

综述与专论

生物膜结构研究的一些进展*

杨福愉

(中国科学院生物物理研究所, 生物大分子国家重点实验室, 北京 100101)

摘要 膜蛋白三维结构的解析存在很多困难. 最近几年由于一些通道 (如 K^+ 通道, Cl^- 通道, 水通道 Aquaporin 1 等) 和泵 (如 Ca^{2+} 泵) 的结晶获得成功, 这些膜蛋白具有原子分辨率三维结构的解析才得以完成, 从而基本阐明一些极性分子和离子选择性通过生物膜的分子机理. 在膜脂结构方面, 动物细胞质膜膜脂的分布是不均匀的. 近年来已多方面证明, 质膜具有一些被命名为“脂筏 (lipid rafts)”和“质膜微囊 (Caveolae)”的微区. 它们富含鞘脂和胆固醇. 简单介绍了这些脂质微区的大小、组分以及动态变化. 根据研究结果, 这类脂质微区含有大量信号分子, 很可能具有信号传递中心的作用. 此外, 对脂筏在膜运送过程中的作用也进行一些评述.

关键词 膜蛋白, 三维结构, 脂筏, 质膜微囊

学科分类号 Q73

细胞是生命的基本结构与功能单位. 细胞的外周膜 (质膜) 与细胞内的膜系统 (如线粒体膜, 叶绿体膜, 内质网膜, 高尔基体膜, 核膜等) 统称为生物膜. 细胞的能量转换、信息识别与传递、物质运送等基本生命过程都与生物膜密切相关. 生物膜是由脂类、蛋白质以及糖等组成的超分子体系

(图 1). 膜蛋白是生物膜功能的主要体现者, 膜脂除了具有对膜结构的支撑作用外, 近年来的研究表明, 它们还与信号传递等功能有密切的联系. 本文着重介绍近年来膜蛋白、膜脂结构研究的一些重要进展.

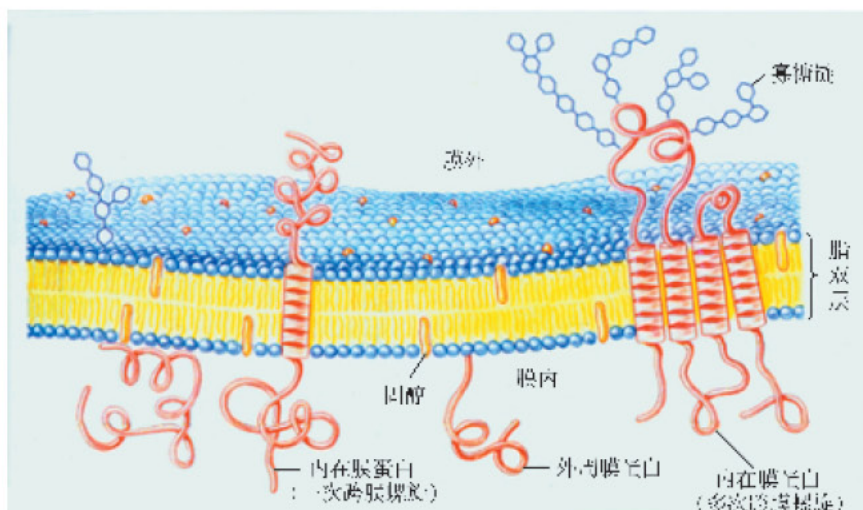


Fig. 1 Model for biomembrane structure^[1]

图 1 生物膜模式图^[1]

* 本文系根据作者在第 200 次香山科学会议 (2003 年 1 月 13 日至 16 日) 及北海第八次全国暨 2003 海内外生物膜学术研讨会 (2003 年 3 月 25 日至 30 日) 上的报告整理而成.

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

收稿日期: 2003-05-26, 接受日期: 2003-06-10

1 膜蛋白结构研究的进展

生物膜膜蛋白可分为外周膜蛋白和内在膜蛋白(图 1). 后者约占整个膜蛋白的 7%~80%. 它们部分或全部嵌入膜内, 有的则跨膜分布, 如受体, 通道, 离子泵, 膜孔 (pore), 运载体 (transporter) 以及各种膜酶等等. 要深入了解膜蛋白的功能必须解析它们的三维结构. 整个真核细胞内所含的蛋白质中, 据估计, 1/4~1/3 为内在膜蛋白. 人类基因组研究的初步结果表明, 在全长约 30 亿碱基对中只有 30 000~40 000 基因能编码并表达为蛋白质. 据估计, 其中内在膜蛋白也差不多占 1/4~1/3. 其他模式生物的基因组所表达的蛋白质中, 内在膜蛋白也占相似比例. 总之, 内在膜蛋白三维结构的解析, 无论对整个细胞重要功能的深入探索, 还是从后基因组研究考虑都是十分重要的. 此外, 内在膜蛋白三维结构的解析也有很明显的 application 前景, 与医、药的关系尤为密切. 有人估计, 50% 的受体和通道可能是药物的靶标. 内在膜蛋白的异常与一些遗传病 (如囊性纤维变性 Cystic fibrosis)、癌症、甚至神经退行性疾病 (如老年痴呆症, 帕金森氏症) 等都有关系. 因此内在膜蛋白三维结构的解析无疑对新药的发现、设计、筛选都有很大的作用. 但是, 与水溶性蛋白质相比较, 内在膜蛋白的研究明显滞后. 这主要由于: a. 内在膜蛋白含量很低, 一般为微克数量级, 应用基因工程方法来大量表达也存在着很多困难; b. 内在膜蛋白的分离、纯化也有很大的难度, 只有用较剧烈的条件 (如, 去垢剂, 有机溶剂, 超声波等) 才能将它们溶解下来, 分离后一旦将去垢剂或有机溶剂除去, 很容易凝聚为不溶性物质; c. 内在膜蛋白晶体生长十分困难, 无论二维还是三维晶体都很不容易长成, 尤其是三维, 这是因为三维晶体的形成与生长主要靠亲水-亲水相互作用, 而内在膜蛋白在天然膜中主要依靠疏水-疏水相互作用来维持.

综上所述, 与水溶性蛋白质相比较, 内在膜蛋白三维结构的解析情况远远滞后, 从表 1 可以看出, 到 1997 年为止, 蛋白质 (不包括蛋白质-核酸复合物和其他生物大分子) 三维结构已得到的高分辨率解析结果, 累计已达 6 000 多种, 其中内在膜蛋白仅有 20 种左右, 只占 0.3%. 2002 年底蛋白质和内在膜蛋白这二组数字分别增加至 17 500 种与 70 种^[2]. 虽然内在膜蛋白仍只占 0.4%, 但就其本身来说, 5 年内高分辨率内在膜蛋白的解析数

目已增加了两倍多, 而且值得注意的是, 通道、受体、运载体、Ca²⁺ 泵等重要内在膜蛋白的高分辨率三维结构解析成功, 都是在 1997 年以后才开始获得的.

Table 1 Comparison of 3D determinations with atomic resolution between water soluble and integral membrane proteins

表 1 蛋白质和内在膜蛋白高分辨率三维结构解析比较

	蛋白质	内在膜蛋白	
~1997 年	6 280	20	0.3%
~2002 年	17 500	70	0.4%

现举数例, 说明内在膜蛋白三维结构的解析对于深入研究它们的功能具有重要的影响:

1. 链霉菌 (*Streptomyces lividans*) 钾通道 KcsA 的三维结构.

钾通道分布很广, K⁺ 能很快地通过钾通道, 而 Na⁺ 却不能. 对于神经细胞来说, 没有 K⁺ 通道, 就不会有神经传导. 植物细胞的 K⁺ 通道对植物气孔开闭等重要功能也有密切的关系. 20 多年以来应用一系列技术 (包括生化, 分子生物学和膜片箝等技术) 对 K⁺ 通道已经作了大量的研究, 积累了很多资料. 为了深入研究其功能, 必须解析它的三维结构. 真核细胞的 K⁺ 通道结构比较复杂. 相比之下, 细菌 K⁺ 通道的组成与结构要简单得多. 但通道核心部分的结构基本相似. 1998 年美国 Mackinnon 实验室报道^[3], 他们成功获得了链霉菌 (*Streptomyces lividans*) K⁺ 通道核心部分的结晶, 通过 X 射线衍射得到了 0.34 nm 分辨率的三维结构. 每一 K⁺ 通道由 4 个亚单位组成, 为了简化, 图 2a 只列出 2 个亚单位. 每个亚单位含两个跨膜 α 螺旋柱形多肽, 其中一个与膜的疏水部分相接触 (S₁), 另一个的亲水一侧朝向膜的中心 (即 S₂) 形成亲水通道. 这样, 4 个亚单位就组成一个倒锥形的跨膜孔道. 值得注意的是靠近内侧一端还有 4 个连结 S₁ 与 S₂ 的环状结构, 它们分布于亲水通道的内壁起着过滤器的作用, 是 K⁺ 通道具有通透选择性的关键结构 (图 2a 和 2b). 2001 年 Mackinnon 实验室^[4] 将 KcsA 晶体 X 射线衍射的分辨率提高到 0.20 nm, 这部分结构得以进一步解析. 每一环状结构内含由苏氨酸-缬氨酸-甘氨酸-酪氨酸-甘氨酸组成的肽段, 每一氨基酸残基提供的羰基 (C=O) 指向通道的中央. 当水化的 K⁺ 通过 K⁺ 通道时, 先进行脱水, 之后与 4 个羰基相

匹配才得以通过 (图 2c 和 2d)。过滤器部分全长约 1.2 nm, 直径约 0.25 nm。每一环状结构中的 5 个氨基酸残基提供的羰基共组成 5 层检验点, 层与层之间距离为 0.3 nm (图 2d)。换言之, 每一 K^+ 通过 K^+ 通道的过滤器部分需经过 5 层检验点, 通过后又与水结合成为水化的 K^+ 。 Na^+ 的半径 (0.09 nm) 虽然比 K^+ (0.133 nm) 小 0.04 nm, 但由于水化 Na^+ 脱水后与 4 个环状结构内侧的羰基不能象 K^+ 那样相匹配 (图 2c), 因此也就不能通过 K^+ 通道。

上述 KcsA 的结构研究是 K^+ 通道处于关闭状态进行的, 最近 Mackinnon 小组^[5] 又对另一种细菌 *Methanobacterium thermoautotrophium* 的 K^+ 通道, 在 Ca^{2+} 控制下的开启状态进行三维结构研究 (分辨率为 0.33 nm), 并与关闭状态的 KcsA 进行比较, 从而获得 K^+ 通道在关闭 $\leftrightarrow$ 开启状态相互转变时构象变化的信息。

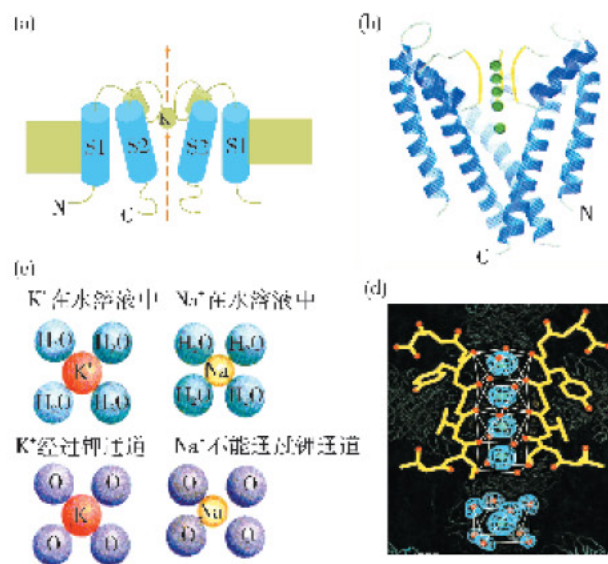


Fig. 2 Crystal structure for the pore domain of the potassium channel KcsA from *Streptomyces lividans*

图 2 链霉菌 *Streptomyces lividans* 钾通道 KcsA 核心部分的三维结构

(a) 简化模式图^[6]; (b) 具有通透选择性的关键结构部分^[7]; (c) K^+ 、 Na^+ 在进入钾通道的比较; (d) K^+ 通道具有通透选择性的关键结构部分 (分辨率 0.20 nm)^[4]。

2. Cl 通道、水通道高分辨率三维结构的解析。

Mackinnon 实验室^[8] 分别从 *Salmonella typhimurium* 和 *E. coli* 分离、纯化 Cl 通道并进行三维结构分析。Cl 通道是双聚体, 每一单体含 18 个 α 螺旋结构, 每一单体单独即可作为通道使 Cl 得以

通过。

从牛红血球分离、纯化的水通道 (aquaporin 1) 高分辨率 (0.22 nm) 的三维结构也已解析成功^[9], 通道约长 2.0 nm, 直径 0.28 nm。可以观察到与通道结合的 4 个水分子。通道专一性很强, H^+ 等离子不能通过。水通道为四聚体, 每一单体可分别通过水分子。

综上所述, 最近 5 年左右, 对于通道三维结构的解析已获得很重要的进展, 主要可归纳为: a. 从原子水平可以观察到这些通道结构的存在; b. 直接观测到被运送的离子或水分子; c. 对有关通道具有运送特异性的结构基础有较深入的了解。

3. Ca^{2+} 泵 (Ca^{2+} ATP 酶) 的三维结构。

位于肌浆网膜上的 Ca^{2+} ATP 酶 (SR Ca^{2+} ATP 酶) 对维持胞内 Ca^{2+} 的稳态平衡具有重要作用, 当 Ca^{2+} 从肌浆网内腔释放时肌肉即进行收缩, 随后 SR Ca^{2+} ATP 酶迅速将胞浆内过多的 Ca^{2+} 运入肌浆网内腔加以储存, 肌肉细胞即恢复松弛静止状态。

虽然对 SR Ca^{2+} ATP 酶在生化和分子生物学方面作了大量工作, 但对三维结构的解析在很长一段时间内没有明显进展。这主要由于 SR Ca^{2+} ATP 酶的三维晶体不理想。1998 年 Zhang 等^[10] 将 SR Ca^{2+} ATP 酶二维晶体经电镜衍射再进行三维重构获得分辨率 0.8 nm 的结果。2000 年日本 Toyoshima 小组^[11] 成功地获得与 Ca^{2+} 结合的 SR Ca^{2+} ATP 酶的三维晶体, 经 X 射线衍射获得 0.26 nm 分辨率的结果。从图 3a 可以看到原子水平的 SR Ca^{2+} ATP 酶的跨膜分布图。SR Ca^{2+} ATP 酶跨膜运送 Ca^{2+} 是一个耗能 (分解 ATP) 的主动过程, 已知 ATP 结合位点在 N 微区 (图 3a), 而磷酸化位点却在 P 微区的 351 位门冬氨酸残基 (Asp351) 上进行, 而 Ca^{2+} 的结合位点则在跨膜区, 在 N 微区结合的 ATP 怎么能使 P 微区的 351 位天冬氨酸 (Asp351) 进行磷酸化, 与此同时, 结合的 Ca^{2+} 又是如何从膜区结合位点因亲和力的改变而释放至肌浆网内腔的? 看来, 这些步骤的依次进行必须有赖于分子的构象变化。因此, Ca^{2+} ATP 酶 (或称 Ca^{2+} 泵) 对 Ca^{2+} 的运送显然有别于上述通道的运送机理, 后者在运送过程中未曾发现有构象变化的现象。对于 SR Ca^{2+} ATP 酶作用的分子机理研究已经有很多积累, 它的运送可分几个步骤, 如图 3c 所示。2000 年 Toyoshima 小组所解析的 SR Ca^{2+} ATP 酶系处于 $E1Ca^{2+}$ 状态。因此如果能将 SR Ca^{2+} ATP 酶作用过程中各中间步骤的三维结构

的解析都获得成功, 将会进一步深化对它运送 Ca^{2+} 机理的了解. 2002 年 Toyoshima 小组^[12] 又将 SR Ca^{2+} ATP 酶的 E2 · II 状态三维结构的解析获得成功 (图 3b), 将图 3a 与图 3b 加以比较, 可以明确看

到 SR Ca^{2+} ATP 酶在转运 Ca^{2+} 过程中构象的变化. 目前对 SR Ca^{2+} ATP 酶作用过程中其他中间步骤的三维结构解析仍在继续进行中.

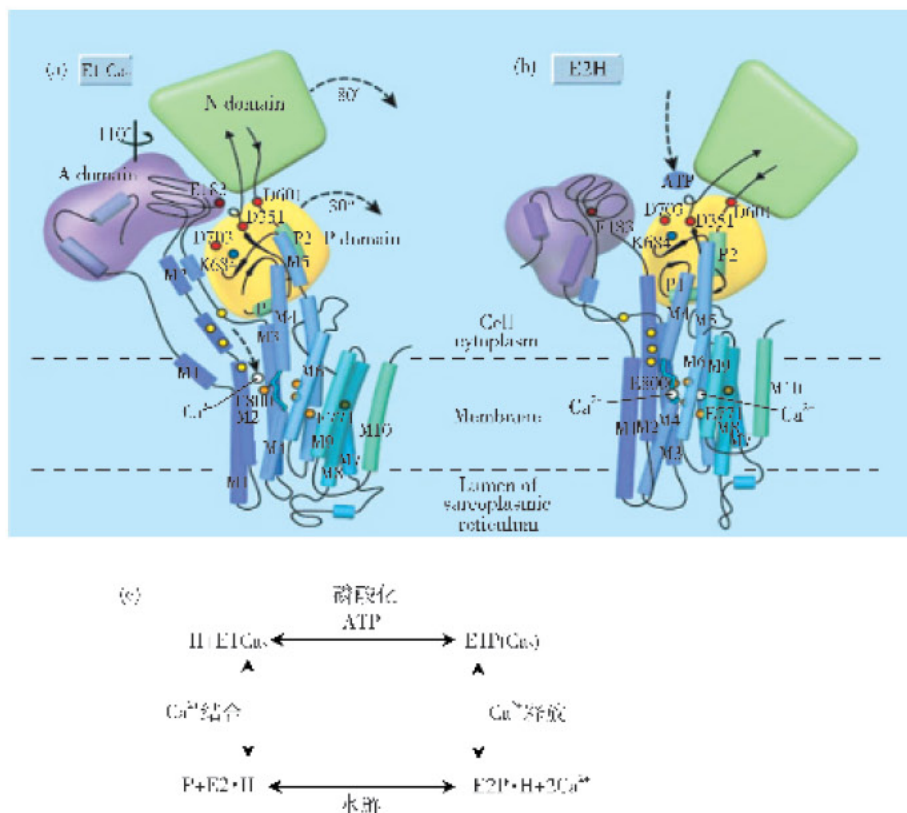


Fig. 3 Crystal structure of Ca^{2+} pump from sarcoplasmic reticulum and its intermediates during Ca^{2+} transportation^[11,12]

图3 肌浆网膜 Ca^{2+} -ATP 酶运送 Ca^{2+} 过程中中间物的三维结构^[11,12]

4. 大肠杆菌 (*E. coli*) MsbA: 一种多药耐受性的 ATP Binding Cassette 运载体 (ABC transporter) 的三维结构.

根据世界卫生组织的统计, 全世界各种感染疾病约有 60% 与多药耐受性的细菌有关, 每年大量癌症患者的不治身亡也与肿瘤细胞的多药耐受性有联系. 导致多药耐受性的原因之一在于细胞质膜分布有一种内在膜蛋白——ABC 运载体, 因此研究解析它们的结构对于寻找、开发新药显然是很重要的. 美国 Chang 与 Roth^[13] 成功地从大肠杆菌 *E. coli* 中分离、纯化一种具有多药耐受性 ABC 运载体的同系物——MsbA. 他们成功地获得 MsbA 的三维晶体并用 X 射线衍射得到 0.45 nm 分辨率的解析结果. 这种 ABC 运载体以二聚体形式存在. 每一单体由跨膜区、位于细胞质的 ATP 结合区以

及连结两者的多肽共同组成, 分子质量共计 129.2 ku. 虽然分辨率还不太高, 对于其结构细节还有待进一步研究, 但毕竟这是一个难度很高的研究成果. 从作者的报道及评论者的介绍来看, 作者在研究过程中选用了 20 种菌种, 比较了 20 种不同的去垢剂将它们所含的 ABC 运载体进行分离、纯化. 试用了 96 000 种结晶条件, 从中获得了 35 种结晶样品, 经过筛选才得到最后较理想结果. 由此可见工作的艰难.

总之, 内在膜蛋白三维结构的解析虽然取得不少可喜的成绩, 但总的来讲仍未取得突破性进展, 任重而道远. 虽然探索性很强, 难度很大, 周期很长, 但鉴于它的重要性, 世界各国仍给予很大的关注, 从最近几年发展的情况来看, 与欧洲德国、英国相比较, 美国和日本有后来居上的趋势.

2 膜脂结构的研究

生物膜膜脂主要分 3 类: 甘油磷脂 (glycerophospholipids), (神经) 鞘脂 (sphingolipid) 以及胆固醇 (cholesterol).

甘油磷脂占膜脂大多数, 对它们的研究比较多. 甘油磷脂由亲水和疏水两部分组成, 是由甘油衍生而来, 如磷脂酰胆碱, 磷脂酰乙醇胺等等 (图 4), 过去认为这些分子对生物膜起着支撑作用, 是生物膜的骨架. 但是, 愈来愈多的研究结果表明, 它们在信号转导过程中还有重要作用, 如磷脂酰肌醇 (PI) 的衍生物——PIP, PIP₂, IP₃, 甘油二酯 (diglyceride, DG) 磷脂酸 (phosphatidic acid, PA), 溶血磷脂酸 (lysophosphatidic acid) 等, 它们都是信号分子.

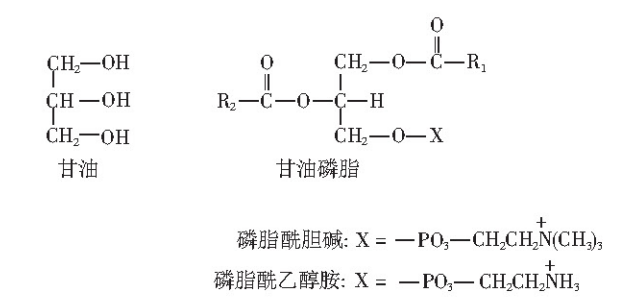


Fig. 4 Glycerol and glycerophospholipids
图 4 甘油和甘油磷脂

膜脂中还有一类称为 (神经) 鞘脂 (sphingolipids), 它们的含量低于甘油脂. 鞘脂与甘油脂在结构上的相似之处在于均含一个极性基团和二个疏水尾部, 但鞘脂中以鞘氨醇 (sphingosine) 替代了甘油脂中的甘油 (图 5). 鞘脂的基本组成由鞘氨醇和一分子含长烃链脂肪酸与

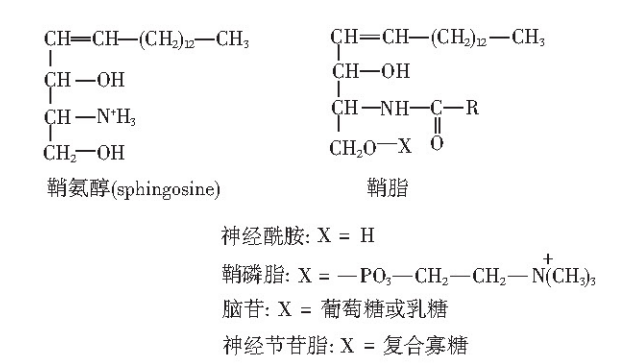


Fig. 5 Sphingosine and sphingolipids
图 5 鞘氨醇和鞘脂

其氨基键合形成的酰胺 (图 5). 最简单的鞘脂为神经酰胺 (ceramide). 如果以磷酸胆碱取代 H 即为鞘磷脂 (sphingomyelin). 它与甘油脂的磷脂酰胆碱很相似, 如果以葡萄糖或乳糖残基取代 ceramide 中的 H, 即为脑苷 (cerebrosides), 如以复杂的寡糖残基取代 ceramide 中的 H, 即为神经节苷脂, 如 GM₁, GM₂, GM₃, 等.

长期以来对鞘脂的研究比较少, 认为它们属于不具有生物活性的物质. 但近年来的研究表明, 这一概念是不确切的. 实际上, 神经酰胺, 鞘氨醇-1-磷酸都是信号分子, 而且鞘脂还参与了细胞的很多重要过程, 如信号转导, 膜的运输 (membrane traffickling), 离子通道的调节, 膜的粘连 (membrane adhesion) 等等. 我们实验室发现神经节苷脂 GM₃ 和 GM₁ 对肌浆网膜 Ca²⁺-ATP 酶 (SR Ca²⁺-ATP 酶) 的构象和活性有调节作用, 前者对酶活有激活作用, 后者则有抑制效应^[14, 15]. 以色列 Futerman 报道^[16], 神经节苷脂 GM₂ 对小鼠脑的内质网 Ca²⁺-ATP 酶有抑制作用. 很多报道还表明, 鞘脂与细胞的生长、分化、衰老、凋亡以及应急反应等都有密切关系, 也与肿瘤、糖尿病、神经退行性疾病 (如老年痴呆症, 帕金森氏症等) 的发生有关联. 当前对鞘脂的研究已经发展成为一个非常活跃而且还具有很大潜力的领域. 据统计, 有关神经酰胺的研究论文已超过 5 000 多篇.

此外, 尤其特别引人注意的是鞘脂和胆固醇是生物膜一种微区结构, 即脂筏 (lipid raft) 和质膜微囊 (Caveolae) 的主要组分. 下面扼要介绍它们的研究概况:

1 质膜微囊 (Caveolae) 是 50 年代日本科学家 Yamada^[17]在美国华盛顿大学发现的, 他在电镜下观察到上皮细胞质膜含有小孔结构, 外貌呈瓶形, 命名为 Caveolae (按希腊字原意即为小孔的意思) (图 6). Caveolae 的分布较广, 尤其是上皮细胞, 内皮细胞, 肌肉细胞 (包括心肌和骨骼肌) 等. 它是一种有微囊素 Caveolin 包被的脂质微区. 美国西南医学中心 Anderson^[18]对 Caveolae 作了系统研究, 但在一个很长时间内对 Caveolae 是否是一种假象 (Artefact) 曾有很多争论, 直至 20 世纪 90 年代由于 Caveolin (分子质量为 25 ku) 从 Caveolae 分离成功, 并在离体条件下能使脂质微区形成具有特征外貌的 Caveolae 结构, 这一争论才得澄清.

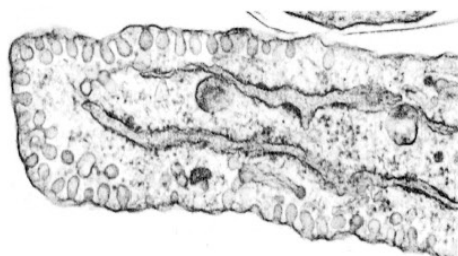


Fig. 6 Caveolae under electron microscope^[19]

图6 电镜下的质膜微囊 (Caveolae)^[19]

2 脂筏 (lipid raft) 是 1997 年美国 Simons^[20]提出的, 它们在绝大多数哺乳动物细胞质膜都有分布, 是不含微囊素的脂质微区结构. 一般大小为 55~300 nm, 是生物膜不被去垢剂所溶解的部分, 又称 detergent-insoluble glycolipid-rich domains (DIGs), 或称 detergent-resistant fractions (DRF). 因此脂筏和质膜微囊都是脂质微区结构, 前者含意比后者更广泛, 也可以说质膜微囊是脂筏的一种^[20,21].

3 脂筏的组分. a. 脂类主要含胆固醇和鞘脂, 包括鞘磷脂 (sphingomyelin) 和鞘糖脂 (glycosphingolipids), 如神经节苷脂 GM₁, GM₃ 等^[18]. b. 蛋白质: 脂筏含有很多蛋白质, 它们大多与信号转导有关 (如 G 蛋白, 一些受体, 腺苷酸环化酶等等). 很显然, 脂筏与细胞内信息传递功能密切相关^[21].

4 脂筏生物物理特性. 根据温度等因素的影响, 膜脂一般具有液晶相 (liquid-disordered phase) 和凝胶相 (gel phase), 而脂筏由于主要含有鞘脂与胆固醇, 因而呈现介于液晶相与凝胶相之间的 Lo 相或称 liquid-ordered phase. 换言之, 脂筏中的脂质分子既是有序的又呈现液相, 这是由鞘脂分子本身结构以及与胆固醇相互作用的结果.

5 脂筏的功能^[21]. 近年来的研究表明, 脂筏 (包括质膜微囊) 具有如下主要的功能: a. 信号转导: 从脂筏所含有的蛋白质和脂类来看, 其中很多都是与细胞信号转导有关的组分, 有人认为脂筏为信号转导的有效进行, 以及各种信号转导途径的“对话 cross talk”提供一个平台; b. 跨细胞运输 (transcytosis), 包括内吞和外排; c. 胞外毒素、细菌以及病毒的内吞; d. 胆固醇的运送; e. 维持胞内 Ca²⁺ 的稳态平衡.

最近几年有关脂筏对物质运送也作了不少研

究^[22]. 众所周知, 物质通过细胞膜的内吞还是外排或分泌都是以微囊 (vesicles) 形式来运送的. 大量实验结果表明, 这些微囊表面富含脂筏结构 (图 7). 胞内膜系之间的运送 (如内质网与高尔基体之间) 情况也相似. 如果组成脂筏的胆固醇或鞘脂含量有变化, 就会影响上述运送过程.

6 脂筏与疾病的关系^[21]. 脂筏和质膜微囊与细胞的一些重要功能有密切关系, 因此, 如果它们的结构与功能有所异常就必然会与很多疾病有关联. 这包括恶性肿瘤, 心血管病以及肌肉萎缩等等, 有报道质膜微囊中的微囊素-1 和微囊素-2 都具有抑制肿瘤的功能, 肺癌患者编码微囊素-1 基因的表达有降低的现象, 还发现某些肿瘤患者编码微囊素-2 的基因有缺失. 微囊素-3 主要在骨骼肌、心肌和光滑肌细胞中表达. 如果微囊素-3 的基因发生突变, 会导致一种肌肉萎缩病的形成. 因此以微囊素为靶标的药物设计正在考虑中.

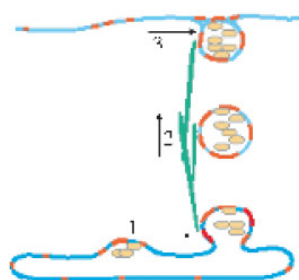


Fig. 7 Potential role of lipid rafts in vesicular transport^[22]

图7 脂筏结构在物质跨膜运送中的作用^[22]

图中膜内脂筏结构用红色表示.

7 生物膜脂筏结构与 Singer 和 Nicolson 的流体镶嵌模型. 1972 年美国 Singer 和 Nicolson 提出生物膜的流体镶嵌模型 (图 8a), 虽然已经历了 30 年, 一般认为它在基本方面仍然是正确的. 但当时并未对生物膜结构的不均匀性给以足够的考虑. 通过脂筏和质膜微囊的发现和反复鉴定, 表明生物膜应视为由脂质、蛋白质和糖组成的一个不均匀的超分子体系, 膜脂以甘油磷脂为主体, 以鞘脂和胆固醇为主要成分的大小不一的微区分散在主体中, 因此, 整个膜犹如很多微区组成的马赛克 (mosaic)^[24], 无论主体还是微区都含数量不等的膜蛋白 (图 8b 中红色为脂质微区内含的蛋白质, 绿色为分布于脂质微区之外的蛋白质). 因而, Singer 和 Nicolson 原提出的流体镶嵌模型需要有

一个较大的修正。鉴于脂筏和质膜微囊不是静止而是动态的,这就更增加生物膜结构的复杂性。

8 展望. a. 脂筏和质膜微囊的存在已经有很多实验室给以验证与肯定,这些脂质微区的生理功能究竟是什么?对于生物膜研究来说,这确是一个富于挑战和很有发展前途的领域. b. 鉴于脂筏和质膜微囊都很小,不易在位研究,又难以分离纯化,这就需要引进与创立新的方法才能将这方面的研究引向深入,国际上已经尝试将单分子技术等引入脂质微区的研究,这方面需要大力加强. c. 除

细胞质膜外,在胞内膜系中是否也有脂质微区存在?如果也有分布,它们的普遍性又如何?这些都值得进一步研究. d. 鉴于脂筏和质膜微囊含有较多信号分子,因而对它们与信号转导的关系比较关注.但是这些信号分子以及与信号转导有关的组分在脂筏和质膜微囊所呈现的 Lo 相中是否能表现出最佳的功能,这是一个需要认真思考与研究的问题. e. 脂筏和质膜微囊与医、药关系的研究还处于起步阶段,值得重视并作进一步探索.

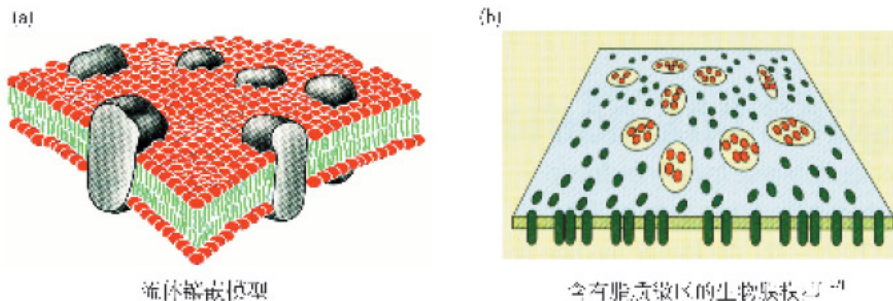


Fig. 8 Model for biomembrane

图 8 生物膜模型

(a) 流体镶嵌模型; (b) 含有脂质微区的生物膜模型^[23].

总之,无论膜蛋白的三维结构还是脂质微区结构与功能的研究都是生物膜研究的基本问题.虽然开展这方面研究的难度较大,周期较长,探索性也很强,但它们都富有挑战性,一旦有所突破对生物膜甚至生命科学的研究都将产生重大的推动作用,应引起足够的重视.

参 考 文 献

- Nelson D L, Cox N M. *Lehninger Principles of Biochemistry*. 3rd. New York: Worth Publishers, 2000. 391
- Stephen White Laboratory at University of California, Irvine. Membrane proteins of known structures. [http://blanco.biomol.uci.edu/Membrane proteins xtal. html](http://blanco.biomol.uci.edu/Membrane%20proteins%20xtal.html), 2002
- Doyle D A, Cabral J M, Pfuetzner R A, *et al.* The structure of the potassium channel: molecular basis of K^+ conduction and selectivity. *Science*, 1998, **280**: 69~77
- Zhou Y F, Morais-Cabral J H, Mackinnon R, *et al.* Chemistry of ion coordination and hydration revealed by a K^+ channel-Fab complex at 2.0 Å resolution. *Nature*, 2001, **414**: 43~48
- Jiang Y X, Alice L, Mackinnon R, *et al.* The open pore conformation of potassium channels. *Nature*, 2002, **417**: 523~526
- Sansom M S P. Ion channels: a first view of K^+ channels in atomic glory. *Curr Biol*, 1998, **8**: R450~452
- Morais-Cabral J H, Zhou Y F, Mackinnon R, *et al.* Energetic optimization of ion conduction rate by the K^+ selectivity filter. *Nature*, 2001, **414**: 37~42
- Dutzler R, Ernest B, Mackinnon R, *et al.* X-ray structure of CCl₄ chloride channel at 3.0 Å reveals the molecular basis of anion selectivity. *Nature*, 2002, **415**: 287~294
- Sui H X, Han B-G, Lec J K, *et al.* Structural basis of water-specific transport through the AQP-1 water channel. *Nature*, 2001, **414**: 872~878
- Zhang P J, Toyoshima C, Yonekura K, *et al.* Structure of the calcium pump from sarcoplasmic reticulum at 8 Å resolution. *Nature*, 1998, **392**: 835~839
- Toyoshima C, Makasako M, Nomura H, *et al.* Crystal structure of the calcium pump of sarcoplasmic reticulum at 2.6 Å resolution. *Nature*, 2000, **405**: 647~655
- Toyoshima C, Nomura H. Structural changes in the calcium pump accompanying the dissociation of calcium. *Nature*, 2002, **418**: 605~611
- Chang G, Roth C B. Structure of MsbA from *E. coli*: A homolog of the multidrug resistance ATP Binding Cassette (ABC) transporters. *Science*, 2001, **293**: 1793~1800
- Wang L H, Tsui Z C, Yang F Y, *et al.* Effect of ganglioside GM3 on the activity and conformation of reconstituted Ca^{2+} -ATPase. *FEBS Lett*, 1996, **388**: 128~130
- Wang Y L, Tsui Z C, Yang F Y, *et al.* Antagonistic effect of ganglioside GM1 and GM3 on the activity and conformation of sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase. *FEBS Lett*, 1999, **457**: 144~146
- Pelled D, Lloyd-Evans E, Futerman A H, *et al.* Inhibition of calcium uptake via the sarco/endoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase (SERCA) in a mouse model of Sandhoff disease, and

- prevention by treatment with N-butyldeoxynojirimycin. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>, 2003-05-19
- 17 Yamada E. The fine structure of the gall bladder epithelium of the mouse. *J Biophys Biochem Cyto*, 1955, **1**: 445~458
- 18 Anderson R G. The caveolae membrane system. *Ann Rev Biochem*, 1998, **67**: 199~225
- 19 Marx J. Caveolae; A once-elusive structure gets some respect. *Science*, 2001, **294**: 1862~1865
- 20 Simons K, Ikonen E. Functional rafts in cell membranes. *Nature*, 1997, **387**: 569~572
- 21 Zajchowski L D, Robbins S M. Lipid rafts and little caves. Compartmentalized signalling in membrane microdomains. *Eur J Biochem*, 2002, **269**: 737~752
- 22 Ikonen E. Role of lipid rafts in membrane transport. *Curr Opin Cell Biol*, 2001, **13** (4): 470~477
- 23 Lee A. Membrane structure. *Curr Biol*, 2001, **11** (20): R811~R814
- 24 Maxfield F R. Plasma membrane microdomains. *Curr Opin Cell Biol*, 2002, **14** (4): 483~487

Recent Advances in The Study of Membrane Structure

YANG Fu-Yu

(National Laboratory of Biomacromolecules, Institute of Biophysics, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract The task of determining the structure of membrane proteins has been hindered by experimental difficulties. Recent success in crystallising a number of channels (K^+ channel, Cl^- channel, Aquaporin 1 etc) and pumps (Ca^{2+} pumps) has led to the determination of 3D structures of a number of proteins responsible for selective transport of polar molecules and ions across biological membranes. In recent years several lines of evidence indicate that the lipids in the plasma membrane of animal cells are inhomogeneously distributed. Lipid rafts and caveolae are cholesterol-sphingolipid enriched microdomains. The characteristics of these domains, such as size, composition and dynamics were briefly reviewed in the present paper. A large number of signalling molecules are concentrated within these lipid microdomains, which has been proposed to function as signaling centers. Besides, the roles of lipid rafts in membrane transport were also discussed.

Key words membrane proteins, 3D structure, lipid rafts, caveolae

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

Received: May 26, 2003 Accepted: June 10, 2003