纷离开了, 辛辛苦苦培养的、比较优秀的年青人才几乎无一留下, 而且短期内基本只出不归。在这样情况下要做出国际水平的工作, 从总体上来讲是十分困难的。再加上科研政策多变, 时而强调基础研究, 要求发表高影响因子的 SCI 论文, 时而又希望急于完成联系实际的任务。从下面所列举的一些成果就可以反映这些无奈的情况。这是我们这一代思想上最感困惑的问题。

5.1 二价金属离子 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 对生物膜的调节作用

5.1.1 Mg^{2+} 通过影响膜脂流动性调节线粒体 H^+ -ATP 酶构象与活性

首先引进建立了人工膜-脂质体的制备技术, 之后分离、纯化 H^+ -ATP 酶并将之重组于大豆磷脂脂质体成为含有 H^+ -ATP 酶的脂酶体, 开始阶段重组后的脂酶体未能呈现较高的酶活, 实验屡遭失败, 此时忽然回忆起“文革”前用金属螯合剂 EDTA 能引起线粒体收缩的实验结果, 在重组体系中尝试加入一定量的 Mg^{2+} 。结果重组的 H^+ -ATP 酶才展现较高的活性, 通过 NMR、ESR、荧光、圆二色性等技术分别测定 Mg^{2+} 对膜脂流动性和 H^+ -ATP 酶的 F_0 与 F_1 构象的影响, 以检验 Mg^{2+} 是否通过影响膜脂流动性调节 F_0 的构象, 继而将变化传递至 F_1 使它的活性亚基—— β 亚基也发生一定的变化, 从而呈现较高活性。实验结果为 Mg^{2+} 通过改变膜脂物理状态影响膜蛋白构象与活性提供一个清晰的实例。详细内容见参考文献[1-2], 此成果获 1989 年国家自然科学三等奖。

5.1.2 跨膜 Ca^{2+} 梯差对膜蛋白结构与活性的调节

细胞内自由 Ca^{2+} 浓度一般为 10^{-6} mol/L, 而细胞外或肌质网内侧为 $10^{-2} \sim 10^{-3}$ mol/L, 换言之, 在上述两种情况下, 都具有 1 000~10 000 倍的跨膜 Ca^{2+} 浓度梯差, 这是 Ca^{2+} 作为细胞内第二信使的重要基础, 也与众多细胞重要功能密切相关。 Ca^{2+} 跨膜梯差不仅存在于细胞质膜, 也不同程度存在于细胞器膜, 我们对跨膜 Ca^{2+} 梯差影响膜脂以及调节肌质网膜 Ca^{2+} -ATP 酶(SR Ca^{2+} -ATPase)或 G 蛋白偶联 cAMP 信号跨膜转运体系(包括 β 肾上腺能受体、

激活型 G 蛋白即 Gs 和腺苷酸环化酶)进行了研究。

在肌肉收缩过程中, Ca^{2+} 会从肌质网内经通道释放至细胞质中, 从而降低跨膜 Ca^{2+} 梯差, 当跨膜 Ca^{2+} 梯差下降至一定程度时, 膜脂流动性开始升高并导致 SR Ca^{2+} -ATP 酶活性上升。这样, 就会使 Ca^{2+} 重新回流至肌质网内储存并重建跨膜 Ca^{2+} 梯差, 此时, 膜流动性又恢复至较低水平, SR Ca^{2+} -ATP 酶活性又回复至抑制状态。因此, 在整个过程中除 Ca^{2+} 与 SR Ca^{2+} -ATP 酶直接作用外, 跨膜 Ca^{2+} 梯差变化会通过膜脂流动性的调节来影响 SR Ca^{2+} -ATP 酶构象与活性, 其中尤其是肌质网膜内层的磷脂酰胆碱(PC)具有重要的作用。

关于跨膜 Ca^{2+} 梯差调节 G 蛋白偶联的 cAMP 信号跨膜转导途径的研究, 先将这一途径的多个组分—— β 肾上腺素能受体(β AR)、Gs、腺苷酸环化酶(AC)分别组装于脂质体, 以研究跨膜 Ca^{2+} 梯差的大小对这些脂蛋白体的膜脂流动性、膜蛋白构象及活性的影响。然后将三个组分共组装在同一脂质体, 研究跨膜 Ca^{2+} 梯差对这些组分的相互作用及整体效应。实验结果表明, 一个类似于生理条件下的合适跨膜 Ca^{2+} 梯差及其一定范围的变化使膜脂呈现合适的流动性, 并使 β AR 具有合适的构象, 从而有利于与配基相结合, 随之通过 Gs 中介激活效应物 AC, 使整个 cAMP 信号跨膜转导过程具有较高活性。这一研究难点在于同时将三种膜蛋白组成的信号传递体系成功地重组于脂质体, 并表现其功能。这不仅在国内尚属首次, 国外也比较罕见^[3-5]。

至此, 我们通过上述几项研究, 将金属离子通过膜脂物理状态改变, 从而影响、调节膜蛋白的构象和功能, 在能量转换、物质运送以及信号转导三个方面都进行了系统研究。

5.2 支原体膜脂和膜蛋白的研究以及从生物膜水平探讨山莨菪碱的药理作用

5.2.1 支原体膜蛋白和膜脂分子性质的研究

从 20 世纪 80 年代初开始, 黄芬小组对支原体膜性质进行了较系统和深入的研究, 作为当时世界上两家之一, 同时从莱氏衣原体 AIH089 菌株膜上分离了具有活性的 ATP 酶, 并用 MC-2 型高灵敏度 DSC 对膜的热相变性质进行研究, 获得了莱氏衣原体膜的精确热相变图, 已被国外引用。对膜糖脂和磷脂进行分析后, 发现猪肺炎支原体致病 Z 菌株的 28 ku 糖蛋白为致病性因子, 为制备分子疫

苗探索预防猪气喘病提供了重要信息^[9]。

5.2.2 山莨菪碱与生物膜相互作用的分子机制研究

山莨菪碱是我国从莨菪类植物中分离提纯的一种中药有效成分, 作用于中枢神经, 对改善微循环, 抢救中毒性休克和有机磷中毒病人有明显疗效, 但对其作用的分子机制不清楚。黄芬小组用差示扫描量热计等方法, 通过山莨菪碱对中性(DPPC)或酸性(DPPA)磷脂脂质体的相变温度影响的研究结果表明, 山莨菪碱可降低磷脂的相变温度, 即药物仅与脂双层两侧脂质分子极性头部以静电力作用使其疏水区变得松散。而激光拉曼光谱研究结果进一步表明, 山莨菪碱可能通过其带电基团对磷脂的胆碱和磷酸基团发生作用, 进而诱发脂质体的构象变化。同时, 山莨菪碱还能促进 DPPE 脂质体形成六角形 II (H_{II}) 结构。这些结果对这一类药物作用于生物膜的分子机制提供了重要证据^[7-8]。

5.3 猪心线粒体 F_1F_0 -ATP 酶的结晶研究

线粒体 ATP 合酶主要由具有水解 ATP 活性的 F_1 和质子通道 F_0 两部分组成, 又称 F_1F_0 -ATPase。 F_1 或 F_0 或 F_1F_0 -ATP 全酶的空间结构的解析, 对揭示和阐明 ATP 合酶的结构与功能相互关系的精确分子机制无疑是必需的, 因而也成为膜蛋白研究中具有原创性、体现竞争性的研究课题, 受到了各国科学家的高度关注。

林治焕研究小组从猪心线粒体纯化了 F_1 -ATPase, 并在甲醇中进行结晶, 得到了重复性很好的结晶, 与生物物理所技术室管汀鹭合作对其负染样品在电子显微镜下可见晶体晶格为四方晶。晶体分子直径约为 $60\text{\AA}$, 与已有报道的牛心线粒体 F_1 的结晶类似, 电镜负片再经光学衍射仪成像后的衍射图, 在电镜下放大 200 000 倍以上, 可看到两个互相垂直的方向上出现有规律的、且具对称性的衍射点, 说明结晶内的分子是重复的、有规律的排列。经计算二维晶胞参数为 $106\text{\AA} \times 106\text{\AA} (90^\circ)$ ^[9]。与梁栋材小组桂璐璐等协作, F_1 -ATPase 在优化的 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 溶液中进行结晶, 也可得到重复性很好的四方晶结晶。经 X 射线衍射分析所得的 240 幅图样分析, 样品衍射分辨率为 $7\text{\AA}$, 获得的晶胞参数为 $a=b=147\text{\AA}$, $c=208\text{\AA}$, $\alpha=\beta=\gamma=90^\circ$, 可能的空间群(space group)为 P4 或它的对映体^[10]。

5.4 Mg^{2+} 对 F_0F_1 ATP 酶重建于脂质体的研究

5.4.1 研究缺失 F_1 的 H^+ -ATP 酶与 F_1 重组后 F_0 的构象比较^[11]

Mg^{2+} 通过与膜结合, 引起膜脂物理状态改变

为 F_0 的构象改变提供适宜的微环境。 F_0 构象的改变能传递到 F_1 , 并引起 F_1 的结构改变。另一方面, Mg^{2+} 也可直接作用于 F_1 引起一定构象改变, 并传递给 F_0 。

5.4.2 Mg^{2+} 影响 F_0F_1 -ATP 酶在脂质体重组与磷脂组分的关系

通过分析比较, Mg^{2+} 影响 F_0F_1 -ATP 酶在脂质体重组与脂质体磷脂组分有关, 实验证明心磷脂(cardiolipin)和磷脂酸(PA)是必需的^[12]。

5.5 脱血红素细胞色素 c 跨膜运送的研究

脱血红素细胞色素 c(apocyto. c)是细胞色素 c 的前体, 它是在细胞内游离核糖体上合成, 之后输入线粒体内、外膜间隙经酶催化下共价结合血红素形成细胞色素 c。研究结果表明:

a. Apocyto. c 插膜并在通过脂质体的过程中构象发生了明显变化, α 螺旋形成是运送能否进行的关键。鸡心 apocyto. c 有自发折叠倾向, 不利于插膜和之后形成 α 螺旋结构, 从而影响跨膜转运效率。如将鸡心 apocyto. c 中 92 位缬氨酸改变成丙氨酸(V92A), 则不再产生自发折叠, 从而具有与其他 apocyto. c 同样的跨膜运送效率。

b. 通过形成缺失突变体及人工合成小肽片段发现 apocyto. c 68~88 片段是插膜及跨膜运送的关键片段。用分子生物学方法探索蛋白质跨膜运送当时还不多见, 这项研究得到了核酸室朱榴琴老师的热心帮助和指导^[13]。

5.6 克山病、大骨节病、微量元素硒

5.6.1 提出“克山病是一种心肌线粒体病”

克山病是我国所特有的一种地方性心肌病, 曾波及到黑龙江、辽宁、内蒙古、河北、甘肃、西藏、云南等 15 个省和自治区。因该病在黑龙江克山县流行比较严重, 就以此县县名命名。该病初病时心腹极疼, 继而呕吐不止或半日或一日即告死亡。1959 年, 1964 年和 1970 年我国曾三度爆发克山病, 每次患者达 8000 人之多。后该病虽逐年减少但病因仍不清楚。1984 年~1986 年在中共中央地方病办公室和卫生部主持下, 组织了流行病学、生态学、病理学、生化学、生物物理学、临床等各方面专家对克山病高发地区云南楚雄进行了综合考察。杨福愉小组参加了这次考察活动, 在考察总结会上, 病理、生化、生物物理, 临床等各小组都报道克山病病人心肌线粒体有明显的损伤。当时国际上只有少数有关研究人骨骼肌线粒体病的报道, 对于心肌线粒体由于实验材料不易获得, 只有极个别

报道通过病人尸体解剖发现线粒体的形态有变化。综合多方面丰富的考察材料, 杨福愉提出“克山病是一种心肌线粒体病”的观点。考察队队长研究克山病的权威专家于维汉教授对此表示赞赏, 并认为这是克山病病理研究的一个很大进展。中共中央办公厅地方病办公室孙玺付主任也表示支持。但不少专家对此并不赞同。1987 年杨福愉带了个有分歧的学术问题赴美参加一次专门讨论线粒体 ATP 合酶的 Gordon Conference。这是国际上水平较高的专门性很强的学术会议, 本次会议还设有“线粒体与疾病”专题讨论。杨福愉在会上介绍了有关克山病的考察结果, 并就“克山病能否称为心肌线粒体病”的问题征询在场医学、生化等方面的专家。与会专家一致表示同意, 而且认为, 克山病作为线粒体病还有一个特点, 它不是遗传的, 而是由于营养缺乏(主要缺微量元素硒)所引起的。后来, 随着国外对“心肌线粒体病”研究逐渐增多, 1997 年美国一些学者为“心肌线粒体病”下了明确的定义, 其内涵与我们 1987 年提出的有关标准基本吻合^[14-15]。

1990 年卫生部给“楚雄克山病综合型科学考察”颁布了卫生部科技进步二等奖。1995 年国家教委则为此又颁发了国家教委科技进步二等奖。

5.6.2 大骨节病与硒

在我国缺硒地带还流行一种‘大骨节病’。在中共中央地方病办公室组织的永寿大骨节病考察的基础上开展了硒与红细胞膜骨架的基础研究。长期以来, 一般都将硒对细胞膜的保护作用归结于含硒酶——谷胱甘肽过氧化物酶(GSHPx), 它能催化谷胱甘肽与脂过氧化物作用, 从而使细胞膜免受损伤。我们的研究发现, 大骨节病患者红细胞膜有异常, 而且硒除通过 GSHPx 对膜起保护作用外, 对红细胞膜骨架还有直接的稳定作用。它还能明显地延缓人红细胞在体外老化过程中 Na-K-ATP 酶活性和膜脂流动性的降低, 硒能通过血影收缩蛋白(spectrin)的巯基相作用导致其构象变化防止解聚作用从而稳定膜骨架。硒还能与细胞膜骨架另一组分肌动蛋白(actin)相作用, 有助于它的聚合, 并促进 spectrin 与 actin 寡聚体的联结, 增加整个骨架的稳定性。此外, 硒对红细胞的重要内在膜蛋白——带 3 蛋白也能通过其巯基的相互作用而提高其转运阴离子的作用。

大骨节病患儿红细胞膜骨架主要组份——spectrin 与膜的结合程度明显下降, spectrin 本身的

聚合状态也有变化。用病区低硒粮饲喂大鼠也得到相似结果^[16-17]。

此工作曾获 1996 年中国科学院科技进步二等奖。

5.7 质膜囊泡和脂质微区的初步探索

5.7.1 质膜囊泡的研究

20 世纪 90 年代初质膜囊泡(caveolae)成为国际上研究的热点之一, 它特有的膜脂结构和富含包括 G 蛋白 α 亚基、蛋白激酶 C 等一系列与信号传导有关的蛋白质引起人们的极大兴趣。20 世纪 90 年代中期陈建文研究组开始对质膜囊泡的研究:

a. 探讨 caveolae 的膜脂结构及其生物学特性。在体外建立了一个由中性磷脂、鞘磷脂/胆固醇组成的液晶有序相模型(即 L_o 相)^[18], 如果改变上述磷脂的配比, 可以观察到磷脂逐渐从 L_d 相向 L_d/L_o 中间相最后到 L_o 相的动态变化过程, 与此同时质膜 Ca^{2+} -ATPase 的 Ca^{2+} 转运活性也同步逐渐降低^[19]。这显示 caveolae 结构对功能蛋白的负调控作用。

b. 对 caveolae 的标记蛋白小窝蛋白(caveolin-1)的研究。在 Hs578T 乳腺癌细胞中过表达 caveolin-1 明显降低该株细胞的多药耐药性, 这是 caveolin-1 与 p-glycoprotein 在 caveolae 膜上相互作用的结果^[20]。实验结果还充分证明 caveolin-1 能直接抑制 p-glycoprotein 的基因表达^[21]和通过影响中性鞘磷脂活性而抑制细胞的凋亡^[22]。在动物水平上也同样证明 caveolin-1 促进 Hs578T 细胞的迁移和侵袭能力。综上所述, caveolin-1 对于 Hs578T 细胞来说, 几乎是一个促癌因子, 这与早期国外把 caveolin-1 作为抑癌基因的报道正好相反。随着研究的深入, 人们越来越多地发现 caveolin-1 确有双重调控作用。陈建文等在 MCF-7 乳腺癌细胞中过表达 caveolin-1, 并把其接种到小鼠体内, 实验显示它对肿瘤细胞生长有强烈的抑制作用, 并大大降低肿瘤细胞的迁移和侵袭能力^[23]。对于 caveolin-1 对肿瘤细胞的双向调控作用尚待进一步研究。

5.7.2 膜脂筏微区对质膜钙离子 ATP 酶活性的调控

质膜钙离子 ATP 酶(PMCA)是精确调节钙离子浓度的重要膜蛋白。自 2003 年起, 张旭家等^[24-25]对脂筏微区(lipid rafts)调控 PMCA 酶活性的机制进行了系统研究。神经节苷脂是一种富含于神经组织的鞘磷脂, 也是神经细胞脂筏微区的结构脂分子之一。通过系统比较不同结构的神经节苷脂对 PMCA

酶活性的影响,发现具有2个唾液酸残基极性头部的GD1b可显著激活PMCA的ATP酶活性及钙离子转运活性,而不具有唾液酸残基的asialo-GM1对上述活性却具有抑制作用.这些神经节苷脂除了影响PMCA的 $V_{\max}$ 外,还显著影响了PMCA对钙离子的亲和力.分子内源荧光的实验进一步证明神经节苷脂可影响PMCA的结构,并通过稳定PMCA E2构象而调控PMCA的ATP酶活性及钙离子转运活性^[26].除了这些可调控PMCA活性的鞘磷脂分子外,脂筏微区还富含磷脂酰丝氨酸(PS)等酸性磷脂,这些酸性磷脂可显著提高PMCA的活性.脂筏微区的动态变化可导致质膜内侧PS的外翻,从而显著激活PMCA^[27].鞘磷脂及酸性磷脂的共同作用使脂筏微区成为PMCA酶活性得以最大化的有效平台,并为PMCA与一些重要蛋白质的动态相互作用提供了结构基础.在脂筏微区中,PMCA精确调控nNOS的酶活性,并进一步影响了NO的时空分布^[28].

PMCA不仅是执行钙调控功能的物质转运蛋白,还是细胞信号转导网络的重要节点.囿于技术条件所限,目前PMCA各亚型在生理及病理条件下的不同作用还远未阐明,其在细胞脂质微区中的穿梭及酶活性调控机制还有待探索,其三维结构尚未解析,其转运钙离子的精确机制也有待研究.

5.8 发现磷脂酸在生物膜中具有几种特异的功能

a. 非双层脂磷脂酰乙醇胺(PE)含量增加能促进细胞色素c的前体——脱血红素细胞色素c(apocyt.c)的跨膜运送,而具有促进非双层脂结构倾向的磷脂酸(PA)与PE相互作用后能使转运效率进一步提高^[29].

b. PA参与G蛋白中介的信号跨膜转导体系的调控.G蛋白传递信号的调节蛋白4(regulators of G-protein signalling 4, RGS4)具有激活GTP酶活性,从而水解G α 亚基结合的GTP使G蛋白中介的信号转导体系受到抑制.我们发现PA能与RGS4结合并使RGS4处于抑制状态^[30].进一步研究还发现PA特异性地结合细胞质膜Go α 并抑制Go α 结合³⁵S-GTP γ S的活性,而这一效应依赖于Go α GTP结合微区中第271位赖氨酸^[31].这些发现意味着PA对G蛋白中介的信号跨膜转导体系的信号具有调控的作用.PA在诸磷脂中具有特殊的功能,它既能促进非双层脂结构的倾向性,又是一种第二信使.

c. 在细胞凋亡过程中tBid(caspase 8水解Bid

的产物)能与溶酶体膜脂PA进行特异结合,致使溶酶体膜的不稳定性(lysosome membrane permeabilization, LMP),从而使内含的部分内容物外泄,导致通过溶酶体-线粒体途径的细胞凋亡(详见5.9节).

5.9 溶酶体胰凝乳蛋白酶与细胞凋亡

细胞凋亡与线粒体的关系是一个热门课题,我们在用脂质体研究线粒体的内含细胞色素c如何从线粒体泄出机理的过程中,提出在这一过程中可能形成孔道(pore)的设想^[32],与此同时,发现溶酶体中有一种含量极少的因子在凋亡过程中会从中泄出将Bid水解成Chym.Bid,它与Caspase 8水解Bid形成的tBid共同作用于线粒体使内含的细胞色素c释出.这一因子含量极低,苗琦等从100多只大白鼠的肝脏溶酶体中仅纯化得到4~5 μ g,经过多方鉴定,它是胰凝乳蛋白酶B.当这项工作发表在*J Biol Chem*发表后*Nature-China*杂志评论称:“Chymotrypsin B: not just a digest protease”,它作用所产生的Chym.Bid具有比tBid更高的诱导脂质体膜通透的活性,并对溶酶体膜的不稳定性产生正反馈作用^[33-34].

在此基础上,我们进一步对tBid及Chym.Bid作用于溶酶体膜、引发溶酶体膜不稳定的机制进行了深入探索.接着发现tBid与PA间存在很强的蛋白质-磷脂相互作用,而tBid H6螺旋的赖氨酸残基在此过程中发挥重要作用.我们假设tBid与溶酶体富含的PA发生相互作用后,转位至溶酶体表面,并在膜脂环境中发生构象变化及寡聚化,进一步促进富含PA的磷脂双分子层发生相转变、诱导非双层脂的形成,并最终形成以脂质分子为结构单元的“脂质孔道”,引起溶酶体膜通透,并形成促凋亡信号的正反馈放大^[35],有关研究正在深入进行.

5.10 线粒体动态变化影响乳腺癌的迁移及侵袭能力

线粒体是高度动态的细胞器,其分裂与融合维持动态平衡,以保障细胞的正常生理功能.尽管线粒体功能障碍与肿瘤的发生有密切关系,但线粒体动态变化在肿瘤转移中的作用仍尚待深入研究.屠亚平等^[36]发现人转移性乳腺癌组织及淋巴结转移中线粒体分裂关键蛋白——Drp1的表达量很高.与非转移性乳腺癌细胞相比,转移性乳腺癌细胞的线粒体呈现更加分裂的状态,且其Drp1的表达量更高,而线粒体融合蛋白Mfn1的表达更低.在乳腺癌细胞中敲低Drp1或者过表达Mfn1可导致线粒

体延长或形成簇状结构, 并显著抑制其迁移和侵袭能力. 特别需要指出的是, 通过以上途径调节线粒体动态变化还改变了乳腺癌细胞中线粒体的亚细胞定位. 敲低 Drp1 或过表达 Mfn1 抑制了乳腺癌细胞板状伪足的形成, 并阻断了趋化因子诱导的线粒体在板状伪足区域的重新定位; 与此相反, 敲低 Mfn 促进了细胞伸展及板状伪足形成, 并导致线粒体富集于板状伪足区域. 以上研究结果展示了通过

调控线粒体动态变化而调控细胞迁移及侵袭能力的新机制, 通过影响 Drp1 而干预线粒体分裂有望成为遏制乳腺癌转移的新靶标.

6 培养一批优秀人才

中国科学院生物物理研究所在几十年的生物膜研究中, 培养了大批优秀人才, 其中包括多位荣获各级奖项的优秀研究生(表 2).

表 2 膜生物学优秀研究生获奖情况

姓名	性别	奖 项 名 称	导师	获奖时间	毕业学校	入学时间	毕业时间
屠亚平	男	院长奖学金优秀奖, 中科院杰出青年称号, 中科院王宽诚教育奖, 中国青年科技奖	杨福愉	1991	武汉大学	1987- 硕博	1992
范高峰	男	院长奖学金特别奖	杨福愉 黄有国	1995	西安医科大学	1992- 博士	1995
童俊超	男	院长奖学金特别奖 首届全国百篇优秀博士论文奖	杨福愉	1996 1999	清华大学	1991- 硕博	1996
杨小毅	男	地奥奖学金一等奖	杨福愉	1997	衡阳医学院	1994- 博士	1997
翟大勇	男	彭荫刚(伟华)科技奖学金 一等奖	杨福愉	2001	中国农业大学	1998- 博士	2001
郝铁珩	男	院长奖学金优秀奖	陈建文	2002	吉林大学	1996- 硕博	2001
周合江	女	国家奖学金, 宝洁奖学金, 保罗生物科技特别奖	杨福愉 卫涛涛	2012 2014	华中科技大学	2009- 硕博	2014

7 举办香山科学会议, 为争取国家 (973) 资助项目作准备

经过长期在艰苦条件下的努力奋斗, 我国生物膜研究无论从广度到深度都已发生了明显的变化, 近年来一批年轻的生物膜学者不断从海外归来, 队伍不断扩大, 为了回顾过去, 展望未来并争取国家重点基础研究发展计划(973)项目的资助, 2003 年我们组织了题为“21 世纪我国生物膜研究”的第 200 次香山会议, 除有关领导外共有 23 个科研单位和高等学校约 43 人参加. 这是我国生物膜研究的又一次盛会. 会议开得生动活泼, 圆满成功. 科学出版社庞在堂同志也参加了会议, 他提议在这次会议上, 再邀请一部分未到会的生物膜专家组织编写并出版《生物膜》一书. 经过两年多的努力该书于 2005 年正式问世, 由杨福愉任主编, 林克椿、林其谁、黄有国、吉永华、陈佺等教授任副主编, 全书分 7 篇, 34 章, 共有 40 余位专家参加撰写.

8 973 首批生物膜项目“生物膜和膜蛋白的结构功能研究”通过论证

在上述 200 次香山会议及《生物膜》一书出版

基础上, 经过一段时间的酝酿与协商, 首批 973 有关生物膜的项目“生物膜和膜蛋白结构功能研究”决定由中国科学院生物物理研究所徐涛所长主持申请. 清华大学、北京大学和中国科学院动物研究所等单位参加. 徐涛 1996 年毕业于华中科技大学, 获生物医学工程博士学位. 1996 年~2000 年先后赴德国马普生物物理化学所和华盛顿大学生理与生物物理系作为博士后或任高级研究人员(senior fellow), 自 2003 年任生物物理研究所副所长, 长期从事有关细胞内囊泡运输的研究, 曾先后在 *Cell*, *Nature Cell Biology* 等著名杂志发表论文.

由于各方面准备工作比较充分, 该项目在论证会上 获得评委们的一致好评, 得以顺利通过.

至此, 我们这一代为中国生物膜研究作些铺路石子工作的任务已经完成.

9 结尾语

生物膜首批 973 项目的论证获得通过后不久, 2004 年 3 月常文瑞、柳振峰与植物所匡廷云长期合作的成果《菠菜中主要捕光色素复合体 2.72Å 分辨率的晶体结构分析》(Crystal structure of spinach major light harvesting complex at 2.72Å resolution)在

《自然》(Nature)正式发表。

2005年7月饶子和、孙飞与徐建兴多年合作的《猪心线粒体呼吸链复合体II的晶体结构》(crystal structure of mitochondrial respiratory membrane protein complex II of porcine heart mitochondria)也在《细胞》(Cell)上报道。这两项重要成果的先后问世,充分显示我国生物膜研究的部分成果已开始进入到国际先进行列。这是值得高兴的事情。对于我们这一辈人来说,更是感到特别欣慰。

当前我国科研事业的情况已经今非昔比,无论在软实力还是硬实力与20世纪70年代刚起步时相比较,真可谓换了人间,尤其在人才方面,在国内成长的和从海外学成归国的优秀人才已经开始大量涌现。他们正在为我国生物膜的研究不断注入正能量,相信我国生物膜研究一定能为中国梦的实现不断做出新贡献。

致谢 在本文撰写过程中,承黄芬研究员、林治焕研究员、黄有国研究员、陈建文研究员、李生广副研究员、卫涛涛研究员等从多方面提供资料,在此一并表示衷心的感谢。此文写作时间有限,了解情况不够全面,研究所科技档案亦恐有不全,如有遗漏,敬请谅解。

参 考 文 献

- [1] Yang F Y, Guo B Q, Huang Y G. Role of Mg^{2+} in Lipid-protein interaction in reconstituted porcine heart H^+ -ATPase. *Biochim Biophys Acta*, 1983, **124**: 104
- [2] Yan F Y, Guo B Q, Huang Y G, *et al.* Mg^{2+} -mediated change in lipid fluidity enhances the reconstituted porcine heart mitochondrial H^+ -ATPase activity, In H^+ -ATPase (ATP Synthase) 441 in Structure, Function, Biogenesis of the $\text{F}_0\text{-F}_1$ complex of coupling membrane. International Workshop on H^+ -ATPase(ATP synthase): Structure, Function, Regulation. Fasano, Italy, 1984
- [3] Tu Y P, Yang F Y. Transmembrane Ca^{2+} gradient-mediated modulation of sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase. *Biochem Biophys Res Comm*, 1993, **196**(2): 561-568
- [4] Yang F Y, Huang Y G, Tu Y P. Transmembrane Ca^{2+} gradient and function of membrane proteins (REVIEW). *Bioscience Reports*, 1995, **15**(5): 351-364
- [5] Fan G F, Yang X Y, Huang Y G, *et al.* Effect of transmembrane Ca^{2+} gradient on the coupling of β -Adrenergic receptors and adenylyl cyclase. *Bioscience Reports*, 1996, **16**(4): 327-341
- [6] Chen J W, Hu L Y, Hwang F. Phase transition of *Acholeplasma laidlawii* membranes—the involvement of Mg^{2+} -ATPase in the C-translation. *FEBS Lett*, 1993, **322**(3): 253-256
- [7] Hwang F, Wu Y W, Wen D C. Anisodamine induces the hexagonal phase in phospholipid liposomes. *Biochim Biophys Acta*, 1986, **860** (3): 713-716
- [8] Hwang F. The interaction of anisodamine with biological membranes// Tsou C L. Current Biochemical Research in China: 173-184
- [9] Lin Z H, Guan T L, Fu G L, *et al.* Crystallization of soluble ATPase from pig heart mitochondria. *Chin Sci Bull*, 1982, **27**: 86-90
- [10] Li S G, Gui L L, Lin Z H, *et al.* Purification and crystal growth of F_1 -ATPase from pig heart mitochondria. *Biochem Mol Biol Int*, 1996, **40**(3): 479-486
- [11] Li S G, Zhang Y, Lin Z H. On the mechanism of F_1 -deleted ATPase complex with purified F_1 : possible conformational effects. *J Bioenerg Biomembr*, 1987, **19**(3): 273-283
- [12] Ye J J, Lin Z H. Specificity of acidic phospholipids (CL and PA) in the activation of mitochondrial F_0F_1 -ATPase by Mg^{2+} . *Biochem Int*, 1990, **22**(2): 219-226
- [13] Tong J C, Zhu L Q, Yang F Y. V92A mutation altered the folding propensity of chicken apocytochrome c and its interaction with phospholipids. *Biochemistry (USA)*, 1996, **35**(29): 9460-9468
- [14] Yang F Y, Lin Z H, Li S G, *et al.* Keshan disease—an endemic mitochondrial cardiomyopathy in China. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis*, 1988, **2**(3): 157
- [15] Yang F Y. Keshan disease and mitochondrial cardiomyopathy (Minireview). *Science in China (Series C) Life Sciences*, 2006, **49**(6): 513-518
- [16] Yang F Y. Abnormalities of erythrocyte membrane from patients with Kaschin-Beck disease and the role of Se in the stabilization of human erythrocyte membrane skeleton, in "Proceedings of the Intern. Workshop on Kaschin-Beck disease and Non-communicable Diseases" pp129-136. Published by Chinese Academy of Preventive Medicine and World Health Organization (WHO), Beijing
- [17] Yang F Y, Yang J, Yang M Z. The role of selenium for the stabilization of human erythrocyte membrane skeleton. *Studia Biophysica*, 1989, **134**: 83
- [18] Hao Y H, Chen J W. Influence of cholesterol on the biophysical properties of the Sphingomyelin/DOPC binary system. *J Membr Biol*, 2001, **183**(2): 85-92
- [19] Pang Y H, Zhu H, Wu P, *et al.* The characterization of plasma membrane Ca^{2+} -ATPase in rich sphingomyelin-cholesterol domains. *FEBS Lett*, 2005, **579**(11): 2397-2403
- [20] Cai C X, Chen J W. Overexpression of caveolin-1 induces alteration of multidrug resistance in Hs578T breast adenocarcinoma cells. *Int J Cancer*, 2004, **111**(4): 522-529
- [21] Zhu H, Cai C X, Chen J W. Suppression of P-glycoprotein gene expression in Hs578T/Dox by the overexpression of Caveolin-1. *FEBS Lett*, 2004, **576**(3): 369-374
- [22] Wu P, Qi B J, Zhu H, *et al.* Suppression of staurosporine-mediated apoptosis in Hs578T breast cells through inhibition of neutral-sphingomyelinase by caveolin-1. *Cancer Lett*, 2007, **256**(1): 64-72

- [23] Wu P, Wang X H, Li F, *et al.* Growth suppression of MCF-7 cancer cell-derived xenografts in nude mice by caveolin-1. *Biochem Biophys Res Comm*, 2008, **376**(1): 215-220
- [24] Zhao Y, Fan X, Yang F, *et al.* Gangliosides modulate the activity of the plasma membrane Ca^{2+} -ATPase from porcine brain synaptosomes. *Arch Biochem Biophys*, 2004, **427**(2): 204-212
- [25] Duan J, Zhang J, Zhao Y, *et al.* Ganglioside GM2 modulates the erythrocyte Ca^{2+} -ATPase through its binding to the calmodulin-binding domain and its 'receptor'. *Arch Biochem Biophys*, 2006, **454**(2): 155-159
- [26] Zhang J, Zhao Y, Duan J, *et al.* Gangliosides activate the phosphatase activity of the erythrocyte plasmamembrane Ca^{2+} -ATPase. *Arch Biochem Biophys*, 2005, **444**(1): 1-6
- [27] Zhang J, Xiao P, Zhang X. Phosphatidylserine externalization in caveolae inhibits Ca^{2+} efflux through plasma membrane Ca^{2+} -ATPase in ECV304. *Cell Calcium*, 2009, **45**(2): 177-184
- [28] Duan W, Zhou J, Li W, *et al.* Plasma membrane calcium ATPase 4b inhibits nitric oxide generation through calcium-induced dynamic interaction with neuronal nitric oxide synthase. *Protein Cell*, 2013, **4**(4): 286-298
- [29] Miao Q, Han X H, Yang F Y. Phosphatidic acid-Phosphatidylethanolamine interaction and apocytochrome c translocation across model membranes. *Biochem J (UK)*, 2001, **354**(Pt 3): 681-688
- [30] Ouyang Y S, Tu Y P, Barker S A, *et al.* Regulators of G-protein signaling (RGS)4, insertion into model membranes and inhibition of activity by phosphatidic acid. *J Biol Chem*, 2003, **278** (13): 11115-11122
- [31] Qu L, Wan J, Cao Y, *et al.* Analyzing and modeling the inhibitory effect of phosphatidic acid on the $\text{GTP}\gamma\text{S}$ binding activity of $\text{Go}\alpha$. *Proteins*, 2008, **71**(4): 1732-1743
- [32] Ling Y, Qi M, Yang S, *et al.* tBid forms a pore in the liposome membrane. *FEBS Lett*, 2003, **555**(3): 545-550
- [33] Miao Q, Sun Y, Wei T, *et al.* Chymotrypsin B cached in rat liver lysosomes and involved in apoptotic regulation through a mitochondrial pathway. *J Biol Chem*, 2008, **283**(13): 8218-8228
- [34] Zhao K, Zhao X, Tu Y, *et al.* Lysosomal chymotrypsin B potentiates apoptosis *via* cleavage of Bid. *Cell Mol Life Sci*, 2010, **67** (15): 2665-2678
- [35] Zhao K, Zhou H J, Zhao X Y, *et al.* Phosphatidic acid mediates the targeting of tBid to induce lysosomal membrane permeabilization and apoptosis. *J Lipid Research*, 2012, **53**(10): 2102-2114
- [36] Zhao J, Zhang J, Yu M, *et al.* Mitochondrial dynamic regulates migration and invasion of breast cancer cells. *Oncogene*, 2013, **32**(40): 4814-4824

The Rise and Development of Membrane Biology in Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences

YANG Fu-Yu*

(Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract Biomembrane research is one of the leading edges of modern biology. Here the rise and development of biomembrane research in Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences after the "Cultural Revolution" was reviewed.

After the termination of the "Cultural Revolution", the leaders of Chinese Academy of Sciences became aware of the rapid progress of biomembrane research in other countries. A deputation led by YANG Fu-Yu from Institute of Biophysics with five other scientists from Institute of Biochemistry, Institute of Zoology, Institute of Botany, and Institute of Experimental Biology visited the Federal Republic of Germany. After their visitation, the leaders of Chinese Academy of Sciences realized the importance of multidisciplinary integration for biomembrane research, and organized an inter-institutional team composed of scientists from Institute of Biophysics, Institute of Botany, Chinese Academy of Medical Sciences and Beijing Medical University. The inter-institutional team proposed a keynote research project entitled "The interaction between membrane lipids and membrane proteins and its application in medicine and agriculture", and got funded from the National Natural Science Foundation of China. At the same time, the leaders of Chinese Academy of Sciences suggested the Biophysical Society of China, the Chinese Society of Biochemistry and the Chinese Society for Cell Biology host the symposium on biomembrane research. The First National Symposium on Biomembrane was held in March 1979 in Beijing Friendship Hotel and the follow-up symposiums were held every three years and never been discontinued. This series of symposiums significantly promotes the development of biomembrane research and communication in China. In 2003, the 200th Xiangshan Science Conference was held with the topic "Biomembrane research in the 21st Century", which carried the biomembrane research in China a step forward.

The key findings in membrane biology by Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, were also highlighted in the review: (1) The molecular mechanisms underlying the metal cations regulate energy transfer, material transportation and cell signaling in biomembranes *via* modulating lipid-protein interactions; (2) The important viewpoint that Keshan disease is an endemic mitochondrial cardiomyopathy in China; (3) The discovery that lysosomes contain trace amount of chymotrypsin, a well-known digestive enzyme, which mediates apoptosis after its relocation into the cytosol; (4) The finding about targeting mitochondrial dynamics to inhibits tumor cell metastasis. Finally, it must be pointed out that Prof. CHANG Wen-Rui, in cooperation with Prof. KUANG Ting-Yun of Institute of Botany, published their research work entitled "Crystal structure of spinach major light-harvesting complex at 2.72 Å resolution" in *Nature* in 2004, and Prof. RAO Zi-He, in cooperation with Prof. XU Jian-Xing, published their research work entitled "Crystal structure of mitochondrial respiratory membrane protein complex II" in *Cell* in 2005. These milestones indicated the significance of Chinese biomembrane research in the world.

In 2004, XU Tao was selected as the chief scientist for the first project on biomembrane funded by National Basic Research Program of China because of his expertise in membrane trafficking, suggesting that the biomembrane research in China enter a new period of development.

Key words biomembrane, multidisciplinary integration, cooperation

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2014.00276

*Corresponding author.

Tel: 86-10-64889871, E-mail: yangfy@sun5.ibp.ac.cn

Received: September 30, 2014 Accepted: October 8, 2014