

嗜盐菌紫膜质子转移的非平衡过程分析

谈 洪 谈 曼 琪

(中国科学院力学研究所) (中国科学院生物物理研究所)

摘 要

本文提出光控制离子通道的开关模型,对嗜盐菌紫膜的质子迁移的不可逆过程进行了定量的分析。紫膜吸收光子使 Schiff 碱基去质子化,从而打开了离子通道,但当返回 bR_{70} 时又关闭了通道,给出描述这种模型的一组非线性微分方程组,并讨论了方程的稳定性。对于稳态的数值计算结果和 Bakker 的实验数据符合得很好。

1967年发现的嗜盐菌紫膜^[1]近年来成为生物膜研究中的主要课题之一。它的功能相当于一个光泵浦的质子泵,吸收可见光能把质子(氢离子)从细胞膜内泵浦到膜外,形成质子浓度梯度,利用这个梯度合成 ATP。从能量转换上说,它具有叶绿体的基本功能,但它的光化过程、膜的化学组成及物理结构都远比后者简单。它便于和壁蛋白分离^[2]给实验上带来方便之处。

紫膜中只有一种多肽,分子量为 25,100,含有七个赖氨酸,这种蛋白质被称为菌紫红质。它的许多性能和视盘膜中发现的视紫红质很相似。在整个紫膜内蛋白质和类脂分子以有序方式排列,其结构类似于近晶型液晶的一个层。由于紫膜的上述特性,可以认为它是一种最简单的生物膜。

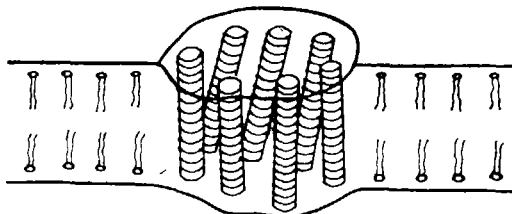


图1 菌紫蛋白由七根 α -螺旋构成

一、模 型

对嗜盐菌紫膜的 X 线衍射研究^[3-5],中子衍射研究^[6]及电子显微镜观察^[7,8]证明:紫膜具有平行于膜平面的两锥六角型晶体结构,每一个蛋白质分子由七根和膜平面接近垂直的 α 螺旋棒组成,每根长 40 埃,棒间相距 10 埃,蛋白质分子之间整齐地排列着距膜表面特征间距为 4.6 埃的类脂分子(见图 1)。在这种类脂蛋白嵌镶结构^[9]的内部充满着碳氢键,这意味着它相对于水溶相是低介电常数的介质,所以离子只有在具有比平均热能高很多倍的能量时,才能从水溶相迁移到膜内。Laüger 等^[10]对介电常数为 ϵ_m 的均匀膜插在两层介电常数为 ϵ ($\epsilon > \epsilon_m$) 之

本文于 1978 年 12 月 4 日收到。

间的情况,计算了势能分布曲线。对称势能曲线的峰值在膜的中心线上,计算表明电镜像力总是把离子从膜推向水溶相,离子只可能从膜上介电常数发生陡升的地方(离子通道)透过膜,或者借助于和膜上的某些携带者结合,在携带者转动时携带过膜。蛋白分子在膜内旋转 180° 的特征时间为0.1毫秒,类脂分子旋转所需的时间更长^[9],而质子受光后通过膜的时间为10微秒量级^[11],可见携带者模型是不合适的。

我们认为正是菌紫蛋白的七根 α 螺旋棒,围成了直径10埃左右的一个离子通道,这个通道的一端对离子是敞开的,而另一端的“开”、“关”由生色团(视黄醛)与菌紫蛋白的结合、脱离来控制。

多种光谱技术证明^[2],视黄醛通过质子化的 Schiff 碱基和菌紫蛋白中赖氨酸(Lys*)的 ϵ 氨基相接。在这个 Lys* 附近的氨基酸顺序为-Pro-Asp-Lys-Lys*-Phe-Tyr,从 Pro 开始有6个连续的亲水氨基,从而可以推断这里是两根 α 棒在水溶相端的连结点,视黄醛应位于膜的一侧表面。至于是在细胞的内侧还是外侧,目前的实验尚未做出结论^[2,6],但在那一侧控制“开”、“关”对计算并无影响。

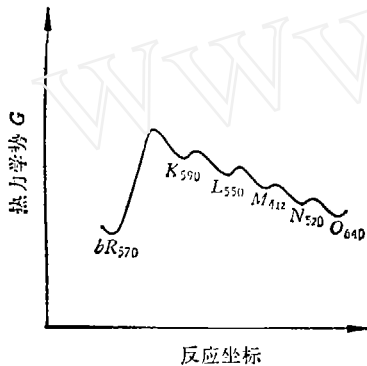


图2 菌蛋白在“开”、“关”过程中热力学势G的变化

光化学的研究表明^[13]菌紫蛋白 bR₅₇₀ 受光后漂白为 M₄₁₂ (下标表示吸收峰的波长),然后又返回到 bR₅₇₀ 状态。氧化 Schiff 碱基的共振喇曼谱证明^[12], Schiff 碱基的去质子化发生在 M₄₁₂ 形成的时候。所以我们假定:在 M₄₁₂ 形成后,离子通道处于“开”的状态,而在逆转为 bR₅₇₀ 时又把通道关闭。菌紫蛋白在“开”、“关”过程中,热力学势的变化应如图2所示。

Moutal^[13] 的类脂及视紫红质的人工膜实验证明,光的确使正离子的通渗性大为增加。

上述离子通过膜的渗透称为物理渗透,同时还存在化学渗透。Mitchell^[14] 认为通过电子或化学基团的转移,氧化-还原反应会形成膜内、外的氢离子浓度差,而水化及脱水反应在减少这种浓度差的同时,合成 ATP 完成了生物能的转换。这种化学渗透过程是很复杂的,只能在具有25种以上多肽的红膜上完成。

由上所述,可以提出下面的计算模型:

(1) 只考虑质子通过膜的迁移,膜外侧质子的数密度记为 A_0 , 膜内侧的数密度记为 A_i 。

(2) 质子必须经过膜上菌紫蛋白的通道才能从膜的一侧迁移到另一侧。图3画出5种可能的构象,关门状态“1”对应于 bR₅₇₀, 视黄醛在膜的一侧(图上画在外侧),通过携带一个质子(黑圈)的 Schiff 碱基“关”闭了离子的通道。受光后变为 M₄₁₂ 使通道打开,这时可能有4种构象。不考虑离子的吸附系数 k_a , 脱附系数 k_d , 及穿透系数 k_m 在膜两侧的差别。

(3) 化学渗透在紫膜附近的红膜上进行,假定质子在膜的任一侧浓度都是均一的,化学渗透的质子流率 \dot{m}_{ch} 是单位时间内通过化学反应从膜外侧迁移到膜内侧的净质子数,ATP的合成率应和 \dot{m}_{ch} 成正比。在缺氧情况下,完全暗适应的状态对应于 $\dot{m}_{ch} = 0$ 。图5上的黑点是 Bakker 在这种情况下得到的实验点。 \dot{m}_{ch} 和 A_0, A_i 的函数关系尚不能从理论上推算,只能由上述实验点^[17]得到经验公式

$$\dot{m}_{ch} = K \left\{ \log \frac{A_0}{A_i} - 4.6 \left[\left(\frac{A_0}{A_0^*} \right)^{0.08} - 1 \right]^2 - 0.176 \right\}^n \quad (1)$$

A_0^* 是对应膜外 pH_{out} 值等于 8 时氢离子的浓度值。假定在偏离另定态不远的情况下, 可以用线性近似 $n = 1$ 。

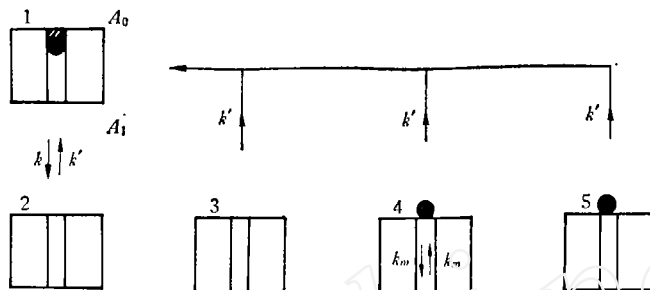


图 3 菌蛋白的五种构象 (●为质子)

对于上述模型可以列出构象的速率方程:

$$x_1 + x_2 + x_3 + x_4 + x_5 = 1, \quad (2)$$

$$\frac{dx_1}{dt} = -kx_1 + k'(x_2 + x_3 + x_4 + x_5), \quad (3)$$

$$\frac{dx_3}{dt} = -k'x_3 + k_a(A_ix_2 - A_0x_3) + k_d(x_5 - x_3) + k_m(x_4 - x_3), \quad (4)$$

$$\frac{dx_4}{dt} = -k'x_4 + k_a(A_0x_2 - A_ix_4) + k_d(x_5 - x_4) + k_m(x_3 - x_4), \quad (5)$$

$$\frac{dx_5}{dt} = -k'x_5 + k_d(A_ix_4 + A_0x_3) - 2k_dx_5, \quad (6)$$

$$\frac{dA_0}{dt} = Nk_d(x_4 + x_5) - Nk_aA_0(x_2 + x_3) - k'Nx_2 + kNx_1 - \dot{m}_{ch}, \quad (7)$$

$$\frac{dA_i}{dt} = Nk_d(x_3 + x_5) - Nk_aA_i(x_2 + x_4) + k'Nx_5 + \dot{m}_{ch}, \quad (8)$$

式中 $X_i = N_i/N$ 是 i 种构象的相对浓度, N 是菌紫蛋白的数密度。

定义下列无因次量

$$j = k'/k_d, \quad m = k_m/k_d,$$

$$\langle r \rangle = x_2 + x_3 + x_4 + x_5, \quad a_0 = A_0k_a/k_d,$$

$$a_i = A_ik_a/k_d, \quad k = K/Nk_d,$$

$$J_{ch} = \dot{m}_{ch}/Nk_d$$

$\langle r \rangle$ 表示 M_{412} 的百分数, j 是关门的速率常数和脱附系数的比。这两个数都应小于 1, 而且 $\langle r \rangle$ 随光强的减少而下降, 在全暗时 $\langle r \rangle = 0$ 。 k/k' 是和 $\langle r \rangle$ 有关的一个常数。穿越过程要比脱附过程慢得多, 假定 m 小于 0.01。 a_0, a_i 分别是膜外, 膜内无因次质子浓度。

把方程 (7), (8) 改写为无因次形式:

$$\frac{1}{Nk_a} \frac{da_0}{dt} = x_4 + x_5 - a_0(x_2 + x_3) - jx_2 + \frac{k}{k'} x_1 - J_{ch}, \quad (9)$$

$$\frac{1}{Nk_a} \frac{da_i}{dt} = x_3 + x_5 - a_i(x_2 + x_4) + jx_5 + J_{ch}. \quad (10)$$

在 $k', k_a > Nk_a$ 时, 可以假定构象浓度之间很快达到定态^[5], 这时方程 (2)–(6) 变为:

$$\begin{cases} x_1 + \langle r \rangle = 1, \\ \frac{k}{k'} x_1 = \langle r \rangle, \\ x_1(j+1+a_0+m) = a_i x_2 + m x_4, \\ x_1(j+1+a_i+m) = a_0 x_2 + m x_3 + x_5, \\ x_5(2+j) = a_0 x_3 + a_i x_4. \end{cases} \quad (11)$$

由 (11) 式解出 x_1 至 x_5 代入方程 (9), (10) 可得:

$$\frac{1}{k_a N} \frac{da_0}{dt} = J_p - J_{ch}, \quad (12)$$

$$\frac{1}{k_a N} \frac{da_i}{dt} = -J_p - J_{ch}. \quad (13)$$

$$J_p = \langle r \rangle \frac{\alpha \delta (m+j) a_i - \alpha m \delta a_0^2 + (\alpha m + j) \delta a_0 a_i + \langle j \alpha + 2m \rangle a_i - m a_0}{\delta a_0 a_i (a_0 + a_i) + \delta \theta a_0 a_i + \delta (m + \alpha) (a_i^2 + a_0^2) + \lambda (a_0 + a_i) + \xi}, \quad (14)$$

$$J_{ch} = k \left\{ \log \frac{a_0}{a_i} - 4.6 \left[\left(\frac{a_0}{a_i} \right)^{0.08} - 1 \right]^2 - 0.176 \right\}. \quad (15)$$

而 $\delta, \alpha, \theta, \lambda, \xi$ 是由 j, m 决定的常数

$$\begin{cases} \delta = \frac{1}{2+j}, \quad \alpha = j+1, \\ \theta = 3j+2m+4, \\ \lambda = j+1+2m + \frac{(j+1)^2 + jm}{j+2}, \\ \xi = (j+1)(j+2m+1). \end{cases} \quad (16)$$

两个变量的非线性微分方程 (12), (13) 是描述质子迁移过程的动力学方程. J_p 的物理意义表示从膜内向膜外光泵浦的无因次质子流率.

方程 (14) 和 (15) 对于紫膜具体地表达了图 4 上离子泵和换能器的“流”与“力”的关系. 有了这两个表达式, 就能根据一般的理论^[15] 讨论定态解的稳定性问题及耗散结构.

二、讨 论

方程 (12) 和 (13) 右边只差一个负号, 可见积分曲线是 $a_0 + a_i = c$ 的直线族, c 常数值由初始条件给定. 直线族直接反映了模型中只考虑质子通过膜的物理及化学渗透, 而不考虑质子净产生和净消失的化学过程, 它表示了膜两侧总质子数守恒的约束条件.

由于有了这个约束条件, 定态解不是 a_0, a_i 平面上若干孤立的奇点, 而是

$$J_k + J_{ch} = 0 \quad (17)$$

描述的奇线.

J_p 项和三个无因次数 $\langle r \rangle, j, m$ 有关, j 和 m 必须符合一般的常识, 不能任意选取. 从公式 (17) 可以看到, $k/\langle r \rangle$ 的数值只能影响曲线的上下位置而不会影响曲线的形状. 在取 $a_0^* = 0.003, k/\langle r \rangle = 0.004$ 时, 从图 5 上可见, 计算的曲线和 Bakker 的实验结果符合得很好. 暗和明的曲线把 a_0, a_i 平面分为三个部份. 在 I, II 部份, $J_p > 0$, 在 III 部份, $J_p < 0$, 在 II 满足 $J_p > J_{ch}$ 的条件, 在 I 满足 $J_{ch} > J_p$ 的条件.

由方程 (12), (13) 可知, 对应于强光照射的奇线, 在数学上说是一条汇线. 只要使 $J_p > 0$, 那么将从对应于暗适应情况的状态 A 沿着直线 AB 过渡到 B 点, 并最终稳定在 B 点. Bakker^[17] 和 Danor^[18] 的实验都证实突然曝光后的定态是稳定的, 不会出现极限环之类的浓度振荡现象^[14]. 这在热力学上说是很合理的, 因为紫膜的主要功能是变换能的形式, 而不是产生信息. 换能过程中不产生耗散结构, 就能保持较低的不可逆性, 从而能量变换的效率就比较高.

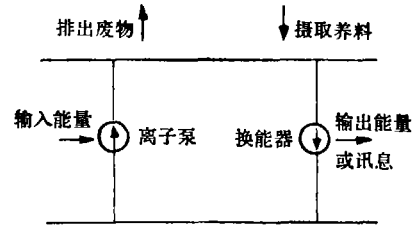


图 4 膜的功能

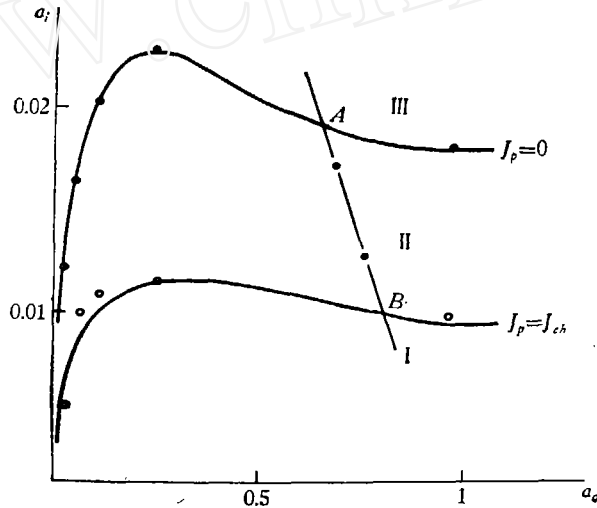


图 5 a_0, a_i 平面上的奇线. 在 I, II, $J_p > 0$; 在 III, $J_p < 0$; 在 II, $J_p > J_{ch} > 0$; 在 I, $J_{ch} > J_p > 0$.
● 暗 ○ 明

Bakker^[17] 和 Darnor^[18] 在实验中还发现, 在弱光照射下会出现 a_0 比不受光时更小的现象 (酸化现象), 这一点也可从公式 (14) 得到解释. 由公式 (14) 可以推出受光后 $J_p > 0$ 的条件是

$$j(j+1) + 2m + \frac{j}{j+1} a_0 + \frac{j+1}{j+2} m a_0 (1 - a_i) + \frac{j+1}{j+2} (m+j) a_i > \frac{a_0}{a_i} m. \quad (18)$$

所以, 当光的强度不足以使 j 大到满足不等式 (18) 时, 光照将会引起酸化现象. 使 (18) 成为等式时的 i_c 值是个临界值, i_c 和光强及 a_0 有关. 所以, 光的强度逐渐增加时, 起初是酸化, 然而当光强超过临界值时立即变为碱化, 这种突变是否是一种耗散结构, 我们正在做进一步的研

究。

我们认为这一计算方法在原则上也可用于其它膜的分析。

谈镐生教授, 贝时璋教授对本文提出了方向性的意见, 美国加利福尼亚州理工学院的 Sunney I. Chan 教授来华讲学时提了不少很好的建议, 在此均表示感谢。

参 考 文 献

- [1] Stoeckenius, W., etc., *J. Cell. Biol.*, **34**(1967), 365.
- [2] Henderson, R., *Ann. Rev. of Bioph. and Bioeng.*, **6**(1977), 67.
- [3] Blaurock, A. E. & Stoeckenius, W., *Nature New Biol.*, **233**(1971), 152.
- [4] ———, *J. Mol. Biol.*, **93**(1975), 139.
- [5] Henderson, R., *ibid.*, **93**(1975), 123.
- [6] Worcester, D. L., in *Biological Membranes* (ed. Chapman, D.), Acad. Press, 1976.
- [7] Unwin, P. N. T., *J. Mol. Biol.*, **94**(1975), 425.
- [8] Henderson, R., etc., *Nature*, **257**(1975), 28.
- [9] Kotyh, A., *Acta Biochim. et Biophys.*, **12**(1977), 135.
- [10] Neumcke, B., etc., *Biol. J.*, **9**(1969), 1160.
- [11] Lozier, R. H., etc., *Federation Proc.*, 1977, 1605.
- [12] Lewis, A., in *Spectroscopy in Biol. and Chem.*, Acad. Press, 1977, 543.
- [13] Merial, M., *Biochem. Soc. Trans.*, **4**(1976), 56Q
- [14] Mitchell, P., *Biol. Rev.*, **41**(1966), 445.
- [15] 谈洪、乐瑶, 生物化学及生物物理进展, 1979, 4, 25—31.
- [16] Nicolis, G. & Prigogine, J. *Self-Organization in Nonequilibrium Systems* John Wiley & Sons, 1977.
- [17] Bakker, E. P., *Biochem. et Biophys. Acta.*, **440**(1976), 557.
- [18] Danon, A., etc., *ibid.*, **423**(1976), 133.