

第二章 细胞膜与物质转运

所有细胞表面都被一层膜性结构所包被，这层膜性结构称为细胞膜（cell membrane）。细胞膜在进化过程中最主要的功能是保护细胞免于外界损害。细菌等原核细胞仅有外周细胞膜，而真核细胞的细胞膜在进化过程又逐渐演化成两类，包裹细胞最外层的细胞膜（也称质膜，plasma membrane）和胞内多种细胞器的内膜（internal membrane）。内膜与细胞膜统称为生物膜（biomembrane），它主要由脂和蛋白质组成。

近年来，人们对细胞膜的功能有了重新认识，除了保护细胞之外，细胞膜的功能还与营养摄取、废物排泄、物质转运、信号传递、细胞识别及细胞粘附有关。细胞内膜的功能除了维持细胞器结构外，更主要是将某些特殊功能性蛋白质局限在某一细胞器，如蛋白水解酶主要集中在溶酶体，能量代谢相关酶主要存在于线粒体，而蛋白合成酶位于内质网和高尔基体。

第一节 细胞膜研究的发展历程

一、细胞膜由双层脂质构成

细胞膜非常薄，难以用普通光学显微镜观察。直到 20 世纪 50 年代，人们使用电子显微镜才第一次直观地研究细胞膜结构。而此前，对细胞膜的认识经历了漫长的历程。

19 世纪末 Nageli, Pfeffer 和 Overton 相继发现，不同物质进出细胞的快慢有别，因此怀疑这种速率差可能是细胞膜通透限制所致。后来 Overton 研究又发现，物质进出细胞膜的速度与其在脂质中的溶解度有关，溶解度越高，进出速度就越快，反之则慢，由此推测细胞膜可能由脂质组成。那么细胞膜的脂质是如何排列的呢？几年后 Langmuir 研究发现，将提纯的磷脂分子平铺在水面上会自动形成一个薄层，据此，他认为磷脂是由亲水性（hydrophilic）亦称极性（polar）区和疏水性（hydrophobic）区两部分组成。亲水区溶于水，而疏水区不溶于水。脂质分子一旦接触水面，就将聚合起来，此时亲水区头侧（head group）朝向水分子，而疏水区尾端（tail group）背向水面（图 2-1）。

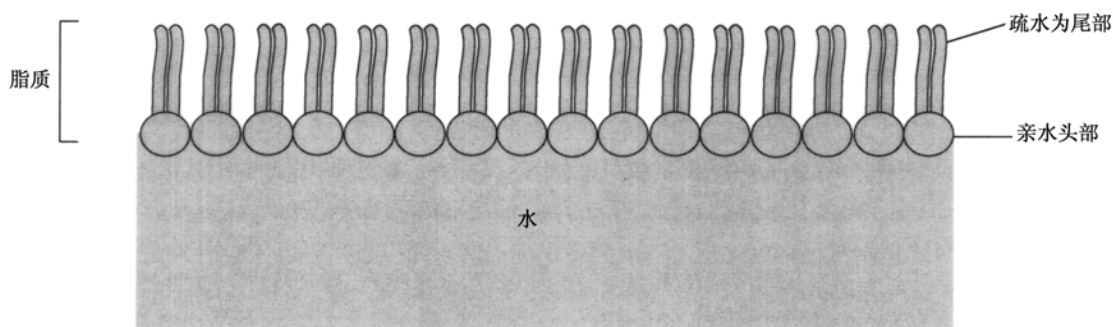


图 2-1 脂质分子在水面上的排列模型

Langmuir 的学说后来得到 E. Gorter 和 F. Grendel 的认同。他们于 1925 年报道，若将自红细胞提取的脂质铺展到水面上，脂质形成面积正好是红细胞表面积的两倍，因此推断，细胞质膜是由双层脂质分子所构成（图 2-2）。Gorter 和 Grendel 细胞膜结构学说一经提出，很快就受到怀疑。E. Harvey 和 J. Danielli 采用生物物理学方法测定细胞表面张力，发现由提纯脂质围成的人工质膜张力总是明显高于天然质膜的张力，提示细胞膜不单单是由脂质单一成分构成，还可能夹杂着其他分子。如果向人工脂质膜中加入一定量的蛋白质，则表面张力与典型的细胞膜几乎相等，这一实验说明，细胞膜不仅包含脂质，也包含蛋白质。后来 Davson 与 Danielli 通力合作，通过实验再次证明细胞膜中含有蛋白质。依据这些结果，他们推理，细胞膜由双层脂质膜形成，脂质的亲水区（头侧）并行排列，内外两侧各覆盖一层蛋白质，即蛋白质-脂质-蛋白质夹层结构，形同三明治（图 2-2）。细胞膜“三明治”学说曾主导学界长达 25 年之久。

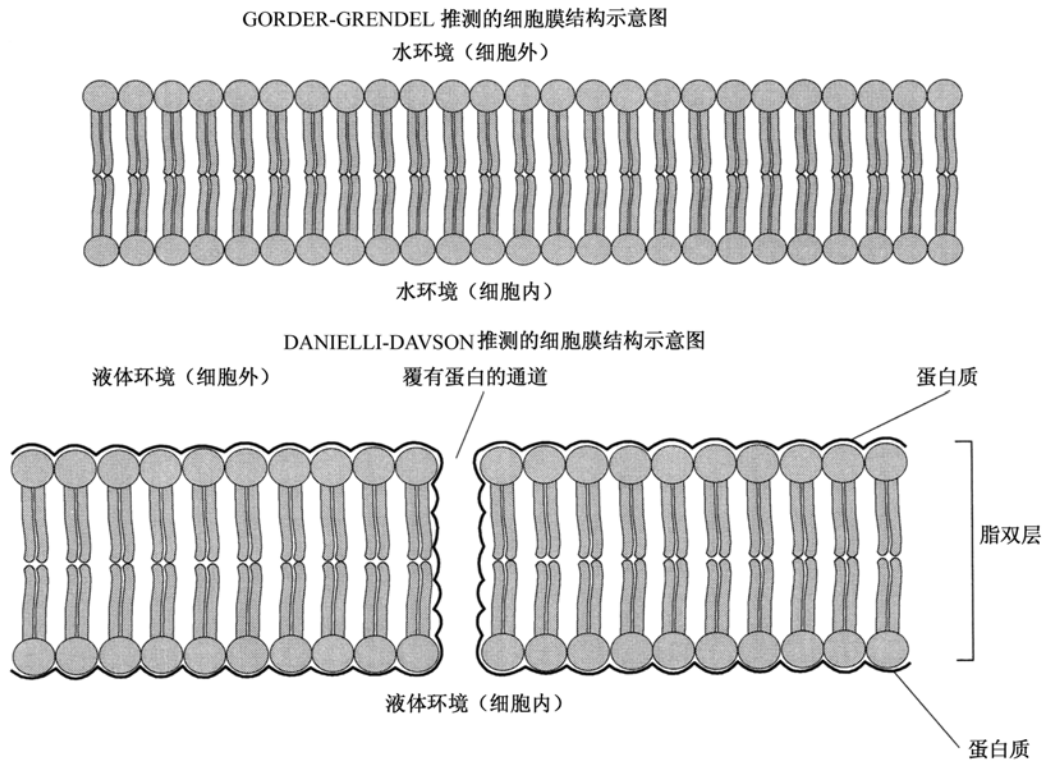


图 2-2 早期推测的细胞膜结构示意图

直到上世纪 50 年代，人们开始使用电子显微镜技术研究细胞膜结构。电镜显示，细胞膜厚度约 7~8nm，由三条带组成，内外侧带着色较深，中间带着色较浅，D. Roberson 将这一结构称为三层板（trilamina），他认为，所谓中间的浅色带是由疏水的脂质尾部构成，而两侧较深的带实际上为亲水脂质头部及结合的蛋白质。从本质上看，Roberson “三层板”学说同前面提到的“三明治”理论同出一辙，只不过电镜观察到的“三层板”结构为 Davson-Danielli 的理论提供了强有力的实验证据。

二、细胞膜学说的纷争

尽管上述两种模型得到广泛的认同，但进入 20 世纪 60 年代后，有关细胞膜研究中遇到

许多实际问题，难以用 Davson-Danielli 解释，这些问题包括：

1) 细胞膜的厚度为 7~8nm，其中脂质占 5nm，换言之，蛋白质只有 1~2nm 厚，如果如此，只有 β -片层结构的蛋白质才符合这一厚度。事实上，用物理方法测得的膜蛋白质基本上以球蛋白为主，而球蛋白肽链更多的是呈 α -螺旋，也就是说，膜蛋白不可能以直接包裹脂质形式存在。

2) 按照“三明治”学说，膜脂质头侧极性区和膜蛋白侧链以离子键形式结合，如是在制备膜蛋白过程中，提高离子浓度，就应该有利于蛋白与脂质解离。然而，实验确发现，大多数膜蛋白不因离子浓度的升高而增溶。相反，如果采用高离子浓度溶液分离膜蛋白，提取脂膜很难再溶于水。这一结果再次提示，膜蛋白与膜脂不一定以离子（极性）键结合，可能与疏水区尾侧以非极性键结合。

3) “三明治”学说认为，在单位面积内，细胞膜中脂质的数量应该围成双层脂膜所需要的理论值相等。但实际测量发现，膜中脂质分子数量明显低于理论值，进一步说明，细胞膜的脂质双层中有可能有蛋白质分子插入，占据一定的空间与面积。

4) 按照“三明治”学说，由于膜脂被膜蛋白所包裹，不应该被磷脂酶（一类专门溶脂的酶）降解。但实际上，约 75% 的膜脂在加入磷脂酶后可被降解。这一事实充分说明，细胞膜的脂质是裸露的，并没有被膜蛋白覆盖。

5) 依据“三明治”理论，位于膜中央的脂质，无论是否具有极性，都因外表都被蛋白质所覆盖，表现出疏水性。但如果将分离的细胞膜置于水环境中，其脂质和蛋白质都遵从热动力平衡定律，即极性区亲水，而非极性区疏水。很显然“三明治”理论不符合于热动力平衡定律。

6) “三明治”理论强调膜蛋白与膜质所占比例适当，这样细胞膜脂才能被蛋白包裹。事实上许多细胞膜细胞膜中两者比例相距甚大。比如神经元的轴突被膜（髓鞘质 myelin）的蛋白质与脂质比值只有 0.25，而线粒体膜中两者比值为 3.2，即这两种细胞膜蛋白与膜脂之比绝对值相差 10 多倍。由此，人们怀疑轴突被膜中过少的蛋白质，是否足以包裹脂质；相反线粒体膜被过多蛋白质包裹，形同盔甲，是否影响它的呼吸功能。

三、细胞膜流动镶嵌模型是最佳的学说

针对“三明治”学说暴露出的种种问题，S J Singer 和 G Nicolson 在 1972 年提出细胞膜流动镶嵌模型（fluid mosaic model），已得到细胞生物学界的广泛认同（图 2-3）。该模型

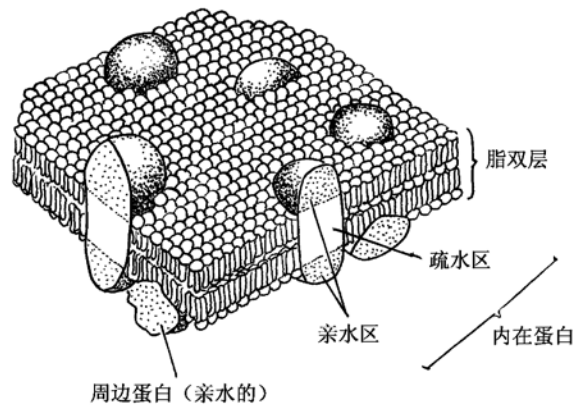


图 2-3 细胞膜流动镶嵌模型

的主要特点是：①膜脂是由双层脂质分子构成。其极性头部和非极性尾部磷脂侧向排列，并形成封闭的环状。疏水性非极性区尾部相对，朝向内侧，亲水极性区朝向外侧。脂质分子中间镶嵌着蛋白质，镶嵌蛋白量依据细胞膜类型不同，差异较大。②脂质双层是流动的，不仅脂质分子，蛋白质分子也可流动。流动的方式可以是沿细胞膜的侧向扩散（lateral diffusion），也可是跨膜扩散（transverse diffusion），后者也称翻转（flip-flop）。③蛋白质嵌入细胞膜的方式各异，主要为整合式、膜边式和脂锚定式三种。整合式蛋白质（integral protein）是指蛋白质插入双层脂质中间，其结合力主要以疏水键方式维系。膜边式蛋白质（peripheral protein）是指蛋白质结合在膜内侧或膜外侧，这种结合力主要靠离子键。膜蛋白还可以脂锚定式蛋白质（lipid-anchored protein）与脂质结合，这种方式也是结合到膜内侧或外侧，与膜边式不同的是，它主要借助于非共价键与脂质结合。

流动镶嵌模型圆满地解释了“三明治”学说留下的疑惑。例如，膜蛋白嵌入双层脂质中与后来的经冷冻蚀刻电镜观察到双层脂膜之间的蛋白颗粒分子相符，再如，穿膜蛋白与脂质双层以疏水的非极性键结合，这一推测符合实验结果，增加离子浓度并不能有利于膜蛋白的提取，由此可见穿膜蛋白不是附着在膜表面，而是镶嵌在脂质层中间。

第二节 细胞膜的化学成分

细胞膜由脂质，蛋白质和糖三种成分组成。其中糖分别与脂和蛋白质结合，形成糖脂和糖蛋白，糖单独存在于膜的情况甚少。本节主要介绍膜脂和膜蛋白。

一、膜脂

细胞膜性结构种类各式各样，如细胞膜，内膜及核膜，其组分也各不相同，但生物膜脂质双层的空间构象却都几乎一致。

（一）磷脂，糖脂和类固醇是膜脂质的三种类型

1. 磷脂

磷脂（phospholipid）系膜质中的基本成分，约占整个膜质的一半以上。动物细胞膜的磷脂包括两种：甘油磷脂（phosphoglyceride）和鞘磷脂（sphingomyelin）。甘油磷脂的骨架包括四部分：酰基脂肪酸链、甘油、磷酸和醇类化合物。如果醇类化合物为胆碱（choline），则甘油磷脂称为磷脂酰胆碱（phosphatidylcholine），即卵磷脂（图 2-4 上）；如换成丝氨酸（serine），乙醇胺（ethanolamine）、肌醇（inositol），则分别称为磷脂酰丝氨酸，磷脂酰乙醇胺和磷脂酰肌醇。这四种甘油磷脂是构成膜脂的主要成分（图 2-4 下）。

鞘磷脂也是磷脂的一种，主要见于神经轴突鞘，故名。鞘磷脂与甘油磷脂结构上的最重要差别是以鞘氨醇（sphingosine）替代甘油，其余骨架部分同甘油磷脂。

组成细胞膜的磷脂都是有极性的。如同本章第一节细胞膜结构所述，极性部分为醇类分子和磷酸，非极性部分实际上是两条酰基脂肪酸链。磷脂分子这一亲水性和疏水性共存的特性称为两亲性（amphipathic）。不同物种细胞膜的磷脂组成不尽相同。图 2-5 所示鼠肝、植物、大肠杆菌和人神经鞘细胞膜中磷脂所占比例。在鼠肝细胞膜的磷脂酰胆碱（卵磷脂）占首位，而在菠菜细胞膜和人神经鞘膜中却占第二位，在大肠杆菌中则没有卵磷脂。

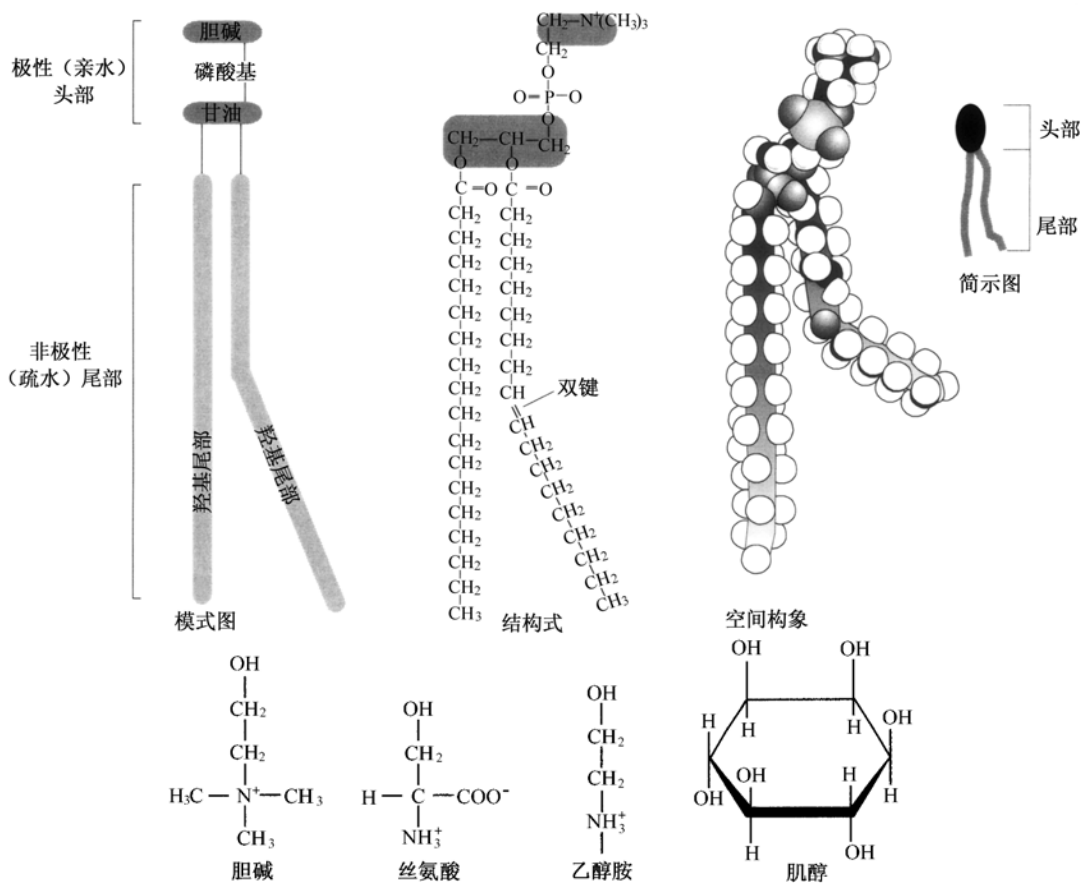


图 2-4 磷脂的排列结构示意图(上)和磷脂的主要类型(下)

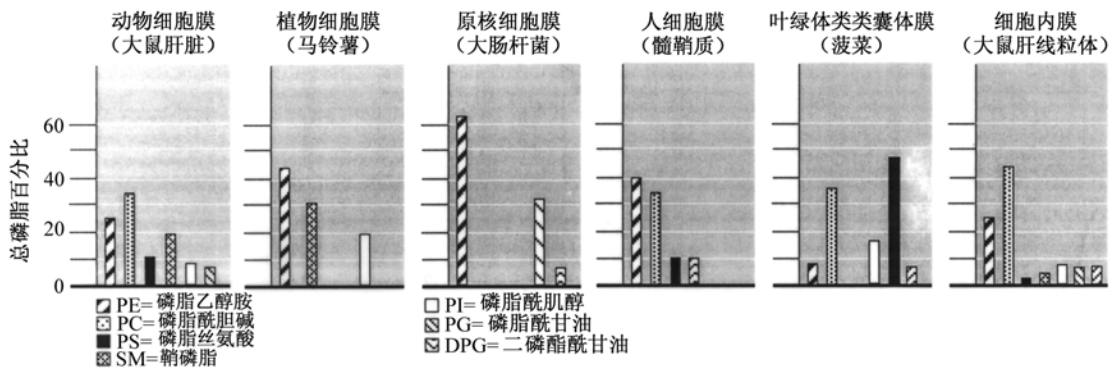


图 2-5 多种物种细胞膜磷脂比例

2. 糖脂

糖与脂质组成糖脂(glycolipid)。最简单的糖脂是脑苷脂, 由一个葡萄糖(或半乳糖galactose)与鞘氨醇及十八碳原子的油酸组成。人体细胞, 特别是神经细胞膜中常见的另一类糖脂是神经节苷脂(ganglioside), 它是由一个或多个糖残基与带负电的唾液酸残基结合

而成，约占神经细胞脂质的 5%~10%。神经节苷脂代谢性沉积可引发严重的神经系统症状，如痴呆、脑退化、失明等，这是由于氨基己糖苷酶 A 先天性缺乏所致，临床上称 Tay-Sachs 病（泰萨幼年黑蒙白痴症）。细胞膜上的神经节苷脂被认为是霍乱菌毒素的受体（见细胞膜受体章节），当霍乱毒素与神经细胞和肠上皮细胞（含丰富的神经节苷脂）结合时，可引起神经兴奋信号传导紊乱及大量的 Na^+ 和 H_2O 进入肠细胞，因而临床表现为谵语、惊厥、剧烈腹泻等神经系统和消化系统症状。

3. 类固醇

类固醇（steroid）是一种来自动物和植物的环状化合物，类固醇也称甾类化合物，种类繁多，是构成雌激素的前体。胆固醇（cholesterol）是构成真核细胞膜的主要成分之一，动物细胞膜中胆固醇占脂质的比例可达 30%~50%。在脂质双层中，胆固醇的羟基团头部紧邻磷脂的头部极性区，中间为刚性的类固醇环状结构，这一结构与脂质双层中排位靠前的几个磷脂氢键（ CH_2 ）互相作用，因此，膜脂的活动度降低，具有一定刚性，小分子脂溶性物质难于通过胆固醇含量较高的细胞膜。由于胆固醇的存在，哺乳动物细胞膜的稳定性提高，而细菌膜中因为无胆固醇，相对比较脆弱。

（二）脂质双层是流动的膜性结构

早在上世纪 70 年代，人们利用电子自旋共振技术（electron spin resonance, ESR）研究脂质分子在细胞膜上的运动。ESR 是将一个非配对电子（常为氧化氮）标记到磷脂脂肪酸链的尾部，当把磷脂置入外界磁场中，标记的非配对电子能够吸收并释放能量。此时，以磁场强度与电子吸收之间关系作图，便可得到 ESR 光谱。ESR 光谱受非配对电子运动的影响，如果将氧化氮标记磷脂掺入细胞膜，就可观察前者在细胞膜脂质双层中的运动规律。ESR 结果显示，膜脂质的运动方式即不像完全流动的液体，也不同于凝固的固体，而是介于它们之间（图 2-6）。

由 ESR 结果可知，膜质中的磷脂可能是介于固态与液态之间的某种运动形式。磷脂运动几乎以平面运动为主，即二维性。磷脂可沿脂质双层向两侧扩散，称为侧向扩散（lateral diffusion）。侧向扩散速度极快，扩散系数为 $10^{-8}\text{cm}^2/\text{秒}$ ，相当于在直径 $2\mu\text{m}$ 大肠杆菌中每秒穿行一次。侧向运动时，磷脂的构象保持不变，即极性头朝外侧，非极性尾朝内侧。脂质的另一种运动方式是自旋（rotation），即沿纵轴自身转动。脂质的第三种运动方式是翻转（flip-flop），即内侧或外侧的脂分子翻转向对侧。脂质翻转的几率微乎其微，平均为每一分子每月翻转一次，且翻转的速度极慢，需几个小时才能运动到对侧膜表面（图 2-7）。

膜的流动性依赖于其组成成分和温度。在较低温度下，双层脂质呈“胶状”固态，随着温度升高，固态脂质开始“熔化”，变为液态。脂质由固态转变为液态的相对应的温度称为跃迁温度（transition temperature, T_m ）。不同生物体的细胞膜，组成成分不同， T_m 值也不同。 T_m 值越高，表示细胞膜呈相对固态，其膜脂流动性越低。 T_m 值主要受三种因素影响：脂肪酸链的长短、脂肪酸的饱和程度、类固醇的含量。一般说来，①脂肪酸链越长，其 T_m 值也越高，即含长链脂肪酸的膜流动性较低。②不饱和脂肪酸的 T_m 值低于饱和脂肪酸，故含不饱和脂肪酸的细胞膜流动性较高；油酸和硬脂酸同为 18 碳原子的脂肪酸，由于油酸是不饱和脂肪酸，故油酸组成细胞膜的流动性大大高于硬脂酸组成的细胞膜（ T_m 相差 80°C ）。③类固醇的含量，特别是胆固醇，其环状分子难以变形，活动受限，因此含胆固醇较高的细胞膜流动性较差。如果过量的胆固醇沉积在动脉血管壁内皮细胞膜，会造成膜流动性降低，被认为是动脉硬化的诱因之一。

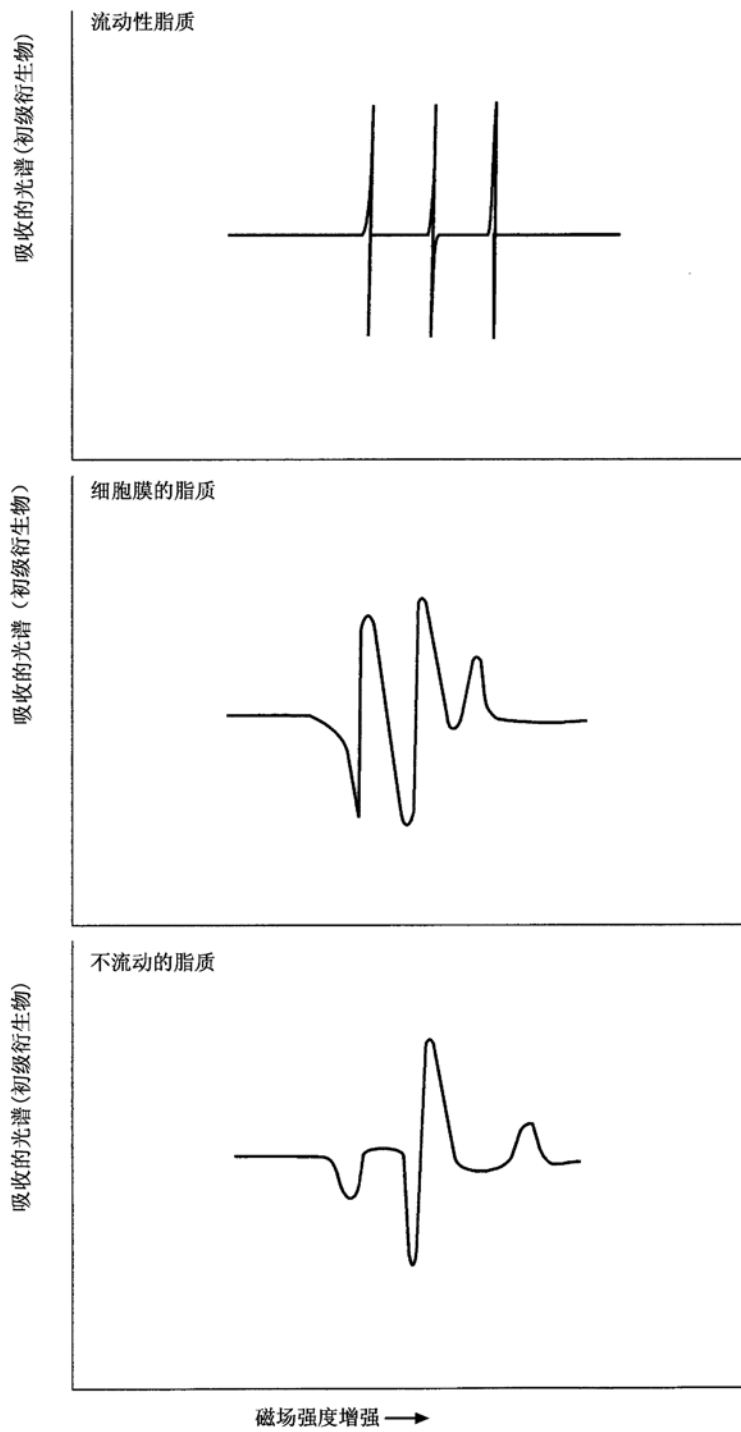


图 2-6 ESR 光谱分析显示膜脂的流动性

二、膜蛋白

对于细胞膜而言，双层脂质只是提供了一个结构基础。而细胞膜的功能却是由膜蛋白来完成。动物细胞的膜蛋白常常占到膜重量的 50% 之多。动物细胞内共有 9 种生物膜性结构，

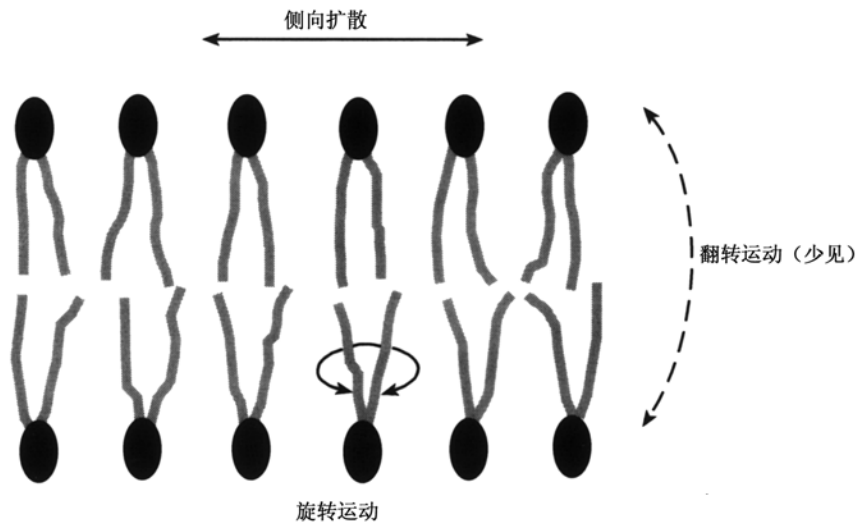


图 2-7 脂质分子的三种运动方式

膜蛋白的种类不同决定了细胞膜功能不同。绝大多数膜蛋白的功能有四种（图 2-8）：①参与物质转运；②作为细胞外信号受体；③粘附作用；④酶催化作用。

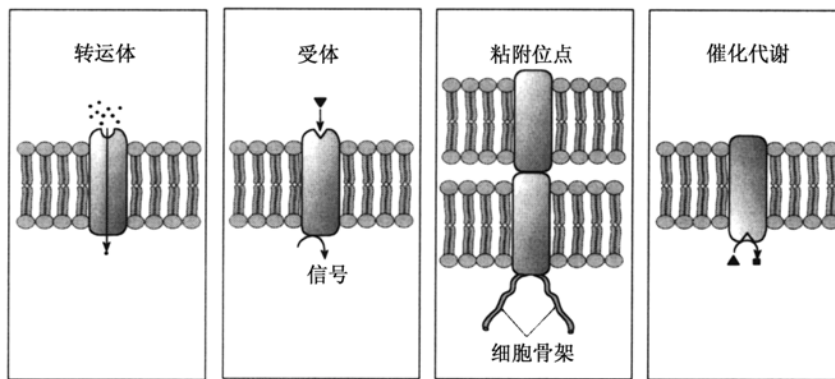


图 2-8 膜蛋白功能示意图

(一) 膜蛋白存在的三种方式

1. 跨膜型

蛋白质的主体部分穿细胞膜，形成跨膜蛋白（transmembrane protein），其中又分单次贯穿（single-pass），多次贯穿（multi-pass）及多亚基贯穿（multi-subunit）三种类型。跨膜蛋白多与膜脂质头部和尾部以极性键和非极性键分别结合，从而整合到细胞膜，因而亦称整合型膜蛋白（integral protein）。膜受体蛋白和转运蛋白多以穿膜形式存在。它们主要整合到细胞膜中间，只有用去垢剂或有机溶剂使细胞膜崩解才能提取到此类蛋白。

跨膜蛋白的跨膜区域一般含 15~20 个疏水性氨基酸，形成 α -螺旋。疏水性氨基酸侧链容易与双层脂质中磷脂的非极性尾部结合。跨膜区域之外的氨基酸多为极性。根据氨基酸亲水性不同这一特点，对序列已知的膜蛋白可以用计算机分析其中潜在的跨膜 α -螺旋区域，称为亲水性拟合图（hydropathy plot）（图 2-9）。

虽然大多数穿膜蛋白的跨膜区是 α -螺旋，但个别也有 β -片层。真核细胞线粒体外膜和大肠杆菌胞膜的孔蛋白（porin）就是典型代表。 β -片层的肽链呈环型并列，在膜上形成“管”

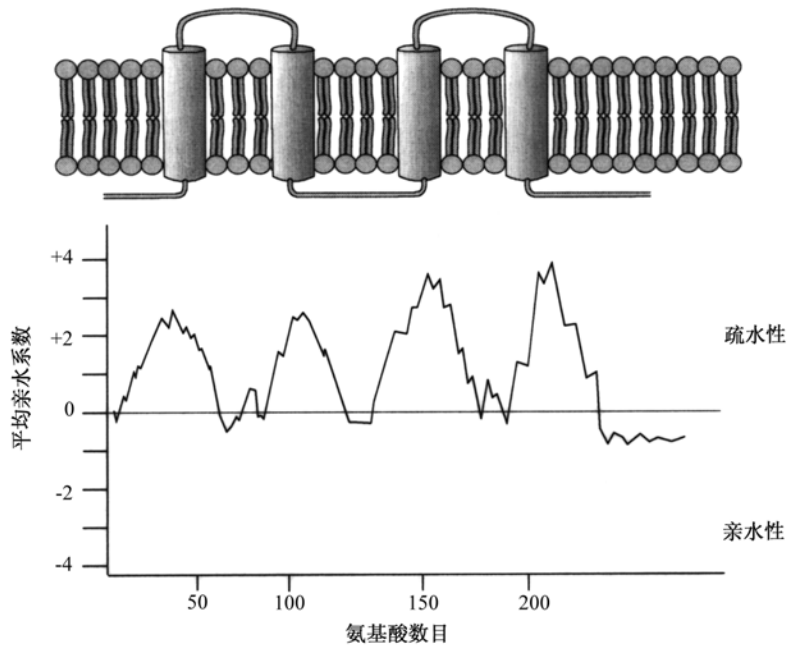


图 2-9 穿膜蛋白的亲水性拟合

状”通道。管的内壁依托着亲水性氨基酸侧链，外壁则包裹着疏水性氨基酸。孔蛋白通道充满水，能够允许分子量小于 10^4 Da 物质通过。

2. 膜周蛋白

膜周蛋白 (peripheral membrane protein) 是指以弱的静电键 (electrostatic bond) 结合于头侧极性区脂质分子或穿膜型蛋白膜区域的蛋白 (图 2-10)，膜周蛋白可以离子溶液分离提取。膜周蛋白与穿膜蛋白之间有时难以截然划分，因为多数膜蛋白常由数个多肽链组成，有些肽链是穿膜型，有些则附着于膜周围。研究最为透彻的膜周蛋白要数附着于细胞膜胞浆侧的纤维网样骨架蛋白，其作用如同船锚一样将穿膜蛋白紧紧固定在细胞膜上。其他一些蛋白质如细胞表面受体、酶、细胞包被等也属膜周蛋白，它们通常与细胞外基质相连。膜周蛋白在细胞膜呈动态分布，依细胞状态、外界变化及生理需求而被随时征召 (recruit) 到细胞膜或由此脱离。

3. 脂锚定型

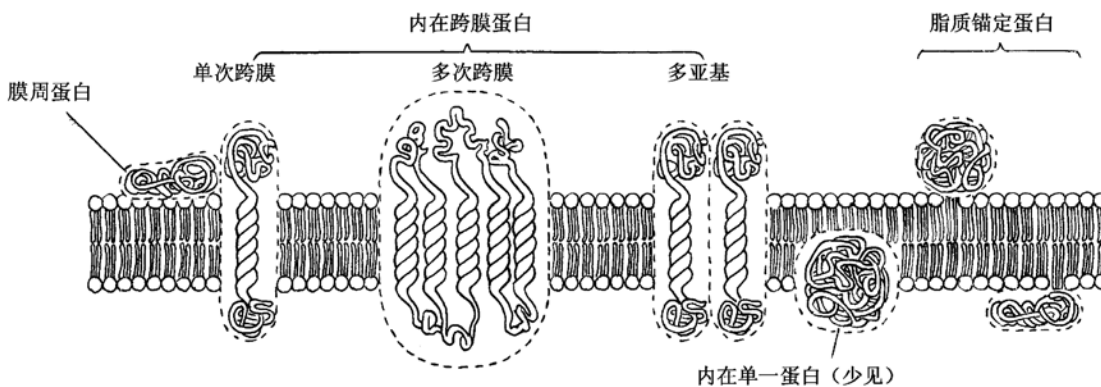


图 2-10 膜蛋白的三种存在方式

除穿膜型和膜边型外，膜蛋白还特异性附着在某些脂质上，称为脂锚定型 (lipid-anchored protein)。这类膜蛋白位于膜的两侧，形同膜边蛋白，但与后者相比最本质的区别是以共价键与脂质结合。因此，分离脂锚定蛋白也必须使用去垢剂和有机溶剂。

提纯膜蛋白，分析其结构是一项艰苦工作，目前利用基因工程手段表达膜蛋白，但难以形成晶体，因而多数膜蛋白的结构尚不完全明了。

(二) 用去垢剂可溶解膜蛋白

为了研究膜蛋白的结构与功能，首先必须将其从细胞膜上分离出来，并加以纯化。最有效的方法是用去垢剂使细胞膜崩解。去垢剂是一端亲水，另一端疏水的两性分子 (图 2-11)，有点类似磷脂，但与其不同的是，去垢剂只有一条脂肪酸链，在水中聚集呈微球状 (micelle)。用过量的去垢剂与细胞膜混合，通过去垢剂疏水端与跨膜区疏水氨基酸相互作用，可使膜蛋白从脂质双层中解离出来，形成去垢剂-蛋白的复合物。由于去垢剂另一端具有极性，因此，可以通过电泳方法，比如 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 将膜蛋

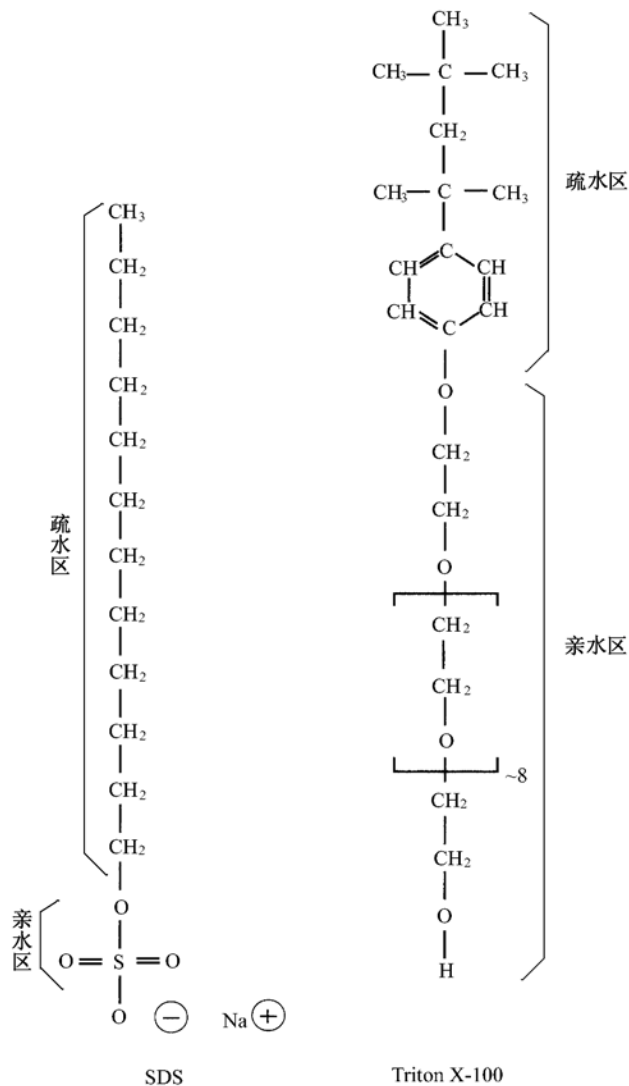


图 2-11 SDS 和 Triton X-100 的分子结构

白与脂膜分离开来。

常用的去垢剂有两类，离子型和非离子型。十二烷基磺酸钠（sodium dodecyl sulfate, SDS）为离子型去垢剂，它不仅使细胞膜崩解，并与膜蛋白疏水区结合，而且还可破坏蛋白质内部的共价键，使蛋白质变性，因此，欲制备活性膜蛋白常采用非离子型去垢剂。曲拉通 X-100 (Triton X-100) 为常用的非离子型去垢剂。

（三）膜蛋白也是流动的

前述膜脂在细胞膜中可以侧向运动，膜蛋白是否也具有流动性？David Frye 和 Michael Edidin 利用小鼠细胞体外融合这一经典实验，证明膜蛋白同样可以流动的。实验中以绿色和红色两种荧光素抗体分别标记鼠和人细胞膜蛋白，细胞融合后数分钟内，两种颜色的荧光在细胞膜上清晰可分。此后荧光素开始扩散，在 30 分钟之后，细胞表面红绿两种颜色的界限已难以分清，这提示，与抗体结合的膜蛋白可在细胞膜上自由运动。之后不久，又有人利用抗体与细胞膜蛋白聚集实验进一步证明膜蛋白具有流动性。当一个多价抗体（指有两个以上结合位点）与细胞膜特异性受体蛋白共育时，常常见到膜表面相邻蛋白交联在一起，即成斑（patching）。如果在可移动细胞表面（如白细胞）模拟成斑过程，这一斑块随后可主动地漂移到细胞的另一端，形成所谓“帽子”（capping）。成斑和成帽这两种现象的机制可能与膜蛋白与膜内骨架蛋白相互作用相关。

上述实验间接证明膜蛋白是可以流动的。但真正直观记录其运动证据的实验来自于光脱色复性技术（fluorescence recovery after photobleaching, FRAP）。这一技术的原理是，用荧光物质标记细胞膜蛋白或膜脂，然后以一束激光照射细胞膜，使某一部分的荧光退色（bleaching）。如果膜蛋白是流动的，当停止激光照射后，退色部位的荧光又可恢复，根据其恢复速度可以计算出膜蛋白或膜脂的扩散速率。FRAP 测定结果显示，脂质分子扩散率可达每秒数微米，而大多数膜蛋白扩散速度远远低于这一数值，仅为脂质运动速度的千分之一到万分之一。

膜蛋白也没有膜脂活动度大。绝大多数蛋白只是在细胞膜的特定区域流动。这是因为膜蛋白多由结构与功能各异的活性区域组合而成，这些活性区域也称结构域（domain）。例如肌细胞膜上的乙酰胆碱受体，必须紧邻旁侧的神经细胞才能接受神经信号。对于膜蛋白流动相对较弱还有一些其他解释，如膜蛋白常聚集成团；常锚定在细胞骨架或细胞外基质；易通过紧密连接形成膜屏障等。

三、膜糖类

真核细胞表面覆盖着很厚的糖类分子。它们以共价键方式与脂质和膜蛋白结合，短链糖（寡糖）与膜蛋白组成糖蛋白（glycoprotein），而长链糖（多糖）与膜蛋白结合称为粘蛋白（proteoglycan）。糖蛋白、粘蛋白和糖脂的糖分子侧链在细胞表面形成细胞胞衣（cell coat），又称糖萼（glycocalyx）。

糖萼的主要功能是保护细胞，兼有润滑作用。由于糖分子溶于水，糖萼使细胞表面光滑。糖萼还具有识别功能，比如凝集素（lectin）蛋白特异性识别某些寡糖侧链并与之结合。与肽链中氨基酸之间肽键排列规律相比，糖键则复杂许多。即使最简单的三个糖分子的空间构象也能超过百种。