

0.1绪论 (Introduction)

第一节：细胞生物学研究的内容与现状

- 一：细胞生物学是现代生命科学的重要基础学科
 - 细胞生物学：是研究细胞基本生命活动规律的科学，他从不同层次（显微，亚显微与分子水平）上主要研究细胞结构与功能，细胞增殖、分化、衰老与凋亡，细胞信号转导，细胞基因表达与调控，细胞起源与进化等。
 - 在我国基础科学发展规划中，细胞生物学、分子生物学、神经生物学，和生态学有并列为生命科学的四大基础学科。
- 二：细胞生物学的主要研究内容
 - (一) 细胞核、染色体以及基因表达的研究
 - (二) 生物膜与细胞器的研究
 - (三) 细胞骨架体系的研究
 - (四) 细胞增殖及其调控
 - (五) 细胞分化及其调控
 - (六) 细胞衰老与凋亡
 - (七) 细胞的起源与进化
 - (八) 细胞工程
- 三：当前细胞生物学研究的总趋势与重点领域
 - 显微结构 光学显微镜技术
 - 亚显微结构 电子显微镜技术
 - 分子结构与组成 生物物理学、细胞化学、分子生物学技术

第二节：细胞学与细胞生物学发展简史

- 可以把生物学的发展划分为3个阶段
 - ①19世纪以及更早的时期，是以形态描述为主的生物学时期。
 - ②20世纪的前半个世纪，主要是实验生物学时期。
 - ③20世纪五六十年来，由于DNA双螺旋的发现与中心法则的建立，开始进入了精细性与定量的生物学时期。
- 一：细胞的发现
 - 英国学者胡克（Robert Hooke）于1665年用自制的显微镜（放大倍数为40-140倍），观察了软木（栎树皮）的薄片，第一次描述了植物细胞的结构，并首次借用拉丁文cellar（小室）这个词，来称对他所看到的类似蜂巢的极小的封状小室（实际上只是观察到纤维质的细胞壁），后来英文用cell这个词，中文恰当地翻译为细胞。
 - 此后不久，荷兰学者列文虎克（Antony van Leeuwenhoek）用设计较好的显微镜，观察了许多动植物的活细胞与原生动物。并于1674年在观察鱼的红细胞时描述了细胞核的结构。这是人类第一次观察到完整的活细胞
- 二：细胞学说的建立及其意义
 - 1838年，德国植物学家施莱登（M.J.Schleiden）发表了《植物发生论》，指出细胞是构成植物的基本单位。
 - 1839年，德国动物学家施旺（M.J.Schwann）发表了《关于动植物的结构和生长的一致性的显微研究》论文，指出动植物都是细胞的集合体。施旺和施莱登两人共同提出：一切植物、动物都是由细胞组成的，细胞是一切动植物的基本单位，这就是著名的“细胞学说”（cell theory）。细胞学说对细胞及其功能有了一个较为明确的定义，细胞学说的建立对现代生物学的发展具有重要的意义。恩格斯把细胞学说、能量转化与守恒定律和达尔文进化论并列为19世纪自然科学的三大发现。进化论解释了生物的多样性，而细胞学说提出了生物同一性的细胞学基础，因而大大推进了人类对整个自然界的认识，有力地促进了自然科学和哲学的进步。
 - “细胞学说”的基本内容是
 - ①细胞是有机体，一切动植物都是由细胞发育而来，并由细胞和细胞产物所构成。
 - ②每个细胞作为一个相对独立的单位，既有它“自己”的生命，又对与其他细胞共同组成的整体的生命有所助益
 - ③新的细胞可以通过已存在的细胞繁殖产生。
 - 意义：
 - 促进了人类对生命体的认识；
 - 促进了其他生物学科的发展；
 - 细胞学说对细胞生物学的发展起了巨大的推动作用。
- 三：细胞学的经典时期
 - 1.原生质理论的提出
 - 1840年普金耶（Pukinje）和1846年冯·莫尔（von Mohl）首次将动物、植物细胞的内含物称为“原生质”（protoplasm）。1861年，Max Schultze提出了原生质理论，认为有机体的组织单位是一小团原生质，这种物质在一般有机体中是相似的。1880年，Hanstein 提出“原生质体”（protoplast）概念，因此细胞的最后概念就变成由原生质膜包围着的一团原生质，分化为细胞核与细胞质。这一名词显然比cell（细胞，小室）更确切了。但由于cell一词已经通行，所以就沿用下来。
 - 2.细胞分裂的研究
 - 1841年Remak发现鸡胚血细胞的直接分裂。
 - Strasburger 在植物细胞中发现有丝分裂（mitosis），并证实有丝分裂的实质是核内丝状物（染色体）的形成及其向两个子细胞的平均分配。
 - van Beneden（1883年）和Strasburger（1886年）分别在动物与植物细胞中发现减数分裂，至此发现了细胞分裂的主要类型。
 - 3.细胞器的发现
 - 1831年，布朗（R.Brown）发现了细胞核；
 - 1888年沃尔德耶（Waldeyer）提出染色体概念；
 - 1890年范·贝内登（Van Beneden）和博费里（Boveri）在动物、植物细胞中发现了中心体；
 - 1894年Altmann发现了线粒体；
 - 1898年Golgi发现了高尔基体，并用他的名字来命名。
- 四：实验细胞学与细胞学的分支及其发展
- 五：细胞生物学学科的形成与发展

1.1 细胞的基本概念

一：细胞是生命活动的基本单位

- (一) 一切有机体都是细胞构成，细胞是构成有机体的基本单位
- (二) 细胞具有独立的，有序的自控代谢体系，细胞是代谢与功能的基本单位
- (三) 细胞是有机体生长与发育的基础
- (四) 细胞是遗传的基本单位，细胞具有遗传的全能性
- (五) 没有细胞就没有完整的生命

二：细胞的基本共性

- 1. 所有的细胞都具有相似的化学组成
 - 最基础的生物小分子是核苷酸、氨基酸、脂肪酸与单糖，它们又构成核酸、蛋白质、脂质与多糖类等最重要的生物分子与生物大分子。
- 2. 脂-蛋白体系的生物膜
 - 由脂质构成的磷脂双分子层并镶嵌蛋白质的生物膜体系，由核酸和蛋白质分子构成的遗传信息的复制与表达体系，是构建任何类型细胞所必需的两大基本结构体系。真核细胞中还有骨架体系等。
- 3. DNA-RNA的遗传装置
 - 所有的细胞表面均有由磷脂双分子层与镶嵌蛋白质构成的生物膜，即细胞质膜。真核细胞内，细胞质膜内陷演化为细胞的内膜体系，构建成各种以膜为基础的功能专一的细胞器。
- 4. 蛋白质合成的机器——核糖体
 - 所有的细胞都有两种核酸，即DNA与RNA，作为遗传信息复制与转录的载体。
 - 是所有细胞不可缺少的基本结构
- 5. 一分为二的分裂方式
 - 所有细胞的增殖都以一分为二的方式进行分裂，遗传物质在分裂前复制加倍，在分裂时均匀地分配到两个子细胞内

1.2原核细胞与古核细胞

一：最小最简单的细胞——支原体

- 原核细胞最基本的两个特点：
 - 没有典型的核结构，遗传信息量少，主要的遗传信息载体仅由一个环状DNA承载。
 - 细胞内没有分化以膜为基础的具有专门结构与功能的细胞器和细胞膜。
- 支原体：
 - 是目前发现的最小最简单的细胞。虽然它们能被为简单的生命体，但具备了细胞的基本结构，并具有作为生命活动基本单位存在的主要特征。
 - 支原体没有细胞壁，具有多形态性，形态可以随环境变化。
 - 支原体的细胞膜结构与动物细胞膜类似，但自身不能合成外骨骼脂类成分与胆固醇等，必须依靠宿主细胞提供外源脂类来合成细胞膜。
- 支原体的特点：
 - 细胞直径约10nm，具有原核细胞所具有的多功能特性。
 - 支原体的环状双链DNA均匀地分散在细胞内，没有像真核细胞一样的核区。
 - 支原体的基因组是迄今为止发现的最小基因组，最小的支原体基因组只有482kb，而最大的支原体基因组有2.8Mb。

二：原核细胞的两个代表——细菌和蓝藻

(一) 细菌细胞

- 1. 细菌细胞的结构与基本组织：
 - 细菌细胞只具有细胞核结构，没有核膜，更没有核仁、核周膜。为了与真核细胞类型的核有所区别，称为拟核或核区。
 - 细菌细胞没有核膜和核仁，因此DNA复制、RNA转录与蛋白质合成在空间上自然分开。
- 2. 细菌细胞的基本结构：
 - 细菌细胞没有典型的核结构，但绝大多数细菌有细胞核的核区或核膜（nucleoid），主要是一个环状DNA分子盘绕而成，通过交联蛋白和蛋白质固定。除了细胞核外，还有质粒和核糖体。细菌细胞膜是典型的生物膜结构，但它具有多功能性。
- 3. 细菌细胞的核糖体：
 - 细菌核糖体的沉降系数为70S，由大亚单位（50S）和小亚单位（30S）组成。大亚单位含有23S rRNA、5S rRNA与23种蛋白质，小亚单位含有16S rRNA与16种蛋白质。
- 4. 细菌细胞核外DNA：
 - 质粒DNA在遗传工程研究中很重要，常用作基因转移与基因转导的载体。
- 5. 细菌细胞内生孢子：
 - 内生孢子具有抗热、抗干燥、抗辐射、抗化学药品的能力。可以在恶劣环境中生存，并在适宜条件下萌发。
- 6. 细菌的增殖：
 - 细菌的繁殖方式是二分裂。环状DNA以复制为起点，按双向复制方式复制为两个DNA分子。此时中体为一分为二，最终形成两个子代细胞。细菌的繁殖速度非常快，在适宜条件下，每20分钟可分裂一次。

(二) 蓝藻细胞

- 蓝藻-蓝细菌：原核微生物，又是最早的光合自养生物之一。
- 蓝藻细胞的结构与基本组织：
 - 蓝藻细胞具有许多具有特点的内含物，如藻蓝素、藻胆素、藻胆蛋白、多胞膜体、多胞体等。
- 蓝藻细胞的内含物：
 - 蓝藻细胞的内含物包括藻蓝素、藻胆素、藻胆蛋白、多胞膜体、多胞体等。
- 蓝藻细胞的增殖：
 - 蓝藻细胞的增殖方式是二分裂。环状DNA以复制为起点，按双向复制方式复制为两个DNA分子。此时中体为一分为二，最终形成两个子代细胞。细菌的繁殖速度非常快，在适宜条件下，每20分钟可分裂一次。

三：古核细胞-古细菌

- 古细菌（又称超细菌）是一类生活在极端环境中，具有独特生理生化特性，与真核细胞和原核细胞有密切关系的微生物。
- 古细菌的细胞壁：
 - 古细菌的细胞壁结构与真核细胞类似，但成分不同。古细菌的细胞壁主要由肽聚糖组成，而真核细胞的细胞壁主要由纤维素组成。
- 古细菌的核糖体：
 - 古细菌的核糖体结构与真核细胞类似，但大小不同。古细菌的核糖体大小为70S，而真核细胞的核糖体大小为80S。
- 古细菌的DNA：
 - 古细菌的DNA结构与真核细胞类似，但复制方式不同。古细菌的DNA复制方式为θ复制，而真核细胞的DNA复制方式为双向复制。
- 古细菌的蛋白质：
 - 古细菌的蛋白质结构与真核细胞类似，但氨基酸组成不同。古细菌的蛋白质中富含二硫键，而真核细胞的蛋白质中富含巯基。

1. 细菌细胞的结构与基本组织

细菌细胞只具有细胞核结构，没有核膜，更没有核仁、核周膜。为了与真核细胞类型的核有所区别，称为拟核或核区。

2. 细菌细胞的基本结构

细菌细胞没有典型的核结构，但绝大多数细菌有细胞核的核区或核膜（nucleoid），主要是一个环状DNA分子盘绕而成，通过交联蛋白和蛋白质固定。除了细胞核外，还有质粒和核糖体。细菌细胞膜是典型的生物膜结构，但它具有多功能性。

3. 细菌细胞的核糖体

细菌核糖体的沉降系数为70S，由大亚单位（50S）和小亚单位（30S）组成。大亚单位含有23S rRNA、5S rRNA与23种蛋白质，小亚单位含有16S rRNA与16种蛋白质。

4. 细菌细胞核外DNA

质粒DNA在遗传工程研究中很重要，常用作基因转移与基因转导的载体。

5. 细菌细胞内生孢子

内生孢子具有抗热、抗干燥、抗辐射、抗化学药品的能力。可以在恶劣环境中生存，并在适宜条件下萌发。

6. 细菌的增殖

细菌的繁殖方式是二分裂。环状DNA以复制为起点，按双向复制方式复制为两个DNA分子。此时中体为一分为二，最终形成两个子代细胞。细菌的繁殖速度非常快，在适宜条件下，每20分钟可分裂一次。

(1) 细胞质膜

细胞质膜是细胞与外界环境的界面，具有选择透过性。细胞质膜的主要成分包括磷脂双分子层和蛋白质。细胞质膜的功能包括物质运输、信号转导和细胞识别。

(2) 中体

中体是细菌细胞质膜上的特殊结构，位于细胞质膜的中央。中体的主要功能是参与细胞分裂和物质运输。

(3) 细胞壁

细胞壁是细菌细胞的重要结构，位于细胞质膜的外侧。细胞壁的主要成分是肽聚糖，具有保护细胞和维持细胞形态的功能。

(4) 荚膜

荚膜是细菌细胞表面的特殊结构，位于细胞壁的外侧。荚膜的主要功能是保护细胞和增强细胞的致病性。

(5) 鞭毛

鞭毛是细菌细胞的运动器官，位于细胞的一端。鞭毛的主要功能是使细菌能够运动。

(1) 中心体

中心体是细胞内的微管组织中心，位于细胞核的两侧。中心体的主要功能是参与细胞分裂和细胞运动。

(2) 核孔复合体

核孔复合体是细胞核与细胞质之间的通道，位于核膜上。核孔复合体的主要功能是控制物质进出细胞核。

(3) 细胞质内含物

细胞质内含物是细胞质中的各种物质，包括蛋白质、RNA、脂类等。细胞质内含物的主要功能是参与细胞代谢和信号转导。

(4) 细胞表面结构

细胞表面结构是细胞表面的各种结构，包括细胞壁、细胞膜、荚膜等。细胞表面结构的主要功能是保护细胞和参与细胞识别。

(5) 细胞分裂

细胞分裂是细胞增殖的方式，包括有丝分裂、减数分裂等。细胞分裂的主要功能是产生新的细胞。

(1) 细胞壁的成分

细胞壁的成分包括肽聚糖、磷壁酸、脂多糖等。细胞壁的成分主要参与细胞的结构支持和信号转导。

(2) DNA与基因组结构

DNA与基因组结构是细胞遗传信息的载体。DNA与基因组结构的主要功能是存储和传递遗传信息。

(3) 核小体结构

核小体是染色质的基本单位，由DNA和组蛋白组成。核小体的主要功能是包装DNA，使其能够存储在细胞核内。

(4) 核糖体

核糖体是细胞内的蛋白质合成场所，由rRNA和蛋白质组成。核糖体的主要功能是合成蛋白质。

(5) 5S rRNA

5S rRNA是核糖体的重要成分，参与核糖体的组装和蛋白质合成。5S rRNA的主要功能是参与核糖体的结构和功能。

1.3真核细胞

一：真核细胞的基本结构体系

- ①以脂膜及蛋白质成分为基础的细胞膜结构体系。
 - ②以核酸（DNA或RNA）与蛋白质为主要成分的遗传信息表达体系。
 - ③由蛋白质分子组成的细胞骨架体系。
- 这些由生物大分子构成的基本结构体系，尺度均是在5-20nm的范围。

二：细胞的大小

- 不论其种的差异多大，同一器官与组织的细胞，其大小总是在一个恒定的范围之内。
- 所有哺乳动物的原细胞、肝细胞或其他细胞，在人、牛、马、象与小鼠中相应细胞的大小几乎相同。
- 器官的大小主要决定于细胞的数量，与细胞的数量成正比。而与细胞的大小无关，这种关系有人称之为“细胞体积的守恒定律”。
- 大象与小鼠的体型大小相差十分悬殊，但大象与小鼠相应器官与组织的细胞，其大小却无明显差异，不仅相应的细胞大小相似，各细胞的大小也无明显的差异。

三：细胞形态结构与功能的关系

细胞形态结构与功能的相关性

- 细胞形态结构与功能的相关性
- 红细胞：红细胞呈中央凹陷的圆饼形，体积很小，是一种高度特化的细胞。哺乳动物红细胞内无细胞核，亦无其他重要细胞器，主要由细胞质膜和血红蛋白组成。这些特点都与红细胞交换O₂、与CO₂的功能密切相关。
细胞体积小，非常有利于在血管内快速运行，体积小而相对表面积大，有利于提高气体交换效率。细胞内主要是血红蛋白，有助于结合更多的O₂与CO₂。
 - 分泌细胞：分泌蛋白质类物质的各种腺细胞，其形态与结构必然有如下特点：
 - 细胞一定呈极性，一端是近侧端，为吸收表面，与基膜连接；另一端是远侧端，是分泌表面。
 - 细胞质内的内质网与高尔基体必然发达，因为要保证蛋白质高速合成与加工。
 - 核仁的体积一般较大，因为要保证生产足够的核糖体（蛋白质合成的机器）。
 - 产能细胞器——线粒体的数量必然较多，而且分布在近侧网附近。
 - 精子：除了携带一套完整的单倍体基因组（即高度浓缩的核）外，其他结构装置主要保证其运动与进入卵内，即后端具有能运动的鞭毛，前端具有有助于进入卵的顶体（由高尔基体形成）。
 - 卵细胞：卵细胞与精子相比，为了保证受精后卵裂与胚胎发育，它必须在卵质内贮存大量的mRNA、蛋白质与母料，故使细胞体积增大，但其细胞核的体积并没有明显变化。
 - 雄性生殖细胞与雌性生殖细胞：吸收表面细胞质膜必然形成大量的微绒毛，并在微绒毛内排列有大量的线粒体，因为这对于增加物质跨膜运输的效率及能量供应。
游离端往往形成很多微绒毛，增加表面积，以提高分泌效率。

四：原核细胞与真核细胞的比较

1.原核细胞与真核细胞结构与功能的比较

| 特征 | 原核细胞 | 真核细胞 |
|--------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| 细胞质膜 | 有(多功能性) | 有 |
| 核膜 | 无 | 有 |
| 染色体 | 由一个环状DNA分子构成或单个染色体，DNA不与或很少与蛋白质结合 | 2条染色体以上，染色体由线状DNA与蛋白质组成 |
| 核仁 | 无 | 有 |
| 线粒体 | 无 | 有 |
| 内质网 | 无 | 有 |
| 高尔基体 | 无 | 有 |
| 溶酶体 | 无 | 有 |
| 核糖体 | 70S(包括50S与30S的大小亚单位) | 80S(包括60S与40S的大小亚单位) |
| 光合作用结构 | 蓝藻含有叶绿素a的膜片层结构，细菌具有菌色素 | 植物叶绿体具有叶绿素a与b |
| 核外DNA | 细菌具有裸露的质粒DNA | 线粒体DNA、叶绿体DNA |
| 细胞壁 | 主要成分是氨基糖与肽聚糖 | 植物细胞壁的主要成分为纤维素与果胶，动物细胞无细胞壁，真菌为几丁质 |
| 细胞增殖方式 | 无丝分裂(直接分裂) | 以有丝分裂(间接分裂)为主 |

2.原核细胞与真核细胞遗传装置与基因表达方式的比较

| 特征 | 原核细胞 | 真核细胞 |
|-------------------|-------------|-------------------------|
| DNA量(信息量) | 少 | 多 |
| DNA分子数 | 1 | 2个以上 |
| DNA分子结构 | 环状 | 线状 |
| 基因数 | 14 | 24~多a |
| 基因数 | 几千 | 几百万 |
| 大量“多余”的“重复”的DNA序列 | 无 | 有 |
| DNA与组蛋白结合 | 无 | 有 |
| 组蛋白-染色质-染色体 | 无 | 有 |
| DNA复制的明显周期性 | 无 | 有 |
| 基因表达的调控 | 主要以前转录方式 | 复杂性、多层次性 |
| 转录与翻译的时空关系 | 转录与翻译同时同地进行 | 细胞核内转录，细胞质内翻译，严格阶段性及区域性 |
| 转录后与翻译后大分子的加工与修饰 | 无 | 有 |

五：植物细胞与动物细胞的比较

- 植物细胞的圆球形与细胞具有类似溶酶体的功能。
- (1) 细胞壁：主要的成分是纤维素和果胶。
 - (2) 液泡：液泡是植物细胞的代谢库，起调节细胞内环境的作用。
 - (3) 叶绿体：进行光合作用的细胞器。

1.4非细胞形态的生命体——病毒及其与细胞的关系

一：病毒的基本知识

- 病毒：主要是由核酸分子与蛋白质构成的核酸蛋白复合体，称为真病毒
- 类病毒：仅有一个感染性的rna构成
- 拟病毒：仅有感染性的蛋白质构成
- 根据病毒的宿主范围，可以分为动物病毒，植物病毒和细菌病毒（噬菌体）
- 根据核酸类型的不同，病毒可以分为：DNA病毒和RNA病毒
- DNA病毒所含有的DNA分子有双链和单链的区别
- RNA病毒所含有的RNA分子也有单链+ss与双链+ds的区别

二：病毒在细胞内增殖（复制）

- 1.病毒侵入细胞，病毒核酸的感染
- 多数动物病毒进入细胞的主要方式是细胞“主动吞饮”作用使病毒进入细胞。
- 有包膜的病毒，以其包膜与细胞膜融合的方式进入细胞。
- 噬菌体感染细菌时，仅将核酸注入细胞，壳体是不进入细胞的。
- 病毒根据核酸的类型可以分为4种
 - 双链DNA病毒
 - 单链DNA病毒
 - 双链RNA病毒
 - 单链RNA病毒
 - 感染性RNA病毒
 - 非感染性RNA病毒
 - 带有反转录酶的单链RNA病毒
- 2.病毒核酸的复制、转录与蛋白质的合成
- (1)DNA病毒
 - 当DNA病毒进入细胞后，在该主细胞蛋白水解酶（脱衣酶）的作用下，蛋白质壳体裂解，释放出DNA，被释放的DNA分子进入细胞核。
 - 在病毒DNA的指导下，利用宿主细胞的代谢系统首先翻译“早期蛋白”。
 - 早期蛋白的主要功能之一是抑制宿主细胞本身核酸的复制与转录，以及蛋白质的合成。
 - 另一种“早期蛋白”可能是病毒特异性的聚合酶。
 - 以病毒DNA为模板复制新的DNA，并转录带有病毒遗传信息的mRNA，mRNA与宿主细胞的核糖体相结合，按病毒的遗传信息，翻译病毒的衣壳蛋白，这种蛋白质为子代病毒的组装准备了物质基础。
- (2)RNA病毒
 - RNA病毒颗粒的进入宿主细胞后，在脱衣酶的作用下，壳体裂解，释放出DNA。
 - 带有病毒遗传信息的mRNA与宿主细胞的核糖体相结合，翻译病毒的衣壳蛋白。
 - 新复制的RNA与翻译的病毒蛋白组装成子代病毒颗粒。
 - 以上过程一般都是在细胞质内进行的。
- (3)反转录病毒
 - 当病毒进入细胞，壳体裂解与释放RNA后，首先以病毒RNA分子为模板，在反转录酶（病毒自身所携带）的催化作用下，反转录出病毒的DNA分子。
 - 这种病毒DNA能与宿主细胞染色体的DNA整合，又以整合在细胞DNA上的病毒DNA为模板，转录新的病毒RNA与病毒mRNA。
 - 后者与核糖体结合，翻译出各种病毒蛋白，其中包括病毒的衣壳蛋白与导致宿主细胞转型的蛋白。
- 3.病毒的组装、成熟与释放
- 无包膜的病毒，组装就是成熟，随即释放，释放速度快。
- 有包膜的病毒，穿过细胞膜释放，多以出芽的方式逐步释放。

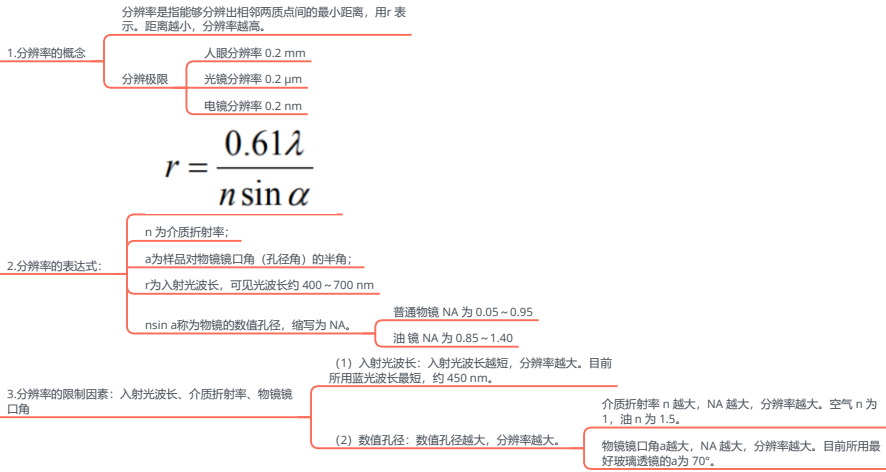
三：病毒与细胞在起源与进化中的关系

- (1) 由于病毒的结构简单性，必要要在细胞内复制与增殖，才能到达其基本生命现象，没有细胞的存在也就没有病毒繁殖，因此，病毒绝不可能起源于细胞之前，只能先有细胞后有病毒。
- (2) 有些病毒的核酸与噬菌体核酸DNA某些片段的碱基序列十分相似，噬菌体的进化及其研究的深入加强了这种观点，因为细胞内基因与反转录病毒的病毒基因组具有同源序列，从而曾有人认为病毒基因组起源于细胞内基因。
- (3) 病毒可以看成核酸与蛋白质组成的复合大分子，与细胞内核酸蛋白质分子有相似之处。
- (4) 真核生物中，尤其是脊椎动物中普遍存在的第二类反转录转座子的两端含有长末端重复序列，结构与整合于基因组上的反转录病毒十分相似，大家普遍认为，两者有共同的起源。
- 由此推论：病毒可能是细胞在特定条件下“扔出”的一个病毒基因组，或者是具有复制与转录能力的mRNA，这些游离的基因组，只有回到它们原来的细胞内环境中才能进行复制与转录。

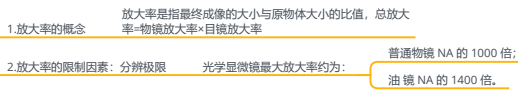
这种早期蛋白的功能与上述DNA病毒的“早期蛋白”相同，一方面抑制宿主细胞DNA的复制与转录，同时在早期蛋白催化的聚合酶催化作用下，以病毒RNA分子在身为模板复制新的RNA分子，同时又转录mRNA。

2.1 细胞显微方法概述

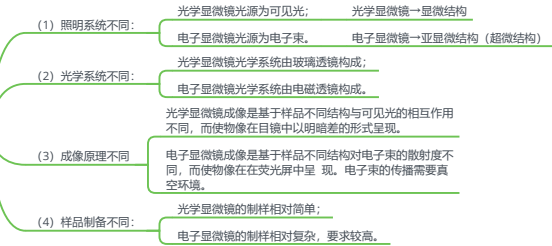
一、分辨率



二、放大率



三、光学显微镜与电子显微镜的差异性



2.2 光学显微镜

一、复式显微镜

1. 普通复式显微镜可分为：
 - 单筒显微镜
 - 双筒显微镜
2. 普通复式显微镜的基本结构
 - (1) 照明系统 可见光
 - (2) 光学系统 玻璃透镜（目镜、物镜、聚光镜）
 - (3) 机械与支架系统
3. 普通复式显微镜的缺点：

由于光的干涉、衍射现象，光线通过样品时，两个相邻焦点的图像可能发生重叠，进而无法分辨，导致存在分辨率极限。

二、相差显微镜

1. 相差显微镜
 - (1) 相差显微镜概述

相差显微镜是指，利用光线的干涉、衍射特征，使相位差转变为振幅差，增强样品的明暗对比，从而观察无色透明样品的装置。
 - (2) 相差显微镜的特殊构件
 - 相差板
 - 环状光阑
 - 相差显微镜在物镜后装有相差板，相差板部分区域有吸光物质，使得光线分别通过相差板不同区域时相位差增大，汇聚后叠加使振幅增大或减小。从而将相位差转变为振幅差，增强样品的明暗对比。
 - (3) 相差显微镜的特点

样品无需染色，可观察活细胞及细胞器动态。
2. 微分干涉显微镜
 - (1) 微分干涉显微镜概述

微分干涉显微镜是指，以平面偏光为光源，光源经棱镜后分为两束，在不同时间经过样品相邻部位，再经过另一棱镜后会合，从而使样品的厚度差转变为振幅差，增强样品的明暗对比，从而观察无色透明样品的装置。
 - (2) 微分干涉显微镜的特点
 - ① 适合观察活细胞内较大的细胞器。
 - ② 分辨率比普通复式显微镜提高一个数量级。
3. 录像相差显微镜

录像相差显微镜是指，在微分干涉显微镜的基础上引入计算机辅助录像，从而观察记录活细胞内细胞器活动的装置。如：颗粒在微管上运动。

三、荧光显微镜

1. 荧光技术
 - (1) 荧光原理

荧光分子吸收入射光能量后，电子由基态跃迁到激发态。激发态电子不稳定，会自发跃迁回基态，并辐射荧光。辐射荧光 $\lambda <$ 入射光 λ 。
 - (2) 荧光探针
 - ① 荧光染料 如：罗丹明 B - 红色荧光
 - ② 荧光蛋白 如：绿色荧光蛋白（GFP）
 - (3) 荧光分类
 - ① 自发荧光 如叶绿素、血红素等荧光分子经紫外线照射后，能够自发辐射红色荧光。
 - ② 诱发荧光 物质经荧光染料染色后，再经紫外线照射，进而辐射荧光。
2. 荧光显微镜
 - (1) 荧光显微镜概述

荧光显微镜是指，利用短波长电磁波为光源，激发样品辐射荧光，之后利用样品产生的自发荧光或诱发荧光，对细胞内特异性蛋白质进行定位与定位研究的装置。
 - (2) 荧光显微镜的特殊构件
 - ① 物镜 石英透镜
 - ② 滤光片系统
 - 激发滤片 位于光源与样品之间，滤过可见光，只允许作为光源的紫外光通过。
 - 阻断滤片 位于物镜与目镜之间，只允许荧光分子产生的荧光通过。
 - (3) 荧光显微镜的特点
 - ① 优点 荧光显微镜主要用于定性、定位研究细胞内特异性蛋白质。可以观察活细胞。
 - ② 缺点 无法排除来自样品焦平面以外的荧光，使得图像的反差与分辨率降低。
3. 激光扫描共焦显微镜（CLSM）
 - (1) 激光扫描共焦显微镜概述

激光扫描共焦显微镜是指，以激光为光源，对样品进行逐点、逐行、逐面扫描成像的装置。其物镜与聚光镜共焦点，以提高分辨率。通过调节焦平面即可获得样品不同层次的图像，通过计算机分析和模拟，可以构筑样品的三维图像。
 - (2) 激光扫描共焦显微镜的成像原理
 - ① 光源为激光 经双色镜反射后，通过物镜汇聚于样品某一焦点，激发荧光。样品所激发的荧光经透镜汇聚成像，通过共焦小孔被检测器检出。
 - ② 物镜与聚光镜共焦点 使得只有从样品焦平面发出的荧光聚焦成像，其他部分的激发荧光不能通过共焦小孔，检测器不能检出。
 - (3) 激光扫描共焦显微镜的特点
 - ① 提高分辨率，分辨率比普通荧光显微镜提高 1.5 倍。
 - ② 通过改变焦平面，以获得样品不同层次的图像，从而构建三维图像
 - ③ 可以实现长时间观察活细胞动态。

四、光学显微镜样品的制备：固定→包埋→切片→染色

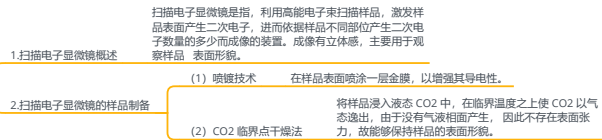
1. 固定
 - 固定的目的：杀死细胞，稳定细胞成分，以便进一步处理和切片时不受破坏。
 - 固定的方法：将样品浸泡于固定液中，使大分子交联从而保持在一定位置。通常用固定液有甲醛、戊二醛。
2. 包埋
 - 包埋的目的：为切片做准备。
 - 包埋的方法：将样品浸泡于介质中，使介质渗入整个样品。通常用介质有石蜡、树脂。
3. 切片
 - 通过切片机将样品切为适合于光学显微镜观察的薄片，约 $1 \sim 10 \mu\text{m}$ 。
4. 染色
 - 染色的目的：由于细胞大部分组织都是无色透明的，因此需要通过染色给细胞不同部分染上不同颜色。
 - 染色剂
 - 苏木精（碱性染料）- 染色质、核糖体 - 蓝紫色
 - 伊红（酸性染料）- 细胞质、细胞外基质 - 红色
 - 苏丹 III - 脂肪 - 橘黄色
 - 苏丹 IV - 脂肪 - 红色

2.3 电子显微镜

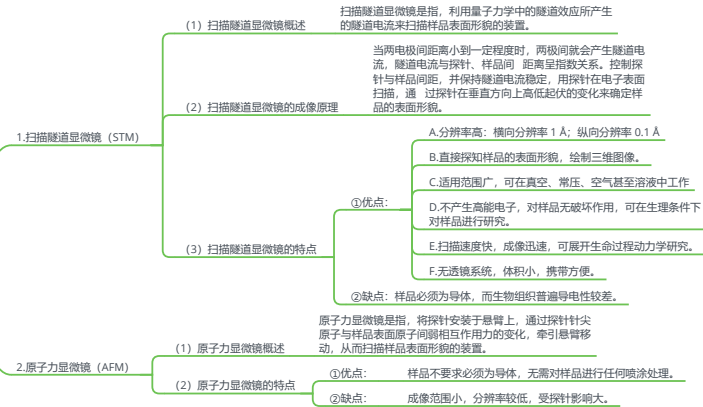
一、透射电子显微镜 (TEM) (1986 物理奖)



二、扫描电子显微镜 (SEM) (1986 物理奖)



三、探针扫描显微镜



2.4 细胞分析方法

一、细胞组分分离

1. 差速离心
 - 差速离心是指，在密度均一的介质中，大小不同的细胞组分的沉降速率不同，由此通过离心机以不同速率依次离心，可使细胞中大小不同的组分分离。
 - 差速离心只能分离大小差异明显的组分，且分离不纯。常用于分离细胞核。
2. 密度离心
 - 密度离心是指，将待分离的细胞组分铺展在密度逐渐增加的密度梯度溶液表面，通过重力或离心力使样品中不同组分以不同的沉降速率沉降，以形成不同的沉降带，从而达到组分分离的目的。由于所分离物质的密度小于底层溶液，故组分不会沉淀，而是停留在与之密度相同的溶液层中。
 - 密度离心可以稳定已分离的组分，且不会引起对流。常用于分离大分子与颗粒。
 - 常用介质：蔗糖、氯化铯（CsCl）
 - 速度离心主要用于分离密度相似而大小不一的组分，离心前将细胞匀浆置于密度梯度溶液顶层，在离心力场的作用下，细胞组分依据其大小不一而以不同的速率沉降，形成不同的沉降带。
 - 等密度离心主要用于分离大小相似而密度不同的组分，离心前将细胞匀浆置于密度梯度溶液顶层，在离心力场的作用下，细胞组分沉降或漂浮于与自身密度相同的位置，形成不同密度带。

二、细胞内特异蛋白标定法

1. 免疫荧光技术
 - (1) 免疫荧光技术概述
 - 免疫荧光技术是指，利用抗原-抗体间特异性反应，将抗体与荧光染料等荧光探针相偶联，通过荧光显微镜研究细胞内特异性蛋白位置与分布的方法。
 - 关键在于保持特异性蛋白的抗原性。
 - (2) 免疫荧光技术分类
 - ① 直接免疫荧光技术 抗原—荧光抗体
 - ② 间接免疫荧光技术 抗原—1 抗—荧光 2 抗（抗原放大）
2. 免疫电镜技术
 - (1) 免疫电镜技术概述
 - 免疫电镜技术是指，利用抗原-抗体间特异性反应，将抗体与重金属电子致密物偶联，再通过电子显微镜研究细胞内特异性蛋白精细定位的方法。
 - 关键在于保持特异性蛋白的抗原性与精细结构。
 - (2) 免疫电镜技术分类
 - ① 免疫铁蛋白技术
 - ② 免疫胶体金技术：
 - 抗原—抗体—蛋白 A—胶体金
 - 免疫胶体金技术是指，胶体金带负电，以胶体金为标记物，通过静电作用与蛋白 A 带正电的氨基酸残基结合，从而借助蛋白 A 与抗体偶联，再依据抗原-抗体间特异性反应与抗原结合，形成抗体偶联胶体金颗粒，之后通过电子显微镜研究细胞内特异性蛋白精细定位的方法。

三、细胞内特异核酸序列标定法（原位杂交）

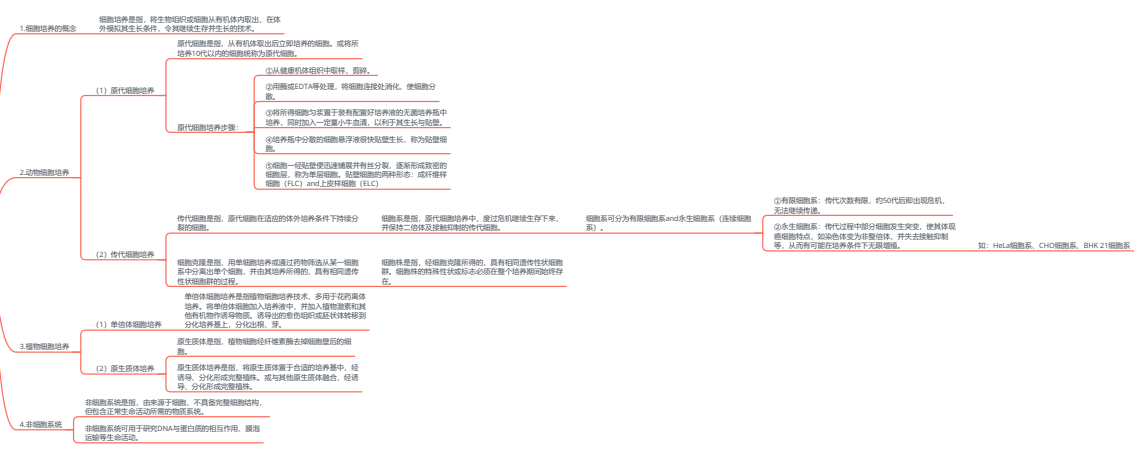
1. 原位杂交概述
 - 原位杂交是指，用标记的核酸探针通过分子杂交研究特异核苷酸序列在染色体上或在细胞中位置与分布的方法。
2. 原位杂交的分类
 - (1) 光镜水平
 - 放射性同位素标记探针→放射性自显影
 - 荧光染料标记探针→荧光显微镜
 - (2) 电镜水平
 - 生物素-抗生物素抗体偶联胶体金→电子显微镜

四、流式细胞仪（FCM）

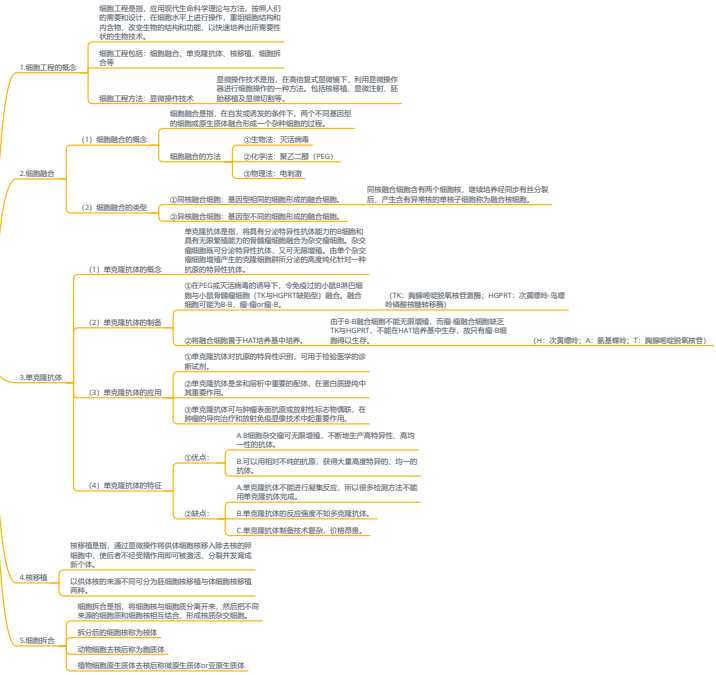
1. 流式细胞仪概述
 - 流式细胞仪是指，可以定量分析细胞内特异大分子含量以及细胞群中上述成分含量不同的细胞数目，以及对特定类型细胞进行细胞分选的设备。
2. 流式细胞仪的原理
 - (1) 细胞分选原理
 - 用荧光染料标记抗体，之后与待分选细胞共育，使荧光抗体与细胞表面抗原结合，之后令结合有荧光抗体标记的待分选细胞悬浮液通过流式细胞仪，细胞悬浮液经加压后由小孔喷出，在超声震荡下形成含有单个细胞的液滴。
 - 当液滴经过激光束时，通过两套检测器系统检测。当液滴中含有细胞时激活干涉检测器，若含有荧光标记的细胞则会激活荧光检测器。若只被干涉检测器检测到，则对液滴充以正电荷；若被两种检测器同时检测到，则对液滴充以负电荷。最后令液滴通过强电场，携带不同电荷的液滴向不同方向偏转，由此获得分选细胞。
 - (2) 染色体分选原理
 - 基本过程与细胞分选类似，只是用荧光染料标记的 DNA 探针与待分选细胞共育，使探针与染色体结合。

2.5细胞培养方法

一、细胞培养



二、细胞工程



3.1细胞质膜概述

- 一、细胞质膜的相关概念
- 1.细胞质膜的概念

细胞质膜又称细胞膜、质膜，是指包裹于细胞最外层的边界，主要由糖质、脂质与蛋白质构成。

2.生物膜的概念

生物膜是指，由细胞质膜、细胞器膜与核膜一起，构成的一个结构上和功能上互相联系的系统。

- 二、细胞质膜的组成
- 质膜的组成

糖质

脂质

蛋白质

磷脂、糖脂、胆固醇

外在膜蛋白、内在膜蛋白、脂锚定膜蛋白

- 三、细胞质膜的结构
- 三明治模型、单位膜模型、流动镶嵌模型、“脂筏”模型

- 四、细胞质膜的特性
- 流动性、不对称性、不均一性

- 五、细胞质膜的功能
- 1.质膜为细胞的生命活动提供相对稳定的内环境。

2.质膜能够选择性控制物质进出细胞。

3.质膜为跨膜信号转导提供识别位点。

4.质膜为多种酶提供结合位点，使酶促反应高效进行。

5.质膜能够介导细胞与细胞、细胞与细胞外基质的连接。

6.质膜能够参与形成不同功能的细胞表面特化结构。

7.质膜中某些膜蛋白的异常与疾病直接相关，能够作为药物作用的靶点。

- 六、细胞质膜的研究模型：红细胞膜
- 1.红细胞的优点

红细胞数量大、易分离。无细胞核与内膜系统，能够避免核膜与细胞器膜的影响。通过低渗、离心等简单方式，即可释放血红蛋白与胞内可溶性蛋白质，从而获得基本保持原有结构的红细胞血影。

2.膜骨架

(1) 膜骨架的概念

膜骨架是指，质膜下与膜蛋白相连的由纤维蛋白构成的网架结构，参与维持质膜的形状并协助质膜完成生理功能。细胞骨架通过膜骨架与质膜相连。

(2) 红细胞膜骨架

红细胞膜骨架包括：

血影蛋白

肌动蛋白、原肌球蛋白

带4.1蛋白

锚蛋白

红细胞膜骨架主要成分， $\alpha\beta$ 二聚体，长约100 nm，由两个二聚体头头对接，形成四聚体，构成框架结构。

与血影蛋白四聚体游离端相连

介导血影蛋白四聚体与肌动蛋白结合。

介导血影蛋白四聚体与血型糖蛋白、带3蛋白（内在膜蛋白）结合。

通过非共价键，介导血影蛋白与带3蛋白（内在膜蛋白）结合，从而将膜骨架与质膜相连。

3.2细胞质膜的组成

一、糖被

质膜中的糖质以其价键方式与膜脂、膜蛋白结合，形成糖脂、糖蛋白。质膜中的糖质均位于质膜外表面。细胞质膜中的糖质均位于细胞质膜内表面。

绝大多数内在膜蛋白与一些膜脂都含有寡糖链，形成糖蛋白与糖脂。这些质膜表面的寡糖链称为糖萼，或细胞外被。其功能在于保护质膜、细胞识别、细胞黏着等。

二、膜脂

1. 磷脂

(1) 磷脂的分类

①鞘磷脂 (SM) (第二类膜脂)

鞘磷脂是由神经酰胺C1上的羟基酯化形成的化合物。鞘磷脂、红细胞质膜中含最丰富。

甘油磷脂的母体为：磷脂酸

磷脂酸是由3-磷酸甘油C1、C2位上的羟基被酯化形成的产物。磷脂酸中的磷酸基能够进一步为一个亲脂基所酯化，形成甘油磷脂。

②甘油磷脂 (第一类膜脂)

磷脂酰胆碱 (卵磷脂) (PC)

磷脂酰乙醇胺 (脑磷脂) (PE)

磷脂酰丝氨酸 (PS)

磷脂酰肌醇 (PI)

磷脂酰甘油 (PG)

双磷脂酰甘油 (心磷脂)

(2) 磷脂的结构特点

①除心磷脂外，磷脂均为两性物质。由一个亲水的极性头部与两个疏水的非极性尾部构成。

②磷脂中脂酰基链的碳原子数多为偶数，如16、18、20。

③磷脂中若含有不饱和脂酰基，则在脂酰基链中形成的30°的转角，且不含和脂酰基多为脂基。

由于磷脂是两性物质，在溶液中处于亲水的需求，能够自发形成封闭的细胞膜脂双层结构，构成膜的结构基础。

(3) 磷脂的功能特点

磷脂的多态性：脂单层、脂双层、微团、微囊 (脂质体)

脂质体是人工制备的，由磷脂双分子层封闭形成的微团，直径约25~1000 nm。脂质体可用于生物膜研究的模型，以及药物载体。水溶性药物包裹于内，脂溶性的物插入膜中。脂体若含有活性，可进行靶向给药。

2. 糖脂

(1) 糖脂的分类

甘油糖脂与鞘糖脂 (第二类膜脂)

(2) 糖脂的功能

如：ABO血型抗原

3. 胆固醇 (C)

胆固醇主要存在于动物、低等植物的质膜，能够与磷脂或鞘脂结合，增加质膜的厚度。其主要功能为：调节膜的流动性、增强膜的稳定性、降低膜的通透性。

三、膜蛋白

1. 外在膜蛋白

(1) 外在膜蛋白的概念

外在膜蛋白，又称外周蛋白，多为水溶性蛋白质，主要分布于质膜外表面。通过离子键、氢键等非共价键作用与膜脂结合。约占膜蛋白的20%~30%。

(2) 外在膜蛋白的研究方法

外在膜蛋白与膜脂结合相对较弱，通过温和的方式，如升温、提高离子强度等，即可从膜上解离，而不引起膜结构的变化。

2. 内在膜蛋白

(1) 内在膜蛋白的概念

内在膜蛋白，又称整合蛋白，多为跨膜蛋白，通过共价键与膜脂结合。约占膜蛋白的70%~80%。

(2) 内在膜蛋白与质膜的结合方式

①内在膜蛋白的跨膜结构与磷脂双分子层疏水核心相互作用。

A 有些跨膜结构域中约20个疏水氨基酸残基形成α-螺旋，构成单次或多次跨膜蛋白。

外周非极性疏水侧链通过范德华力与磷脂双分子层的非极性尾部结合。

B 有些跨膜结构域中约10个疏水氨基酸残基形成β-折叠，构成非特异性跨膜蛋白，允许分子量小于1040分子自由通过。

内周非极性疏水侧链构成特异性跨膜通道。如：红细胞质膜中的第3蛋白，介导Cl⁻/HCO₃⁻跨膜运输。

如：大肠杆菌α₁膜蛋白外膜的孔蛋白。

②内在膜蛋白的跨膜结构域的跨膜：

带正电的氨基酸残基：Lys、Arg、His与磷脂带负电的极性头部之间形成离子键。

带负电的氨基酸残基：Glu、Asp、谷氨酰胺，如Mg²⁺、Ca²⁺等介导，与磷脂带负电的极性头部结合。

(3) 内在膜蛋白的研究方法

由于内在膜蛋白与质膜结合较紧密，只有通过去污剂使膜溶解才能释放。

离子型去污剂：如SDS，使膜溶解，释放蛋白，可能引起蛋白质变性。

非离子型去污剂：如Triton X-100，使膜溶解，释放蛋白质，不会引起蛋白质变性。

3. 脂锚定膜蛋白

(1) 脂锚定膜蛋白的概念

脂锚定膜蛋白主要通过与之共价相连的脂链插入磷脂双分子层中，从而锚定于质膜上。

糖基化磷脂酰肌醇 (GPI) 脂锚定蛋白：膜蛋白与GPI的糖基共价相连。

①与糖脂结合，分布于质膜脂外表面

糖基化磷脂酰肌醇 (GPI) 脂锚定蛋白：膜蛋白与GPI的糖基共价相连。

②与脂酰基结合，分布于质膜脂内表面

棕榈酰化膜蛋白：软脂酸与蛋白质N端Cys残基共价相连。

棕榈酰化膜蛋白：棕榈酸与蛋白质N端Cys残基共价相连。

法尼基化膜蛋白：法尼基 (含3个异戊二烯) 与蛋白质C端Cys残基共价相连。

龙牛儿基化膜蛋白：龙牛儿基 (含4个异戊二烯) 与蛋白质C端Cys残基共价相连。

3.3细胞质膜的结构

一、生物膜的研究历程

- 1.1890年, Overton 质壁分离实验、油水分离实验——生物膜由脂质构成, 具有选择透过性。
- 2.1917年, Langmuir 脂质抽提与铺展实验——生物膜由脂单层构成。
- 3.1925年, Gorter&Grendel 膜脂抽提与铺展实验——生物膜由脂双层构成。

二、生物膜的结构模型

- 1.三明治模型 1935年, Davson&Danielli
 - (1) 现象:
 - 质膜表面张力远远小于油水界面
 - 质膜允许一些非脂溶性物质通过
 - 2) 三明治模型是指, 质膜以脂双层为骨架, 内外两侧各排列一层球型蛋白质, 且有些球型蛋白质闭合排列的穿膜孔道, 形成“蛋白-脂-蛋白”三层结构。
 - 单位膜模型是指, 生物膜是由“蛋白-脂-蛋白”组成的单位膜构成, 强调膜蛋白的构象并非球型, 而是由单层伸展的β-折叠构成的片层结构。
- 2.单位膜模型 1959年, Robertson
 - 电镜下生物膜呈现“暗-亮-暗”三层, 暗层厚度约2 nm, 为蛋白质, 亮层厚度为3.5 nm, 为脂双层, 整个质膜厚度约7.5 nm。
- 3.流动镶嵌模型 1972, Singer&Nicolson
 - 流动镶嵌模型是指, 质膜是由脂双层构成的骨架以及镶嵌、覆盖、贯穿于其中的蛋白质构成的动态结构。膜脂与膜蛋白都表现出流动性与不对称性。
- 4.“脂筏”模型 1988, Simon
 - 在以甘油磷脂为骨架的质膜上, 由胆固醇、鞘磷脂等形成的相对有序的脂相, 如同漂浮在脂双层海洋中的竹筏, 其上附着有行使特异性功能的蛋白质。这种特异性结构域称为“脂筏”。

三、生物膜的现代认识

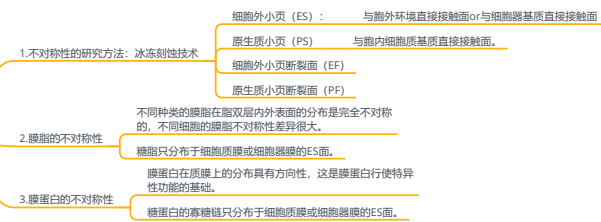
- 1.膜脂分子疏水性尾部两两相对, 背向水相, 亲水性头部面向水相, 形成脂双层, 构成生物膜的结构基础。
- 2.膜蛋白覆盖、镶嵌、穿插于脂双层中, 具有完全不对称性, 与膜脂一起, 构成生物膜的功能基础。
- 3.生物膜是一个连续、动态、变化的系统, 可以看做是膜蛋白溶解于脂双层中形成的二维溶液。
- 4.膜蛋白与膜脂、膜蛋白与膜蛋白、膜蛋白与质膜两侧其他生物大分子之间的相互作用限制了膜蛋白、膜脂的流动性, 形成特异性“脂筏”结构。

3.4细胞质膜的特性

一、流动性



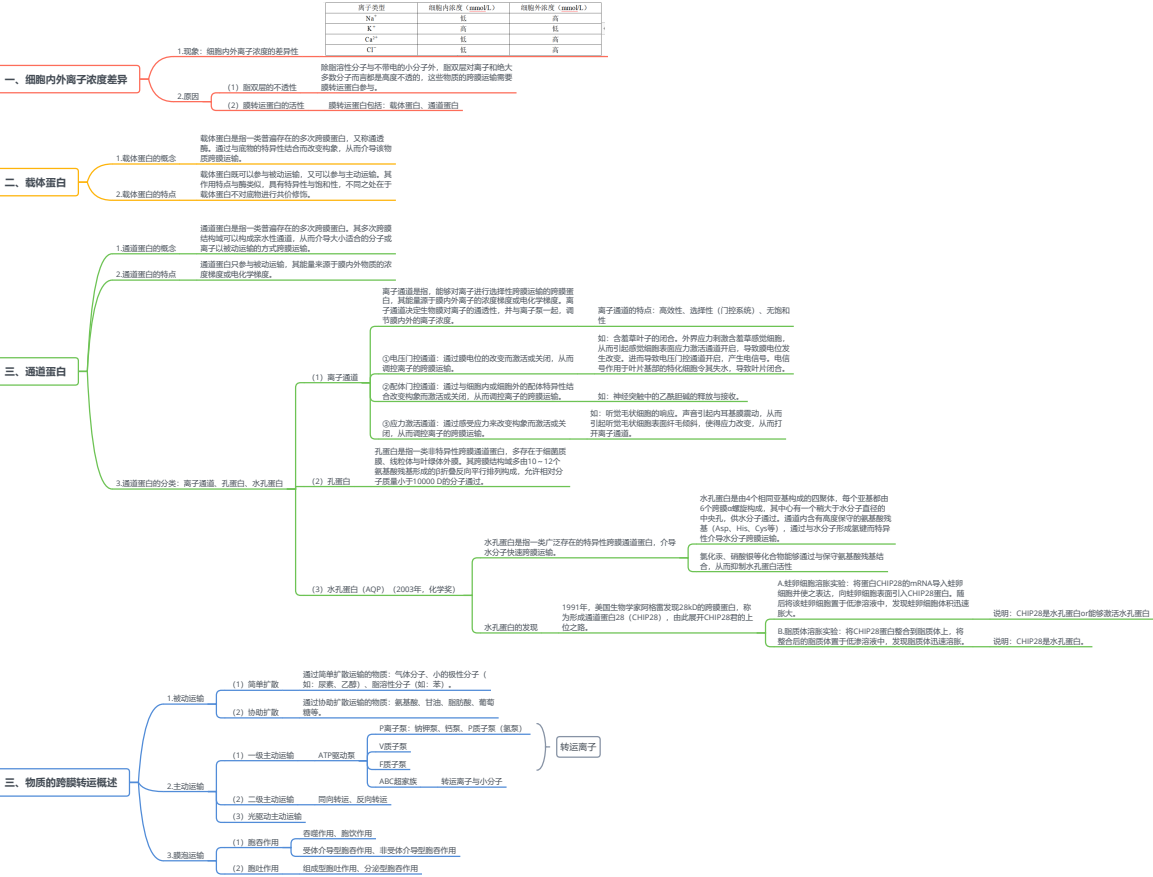
二、不对称性



三、不均一性

细胞表面往往存在各种特化结构, 如微绒毛、有被小窝、“脂筏”等, 体现出质膜的不均一性, 以实现各自特异性生命活动。

4.1物质的跨膜运输概述





4.3主动运输

一、主动运输概述

- 1.主动运输的概念

主动运输是指，由载体蛋白介导的物质逆浓度梯度或电化学梯度跨膜运输的方式。该过程自由能变为正值，必须与某个消耗能量的过程相偶联。
- 2.主动运输的分类
 - (1) 一级主动运输

一级主动运输是指，利用ATP驱动泵（ATP酶），使运输过程与ATP水解反应相偶联，利用ATP水解提供的能量实现物质逆浓度梯度或电化学梯度的跨膜运输。

能量来源：ATP水解

ATP驱动泵主要包括：P离子泵、V质子泵、F质子泵、ABC超家族
 - (2) 二级主动运输（协同运输）

二级主动运输是指，利用偶联转运蛋白，使一种物质的逆浓度梯度或电化学梯度运输同另一种物质的顺浓度梯度或电化学梯度运输相偶联，利用偶联物质的浓度梯度或电化学梯度提供的能量实现底物逆浓度梯度或电化学梯度的跨膜运输。

能量来源：浓度梯度、电化学梯度

二级主动运输包括：同向转运、反向转运

 - ①同向转运 底物运输方向与偶联物质运输方向相同。
 - ②反向转运 底物运输方向与偶联物质运输方向相反。
 - (3) 光驱动主动运输

光驱动主动运输是指，运输过程与光能相偶联，利用光能实现物质逆浓度梯度或电化学梯度的跨膜运输。

能量来源：光能

二、P离子泵

- 1.P离子泵概述

P离子泵均含有2个独立的 α 催化亚基，具有ATP结合位点。大多数还含有2个 β 调节亚基。运输过程中至少有一个 α 催化亚基与ATP结合，发生磷酸化与去磷酸化反应，从而改变构象，实现离子的跨膜运输。

P离子泵包括：钠钾泵、钙泵、P质子泵
- 2.钠钾泵
 - (1) 钠钾泵概述

钠钾泵是由2个胞质侧 α 催化亚基与2个 β 调节亚基构成的四聚体，具有ATP离子泵活性。广泛存在于动物细胞质膜上，用于介导钠离子出细胞、钾离子入细胞。对细胞内外离子浓度分布、渗透压平衡、神经细胞冲动传导以及细胞体积的稳定至关重要。

磷酸化位点： α 亚基Asp269

钠钾泵去磷酸化构象对钠离子亲和性高；磷酸化构象对钾离子亲和性高。

在胞内， α 亚基与钠离子结合促进ATP水解，从而使 α 亚基上的一个Asp残基磷酸化，导致 α 亚基构象改变，将钠离子泵出细胞。与此同时，在胞外，钾离子与 α 亚基结合，促使其去磷酸化， α 亚基构象恢复，将钾离子泵入细胞。

每消耗1分子ATP，可介导3个钠离子泵出，2个钾离子泵入。
 - (2) 钠钾泵的工作原理
 - (3) 钠钾泵的影响因素：乌本苷（抑制剂）
- 3.钙泵
 - (1) 钙泵概述

钙泵广泛存在于真核细胞质膜或内膜中，尤其是肌细胞内质网中，具有ATP离子泵活性。用于介导钙离子出细胞或入内质网的跨膜运输。对维持细胞内低钙离子浓度以及肌细胞的收缩与舒张至关重要。

磷酸化位点：大亚基Asp351（与钠钾泵 α 亚基同源）

钙泵去磷酸化构象与钙离子亲和性高。

钙泵处于去磷酸化构象时对钙离子促进ATP水解，从而使大亚基上的一个Asp残基磷酸化，导致大亚基构象改变，将钙离子泵出细胞或泵入内质网。

每消耗1分子ATP，可介导2个钙离子泵出细胞或泵入内质网。
 - (2) 钙泵的工作原理
 - (3) 钙泵的影响因素：钙调蛋白（CaM）

质膜钙泵：C端有钙调蛋白结合位点，当细胞内钙离子浓度升高时，钙离子与钙调蛋白结合，形成Ca²⁺-CaM复合物，并与钙泵结合，激活钙泵的活性。

内质网膜钙泵：无钙调蛋白结合位点。
- 4.P质子泵

P质子泵又称氢泵，主要位于植物细胞、真菌与细菌的质膜中，具有ATP离子泵活性，代替钠钾泵的功能。用于介导氢离子出细胞，以建立和维持膜内外氢离子电化学梯度。

三、V质子泵与F质子泵

- 1.V质子泵

V质子泵广泛存在于动物细胞溶酶体、胞内体、植物细胞、真菌液泡膜中，利用ATP水解，将细胞质基质的氢离子逆电化学梯度泵入膜泡中，以维持细胞质基质的中性环境与该类膜泡中的酸性环境。该过程不形成磷酸化中间体。
- 2.F质子泵

F质子泵存在于细菌质膜、线粒体内膜及叶绿体类囊体膜中，一方面能利用ATP水解实现氢离子逆电化学梯度运输，一方面，能利用氢离子顺电化学梯度运输与ATP合成偶联，如线粒体内膜的氧化磷酸化、叶绿体类囊体膜的光合磷酸化。该过程不形成磷酸化中间体。

四、ABC超家族

- 1.ABC超家族概述

ABC超家族是最大的一类膜转运蛋白，用于介导离子、单糖、氨基酸、磷脂、多肽等物质跨膜运输，从而将代谢废物与细胞毒物排除胞外。

细菌ABC超家族：转运单糖、氨基酸、磷脂、多肽。

动物质膜ABC超家族：转运磷脂、胆固醇、脂溶性药物（因此对于这类细胞必须保持胞外药物的高浓度）。
- 2.ABC超家族的工作原理

所有的ABC超家族都具有2个跨膜结构域（T，每个T由6个跨膜 α 螺旋形成）和2个胞质侧ATP结合位点（A）。

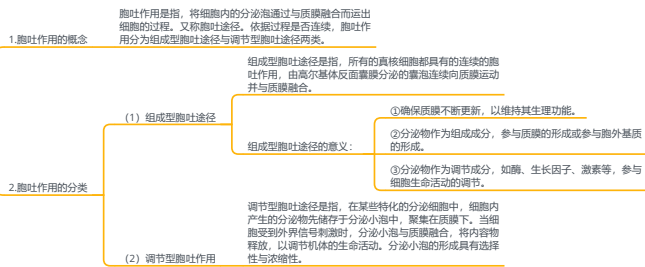
质膜内两个A位点与ATP结合，通过ATP的二聚化反应，介导两个A位点相结合，从而导致其构象改变，实现物质的跨膜运输。

4.4膜泡运输

一、胞吞作用



二、胞吐作用



5.1细胞质基质与细胞内膜系统概述

一、细胞质基质的概念

细胞质基质是指细胞质中除去膜性细胞器之后，剩下的无定形胶状物质，占细胞体积一半以上，内含大量水、生物大分子以及多种代谢中间产物。

二、细胞质基质的结构

细胞质基质通过细胞质骨架形成在结构上相互联系的空间网状结构。蛋白质与其他生物大分子以溶解态与之结合或分布其中，与周围溶液中的分子处于动态平衡状态。多数水分子以结合水形式与蛋白质等生物大分子结合，少数水分子以游离水形式存在作为溶剂。

三、细胞质基质的功能

1. 细胞质基质是多个代谢途径发生的场所。
2. 细胞质基质是多种生物分子合成的场所。
3. 细胞质基质中含有细胞质骨架构成的空间网状结构，与生物大分子、细胞代谢物质的分布与流动相关，对维持细胞形态、介导细胞运动、介导细胞内物质运输等有重要作用。
4. 细胞质基质对蛋白质的修饰、加工与降解有重要作用。

eg: 糖酵解途径、磷酸戊糖途径、糖异生途径、糖原的合成与分解等

eg: 蛋白质的生物合成、脂类物质的合成等

- (1) 细胞质基质中可对蛋白质进行各种修饰。

eg: 酶蛋白与辅因子的结合、蛋白质的磷酸化与去磷酸化、糖基化、甲基化等

泛素是指直接细胞中高度保守的一类小分子蛋白质，能够通过与其蛋白N端的Lys残基共价结合，指导其进入蛋白酶体中降解。

泛素降解途径的组成: E1 (泛素激活酶)、E2 (泛素结合酶)、E3 (泛素连接酶) 蛋白酶体

- ①在E1的催化下，泛素与E1的某些Lys残基共价结合，消耗ATP，形成E1-泛素复合物。
- ②在E2的催化下，E1-泛素复合物将泛素转移，与E2结合，E2进一步将之转移给靶蛋白N端的Lys残基。
- ③第一个泛素与靶蛋白结合后，在E3的催化下，游离的泛素分子与下一个泛素分子的Lys残基结合，形成多聚泛素链，之后介导靶蛋白进入一个巨大的蛋白酶体降解，多聚泛素链解行降解，可重复利用。

- (2) 细胞质基质对蛋白质的寿命起到调控作用，真核细胞中存在泛素化降解途径。

- (3) 细胞质基质中能够降解变性错误折叠的蛋白质。

分子伴侣是一类能够协助多肽链正确折叠与分选的蛋白质，且在基因表达、细胞骨架的组装与细胞信号传导中起重要作用。eg: hsp 70

四、细胞内膜系统

1. 细胞内膜系统的概念

细胞内膜系统是指细胞质基质中在结构与功能上相互联系的一些列膜性细胞器的总称。广义上内膜系统包括: 内质网、高尔基体、溶酶体、胞内体、分泌泡等。

eg: 分泌蛋白: 粗面内质网 (核糖体) → 高尔基体 → 分泌泡 → 胞外

eg: 溶酶体蛋白: 粗面内质网 (核糖体) → 高尔基体 → 胞内体 → 溶酶体

2. 细胞内膜系统结构与功能上的连续性

- (1) 内膜系统中各个组织是相对独立的，各自行使自己的功能。

- (2) 内膜系统中各个组织的结构与功能通过膜泡构成一个连续、动态的整体。

3. 细胞内膜系统的意义

- (1) 细胞内膜系统极大的扩大了细胞内膜的面积，为多种酶提供附着位点，有利于代谢反应的进行。

- (2) 细胞内膜系统将细胞质区域化与功能化，使相互区别的代谢反应能够同时进行，以满足细胞不同部位的需求。

5.2内质网

一、内质网的概念

内质网是指由封闭的管状或囊状膜系统及其包被的空腔所形成的相互沟通的空间网状结构，其体积占据内膜系统的一半以上。

微粒体源于内质网，是细胞匀浆经离心后由细胞质中提取出的球型囊泡。

二、内质网的分类

- 1.粗面内质网 (rER)
 - (1) rER的结构
rER是扁平的囊膜结构，排列整齐，表面附着有大量核糖体颗粒，与细胞核外膜相连。管腔与核周腔相通。rER多与线粒体伴生，沿微管排列。
 - (2) rER的功能
rER的主要功能为合成、修饰、分选与转运蛋白质。
- 2.光面内质网 (sER)
 - (1) sER的结构
sER是分支管状结构，所占比例较小，多为粗面内质网的分支，表面无核糖体附着，在某些细胞中含量丰富，如肌细胞、干细胞等。
 - (2) sER的功能
 - ①sER是rER的延伸，多作为出芽位点，负责将合成的脂质与蛋白质转运给高尔基体。
 - ②sER是细胞内几乎所有磷脂与胆固醇合成与转运的场所。
 - ③sER表面具有G-6-磷酸葡萄糖酶，参与糖原分解。
 - ④sER具有解毒、储存 (Ca²⁺) 等作用。

三、内质网的功能

- 1.蛋白质的合成 (rER)

细胞中所有蛋白质合成的起点均为核糖体，始于细胞质基质，有些蛋白质合成不久即转移至内质网膜，一边延伸，一边穿过内质网膜，进入内质网腔。

在内质网上合成的蛋白包括：分泌蛋白、整合蛋白、可溶性驻留蛋白等。
- 2.脂质的合成 (sER)

细胞中几乎所有磷脂和胆固醇均在sER中合成。与脂质合成相关的酶定位于内质网膜，活性位点分布于内质网的脂膜面。

脂质合成后，插入内质网脂膜面，在转位酶的作用下做翻转运动，由内质网脂膜面转向内质网腔面，从而维系内质网膜内外的脂质平衡。

内质网合成脂质后，可通过出芽、磷脂转移蛋白 (PEP) 或膜融合等方式转移给其他膜性细胞器。
- 3.参与细胞内蛋白质的修饰与加工

内质网中的主要修饰与加工方式：糖基化、酰基化、二硫键的形成等。

内质网中的蛋白质糖基化主要为N-链接糖基化，始于内质网腔面，止于高尔基体，其合成、转移与多肽链的合成同步。

 - (1) 以多羟醇为载体，合成包括核心五糖在内的14糖基寡糖链。
 - (2) 将14糖基寡糖链转移到不断延伸的肽链中。
 - (3) 在内质网中去除寡糖链的一些残基后，转移到高尔基体中继续修饰。

与之形成糖苷键的氨基酸残基只能为Asn
与Asn共价结合的糖残基只能为NAG
- 4.参与细胞内多肽的折叠、组装与降解

未能正确折叠或未能正确组装的多肽不能进入高尔基体，将在蛋白质的作用下，由内质网转移到细胞质基质中，经由泛素途径降解。

 - (1) 多肽链的降解
 - (2) 多肽链的折叠与组装

二硫键异构酶 (PDI)，含有四肽信号，定位于内质网腔面，属于可溶性驻留蛋白。PDI可以识别并切断错误形成的二硫键，使蛋白质形成能量最低的结构，协助其形成新的二硫键并重新折叠为正确的构象。

结合蛋白 (Bip)，含有四肽信号，可与Ca²⁺结合从而与蛋白质相互作用。定位于内质网中，属于分子伴侣。Bip能够识别错误折叠或组装的多肽链，促使其重新折叠与组装，之后与Bip分离，进入高尔基体。
- 5.肝细胞sER表面含有氧化酶系，能够氧化脂溶性有毒物质，使之转化为水溶性物质，虽尿液排出体外。
- 6.肌细胞sER特化为Ca²⁺储存库，称为肌质网，参与肌肉收缩过程。
- 7.内质网极大的增大了细胞内膜的面积，促进细胞质区域化与功能化的形成，并为多种蛋白质与酶提供附着位点。

5.3高尔基体

一、高尔基体的概念

高尔基体是指一种由管网状结构与多个囊膜组成的极性细胞器，不同细胞中大小不一，形态各异。其主要功能为对由内质网转运来的脂质与蛋白质进行修饰、加工与分选，是细胞内生物大分子加工与转运的枢纽。

二、高尔基体的形态

高尔基体的主体由数个扁平囊膜堆叠而成，呈弓形或半球形，其周围有数个大小不等，数目不一的囊泡。
高尔基体靠近细胞核的一侧弯曲为凸面，称为形成面or顺面。
高尔基体面向细胞质的一侧下陷为凹面，称为成熟面or反面。
顺面与反面之间的中间囊膜囊腔较窄，不同细胞中数目与形态差异很大。
高尔基体为动态结构，可形成膜泡或与膜泡融合以自我更新。

三、高尔基体的发生

- 1.膜泡运输模型
膜泡运输模型是指，高尔基体囊膜主体较稳定，来自内质网的膜泡可由顺面到反面转移给高尔基体，也可由反面到顺面转移以自我更新。
- 2.膜囊成熟模型
膜囊成熟模型是指，高尔基体的发生始于内质网，内质网分泌的膜泡先形成CGN，之后由顺面向反面逐渐成熟，多余的蛋白质由反面向顺面转运回收。

| 结构 | 标志反应 |
|-------------|-----------------------|
| 顺面管网结构（CGN） | 磷酸反应 |
| 中间膜囊 | 尼克酰胺腺嘌呤核苷酸反应（NADPH反应） |
| 反面转氨 | 焦磷酸硫胺素反应（TPP反应） |
| 反面管网结构（TGN） | 腺苷三磷酸反应（ATP反应） |
| | 腺苷三磷酸反应（ATP反应） |

四、高尔基体的结构

- 高尔基体的标志酶：糖基转移酶
- 1.高尔基体顺面管网结构（CGN）
CGN是指位于高尔基体顺面最外侧的膜囊，是连续分布，中间多孔的管网状结构，与内质网类似。
来自内质网的脂质与蛋白质大部分经CGN转运至中间膜囊，少数具有四肽信号的内质网驻留蛋白经加工后会返回内质网。
- 2.中间系列膜囊
包括顺面、中间、反面膜囊，由扁平膜囊与管状构成，形成结构上相互独立，功能上连续完整的系统，与脂质、蛋白质的糖基化以及多糖的形成有关，且极大的增大了高尔基体的有效面积。
- 3.高尔基体反面管网结构（TGN）
TGN是指位于高尔基体反面最外侧的膜囊，一侧与反面膜囊相连，另一侧面向细胞质基质，呈管网状结构，并有膜泡与之伴生。
TGN的主要功能为参与蛋白质的分选与包装，并保证分泌蛋白以膜泡的形式由顺面向反面单向运输，最后输出高尔基体，运向目的地。
TGN亦参与蛋白质的修饰以及特异性降解。

五、高尔基体的功能

- 1.高尔基体介导蛋白质的加工、分选与转运。
 - (1) 溶解性酶的加工、分选与转运
 - (2) 组成型胞吐途径
 - (3) 分泌型胞吐途径
- 2.高尔基体介导蛋白质、脂质的修饰，如糖基化、硫酸化等。
 - (1) 硫酸化
硫酸化主要发生于蛋白聚糖中，其底物为糖胺聚糖-丝氨酸（PAPS），硫酸根载体为3'-磷酸腺苷-5'-磺酸腺苷。PAPS由细胞质转运至高尔基体，在酶的催化下，将硫酸根转移至靶蛋白的Tyr-OH上。
 - (2) 糖基化
 - ①N-连接糖基化：由内质网中开始，在高尔基体中完成
 - ②O-连接糖基化：在高尔基体中完成，先合成多糖链，后合成寡糖链。
- 3.高尔基体介导蛋白质特异性水解
 - (1) 有些无活性的蛋白原在高尔基体TGN中经特异性水解酶作用形成活性多肽。eg：胰岛素、胰高血糖素、血清蛋白等
 - (2) 有些无活性蛋白质中含有数个重复的氨基酸序列，在TGN中被水解为数个序列相同的活性多肽。eg：神经肽
 - (3) 有些无活性蛋白质中含有多种信号序列，在TGN中经特异性水解酶作用可形成作用于不同靶点的活性多肽。

5.4溶酶体

一、溶酶体概述

- 1.溶酶体的概念
 - 溶酶体是由单层膜包被，内含多种酸性水解酶的囊泡状细胞器，其主要作用为进行细胞内消化。
 - 溶酶体标志酶：酸性水解酶
 - 溶酶体是异质性细胞器，平均直径为0.25~0.8μm，最大约1.0μm，最小约25~50nm。
- 2.溶酶体的分类：初级溶酶体、次级溶酶体、残质体
 - (1) 初级溶酶体 初级溶酶体源于高尔基体，体积较小，无明显颗粒状物质，内含多种水解酶，但无消化底物，没有消化能力。
 - (2) 次级溶酶体 次级溶酶体由初级溶酶体与胞内自噬泡或异噬泡融合，形成的复合膜泡。内含明显的颗粒状物质，结构不一，形态各异。
 - (3) 残质体 残质体呈泡，成熟的溶酶体在经过一段时间消化作用后，水解酶活性下降，内含未完全消化的残渣。残质体将会被排出胞外或形成脂褐质颗粒沉积。
- 3.溶酶体的稳定性
 - (1) 溶酶体膜中含有大量V型质子泵，将H⁺泵入溶酶体内，使溶酶体中H⁺浓度远远高于细胞质中H⁺浓度，以维系溶酶体内的酸性环境。
 - (2) 溶酶体膜中含有多种载体蛋白，负责将水解产物向外转运。
 - (3) 溶酶体膜中含有大量胆固醇，且膜蛋白高度糖基化，以防止自身降解，增强其稳定性。

①自噬性溶酶体：其底物为细胞自身衰老、破损的结构，作用于细胞的自我更新。
②异噬性溶酶体：其底物为外源性食物或病原体。

二、溶酶体的功能

- 1.清除无用的生物大分子、衰老的细胞器以及损伤或凋亡的细胞。 eg: 包括吞噬作用、自噬作用、内吞作用等
- 2.参与机体免疫作用，识别并吞噬入侵的病原体，将之消化吸收。 eg: 单核细胞发育为巨噬细胞，含有丰富的溶酶体
- 3.作为消化器官为细胞提供营养物质。 eg: 降解清蛋白以获得胆固醇
- 4.参与分泌细胞分泌作用的调节。 eg: 吞噬甲状腺球蛋白使之降解为甲状腺素之后再分泌
- 5.参与调节多细胞生物的生长发育，通过自噬作用以清除机体不需要的组织或细胞。 eg: 蝌蚪在发育成熟的过程中尾部的消失
- 6.参与受精作用，构成精子顶体的主要部分，协助其溶解卵细胞的质膜，从而使精子顺利进入卵细胞。

三、溶酶体的发生：依赖M6P的细胞分选途径

rER→CGN→TGN→吞噬→前溶酶体→溶酶体质膜→胞内体→前溶酶体→溶酶体

rER中合成的溶酶体酶前体在內质网腔中进行N-连接糖基化修饰后，经囊泡运输至高尔基体。

在CGN中N-乙酰葡萄糖胺转移酶和N-乙酰葡萄糖胺苷酶的作用下，溶酶体酶肽链末端甘露糖链中甘露糖（Man）被磷酸化，形成6-磷酸甘露糖（M6P）。

M6P标记的溶酶体酶进入高尔基体TGN，TGN中有M6P受体，使溶酶体酶同其他蛋白质分离，并局部浓缩。

TGN出芽形成网格蛋白包被的囊泡，向前溶酶体中转移，膜泡形成后，网格蛋白脱离。

TGN形成的囊泡亦可分泌到胞外，质膜中也有M6P受体，可通过内吞作用形成胞内体，并向前溶酶体中转运。

囊泡与前溶酶体融合后，由于前溶酶体中pH<7，呈酸性，使溶酶体酶与M6P受体脱离，从而形成溶酶体，溶酶体酶在溶酶体中进一步加工成熟。M6P受体以出芽的形式回收到高尔基体TGN或质膜中。

5.5过氧化物酶体

一、过氧化物酶体概述

- 1.过氧化物酶体的概念
- 过氧化物酶体又称微体，是指一种由单层膜包被的，内含一种或多种氧化酶类的细胞器，在植物细胞中有与之类似的乙醛酸循环体。
- 2.过氧化物酶体的形态与结构
- 过氧化物酶体呈球形，直径约0.15 ~ 0.25μm，其内环境近似中性，含有一种或多种氧化酶类，由rER在细胞质基质中合成。
- 过氧化物酶体标志酶：过氧化氢酶
- 3.过氧化物酶体与溶酶体的差异性
- (1) 过氧化物酶体的直径略小于溶酶体。

(2) 过氧化物酶体中含有尿酸氧化酶，常处于结晶状态，较易观察。溶酶体中酸性水解酶均为水溶性酶，生理状态下不结晶。

(3) 过氧化物酶体中环境近似中性。溶酶体中环境为酸性。

(4) 过氧化物酶体可以直接利用分子氧来进行氧化还原反应。溶酶体不能直接利用分子氧。

(5) 过氧化物酶体标志酶为过氧化氢酶。溶酶体标志酶为酸性水解酶。

二、过氧化物酶体的功能

- 1.过氧化物酶体中通常含有两种酶，一是黄素依赖性氧化酶，可将底物氧化为过氧化氢；二是过氧化物酶，可将过氧化氢分解为水和氧气。在这二者的作用下，过氧化物酶体能够分解过氧化氢、酚、甲醛、甲酸等有毒物质。
- 2.过氧化物酶体能够直接利用氧气，通过氧化反应消耗分子氧，从而调节细胞内氧气浓度，且其解毒能力与氧气分压成正比。
- 3.过氧化物酶体能够进行脂肪酸-β-氧化，从而直接为细胞提供热量，同时产生过氧化氢。
- 4.过氧化物酶体中含有尿酸氧化酶，能够降解氨基酸或核苷酸代谢中产生的尿酸。
- 5.植物细胞中乙醛酸循环体的功能
- (1) 参与光呼吸，将光合作用副产物乙醇酸氧化为乙醛酸与过氧化氢。

(2) 在正在萌发的种子中，将种子储存的脂肪酸进行β-氧化，产生乙酰CoA，并经过乙醛酸循环，生成乙醛酸和琥珀酸，进一步进入TCA循环或糖异生途径。

三、过氧化物酶体的发生

- 1.分裂增殖
- 新的微体可以由老的微体分裂而来，再与蛋白质、脂质组装形成成熟的过氧化物酶体。
- 2.重新组装
- 始于内质网，其蛋白质均有核基因编码，于细胞质中合成，形成前体膜泡，并掺入膜蛋白，形成前过氧化物酶体。之后再由膜蛋白导入基质蛋白，由这些基质蛋白单位组装形成寡聚蛋白，进而形成成熟的过氧化物酶体，具有分裂增殖能力。

6.1蛋白质分选与膜泡运输概述

一、信号假说

信号假说是指，在细胞质中合成的分泌性蛋白质N端带有信号序列，指导细胞质中游离的核糖体与内质网膜结合，之后一边合成一边通过易位子进入内质网网腔的机制。在蛋白质合成结束之前，信号序列被切除。

信号序列分为以下几种类型：

- 1.起始转移序列 作为rER的信号序列，位于多肽链N端，指导新合成的多肽穿过内质网膜，进入内质网网腔。
- 2.停止转移序列 作为锚定序列，位于多肽链内部，不被切除，诱导形成跨膜蛋白。
- 3.内在信号锚定序列 双功能序列，位于多肽链内部，不被切除。一方面作为信号序列，促使新合成的多肽穿过内质网膜进入内质网网腔；另一方面作为膜锚定序列，诱导形成跨膜蛋白。

二、蛋白质的分选

1.蛋白质分选的概念 蛋白质分选是指，在细胞质中合成的肽链通过不同的途径转移到细胞特定位置的过程。

- 2.蛋白质分选的类型
 - (1) 共翻译转运途径 共翻译转运途径是指，肽链在游离核糖体上开始合成后，经信号序列进入rER，之后边翻译边转运。
 - (2) 翻译后转运途径 翻译后转运途径是指，肽链在游离核糖体上合成完成后，转运到其他膜性细胞器，例如线粒体、叶绿体、过氧化物酶体、细胞核中，或者成为胞质可溶性驻留蛋白。

三、蛋白质的转运

1.跨膜转运 跨膜转运是指，细胞质基质中合成的蛋白质在信号序列的介导下，通过靶膜上的孔道进入膜性细胞器的过程。通常需要分子伴侣协助解折叠，以促进跨膜转运。

2.膜泡运输 膜泡运输是指，蛋白质通过不同类型的小泡由rER转运至高尔基体，进而分选至细胞不同位置的过程。通常涉及出芽、转运、融合三个步骤。

已经正确折叠的蛋白质通过膜泡运输，其方向性在运输过程中保持不变

- 膜泡运输的类型：
- Cop I介导的膜泡运输
 - Cop II介导的膜泡运输
 - 网格蛋白介导的膜泡运输

3.选择性门控运输 选择性门控运输是指，在细胞质中合成的多肽，经核定位信号或核输出信号的介导，通过核孔复合体选择性进出细胞核的过程。属于主动运输，消耗代谢能量。

选择性门控运输的蛋白质为已经正确折叠的蛋白质。

4.细胞质基质中的蛋白质运输 细胞质基质中的蛋白质运输是上述三种运输方式的基础，与细胞骨架密切相关。

6.2蛋白质的分选

一、内质网蛋白质的分选

- 1.细胞质中游离核糖体是所有蛋白质合成的起点，若所合成的蛋白质为分泌性蛋白质，则在肽链 N 端会有一段指导蛋白质进入内质网的信号序列，称为信号肽。内质网蛋白质通过信号肽介导分选，属于共翻译转运途径。
- 2.当游离核糖体中肽链延伸至约 80 个氨基酸时，暴露出 N 端信号肽，细胞质基质中的信号识别颗粒（SRP）与之结合，防止新生 N 端受到损伤或肽链成熟前折叠，同时肽链合成暂停
- 3.SRP 与内质网中 SRP 受体，即停泊蛋白（DP）结合，同时 SRP、DP 各结合一分子 GTP，通过水解 GTP 使信号肽与内质网膜上的易位子结合，打开通道蛋白，信号肽穿过内质网膜并引导肽链进入内质网腔。同时 SRP 被释放，返回细胞质基质重新利用。
- 4.进入内质网网腔的信号肽被酶切降解，肽链延伸继续，进入内质网腔后折叠。同时核糖体脱离，易位子关闭。
- 5.若信号肽后包含停止转移序列，则此时肽链合成继续，而肽链向内质网网腔转运停止，形成单次跨膜蛋白。膜蛋白的跨膜次数由起始转移序列 and 停止转移序列的数目共同决定。
- 6.信号序列中，正电荷较多的一端朝向细胞质基质，故膜蛋白在膜中的取向相同，决定了膜蛋白的不对称性。

二、线粒体蛋白质的分选

- 1.线粒体蛋白质分选的特点
 - (1) 线粒体蛋白质分选属于翻译后转运途径
 - (2) 线粒体蛋白质分选序列称为前导肽，为两性 α 螺旋。前导肽一方面识别线粒体受体信号，一方面牵引多肽过膜。不同序列含有不同信号，介导蛋白质进入线粒体不同位置。
 - (3) 线粒体蛋白质跨膜时以解折叠状态完成，进入线粒体后重新折叠，这一过程需要分子伴侣的协助。
 - (4) 前导肽引导蛋白质进入线粒体是主动运输的过程，消耗代谢能。
 - (5) 前导肽引导蛋白质进入线粒体是配体与受体特异性识别的过程。
- 2.蛋白质由细胞质基质向线粒体基质的转运

线粒体基质蛋白在细胞质中游离核糖体上合成后，在胞质分子伴侣 Hsp70 的作用下解折叠，形成完全伸展构象。

前导肽与线粒体外膜中受体相互作用，且作用位点处线粒体内、外膜局部融合，使肽链通过内膜，进入线粒体基质。此过程需要 ATP 功能以及内膜两侧质子浓度梯度的驱动。

肽链进入线粒体基质后，前导肽被酶切降解，肽链在线粒体基质中分子伴侣 Hsp60 的作用下重新折叠。
- 3.蛋白质由细胞质基质向线粒体内膜转运
 - (1) 肽链由前导肽介导，进入线粒体基质，此过程中，停止转移序列介导肽链定位于线粒体内膜。
 - (2) 肽链由前导肽介导，进入线粒体基质，此过程中，Oxa1 靶向序列与线粒体内膜中 Oxa1 受体结合，使肽链转运到线粒体内膜。
 - (3) 肽链中没有前导肽，而是含有数个内在信号锚定序列，进入膜间隙后，在线粒体内膜上形成多次跨膜蛋白。
- 4.蛋白质由细胞质基质向线粒体膜间隙转运
 - (1) 肽链由前导肽介导，进入线粒体基质，此过程中，通过膜间隙靶向序列将肽链定位于线粒体内膜，再由内膜中蛋白酶切割，使肽链进入膜间隙。
 - (2) 肽链中没有前导肽，只有膜间隙靶向序列，直接进入线粒体膜间隙。

三、叶绿体蛋白质的分选

- 1.叶绿体蛋白质分选的特点
 - (1) 叶绿体蛋白质的分选属于翻译后转运途径。
 - (2) 叶绿体蛋白质分选序列称为转运肽，富含羟基氨基酸，如 Ser、Thr、Tyr 等。转运肽一方面识别叶绿体信号，一方面牵引蛋白过膜。不同的序列含有不同信号，介导蛋白质进入叶绿体不同位置。
 - (3) 叶绿体蛋白质跨膜时以解折叠状态完成，进入叶绿体后重新折叠，这一过程需要分子伴侣的协助。
 - (4) 转运肽引导蛋白质进入叶绿体是主动运输的过程，消耗代谢能。
 - (5) 转运肽引导蛋白质进入叶绿体是配体与受体特异性识别的过程。
- 2.定位于叶绿体基质的蛋白质（与线粒体类似）
- 3.定位于叶绿体类囊体腔的蛋白质

游离核糖体合成的叶绿体蛋白 N 端转运肽中含有两个导向序列，分别介导两步转运。

导向基质的序列在引导多肽进入基质后水解，之后导向类囊体的序列进一步引导多肽进入类囊体腔后水解。

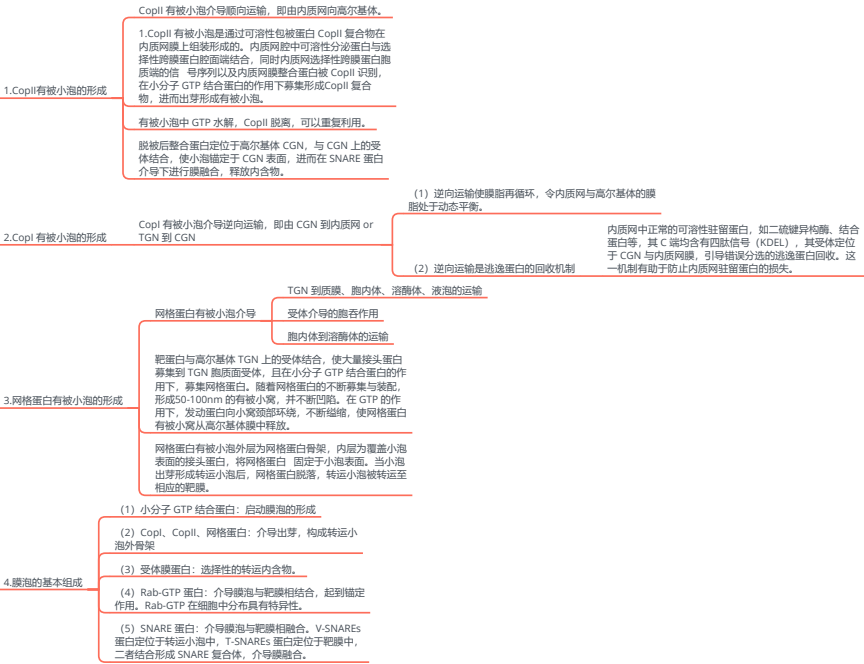
此过程包含分子伴侣介导的解折叠与重折叠
- 4.定位于叶绿体类囊体膜的蛋白质
 - (1) 某些 ct DNA 编码的蛋白质能够整合于类囊体膜中。
 - (2) 某些核 DNA 编码的蛋白质在进入叶绿体基质后，在酶的作用下整合到类囊体膜中。

四、过氧化物酶体蛋白质的分选

- 过氧化物酶体蛋白质分选序列称为内在引导信号（PTS）。
- PTS1 信号位于肽链 C 端，由三个氨基酸残基组成，即 Ser-Lys-Leu。在细胞质基质中被信号识别颗粒识别，介导肽链跨膜转运，进入过氧化物酶体基质。转运后 C 端 PTS 不被切除。

6.3 膜泡运输

一、膜泡的形成



二、膜泡的转运 (扩散或通过微管运输)

三、膜泡的融合

转运小泡中 Rab-GDP 在鸟苷酸交换因子的作用下，转化为 Rab-GTP，插入转运小泡受体表面，介导转运小泡与靶膜上的 Rab 受体结合，使转运小泡锚定于靶膜上。

此时，转运小泡中 V-SNAREs 与靶膜中 T-SNAREs 结合，形成 SNARE 复合体，介导二者膜融合。之后在一系列蛋白质的作用下，通过水解 ATP，使 SNARE 复合体解聚，以重复利用。

7 线粒体

一、线粒体的概念

线粒体是细胞中一种由双层膜包被的细胞器，在能量转换过程中起决定性作用。能够存储存在有机物中的能量通过氧化磷酸化形成 ATP，为细胞的生命活动提供直接能源。此外，线粒体还与细胞衰老、细胞凋亡等生命过程相关。

二、线粒体的形态、分布与分裂

(1) 线粒体的形态

线粒体的形态具有多样性，通常呈现颗粒状、线状、短棒状等，且随线粒体不断融合与分裂处于动态变化中。

线粒体的大小不一，其直径通常为 0.5-1.0μm，长度变化很大，通常为 1.5-3.0μm，人成纤维细胞中线粒体可达 40μm，某些组织会出现异常膨大的巨型线粒体。

(2) 线粒体的分布

线粒体的数量与分布随细胞种类与生理环境的变化而变化，通常分布于细胞功能旺盛的区域，沿着微管排列，与细胞能量需要密切相关。

植物细胞：由于植物细胞中含有叶绿体，故其线粒体含量相对较少。

动物细胞：通常含有数百至上千个线粒体，代谢旺盛的细胞中线粒体含量较多，例如肝细胞、哺乳动物成熟的红细胞中无线粒体。

细胞中线粒体处在不断地分裂与融合中，这是线粒体形态与数量调控的基础。线粒体的分裂与融合使细胞内所有的线粒体形成一个动态不连续的整体，得以共享资源与遗传物质。

(3) 线粒体的分裂

细胞中线粒体的分裂过程：由发动蛋白结合于线粒体分裂面的外膜，形成环状线粒体的纤维状结构，通过水解 GTP，该结构与线粒体膜间的蛋白质协同收缩，使线粒体发生环形内陷，进而一分为二。

三、线粒体的结构：外膜、内膜、膜间隙、基质

1.线粒体是由双层膜构成的封闭式囊状结构，由四个部分构成，其标志酶为：

外膜：单胺氧化酶
内膜：细胞色素氧化酶
膜间隙：腺苷酸激酶
基质：苹果酸脱氢酶

2.线粒体外膜

外膜是线粒体的界膜，厚度约 6nm，其中脂质与蛋白质含量接近 1:1，其标志酶为单胺氧化酶。

外膜中含有孔蛋白，通透性较高，允许分子量小于 50000 的小分子通过，如 ATP、NAD⁺、CoA 等，使膜间隙的环境与细胞质基质类似，其功能为：

- (1) 参与磷脂的合成。
- (2) 将进入线粒体基质彻底氧化分解的物质初步分解。 eg: Trp 降解、脂肪酸延长、脂肪酸去饱和等
- (3) 参与终止神经递质。
- (4) 参与构建膜间隙，建立电化学梯度。

3.线粒体内膜

内膜包被线粒体基质，与外膜一起构建膜间隙。厚度约 6-8nm，其中脂质与蛋白质含量约 0.3:1，这是外膜与内膜最明显的区别，其标志酶为细胞色素氧化酶。

内膜中缺乏胆固醇，富含心磷脂，故其对物质的通透性很低，以调控分子或离子进出线粒体基质，对于建立电化学梯度，合成 ATP 至关重要。

内膜内折成嵴，极大的扩大了内膜的表面积。内膜和嵴在线粒体基质面上定位有基粒和电子传递链（包括：NADH-CoQ 还原酶、琥珀酸-CoQ 还原酶、细胞色素还原酶、细胞色素氧化酶）

内膜对 Ca²⁺ 的调节，通过与 Na⁺ 逆向协同转运，线粒体可作为细胞中 Ca²⁺ 的缓冲池。

- ①当细胞质基质中 Ca²⁺ 浓度升高时，Ca²⁺ 输入线粒体加快而输出不变，线粒体基质中 Ca²⁺ 浓度上升。
- ②当细胞质基质中 Ca²⁺ 浓度降低时，Ca²⁺ 输入线粒体减慢而输出不变，线粒体基质中 Ca²⁺ 浓度下降

4.膜间隙

膜间隙是指内、外膜之间的空隙。内径约 8nm，向内膜延伸至嵴内。膜间隙内含多种可溶性酶、底物以及辅因子，其标志酶是腺苷酸激酶。

5.线粒体基质

基质是指由内膜和嵴包被形成的空间，内含三羧酸循环酶系、脂肪酰化酶系、氨基酸降解酶系等等，此外还含有 mt DNA、RNA 与核糖体，以表达自身蛋白质，并能够储存钙离子。

四、线粒体的功能

线粒体是细胞内三大营养物质最终氧化的场所，是细胞中物质、能量的转化中心，梵氏三羧酸循环、氧化磷酸化以合成 ATP，为细胞的生命活动提供直接能量。

线粒体与细胞中氧自由基的形成密切相关，与细胞氧化还原、细胞信号转导、细胞衰老、细胞凋亡、细胞电解质平衡等生命过程密切相关。

线粒体疾病是指，由于线粒体结构与功能异常所引发的疾病。线粒体基因组缺陷、编码线粒体蛋白质的核基因缺陷、营养不良等都会引发线粒体疾病。

eg: 克山病，由于心肌线粒体缺 Se 所引起。

8.1 细胞信号转导概述

一、细胞信号转导概述

1. 细胞信号转导的概念

细胞通过细胞表面或细胞内受体接受外界信号，经过一系列特定的机制，将细胞外信号 转化为细胞内信号，从而调控细胞代谢或影响基因表达，最终改变细胞生命活动的过程称为 信号转导。这一系列反应称为信号转导通路。
2. 细胞信号转导的基本形式
 - (1) 化学信号介导的信号转导
 - ①内分泌：由分泌细胞分泌信号分子，经血液循环运往体内不同部位，作用于靶细胞。
 - ②自分泌：由分泌细胞分泌信号分子，作用于分泌细胞本身。
 - ③旁分泌：由分泌细胞分泌信号分子，作用于相邻的靶细胞。
 - ④化学突触：存在于可兴奋细胞之间，通过释放神经递质传递神经冲动，实现电信号-化学信号-电信号的转换。
 - (2) 接触依赖性信号转导

细胞与细胞或细胞与胞外基质间彼此接触，通过位于质膜中的配体与受体特异性结合传递信息，不释放信号分子。对胚胎发育中组织相邻细胞的分化起到关键性作用。
 - (3) 细胞间形成间隙连接，使得细胞质相互沟通，从而通过小分子的相互交换实现信号转导。包括：动物细胞间的间隙连接，植物细胞中的胞间连丝。
3. 信号分子介导细胞信号转导的一般过程
 - (1) 细胞外信号分子识别并结合靶细胞表面特异性受体。
 - (2) 信号分子通过适当的分子开关实现信号跨膜转导，诱导产生第二信使或活化信号蛋白。
 - (3) 信号传递致细胞内部引发级联反应，使信号放大，影响细胞代谢或基因表达。
 - (4) 通过受体脱敏，启动细胞反馈机制，使细胞反应减弱或终止。
4. 信号分子介导细胞信号转导的意义
 - (1) 通过激活细胞内酶的活性，从而影响细胞代谢。
 - (2) 通过改变细胞骨架的组织形式，从而影响细胞的形态与运动。
 - (3) 改变细胞质膜中离子通道的通透性。
 - (4) 引发 DNA 合成反应的起始。
 - (5) 影响细胞基因的表达。

二、配体与受体

1. 配体
 - (1) 配体的概念

配体又称信号分子，是细胞通讯中信息的载体，能够与相应的受体特异性结合，从而引发细胞信号转导反应。
 - (2) 配体的分类
 - ①脂溶性分子

包括：甾类激素、视黄酸、VD、甲状腺激素、NO（脂溶性气体）等。

特点：可通过扩散的方式进入细胞，与细胞内受体结合，进而影响基因表达。
 - ②水溶性分子

包括：肽类激素、神经递质等。

特点：不能通过扩散的方式进入细胞，而是与细胞表面受体结合，在细胞内产生第二信使，进而引起相应的应答反应。
2. 受体
 - (1) 受体的概念

受体是指，能够与配体相互识别并特异性结合，从而引发生物学效应的分子，通常为糖 蛋白、糖脂或其复合物。
 - (2) 受体的特征
 - ①亲和性：受体与配体间具有高度亲和性。
 - ②特异性：受体与配体间的结合具有高度特异性，二者以非共价键相互结合。
 - ③饱和性：受体的数目是相对饱和的。
 - (3) 受体的分类
 - ①细胞内受体：位于细胞质基质或核基质中，通过结合脂溶性受体而影响基因的表达。
 - ②细胞表面受体：
 - A. G 蛋白偶联受体
 - B. 离子通道偶联受体
 - C. 酶连受体
3. 受体与配体的关系

受体与配体在结构上的互补性是二者特异性结合的基础，但二者并非简单的——对应关系。靶细胞一方面通过受体配体的结合，另一方面通过细胞本身固有的特征对外界信号做出反应。

不同细胞针对同一信号分子可能存在不同的受体，即以不同的方式应答同一信号，产生不同的细胞反应。

同一细胞可能存在多种受体，以应答不同的信号分子，引起不同的细胞反应。

三、第二信使

1. 第二信使的概念

细胞外的信号分子称为第一信使。

第一信使与细胞表面受体结合后，细胞内最早产生的一类非蛋白类小分子称第二信使。第二信使以浓度的变化应答第一信使与受体的结合，以传递并放大第一信使所携带的信息。
2. 第二信使的分类
 - (1) cAMP → 激活 PKA
 - (2) cGMP → 激活 PKG
 - (3) IP₃ → 激活内质网膜中钙离子通道
 - (4) DAG → 激活 PKC
 - (5) 钙离子 → 激活 CaM

四、分子开关

1. 分子开关的概念

细胞信号转导中，必须有正、负两种机制进行调控，对每一条信号通路而言，既要有激活机制，又要有抑制机制，负责这种正、负反应机制的蛋白质称为分子开关。
2. 分子开关的分类
 - (1) GTPase 开关蛋白

包括单体 GTP 结合蛋白与三聚 GTP 结合蛋白，当结合 GTP 时处于开启状态，结合 GDP 时处于关闭状态。
 - (2) 蛋白激酶与蛋白磷酸酶：通过靶蛋白的磷酸化与去磷酸化而开启或关闭。

蛋白激酶：使靶蛋白磷酸化

蛋白磷酸酶：使靶蛋白去磷酸化
 - (3) 钙调蛋白 (CaM)

Ca²⁺+CaM 复合，开启。

Ca²⁺+CaM 分离，关闭。

8.2 细胞内受体介导的信号转导

一、脂溶性激素

1. 细胞内受体

细胞内受体是指位于细胞质基质、核基质中的主要同脂溶性信号分子相互作用的受体，其主要作用在于影响基因表达的调控。

细胞内受体的本质是激素依赖性基因调控蛋白，均属于反式作用因子，包含三个结构域：

 - (1) C 端：激素结合位点
 - (2) 中部：DNA or 抑制蛋白结合位点，富含 Cys，形成锌指结构
 - (3) N 端：转录激活位点
2. 细胞内受体识别的信号分子：甾类激素、视黄酸、维生素 D、甲状腺素
3. 细胞内受体的作用原理

当细胞内受体与抑制蛋白结合时，处于抑制状态。

当胞外信号分子通过扩散作用进入细胞，并与胞内受体结合后，受体与抑制蛋白分离，露出 DNA 结合结构域，从而被激活。

激素-受体复合物进入细胞核，与处于基因调节区域的激素反应元件结合，进而与位于启动子区域的转录因子及其它的转录调节分子作用，从而开放或关闭其下游基因。

二、脂溶性气体：NO

1. NO 的特点

NO 是脂溶性气体，可以通过扩散作用快速进入细胞。NO 在细胞外极不稳定，易被氧化为硝酸根，故只能在邻近组织中扩散，作用于相邻靶细胞。NO 可以起到使血管平滑肌收缩，从而调控血压等作用。
2. NO 的合成
 - (1) NO 的合成反应
$$\text{Arg} + \text{O}_2 + \text{NADPH} \rightarrow \text{NO} + \text{瓜氨酸}$$

催化反应的酶：NO 合酶

NO 通常在血管内皮细胞、神经元细胞与免疫细胞中合成，在体内无储存与释放的调控机制，故其作用效果与其合成的数量呈正相关。
 - (2) NO 的合成部位
 - (3) NO 的作用原理（以舒张血管为例）

当血压升高时，血管内神经末梢释放神经递质作用于血管内皮细胞表面的 G 蛋白偶联受体，从而激活磷脂酶 C，产生第二信使 IP₃，导致细胞质中钙离子含量上升，钙离子与钙调蛋白的结合激活 NO 合酶，催化 NO 的合成。

NO 合成后，通过扩散进入相邻的平滑肌细胞，与胞质中的鸟苷酸环化酶结合，使其改变构象，增强活性，从而使胞质内 cGMP 的含量增加，刺激 PKG 活化，抑制肌动-肌球蛋白复合物通路，使血管平滑肌舒张，降低血压。

8.3 G 蛋白偶联受体介导的信号转导

一、概述

- 1.G 蛋白偶联受体介导的信号转导的概念
 - G 蛋白偶联受体介导的信号转导是指，通过配体与受体的结合，经由 G 蛋白偶联，作用于胞内效应器蛋白，从而将胞外信号传递到胞内，影响细胞的生命活动。
 - 一个完整的 G 通路包括：
 - (1) G 蛋白偶联受体 (GPCR)
 - (2) G 蛋白
 - (3) 效应器蛋白
 - (4) 脱敏蛋白
- 2.G 蛋白偶联受体 (GPCR)
 - (1) GPCR 的概念
GPCR 是细胞表面最大的一类受体，在演化过程中高度保守，均含有 7 次跨膜结构，能够通过 G 蛋白偶联，从而传递胞外信号。
 - (2) GPCR 的结构
GPCR 均具有由疏水氨基酸侧链构成的 7 次跨膜结构，其 N 端位于质膜外侧，用于识别与结合信号分子，C 端位于质膜内侧，用于识别与结合 G 蛋白 α 亚基 (Ga)。
 - (3) GPCR 的功能
当胞外的配体与 GPCR 结合后，受体构象发生改变，并与 Ga 结合，并为之激活，从而将胞外信号传递到胞内。
- 3.G 蛋白
 - (1) 单体 G 蛋白：存在于细胞内，主要参与酪氨酸激酶受体介导的信号转导。
 - (2) 三聚 G 蛋白
 - 存在于细胞质膜 PS 面，由 α 、 β 、 γ 三个亚基构成。其中 Ga 具有 GTP 酶活性，与 GDP 结合时抑制，与 GTP 结合时激活。G β 、G γ 构成异二聚体。
 - 当胞外配体与 GPCR 结合后，促使三聚 G 蛋白解离，并发送 GDP 与 GTP 的转换，使游离的 Ga 与 GTP 结合，分子开关开启。
 - 随后由 Ga-GTP or G $\beta\gamma$ 复合物激活效应器蛋白，从而传递胞外信号。当 GTP 水解后，Ga 失活，三聚 G 蛋白重新组装，分子开关关闭。
- 4.效应器蛋白
 - (1) 离子通道 \rightarrow 改变膜电位
 - (2) 腺苷酸环化酶 \rightarrow 促使产生 cAMP
 - (3) 磷脂酰酶 C \rightarrow 促使产生 IP3 and DAG
- 5.脱敏蛋白
脱敏蛋白是指，参与反馈调节与受体脱敏的蛋白质，介导细胞信号转导的终止。受体对信号分子敏感度的下降称为适应。
- 6.G 通路统一性的基础
 - (1) G 蛋白偶联受体具有多样性 (不同的异构体)
 - (2) G 蛋白具有多样性
 - (3) 靶蛋白具有多样性

二、腺苷酸环化酶途径

- 1.腺苷酸环化酶途径第一信使：肾上腺素、胰高血糖素、降钙素、甲状腺素 and so on
- 2.cAMP 途径的组成
 - (1) 受体
 - 激活型受体 (Gs)：如肾上腺素 β 受体，活化腺苷酸环化酶，从而提高胞内 cAMP 浓度。
 - 抑制型受体 (Gi)：如肾上腺素 α 受体，抑制腺苷酸环化酶，从而降低胞内 cAMP 浓度。
 - (2) 腺苷酸环化酶 and 环腺苷磷酸二酯酶
 - 腺苷酸环化酶：ATP \rightarrow cAMP，从而提高胞内 cAMP 浓度。
 - 环腺苷磷酸二酯酶：cAMP \rightarrow 5'-AMP，从而降低胞内 cAMP 浓度。
 - cAMP 浓度的迅速调节是细胞快速应答胞外信号的基础，细胞通过以上机制快速调节 cAMP 浓度。
 - (3) 蛋白激酶 A (PKA)
 - cAMP 依赖型蛋白激酶 A (PKA) 是由 2 个催化亚基和 2 个调节亚基构成的四聚体，每个调节亚基上含有 2 个 cAMP 结合位点。
 - PKA 全酶无活性，当 cAMP 与 PKA 调节亚基结合后，催化亚基释放，将 ATP 中的磷酸基团转移到靶蛋白的 Ser or Thr 残基上，使其磷酸化。
- 3.cAMP 途径的过程
 - 当 Gs 处于非活性状态时，其 α 亚基与 GDP 结合。
 - 当配体与 Gs 结合后，促使 α -GDP 转化为 α -GTP，从而使 Gs 活化。
 - 当 Gs 处于活化状态时，其 α 亚基与 GTP 结合， β 、 γ 亚基解离，暴露出 α 亚基上的腺苷酸环化酶结合位点。
 - Gs 的 α 亚基与腺苷酸环化酶结合，使之活化，从而催化细胞内 ATP 转化为 cAMP，cAMP 激活 PKA，活化的 PKA 催化靶蛋白中特异性氨基酸残基磷酸化，进而影响细胞的生命活动。
 - 随着 GTP 水解， α -GTP 转化为 α -GDP，从而使 Gs 构象恢复为三聚体。
- 4.cAMP 途径的特异性药物
 - (1) 霍乱毒素
霍乱毒素具有 ADP 核糖基转移酶的活性，能够催化 ADP 核糖基与 Gs α -Arg 结合，使 GTP 不能水解，从而使 Gs 失去 GTP 酶活性，使腺苷酸环化酶持续激活，cAMP 浓度持续升高。
 - (2) 百日咳毒素
百日咳毒素具有 ADP 核糖基转移酶的活性，能够催化 ADP 核糖基与 Gi α -Cys 结合，使 GDP 不能释放，从而使 Gi α 失去 GDP、GTP 转换能力，从而永久失活，cAMP 浓度持续升高。

三、磷脂酰酶 C 途径

- 1.第一信使：促甲状腺素释放激素、催产素、加压素
- 2.磷脂酰酶 C
 - 磷脂酰酶 C 是跨膜蛋白，当配体与受体结合后，通过与 GPCR 偶联，激活磷脂酰酶 C。
 - 活化的磷脂酰酶 C 能够催化细胞质膜中的磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸 (PIP2) 分解，形成两个第二信使：1,4,5-三磷酸肌醇 (IP3) and 二酰甘油 (DAG)。
 - 进而激活两条通路：IP3/Ca $^{2+}$ 、DAG/PKC，又称为双信使途径。
- 3.IP3/Ca $^{2+}$ 途径
 - (1) IP3 的功能
IP3 是水溶性分子，能够在细胞中迅速扩散，其作用为打开内质网膜中的钙离子通道，使内质网中钙离子外流，细胞质中钙离子浓度迅速上升。
 - (2) Ca $^{2+}$ 的功能
Ca $^{2+}$ 能够与 PKC 结合，介导 PKC 由胞质游离态结合到质膜上。
Ca $^{2+}$ 能够通过钙调蛋白等钙离子结合蛋白结合，进而激活多种生命活动。如肌细胞收缩、内分泌细胞与神经细胞的分泌以及参与记忆过程的形成等。
- 4.DAG/PKC 途径
 - (1) DAG 的功能
DAG 生成后结合于质膜中，能够激活与质膜结合的 PKC。
当细胞未接受信号分子时，PKC 以游离态存在于细胞质中。
当细胞接受信号分子时，Ca $^{2+}$ 水平的上升使得 PKC 转位到质膜上，从而被 DAG 激活。
 - (2) PKC 的功能
 - ①PKC 能够激活一系列蛋白激酶，从而产生级联反应，使相应的基因调控因子特异性位点磷酸化，从而影响基因表达。
 - ②PKC 能够使某些抑制蛋白磷酸化而失活，从而使细胞质中某些受到抑制的基因调控因子活化，经过核孔进入细胞核，从而影响基因表达。

8.4 离子通道偶联受体介导的信号转导

一、离子通道偶联受体介导的信号转导概述

- 1.离子通道偶联受体的概念
离子通道偶联受体是由多个亚基构成的受体-离子通道复合物，其本身既有配体结合位点，又是离子通道，在信息传递的过程中无需中间步骤。
- 2.特点：
配体与离子通道偶联受体结合，通过改变受体的构象 or 产生第二信使，从而激活或抑制离子通道。

二、乙酰胆碱门控钾离子通道

- 心肌细胞表面含有大量 M 型乙酰胆碱受体。
- 当乙酰胆碱与受体结合后，引发三体 G 蛋白解离，Ga 与 GTP 结合，从而引发 Gβγ二聚体与钾离子通道结合，开启钾离子通道。
- 钾离子通道的开启引发钾离子外流，使心肌细胞膜超极化，从而降低心肌细胞的收缩 频率。

三、cGMP 门控阳离子通道：暗视力的形成

- 1.视觉细胞的分类
 - (1) 视锥细胞：与色彩的形成有关，人和哺乳动物眼睛中含有红、蓝、绿三种视锥细胞。
 - 视杆细胞表面含有受体视紫红质，由视黄醛、视蛋白构成，与暗视力形成有关，感弱光。其相应的 G 蛋白称为传导素，用 Gt 表示。
 - (2) 视杆细胞
- 2.暗视力的形成
 - 在暗适应条件下的视杆细胞中，高浓度的 cGMP 保持 cGMP 门控非选择性阳离子通道开放。
 - 当黑暗中出现弱光时，光子与视紫红质中 11-顺式视黄醛结合，使视紫红质构象改变，从而激活视蛋白。
 - 活化的视蛋白与 Gt-GDP 结合，引发 GDP 与 GTP 转换，促使 Gt 三聚体解离，游离的Gta-GTP 与环鸟苷酸二酯酶结合，使之活化。
 - 活化的环鸟苷酸二酯酶催化细胞内 cGMP 水解，形成 GMP，使细胞中 cGMP 浓度下降，促使 cGMP 门控阳离子通道关闭，视杆细胞膜超极化，从而研发暗视力的产生。

8.5 酶连受体介导的信号转导

一、酶连受体概述

- 1.酶连受体的概念
酶连受体是指位于细胞质膜上的催化性受体，均为单次跨膜蛋白，胞外段与配体结合，胞内段具有酶活性 or 与一个具有酶活性的蛋白偶联。通过与下游蛋白的相互作用，将细胞外信号传递至细胞内，引发相应的生命活动。
- 2.酶连受体的类型
酶连受体分为：受体鸟苷酸环化酶、受体酪氨酸激酶 and so on

二、受体鸟苷酸环化酶

- 1.受体鸟苷酸环化酶的结构
 - (1) 鸟苷酸环化酶分为胞质可溶型 and 质膜结合型两类。其中，质膜结合型为受体鸟苷酸环化酶（GC）。
 - ①配体结构域：GC 的 N 端，位于质膜外侧，与心钠肽、脑钠肽等配体结合。
 - ②催化结构域：GC 的 C 端，位于质膜内侧，催化 $cGTP \rightarrow cGMP$ 。
 - ③蛋白激酶样结构域：位于二者之间，与蛋白激酶序列高度同源，推测有蛋白激酶活性。
- 2.ANF/cGMP 途径
当血压升高时，心房肌细胞能够分泌心房钠肽类激素（ANF），作用于肾、血管平滑肌细胞，促使肾脏排水排钠、血管平滑肌细胞松弛，从而降低血压。
当 ANF 与肾、血管平滑肌细胞表面受体鸟苷酸环化酶结合后，激活其胞内催化位点，促使 cGTP 水解，产生胞内第二信使 cGMP。cGMP 作用于 PKG 使之活化，进而激活一系列靶蛋白，最终促使血压下降。

三、受体酪氨酸激酶

- 1.受体酪氨酸激酶概述
受体酪氨酸激酶（RTK）是指一类位于细胞质膜中具有酪氨酸激酶活性的受体，其配体多为生长因子，与细胞生长、分化有关。
- 2.RTK 的特点
 - (1) RTK 均具有单次跨膜的 α 螺旋结构域，其胞外段与配体结合，胞内段带有酪氨酸激酶活性，并且本身具有不同的 Tyr 磷酸化位点。
 - (2) RTK 均具有类似的活化机制，即：受体的二聚化。
 - (3) RTK 在受体二聚化后均能够引发胞内段特定位点交叉磷酸化，从而为下游信号蛋白提供锚定位点。
- 3.RTK 的分类
 - (1) 表皮生长因子受体（EGF 受体）
 - (2) 血小板生长因子受体（PDGF 受体）
 - (3) 胰岛素与胰岛素样生长因子受体（胰岛素与 IGF 受体）
 - (4) 神经生长因子受体（NGF 受体）
 - (5) 成纤维细胞生长因子受体（FGF 受体）
 - (6) 血管内皮细胞生长因子受体（VEGF 受体）
 - (7) 干细胞生长因子受体（HGF 受体）
- 4.RTK 介导的信号转导
 - (1) JAK/STAT 途径
当生长因子与受体结合后，引发受体二聚化，磷酸化位点首先发生在与之相连的 JAK 激酶中，进一步使其胞内段特异性位点磷酸化而激活，从而使两个 STAT 蛋白磷酸化，二者形成同源二聚体，从受体酪氨酸激酶脱离。依靠自身携带的核定位序列，经由核孔进入细胞核，从而调控相关基因的表达。
 - (2) 磷脂酶 C 途径
当生长因子与受体结合后，引发受体二聚化与交叉磷酸化。被激活的受体胞内段磷酸化位点与效应器蛋白——磷脂酶 C 结合，并将之激活，从而将质膜中的 PIP2 水解，形成第二信使 IP3 and DAG，进而引发类似双信使途径的效果，调控相关基因的表达。
 - (3) IP3K/PKB 途径
当胰岛素与受体结合后，引发受体二聚化与交叉磷酸化，从而激活胰岛素受体底物1（IRS1）中数个 Tyr 位点磷酸化，促使 IRS1 与磷脂酰肌醇 3 激酶（IP3K）结合并使之活化。
活化的 IP3K 在质膜中产生 PIP2、PIP3，并将 PKB 募集到质膜中，在磷脂酰肌醇依赖性蛋白激酶 1 的作用下，PKB 被完全磷酸化而激活。
活化的 PKB 从质膜中脱离，进入细胞质中与糖原合酶激酶 3 作用使之磷酸化而失活，即使糖原合酶处于去磷酸化的活性构象，促使糖原合成，降低血糖。
 - (4) RTK/Ras 途径
当生长因子与其受体结合后，引发受体二聚化与交叉磷酸化，其磷酸化位点作为下游信号蛋白的锚定位点，结合生长因子受体结合蛋白 2（Grb2）与鸟苷酸交换因子（Sos）。
Grb2-Sos 与受体结合后，Sos 活化，促使单体 G 蛋白 Ras-GDP 转化为 Ras-GTP，从而使之活化。
活化的 Ras 激活 Ser/Thr 蛋白激酶（MAPKKK），MAPKKK 激活 MAPKK，MAPKK 进一步激活促分裂原活化蛋白激酶（MAPK）。
MAPK 活化后进入细胞核，介导多种靶蛋白磷酸化，激活调节细胞生长于分化的相关基因调控因子，从而增强特异性基因的转录。
- 5.RTK 介导的四种信号通路不是独立存在的，而是相互渗透相互影响，共同对细胞代谢与基因表达起到调控作用。如胰岛素除了以上代谢水平的调控，还能通过 IRS1 激活 Ras 途径，从而影响与之相关的基因表达。

9.1 细胞骨架概述

一、细胞骨架的概念

- 细胞骨架是指细胞中由纤维蛋白构成的空间网络结构。
- 广义的细胞骨架包括：细胞核骨架、细胞质骨架、质膜骨架以及胞外基质。
- 狭义的细胞骨架包括：细胞质骨架（微管、微丝、中间丝）
- 细胞中同时存在多种类型的细胞骨架并非物质能量的浪费，每种细胞骨架及其组成成分均行使不同的功能，多种组分间分工协作，功能互补，对细胞完成正常的生理功能至关重要。

二、细胞骨架的特点

- 1.细胞骨架由相应的蛋白亚基构成，在组装与解聚间二者达到平衡。
- 2.细胞骨架具有动态不稳定性，即一定条件下存在组装与去组装现象，在细胞生命活动中起到重要作用。
 - (1) 细胞周期中，细胞骨架经历动态的组装与去组装，周期性的重塑，在分裂期与分裂间期，其分布与组织形式不同。
 - (2) 踏车行为能够改变微管或微丝在细胞中的分布，可能与细胞运动有关。
 - (3) 细胞分裂伴随着纺锤体的形成于分解。
 - (4) 细胞胞质环流伴随着细胞骨架的形成于解聚。
- 3.细胞骨架是三维的空间网状结构。

三、细胞骨架的功能特点

- 1.细胞骨架构成多种细胞结构。
 - (1) 微管：鞭毛、纤毛、中心体、纺锤体
 - (2) 微丝：微绒毛、收缩环、应力纤维、黏合斑、黏合带
 - (3) 中间丝：桥粒、半桥粒
- 2.细胞骨架为细胞提供结构支撑，维持细胞形态。
- 3.细胞骨架介导细胞内物质运输、细胞器运输。
- 4.细胞骨架介导细胞运动。
- 5.细胞骨架对细胞分裂起到重要作用。
- 6.细胞骨架是细胞内结构与功能的空间组织者。
 - 细胞内生物大分子或细胞器的分布具有不对称性，这与细胞骨架的不同组织方式有关，其结构与功能相适应。

四、细胞骨架的研究方法

- 1.荧光显微镜
 - 细胞骨架的蛋白亚基可与相应的荧光染料或荧光抗体特异性结合，从而通过荧光显微镜观察其在活细胞中的组织、分布、功能与行为模式。
- 2.电子显微镜
 - 细胞经非离子型去污剂处理后，可溶性物质与膜被抽离，留下不溶的细胞骨架结构，经金属复型后可在电镜下观察细胞骨架的结构。
- 3.特异性药物处理
 - 微管：秋水仙素、长春花碱、紫杉醇
 - 微丝：细胞松弛素、鬼笔环肽

9.2 微管

一、微管的组成与结构

1. 微管蛋白
 - 微管是中空管状的细胞骨架，外径约 24nm，内径约 15nm，由 α 、 β 两种球状蛋白形成的异二聚体，即微管蛋白亚基构成。微管蛋白亚基是微管组装的结构单位。
 - 微管蛋白是高度稳定的球蛋白，其表面分布有负电荷，以及一个二价阳离子、一个秋水仙素、一个长春花碱的结合位点。
 - α -微管蛋白中含有一个 GTP 结合位点，此位点上的 GTP 不会被水解，也不会进行 GTP-GDP 转化，称为不可交换位点 (N 位点)。
 - β -微管蛋白中含有一个 GTP 结合位点，此位点上的 GTP 能够被水解，称为可交换位点 (E 位点)。当微管蛋白亚基组装为微管时，GTP 水解为 GDP；当微管蛋白亚基去组装时，GDP 与细胞质中 GTP 交换，从而能够再次组装。
2. 微管的结构
 - α/β -微管蛋白异二聚体纵向排列形成原纤丝，13 根原纤丝头尾形成微管管壁。每根原纤丝的一端均为 α ，另一端均为 β ，故每根微管在结构上都是不对称的，具有极性。
 - α 端称为负极， β 端称为正极。
 - (1) 原微管：包括细胞质微管、纺锤体微管，不稳定，随时能够组装与去组装。
 - (2) 二联体微管：包括鞭毛与纤毛的轴丝，结构稳定，排列为 9 (2) + 2 范式。
 - (3) 三联体微管：包括中心粒/中心体、基粒/基体，结构稳定，排列为 9 (3) + 0 范式。
3. 微管的分类

二、微管的组装与调控

1. 微管的体外组装
 - (1) 成核阶段：限速步骤， α/β -微管蛋白异二聚体纵向聚合形成短的丝状结构，即原纤丝的基础。
 - (2) 延伸阶段：以原纤丝为基础，通过内侧面增加异二聚体而扩展为片状结构，稳定性提高。异二聚体沿着同一方向平行于长轴重复排列，当片状结构加厚到 13 层时，即合拢形成微管管壁。之后游离的 α/β -微管蛋白异二聚体不断添加到微管的两端使之延长。
 - 若组装时 α/β -GTP 聚合作用快于解聚作用，则会在微管的一端产生 GTP 帽子，即正微帽子，其组装速率是负极的两倍。
2. 微管的体内组装
 - (1) 微管组织中心
 - 微管组织中心 (MOC) 是指，在活细胞内，能够介导微管成核作用并使之延伸的结构。如：动物细胞中的中心体/中心粒，基体/基粒，植物细胞中细胞两端的特殊区域，如成膜体。
 - 细胞内并非所有微管都源于微管组织中心。
 - (2) 微管的体内组装
 - 微管组织中心外周无定形基质中含有 γ -微管蛋白， γ -微管蛋白螺旋排列，形成一个开放式环状结构。
 - 游离的 α/β -微管蛋白异二聚体有序添加到 γ -微管蛋白达到环状结构中， γ -微管蛋白只与异二聚体 α 端结合， α 端为负极，组装较慢， β 端为正极，组装较快。
3. 微管组装的调控
 - (1) 底物浓度
 - 当结合 GTP 的微管蛋白亚基浓度较高时，微管的组装速度大于微管末端 GTP 的水解速度，使微管末端形成 GTP 帽子，稳定延长。
 - 当结合 GTP 的微管蛋白亚基浓度过高时，会与核糖体结合，导致翻译微管蛋白的 mRNA 降解。
 - 当结合 GTP 的微管蛋白亚基浓度较低时，微管的组装速度小于微管末端 GTP 的水解速度，暴露出末端 GDP 结构区域，使末端不稳定，倾向于去组装。
 - (2) 温度
 - 踏车行为是指，由于微管两端极性不同，当系统中底物浓度接近临界浓度时，同一根微管上，正极组装延长，负极去组装缩短，当延长速度与缩短速度相同时，微管长度保持不变。细胞内由于多数微管的一端与组织中心相连，故较难观察到踏车行为。
 - 当其他条件均适宜时，20℃ 以上有利于微管蛋白亚基的组装，20℃ 以下有利于微管蛋白亚基的去组装。
 - (3) 特异性药物
 - ① 秋水仙素：能够与游离的微管蛋白亚基结合，从而阻止微管组装，但不影响微管的去组装。故秋水仙素处理细胞后，微管倾向于去组装。
 - ② 紫杉醇：能够与微管末端的亚基结合，从而阻止微管去组装，但不影响微管的组装。故紫杉醇处理细胞后，微管倾向于不断组装延伸。
 - (4) 微管结合蛋白
 - 微管结合蛋白 (MAP) 连接于微管外壁，具有微管结合结构域以及外显突出结构域。由单一基因编码，多在神经细胞中发现。
 - eg: MAP2，能够在微管间形成桥梁，从而提高微管的稳定性。

三、微管的功能

1. 微管对细胞结构起组织作用，维系细胞内结构与功能的稳定性与有序性。
 - (1) 微管对细胞形态的发生起到维持作用，例如神经细胞中的轴突富含微管。
 - (2) 微管介导细胞器的分布与定位。
2. 微管能够介导细胞内物质运输或囊泡运输。
 - 微管依赖性的物质运输是耗能的定向运输。在微管与被运输物质之间存在一类既能与微管结合，又能与被运输物质结合的分子马达。这些分子马达能够利用水解 ATP 释放的能量促使物质的定向运输。与微管结合的分子马达包括：驱动蛋白与胞质动力蛋白。
 - 驱动蛋白**
 - 驱动蛋白是由两条重链与两条轻链构成的四聚体，N 端为头部，包含两个马达结构域，含有 ATP 结合位点与微管结合位点，C 端为尾部，呈扇形。二者以中部杆状结构域相连。驱动蛋白介导的物质运输方向由负极到正极。
 - 胞质动力蛋白 (最快、最大的分子马达)**
 - 胞质动力蛋白是由多条链构成的分子马达，包含含有马达结构域的重链、中间链与轻链，C 端为头部，包含马达结构域，含有 ATP 结合位点，N 端为可变区。
 - 胞质动力蛋白介导的物质运输方向由正极到负极。
 - 胞质动力蛋白介导物质运输的原理：通过水解 ATP 将化学能转化为动能，从而介导微管沿着微管正负极向负极运动。
3. 微管参与构成细胞特化结构，例如鞭毛与纤毛。
 - (1) 鞭毛与纤毛的结构
 - 鞭毛、纤毛的基部与基粒相连，基粒的结构与中心粒相同，均由 9 组三联体微管构成，排列范为 9 (3) + 0。
 - 鞭毛、纤毛均由 9 组二联体微管构成，其排列范为 9 (2) + 2，称为轴丝。其中心为两根单微管，外包中央鞘，周围有 9 组二联体微管，近中央一般为 A，提完全微管，由 13 根原纤丝构成；背中央一侧为 B，是不完全微管，有 3 条原纤丝与 A 共用。
 - (2) 鞭毛与纤毛的运动：滑动模型，即鞭毛与纤毛的运动是动力蛋白介导的相邻二联体微管相对滑动。
4. 微管参与构成纺锤体，介导细胞两级分开，牵引染色体向细胞两级运动。

9.3 微丝

一、微丝的组成与结构

1. 微丝的概念
微丝又称肌动蛋白丝，直径约 7nm，由肌动蛋白单体聚合而成。存在于所有真核细胞中，参与多种细胞表面形态的构成并介导细胞运动。
2. 微丝的组成：肌动蛋白
 - (1) G-actin
G-actin 即单体肌动蛋白，由一条肽链折叠而成，是构成微丝的单体。三维结构呈球状，中央有一裂口，内蕴 ATP 与 Mg^{2+}/Ca^{2+} 结合位点。
 - (2) F-actin
F-actin 即微丝，由数个 G-actin 组装而成。G-actin 首尾相连形成双螺旋结构，其中每个 G-actin 周围都有 4 个单体。
3. 微丝的极性
微丝中每个肌动蛋白的裂口都朝向同一侧，使微丝整体上体现极性。裂口端为负极，背向裂口端为正极。

二、微丝的组装与调控

1. 微丝的组装
 - (1) 成核反应：
由成核蛋白 Arp2、Arp3 构成微丝起始复合物，介导微丝开始组装。肌动蛋白与起始复合物结合，形成可供组装的寡聚体。
 - (2) 延伸反应：
肌动蛋白具有 ATP 酶活性，G-actin-ATP 与寡聚体末端结合，水解 ATP，从而介导微丝延长。正极组装速度快于负极，新的单体多添加于正极。

微丝的组装亦具有路车行为。

 - (1) 离子浓度
当系统含有一定浓度的 Ca^{2+} ，而 Na^{+} 、 K^{+} 浓度较低时，微丝倾向于去组装。
当系统含有一定浓度的 Mg^{2+} 、ATP，而 Na^{+} 、 K^{+} 浓度较高时，微丝倾向于组装。
当 G-actin-ATP 浓度较高时，微丝的组装速度大于末端 ATP 的水解速度，使微丝末端形成 ATP 帽子结构，使微丝稳定延长。
当 G-actin-ATP 到达临界浓度时，微丝组装与去组装达到平衡。
 - (2) 底物浓度
当 G-actin-ATP 浓度较低时，微丝的组装速度小于末端 ATP 的水解速度，使微丝末端形成 ADP 帽子结构，使微丝倾向于去组装。- 2. 微丝组装的调控
 - (3) 特异性药物
 - ① 细胞松弛素 B：能够与微丝结合并抑制其聚合，并抑制于微丝末端以阻止 G-actin 与之结合，从而抑制微丝组装，但不影响微丝去组装。
故用细胞松弛素 B 处理细胞能够破坏细胞中的微丝网络，从而阻止细胞运动。
 - ② 鬼笔环肽：能够与微丝结合并抑制其去组装，使微丝保持稳定。
故用鬼笔环肽处理细胞能够破坏微丝的动态平衡，从而阻止细胞运动。
 - (4) 微丝结合蛋白（非马达蛋白）
 - ① 单体结合蛋白
细胞中 G-actin : F-actin=1:1，即游离的 G-actin 浓度远高于体外组装时的 G-actin 浓度，这是由于细胞中存在多种 G-actin 单体结合蛋白。
eg: 单体隔离蛋白，胸腺素 $\beta 4$ ，与 G-actin 结合，抑制其组装。
 - ② 成核蛋白
eg: Arp2、Arp3，在微丝组装时起到成核作用，与微丝负端相连，也可以与已有的微丝侧向结合，从而介导形成分叉的微丝网络。
 - ③ 封端蛋白
eg: β -辅肌动蛋白，与微丝正极端结合，以阻止其组装或去组装。
 - ④ 交联蛋白
eg: α -辅肌动蛋白（成束蛋白），参与微丝-微丝、微丝-膜的结合，由反向排列的二聚体构成，使间距增大。
微丝毛是由微丝构成的永久结构，其中微丝同向平行排列，顶端为正极，底端为负极，与中间丝相连。由于微丝毛中微丝间不含肌球蛋白，故微丝毛没有收缩能力。
- 2. 微丝的功能
 - 1. 微丝参与构成细胞表面特化结构。
 - (1) 微绒毛
仍是细胞迁移过程中由同向平行排列的微丝构成的临时性结构。
 - (2) 伪足
 - ① 细胞迁移的过程
细胞表面在其运动方向的前端伸出突起，突起与基质间形成新的锚定位点，如黏着斑，使突起附着于基质中，之后细胞仅附着点为支点向前移动，后方原先的附着点与基质脱离，使尾部向前移动。
 - ② 细胞迁移的机理
微丝间相互交联形成网状结构，称为片状伪足，其前端由束状微丝构成一些突起，称为丝状伪足。靠近质膜一侧为正极。
质膜附近的 WASP 蛋白能够激活 Arp2/3 复合物，从而介导微丝的组装。
当细胞受到外界刺激时，WASP 激活 Arp2/3 复合物，启动成核反应，介导微丝组装。G-actin-ATP 在前导蛋白作用下向正极组装，使质膜向刺激源延伸，当延伸至一定程度时，Arp2/3 复合物与微丝侧面结合，介导侧面微丝组装形成分叉，支点处为负极，支点前端为正极，继续延伸，如此反复，促使细胞向刺激源伸出伪足。
 - (3) 应力纤维
体外培养时，细胞贴壁后在质膜与基质构成的黏着斑内侧由大量微丝紧密排列或束所构成的结构成为应力纤维。
应力纤维在真核生物中广泛存在，其中微丝反向平行排列，有 II 型肌球蛋白与之结合，能够产生一定程度的张力，对细胞形态的维持至关重要。细胞运动时应力纤维会改变或消失。
 - (4) 收缩环
收缩环是动物细胞有丝分裂末期，在赤道面附近的质膜内侧，由大量反向平行排列的微丝构成的环状结构，有 II 型肌球蛋白与之结合，通过肌动蛋白与肌球蛋白的相对滑动介导环收缩，促使动物细胞一分为二。
 - (5) 细胞皮层
细胞内部大部分微丝都集中于质膜内侧，由微丝结合蛋白构成致密网状结构，称为细胞皮层。细胞皮层为质膜提供强度与刚性，对细胞流动性起阻碍作用，且与胞质环流、膜蛋白定位等多种过程相关。
- 2. 微丝能够介导细胞内物质或囊泡的运输。
 - (1) 分子马达
分子马达是指，一类既能与微管 or 微丝结合，又能与被运输物质结合，利用水解 ATP 提供的能量，将化学能转化为机械能，从而定向将所携带物质沿着细胞骨架定向运输的蛋白质。
微管依赖性分子马达：驱动蛋白、胞质动力蛋白
微丝依赖性分子马达：肌球蛋白
分子马达中马达结构域较为保守，含有微管 or 微丝以及 ATP 结合结构域。
 - II 型肌球蛋白，广泛存在于各种细胞当中，与微丝结合，介导细胞运动或物质由负极向正极运输。
eg: 肌细胞中，参与构成粗肌丝
非肌细胞中，参与构成收缩环 and 应力纤维
 - II 型肌球蛋白由两条重链与四条轻链构成，结构高度不对称，两条重链绕成双股螺旋。
 - II 型肌球蛋白头部为两个马达结构域，有微丝与 ATP 结合位点，通过水解 ATP 将化学能转化为机械能，介导物质由负极向正极运输。
 - (2) II 型肌球蛋白

9.4 中间丝

一、中间丝概述

1. 中间丝的概念

中间丝是指，主要存在于动物细胞中的一类细胞骨架。其直径约 10nm，介于微管与微丝之间，其稳定性远远高于微管与微丝，分布具有组织特异性。

中间丝并非所有真核细胞都存在的细胞骨架。

| 类型 | 举例 | 分布 |
|----------------|---------------------------------|------------------------------------|
| I 型中间丝（酸性） | I 型角蛋白 | 上皮组织细胞 |
| II 型中间丝（碱性、中性） | II 型角蛋白 | 上皮组织细胞 |
| III 型中间丝 | 波形蛋白 结蛋白 胶质纤维酸性蛋白 外周蛋白 | 中胚层衍生细胞 肌细胞 星形胶质细胞 外周神经细胞 |
| IV 型中间丝 | 三种神经丝蛋白亚基 α -介连蛋白 | 中枢神经系统 中枢神经系统 |
| V 型中间丝 | 核纤层蛋白 | 细胞核 |
| VI 型中间丝 | 巢蛋白 | 来源异质性 |

2. 中间丝的类型

二、中间丝的组装

中间丝的组装无需 ATP 或 GTP 供能。

1. 中间丝的组装过程

两个单体高度保守的杆状 α 螺旋区以平行排列的方式形成双股螺旋二聚体。分为 N、C 端，有极性。

两个二聚体反向平行，以半交错的形式形成四聚体。无极性。

四聚体是中间丝组装的基本单位，经由纵向与侧向的相互作用，构成中间丝。

细胞质中，中间丝往往围绕细胞核开始组装，之后逐渐向细胞边缘延伸，并参与构成桥粒、半桥粒等结构，从而使相邻细胞连接形成一个整体。

中间丝无明确的单体库存在，通常都为聚合体，但仍是动态平衡的结构。

2. 中间丝组装的调控

中间丝的组装与去组装与中间丝蛋白的磷酸化与去磷酸化有关。

有丝分裂前期，中间丝蛋白磷酸化，与结合蛋白相互作用，使之去组装。

有丝分裂后期，中间丝蛋白去磷酸化，结合蛋白与之分离，使之组装。

eg: 核纤层蛋白的组装与去组装，受到 MPF 调控

三、中间丝的功能

1. 中间丝在细胞质中构成一个完整的网络系统，内连细胞核并形成核纤层，外接质膜并与胞外基质相连，维持细胞、细胞核结构的稳定性。

2. 中间丝亦可参与细胞中的物质运输。

3. 中间丝在细胞分裂中起重要作用，例如核纤层的组装与去组装。

4. 中间丝参与桥连、半桥粒等细胞连接的形成，使相邻细胞连成一个整体。

5. 细胞癌变或癌细胞扩散后，细胞内仍然保持其中间丝的特性，故可通过中间丝鉴定癌细胞或肿瘤组织的来源。

10.1 细胞核概述

一、细胞核的概念

细胞核是真核细胞内最大、最重要的细胞器，是真核细胞中遗传信息储存的场所，是真核细胞与原核细胞最根本的区别。除极少数高度特化的细胞外，真核细胞均具有细胞核。

例外

高等植物韧皮部成熟的筛管细胞

哺乳动物成熟的红细胞

二、细胞核的组成

核被膜、染色质/染色体、核仁、核基质

三、细胞核的功能

细胞核是真核生物遗传物质的主要储存场所，是细胞遗传与代谢的调控中心。细胞核通过复制、分裂将遗传信息传递给子细胞。同时，细胞核中还进行遗传信息的转录，进行初始转录产物的加工，并经由核孔进入细胞质中转译，以此调控细胞的生命活动。

四、细胞核的意义

真核细胞与原核细胞最大的区别即含有完整的细胞核，使遗传物质与细胞质相分离，遗传物质的复制在细胞核中进行，而遗传物质的表达则拥有严格的阶段性及区域性，受到多个层次的调控，这对于真核细胞复杂的生命过程至关重要。

10.2 核被膜

一、核被膜的概念

核被膜是指包裹于细胞核最外层的、分离核、质的屏障，能够选择性控制物质进出细胞核，分为内外两层。核被膜的组成、分膜、核周腔、内膜、核纤层、核孔。

二、核被膜的功能

- (1) 核被膜将细胞分为核、质两大功能区域，使遗传信息的表达具有严格的时间性与区域性，避免核、质之间相互干扰，同时起到保护遗传物质的作用。
- (2) 核被膜构成膜、质间选择性屏障，细胞核通过核孔复合体调控核、质间物质运输与信息交流。

三、核被膜周期性解体与重建

- 真核细胞有丝分裂时，核被膜于前期解体，末期重现，进行规律性的解体与重建。
- (1) 有丝分裂前期：核被膜非随机、有区域特异性的解体，形成单层膜泡，核孔复合体消失，核纤层去组装。
 - (2) 有丝分裂末期：核被膜围绕染色体重建，旧核膜与膜泡参与这一过程，首先附着于染色体表面，并相互融合形成双层膜，同时膜上的某些功能区域相互融合，与蛋白质组装机，成核孔复合体。
 - (3) 核被膜的解体与重建受到细胞促进成熟因子（MPF）的调控，与核纤层蛋白、核孔复合体蛋白磷酸化与去磷酸化有关。

四、核被膜的结构

- 1.核被膜的基本结构
 - 核被膜由两层平行不连续的单位膜构成，两层膜之间存在 $20 \sim 40\text{nm}$ 的空隙，称为核周腔 or 核周间隙，其宽度随细胞种类与功能的不同而变化。
 - 外膜外表面通常伴核糖体附着，并与粗面内质网相连，核周腔与粗面内质网腔腔相通。
 - 内膜外表面光滑，无核糖体附着，内表面附着一层致密的纤维网状结构，称为核纤层，其本质为中间丝，具有组织特异性。
- 2.核纤层的功能
 - (1) 核纤层向外与整联蛋白相连，对核被膜起到机械支撑的作用，使遗传物质不因细胞形态的改变而改变。
 - (2) 核纤层内连接骨架，外接细胞质中间丝，使核骨架与细胞质骨架形成连续的整体结构。
 - (3) 核纤层向内与染色体骨架相连，在分裂期间为染色体锚定提供结合点，稳定染色体。
 - (4) 在有丝分裂前期与末期，核纤层蛋白通过磷酸化与去磷酸化，介导核被膜解体与重建。

高盐溶液、非离子型去污剂、核酸酶等去除大部分核物质后，核纤层仍能维持轮廓。

五、核孔复合体

- 1.核孔复合体的概念
 - 两层核膜间平行但不连续，在某些功能区域内，内、外核膜局部融合形成环状孔洞，称为核孔。核孔与一些蛋白质相互融合，形成核孔复合体（NPC），以调控核、质间的物质运输与信息交流。
- 2.核孔复合体的结构
 - 核孔复合体由四部分组成：胞质环、核质环、中央栓、辐。
 - 核孔复合体在核膜的轴向呈辐射状八重对称；
 - 核孔复合体在核膜的平行向不对称，即胞质面与核质面不对称，这与其功能的不对称性相一致。
 - 核孔复合体是亲水性核、质交换通道，具有双向性，包括亲核蛋白入核 and RNA、RNP 的输出。
- 3.核孔复合体的功能
 - ① 易化扩散：分子量小于 $50 \times 10^3\text{D}$ 的小分子可以通过易化扩散出入 NPC，不与之发生相互作用，不消耗代谢能量。
 - ② 协助扩散：某些蛋白质可以在中央栓作用下通过协助扩散出入 NPC，与 NPC 发生相互作用，但不消耗代谢能量。
 - ③ 亲核蛋白的输入
 - 亲核蛋白是指在细胞中合成后，需要进入细胞核发挥功能的蛋白质，含有核定位序列（NLS），NLS 富含碱性氨基酸，可位于亲核蛋白的不同位置，可连续存在，也可间断存在。
 - 亲核蛋白的单向输入：亲核蛋白的 NLS 通过特异性识别输入蛋白 α 中的特异性序列，与输入蛋白 α 的二聚体相结合，形成转运复合物，在输入蛋白 α 的引导下，转运复合物与胞质环结合，改变构象，由胞质面转运至核质面，在核质面与 Ran-GTP 结合，转运复合物分离，亲核蛋白释放，输入蛋白 α 二聚体与结合在 Ran-GTP 运回胞质面，Ran-GTP 水解，与输入蛋白分离，返回核内，重新形成 Ran-GTP。
 - ④ RNA and RNP 的输出
 - 由 RNA pol I 转录形成的 rRNA，需要在核内装配形成核糖核蛋白亚单位（RNP），再经由核孔复合体转运至细胞质，此过程消耗代谢能量。
 - 由 RNA pol II 转录形成的 hnRNA，需要经过转录后加工，即 3'端加帽，5'端加帽以及剪接等过程后由核孔复合体输出。
 - 由 RNA pol III 转录形成的 5S rRNA、tRNA，经中央栓蛋白转运输出。

- (1) 胞质环：胞质环位于核孔边缘胞质基面一侧，又称外环，环上有八条纤维对称分布向胞质基面。
- (2) 核质环：核质环位于核孔边缘胞质基面一侧，又称内环，环上有八条纤维对称分布向胞质基面，其末端形成由八个蛋白质组成的环，称为核篮。
- (3) 中央栓：中央栓位于核孔中心，呈蘑菇状或棒状，在核质交换过程中起重要作用。
- (4) 辐：辐由核孔边缘伸向核孔中心，呈辐射状八重对称，由三个结构域构成，包括柱状亚单位、腔内亚单位和环带亚单位。

- 亲核蛋白单向输入的原因：
- A.核孔复合体本身结构不对称；
 - B.胞质与核质中的 Ran-GTP 的浓度梯度。

- 亲核蛋白入核与胞质中蛋白分泌的差异性：
- A.亲核蛋白由核孔复合体介导入核，受到核孔复合体调控，而非载体蛋白。
 - B.亲核蛋白的信号序列 NLS 在入核后不被切除。
 - C.亲核蛋白以完全天然的构象入核，无需分子伴侣协助其解折叠。

10.3 染色质与染色体

一、染色质与染色体概述

- 1. 染色质与染色体的概念
 - 在细胞中 DNA 不是单独存在的，而是与蛋白质相结合形成复合物，称为染色质。染色质是有丝分裂前期能遗传物质的主要存在形式。
 - 在有丝分裂前期，染色质高度螺旋化，压缩为染色体。此时高度螺旋化，称为染色体。
 - (1) 压缩 DNA 以适应其所处空间的大小，降低 DNA 的可接近性，为 DNA 行为的调控提供了可能。
 - (2) 保护 DNA 免受核酸酶等物质的损伤。
 - (3) 确保 DNA 在细胞分裂时平均分配到两个子细胞，保持细胞遗传上的稳定性。
 - (4) 有助于基因表达以及亲代染色体间的重组，增加遗传多样性。
- 2. DNA 与蛋白质结合，包装为染色质的意义
 - 常染色质是指，在分裂前期细胞内松散，压缩程度较低，形态较松散，用碱性染料染色时着色较深的染色质。分为结构染色质和兼性染色质。
 - (1) 常染色质
 - (2) 异染色质
 - 异染色质是指，在分裂前期细胞内紧密，压缩程度较高，形态较收缩，用碱性染料染色时着色较深的染色质。分为结构染色质和兼性染色质。
 - ①结构异染色质
 - 结构异染色质是指，除复制期外，在整个细胞周期中均处于压缩程度较高的染色质，不转录，其功能为参与染色质高级结构的形成，使染色质具有区域性，可作为 DNA 转录元件。
 - eg: 着丝粒区、端粒区等
 - ②兼性异染色质
 - 兼性异染色质是指，在某一细胞或细胞发育的不同阶段中，由常染色质压缩而来的、丧失表达功能的染色质，是细胞关闭相关基因的一种形式。
 - eg: 巴氏小体等
- 3. 染色质的分类
 - (1) 常染色质
 - (2) 异染色质
- 4. 巨大染色体
 - (1) 多线染色体（双链目视）
 - 来源于核内有丝分裂，DNA 复制多次而细胞不分裂，且同源染色体配对，从而阻止染色体的压缩，此类细胞永久处于分裂前期。
 - 多线染色体某区域膨大，形成膨大，形成膨大，是基因表达活跃的标志。
 - (2) 灯刷染色体（两链类异母细胞）
 - 两链类异母细胞减数第 I 次分裂停在双链期的染色体，每条染色体上含有 4 条染色单体，由于染色单体未解离，因而可以交叉。
 - 灯刷染色体大部分以颗粒状存在，无表达活性，翻译表达活性较高。

二、染色质与染色体的组成

- 1. 染色质基因组
 - (1) 基因组的概念
 - 基因组是指一个生物体或细胞中一套完整遗传物质的总和。
 - 对于病毒：核酸（DNA 或 RNA）
 - 对于原核生物：拟核 + 质粒
 - 对于真核生物：配子中染色体组 + 另一条染色体 + 细胞质 DNA
 - (2) 原核生物与真核生物的基因组
 - ①原核生物基因组相对较小，结构简单。真核生物基因组相对较大，结构复杂。
 - ②原核生物中 DNA 不与组蛋白结合。真核生物中 DNA 与组蛋白结合，形成复杂的染色质。
 - ③原核生物中非编码区比例较小，基因为连续基因，不含内含子。真核生物中非编码区比例较大，基因为断裂基因，含有内含子。
 - ④原核生物基因表达产物可能为多顺反子 mRNA，可转录多种蛋白。真核生物基因表达产物为单顺反子 mRNA，只转录为一种蛋白。
 - ⑤原核生物基因组表达在时空上无连续性，同时进行。真核生物基因组表达在时空上严格分开，具有前导性与区域性。
- 2. 染色质组蛋白
 - (1) 组蛋白的概念
 - 组蛋白是真核生物染色体的主要成分，富含碱性氨基酸，参与构成核小体的核心结构。包括：H1、H2A、H2B、H3、H4 五种组蛋白。
 - (2) 核小体组蛋白（H2A、H2B、H3、H4）
 - 核小体组蛋白又称核心组蛋白，包括 H2A、H2B、H3、H4，每个核小体各含两个拷贝，分子量约为 11~15kD，没有组织特异性，高度保守，尤其是 H3、H4。
 - ①C 端折叠：核小体组蛋白 C 端高度保守结构域，介导组蛋白之间的组。
 - ②N 端尾巴：核小体组蛋白 N 端可变区域，DNA 与组蛋白的结合无关 N 端尾巴。
 - (3) 非核小体组蛋白（H1）
 - 非核小体组蛋白又称连接组蛋白，包括 H1，每个核小体中含有一个拷贝，分子量约为 20kD，有一定组织特异性，保守性较低，与连接 DNA 结合，保护约 20bp DNA 免于被核酸酶降解。
 - ①C 端折叠：核小体组蛋白 C 端高度保守结构域，介导组蛋白之间的组。
 - ②N 端尾巴：核小体组蛋白 N 端可变区域，DNA 与组蛋白的结合无关 N 端尾巴。
- 3. 染色质非组蛋白
 - (1) 非组蛋白的概念
 - 非组蛋白是指与组蛋白共同构成染色质的高级结构，其识别的 DNA 序列在演化上是保守的。
 - ①非组蛋白的几种基序：螺旋-转角-螺旋、螺旋-环-螺旋、锌指、亮氨酸拉链。

A.N 端尾巴能够与核小体特定位置结合，指导 DNA 以右手螺旋方式缠绕核小体组蛋白，以维持其超螺旋，有利于 DNA 超螺旋。

B.N 端尾巴与核小体组蛋白的相互作用对染色质 30nm 纤维的形成至关重要。

C.N 端尾巴中存在多个化学修饰位点，能够改变核小体的功能与可接近性。

三、染色体的结构

- 1. 染色体的一级结构
 - 染色体的一级结构是指 10nm 核小体串珠结构，基本单位为核小体。
 - 核小体由 8 个核心组蛋白构成的八聚体核心和缠绕在核心组蛋白上的 DNA 构成，核小体之间由连接 DNA 相连，组蛋白 H1 与之结合。
 - (1) 核心八聚体由 H2A、H2B、H3、H4 *2 构成。
 - (2) 核心 DNA 约含 147 个碱基对，缠绕核心组蛋白 1.75 圈，无物种特异性。
 - (3) 连接 DNA 约含 20-40 个碱基对，H1 与之结合，稳定核小体，有物种特异性。
 - (4) DNA 与组蛋白的结合不依赖 DNA 的序列特异性，是动态结构。
 - (5) DNA 中会有被包埋到核小体中的部分与基因表达、调控等密切相关，通常与非组蛋白结合。
- 2. 染色体的高级结构
 - (1) 染色质高级结构的基序
 - ①组蛋白 H1 与核小体的结合对染色质高级结构的形成至关重要，H1 的结合使 DNA 与核心组蛋白的缠绕更为紧密，以介导形成染色体的高级结构，并使其可逆性降低，结构稳定。
 - ②核心组蛋白 N 端尾巴与核小体之间的相互作用对形成染色质高级结构至关重要。
 - (2) 染色体的二级结构
 - 染色体的二级结构是指 30nm 螺旋线结构，以 6 个核小体为一圈，呈螺旋排列形成外径约 30nm 的螺旋线，由 10nm 核小体串珠到 30nm 螺旋线，DNA 压缩了 6 倍。
 - (3) 染色体的高级结构模型：其压缩 8400 倍
 - ①多螺旋模型：30nm 螺旋线进一步盘绕，形成外径约 400nm 的超螺旋线结构，再由超螺旋线盘绕形成染色体。
 - ②环模型：30nm 螺旋线进一步盘绕，形成 DNA 复制环，每 18 个复制环平面放射状排列，与核骨架结合形成微带，约 106 个微带沿轴排列形成染色体。
- 3. 有丝分裂中期染色体的结构
 - (1) 着丝粒与动粒
 - 着丝粒位于染色体主缢缩片段的中心，由两条染色单体的压缩。
 - 着丝粒包含三个区域：即动粒结构域、中央结构域和配对结构域。
 - (2) 次缢缩
 - 次缢缩是指染色体中除去主缢缩外其他缢缩的部分，位置不固定，可用于染色体的鉴定。
 - (3) 核仁组织区（NOR）
 - 核仁组织区是指位于染色体次缢缩处，但并非所有次缢缩都是 NOR，有丝分裂开始时，核仁位于 NOR。
 - (4) 随体
 - 随体是指位于染色体主缢缩片段的末端，通过次缢缩与染色体相连，可用于染色体的鉴定。
 - (5) 随体
 - 随体是指位于染色体主缢缩片段的末端，通过次缢缩与染色体相连，可用于染色体的鉴定。
- 4. 维持染色体稳定的三元件
 - (1) 复制起点序列
 - 真核生物只有一个复制起点。
 - (2) 着丝粒序列
 - 着丝粒序列位于染色体末端，多以随体形式存在，由简单重复序列组成，有物种特异性，人类着丝粒序列为 5'-TTAGGG-3'。
 - (3) 端粒序列
 - 端粒是指位于染色体末端，避免末端降解或重组。
 - 端粒是高度转化的复制起点，通过端粒酶复制，不依赖染色体 DNA 复制，由此解决线性染色体末端复制问题。

四、染色体的行为

- 真核细胞染色体的复制与分离发生在细胞周期中的不同时期，有严格的时序性和区域性。
- G1 期：DNA 准备合成。
- S 期：DNA 合成期，每条染色体 DNA 完整复制，形成两条染色单体，通过着丝粒相连。
- G2 期：染色体准备分离。
- M 期：分裂期，姐妹染色单体通过动粒与纺锤体微管相连，动粒牵引两条染色单体分离，向细胞两极移动，在子细胞中平均分配。

10.4 核仁与核基质

一、核仁的概念

核仁是真核细胞有丝分裂间期最显著的结构，是细胞核中 rRNA 转录以及核糖体亚基加工的场所，在细胞周期中有规律地消失与重现。

二、核仁的结构

- 1.纤维中心 (FC)：FC 是包埋于颗粒组分内的一个或几个电子密度较低的结构区域，染色较浅。内含 rDNA 与 DNA 聚合酶。
- 2.致密纤维组分 (DFC)：DFC 是包埋于颗粒组分内的电子密度较高的结构区域，rDNA 在 FC 于 DFC 交界处转录为 pre-rRNA。
- 3.颗粒组分 (GC)：GC 由核糖核蛋白 (RNP) 构成，是核仁的主要成分，是核糖体亚基的装配、成熟与储存的场所，负责 pre-rRNA 的加工。
- 4.核仁相随染色质：包括核仁周边染色质与核仁内染色质，构成核仁组织区。
- 5.核仁基质：核仁中的无定形物质，FC、DFC、GC 等均包埋其中。

三、核仁的功能

核仁的主要功能为核糖体的发生，包括 rRNA 的合成、加工以及核糖体亚单位的装配等。

- 1.rDNA 的转录 (于 FC、DFC 交界)
- 2.pre-rRNA 的加工 (于 DFC、GC 交界)
- 3.核糖体亚单位的组装

核仁组织区 (NOR) 是指细胞核中染色体的特异性片段，通常位于染色体次缢痕处，是核仁的产生部位，内含 rDNA。

rDNA 中含有大量 rRNA 基因拷贝串联而成的重复序列，成簇分布于染色体中，被组织与 NOR 内，一方面能够增加基因浓度，另一方面能够实现 RNA pol I 作用下的连续转录。

真核细胞四种 rRNA 中，5.8S、18S、28S rRNA 在核仁中转录。

在核仁中一类小分子核仁核糖核蛋白 (snoRNPs) 的作用下，由 gRNA 指导，进行 rRNA 前体的编辑与加工。这一过程涉及一系列核酸的降解与碱基修饰。

四、核仁周期性消失与重现

核仁是高度动态的结构，在有丝分裂中周期性的消失与重现。

- 1.有丝分裂前期：核膜解体，核仁缩小，随着染色体的聚集，核仁消失，rDNA 转录停止。
- 2.有丝分裂末期：核膜重建，核仁物质聚集，之后于 NOR 周围融合形成新的核仁，rDNA 重现开始转录。

五、核基质

1.核基质的概念

核基质是指真核细胞细胞核除核被膜、染色体与核仁以外的，一个由蛋白质为主构成的空间网络结构，与 DNA 的复制、基因表达、染色质的包装等过程密切相关。

2.核骨架

- (1) 核骨架是存在于真核细胞细胞核中的，由蛋白质构成的空间网络结构。
- (2) 核骨架与核纤层、中间丝相连，是贯穿于细胞核与细胞质的相对独立的整体结构。
- (3) 核骨架的主要成分为非组蛋白构成的纤维蛋白，含有少量 RNA。

11.1 细胞增殖概述

一、细胞增殖的概念

1. 细胞增殖是指，细胞数量增加的过程，细胞以分裂的方式增殖。
 - (1) 单细胞生物通过分裂产生新的个体。
 - (2) 多细胞生物通过分裂产生新的细胞，用以补充体内衰老与死亡的细胞。
 - (3) 受精卵通过分裂和分化形成有机体。
2. 从增殖的角度，将细胞分为三类：
 - (1) 周期细胞：拥有完整的细胞周期，并连续分裂的细胞。
 - (2) 静止期细胞：又称 G0 期细胞，暂时脱离细胞周期，不进行分裂增殖，但在一定的刺激下能够重新进入细胞周期的细胞。例如成纤维细胞，细胞转化为 G0 期细胞多发生在 G1 期。
 - (3) 终端分化细胞：分化程度很高，一旦形成，终生不再分裂。例如哺乳动物成熟的红细胞。

二、细胞周期的概念

- 细胞周期是指，连续分裂的细胞从一次分裂结束到下一次分裂结束所经历的过程。人为的将细胞周期分为 G1、S、G2、M 四个时期。
1. G1 期：合成细胞分裂所需的营养物质，细胞器增殖，中心体开始复制，染色质去凝集化。不同生物的细胞周期以 G1 期差异最大。
 2. S 期：主要进行 DNA 与组蛋白的合成
 3. G2 期：DNA 合成完成，中心体复制完成，为进入 M 期做准备。
 4. M 期：细胞分裂期，包括核分裂与质分裂，将遗传物质平均分配于两个子细胞中。

三、细胞周期的测定

1. 脉冲标记 DNA 复制与细胞分裂指数观察测定法
 - (1) 主要用于细胞种类简单，细胞周期相对较短，细胞组织均匀的群体。主要过程为：

用放射性同位素 ^3H -TdR 标记细胞，之后换为正常培养基继续培养，每隔一段时间定期取样，做放射性自显影观察，从而确定细胞周期的长短。
 - (2) 优点：不仅能够测定细胞周期的总时间，还可以测定各个时期所占的时间，其结果分析最恰当。
 - (3) 缺点：
 - ① 放射性同位素对环境、设备、人员要求较高。
 - ② 不适用于组成复杂的细胞群体。
2. 流式细胞仪测定法

细胞中各个时期的 DNA 含量不同，利用流式细胞仪检测细胞中 DNA 的含量变化，从而确定不同时期所占时间的长短。

通过细胞周期同步化与之配合，即可可靠的检测细胞周期的长短。

- ① G2 期：由更换培养液开始，到被标记的 M 期细胞出现，是为 G2 期，记为 TG2。
- ② M 期：由被标记的 M 期细胞出现，到其占据 M 期细胞总数达到峰值，是为 M 期，记为 TM。
- ③ S 期：由被标记的 M 期细胞占据 M 期细胞总数的一半，到峰值，再到一半，是为 S 期，记为 TS。
- ④ 总时间：由被标记的 M 期细胞出现，到消失，再到出现，是为细胞周期的总时间，记为 T。
- ⑤ G1 期：TG2 - T - TG2 - TM - TS

四、细胞周期同步化

- 细胞周期同步化是指，通过自然或人为的选择、诱导，使细胞群中所有细胞处于细胞周期中同一时期的过程。
1. 有丝分裂选择法

细胞群经单部培养可获得一定数量的 M 期细胞。将细胞单部培养使之处于对数增殖期，此时细胞分裂活跃，形态变圆，粘着性降低，从而分离出同步化的细胞。

 - (1) 优点：不受特异性药物影响，同步化程度高。
 - (2) 缺点：分离出的细胞数量较少。
 2. 密度梯度离心选择法

依据不同时期细胞在体积与重量上的差异进行离心分离，以获取不同时期的同步化细胞。

 - (1) 优点：操作简单，成本低。
 - (2) 缺点：效率低，精度差，对大多数种类不适用。
 3. DNA 合成阻断法

用 DNA 合成抑制剂处理细胞，使 DNA 合成受到抑制，而不影响 S 期以外的细胞，故所有的细胞最终将停止在 G1/S 期交界处。

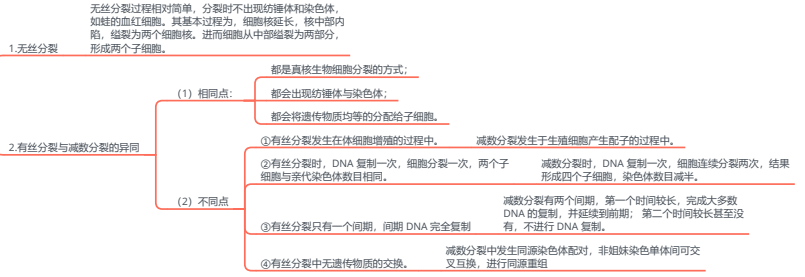
 - (1) 优点：同步化效率高，适用范围广。
 - (2) 缺点：诱导过程可能使细胞非均衡生长。
 4. 中期阻断法

用秋水仙素处理细胞，抑制纺锤体形成，细胞阻断于有丝分裂中期。

 - (1) 优点：同步化效率高，适用范围广，操作简单。
 - (2) 缺点：抑制剂对细胞损伤较大。

11.2 细胞增殖的方式

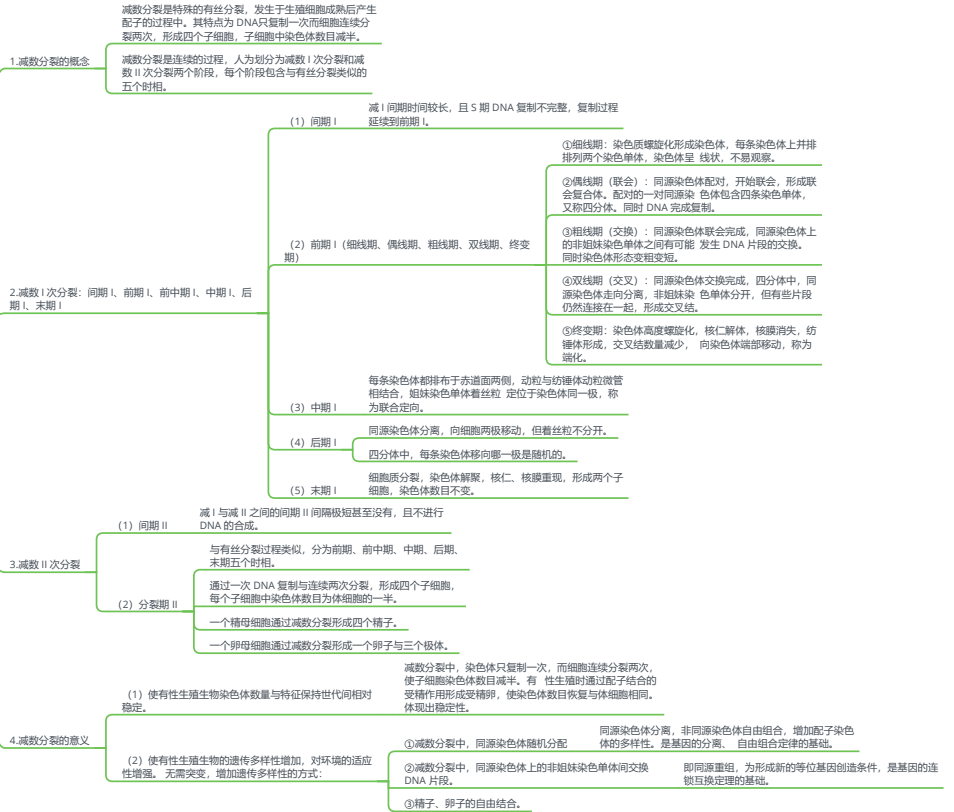
一、细胞增殖的基本方式：无丝分裂、有丝分裂、减数分裂



二、有丝分裂



三、减数分裂



11.3 细胞增殖的调控

一、细胞增殖调控系统的组成

- 细胞周期成熟促进因子 (MPF) = 周期蛋白 (cyclin) + 周期蛋白依赖性激酶 (CDK)
1. 细胞周期成熟促进因子 (MPF) 是一种于 G2 期形成, 诱导细胞进入 M 期的细胞周期调控因子, 由两个亚基构成。
调节亚基: 周期蛋白
催化亚基: 周期蛋白依赖性蛋白激酶
 2. 周期蛋白 (cyclin) 通过与 CDK 结合来活化激酶活性, 从而参与细胞周期的调控, 其含量在细胞周期中呈现周期性变化。
 3. 周期蛋白依赖性蛋白激酶 (CDK) 有激酶活性, 通过将靶蛋白磷酸化, 从而调控细胞周期。

二、细胞增殖调控概述

1. 检验点的概念
细胞周期中各个时相严格依据一定的顺序进行, 存在一些特殊的事件, 当某一事件出现 差错时, 细胞会通过反馈调节机制使细胞周期停止, 待条件成熟后再从一个时相进入另一个时相。这种特殊的检验性事件称为检验点。
2. 检验点的类型
 - (1) G1/S₁, 又称起始点、R 点
检验环境是否合适, DNA 是否完整, 防止受损的 DNA 进入 S 期。
 - (2) G2/M
检验 DNA 是否复制完全, DNA 是否有损伤, 细胞选择修复损伤、带伤分裂或自毁。检验环境是否有利于分裂。
 - (3) 中期/后期, 又称纺锤体组装检验点
检验纺锤体是否组装完成。所有动粒是否均与动粒微管结合。
3. 检验点调控方式
CDK 是细胞增殖调控的核心, 不同的周期蛋白与相应的 CDK 结合从而激活相应的激酶活性, 从而将相应的靶蛋白磷酸化, 对不同时相的细胞周期进行调节。
细胞周期的调控是一系列检验点构成的调控网络实现的。

三、G1/S 检验点

1. 细胞生长的环境条件
 - (1) 对于单细胞生物: 营养是否充足是其主要限制条件。
有丝分裂促进因子与细胞表面受体结合, 使受体胞内结构域交叉磷酸化, 从而激活 Ras 途径。
Ras-GDP 转化为 Ras-GTP 而活化, 通过一系列激酶激活 CDK2-cyclin E。
活化的 CDK2-cyclin E 将靶蛋白 Rb 磷酸化, 促使 Rb-E2F 复合物分离, E2F 作为转录因子, 通过核孔进入细胞核, 介导表达 cyclin E, 从而使更多的 CDK2 活化, 当达到阈值时, 细胞进入 S 期。
若 Rb 由于突变而失活, 则 Rb 蛋白失去抑制 E2F 的作用, 细胞无需外界刺激即可大量合成 cyclin E, 使细胞增殖失去调控, 可能导致细胞癌变。
 - (2) 对于多细胞生物: 除营养外, 还需要周围细胞分泌的促进因子。
2. 若 DNA 受到严重损伤, 无法修复
 - (1) 对于单细胞生物: 通常选择带伤继续分裂, 因为其细胞死亡即意味着个体死亡。
 - (2) 对于多细胞生物: 自发进入细胞凋亡模式
 - ① 蛋白酶体途径
DNA 损伤部位募集 ATR、ATM, 使 chk1、chk2 激酶活化, 进而使 cdc25A 磷酸化, 被蛋白酶体水解。
而 CDK2-cyclin E 需要 cdc25A 催化才有活性, 故细胞将停在 G1 期。
 - ② p53 途径
正常细胞中 p53 会被泛素化途径降解, 含量很低。
当 DNA 受到损伤时, 损伤部位募集 ATR、ATM, 使 chk1、chk2 激酶活化, 从而使 p53 磷酸化。
磷酸化的 p53 不再降解, 进入细胞核, 作为转录因子促使细胞表达 p21, p21 与 CDK2-cyclin E 结合使之失活, 细胞停留在 G1 期。
若 p53 由于突变而失活, 则细胞周期不停止, 细胞带伤复制, 极易发生癌变。

四、G2/M 检验点

- 决定细胞是否分裂, CDK1-cyclin A/B。
- cyclin A/B 于 G1 晚期开始合成, 到 G2 早起含量达到峰值。
- 随着细胞中 cyclin A/B 浓度达到阈值, CDK1 被激活, 并一直保持到 M 期中期。
- CDK1 使组蛋白磷酸化, 从而使染色质螺旋化。
- CDK1 使核纤层磷酸化, 从而使核纤层解体, 核仁、核膜消失。
- CDK1 使细胞骨架磷酸化, 从而使微管解聚。

五、中期/后期检验点

1. 若所有动粒均被动粒微管捕捉
 - 细胞分裂至中期后, cyclin A/B 通过泛素化途径被降解, CDK1 活性下降, 使受其影响而磷酸化的靶蛋白去磷酸化。
 - 当所有动粒均被动粒微管捕捉后, 动粒上的两组结合蛋白 Mcd2 和 Bub1 降解, cdc20 释放, 激活后期促进因子复合物 (apC)。
apC 的活化与 cyclin A/B 的降解, 促使细胞进入有丝分裂后期。apC 释放分离酶, 使染色单体间粘连蛋白水解, 令染色单体相互分离。
2. 若尚有动粒未被动粒微管捕捉
动粒结合蛋白 Mad2 与 cdc20 结合, 使 cdc20 无法激活 apC, 细胞不会进入后期。从而保证所有染色体都能排列于赤道面中央, 进而将染色单体平均分配给子细胞。

12 癌细胞

一、癌细胞概述

1. 癌细胞的定义
 - 肿瘤细胞是指，动物体内由于细胞周期失去调控而导致无限增殖的细胞，分为良性与恶性两类。
 - 癌细胞特指上皮组织起源的恶性肿瘤细胞
 - (1) 良性肿瘤细胞是指，不具有浸润、扩散与转移能力的肿瘤细胞。生长缓慢，表面有粘性分子，被结缔组织包被，界限明显。
 - (2) 恶性肿瘤细胞是指，具有浸润、扩散与转移能力的肿瘤细胞。生长迅速，能够侵入邻近组织，扩散到身体其他部位。
2. 癌细胞的特征
 - (1) 癌细胞细胞周期调控异常，细胞生长与分离失去控制，能够无限增殖。
 - (2) 癌细胞核质比较大，分裂速度快，会破坏正常组织的结构和功能。
 - (3) 癌细胞之间以及与其他细胞间相互作用改变，粘着性下降，具有浸润性、扩散性，能够转移到身体其他部位。
 - (4) 癌细胞基因表达谱发生改变，会导致某些蛋白的数量或活性异常，例如会大量表达许多胚胎时期的特有蛋白、生长因子、端粒酶等。
 - (5) 癌细胞由于细胞周期检验点异常，从而使染色体出现非整倍性特征。
 - (6) 癌细胞代谢旺盛，且在无氧条件下依然保持活跃的糖酵解途径为细胞提供能量。代谢中间产物，并产生乳酸使周围环境酸化，有利于扩散与转移。
 - (7) 体外培养的癌细胞贴壁性下降，失去接触抑制。

二、癌细胞产生的分子基础

1. 癌基因
 - (1) 病毒癌基因 病毒癌基因能够使宿主细胞发生恶性转化，形成肿瘤。 eg: 逆转录病毒癌基因能够与细胞正常基因组整合，诱发癌变。
 - 细胞癌基因又称原癌基因，属于细胞基因组的一部分，是参与调控细胞分裂与分化的正常基因。当原癌基因的表达失控，或因结构改变而使产物活性改变时，会诱发细胞癌变，形成肿瘤。该过程称为癌基因的激活。
 - (2) 细胞癌基因 细胞癌基因编码的蛋白质通常与细胞正常分裂、分化相关的蛋白质，例如信号分子、信号分子受体、胞内信号转导蛋白、转录因子、DNA 修复蛋白、细胞周期调控蛋白、细胞凋亡蛋白等。
2. 抑癌基因
 - 抑癌基因是指正常细胞生长分裂的抑制因子，包括细胞生长抑制基因、诱导细胞分化的基因、癌基因产物拮抗基因等，其编码的蛋白质能够抑制细胞增殖。
 - 例如，p53 基因编码 p53 蛋白，参与调控细胞周期、修复 DNA 损伤或诱导细胞凋亡。若 p53 基因突变，会使受损 DNA 不经修复即复制，导致基因组不稳定，变为非正倍体，诱导细胞癌变。
3. 肿瘤的发生
 - 肿瘤的发生是突变积累与自然选择共同作用的结果。
 - 原癌基因的突变是功能获得性突变，属于显性突变，一次即生效。
 - 抑癌基因的突变是功能丧失性突变，属于隐性突变，两次生效。
 - 与细胞增殖相关的突变会使某些细胞在选择过程中占据优势，经过一系列类似的过程，某些细胞中逐渐积累一系列与癌症相关的突变，从而形成恶性肿瘤。这一过程涉及一系列原癌基因与抑癌基因的突变，位点带有异质性。
 - eg: 结肠癌的发生涉及两个原癌基因的突变和一个抑癌基因的两次突变，从而刺激细胞加速分裂，表型改变，分裂异常。导致息肉的生长，进而转化为腺瘤，最终演化为恶性肿瘤。

三、肿瘤干细胞

1. 肿瘤干细胞的概念
 - 肿瘤干细胞是指，源于成体干细胞，拥有极强的自我更新能力，能够转移到不同组织中形成异质性肿瘤的细胞。
2. 肿瘤干细胞的特点
 - (1) 具有极强的自我更新能力。
 - (2) 具有多分化潜能，能够产生不同分化能力的子代肿瘤细胞。
 - (3) 具有比普通肿瘤细胞更强的分裂能力。
 - (4) 具有较强的耐药性，表面含有大量 ABC 超家族蛋白。

四、肿瘤的诊断与治疗

1. 肿瘤的早期诊断
 - (1) 肿瘤标志物的概念 肿瘤标志物是指，在肿瘤的发生与发展过程中，由肿瘤细胞表达与分泌的，或机体对肿瘤起反应而异常产生或升高的，标志肿瘤的存在与生长的一类物质。 例如：激素、酶、多肽、多胺、小分子 RNA 等等。
 - (2) 肿瘤标志物的功能
 - ① 可对高危人群中早期肿瘤患者提出预警。
 - ② 区分炎性增生与恶性肿瘤。
 - ③ 鉴别肿瘤组织的细胞生物学特征。
 - ④ 评估肿瘤治疗的效果。
2. 肿瘤治疗的思路
 - (1) 单分子靶向治疗 分子靶向治疗是指，在细胞与分子水平上，针对已经明确的致癌位点，可以是癌细胞表面蛋白质或癌细胞 DNA 片段，来设计相应的治疗药物，从而在体内特异性的选择与致癌位点相互作用，使肿瘤细胞死亡而不影响外周正常组织。
 - (2) 肿瘤免疫治疗 肿瘤免疫治疗是指，通过将特异性肿瘤抗原注射到体内，从而激活相应的淋巴细胞，刺激其分化形成效应细胞与记忆细胞。当机体出现带有这种抗原的癌细胞时，淋巴细胞能够在短时间内针对其释放抗体，在肿瘤形成之前将其消灭。

13 细胞分化与干细胞

一、细胞分化概述

- 1.细胞分化的概念
 - 细胞分化是指，多细胞生物个体发育过程中，由一种相同类型的细胞经分裂后逐渐在形态、结构与功能上产生稳定性差异，形成不同类型细胞的过程。
 - 细胞分化是多细胞生物发育的基础
 - 细胞分化的本质是基因的选择性表达，合成特异性的蛋白质
 - 单细胞生物也存在细胞分化。与多细胞生物不同的是，前者为适应环境，后者为构建不同的组织器官。
- 2.细胞分化的特点
 - (1) 细胞基因组的全能性与基因的选择性表达。
 - (2) 细胞分化通常是不可逆的。
 - (3) 细胞分化的方向确定早于细胞形态出现差异。细胞由分化方向确定到出现特异性形态的过程称为细胞决定。
 - (4) 细胞分化过程中保留记忆，细胞所受的信号分子短暂作用长期储存，从而决定分化方向。
- 3.细胞分化的机理
 - 细胞分化与细胞的不对称分裂有关，不对称分裂使不同细胞分得不同的调控成分，如mRNA等，从而决定其分化方向的差异。这种最初的分化机制又通过信号分子影响其他细胞。
 - (1) 细胞内部特征
 - ①细胞应答胞外不同的环境信号，使基因特异性表达，产生细胞的不同行为，从而决定其分化方向。
 - (2) 细胞外部环境
 - ②细胞所处的空间位置不同以及细胞间相互作用不同影响分化方向。
 - ③环境因素、染色体变异、基因重排等亦对细胞分化产生影响。
- 4.细胞分化的调控
 - (1) 细胞具有遗传上的全能性，包含生长发育所需的全部遗传信息，分为管家基因与奢侈基因两类。
 - ①管家基因是指，所有细胞中均表达的基因，其产物对维持细胞正常生长必不可少。
 - ②奢侈基因又称组织特异性基因，在不同细胞内选择性表达，编码特异性蛋白质，与细胞分化直接相关。细胞分化即奢侈基因选择性表达的结果。
 - (2) 组合调控
 - 组合调控是指细胞奢侈基因特异性表达的主要调控方式，通过一组基因调控蛋白的组合调控，共同协调决定对某一基因的表达。
 - 借助组合调控机制，若某种关键性调控蛋白与其他调控蛋白的组合，从而诱导一种细胞转化为另一种细胞，甚至诱导器官的形成。

二、细胞的全能性

- 细胞的全能性是指，细胞分裂、分化后仍具有发育为完整生物体的潜能。
- 具有全能性的细胞
 - 受精卵
 - 动物早期胚胎细胞
 - 植物组织细胞
- 高度分化的动物细胞全能性受到限制，难以发育为完整的个体，但动物细胞细胞核仍具有全能性。

三、干细胞

- 1.干细胞的概念
 - 干细胞是指一类分化程度较低，具有持续增殖与分化能力的细胞，通常存在于各种组织器官中的特定位置，需要时分化为特定细胞并自我更新。
- 2.干细胞的特点
 - (1) 干细胞分化程度较低，具有多向分化潜能。
 - (2) 干细胞具有无限增殖的能力。
 - (3) 干细胞具有自我更新的能力。
 - (4) 干细胞具有两种分裂形式。对称分裂产生两个与亲代相同的子代干细胞；不对称分裂产生一个干细胞与一个单能干细胞。
 - (5) 干细胞绝大多数处于G0期。
 - (6) 干细胞在机体中的数目、位置相对固定。
- 3.干细胞的分类
 - (1) 依据分化潜能分
 - 全能干细胞：具有发育为完整个体的能力，如受精卵和动物早期胚胎细胞。
 - 多能干细胞：源于全能干细胞，能够发育为多种组织，但不能发育为完整个体。
 - 单能干细胞：源于多能干细胞，只能发育为一种或一类细胞。
 - (2) 依据分化来源分
 - 胚胎干细胞：源于胚胎发育早期，高度未分化，能够形成各种组织器官。
 - 成体干细胞：源于各种成熟组织特定位置，能够形成某种特定功能的组织器官。例如造血干细胞能够分化为各种类型的血细胞。

15 细胞衰老

一、细胞衰老概述

1.细胞衰老的概念

细胞衰老通常是指复制性衰老，即正常细胞经过有限次数的分裂后，在形态、结构与功能水平明显退化的现象。

除胚胎干细胞、癌细胞等少数细胞外，细胞都存在衰老现象。

细胞衰老可能是细胞防止癌变的一种机制。

2.细胞衰老和个体衰老的关系

(1) 对于单细胞生物，细胞衰老等同于个体衰老。

(2) 对于多细胞生物，细胞衰老与个体衰老之间关系复杂，单个细胞的衰老不等于个体衰老。个体衰老也不意味着所有的细胞都衰老。

二、细胞衰老的特征

细胞衰老的总趋势是，细胞代谢活性降低，结构趋于瓦解，这种变化是不可逆的。

- 1.细胞衰老最显著的特征是细胞核增大，核膜内折，染色体固缩。
- 2.细胞内水分减少，细胞萎缩，体积减少，代谢速度减慢。
- 3.细胞内色素积累，颜色加深，阻碍物质、能量与信息的交流。
- 4.细胞内线粒体、内质网数量减少。
- 5.细胞质膜通透性下降，流动性下降，容易出现破裂。
- 6.细胞连接与细胞间通讯减少。

三、Hayflick 界限

细胞不是永生不死的，而是有一定寿命的，细胞的分裂能力也不是无限的，而是有一定界限的，称为 Hayflick 界限

细胞的最大分裂次数与 DNA 端粒的长度有关，随着 DNA 的复制，端粒会相应的缩短。当端粒缩短到临界值时，细胞将达到 Hayflick 界限，从而停止分裂，走向衰老、死亡。

四、细胞衰老的分子机制

1.端粒学说

端粒是染色体末端的特异性重复序列，维持染色体的稳定。其长度会随 DNA 的复制而不断缩短，使 DNA 的稳定性下降，容易出现损伤。

损伤的 DNA 通过 p53 途径阻断细胞周期，使细胞停留在 G1 期，从而导致细胞走向衰老。

2.自由基学说

细胞的能量代谢会产生活性氧自由基，随着这些自由基在细胞中的积累，对细胞中的生物大分子，如蛋白质、脂质、核酸等均会造成较大的损伤，导致细胞质膜中不饱和脂肪酸发生交联，蛋白质凝聚，DNA 突变等，从而使细胞结构发生改变，导致细胞走向衰老。

3.突变学说

许多因素会导致基因突变，虽然细胞有自我修复的机制，然而随着突变一代一代积累，会使细胞生命活动趋于不规律，进而引发功能性衰退，导致细胞走向衰老。

16.1核糖体的类型与结构

一：核糖体的基本类型与化学组成

原核细胞
沉降系数为70s， 由解离为50s和30s的大小亚基，小亚基含有16s的rRNA分子,大亚基含有5s和23s两个rRNA分子。

真核细胞
沉降系数为80s， 由解离为60s和40s的大小亚基，小亚基含有两个一个18s的rRNA分子，大亚基含有28s和5.8s的rRNA分子。

二：核糖体的结构

三：核糖体蛋白质与rRNA的功能

1.核糖体上的结合位点和催化位点

与mRNA的结合位点

2.A位点

与新掺入的氨酰-tRNA结合的位点， 肽酰基位点

3.P位点

与延伸中的肽酰-tRNA结合的位点， 肽酰基位点

4.E位点:

脱氨酰tRNA的离开e位点到完全释放的一个位点，

5.与肽酰tRNA从A位点转移到P位点有关的转移酶的结合位点

6.肽酰转移酶的催化位点:

核糖体中最主要的活性部位是肽酰转移酶的催化位点



原核生物中，核糖体与mRNA的结合位点位于16SrRNA的3'端，其准确识别的基础是细菌mRNA有一段特殊的Shine-Dalgarno序列（SD序列），位于起始密码子上游5~10bp处。

SD序列能与核糖体小亚基16SrRNA的3'端序列互补结合。

真核生物没有SD序列，核糖体小亚基准确识别到mRNA的基础主要依赖于mRNA5'端的甲基化帽子结构。

16.2多聚核糖体与蛋白质的合成

一：多聚核糖体

多聚核糖体：多个甚至几十个核糖体串联在一串mRNA分子上高效的进行肽链的合成。这种具有特殊功能与形态结构的核糖体与mRNA的复合体称为多聚核糖体。

二：蛋白质的合成

蛋白质的合成需要各种携带氨基酸的tRNA、核糖体、mRNA、多种蛋白质因子、阳离子及gpp等的参与

蛋白质合成过程

(一) 肽链的起始

1.30s的小亚基与mRNA的结合（原核生物）

蛋白质合成起始阶段，mRNA只能参与细胞质基质中游离的核糖体30S小亚基结合。此时，结合部位是mRNA的起始密码子（initiation codon）AUG。

原核细胞有3种蛋白起始因子，即IF1、IF2和IF3。

IF1协助30S亚基与mRNA的结合，并有可能防止氨基-tRNA进入核糖体的起始位点。

IF2是一种GTP结合蛋白，协助第一个氨基-tRNA进入核糖体。

IF3能防止核糖体50S大亚基提前与小亚基结合，并有助于第一个氨基-tRNA进入核糖体，在调节核糖体动态平衡以及30S亚基与mRNA结合能力方面发挥了重要作用。

2.第一个氨基-tRNA进入核糖体

起始氨基-tRNA（占据P位）

3.完整起始复合物的组装

核糖体大亚基与起始复合物结合，形成完整的起始复合物

1.氨基-tRNA进入核糖体A位点的选择

起始氨基-tRNA占据P位点，核糖体接受第二个氨基-tRNA进入A位点。

2.肽键的形成

当核糖体的P位点与A位点都有氨基-tRNA占据时，通过肽键的生成将两个氨基酸连接起来。这一反应由肽基转移酶催化。

3.转位

核糖体沿着mRNA分子的5'→3'方向移动三个核苷酸（一个密码子）的距离。在转位过程中，携带二肽的tRNA从A位点移位到P位点，而没有携带任何氨基酸的tRNA从P位点移位到E位点。

4.脱氨基-tRNA的释放

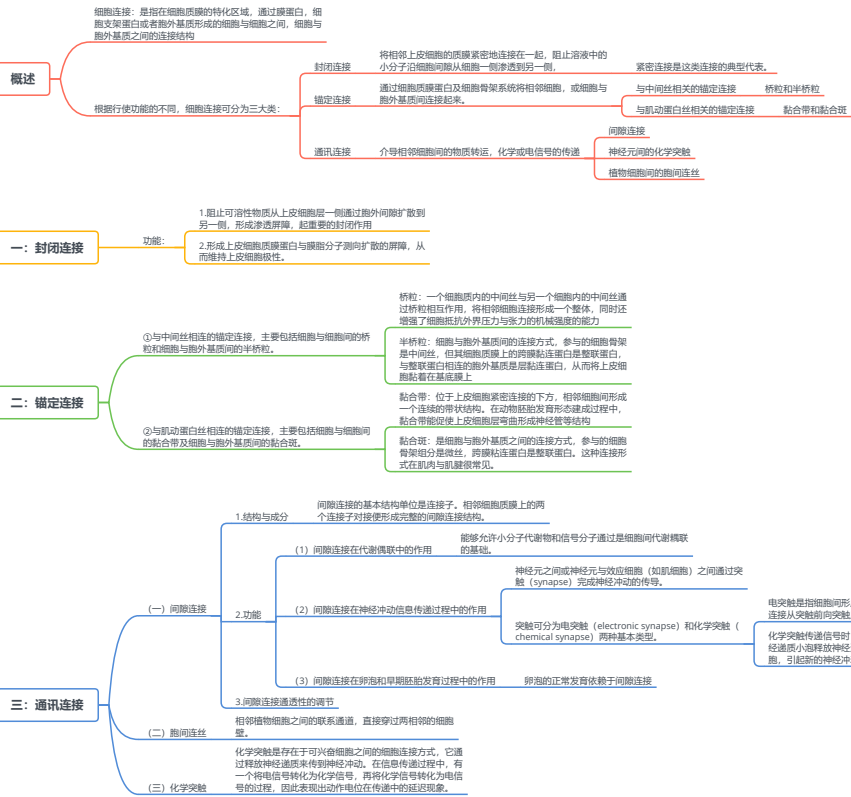
脱氨基-tRNA离开核糖体E位点。

如果A位点mRNA是UAA、UGA或UAG终止密码子，由于没有与之匹配的氨基-tRNA，氨基-tRNA不能结合到核糖体上，于是蛋白质合成终止。

(二) 肽链的延伸

(三) 肽链的终止

17.1细胞连接



17.2细胞黏着及其分子基础

一：钙黏蛋白

钙黏蛋白是一种同亲型结合、钙离子依赖的细胞黏着蛋白，对胚胎发育中的细胞识别、迁移和组织分化以及成体组织器官构成具有重要作用。

二：选择素

选择素是一类异亲型结合、钙离子依赖的细胞黏着分子，能与特异糖基识别并结合。

三：免疫球蛋白超家族

有的介导同亲型结合，有的介导异亲型结合，但不依赖钙离子

四：整联蛋白

整联蛋白普遍存在于脊椎动物细胞表面，属于异亲型结合、钙离子依赖性的细胞黏着分子，介导细胞与细胞之间，介导细胞与胞外基质之间的黏着。

17.3细胞外基质

概述

细胞外基质=ECM：多细胞生物体不仅仅由细胞组成，还包括分布于细胞外空间，由细胞分泌的蛋白质和多糖所构成的网络结构。

- 1.结构蛋白：包括胶原和弹性蛋白，分别赋予胞外基质强度和韧性
- 2.蛋白聚糖：有蛋白和多糖共价形成，具有高度亲水性，从而赋予胞外基质抗压的能力
- 3.黏连糖蛋白：包括纤连蛋白和层粘连蛋白，有助于细胞黏连到胞外基质上

一：胶原

胶原是胞外基质最基本成分之一，也是动物体内含量最丰富的蛋白质

- 1.类型
- 2.分子结构 胶原纤维的基本结构单位是原胶原
- 3.合成与组装 胶原的合成与组装起始与内质网，并在高尔基体中进行修饰，最后再细胞外组装成胶原纤维
- 4.胶原的组织 同一组织同常含有几种不同类型的胶原，但常以某一种为主。在不同组织中，胶原组装成不同的纤维形式，以适应特定功能的需要。

胶原在细胞外基质中含量最高，刚性及抗张力强度最大，构成细胞外基质的骨架结构，细胞外基质中的其他组分通过与胶原结合形成结构与功能的复合体。

二：弹性蛋白

弹性蛋白是弹性纤维的主要成分。弹性纤维主要存在于脉管壁及肺，也少量存在于皮肤、肌腱及疏松结缔组织中。弹性纤维与胶原纤维共同存在，分别赋予组织弹性及抗张力。

三：糖胺聚糖和蛋白聚糖

- 1.糖胺聚糖
- 2.蛋白聚糖

由重复的二糖单位构成的不分支的长链多糖。

二糖单位之一是氨基己糖（氨基葡萄糖或氨基半乳糖），故又称氨基聚糖

另一分子是糖醛酸

分为透明质酸，硫酸软骨素，硫酸皮肤素，硫酸乙酰肝素。

透明质酸是一种重要的糖胺聚糖，是增殖细胞和迁移细胞的胞外基质主要成分，在早期胚胎中含量特别丰富。与其他糖胺聚糖相比，透明质酸不被硫酸化，而且通常不与任何核心蛋白（core protein）共价连接。

蛋白聚糖位于结缔组织和细胞外基质及许多细胞表面，是由糖胺聚糖与核心蛋白的丝氨酸残基共价连接形成的大分子，其含糖量比蛋白量高。蛋白聚糖赋予软骨凝胶样特性和抗变形能力。

四：纤连蛋白和层粘连蛋白

- 1.纤连蛋白
- 2.层粘连蛋白

高分子量糖蛋白，具有介导细胞黏着的功能和维持细胞形态，此外纤连蛋白还促进细胞迁移和有助于血液凝固和创伤修复。

主要分布与各种动物胚胎及成体组织的基膜。

五：基膜与细胞外被

- 1.基膜

基膜是一种特异的胞外基质结构，通常位于上皮层的基底面，将上皮细胞与结缔组织分开。

基膜不仅对组织起支撑作用，同时也是调节分子以及细胞运动和渗透性屏障。

- 2.细胞外被

细胞外被=糖萼：指细胞质膜外表面覆盖的一层黏多糖物质。几乎所有的整合膜蛋白及某些膜脂分子都与糖链分子共价相连形成糖蛋白和糖脂，这些突出于细胞表面的糖链分子就形成了糖萼。细胞外被不仅对细胞质膜起保护作用，而且在细胞识别中起重要作用。

六：植物细胞壁

- （一）细胞壁的化学组成与结构
- （二）初生细胞壁与次生细胞壁