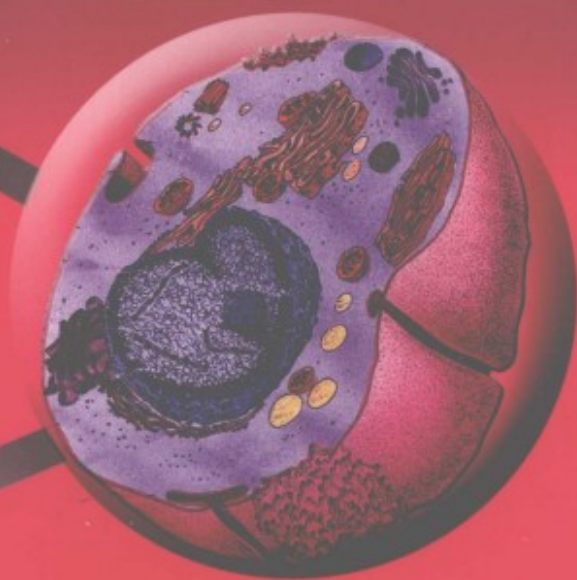


高等院校教材

细胞生物学

CELL BIOLOGY

刘艳平 主编



 湖南科学技术出版社

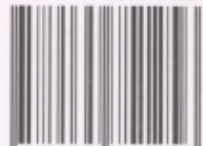
责任编辑：陈一心

责任美编：殷 健

封面设计：张李洋 朱力宇 夏 燕

CELL BIOLOGY

ISBN 978-7-5357-5125-6



9 787535 751256 >

定价：48.00 元

高等院校教材

细胞生物学

CELL BIOLOGY

主 编: 刘艳平

副主编: 张树冰 秦志峰

编 者(以姓氏笔画为序):

刘艳平 刘 静 张树冰 言惠文

杨粤军 罗桐秀 秦志峰



湖南科学技术出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

细胞生物学/刘艳平主编. —长沙: 湖南科学技术出版社, 2008. 1

ISBN 978-7-5357-5125-6

I. 细… II. 刘… III. 细胞生物学 IV. Q2

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2007) 第 205054 号

高等院校教材

细胞生物学

主 编: 刘艳平

责任编辑: 陈一心

出版发行: 湖南科学技术出版社

社 址: 长沙市湘雅路 276 号

<http://www.hnstp.com>

邮购联系: 本社直销科 0731-4375808

印 刷: 衡阳博艺印务有限责任公司

(印装质量问题请直接与原厂联系)

厂 址: 湖南省衡阳市黄茶岭光明路 21 号

邮 编: 421008

出版日期: 2008 年 1 月第 1 版第 1 次

开 本: 787mm×1092mm 1/16

印 张: 23.5

字 数: 539000

书 号: ISBN 978-7-5357-5125-6

定 价: 48.00 元

(版权所有·翻印必究)

前言

进入 21 世纪以来, 生命科学的各个领域取得了令人瞩目的发展。细胞生物学作为生命科学中的基础和支柱学科, 也迎来了飞速发展的新时期。新概念、新内容、新技术不断涌现, 这就要求在细胞生物学的教学中, 不断更新和完善知识结构。

为满足教学需要, 按照教育部对高校教材建设的要求, 我们根据多年的教学实践, 编写了这本教材。

作为提高教材质量的一个基本措施, 我们力求达到“三基”(基础理论、基本知识、基本技能)和“五性”(思想性、科学性、先进性、启发性、适用性)的要求, 并且还将近年来细胞生物学研究领域的新进展充实到各个章节中。

全书共 17 章, 分为绪论、细胞生物学的研究方法、细胞概述、细胞膜、细胞连接和细胞外基质、核糖体、细胞质基质与细胞内膜系统、线粒体、叶绿体、细胞骨架、细胞核、细胞的信号转导、细胞增殖及调控、细胞分化、细胞的衰老与死亡、肿瘤细胞生物学、细胞的进化。每章后面都附有内容摘要和复习思考题。

本书可作为高等院校本科生及研究生的教材或参考书。不同院校在教学过程中, 可根据教学时数、学习对象等具体情况对不同章节进行取舍和删减。

在编写过程中, 中南大学细胞生物学系研究生张李洋、朱力宇、吴丽萍、陈丹娜对教材做了部分文字打印、图表处理和英汉词汇的编排整理等工作; 中南大学研究生院、教务处、生物科学与技术学院的有关领导及细胞生物学系的全体老师对本书的出版给予了大力支持。在此一并表示衷心感谢。

由于编者专业水平及编写能力有限, 书中不足之处和错误在所难免, 敬请读者批评指正, 以使本书再版时进一步完善。

刘艳平

2007 年 9 月于长沙中南大学

目 录

第一章 绪论	(1)	一、差速离心	(17)
第一节 细胞生物学的概念和研究内容	(1)	二、密度梯度离心	(18)
第二节 细胞生物学的发展简史	(1)	第四节 细胞组分的分析技术	(19)
一、细胞的发现和细胞学说的创立	(2)	一、组织化学和细胞化学法	(19)
二、细胞学的形成与发展	(2)	二、免疫化学法	(19)
三、细胞生物学的形成与发展	(4)	三、分子细胞生物学技术	(20)
第三节 细胞生物学的主要发展趋势	(5)	第三章 细胞概述	(25)
一、真核细胞基因表达及调控的研究	(5)	第一节 细胞的分子基础	(25)
二、细胞增殖、分化、凋亡及其调控	(5)	一、生物小分子	(25)
三、细胞信号转导的研究	(6)	二、生物大分子	(27)
四、细胞结构体系的组装	(6)	第二节 细胞的形态和大小	(33)
五、干细胞研究	(6)	一、细胞的形态	(33)
六、细胞社会学	(7)	二、细胞的大小	(33)
七、细胞工程	(7)	三、细胞的计量单位	(34)
第四节 细胞生物学与医学的关系	(7)	第三节 细胞的类型和结构	(34)
第二章 细胞生物学的研究方法	(10)	一、原核细胞的结构	(34)
第一节 显微成像技术	(10)	二、真核细胞的结构	(35)
一、光学显微镜	(10)	三、原核细胞与真核细胞的比较	(36)
二、电子显微镜	(12)	第四章 细胞膜	(39)
第二节 细胞工程技术	(15)	第一节 细胞膜的化学组成	(39)
一、细胞培养	(15)	一、膜脂	(39)
二、细胞融合	(15)	二、膜蛋白	(41)
三、显微操作	(16)	三、膜糖类	(43)
第三节 细胞组分的分离技术	(17)	第二节 膜的分子结构模型	(44)
		一、片层结构模型	(44)
		二、单位膜模型	(44)
		三、液态镶嵌模型	(45)
		四、晶格镶嵌模型和板块模型	(45)
		第三节 膜的特性	(46)

一、生物膜的流动性	(46)	一、mRNA 通过密码子决定蛋白质的	
二、生物膜的不对称性	(48)	一级结构	(89)
第四节 细胞膜的物质运输	(49)	二、在酶的催化下 tRNA 携带特定的	
一、小分子和离子的跨膜转运	(50)	氨基酸	(90)
二、大分子和颗粒物质的膜泡转运		三、与蛋白质合成有关的蛋白因子	
.....	(57)	(92)
第五节 细胞表面抗原与免疫	(60)	四、多肽链合成的基本过程	(93)
一、人红细胞表面血型抗原	(61)	第五节 异常情况下核糖体变化	
二、组织相容性抗原	(62)	(95)
第六节 细胞膜与疾病	(62)	第七章 细胞质基质与细胞内膜系统	
一、细胞膜与肿瘤	(62)	(97)
二、细胞膜受体异常	(63)	第一节 细胞质基质	(97)
三、膜转运系统异常	(64)	一、细胞质基质的化学组成	(97)
第五章 细胞连接和细胞外基质	(66)	二、细胞质基质的特性	(98)
第一节 细胞连接	(66)	三、细胞质基质的功能	(98)
一、紧密连接	(66)	第二节 内质网	(100)
二、锚定连接	(67)	一、内质网的形态结构	(100)
三、通讯连接	(69)	二、内质网的类型	(101)
第二节 细胞外基质	(72)	三、内质网的化学组成	(103)
一、胶原	(73)	四、内质网的功能	(104)
二、弹性蛋白	(76)	五、内质网的病理变化	(113)
三、纤黏连蛋白和层黏连蛋白	(77)	第三节 高尔基复合体	(114)
四、氨基聚糖和蛋白聚糖	(78)	一、高尔基复合体的形态结构	
五、细胞外基质的受体	(81)	(114)
第六章 核糖体	(83)	二、高尔基复合体的化学组成	
第一节 核糖体的形态结构	(83)	(116)
第二节 核糖体的化学组成	(84)	三、高尔基复合体的功能	(117)
一、核糖体的主要化学成分	(84)	四、高尔基复合体的异常变化	(122)
二、rRNA 的结合部位	(86)	第四节 溶酶体	(122)
三、核糖体蛋白质在核糖体上的定位		一、溶酶体的形态结构和化学组成	
.....	(86)	(123)
第三节 核糖体的解离及自我组装		二、溶酶体的类型及形成	(124)
.....	(87)	三、溶酶体的功能	(127)
一、Mg ²⁺ 对核糖体组装的影响		四、溶酶体与疾病	(128)
.....	(87)	第五节 过氧化物酶体	(130)
二、核糖体的解离与自我组装	(87)	一、过氧化物酶体的形态结构	
第四节 核糖体与蛋白质的生物合成		(130)
.....	(88)	二、过氧化物酶体的酶	(131)
		三、过氧化物酶体的功能	(131)

四、过氧化物酶体的形成	(132)	第九章 叶绿体	(157)
五、过氧化物酶体与疾病	(132)	第一节 叶绿体的形态结构	(157)
第六节 蛋白质分选与囊泡转运	(133)	一、光镜下叶绿体的形态结构	(157)
一、蛋白质分选运输的基本途径	(133)	二、叶绿体的超微结构	(157)
二、转运囊泡的类型	(134)	第二节 叶绿体的化学组成	(160)
三、囊泡转运的意义	(136)	第三节 光合作用	(160)
第八章 线粒体	(140)	一、原初反应	(161)
第一节 线粒体的形态结构	(140)	二、电子传递和光合磷酸化	(162)
一、光镜下线粒体的形态结构	(140)	三、碳同化	(164)
二、电镜下线粒体的形态结构	(140)	第四节 叶绿体的半自主性	(166)
第二节 线粒体的化学组成与酶的		一、叶绿体的基因组	(167)
定位	(143)	二、叶绿体的蛋白质合成、运送与	
一、线粒体的化学组成	(143)	装配	(167)
二、线粒体中酶的定位	(143)	第五节 叶绿体的生物发生和起源	
第三节 线粒体蛋白质穿膜进入线		(168)
粒体	(144)	一、叶绿体的生物发生	(168)
一、蛋白质运输过程中的特性	(144)	二、叶绿体的起源	(169)
二、导肽的性质与作用	(145)	第十章 细胞骨架	(172)
第四节 线粒体的功能	(146)	第一节 微管	(172)
一、乙酰辅酶 A 的形成	(147)	一、微管的形态结构和化学组成	
二、三羧酸循环	(147)	(172)
三、电子传递偶联氧化磷酸化	(147)	二、微管结合蛋白	(173)
第五节 线粒体的半自主性	(149)	三、微管的组装	(174)
一、线粒体 DNA	(149)	四、微管的功能	(175)
二、线粒体基因组编码的蛋白质生		第二节 微丝	(175)
物合成体系	(150)	一、微丝的形态与分布	(175)
三、线粒体遗传系统与细胞核遗传		二、微丝的分子组成	(176)
系统的相互关系	(151)	三、微丝的组装	(176)
第六节 线粒体的生物发生	(152)	四、肌动蛋白结合蛋白	(177)
一、线粒体的增殖	(152)	五、微丝的功能	(178)
二、线粒体起源	(153)	第三节 中间纤维	(180)
第七节 线粒体与医学	(154)	一、中间纤维蛋白的类型和分布	
一、线粒体与疾病	(154)	(180)
二、线粒体与衰老	(155)	二、中间纤维的分子结构	(181)
三、药物和毒物对线粒体的影响		三、中间纤维的组装	(181)
.....	(155)	四、中间纤维的功能	(182)
四、线粒体与疾病治疗	(155)	第四节 微管组成的特殊结构	(183)
		一、中心粒	(183)

二、纤毛和鞭毛及其运动	(184)	二、催化受体	(226)
第五节 细胞质骨架内的相互协调	(187)	三、偶联 G 蛋白受体	(227)
第六节 细胞骨架的病理变化	(188)	第四节 细胞信号转导的基本特征	(234)
一、恶性生长细胞的细胞骨架	(188)	一、信号转导是特异性的级联式反	
二、衰老细胞内的细胞骨架	(188)	应过程	(234)
第十一章 细胞核	(190)	二、信号转导具有共同的作用机制	(234)
第一节 核被膜	(191)	三、信号转导具放大作用	(235)
一、核被膜的主要化学成分	(191)	四、信号转导具适应性	(236)
二、核被膜的结构	(192)	第十三章 细胞增殖及调控	(238)
三、核被膜的功能	(196)	第一节 细胞增殖的方式	(238)
第二节 染色质和染色体	(199)	一、无丝分裂	(238)
一、染色质的化学组成	(199)	二、有丝分裂	(239)
二、染色质的类型	(201)	三、减数分裂	(239)
三、染色质的结构与包装	(202)	第二节 细胞周期	(239)
四、染色体	(204)	一、细胞周期概述	(239)
第三节 核仁	(208)	二、细胞周期各时相的主要特点	(242)
一、核仁的化学组成	(208)	第三节 细胞周期的研究方法	(250)
二、核仁的结构	(209)	一、细胞周期的时间测定	(250)
三、核仁的形成	(210)	二、细胞同步化方法	(252)
四、核仁的功能	(210)	第四节 细胞增殖的调控	(254)
第四节 核基质	(214)	一、细胞周期中的基因调控	(255)
一、核基质的形态结构与基本组分	(215)	二、细胞周期调控系统	(256)
二、核基质的功能	(215)	三、其他因子的调控	(264)
第五节 细胞核的功能	(216)	第五节 细胞增殖与医学	(268)
第六节 细胞核与疾病	(217)	一、细胞增殖是组织再生的基础	(269)
一、细胞核异常与肿瘤	(217)	二、细胞增殖与肿瘤	(269)
二、染色体畸变与染色体病	(218)	第六节 生殖细胞的发生与减数分	
第十二章 细胞的信号转导	(222)	裂	(271)
第一节 概述	(222)	一、生殖细胞的发生	(271)
一、基本概念	(222)	二、减数分裂	(273)
二、受体的结构	(224)	第十四章 细胞分化	(280)
第二节 胞内受体信号转导途径	(224)	第一节 细胞分化的基本概念	(281)
第三节 膜受体的类型及其转导途		一、细胞分化是基因选择性表达的	
径	(225)	结果	(281)
一、离子通道受体	(225)		

二、管家基因和奢侈基因	(282)	第二节 肿瘤发生机制	(326)
三、已分化细胞的全能性	(282)	一、化学致癌因素	(326)
第二节 细胞分化的机制	(283)	二、物理致癌因素	(326)
一、细胞决定和细胞记忆	(284)	三、生物致癌因素	(327)
二、核质的相互作用	(286)	四、肿瘤发生的遗传机制	(327)
三、胞外信号分子对细胞分化的影响	(287)	五、肿瘤干细胞	(329)
四、细胞的微环境与细胞位置效应	(288)	第三节 原癌基因和抑癌基因	(329)
五、环境对性别决定的影响	(288)	一、原癌基因	(329)
第三节 真核细胞基因表达的调控	(288)	二、抑癌基因	(331)
一、染色体水平的调控	(289)	第四节 肿瘤标志物	(332)
二、转录水平的调控	(290)	一、癌胚蛋白	(332)
三、转录后水平的调控	(294)	二、酶类标志物	(333)
四、翻译水平的调控	(295)	三、激素	(333)
第四节 干细胞	(296)	四、肿瘤抗原	(333)
一、干细胞概念	(296)	五、血浆蛋白	(334)
二、干细胞分类	(296)	第五节 肿瘤的治疗	(334)
三、干细胞的应用前景	(298)	一、手术治疗	(334)
第五节 细胞分化与癌症	(299)	二、放射治疗	(334)
第十五章 细胞的衰老与死亡	(302)	三、化学治疗	(335)
第一节 细胞的衰老	(302)	四、细胞分化治疗	(335)
一、细胞的寿命	(302)	五、基因治疗	(335)
二、细胞衰老的表现	(303)	六、生物反应调节剂治疗	(336)
三、细胞衰老的学说	(304)	第十七章 细胞的进化	(338)
第二节 细胞的死亡	(307)	第一节 细胞的起源	(338)
一、细胞死亡的形式与特征	(307)	一、生物小分子的形成	(338)
二、细胞凋亡的生物学意义	(309)	二、生物大分子的形成及在进化中的作用	(339)
三、细胞凋亡的调控	(311)	三、原始细胞的产生	(341)
四、细胞凋亡的检测	(316)	第二节 从原核细胞到真核细胞	(342)
五、细胞凋亡与医学	(319)	一、从原始细胞到原核细胞	(343)
第十六章 肿瘤细胞生物学	(323)	二、从原核细胞到真核细胞	(345)
第一节 癌细胞的基本特征	(323)	第三节 从单细胞生物到多细胞生物	(347)
一、癌细胞具有的三个显著特征	(323)	一、由单细胞聚集成群体	(347)
二、癌细胞的形态特征	(324)	二、多细胞生物的结构形式和组织化等级	(348)
三、癌细胞的生理、生化特征	(324)	英汉细胞生物学词汇	(350)
		参考文献	(363)

第一章

绪论

第一节 细胞生物学的概念和研究内容

生物体是多侧面、多层次、非线性的复杂结构体系，而细胞 (cell) 是生物体形态结构和功能活动的基本单位，有了细胞才有完整生命活动。生物的生长发育依靠细胞的增殖与分化来实现。一切疾病的发病机制研究也是以细胞病变研究为基础的。著名生物学家 E. B. Wilson 早在 1925 年就提出：“一切生命的关键问题都要到细胞中去寻找。”细胞的研究是生命科学的基础，也是现代生命科学发展的重要支柱。

生命从细胞开始，细胞分为原核细胞 (prokaryotic cell) 和真核细胞 (eukaryotic cell)。不同生物的细胞在结构和功能上具有若干共性。其主要包括：都具有选择透性质膜结构，能够调节物质进出细胞，并使细胞有适合的内部环境；都在核酸 (主要是 DNA) 中储存遗传信息，并主要遵循 DNA→RNA→蛋白质途径传递遗传信息；都有蛋白质合成的机器——核糖体；能够进行自我增殖和遗传；能够进行新陈代谢；所有细胞都具有一定的运动性，包括细胞自身的运动和细胞内的物质运动。

细胞生物学 (cell biology) 是从细胞的整体水平、亚显微水平、分子水平 3 个层次，以整体与动态的观点研究细胞的结构、功能，以及各种生命活动本质和基本规律的科学，是现代生命科学的基础学科之一。细胞生物学与医学、农林业、生物高新技术发展有密不可分的关系，将在解决人类面临的重大问题中发挥重要的基础作用。

细胞生物学的研究内容是多方面的。我们应该以进化的观点、形态结构与功能相结合的观点、整体与动态的观点，把细胞的显微水平、亚显微水平和分子水平 3 个层次有机地结合起来，采取分析与综合的方法来探讨细胞的基本生命活动规律。细胞的结构与功能、细胞的增殖与分化、细胞的遗传与变异、细胞的衰老与死亡、细胞的信号转导、细胞识别、细胞免疫、细胞骨架、细胞的社会性、细胞工程、细胞的起源与进化等是细胞生物学研究的主要内容。细胞生物学已经不再是孤立地研究一个个细胞、细胞器和生物大分子，而是研究它们的变化发展过程、细胞与细胞之间的相互关系、细胞与环境之间的相互关系。我国基础科学发展规划把细胞生物学、分子生物学、神经生物学和生态学并列为生命科学的四大基础学科。细胞生物学是 21 世纪生命科学研究的焦点之一。

第二节 细胞生物学的发展简史

17 世纪显微镜的发明，导致细胞的发现，至今已有 300 余年的历史。随着科学的发展、实验手段和技术的进步，人类对细胞的认识日渐深入，推动了细胞生物学的兴起与发展。概

而言之，细胞生物学的发展过程可分为以下几个主要时期。

一、细胞的发现和细胞学说的创立

1665年，英国学者 Robert Hooke 用自己制作的显微镜观察栎树软木塞的薄切片，发现其中有许多蜂窝状的小室，并将这些小室命名为 cell。实际上当时他看到的是植物细胞的细胞壁。此后，生物学家用“cell”一词描述生物体的基本结构单位，中文翻译为细胞。Hooke 对有关细胞的首次描述见于 1665 年他的《显微图谱》中，因此人们认为细胞的发现是在 1665 年。

真正观察活细胞的是荷兰科学家 Antony von Leeuwenhoek，他用设计较好的显微镜观察池塘水中的原生动物、蛙肠道内的原生动物、人类和哺乳动物的精子，并于 1674 年在观察鱼的红细胞时描述了细胞核的结构。

由以上可见，细胞生物学的基础建立于 17 世纪，并且 Hooke 和 Leeuwenhoek 两位科学家为此做出了重要的贡献。

在 Hooke 发现细胞后的近 170 年中，人们用光学显微镜相继发现了一些不同类型的细胞，但对细胞的认识基本上没有什么新的进展。直到 19 世纪 30 年代，显微镜制造技术有了明显的改进，分辨率提高到 $1\mu\text{m}$ 以内；同时还由于切片机的制造成功，从而对细胞的观察有了许多新的进展，细胞核、核仁、细胞的原生质等被揭示，人们才真正认识到细胞的生物学意义。

1838~1839 年，德国植物学家 Schleiden (1838 年) 和动物学家 Schwann (1839 年) 总结前人的工作，综合了植物和动物组织中细胞的结构，提出“细胞学说 (cell theory)”，指出“一切生物，从单细胞生物到高等动、植物都是由细胞组成的；细胞是生物的形态结构和功能活动的基本单位”。后来德国科学家 Rudolf Virchow (1855 年) 明确提出“一切细胞只能来自原来的细胞”的论点。此外，他还指出机体的一切病理现象都是基于细胞的损伤，从而论证了生物界的统一性和共同起源。

当时的“细胞学说”的基本要点是：

- 认为细胞是有机体，所有动、植物都是由细胞发育而来，并由细胞所构成。
- 细胞具有生命特征。
- 细胞通过繁殖产生新细胞。

细胞学说建立后，对生命科学许多领域的研究和发展起到了积极的推动作用。恩格斯曾对细胞学说给予高度评价，将其与生物进化论和能量守恒定律并列为 19 世纪自然科学的三大发现。由于发现了细胞，我们知道了有机体生长发育的共同规律，同时，由于细胞的变异能力而知道了有机体能改变自己。所以，细胞学说的建立开辟了生物学的一个新时期，促使细胞学发展成为一门科学，并渗透到生物学其他学科。

人们通常称 1838~1839 年施莱登和施旺确立的细胞学说，1859 年达尔文 (Darwin) 确立的生物进化论和 1866 年孟德尔 (Mendel) 确立的遗传学为现代生物学的三大基石，而实际上，细胞学说又是后两者的基石。

二、细胞学的形成与发展

细胞学说的建立把生物学的注意力引向细胞，有力地推动了对细胞的研究。19 世纪中叶到 20 世纪初是细胞研究的兴盛时期。许多重要的细胞结构及细胞活动现象被相继发现。

研究的主要特点是光学显微镜下细胞形态结构和细胞分裂活动的描述。

Pukinje (1840年)和 H. Von Mohl (1846年)分别将动、植物细胞中的内含物称为原生质 (protoplasm)。Max Schultze (1861年)认为动、植物细胞中的原生质具有同样的意义,并提出了原生质理论。从此,细胞被看成是由细胞膜包围的一小团原生质,原生质理论建立以后,学者们又明确地把围绕在核周的原生质称为细胞质 (cytoplasm),把核内的原生质称为核质 (karyoplasm)。

1841年 R. Remak 发现鸡胚血细胞的直接分裂。其后, W. Flemming 改进了固定方法和染色技术,于 1882年首先精确地描述了动物细胞的间接分裂过程,他把间接分裂命名为有丝分裂 (mitosis),把直接分裂称为无丝分裂 (amitosis)。

E. A. Strasburger 根据染色体在细胞分裂中的行为把有丝分裂过程分为前期、中期、后期、末期。他和福莱明用植物材料和动物材料分别表明:细胞核从一代细胞传到下一代细胞中,保持着物质上的连续性。

Van Beneden (1883年)和 Strasburger (1886年)分别在动物体与植物体配子形成过程中发现染色体数目减少一半的现象。1905年, J. R. Farmer 和 J. E. More 把进行有性生殖的生物体的生殖细胞,通过分裂使染色体数目减半的分裂方式称为减数分裂 (meiosis)。通过减数分裂可以保持物种染色体数目的稳定。至此,已发现了细胞的无丝分裂、有丝分裂、减数分裂等主要的分裂方式。

1888年, Waldeyer 把分裂细胞核内的染色小体命名为染色体 (chromosome)。

19世纪末,对细胞质的形态观察更加深入细致。相继发现许多细胞器。例如 1887年 T. Boveri 和 V. Beneden 在细胞质中发现中心体, Altmann (1894年)和 Benda (1897年)发现了线粒体, 1898年高尔基 (Golgi) 发现了高尔基体,上述的发现使大家对细胞结构的复杂性有了更深入的理解。

从 20世纪初到 20世纪中叶为实验细胞学时期,这一时期的特点是细胞的实验研究和生物化学的结合以及电子显微镜的应用,开辟了细胞学发展的新时代,许多悬而未决的问题都逐个迎刃而解。

1900年,孟德尔在 34年前发表的遗传法则被重新发现, 1902年, C. Borreri 和 W. S. Sutton 不谋而合地提出遗传的染色体学说,把染色体的行为同孟德尔的遗传因子联系起来。1910年,摩尔根 (Morgan) 根据他的大量实验,证明基因在染色体上呈直线排列,提出了基因学说。

1909年, Harrison 创立了组织培养技术,为直接观察和分析细胞的形态结构和生理活动提供了有利条件,为研究细胞生理学开辟了一条重要途径。

1924年, Feulgen 等介绍了他们首创的 Feulgen 反应法,以后专门作为脱氧核糖核酸 (DNA) 的定性方法。此后, 1940年 Brachet 用甲基绿-派洛宁染色方法来测定细胞中的 DNA 与 RNA。1936和 1940年 Casperson 用紫外光显微分光光度法测定 DNA 在细胞中的含量,并认为蛋白质的合成可能与 RNA 有关。细胞组分分离技术、放射自显影技术和超微量分析等方法的广泛运用,对细胞内核酸与蛋白质代谢作用的研究也有很大的促进作用。

1933年,德国科学家 Ernst Ruska 在西门子 (Semens) 公司设计制造出第一台电子显微镜。电子显微镜的放大倍数比光学显微镜要高得多,可达几十万倍。

电镜的发明将细胞研究带入一个新的发展时期,人们利用电子显微镜先后观察了细胞的各种超微结构,如内质网 (Portor, Claude 和 Fullan, 1945年),叶绿体 (Porter 和 Gran-

ick, 1947年), 高尔基体 (Dalton Felixsjastrand, 1950年), 核膜 (Callon 和 Tombin, 1950年), 溶酶体 (De Dave, 1952年), 线粒体 (Palade, Porter, Sjostrand, 20世纪50年代初), 核糖体 (Palade, 1953年), 单位膜 (Robertson, 1958年)。在电镜下所观察到的各种细胞的结构比在光镜下看到的形态要复杂得多。同时, 又通过超速离心和 X 射线衍射等新方法将细胞内结构和组分分离出来进行研究, 将细胞形态结构和相应功能联系起来, 从超微观水平开展了对细胞的探索。

三、细胞生物学的形成与发展

电镜和其他技术的应用, 使人们在细胞整体水平、超微结构水平和分子水平上的研究取得了广泛而深入的进展。

1944年, Avery 等在微生物的转化实验中证明了 DNA 是遗传物质, 1948年, Boivin 等测定生殖细胞与各种体细胞中的 DNA 含量, 提出了 DNA 含量恒定理论。1953年, J. D. Watson 和 H. C. Crick 用 X 射线衍射法发现了 DNA 的双螺旋结构, 从分子水平上揭示了 DNA 结构与功能的关系, 奠定了分子生物学的基础。

1956年, Kornberg 从大肠杆菌提取液中获得了 DNA 聚合酶, 并以该菌的 DNA 单链片段为引物 (primer), 在离体条件下成功地合成了 DNA 片段的互补链。1958年 Meselson 和 Stahl 等用放射性核素与梯度离心法分析了 DNA 的复制过程, 证明 DNA 的复制是“半保留复制”。1958年, Crick 提出著名的遗传信息传递的“中心法则 (central dogma)”, 这个法则是近代生物科学中最重要的基本理论。1961年, Nirenberg 和 Matthaei 通过对核糖核酸的研究, 最终破译了氨基酸的遗传密码。1968年 Nirenberg 阐明了遗传密码在蛋白质合成中的作用, 获得诺贝尔奖。

20世纪60年代, 改进的电镜技术显示出细胞质基质中存在着微管、微丝和中等纤维。这些结构形成了纵横交错的“骨架”, 总称为细胞骨架 (cytoskeleton)。细胞骨架同细胞器的空间分布、功能活动和细胞运动有着密切的关系。细胞骨架的发现是在超微结构研究方面的更大进步。

细胞生物学研究在最近40年取得了丰硕的成果, 1970年 Temin 及 Baltimore 在肿瘤病毒中发现反转录酶, 修正了“中心法则”的片面性。1972年 Singer 和 Nicolson 提出生物膜的液态镶嵌模型, 这是至今仍为广大生物学者所接受的学说。1974年 Olin 及 R. D. Kornberg 分别提出染色质分子结构的串珠模型, 证明染色质分子的一级结构为核小体。1975年 Wallach 提出生物膜的“晶格镶嵌模型”, 补充了液态镶嵌学说的不足之处。1975年, G. Blobel 提出细胞内蛋白质运输信号学说, 此学说获1999年诺贝尔奖。1976年 Neher 和 Sakamann 发现了细胞质膜上的离子通道, 并于1991年获诺贝尔奖。1997年 Wilmut 等用高度分化的乳腺细胞与去除染色质的卵细胞融合, 成功制成克隆绵羊“多莉”。1998年 Thomson 和 Gearhart 获得了具有无限增殖和多分化潜能的人类胚胎干细胞 (human embryonic stem cell, hESC)。Horvitz、Brenner 和 Sulston 发现并描述了在器官发育和细胞凋亡过程中的关键基因和调节规律, 共同获得2002年诺贝尔奖。Ciechanover、Hershko 和 Rose 因对细胞内泛素调节的蛋白质降解机制的研究获得2004年诺贝尔奖。人类基因组计划 (Human Genome Project, HGP) 于1990年正式启动, 2000年由美、英、日、法、德、中6国学者共同完成了基因组“工作框架图”的绘制。2001年《自然》和《科学》杂志分别报道了人类基因组的完整序列图完成, 至此, 人类基因组计划的测序任务提前完成, 现已进入

功能基因组学和蛋白质组学的后基因组时代。

细胞生物学这个词是在 20 世纪 60 年代出现的,特别是 70 年代以来,细胞生物学取得了突破性的进展,产生了许多新的生长点,并逐渐形成新的概念与新的领域。很多科学家认为在 21 世纪,细胞生物学将继续迅猛发展,因为它是揭示生命奥秘不可缺少的主角。

第三节 细胞生物学的主要发展趋势

细胞的研究历史令人瞩目,但细胞生物学仍是一门发展中的新兴学科。当前细胞生物学的主要发展趋势简述如下。

一、真核细胞基因表达及调控的研究

细胞核是遗传物质 DNA 储存的场所,也是遗传信息转录的场所。染色体(质)是遗传信息的载体。染色体(质)结构动态变化与基因表达及其调控的关系是目前细胞生物学的热门课题。

真核细胞的结构基因是不连续的,被内含子分隔成许多片段。基因表达过程中,依次要经过转录前、转录、转录后、翻译和翻译后等步骤,这决定了基因表达的调控必然是多步骤、多层次的过程。也就是说,基因表达的量、程序、时间、空间特性是受到严格调节控制的,归纳起来是以下四个根本性的问题。

● 细胞的基因组在细胞内是如何在时间与空间上有序表达的?其表达程序怎样受到严格的调节与控制?这就是细胞作为结构与生命活动基本单位的奥妙所在。细胞结构与生命活动时空上的有序性是十分复杂的,是非线性调控过程。

● 基因与基因表达的产物(主要是大量活性因子与信号分子)如何控制细胞的重要生命活动,如细胞的增殖、分化、衰老与死亡等?

● 基因表达的产物(主要是结构蛋白质)与其他生物分子(核酸、脂、多糖及其复合物)如何构建与装配成各种细胞结构,并行使其有序的细胞生命活动?这种自组装过程的调控程序与调控机制是什么?生命活动很多本质问题能在这里找到答案。

● 非组蛋白对基因组的作用。

染色体是由 DNA 与蛋白质形成的动态复合结构,可分为细胞间期染色质与分裂期染色体。两者在细胞周期中的交替与相互转换主要是由 DNA 与蛋白质动态结合关系所决定的。染色体 DNA 结合蛋白可以分为组蛋白与非组蛋白。构成核小体的 5 种组蛋白的作用已基本清楚。大量且种类繁多的非组蛋白与 DNA 的相互关系成为研究的主要问题,特别是非组蛋白对 DNA 复制、基因组有序表达与染色体动态结构变化的作用成为核心课题之一。

二、细胞增殖、分化、凋亡及其调控

细胞增殖、分化与凋亡是细胞最重要的生命活动现象,它们是相互联系并受到一系列基因调控、又相互制约的过程。

一切动、植物生长发育要依靠细胞增殖与分化来实现。细胞癌变是由于细胞增殖、分化和衰老死亡失控所致。

目前主要从两方面研究细胞增殖的调控:一是从环境中与有机体中寻找控制细胞增殖的

因子, 以及阐明它们的作用机制。二是寻找控制细胞增殖的关键性基因, 并通过调节基因产物来控制细胞增殖。

细胞分化是生物发育的基础, 受精卵如何有条不紊地发育为无比复杂的有机体一直是人们企图揭开的奥妙。细胞全能性的揭示, 让人们认识到能够将已分化的细胞进行“去分化”或“转分化”, 并使其进行分裂与再分化。这为控制生物的生长发育提供了光明的前景。而细胞分化及其调控机制的研究将是这一重大问题解决的基础。

细胞凋亡的研究是近年生命科学中发展起来的热点课题。细胞凋亡是由一系列基因控制并受内外环境多种信号调节的“细胞自然死亡”现象, 细胞凋亡在细胞增殖、分化及多种病理过程中可能是重要的平衡因素。人们正在寻求通过促进细胞凋亡的研究为癌症治疗提供依据及手段。

不论是细胞增殖与分化的研究, 还是细胞凋亡的研究, 当前的核心问题都是抓住其调控机制的研究。

三、细胞信号转导的研究

细胞信号转导是指细胞外的刺激信号通过一定的机制转换成细胞应答反应的过程, 这个过程涉及一系列细胞内蛋白质构象和功能的改变以及基因表达的改变。

细胞信号转导的研究与生命科学中许多重要问题密切相关, 它已成为了解错综复杂的生命现象不可缺少的内容并成为生命科学多领域、多层次的纽带。细胞信号转导的研究不仅对了解生命本质与细胞基本生命活动规律有重要理论意义, 而且对阐明人类疾病产生的原因与诊断治疗、新药研制、甚至戒毒都有重大意义。

当前细胞信号转导的基本内容为: 细胞间信号传递, 重点是信号分子的结构与功能、信号分子与受体相互作用机制, 受体与信号跨膜传递。G 蛋白的发现与深入的研究使受体转换器的概念与结构功能更具体化。细胞内信号传递途径, 已证明细胞内信号传递主要依靠一系列蛋白激酶的级联反应而实现。看来蛋白磷酸化与去磷酸化可能是信号转导的关键。把信号转导与基因表达调控联系起来的研究可能是最吸引人的课题。

四、细胞结构体系的组装

生命活动的基础是细胞内高度有序的动态的复合结构体系, 在亚细胞水平可以将细胞结构大致归纳为三大基本结构体系: 由蛋白质与核酸构建的遗传信息结构体系(包括染色体、核仁、核糖体); 由蛋白质与脂类构建的膜结构体系(包括细胞膜、核膜与各种细胞器膜); 由蛋白质与蛋白质构建的细胞骨架结构体系(包括细胞质骨架和核骨架)。由这些基本结构体系形成的细胞器与各级结构在细胞内有组装、去组装、重组装与重建等过程。有不少细胞结构可以在体外进行组装与重组装。体外装配实验模式的建立对研究细胞结构体系组装机制提供了很好的基础与手段。近年在这一领域进展最快的是细胞核体外组装、细胞骨架组装、人工染色体与人工膜组装等。

五、干细胞研究

干细胞是指具有无限增殖能力, 并能分化产生不同类型细胞的原始细胞, 它们是个体生长发育, 组织器官的结构和功能动态平衡, 以及机体损伤后的再生修复等生命现象发生的细胞学基础。

干细胞包括胚胎干细胞 (embryonic stem cell) 和成体干细胞 (adult stem cell)。目前多种干细胞可以在体外环境下被分离、培养、传代和建系, 同时又保留其干细胞特性, 或被定向诱导分化成为其他种类的细胞, 这些特点使干细胞在人类疾病治疗, 组织和器官的重建, 新药研究中具有重大的理论意义和应用价值。

六、细胞社会学

任何一个细胞的生命活动都不是孤立进行的, 而是受到整个机体、局部组织、周围细胞以及细胞外信息分子的影响与控制, 同时, 每个细胞又作为整个机体中的一个基本生命活动单位, 通过内分泌或旁分泌或细胞间直接通讯的形式, 以其产物或行为对整体或局部其他细胞产生影响。细胞与细胞、细胞与细胞外环境乃至整个机体的相互依存、相互作用、相互制约的关系即细胞的社会性。研究细胞社会性的科学可称为细胞社会学 (cell sociology)。细胞社会学是从系统论观点来研究细胞识别与黏合、细胞连接、细胞外基质等的相互作用。是细胞生物学科的一个新的前沿领域。它的定义及内涵尚待完善, 理论体系尚待确立。而它的重要性已日益明显。

七、细胞工程

细胞工程是应用细胞生物学、遗传学和分子生物学技术, 按照预定的设计来改变或创造细胞的某些生物学特性。以获得具有经济价值的生物产品; 有目的地培育出新的优良品种, 甚至新的物种。这种遗传操作可以在细胞的不同层次上进行: 细胞整体水平 (如细胞融合), 细胞器水平 (如核质移植、改变染色体组成), 分子水平 (如基因导入细胞)。细胞工程可能是 21 世纪生物工程发展的重要组成部分, 它不仅对工、农、医等方面有重要意义, 而且也是认识细胞生命活动规律的一种重要途径。

上述诸领域不能概括细胞基本生命活动的所有重大问题。细胞生物学的发展趋向还有很多方面, 诸如蛋白质合成、分选与跨膜定向运输, 真核细胞起源与进化等, 这些对研究细胞基本生命活动规律也很重要, 近年同样有迅速的进展。

第四节 细胞生物学与医学的关系

细胞既是人体正常结构和功能的单位, 又是疾病病理的基本单位。德国病理学家魏尔啸 (Virchow) 于 1958 年出版《细胞病理学》, 把细胞学说应用于解释病理现象, 认为疾病的原因是细胞和功能上的不正常, 这对医学的发展有很大影响。

细胞生物学在亚显微水平和分子水平对细胞结构和功能活动的深入研究对现代医学的发展起了很大的推动作用。例如, 肿瘤细胞的生物学特性及其发生的机制, 便是细胞生物学的重要研究课题。肿瘤细胞的主要特性是细胞失去了增殖的接触抑制, 无限制的分裂, 恶性生长, 并具有侵袭性和转移性。正常细胞向癌细胞的转化是个多阶段的过程, 与正常细胞内癌基因的激活表达和抑癌基因的丢失或失去功能有关。如何使肿瘤细胞停止分裂, 并走向死亡 (凋亡) 和“改邪为正” (诱导分化) 是肿瘤治疗的关键问题。目前, 肿瘤细胞生物学研究主要包括: 癌基因和抑癌基因与肿瘤发生的关系; 肿瘤细胞信号转导的特点; 肿瘤细胞增殖、分化和凋亡调控机制与肿瘤发生发展的关系等。又如, 缺血性心脏病和脑血管病可能是由于动脉内皮细胞的变化而引起的动脉粥样硬化所致。对动脉内皮细胞的结构和功能变化的深入

探索也是细胞生物学的研究内容。膜蛋白(低密度脂蛋白受体)对细胞内胆固醇含量的调控研究加深了对动脉粥样硬化发病原因的了解。

细胞生物学基础研究对于了解细胞衰老、死亡、射线损伤,以及激素作用、免疫和病毒感染的机制等,均有重要意义。如溶酶体的研究对了解细胞的变性、坏死,特别是风湿性关节炎、痛风、硅沉着病等疾病的发病机制有重要意义。神经递质和激素的受体研究,为了解许多疾病的病因和药物设计提供理论依据。

利用细胞生物学的技术和方法,不但可以对癌症、遗传病进行诊治,还可以生产高效的生物医药制品。医学细胞生物学的原理和方法在医学理论及临床方面的作用越来越大。

此外,细胞生物学与医学其他课程的关系非常密切,如生物化学、分子生物学、生理学、组织胚胎学、微生物学、免疫学、寄生虫学、病理学、药理学等课程中都涉及细胞生物学的有关内容。要正确地认识疾病、预防治疗疾病,也离不开细胞生物学的基础理论作指导。细胞生物学是现代医学重要的基础理论。

所以应该充分认识细胞生物学在医学科学中的重要性,认真学习和扎实掌握细胞生物学的基础理论和实验方法,以便深入探索医学科学中的许多疑难问题。

提 要

细胞是生物体形态结构和功能活动的基本单位,有了细胞才有完整生命活动。生物的生长发育是依靠细胞的增殖与分化来实现的。一切疾病的发病机制也是以细胞病变研究为基础的。

细胞分为原核细胞和真核细胞。不同生物的细胞在结构和功能上具有若干共性。主要包括:都具有选择透性质膜结构,能够调节物质进出细胞,并使细胞有适合的内部环境;都在核酸(主要是DNA)中储存遗传信息,并主要遵循DNA→RNA→蛋白质途径传递遗传信息;都有蛋白质合成的机器——核糖体;能够进行自我增殖和遗传;能够进行新陈代谢;所有细胞都具有一定的运动性,包括细胞自身的运动和细胞内的物质运动。

细胞生物学是从细胞的整体水平、亚显微水平、分子水平3个层次,以整体与动态的观点研究细胞的结构、功能,以及各种生命活动本质和基本规律的科学。

细胞学与细胞生物学发展的历史大致可分为以下几个时期:①细胞的发现及细胞学说的建立;②细胞学的形成与发展;③细胞生物学的形成与发展。

细胞生物学的主要发展趋势包括:①真核细胞基因表达及调控的研究;②细胞增殖、分化、凋亡及其调控;③细胞信号转导的研究;④细胞结构体系的组装;⑤干细胞研究;⑥细胞社会学;⑦细胞工程。

细胞生物学与医学的关系非常密切,是现代医学重要的基础理论。很多疾病机制的阐明、诊断、治疗和预防都依赖于细胞生物学的深入研究。

复习思考题 1

1. 什么是细胞生物学?研究内容有哪些?
2. 恩格斯对细胞学说评价很高,为什么?你如何认识细胞学说的重要意义?
3. 简述细胞生物学的发展过程。

- 4. 简述细胞生物学的主要发展趋势。
- 5. 细胞生物学与医学有哪些密切关系？
- 6. 你认为细胞生物学在生命科学中所处的位置及与其他生物科学的关系是怎样的？

第二章

细胞生物学研究方法

(刘艳平)

细胞生物学是研究细胞的结构、功能、生命活动规律及其发生、发育、衰老、凋亡等过程的科学。它是生物学的一个重要分支，也是现代生物学发展的核心。随着科学技术的进步，细胞生物学的研究方法也在不断地更新和发展。目前，细胞生物学的研究方法主要分为以下几类：(一) 细胞培养技术：这是研究细胞生命活动的基础。通过体外培养细胞，可以研究细胞的增殖、分化、凋亡等过程。(二) 细胞分离与鉴定技术：这是研究细胞特性的基础。通过分离细胞，可以研究细胞的生理、生化、遗传等特性。(三) 细胞成像技术：这是研究细胞形态、结构、功能的重要手段。包括光学显微镜、电子显微镜、荧光显微镜等。(四) 细胞分子生物学技术：这是研究细胞分子水平的生命活动规律的重要手段。包括分子克隆、PCR、基因表达分析等。(五) 细胞信号转导技术：这是研究细胞内外信号传递的重要手段。包括受体酪氨酸激酶、G蛋白偶联受体、离子通道等。(六) 细胞凋亡与细胞周期技术：这是研究细胞生命周期的关键环节。包括细胞周期同步化、细胞凋亡诱导剂等。(七) 细胞移植与再生医学技术：这是研究细胞再生、组织修复的重要手段。包括干细胞移植、组织工程、再生医学等。

第一节 细胞培养技术

细胞培养技术是指将细胞从生物体中取出，在体外进行培养，使其增殖、分化、衰老、凋亡等过程。它是研究细胞生命活动的基础。细胞培养技术主要分为原代培养和传代培养两种。原代培养是指从生物体中取出细胞，在体外进行培养。传代培养是指将原代培养中的细胞，接种到新的培养瓶中，使其继续增殖。

一、光学显微镜

光学显微镜是利用可见光作为光源，通过物镜和目镜的放大作用，使物体成像。它是研究细胞形态、结构、功能的重要手段。光学显微镜的分辨率受光的波长限制。根据瑞利判据，光学显微镜的分辨率 R 与光的波长 λ 成反比。即 $R \propto \frac{1}{\lambda}$ 。可见光的波长在 400nm 到 700nm 之间，因此光学显微镜的分辨率在 200nm 左右。

(一) 普通光学显微镜

普通光学显微镜由目镜、物镜、载物台、底座、镜筒、粗准焦螺旋、细准焦螺旋、反光镜、遮光器、通光孔、压片夹、盖玻片、载玻片等组成。它是研究细胞形态、结构、功能的重要手段。普通光学显微镜的放大倍数一般在 100 倍到 1000 倍之间。

光学显微镜的分辨率是指能够分辨两个点的最小距离。根据瑞利判据，光学显微镜的分辨率 R 与光的波长 λ 成反比。即 $R \propto \frac{1}{\lambda}$ 。可见光的波长在 400nm 到 700nm 之间，因此光学显微镜的分辨率在 200nm 左右。为了提高分辨率，可以使用短波长的光，如紫外光、X 射线等。但是，短波长的光对生物样品有损伤作用，因此不能用于活细胞的观察。

$$N.A. = \frac{0.85 \lambda}{\lambda} \quad N.A. = \sin \alpha$$

式中： $N.A.$ 为数值孔径， α 为半角， λ 为光的波长。数值孔径越大，分辨率越高。数值孔径 $N.A.$ 与物镜的直径 D 成正比。即 $N.A. \propto D$ 。因此，物镜的直径越大，数值孔径越大，分辨率越高。

数值孔径 $N.A.$ 与物镜的直径 D 成正比。即 $N.A. \propto D$ 。因此，物镜的直径越大，数值孔径越大，分辨率越高。数值孔径 $N.A.$ 与物镜的直径 D 成正比。即 $N.A. \propto D$ 。因此，物镜的直径越大，数值孔径越大，分辨率越高。数值孔径 $N.A.$ 与物镜的直径 D 成正比。即 $N.A. \propto D$ 。因此，物镜的直径越大，数值孔径越大，分辨率越高。

第二章

细胞生物学的研究方法

细胞是组成有机体的基本单位，绝大部分必须借助显微镜才能观察到。自从 17 世纪发明了光学显微镜后，人们才观察到细胞，以后随着各种染色技术的出现，才逐步了解到细胞的显微结构，开始了细胞学微观水平的研究。到了 20 世纪 30 年代，电子显微镜的发明使人们对细胞的认识深入到超微结构和分子水平。随着电子显微镜技术和现代生物学技术相结合，细胞生物学研究达到一个新的阶段，从单纯的形态观察发展到对细胞的动态研究，从显微水平发展到分子水平。

细胞生物学的发展在很大程度上依赖于研究技术和研究工具的改进。新技术、新方法不断涌现，极大地促进了细胞生物学相关理论知识的发展。本书仅介绍几种常用基本技术。

第一节 显微成像技术

显微镜是观察细胞的主要工具。根据光源不同，可分为光学显微镜和电子显微镜两大类。前者以可见光为光源，后者则以电子束为光源。

一、光学显微镜

根据光学原理的不同，目前的光学显微镜有许多类型，最常见的包括普通光学显微镜、荧光显微镜、激光共聚焦扫描显微镜、相差显微镜和暗视野显微镜等。

(一) 普通光学显微镜

光学显微镜 (light microscope) 是最常用的研究工具，主要由光学部分和机械部分组成。光学部分包括物镜、目镜和照明部分；机械部分包括镜臂、镜座、镜筒、载物台和调焦装置等。

光学显微镜是使微小物体形成放大影像的仪器，物像是否清楚不仅决定于放大倍数，还与显微镜的分辨率 (resolution, R) 有关，对显微镜来说分辨率是最重要的。分辨率是指显微镜或人眼在 25cm 的明视距离处，能清楚地分辨被检物体细微结构最小间隔的能力。人眼的分辨率约为 $100\mu\text{m}$ ，光学显微镜的分辨率决定于光源的波长 λ ，物镜镜口张角 α 以及介质的折射率 n 。

$$\text{用公式表示为: } R=0.61\lambda/N.A. \qquad N.A.=n\sin\alpha/2$$

式中： n = 介质折射率； α = 镜口角 (标本对物镜镜口的张角)； $N.A.$ = 镜口率 (numeric aperture)。

镜口角 α 总是要小于 180° ，所以 $\sin\alpha/2$ 的最大值必然小于 1；介质折射率 n ，空气为 1，油为 1.5；照明光线的波长 λ ，白光为 $0.5\mu\text{m}$ 。那么， $R=0.61\times 0.5/1.5=0.2\mu\text{m}$ 。从公式中可以看出，光学显微镜的最高分辨率 (limit resolution) 受可见光波长的限制，约为

0.2 μm 。同时由于光的衍射效应，光学显微镜下能够清晰可见的最小物体约为0.5 μm ，如细菌和线粒体等。通常将光镜下所见物体的结构称为显微结构（microscopic structure），如线粒体、中心体、核仁等可以在光镜下观察，均属于显微结构。

大部分生活状态下的细胞是无色透明的，在普通光学显微镜下不容易观察到，因此，常用染料对细胞的不同组分进行染色。在染色前标本通常要进行固定，使细胞内的大分子交联而保持在原来的位置上，常用的固定剂有甲醛和戊二醛等。由于大部分组织太厚，必须在固定后，进行石蜡包埋，切成薄片以便观察。

（二）荧光显微镜

荧光显微镜（fluorescence microscope）是利用一定波长的光（通常是波长短的紫外光和蓝紫光）照射被检样品，激发标本内的荧光物质发射出各种不同颜色的荧光，再经过物镜和目镜放大进行观察。视场中所见的像，主要是样品的荧光映象（图2-1）。

图2-1示两块滤光片及一面二色镜，此图所设滤光片用以检测的荧光染料是荧光素，荧光素受蓝光激发发出黄绿色荧光。①第一滤光片：仅通过450~490nm的蓝光；②二色镜：向下反射波长短于510nm的光，透过波长超过510nm的光；③第二滤光片：阻断不需要的荧光信号，通过的波长为520~560nm的绿色荧光。

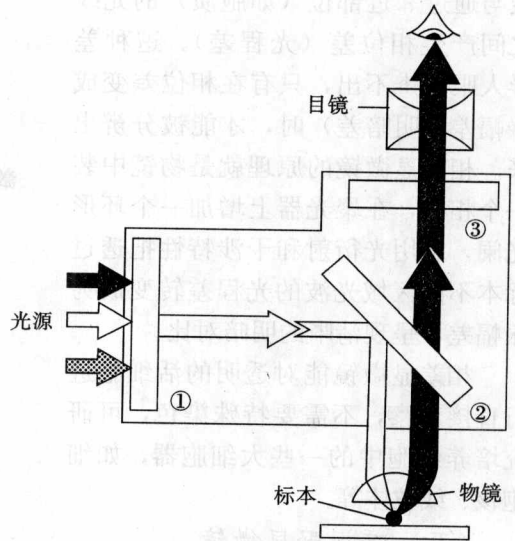


图2-1 荧光显微镜的光学系统
(引自 B. Alberts 等)

细胞内某些天然物质如叶绿素、维生素A经紫外光照射后，能发出红色荧光，称自发荧光。有些细胞成分经紫外光照射后不发荧光，需用荧光染料进行标记，如甲基绿、酸性品红、吖啶橙等可以对细胞内的DNA和RNA同时标记，显示不同颜色的荧光，其中DNA呈绿色荧光，RNA呈红色荧光，这些激发的荧光称次生荧光。

由于荧光显微镜技术具有染色简便、标本呈彩色图像、鉴别快速和敏感度高许多优点，在免疫荧光观察、基因定位和疾病诊断等细胞生物学相关领域的研究中，日益显示出它的优越性而广泛应用。

（三）激光共聚焦扫描显微镜

激光共聚焦扫描显微镜（laser confocal scanning microscope）用激光作扫描光源，逐点、逐行、逐面快速扫描成像，扫描的激光与荧光收集共用一个物镜，物镜的焦点即扫描激光的聚焦点（图2-2）。由于激光束的波长较短，光束很细，所以激光共聚焦扫描显微镜有较高的分辨率，大约是普通光学显微镜的3倍。系统经一次调焦，扫描限制在样品的一个平面内。调焦深度不一样时，就可以获得样品不同深度层次的图像，这些图像信息都储于计算机内，通过计算机分析和模拟，就能显示细胞样品的立体结构。激光共聚焦扫描显微镜可以用于观察研究细胞的结构和组分以及细胞内生化合成的定量分析和动态变化。

（四）相差显微镜

在光学显微镜下，依靠颜色（光波的波长）和亮度（光波的振幅）的差别观察被检标本

的结构。光波通过无色透明活细胞时，振幅变化不大，普通光学显微镜下很难观察到其细微结构。

相差显微镜(phase contrast microscope)可以观察活细胞的细微结构和变化。由于细胞内各种结构的密度不同，通过致密部分(如核)的光线与通过邻近部位(如胞质)的光线之间产生相位差(光程差)。这种差异人眼分辨不出，只有在相位差变成振幅差(明暗差)时，才能被分辨出来。相差显微镜的原理就是物镜中装一个相板，在聚光器上增加一个环形光阑，利用光衍射和干涉特性把透过标本不同区域光波的光程差转变成成为振幅差，呈现清晰的明暗对比。

相差显微镜能对透明的活细胞进行直接观察，不需要特殊染色，可研究培养细胞中的一些大细胞器，如细胞核、线粒体等。

(五) 暗视野显微镜

暗视野显微镜(dark field microscope)根据丁达尔(Tyndall)光学效应原理，在显微镜的聚光镜中央装有挡光片，使照明光线不能直接进入物镜，只允许标本反射和衍射的光线进入物镜，因而视野背景是黑的，物体的边缘是亮的。通过这种方式，使反差增大，分辨率提高，可以观察到4~200nm的微粒子，分辨率可比普通光学显微镜高50倍。应用暗视野显微镜观察时，在黑暗的视野中可见明亮的被检物体的明细外貌及其运动，但是看不见被检物体内部的细微结构。

二、电子显微镜

光学显微镜在探索微观世界中起着巨大的作用，但它的分辨率受照明光源波长的限制。在1931年德国学者Knoll和Ruska等人发明了电子显微镜(electron microscope)以后，经过不断的改进，其分辨率已提高到0.2nm，比光学显微镜提高了1000倍。表2-1显示电子显微镜与光学显微镜的基本区别。在电子显微镜下可看到线粒体、高尔基复合体、核糖体和中心体等细胞器的细微结构，这些在光学显微镜中观察不到而只能在电子显微镜下观察的结构称为亚显微结构(submicroscopic structure)或超微结构(ultrastructure)。电子显微镜可分为两大类：透射电子显微镜(transmission electron microscope, TEM)和扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)。

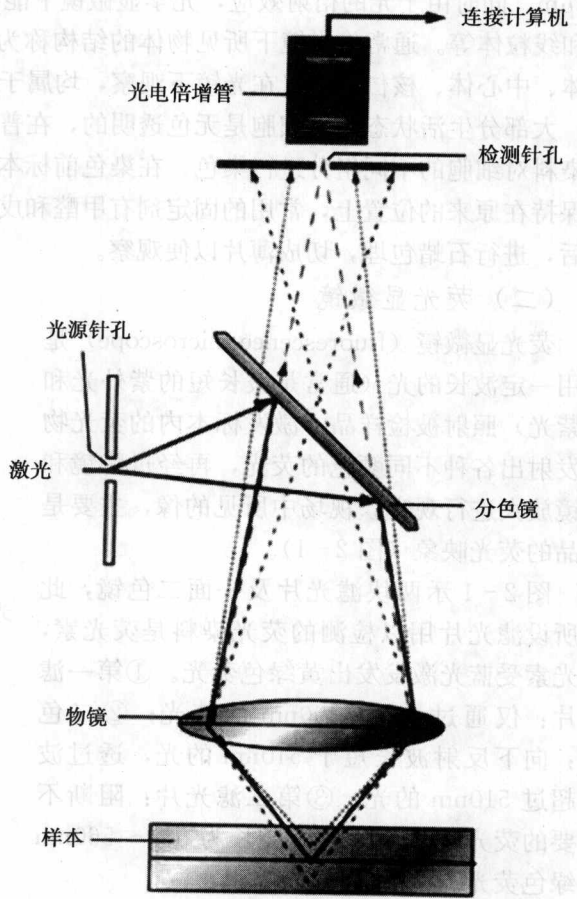


图 2-2 激光共聚焦扫描显微镜的原理图

表 2-1 电子显微镜与光学显微镜的基本区别

类型	分辨率	光源	透镜	真空
光镜	200nm	可见光 波长 300~700nm	玻璃透镜	不要求
	100nm	紫外光 波长 200nm	玻璃透镜	
电镜	0.1nm	电子束 波长 0.01~0.9nm	电子透镜	要求

(一) 透射电子显微镜

透射电子显微镜与光学显微镜具有相似的结构系统(图 2-3)。所不同的是使用波长比可见光波长短得多的电子束作为光源,用磁场作透镜,大大提高了显微镜的分辨率。由于电子在运行中遇到气体分子会发生散射,因此电镜筒要求高真空。最后形成的像是人眼看不到的,所以使用荧光屏显示或感光胶片作记录。

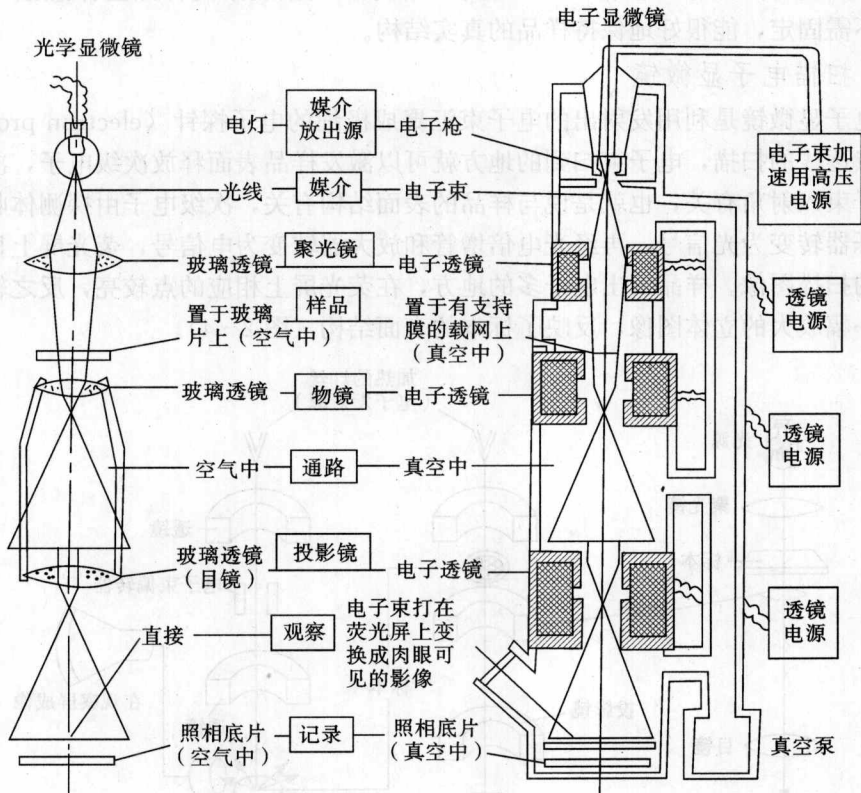


图 2-3 光学显微镜与透射电子显微镜比较图解

因为电子束的穿透力很弱,用于电镜观察的标本,要比光学显微镜观察的标本薄得多,必须把样品制成 50~100nm 的薄片,才能清楚地观察到内部结构。为了保持样品的精细结构,要经过固定、包埋、切片、染色等步骤。固定和一般切片标本制作相同,包埋试剂常用环氧树脂,然后使用切片机将标本切成超薄切片。为了增加样品的反差,通常应用重金属盐进行染色,生物样品的不同成分与重金属的亲性和不同,从而显示出不同程度的反差,细胞

结构更加清晰可辨。

对于一些允许电子穿透的生物样品，如核糖体、病毒、蛋白质纤维结构以及一些分离的生物大分子，可不经切片进行观察。为了提高样品的反差，可以采用负染法。负染法就是用重金属盐，如磷钨酸或醋酸双氧铀滴在样品上染色，并随即吸去多余的染液，样品干燥后，残余的染料沉积在样品的凹陷处和周围，而样品反而呈浅色，从而呈现负染效果。

冰冻蚀刻法 (freeze-etching) 适宜显示大面积膜的内表面，在研究核孔复合体和细胞连接时有很大的优越性。首先，将生物样品在液氮温度 (-196°C) 迅速冷冻，细胞的超微结构可以得到良好的保存。由于细胞中含有很高比例的水分，细胞中的游离水会冻结，生物膜的脂质双分子层亲水头部与游离水之间的亲和力进一步增强，相比之下，疏水区分子间的结合力就弱一些。然后，用刀将样品断开，断面通常总是沿着脂质双分子层之间形成，从而暴露出内外两层膜结构的内表面，而嵌入膜上的蛋白会分别归随嵌入更深更紧的一侧。稍升温后，样品中的冰升华，这样，细胞内外凡空隙处或含游离水较多的地方将下陷，进一步增强了浮雕效果。对这一断面再用碳喷镀，形成连续碳膜，再用铂、金等进行倾斜喷镀以形成反差，最后用消化液把样品消化，即可观察。冰冻蚀刻法观察的样品立体感强，不需要包埋，甚至不需固定，能很好地保持样品的真实结构。

(二) 扫描电子显微镜

扫描电子显微镜是利用发射出的电子束汇聚成极细的电子探针 (electron probe)，在样品表面逐点逐线的扫描，电子束扫到的地方就可以激发样品表面释放次级电子，次级电子的多少与电子束入射角有关，也就是说与样品的表面结构有关，次级电子由探测体收集，并在那里被闪烁器转变为光信号，再经光电倍增管和放大器转变为电信号，荧光屏上显示出与电子束同步的扫描图像。样品发出电子多的地方，在荧光屏上相应的点较亮，反之较暗，这样就可得到一幅放大的立体图像，反映了标本的表面结构 (图 2-4)。

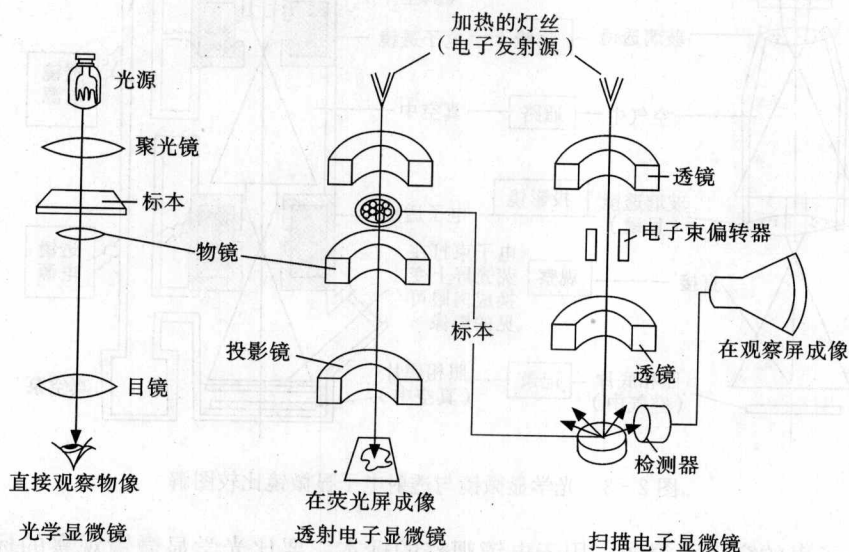


图 2-4 光学显微镜、透射电子显微镜和扫描电子显微镜的主要特征 (引自 B. Alberts 等)

扫描电子显微镜的分辨率不及透射电子显微镜，但形成的图像立体感强，可从不同角度观察，而且不需作超薄切片。主要适用于观察和研究细胞表面或断面的立体形貌和结构。

第二节 细胞工程技术

细胞工程 (cell engineering) 指应用现代细胞生物学、发育生物学、遗传学和分子生物学的理论与方法, 按照人们的需要和设计, 改变生物的结构和功能, 产生新的物种和品系, 或大规模培养组织细胞以获得生物产品的生物工程技术。细胞工程技术主要包括细胞培养 (cell culture)、细胞融合 (cell fusion) 和显微操作 (micromanipulation) 等技术, 在植物育种、医药卫生、动物的繁殖和濒危物种的保护等方面应用广泛。

一、细胞培养

细胞培养是指对从活体中取出的细胞或其他建系细胞, 在体外给予一定的条件进行培养, 使其能继续生存、生长和繁殖的一种方法。细胞培养是细胞生物学研究中的一项十分重要的技术, 很多新进展如细胞全能性的揭示、细胞周期调控、癌变机制、细胞衰老、细胞融合和细胞工程技术等均与细胞培养分不开, 并为疫苗的生产 and 药物的研制提供了新的手段。

直接取材于有机体组织的细胞培养称为原代培养 (primary culture)。将细胞从一个培养瓶取出, 以 1:2 或 1:2 以上的比例转移到另一盛有新鲜培养液的器皿中进行培养的过程称传代培养 (secondary culture)。一般分散的细胞悬液在培养瓶中很快就贴壁铺展并进行分裂繁殖, 形成紧密的单层细胞, 当这些细胞表面互相接触时, 就停止分裂增殖, 不再进入 S 期, 这种现象称细胞的接触抑制 (contact inhibition)。此时必须将细胞重新分瓶继续培养, 才能继续分裂增殖。

大多数脊椎动物的细胞, 在培养条件下经过有限次数的分裂后就死亡, 例如人皮肤细胞在死亡前可传代 50~100 次, 这种有限的生命期反映了这些细胞来源动物的有限生命期。只有癌细胞和在某种因子的作用下由正常细胞转化的癌性细胞才能无限传代下去。能够无限传代的细胞, 称细胞系 (cell line)。如 HeLa (人宫颈癌细胞) 细胞系、CHO (中国仓鼠卵巢细胞) 细胞系等是细胞生物学工作者常用的细胞系。

细胞培养的方法很多, 根据是否贴壁于支持物上生长, 可分为贴附型和悬浮型两类。贴附型可在盛有培养液的玻璃或塑料皿中贴壁平展生长, 形成单层细胞, 常见的有上皮型细胞, 成纤维细胞, HeLa 细胞等。悬浮细胞培养时不贴附于支持物上, 呈悬浮生长, 胞体呈圆球或不规则球状体, 如淋巴细胞。

二、细胞融合

细胞融合是指在自发或人工诱导下, 两个或两个以上的细胞合并形成一个细胞的现象。受精就是自然情况下的细胞融合, 在体外也可用人工诱导的方法进行细胞融合, 常用的诱导剂有仙台病毒、聚乙二醇 (PEG) 等。

细胞融合可在基因型相同的细胞间进行, 也可在基因型不同的细胞间进行。基因型相同的细胞形成的融合细胞称同核体 (homokaryon)。基因型不同的细胞形成的融合细胞称异核体 (heterokaryon)。异核体进行有丝分裂, 使两个不同来源的细胞核的染色体合并到一个核中, 这种细胞称杂种细胞 (hybrid cell)。

杂种细胞的染色体一般不稳定, 可随机丢失, 在人和小鼠的杂种细胞培养中, 先丢失的常为人的染色体, 这样就可制备出许多系列的细胞系, 每一细胞系中除含有小鼠的染色体

外，还含有一条或几条人的染色体，为人类染色体上的基因定位创造了条件。如含 11 号人染色体的杂种细胞才能合成人胰岛素，这就说明编码胰岛素的基因位于 11 号染色体上。

细胞融合已成为细胞生物学、遗传学和医学研究的重要手段，也在细胞免疫、肿瘤、生物品种培育等研究中发挥着重要作用。

单克隆抗体技术是细胞融合技术的成功应用。动物在受到外界抗原刺激后可发生免疫反应，产生相应的抗体，动物体含有上亿种 B 细胞，一种 B 细胞只能接受一种抗原或抗原分子不同部位的刺激产生相应的专一抗体，单个 B 细胞繁殖的细胞克隆可以得到单一的抗体即单克隆抗体 (monoclonal antibody)。正常 B 淋巴细胞具有分泌特异抗体的能力，但不能在体外长期培养，瘤细胞 (如骨髓瘤) 可以在体外长期培养，但不分泌特异抗体。人工诱导 B 淋巴细胞和小鼠骨髓瘤细胞融合后，融合细胞具有两种亲本细胞的特性，既具有肿瘤细胞无限繁殖的特性，又具有 B 细胞分泌特异抗体的能力，这种融合的细胞称杂交瘤细胞 (hybridoma cell)，可以在体内或体外培养繁殖杂交瘤细胞，获得大量专一的单克隆抗体 (图 2-5)。英国人 Kohler 和 Milstein 1975 创立了单克隆抗体技术，并因而获得 1984 年的诺贝尔医学奖。

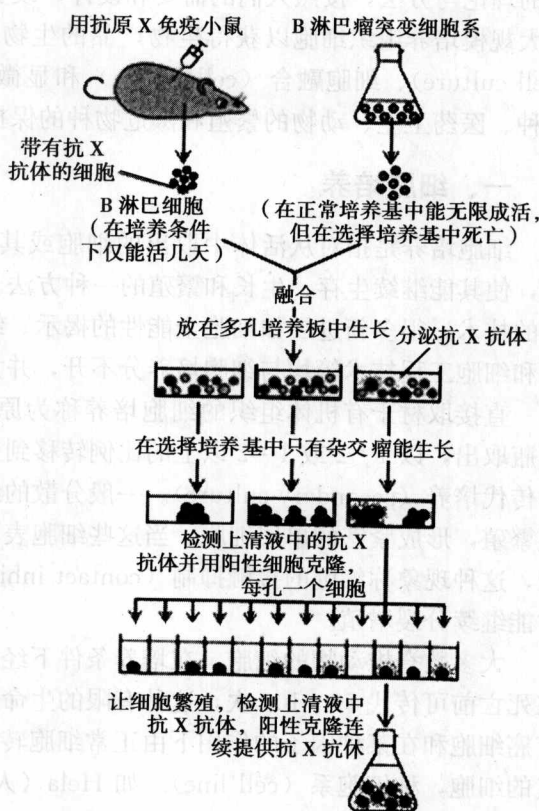


图 2-5 单克隆抗体的制备过程

单克隆抗体最主要的优点是，可以用不纯的抗原分子制备纯化的单克隆抗体，甚至在所需抗原仅占抗原混合物中极少比例的情况下，也能获得该抗原的单克隆抗体。其原因是可以从产生不同抗体的各种杂交瘤混合群体中筛选出产生特异抗体的杂交瘤，原则上可制成抗细胞中任何蛋白质的单克隆抗体。单克隆抗体技术和基因克隆技术相结合为分离和鉴定新的蛋白质和基因开辟了一条新的广阔的前途。

三、显微操作

显微操作技术是指在高倍复式显微镜下，利用显微操作器 (micromanipulator) 对细胞或早期胚胎进行解剖和显微注射 (microinjection) 操作的一种方法。显微操作器是用以控制显微注射针在显微镜视野内移动的机械装置。

显微操作技术包括细胞核移植、显微注射、嵌合体技术、胚胎移植以及显微切割等。著名的“多莉”羊 (Dolly) 就是综合运用显微操作技术产生的 [图 2-6 (a)]。显微注射法是利用管尖极细 (0.1~0.5μm) 的玻璃微量注射针，将外源基因 DNA 片段直接注射入细胞中，细胞中包含注入的遗传物质，并可遗传物质传递至接续的每一世代中 [图 2-6 (b)]。

显微注射技术, 需有相当精密的显微操作设备, 制造长管尖时, 需用微量吸管拉长器, 注射时需有固定管尖位置的微量操纵器, 原则上任何 DNA 均可传入任何种类的细胞内。此法已成功地产生产包括小鼠、鱼、大鼠、兔子及许多大型家畜, 如牛、羊、猪等转基因动物。

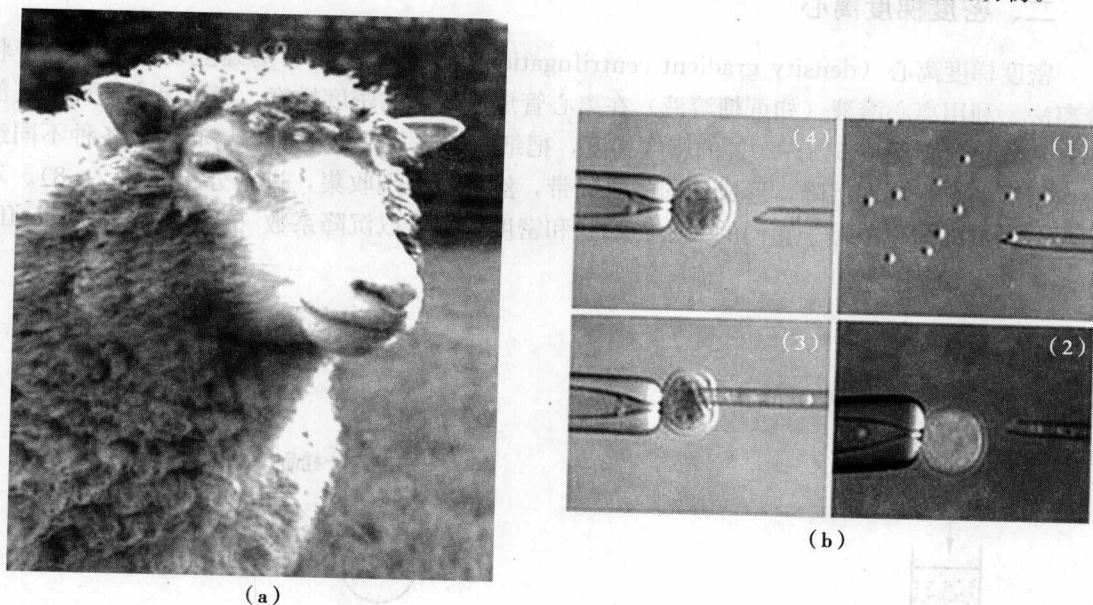


图 2-6 “多莉”羊和显微注射

第三节 细胞组分的分离技术

为了深入理解细胞和细胞器的功能活动, 必须分离细胞的各种结构和成分, 研究它们的化学组成和特点, 为此生物学家建立了分级分离 (fractionation) 技术。

由于细胞内各种结构成分的大小、形状和密度不同, 在同一离心场内的沉降速度也不同。据此, 常用不同的介质和不同转速的离心机, 将细胞内各种组分分级分离出来。根据生物颗粒的大小采用不同的离心机。生物颗粒直径大于 10^3 nm 的可用普通离心机 (转速为 8000r/min 以下), 颗粒直径介于 $10^2 \sim 10^3$ nm 的可用高速离心机 (转速为 8000~25000r/min), 而生物颗粒或大分子直径在 10^2 nm 以下则必须采用超速离心机 (转速为 25000~85000r/min)。

细胞分级分离方法主要有三个步骤: 组织细胞匀浆、分级分离和分析。

组织细胞匀浆是用各种方法使细胞崩解, 如低渗、超声粉碎, 强制过滤或研磨等, 这些方法可使细胞的许多膜性结构 (如细胞膜、内质网膜、高尔基复合体膜等) 破坏成片断, 这些片段立即封闭成小的封闭泡。这样, 就可获得完整的核、线粒体、溶酶体等细胞器, 细胞悬浮液就变成了匀浆液, 各种颗粒仍保持其在完整细胞中的生化性质。

离心的方法有很多种, 常用的是差速离心和密度梯度离心。

一、差速离心

差速离心 (differential centrifugation) 是利用不同的离心速度所产生的不同的离心力, 将各种亚细胞组分和各种颗粒分离开。在密度均匀的介质中, 不同大小的颗粒沉降速度不同, 当离心力低, 时间短, 大的颗粒如细胞核先沉降到管底, 当离心力加大时, 则可分离出

线粒体，进一步加大离心力时，就可分离出核糖体和微粒体等（图 2-7）。在使用差速离心时，必须注意保持低温和适当的 pH 值，以保持细胞器的活性。

二、密度梯度离心

密度梯度离心（density gradient centrifugation）是在差速离心基础上改进的一种带状分离法。利用离心溶液（如蔗糖溶液）在离心管形成一定的密度梯度，通常是由顶部到底部逐渐增加密度，形成 5%~20% 的密度梯度，把细胞匀浆放在最上面，离心后，各种不同组分以不同的沉降速率沉降，形成不同的沉降带，然后再分别收集，进行分析（图 2-8）。不同组分的沉降速率依赖于它们的大小、形状和密度，通常以沉降系数（sedimentation coefficient）即 S 值表示。

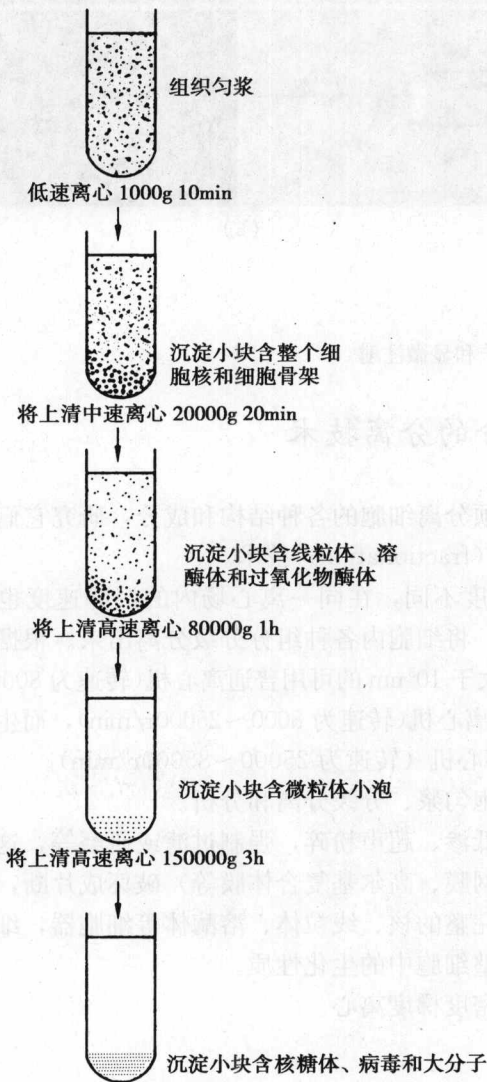


图 2-7 差速离心分离各种细胞组分

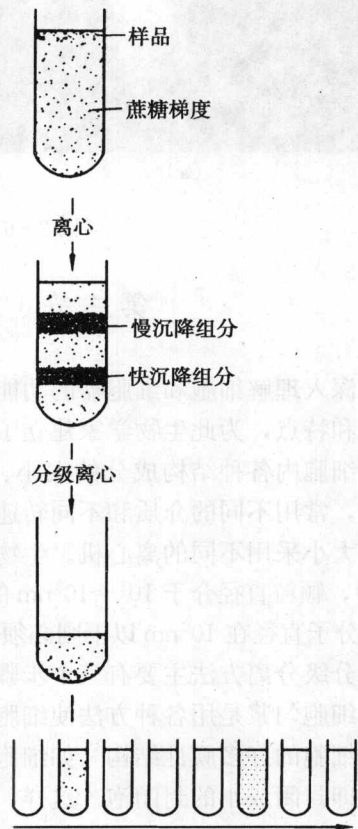


图 2-8 密度梯度离心

第四节 细胞组分的分析技术

一、组织化学和细胞化学法

组织化学和细胞化学法的基本原理：利用一些显色剂与所检测物质中一些特殊基团特异性结合的特征，通过显色剂在细胞中的定位及颜色的深浅来判断某种物质在细胞中的分布和含量，从而得以对某种成分进行研究和分析。

(一) 金属沉淀法

利用金属化合物在反应过程中生成有色沉淀，借以辨认所检查的物质或酶活性。如磷酸酶分解磷酸酯底物后，产生无色的磷酸铅，再与硫化胺反应最终生成有色沉淀，显示酶的活性。

(二) 福尔根 (Feulgen) 反应

1924年由Feulgen和Rossenback两位学者发明，对DNA的反应具有高度的专一性。原理：RNA被盐酸水解，DNA中的嘌呤被解离，从而使五碳糖的一端出现醛基，而醛基能与希夫(Schiff)试剂中的无色品红反应，形成紫红色的带醌基的化合物。

(三) 联苯胺反应

过氧化酶分解 H_2O_2 ，产生新生氧自由基，后者再将无色的联苯胺氧化成联苯胺蓝，进而变成棕色化合物。

(四) 脂溶染色法

借苏丹染料溶于脂类而使脂类显色，实际上是苏丹染料被脂肪溶解吸附而呈现染料的颜色，常用于病理检验中的脂肪变性和肿瘤鉴别实验。

(五) 茚三酮反应

凡含有自由氨基的化合物，如蛋白质、多肽、氨基酸的溶液与水合茚三酮共热时，能产生紫色化合物，并可用比色法进行测定。

二、免疫化学法

免疫组织化学法(immunohistochemistry)是利用免疫反应定位组织或细胞中抗原成分分布的一类技术。抗体是脊椎动物为防御感染而产生的一种特殊蛋白质，它们有几百万种不同的类型，每种类型的抗体都具有一个结合部位，能特异性的辨认出诱导其产生的分子——抗原。抗体对抗原的这种严格识别特性，使抗体成为细胞生物学有用的研究工具。用荧光染料标记抗体，在荧光显微镜下，观察荧光部位和强度，就能对特殊分子进行定位和定量。这种方法称免疫荧光显微镜技术(immunofluorescence microscopy)。用胶体金标记抗体，可在高分辨电镜下对特殊分子进行定位，称免疫电镜技术(immunoelectron microscopy)。为了增加检测的灵敏性，使用荧光染料标记第二抗体(抗第一抗体的抗体)来检测第一抗体，因为一个第一抗体可结合多个第二抗体，从而增加了检测的灵敏性(图2-9)。

蛋白质印迹法(western blot)是检测蛋白质混合溶液中某种特定目的蛋白质的定性方法，也可以作为确定同一蛋白质在不同细胞或者同一种细胞不同条件下的相对含量的半定量方法。基本原理是将蛋白质转移并固定在化学合成膜的支撑物上，然后以特定的亲和反应、



图 2-9 用抗体灵敏地检测待定分子

免疫反应或结合反应及显色系统分析此印迹，对已知表达蛋白，可用相应抗体进行检测，对新基因的表达产物，可通过融合部分的抗体检测。由于反应过程中，蛋白质印迹通常应用抗体，因此也称为免疫印迹。

蛋白质印迹的实验包括 5 个主要步骤：①固定：蛋白质进行聚丙烯酰胺凝胶电泳并从胶上转移到硝酸纤维素膜上；②封闭：保持膜上没有特殊抗体结合的场所，使场所处于饱和状态，用以保护特异性抗体结合到膜上，并与蛋白质反应；③初级抗体（第一抗体）特异性与目的蛋白结合；④第二抗体与初级抗体特异性结合；⑤底物化学发光或底物呈色反应，显示酶标记蛋白质区带。

三、分子细胞生物学技术

(一) DNA 序列分析

精确分析基因的结构，进一步研究和改造目的基因，都必须进行 DNA 序列分析。目前 DNA 序列分析技术主要有双脱氧链末端终止法和化学降解法。这两种方法在原理上差异很大，但都是根据核苷酸在某一固定的点开始，随机在某一个特定的碱基处终止，产生 A、T、C、G 四组不同长度的一系列核苷酸，然后在尿素变性的聚丙烯酰胺凝胶上电泳进行检测，从而获得 DNA 序列。目前双脱氧链末端终止法得到了广泛的应用。其原理就是利用一种 DNA 聚合酶来延伸结合在待定序列模板上的引物，直到掺入一种链终止核苷酸为止。每一次序列测定由一套四个单独的反应构成，每个反应含有所有 4 种脱氧核苷三磷酸 (dNTP)，并混入限量的一种不同的双脱氧核苷三磷酸 (ddNTP)。由于 ddNTP 缺乏延伸所需要的 3-OH 基团，使延长的寡聚核苷酸选择性地 G、A、T 或 C 处终止。每一种 dNTP 和 ddNTP 的相对浓度可以调整，使反应得到一组长几百至几千碱基的链终止产物。它们具有共同的起始点，但终止在不同的的核苷酸上，可通过凝胶电泳分离大小不同的片段，凝胶处理后可用 X 线胶片放射自显影或非核素标记进行检测 (图 2-10)。

随着 DNA 序列分析技术的发展，美国在 20 世纪 80 年代计划将人类全部基因组 23 条染色体全部分析清楚，旨在阐明人类基因组 30 亿个碱基对的序列，发现所有人类基因并搞清其在染色体上的位置，破译人类全部遗传信息，使人类第一次在分子水平上全面地认识自我。这是一个划时代的计划，该计划在 1990 年正式启动，称人类基因组计划。1999 年，中国获准加入人类基因组计划，负责测定人类基因组全部序列的 1%，也就是 3 号染色体上的 3000 万个碱基对，使中国成为继美、英、日、德、法之后第六个国际人类基因组计划参与国，也是参与这一计划的唯一发展中国家。2001 年 2 月 12 日，6 国科学家联合在学术期刊上发表《人类基因组“工作框架图”及初步分析结果》，结果表明，人类基因组共有 32 亿个碱基对，包含 3 万~4 万个基因。2003 年 4 月 14 日，6 国科学家宣布人类基因组序列图绘

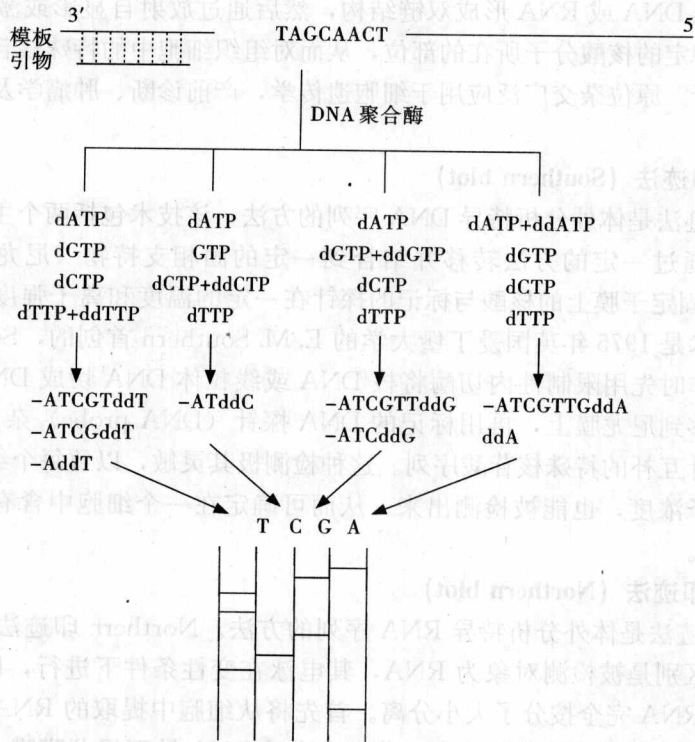


图 2-10 双脱氧链末端终止法测序原理示意图

制成功，人类基因组计划的所有目标全部实现。2004年10月，人类基因组完成图公布。这在人类科学史上是个非常大的贡献，标志着生命科学又向纵深发展了一步，将对医学产生不可估量的、深远的影响，将利于阐明疾病发生的分子机制，进一步设计出疾病的诊断和治疗方法。

(二) 核酸分子杂交技术

核酸分子杂交 (nucleic acid hybridization) 是指序列互补单链的 RNA 和 DNA，或 DNA 和 DNA，或 RNA 和 RNA，借氢键相连而形成杂交分子的过程。其基本原理是：具有一定同源性的两条核酸单链在一定的条件下，可按碱基互补的原则形成双链，此杂交过程是高度特异的。任何两条单股核酸链，只要它们具有互补的核苷酸顺序，就会发生分子杂交，因此分子杂交可发生在 DNA 与 DNA 之间，也可发生在 DNA 与 RNA 或 RNA 与 RNA 之间。

核酸分子杂交技术现已用于检测不同种属或不同细胞的核酸间碱基顺序的同源性，比较系统发育和个体发育不同阶段碱基顺序的变化情况，探讨病理过程中碱基顺序的改变与药物治疗的影响，检测宿主细胞内的病毒基因及其定位，研究病毒与肿瘤发生的关系，还可作为分离基因或基因片段的一种手段，广泛应用于细胞生物学的研究领域。

1. 原位杂交 (in situ hybridization)

原位杂交是用来检测染色体上的特殊 DNA 序列。基本原理是根据碱基互补配对原则，在一定条件下使两条同源核酸单链分子形成双链。常用放射性核素或非放射性物质（如生物素、辣根过氧化物酶、荧光素等）标记核酸探针，与细胞涂片、染色体压片或组织切片上具

有互补序列的单链 DNA 或 RNA 形成双链结构, 然后通过放射自显影或激发荧光、酶底物显色等方法检测特定的核酸分子所在的部位, 从而对组织细胞中的特殊核苷酸进行定性、定位和相对定量分析。原位杂交广泛应用于细胞遗传学, 产前诊断、肿瘤学及基因定位等研究领域。

2. Southern 印迹法 (Southern blot)

Southern 印迹法是体外分析特异 DNA 序列的方法, 该技术包括两个主要过程: 一是将待测定核酸分子通过一定的方法转移并结合到一定的固相支持物 (尼龙膜) 上, 即印迹 (blotting); 二是固定于膜上的核酸与标记的探针在一定的温度和离子强度下退火, 即分子杂交过程。该技术是 1975 年英国爱丁堡大学的 E. M. Southern 首创的, Southern 印迹杂交因此而得名。操作时先用限制性内切酶将核 DNA 或线粒体 DNA 切成 DNA 片段, 经凝胶电泳分离后, 转移到尼龙膜上, 再用标记的 DNA 探针 (DNA probe) 杂交, 通过自显影, 即可辨认出与探针互补的特殊核苷酸序列。这种检测极其灵敏, 以致每个细胞中即使仅有一个互补序列的分子浓度, 也能被检测出来。从而可确定在一个细胞中含有多少个克隆探针 DNA 顺序的拷贝。

3. Northern 印迹法 (Northern blot)

Northern 印迹法是体外分析特异 RNA 序列的方法。Northern 印迹法与 Southern 印迹法很相似, 主要区别是被检测对象为 RNA, 其电泳在变性条件下进行, 以去除 RNA 中的二级结构, 保证 RNA 完全按分子大小分离。首先将从细胞中提取的 RNA 混合物按它们的大小和分子质量通过凝胶电泳进行分离, 分离出来的 RNA 转至尼龙膜膜上, 再与标记的探针杂交, 通过杂交结果可以对 RNA 表达量进行定性或定量分析。因此, Northern 印迹法可以测定目的基因是否在细胞中转录成 RNA, 转录了多少拷贝, 还能够确定 RNA 转录的起点和终止点以及 RNA 转录本在加工过程中被切除区段等。

(三) 聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction)

聚合酶链式反应简称 PCR 技术, 是 20 世纪 80 年代中期发展起来的一种体外扩增特异 DNA 片段的技术。PCR 技术的基本原理类似于 DNA 的天然复制过程, 实际上是在模板 DNA、引物 (primer) 和 4 种脱氧核苷酸存在的条件下依赖于 DNA 聚合酶的酶促合反应, PCR 技术的特异性取决于引物和模板 DNA 碱基配对结合的特异性。

PCR 由变性、退火和延伸 3 个基本反应步骤构成。

1. 模板 DNA 的变性 (denaturation)

模板 DNA 经加热至 95℃ 左右一定时间后, 使模板 DNA 双链或经 PCR 扩增形成的双链 DNA 解离, 使之成为单链, 以便它与引物结合, 为下轮反应做准备。

2. 模板 DNA 与引物的退火 (annealing)

模板 DNA 经加热变性成单链后, 温度降至 55℃ 左右, 引物与模板 DNA 单链的互补序列配对结合。

3. 引物的延伸 (extension)

DNA 模板——引物结合物在 Taq DNA 聚合酶的作用下, 在 72℃ 左右, 以 dNTP 为反应原料, 靶序列为模板, 按碱基配对与半保留复制原理, 合成一条新的与模板 DNA 链互补的半保留复制链。

重复循环三个步骤, 就可获得更多的“半保留复制链”, 而且这种新链又可成为下次循环的模板。每完成一个循环需 2~4min, 2~3h 就能将待扩目的基因扩增放大几百万倍 (图 2-11)。

PCR 技术操作简便,可在短时间内获得数百万个特异的 DNA 序列的拷贝,已经渗透到细胞生物学的各个领域,引起了生物技术发展的一次革命。1993 年,该技术的发明者美国科学家 Kary B Mulis 众望所归地获得了诺贝尔化学奖。目前它在分子克隆、目的基因检测、遗传病的基因诊断、法医学、考古学等方面得到了广泛的应用。

(四) 放射自显影术

放射自显影术 (autoradiography) 是一种重要的细胞生物学技术,它是利用放射性核素产生的射线,作用于感光材料乳胶上,使乳胶中的卤化银还原成黑色的银粒,根据感光乳胶上银粒所在的部位和黑色,来判断标本中放射性物质的位置和数量。这种利用卤化银乳胶记录、检查和测量放射性的方法,称为放射自显影术。

放射自显影术具有直观逼真、定位准确,灵敏度高、操作简便等优点,它能准确的反映细胞的生理功能、生化代谢与增殖状况,从而提示细胞分子水平的动态变化。因此,在细胞生物学和医学研究中得到广泛的应用。

提 要

细胞生物学的发展是与研究技术的进步密切相关的,细胞生物学的每一个重大进展都与新的技术相关。本章首先介绍了细胞形态的观察方法,普通光学显微镜观察细胞的结构,荧光显微镜可对某些特殊的大分子进行定性、定位和定量的观察。相差显微镜和暗视野显微镜能够观察活细胞,不需染色,而且可以研究细胞的动态过程。透射电镜观察生物标本需特殊制备成超薄切片,可观察细胞的超微结构;扫描电镜是观察细胞表面形貌的有力工具。细胞培养技术是各种细胞生物学技术的基础。它能在离体条件下观察和研究细胞的各种生命活动规律。细胞融合为基因定位提供了方便。显微操作技术为转基因动物和克隆动物的产生开辟了广阔的途径。差速离心法和密度梯度离心法是细胞结构成分的两重分离方法,可深入研究细胞和细胞器的化学组成、酶活性和代谢特点。免疫化学和分子细胞生物学技术,包括蛋白质印迹法、Southern 印迹法、Northern 印迹法和 PCR 技术等广泛应用于与细胞相关的各个研究领域。放射自显影术直观逼真,定位准确,从而提示细胞分子水平的动态变化。细胞生物学还有很多的研究技术,而且相互渗透,使研究工作更加深入。

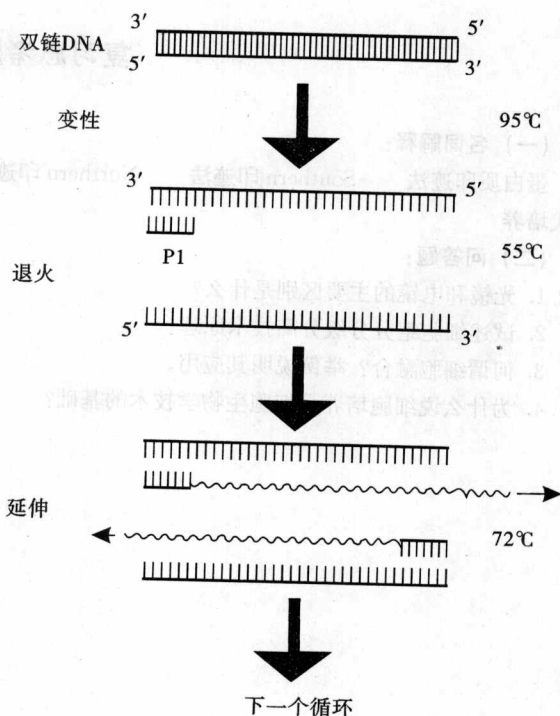


图 2-11 PCR 反应过程示意图

复习思考题 2

(一) 名词解释:

蛋白质印迹法 Southern 印迹法 Northern 印迹法 PCR 技术 细胞系 原代培养
 传代培养

(二) 问答题:

1. 光镜和电镜的主要区别是什么?
2. 试述细胞组分级分离技术原理。
3. 何谓细胞融合? 举例说明其应用。
4. 为什么说细胞培养是细胞生物学技术的基础?

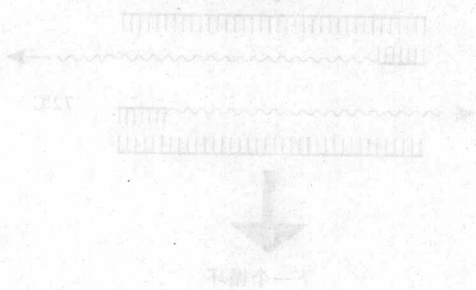


图 2-11 PCR 反应示意图

图 2-11 PCR 反应示意图

要 要

细胞生物学是研究细胞的结构、功能、生命活动规律及其发生、发育、衰老、凋亡等过程的科学。细胞是生物体结构和功能的基本单位，也是生命活动的基本单位。细胞生物学的发展为医学、农学、工业生物技术等领域提供了重要的理论支持和实践指导。

细胞生物学的主要研究内容包括：细胞的结构与功能、细胞的生命周期、细胞的分化与发育、细胞的信号转导、细胞的凋亡与衰老、细胞的癌变与肿瘤发生等。随着科学技术的不断进步，细胞生物学在分子生物学、遗传学、发育生物学、免疫学、神经生物学等领域的应用越来越广泛。

细胞培养是细胞生物学研究的重要手段之一。通过细胞培养，可以在体外模拟细胞在体内的生长、增殖和分化过程，为研究细胞生理、病理、药理等提供理想的实验模型。细胞培养技术的发展极大地推动了细胞生物学研究的深入进行。

细胞培养技术广泛应用于基础生物学研究、医学研究、工业生物技术等领域。在医学研究中，细胞培养用于研究细胞增殖、分化、凋亡等过程，以及药物筛选、毒理学评价等。在工业生物技术中，细胞培养用于生产疫苗、抗体、重组蛋白等生物制品。

随着细胞培养技术的不断发展，越来越多的细胞系被建立起来，为细胞生物学研究提供了丰富的实验材料。同时，细胞培养技术也在不断进步，如三维细胞培养、干细胞培养、基因编辑技术等，为细胞生物学研究开辟了新的领域。

第三章

细胞概述

细胞是生物结构和功能的基本单位。在自然界中，除病毒（virus）、类病毒、朊病毒等少数种类属于非细胞生物以外，绝大多数生物属于细胞生物。细胞生物分为单细胞生物和多细胞生物。单细胞生物的机体仅由一个细胞组成，而组成多细胞生物的细胞数目可多达万亿个，通过细胞—组织—器官—系统的结构层次排列，进而形成完整的有机个体。现存的非细胞生物，由于没有细胞结构，不能独立进行新陈代谢，因而必须依赖宿主细胞生存和繁殖，这就意味着其存在终究还是离不开细胞。

第一节 细胞的分子基础

细胞虽然在形态、结构和功能上千差万别，但其化学组成却基本相似。组成生活细胞的主要元素有 C、H、O、N、P、S 6 种，占细胞干重的 90% 以上，另外还存在有其他的微量元素，如 Cu、Zn、Mn、Mo、Co 等。这些元素再构成水、无机盐、糖、脂肪酸、氨基酸、核苷酸等生物小分子物质，以及分子质量较大的蛋白质和核酸等生物大分子物质。

一、生物小分子

（一）无机化合物

1. 水

水是活细胞中含量最多的一种成分，约占细胞重量的 70%。细胞中的水以游离水和结合水两种形式存在，其中游离水是维持细胞生命活动所必需的良好溶剂，同时也是反应的参与者；结合水借助氢键与蛋白质结合，构成原生质结构的一部分。

2. 无机盐

细胞中的无机盐都以离子状态存在，含量较多的无机阳离子有 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Mg^{2+} 等，阴离子有 Cl^- 、 SO_4^{2-} 、 PO_4^{3-} 、 HCO_3^- 等，离子游离于水中，维持细胞内外液的渗透压和 pH 值，以保障细胞的正常生理活动，有的直接与蛋白质或脂类结合在一起，组成具有一定功能的结合蛋白质（如血红蛋白）或类脂（如磷脂）。

（二）有机化合物

细胞中有机分子通常游离在细胞质中，绝大多数属于碳水化合物。最主要有机小分子有 4 类：单糖、脂肪酸、氨基酸和核苷酸。

1. 单糖

糖类主要由碳、氢、氧 3 种元素组成，单糖最简单，其通式为 $(\text{CH}_2\text{O})_n$ ，其中 n 为正整数。例如，葡萄糖的分子式为 $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ 。所有的糖含有羟基和醛基或酮基，一个单糖的羟基可与另一个单糖的醛基或酮基结合，脱水形成双糖，以同样的方式，单糖之间可以通过脱

水缩合形成低聚糖及多糖分子。

葡萄糖是细胞内的主要营养物质，它经过一系列的氧化反应，释放出能量，并最终变为 CO_2 和 H_2O 。释放出的能量用以合成 ATP，供细胞生命活动所需。

由许多葡萄糖可组成单纯的多糖，在动物细胞内主要是糖原，在植物细胞内主要是淀粉、纤维素，其中糖原和淀粉是细胞储存的能量，以备需要。

细胞内的核糖是核苷酸的主要成分，还有一些由不同单糖组成的低聚糖常与蛋白质结合成糖蛋白或与脂结合成糖脂，在细胞识别中起重要作用。

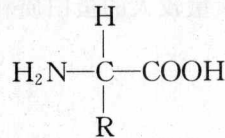
2. 脂肪酸

脂肪酸一般含有一个羟基，其通式为 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$ 。脂肪酸的碳氢链是疏水性的，无化学活性；羟基基团在溶液中电离，是亲水的，易形成酯和酰胺。细胞内的脂肪酸分子可通过它们的羟基和其他分子共价连接。各种脂肪酸的碳氢链长度以及它们所含碳-碳双键的数目和位置不同，决定了它们的化学特性。

脂肪酸营养价值高，按重量比计算，脂肪酸分子产生的能量，相当于葡萄糖所产生能量的 2 倍。脂肪酸最重要的功能是构成细胞膜，膜主要由磷脂组成，磷脂由甘油和两条脂肪酸链、磷酸基团和含氮化合物（乙醇胺、胆碱、丝氨酸等）组成。其中磷酸基团及其连接的含氮化合物为亲水的极性头部，两条脂肪酸链为疏水的非极性尾部，因此磷脂分子为兼性分子，是构成细胞膜和膜相结构的物质基础。

3. 氨基酸

细胞内常见的氨基酸有 20 种，它们都含有一个羧基和一个氨基，是典型的两性化合物，其通式为：



它们的差别主要决定于 R 侧链。各种不同的氨基酸，通过一个氨基酸的羧基与下一个氨基酸的氨基之间形成的肽链而相互连接，构成多肽链。多肽链的一端具有游离的氨基，称氨基端，另一端具有游离的羧基，称羧基端。由于组成多肽链的氨基酸其种类、数量和排列的不同，从而形成了多种复杂功能的蛋白质。

4. 核苷酸

核苷酸是组成核酸的基本单位，它是由磷酸、戊糖（核糖和脱氧核糖）和含氮碱基（嘧啶和嘌呤）组成。含氮碱基有两类 5 种，一类是双环的含氮杂环化合物腺嘌呤（adenine, A）和鸟嘌呤（guanine, G）；另一类是单环含氮杂环化合物胞嘧啶（cytosine, C）、胸腺嘧啶（thymine, T）和尿嘧啶（uracil, U）（图 3-1）。

核酸则是由许多核苷酸构成的多聚体，核苷酸之间通过一个核苷酸残基上的 3' 羟基和下一个核苷酸残基上的 5' 磷酸基之间形成酯键而共价连接。核酸有两类，由核糖组成的核酸称核糖核酸（ribonucleic acid, RNA），含 A、U、G、C 碱基；由脱氧核糖组成的核酸称脱氧核糖核酸（deoxyribonucleic acid, DNA），含 A、T、G、C 碱基。DNA 和 RNA 多核苷酸链中碱基排列顺序代表细胞的遗传信息。

核苷酸还能充当化学能的载体，尤其是三磷酸腺苷（ATP），可参与细胞内各种化学反应之间的能量传递。环腺苷酸（cAMP）是含腺嘌呤的磷酸衍生物，是细胞内通用的信号分子。

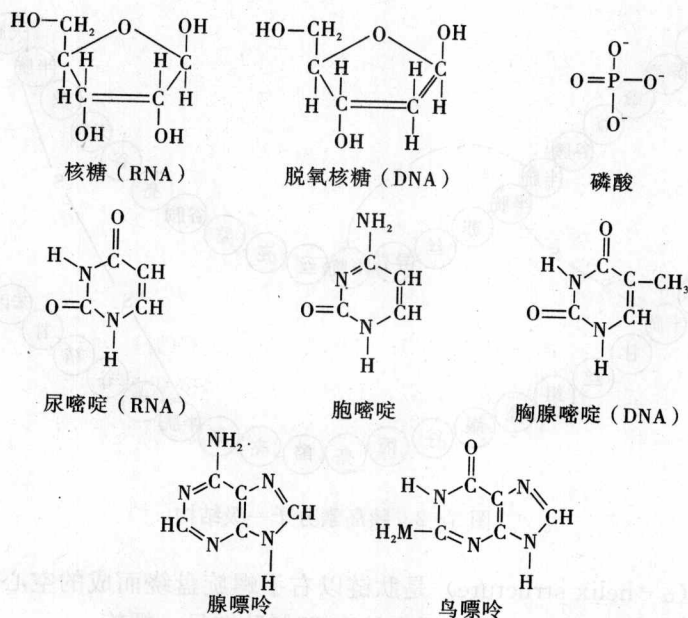


图 3-1 组成核苷酸的物质

子，控制各种不同细胞内的反应速率。

二、生物大分子

细胞内的大分子是由小分子物质聚合而成，如氨基酸与氨基酸相连形成蛋白质，核苷酸与核苷酸相连形成核酸，单糖与单糖相连形成多糖，这些大分子物质结构复杂，具独特的特性，负责装配细胞的组成，催化细胞内的化学变化，产生运动、反应以及遗传变异等一系列重要的生命活动。这里重点介绍蛋白质和核酸。

(一) 蛋白质

蛋白质是构成细胞的主要成分，占细胞干重的 50% 以上。蛋白质不仅决定细胞的形态和结构，而且担负着各种重要的生物学功能。

1. 蛋白质的结构

(1) 蛋白质的一级结构

蛋白质分子是由许多氨基酸分子通过肽键依次缩合而形成的多肽链。蛋白质一级结构是指组成蛋白质的多肽链中氨基酸的种类、数目和排列顺序，肽链中所含键以肽键为主键，或有少量二硫键。如胰岛素分子由一条 A 链和一条 B 链组成，A 链含 21 个氨基酸，B 链含 30 个氨基酸，共 51 个氨基酸，含三个二硫键 (图 3-2)。

蛋白质的一级结构是蛋白质的功能基础，只要多肽链中一个氨基酸发生改变就会形成结构异常的蛋白质分子。如人体正常血红蛋白的 β 链上第 6 位氨基酸为谷氨酸，如果谷氨酸被缬氨酸取代，就形成异常血红蛋白，失去输送氧气的功能，产生镰形红细胞贫血。蛋白质一级结构的重要性在于它决定了蛋白质的三维构象，从而影响分子在细胞中的作用。

(2) 蛋白质的二级结构

在一级结构的基础上，借氢键在氨基酸残基之间的对应点连接，使多肽链成为螺旋或折叠的结构，如 α 螺旋和 β 片层结构，这就是蛋白质的二级结构。

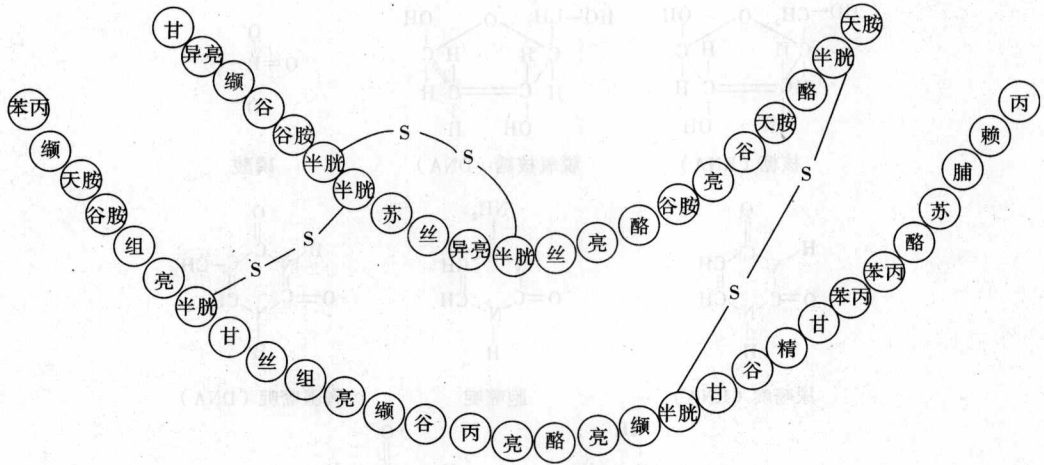


图 3-2 胰岛素分子一级结构

α 螺旋结构 (α -helix structure) 是肽链以右手螺旋盘绕而成的空心筒状构象, 主要存在于球状蛋白分子中, 如肌红蛋白分子中约有 75% 肽链呈 α 螺旋。

β 片层 (β -pleated sheet) 是一条肽链回折而成的平行排列构象, 主要存在于纤维状蛋白, 如 α -角蛋白中。

但是蛋白质很少是单纯由 α 螺旋或 β 片层结构组成, 在蛋白质中常常存在具有各种结构的区域。

(3) 蛋白质的三级结构

在二级结构的基础上再进行折叠, 即为三级结构。蛋白质有的区域为 α 螺旋或 β 折叠, 其他区域则为随机卷曲。参加维系三级结构的有氢键、酯键、离子键和疏水键等。

(4) 蛋白质的四级结构

蛋白质的四级结构是指由两条或两条以上的肽链在各自三级结构的基础上形成蛋白质分子的结构亚基, 若干亚基之间通过氢键等化学键的引力而相互结合, 形成更复杂的空间结构。

只有一条多肽链的蛋白质, 在三级结构水平上即能表现出生物活性, 但由两条或多条肽链构成的蛋白质, 则必须构成四级结构, 才能表现出生物活性 (图 3-3)。

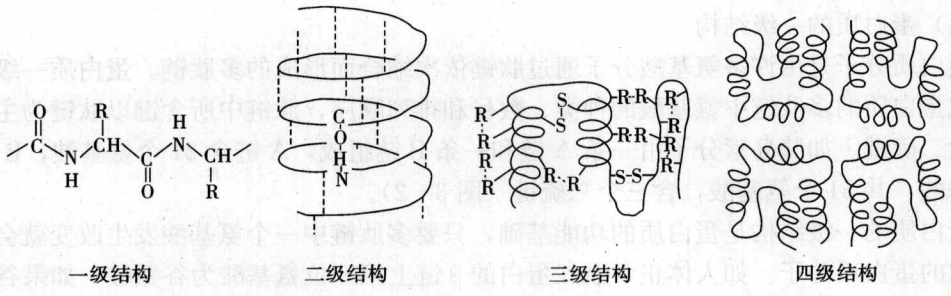


图 3-3 蛋白质的四级结构示意图

2. 蛋白质的分类

目前自然界估计约有 100 亿种以上的蛋白质, 表现出千变万化的生物学功能, 由于目前对蛋白质复杂的分子结构了解还不多, 故尚无一种十分满意的分类方法。

(1) 按蛋白质分子形状分类

可分为纤维状蛋白质和球形蛋白质两大类。纤维状蛋白质呈纤维状或棒状，如肌肉中的肌球蛋白、蚕丝中的 β 角蛋白等。球形蛋白质分子中的肽键往往折叠、盘曲，使整个分子呈球状，在细胞中担负着很多重要的生理功能，如酶蛋白、激素蛋白、抗体蛋白和血红蛋白等。

(2) 按蛋白质分子的化学组成分类

可分为单纯蛋白质和结合蛋白质两大类。单纯蛋白质是指单纯由氨基酸组成的蛋白质，如白蛋白、球蛋白和组蛋白等。结合蛋白是指蛋白质分子中除氨基酸外尚有非蛋白质辅基。结合蛋白质可按辅基的不同分为5类（表3-1）。

表3-1 按蛋白质分子的化学组成分类

蛋白质种类	辅基	蛋白质与辅基间连接键	举例
单纯蛋白质 (simple protein)	无		血清白蛋白
结合蛋白质 (conjugated protein)			
核蛋白 (nucleoprotein)	核酸	盐键	病毒核蛋白
糖蛋白 (glycoprotein)	多糖	糖苷键	免疫球蛋白
脂蛋白 (lipoprotein)	脂类	酯键或疏水键	低密度脂蛋白
色蛋白 (chromoprotein)	色素	配价键	血红蛋白
磷蛋白 (phosphoprotein)	磷酸	酯键	酪蛋白

(3) 按蛋白质分子溶解度分类

按蛋白质溶解度不同可分为下列几类（表3-2）。

表3-2 按蛋白质分子的溶解度分类

蛋白质种类	溶解度	举例
白蛋白 (albumin)	溶解度大，被饱和硫酸铵沉淀	血清白蛋白
球蛋白 (globulin)	微溶于水，溶于稀盐液，被半饱和硫酸铵沉淀	免疫球蛋白
组蛋白 (histone)	溶于水与稀酸，不溶于稀氨水中	胸腺组蛋白
精蛋白 (spermatin)	溶于水、稀酸、稀碱及稀氨水中	鱼精子蛋白
硬蛋白 (scleroprotein)	溶解度小，不溶于水、稀盐及酸、碱中	胶原蛋白
谷蛋白 (glutelin)	不溶于水、盐溶液、醇溶液，但溶于稀酸、碱中	米谷蛋白

(4) 按蛋白质分子生理功能和生物活性分类

按蛋白质分子的生理功能分为：①结构蛋白，如肌球蛋白；②调节蛋白，如胰岛素；③转运蛋白，如血红蛋白；④收缩蛋白，如肌动蛋白和肌球蛋白；⑤催化蛋白，如所有的蛋白酶；⑥抗体蛋白，如免疫球蛋白。

按蛋白质分子的生物活性大小，可分为活性蛋白和非活性蛋白两大类。活性蛋白指在生命活动过程中具有较高生物活性的蛋白质，如酶蛋白、激素蛋白和蛇毒蛋白等。非活性蛋白指代谢较慢，主要起支持、保护功能的蛋白质，如胶原蛋白、角蛋白、弹性蛋白等。

3. 酶

酶 (enzyme) 的化学本质是蛋白质。酶是细胞内加快化学反应的生物催化剂，极少量的酶可催化大量反应物的转变。酶和一般的催化剂一样，可促进反应，但分子本身并不发生

改变。

酶具有以下三个特征：

(1) 高度的专一性

酶对底物有严格的选择性，一种酶只能催化一种化学反应，有些酶只专一地作用于某一特定的化学基团（如甲基、氨基或磷酸基）或特定的化学键（如肽键）。

(2) 催化的高效性

酶的催化效率比一般催化剂高 $10^6 \sim 10^{10}$ 倍。如用盐酸作催化剂，需在 100°C 条件下经 25h 才能将蛋白质水解成氨基酸；如用胰蛋白酶催化蛋白质水解，在 37°C 和中性酸碱度条件下，一个酶分子每秒就能使近百个肽键水解，可见酶催化的高效性是十分显著的。

(3) 催化活性的可调节性

酶的催化活性易受温度、pH 值、金属离子及其他化合物的影响而使酶活性增高或降低。因此，酶的催化活性是可调节的。

(二) 核酸

核酸 (nucleic acid) 是细胞中最重要的分子，DNA 携带生命活动的全部信息，RNA 则参与蛋白质的生物合成。

1. DNA 的分子结构和功能

DNA 分子是由数目巨大的 4 种脱氧核糖核苷酸通过 3', 5'-磷酸二酯键聚合而成的直线形或环形分子，一般真核生物 DNA 为直线形，而细菌和一些噬菌体 DNA 为环形分子。直线形 DNA 分子有两个末端：一个是核糖的 5' 末端，此末端与磷酸相连，称 5' 磷酸末端。另一个末端是核糖的 3' 位，因是游离羟基，称 3' 羟基末端 (图 3-4)。

1953 年，Watson 和 Crick 用 X 衍射法证明了 DNA 分子是由两条链组成的螺旋状多聚体，并提出了 DNA 分子结构模型，其主要内容是：①DNA 分子是由两条多核苷酸链组成，两条链平行排列但方向相反，即两条链的 5'、3' 排列方向正好相反。②双螺旋结构中，碱基位于螺旋链的内部，磷酸和戊糖则位于外侧。③DNA 的二条链上的碱基之间通过氢键有规律地互补配对，A 只能与 T 配对，G 只能与 C 配对。A 与 T 之间可形成 2 个氢键，G 与 C 之间可形成 3 个氢键。每一碱基对位于同一平面上，并垂直于螺旋轴。相邻 2 个碱基相距 0.34nm，每 10 个碱基旋转 1 圈，因此双螺旋的螺距为 3.4nm，由于 10 对碱基旋转 1 圈是 360° ，因而相邻 2 个碱基对旋转 36° 。双螺旋直径为 2nm (图 3-5)。

DNA 分子虽然只有 4 种核苷酸，但由于它所含核苷酸数量、种类及排列顺序的随机性，这就决定了 DNA 的复杂性和多样性。

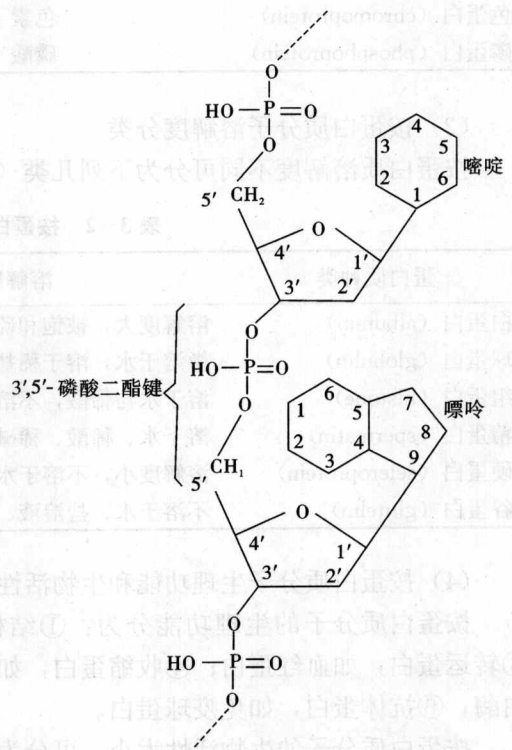


图 3-4 多核苷酸磷酸二酯键

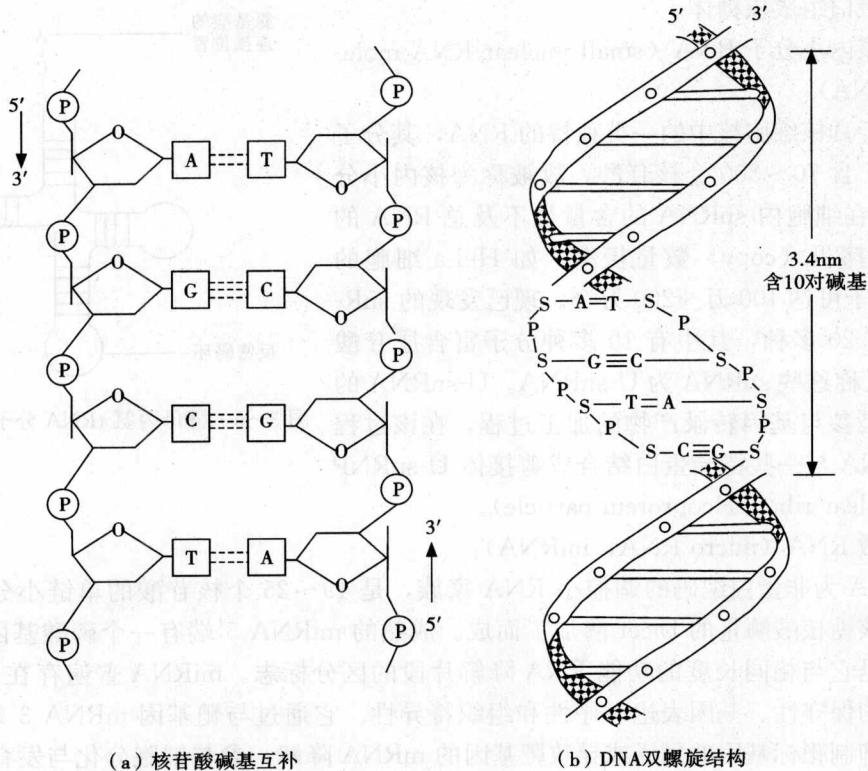


图 3-5 核苷酸碱基互补与 DNA 双螺旋结构

DNA 分子中的核苷酸排列顺序蕴藏着无穷的遗传信息，DNA 通过自我复制，将储存的这些遗传信息准确无误地传给子代 DNA 分子。所以 DNA 的主要功能是携带和传递遗传信息，DNA 的另一重要功能则是通过转录形成的 RNA 来指导蛋白质的合成。

2. RNA 分子的结构和功能

RNA 分子是由 4 种核糖核苷酸组成的一条多核苷酸链，与 DNA 分子不同点：其一是 RNA 分子中的戊糖是核糖，而不是脱氧核糖；其二是 RNA 分子中尿嘧啶 (U) 取代了胸腺嘧啶 (T)；其三是 RNA 分子均为单链，但有的 RNA 分子通过自身折叠形成假双链结构。

RNA 有以下几种类型：

(1) 信使 RNA (messenger RNA, mRNA)

mRNA 占细胞 RNA 总量的 1%~5%，由一条多核苷酸单链组成，携带 DNA 的遗传信息。在 mRNA 分子中每三个相邻的碱基构成一个密码子 (codon)，决定多肽链中氨基酸的排列顺序，因此，mRNA 是蛋白质合成的模板。

(2) 转运 RNA (transfer RNA, tRNA)

tRNA 是细胞内分子质量最小的一类核酸，tRNA 也是单链结构，有些部分折叠成假双链，形成类似三叶草形状 (图 3-6)，游离的 3' 端有 CCA 三个碱基，是活化氨基酸连接的部位，相对应的一端有一反密码环，其上有三个碱基，称反密码子 (anticodon)，能与 mRNA 上的密码子互补配对，运输特定的活化氨基酸。

(3) 核糖体 RNA (ribosomal RNA, rRNA)

rRNA 是细胞内含量最多的 RNA，占 RNA 总量的 80% 以上，是一种单链线形结构，

与核糖体蛋白组成核糖体。

(4) 核内小分子 RNA (small nuclear RNA molecule, snRNA)

存在于真核细胞核中的一类独特的 RNA，其分子相对较小，含 70~300 个核苷酸，故被称为核内小分子 RNA。在细胞内 snRNA 的含量虽不及总 RNA 的 1%，但其拷贝 (copy) 数量极多，如 HeLa 细胞的 snRNA 分子可达 100 万~200 万个。现已发现的 snRNA 至少有 20 多种，其中有 10 多种分子富含尿苷酸 (U)，故又称这些 snRNA 为 U-snRNA。U-snRNA 的主要功能是参与基因转录产物的加工过程，在该过程中 U-snRNA 与一些特异蛋白结合成剪接体 U-snRNP (small nuclear ribonucleoprotein particle)。

(5) 微 RNA (micro RNA, miRNA)

miRNA 为非蛋白编码的调控小 RNA 家族，是 19~25 个核苷酸的单链小分子 RNA，由类似于核糖核酸酶 III 的 Dicer 酶加工而成。成熟的 miRNA 5' 端有一个磷酸基团，3' 端为羟基，这是它与相同长度的功能 RNA 降解片段的区分标志。miRNA 普遍存在于生物界，具有高度的保守性、基因表达时序性和组织特异性。它通过与靶基因 mRNA 3' 端 UTR 互补结合，抑制靶标基因的翻译或导致靶基因的 mRNA 降解，参与细胞分化与发育的基因表达调控。

Dicer 酶除在 miRNA 形成过程中起重要作用之外，它还可将一些双链 RNA 加工成为 21~22 个核苷酸的短片段双链 RNA，即小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA)，siRNA 能够以序列同源互补的 mRNA 为靶点，通过降解特定基因的 mRNA 来高效、特异地阻断体内特定基因表达，诱发细胞呈现出特定基因缺失表型，称为 RNA 干扰 (RNA interference, RNAi)。RNAi 的发现不仅揭示了细胞内基因沉默的机制，而且还为基因功能分析提供了有力工具，因而具有划时代的意义。

(6) 核酶 (ribozyme):

核酶一词用于描述具有催化活性的 RNA，即化学本质是核糖核酸 (RNA)，却具有酶的催化功能。核酶的发现，对酶的本质就是蛋白质这一传统概念提出了新的挑战。核酶是由 T. Cech 在研究原生动物喜热四膜虫 (*Tetrahymena thermophila*) 的 rRNA 剪接时发现的，并因此获得了 1999 年诺贝尔化学奖。核酶的作用底物可以是不同的分子，有些作用底物就是同一 RNA 分子中的某些部分。核酶的功能很多，有的能够切割 RNA，有的能够切割 DNA，有些还具有 RNA 连接酶、磷酸酶等活性。但与蛋白质酶相比，核酶的催化效率较低，是一种较为原始的催化酶。人们可利用核酶破坏致病基因的转录产物，为基因治疗开辟新的途径。

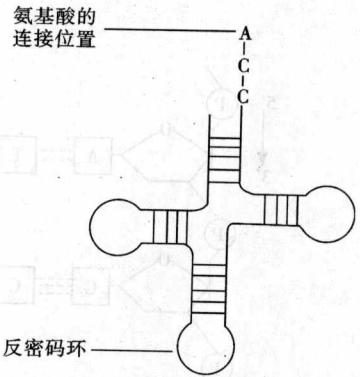


图 3-6 酵母丙氨 tRNA 分子结构模式

第二节 细胞的形态和大小

一、细胞的形态

细胞的形态多种多样，一般与细胞的类型、功能、所处的环境以及细胞之间的相互关系有关，但每种类型的细胞形态相对固定。例如：具收缩功能的肌细胞多为梭形；具有感受刺激和传导冲动功能的神经细胞具有许多突起；游离于血液中的血细胞多呈球形或椭圆形；上皮细胞由于相互间紧密靠拢呈柱状、扁平状；精子具鞭毛因而能运动（图 3-7）。可见，细胞的多样形态往往是与其生理功能密切相关的。

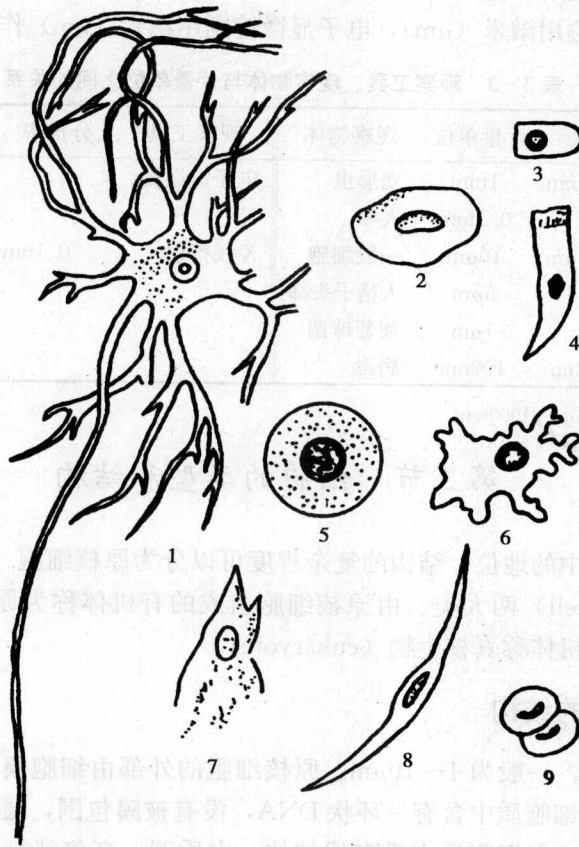


图 3-7 细胞的各种形态

1—神经细胞；2、3、4、6—各种上皮细胞；5—卵细胞；
7—结缔组织细胞；8—平滑肌细胞；9—红细胞

二、细胞的大小

细胞的大小因种类不同而相差较大。最小的细胞是支原体，直径只有 $0.1\mu\text{m}$ ，需电镜观察；最大的细胞是鸵鸟的卵细胞，直径约 10cm 以上。构成人体的组织细胞其直径一般在 $10\sim 100\mu\text{m}$ ，均需光学显微镜进行观察，如口腔上皮细胞的直径约为 $75\mu\text{m}$ ；红细胞的直径

只有 $7.5\mu\text{m}$ 。一般动物细胞比植物细胞小。

细胞的大小和它的功能是相适应的。如卵生动物的卵一般比较大，因为它含有大量的营养物质，以保证将来胚胎发育的需要，而哺乳动物的胚胎是在母体内发育、从母体取得营养的，所以哺乳动物的卵与一般细胞相比差别不大。神经细胞的胞体虽不大，但它伸出的突起可长达若干厘米以上，这与它的传导功能是相适应的。

细胞的大小不依生物体的大小而变化，同类型的细胞基本相似，如牛、马、人和小鼠的肾细胞大小基本相同。

三、细胞的计量单位

随着科学技术的发展，人类对生物体的认识也就从宏观到微观，再进入超微观，逐步深入。人类最初用肉眼观察事物，其分辨率仅为 $0.1\sim 0.2\text{mm}$ ，其计量单位为毫米 (mm)，而光学显微镜的计量单位用微米 (μm)，电子显微镜则用纳米 (nm) 作计量单位 (表 3-3)。

表 3-3 观察工具、观察物体与计量单位之间的关系

观察工具	分辨率	计量单位	观察物体	观察工具	分辨率	计量单位	观察物体
肉眼和放大镜	$0.1\sim 0.2\text{mm}$	1mm	变形虫	电子显微镜		50nm	支原体
		0.1mm	人卵			10nm	蛋白质分子
光学显微镜	$100\sim 0.1\mu\text{m}$	$10\mu\text{m}$	一般细胞	X 线衍射	0.1nm	1nm	氨基酸
		$5\mu\text{m}$	人精子头部			0.5nm	蔗糖分子
		$1\mu\text{m}$	葡萄球菌			0.1nm	氢原子
电子显微镜	$200\sim 0.2\text{nm}$	100nm	病毒				

注: $1\text{mm}=1000\mu\text{m}$, $1\mu\text{m}=1000\text{nm}$ 。

第三节 细胞的类型和结构

根据细胞在进化中的地位、结构的复杂程度可以分为原核细胞 (prokaryotic cell) 和真核细胞 (eukaryotic cell) 两大类。由原核细胞组成的有机体称为原核生物 (prokaryote)，由真核细胞组成的有机体称真核生物 (eukaryote)。

一、原核细胞的结构

原核细胞比较小，一般为 $1\sim 10\mu\text{m}$ 。原核细胞的外部由细胞膜包围，在膜外紧贴有细胞壁 (cell wall)，在细胞质中含有一环状 DNA，没有被膜包围，通常分布于一定区域即核区或拟核 (nucleoid)。在细胞质中没有线粒体、内质网、高尔基复合体及质体等膜相细胞器，但有核糖体、中间体 (mesosome)、糖原粒和脂肪滴等。

原核细胞包括支原体、衣原体、立克次体、细菌、放线菌与蓝藻等多种。

细菌 (bacteria) 是典型的原核细胞，它在自然界中分布广、数量多，而且与人类的关系十分密切。大部分细菌的直径为 $0.5\sim 5\mu\text{m}$ 。它具有典型的细胞膜，膜厚 $8\sim 10\text{nm}$ ，外侧紧贴细胞壁，主要成分是肽聚糖，具维持细胞形态和保护细胞的功能。细胞质内有由细胞膜内陷形成的中膜体，可能起 DNA 复制的支点作用，而且与细胞分裂有关，中膜体上还含有细胞色素类物质，可能与能量代谢有关 (图 3-8)。

在胞质内还有大量的核糖体，能与 mRNA 形成多聚核糖体，是蛋白质合成的功能单位。

大部分核糖体游离在细胞质中，一部分附着在细胞膜的内表面。

细菌细胞内长达 $1200 \sim 1400 \mu\text{m}$ 的环状 DNA 盘绕在不到 $1 \mu\text{m}^3$ 的核区中，可编码 2000~3000 种蛋白质。由于细菌无核膜，因此，DNA 复制、RNA 转录与蛋白质的合成可同时进行，这是原核细胞和真核细胞最显著的区别之一（图 3-8）。

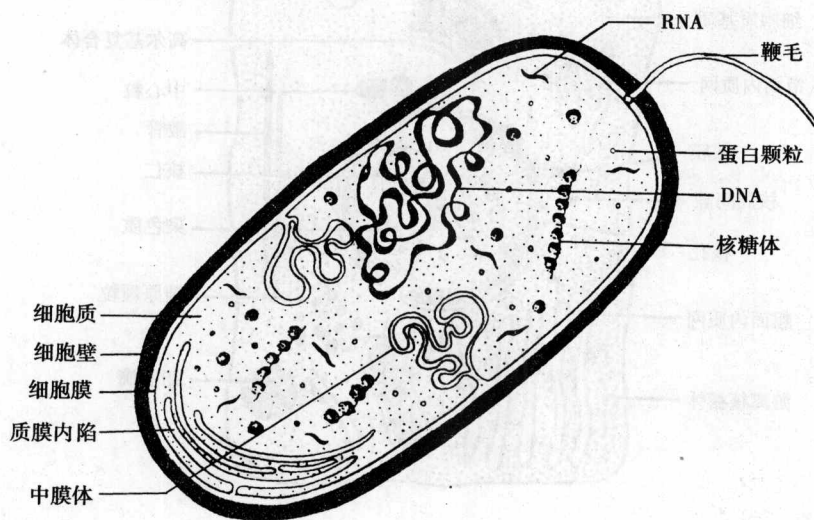


图 3-8 细菌模式图

二、真核细胞的结构

原核细胞进一步发展出现了核的结构以及结构复杂的各种细胞器，称为真核细胞。真核细胞包括动物、植物和人体细胞，它们的基本结构相似。只是植物细胞膜外有纤维素组成的细胞壁，细胞内有叶绿体等质体以及较大的液泡，没有中心粒。

在光学显微镜下观察，真核细胞分为细胞膜（cell membrane）、细胞质（cytoplasm）和细胞核（nucleus）三大部分，被称为细胞的三部结构。

在电子显微镜下观察真核细胞的结构，发现了许多重要的亚显微结构，将其分为膜相结构（membranous structure）和非膜相结构（non-membranous structure）（图 3-9）。

膜相结构包括细胞膜、核膜和各种由膜包绕的细胞结构，如线粒体、高尔基复合体、溶酶体、内质网、过氧化物酶体等。膜相结构的膜统称为生物膜（biological membrane）。生物膜在电子显微镜下观察，可见膜均由三层结构组成，即内外两层各为厚 2nm 的致密的深色带，中间夹一层厚约 3.5nm 的疏松浅色带，三层总厚度约为 7.5nm，这种二暗夹一明的三层结构称为单位膜（unit membrane）。在膜相结构中，除细胞膜外，在细胞质内那些在结构上和功能上有一定联系的膜性结构，如内质网、高尔基复合体、溶酶体、过氧化物酶体和核膜等，统称为内膜系统（endomembrane system）。这些膜相细胞器形成了许多封闭性的区室，在不同的区室中有特定的酶，执行一定的生理功能，使各区室中的酶不互相干扰，能有序地发挥高效率作用。这就是膜相结构的“区域化作用”。

非膜相结构是指没有膜包绕的各种细胞结构。主要包括核糖体、中心体、染色质、核

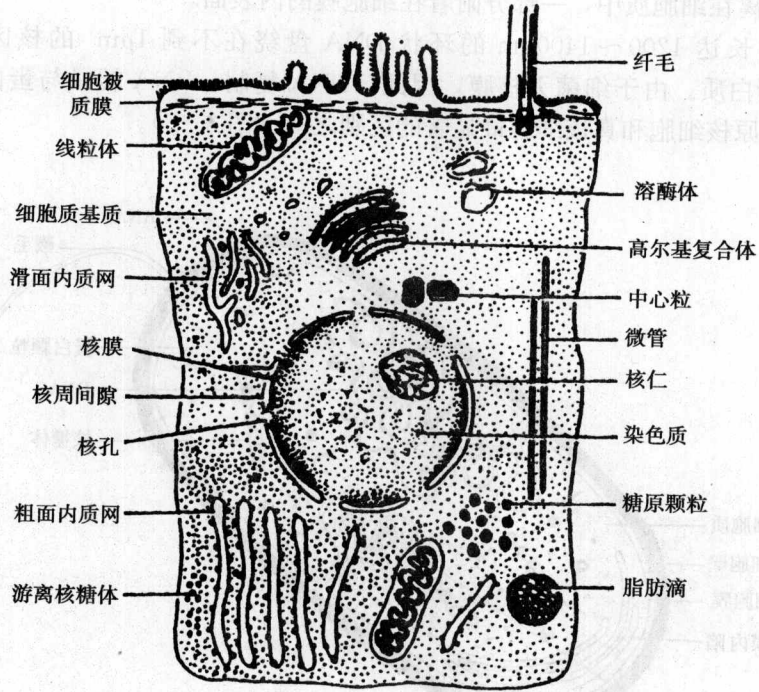


图 3-9 真核细胞结构模式图

仁、微管、微丝、中间纤维，还包括细胞基质和核基质。

以上所述的膜相结构和非膜相结构在细胞中占有一定的位置，具有一定的形态结构，在细胞的生命活动中完成特定的生理功能。同时各种结构组成又处在不断更新的动态变化中。

三、原核细胞与真核细胞的比较

原核细胞和真核细胞在结构和功能上都存在着显著差异，如表 3-4 所示。

表 3-4 原核细胞与真核细胞的比较

	原核细胞	真核细胞
细胞大小	很小 (1~10 μ m)	较大 (10~100 μ m)
细胞核	无核膜和核仁 (拟核)	有核膜和核仁 (真核)
DNA	由一条环状 DNA 组成，DNA 不与组蛋白结合	有两条以上 DNA，线状 DNA 与组蛋白结合，形成若干对染色体
细胞质	无各种膜相细胞器及细胞骨架，具 70S* 核糖体 (包括 50S 和 30S 大小亚单位)	有各种膜相细胞器及细胞骨架，具 80S 核糖体 (包括 60S 和 40S 大小亚单位)
细胞壁	主要成分为肽聚糖	主要成分为纤维素
转录和翻译	在同一时间和地点	在不同的时间和地点
细胞分裂	无丝分裂	以有丝分裂为主

* 沉降系数是测量某一物质在离心力作用下的沉降速度的量，以漂浮单位 S (svdberg unit) 表示。每一漂浮单位为 1×10^{-18} S，如果某一蛋白质的沉降系数为 1×10^{-16} S，则为 100 个漂浮单位，即 100S。

提 要

细胞是一切有机体的基本结构和功能单位,各种生命活动都是以细胞为单位进行的。细胞形态、结构和功能各异,但其化学组成基本相似。

组成细胞的化学物质有生物小分子和生物大分子。

小分子物质包括无机化合物和有机化合物,其中水是含量最多的一种成分,许多化学反应都在水溶液中进行。各种无机盐能够维持细胞内外液的渗透压和 pH 值。有机化合物中糖类是细胞的营养物质和能量的来源;脂肪酸的营养价值更高,但更重要的是组成膜的结构成分;氨基酸是组成蛋白质的基本结构单位;核苷酸是组成核酸的基本结构单位。

生物大分子物质包括蛋白质和核酸。蛋白质是许多氨基酸通过肽键依次缩合而成的多聚体。多肽链经过螺旋和折叠可形成二级、三级结构,然后由两条或两条以上的肽键在三级结构的基础上分别形成亚基,再经过各种化学键而结合起来形成蛋白质的四级结构。由于组成肽链的氨基酸种类、数量及排列顺序不同,所以蛋白质具有不同的类型和多种不同的功能。酶是一种蛋白质,是细胞内的生物催化剂,它具有高度的专一性和高效性,催化效率比一般催化剂高 $10^6 \sim 10^{10}$ 倍,容易受温度、pH 值、金属离子及其他化合物的影响。

核酸是细胞内最重要的分子,分为核糖核酸和脱氧核糖核酸。

脱氧核糖核酸(DNA)是由 A、T、G、C 4 种碱基以及磷酸和脱氧核糖组成,形成双螺旋结构,DNA 分子很大,其中核苷酸的数量、种类及排列顺序的随机性,决定了 DNA 的多样性和复杂性。DNA 能进行自我复制,携带和传递遗传信息,并能转录合成 RNA,通过 RNA 指导蛋白质合成。

核糖核酸(RNA)是由 A、U、G、C 4 种碱基及磷酸和核糖组成。一般为单链。直接参与蛋白质合成的 RNA 主要有 3 种:mRNA 可携带 DNA 的遗传信息;tRNA 可携带活化的氨基酸,并通过反密码子识别 mRNA 上的密码子,从而决定多肽链中氨基酸的排列顺序;rRNA 是组成核糖体的组分。另外还发现 snRNA、miRNA 和核酶等。

细胞的形态和大小依据种类、功能的不同而有较大的差别。

细胞的类型可分为原核细胞和真核细胞。

细菌是原核细胞的典型代表,它比较小,没有核膜,遗传物质仅为一条环状 DNA,不与组蛋白结合,细胞质内除核糖体外,没有其他细胞器。

现存的动物、植物均由真核细胞组成,它们的结构复杂,种类繁多,进化程度高,具有核膜,形成典型的核,细胞质内形成了许多具有一定形态、执行一定生理功能的各种膜相和非膜相细胞器。

复习思考题 3

(一) 名词解释:

RNA 干扰 核酶 膜相结构 非膜相结构 生物膜 单位膜

(二) 问答题:

1. 组成细胞的小分子物质有哪些?有何作用?
2. 试述蛋白质的四级结构。

- 3. 酶有哪些特性?
- 4. 核酸分哪两类? 有何区别?
- 5. 试述 DNA 双螺旋结构的特点和功能。
- 6. 比较 mRNA、tRNA、rRNA 的区别。
- 7. 试比较原核细胞和真核细胞的异同, 你能得出什么结论。

(言惠文)

第四章

细胞膜

细胞膜 (cell membrane) 是围绕在细胞最外面的一层生物膜, 又称质膜 (plasma membrane), 是原始生命物质在长期进化过程中形成的。细胞膜的出现使原始生命物质从非细胞形态进化到细胞形态, 是生物进化史上的一大飞跃。细胞膜不仅是细胞结构上的边界, 而且使细胞具有更大的相对独立性, 保证了细胞内环境的稳定, 同时通过膜能够与外环境进行物质交换、能量交换和信息传递。

生物膜包括细胞膜和真核细胞的内膜系统, 它们都具有共同的结构特点: 脂类双分子层组成膜的基本骨架, 蛋白质分子结合其中, 执行各种特殊功能。虽然不同的生物膜有不同的脂类和蛋白质, 具有不同的功能, 但本章对细胞膜结构和功能的讨论有助于对整个生物膜的了解。

第一节 细胞膜的化学组成

在各种不同类型的细胞中, 细胞膜的化学组成基本相同, 主要是由脂类、蛋白质和糖类组成, 此外还有水、无机盐和金属离子。但不同类型细胞膜的组成成分比例不完全相同, 一般功能复杂的膜中蛋白质占的比例较大, 如线粒体膜蛋白占 75%, 而髓鞘膜蛋白仅占 25%。这与膜本身的结构和功能有关。

一、膜脂

膜脂是细胞膜的基本组成成分, 在大多数动物细胞中, 脂类物质约占细胞膜总量的 50%, 每个动物细胞膜上约有 10^9 个脂分子, 即每平方微米的膜上约有 5×10^6 个脂分子。

膜脂主要有 3 种: 磷脂、糖脂和胆固醇。其中磷脂是最主要的成分。

(一) 磷脂

磷脂约占整个膜脂的 50% 以上, 磷脂又分甘油磷脂和鞘磷脂。甘油磷脂又分磷脂酰胆碱 (卵磷脂)、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰乙醇胺和磷脂酰肌醇 (图 4-1)。膜中含量最多的是磷脂酰胆碱和磷脂酰乙醇胺。磷脂分子由磷脂酰基和脂肪酸两部分通过甘油基团或鞘氨醇结合而成。磷脂酰基组成磷脂分子的极性头部, 是亲水的。两条较长的脂肪酸链组成磷脂分子的非极性尾部, 是疏水的, 这种一头亲水一头疏水的分子称兼性分子 (双亲媒性分子) (图 4-2)。

(二) 糖脂

糖脂的含量占膜脂总量 5% 以下, 不同细胞中所含糖脂的种类不同, 如神经细胞的神经苷脂类、人红细胞表面的 ABO 血型糖脂都是非常重要的。

糖脂与鞘磷脂相似, 都是鞘氨醇的衍生物, 在糖脂中, 一个或多个糖残基与神经鞘脂类的末端羟甲基通过糖苷键相连接, 通常称为脑苷类脂, 它是脑中重要的类脂成分, 也广泛存

在于哺乳动物细胞膜中。最复杂的糖脂是神经节苷脂，它含的糖残基多达7个，其中含有不同数目的唾液酸，它主要存在于神经细胞的外膜中，在神经传导中起重要作用。神经节苷脂本身又是一类膜上的受体，现已知破伤风毒素、霍乱毒素、干扰素、促甲状腺素、绒毛膜促性腺激素以及5-羟色胺等的受体，就是不同的神经节苷脂。

(三) 胆固醇

胆固醇是最重要的一种动物固醇。存在于真核细胞膜上，其含量一般不超过膜脂的1/3。胆固醇分子由三部分组成，极性羟基团头部、非极性的类固醇环结构和非极性的碳氢尾部(图4-3)。细胞膜上的胆固醇散布于磷脂分子之间，其极性头部紧靠磷脂分子的极性头部(图4-4)，分子之间相互作用，增强了膜的稳定性，在调节膜的流动性中起重要作用。

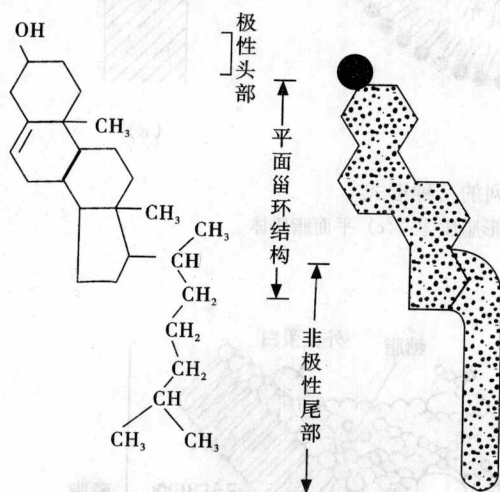


图4-3 胆固醇的分子式(左)和示意图(右)

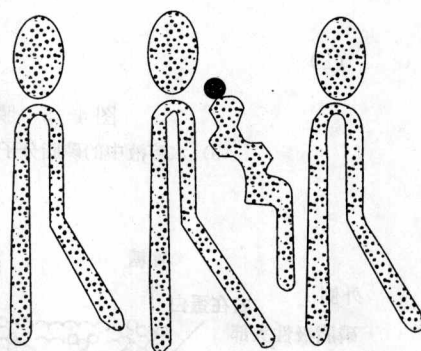


图4-4 脂质双层中胆固醇分子与磷脂分子的相互关系

以上3种膜脂分子均具有共同的结构特点，它们都具有亲水的极性头部和疏水的非极性尾部，均为兼性分子。这种结构特点使其具有一种独特的物理性质，当其在水溶液中时，极性头部露在外面与水接触，非极性的尾部则避开水，向着内侧，形成双分子层的结构，或者由磷脂分子形成球形的脂质体(liposomes)(图4-5)。生物膜中的脂类分子是天然形成的脂双层，而且脂双层游离端可自动闭合，形成封闭的稳定结构，对执行膜的功能起重要作用。

二、膜蛋白

膜脂是生物膜的结构骨架，膜蛋白则是生物膜功能的体现者。它约占细胞总蛋白量的25%，功能复杂的线粒体内膜，蛋白质含量可高达75%，而神经髓鞘为神经纤维的绝缘体，主要含脂类，蛋白质只有25%，大多数真核细胞膜中的蛋白质可作为运输蛋白、酶、受体等，在完成膜的生物学功能中起重要作用，含量约为50%。

根据膜蛋白与膜脂的作用方式及在膜中的位置不同，膜蛋白大体上可分为两类：即内在蛋白(intrinsic protein)和周边蛋白(peripheral protein)(图4-6)。

膜内在蛋白也称整合蛋白(integral protein)，占膜蛋白总量的70%~80%，主要特征为水不溶性，其氨基酸组成疏水性强，也有亲水性氨基酸，所以许多内在蛋白也是兼性分子，由疏水性氨基酸组成的部分，深入脂双层的疏水区，与脂肪酸链共价结合，它们可分布

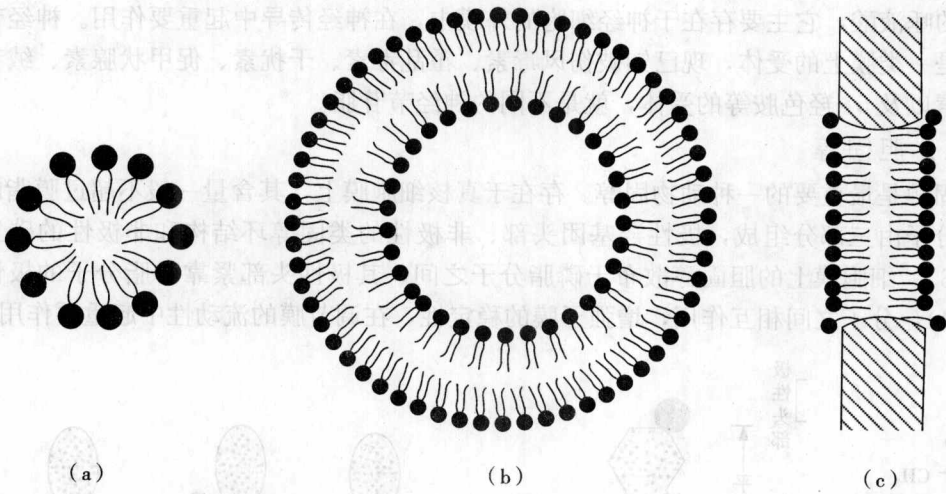


图 4-5 膜脂分子排列的几种形式

(a) 水溶液中的磷脂分子团；(b) 球形脂质体；(c) 平面脂质体

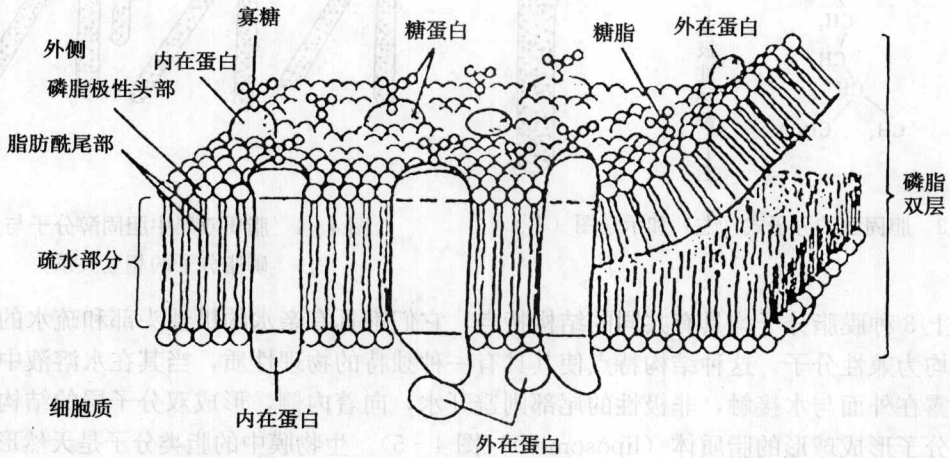


图 4-6 细胞膜上的蛋白质的结合方式

在脂双分子层中或跨越全膜。有的以多酶复合体的形式，由内在蛋白和周边蛋白结合，有的不对称的镶嵌在脂双层中（图 4-6）。这些内在蛋白只有作用较强烈的去污剂处理时才能从膜上溶解下来，去污剂能破坏脂类与蛋白质疏水区域的连接。膜内在蛋白与脂类结合有 4 种主要方式（图 4-7 中①~④）：①单次穿膜：内在蛋白 α 螺旋单次穿越脂双分子层。②多次穿膜：内在蛋白 α 螺旋多次穿越脂双分子层。由于以上两种蛋白都穿越了膜，所以也称跨膜蛋白（transmembrane protein）。③非穿越性共价结合：蛋白质与胞质侧单脂质的烃链共价结合。④蛋白质与磷脂酰肌醇结合：蛋白质通过寡糖链与膜的非胞质侧脂质单层中的磷脂酰肌醇共价结合。现在研究较清楚、较重要的膜内在蛋白有血型糖蛋白（glycophorin）、斑带 III（band III）蛋白（图 4-8）。

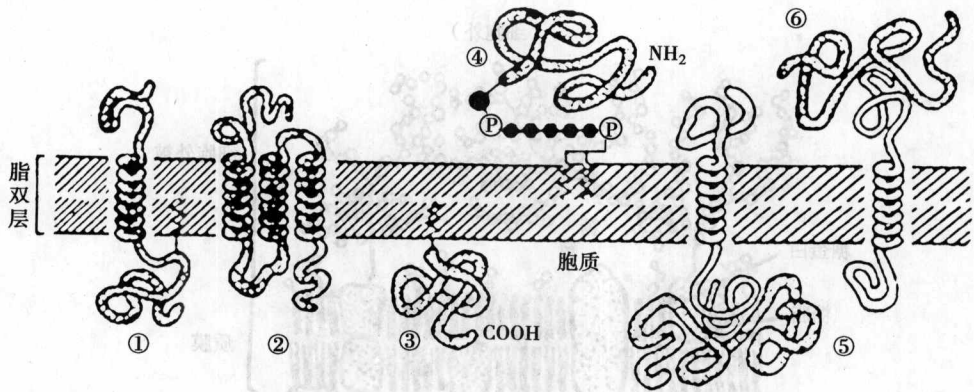


图 4-7 膜蛋白与脂双分子结合的几种方式

周边蛋白也称外在蛋白 (extrinsic protein), 为水溶性蛋白, 它们常常通过离子键或其他较弱的键与膜上的内在蛋白或脂分子的极性头部结合 (图 4-7 中⑤~⑥), 由于这种结合比较松散, 只要改变溶液的离子强度甚至提高温度就可以将周边蛋白分离下来。膜周边蛋白占膜蛋白的 20%~30%, 而红细胞中占 50%左右。周边蛋白研究较清楚的有血影蛋白 (spectrin), 为红细胞所特有, 它由两条多肽链组成, 在膜的胞质面与肌动蛋白及其他蛋白相互连接形成一个可变的网络, 有助于维持红细胞的双凹圆盘形状, 而且在红细胞通过狭窄的毛细血管时允许它变形。如果血影蛋白异常, 其红细胞变成圆形, 而且很脆弱。

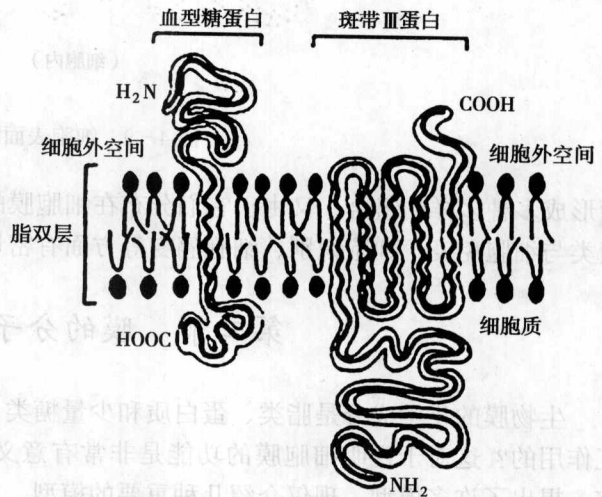


图 4-8 人红细胞膜中斑带 III 蛋白多肽链多次通过脂双层示意图

三、膜糖类

细胞膜表面含有一定量的糖类, 占总量的 2%~10%, 它们以低聚糖或多聚糖链的形式与膜蛋白共价结合, 形成糖蛋白, 或者与脂类共价结合, 形成糖脂, 均分布在细胞膜的外表面, 称为细胞外被 (cell coat) (图 4-9)。大部分糖类都结合到膜蛋白上, 如一个血型糖蛋白分子可结合 16 个低聚糖侧链, 而每个糖脂分子只结合一个低聚糖侧链。糖蛋白和糖脂上的糖残基主要有 D-半乳糖、D-甘露糖、L-岩藻糖、N-乙酰葡萄糖胺、N-乙酰半乳糖胺和唾液酸。唾液酸残基常见于糖链的末端, 细胞表面的负电荷主要由它形成。低聚糖链与蛋白质的连接方式有两种: 一种是 N-连接, 连接于多肽链中的天冬酰胺残基侧链的 $-NH_2$ 基团上; 另一种是 O-连接, 糖链与多肽链中的丝氨酸或苏氨酸残基侧链上的 $-OH$ 基团连接。

由于组成低聚糖侧链的单糖在结合方式、排列顺序、有无分枝以及种类、数量上的差别

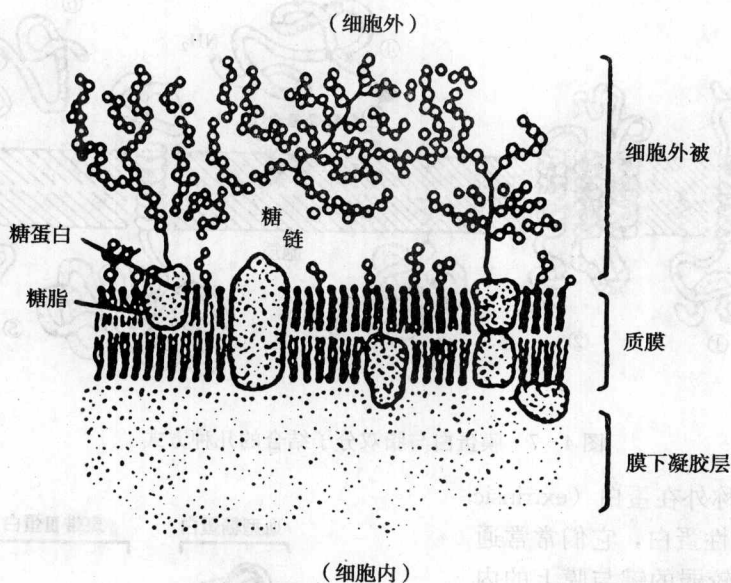


图 4-9 细胞表面示意图

而形成多种多样的组合。又由于它们分布在细胞膜的外表面，首先接受外来信号，因此，膜糖类与细胞免疫、细胞识别、细胞癌变等方面有密切关系。

第二节 膜的分子结构模型

生物膜的化学成分是脂类、蛋白质和少量糖类，它们在膜中是如何排列的？又是如何相互作用的？这对于说明细胞膜的功能是非常有意义的，多年来许多学者进行了多方面的研究，提出了许多模型，现仅介绍几种重要的模型。

一、片层结构模型

1935年，James Danielli 和 Hugh Davson 提出了第一个膜的分子结构模型——片层结构模型 (lamella structure model)。该模型认为，细胞膜是由双层脂类分子及其内外表面附着的蛋白质所构成，脂类分子平行排列并垂直于膜平面，双层脂类的非极性端在膜的内部彼此相对，而分子的极性端向着膜的内外表面，球形蛋白质分子附着在脂双层的内外表面，形成了蛋白质-磷脂-蛋白质三夹板式结构或片层结构 (图 4-10)。

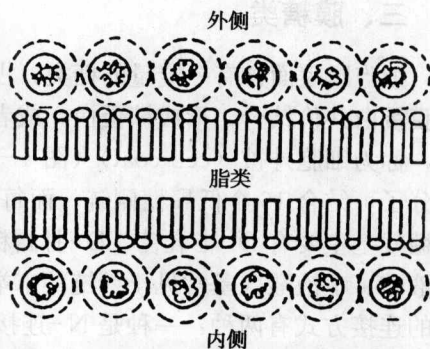


图 4-10 片层结构模型

二、单位膜模型

1959年，J. David Robertson 利用电子显微镜研究观察各种细胞膜和内膜系统，发现均呈三层结

构图像，此结构称为单位膜，在此基础上，Robertson 修改了片层结构模型，提出了单位膜模型 (unit membrane model) (图 4-11)。认为脂双分子层两侧的蛋白质并非球形，而是由单层肽链以 β 折叠形式存在的蛋白质，通过静电作用与磷脂极性端相结合。并认为所有的生物膜都有类似的结构，其厚度基本上是一致的。该模型提出了各种生物膜在形态结构上的共性。但单位膜模型把膜看作是一种静态的单一结构，无法说明膜运动的结构变化与功能之间的关系，另外，还有各种不同生物膜厚度也并非完全一致。显然，该模型对膜的许多现象仍无法作出满意的解释。

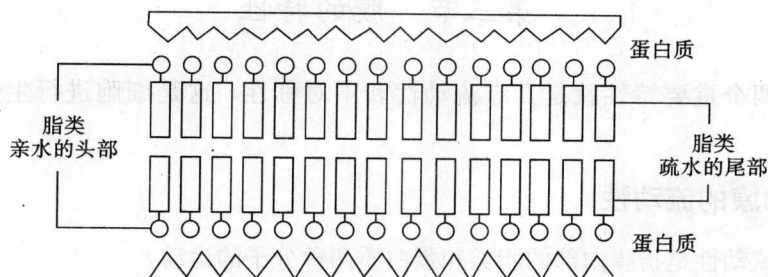


图 4-11 单位膜模型

三、液态镶嵌模型

1972 年 Singer 和 Nicolson 总结了有关膜结构模型以及生物学新技术的研究成果，提出了液态镶嵌模型 (fluid mosaic model) (图 4-12)。它保留了单位膜模型中有关脂双分子层的正确概念，认为生物膜是嵌有球形蛋白质的脂类二维排列的液态体，是一种动态的、不对称的具有流动性特点的结构。脂双分子层构成膜的连续骨架，球形蛋白质分子以镶嵌的形式不同程度地与脂类双分子层相结合。液态镶嵌模型能较好地解释膜中所发生的许多生理现象，特别是脂类双分子层具有流动性，它能迅速地作侧向运动，促使膜蛋白彼此相互作用或与脂类相互作用，这可能是某些代谢作用所必需的。但是它不能很好地说明为什么具有流动性的膜结构在变动过程中又能保持膜结构的相对完整和稳定性。

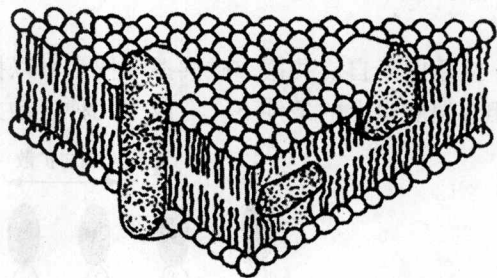


图 4-12 液体镶嵌模型

四、晶格镶嵌模型和板块模型

1975 年 Wallach 提出了一种晶格镶嵌模型，他用液晶相变的理论解释膜具有流动性的原因，认为生物膜的流动性是由于脂类可逆地进行着无序 (液态) 和有序 (晶态) 的相变过程。膜蛋白对脂类分子的运动具有限制作用，镶嵌蛋白及其周围的脂类分子形成膜中的晶态部分 (晶格)，而流动的脂类呈小片、点状分布、面积一般小于 100nm^2 左右，因此，脂类的流动性是局部的，并非整个脂双层都在流动，这就比较合理地解释了为什么生物膜既有流动性，又具相对完整性和稳定性的原因。

1977 年 Jain 和 White 进一步发展了晶格模型，提出了板块镶嵌模型。该模型认为在流

动的脂双层中存在许多大小不同，刚度较大的彼此独立移动的类脂板块（有序结构板块），在这些有序结构的板块之间有流动的脂质区（无序结构的板块），这两者之间可能处于一种连续的动态平衡之中，因而生物膜实际上是由同时存在的具有不同流动性的板块镶嵌而成的动态结构。

晶格模型和板块模型都是对液态镶嵌模型的补充，今后随着新技术在生物膜研究中的应用，可能还会有更合理、更能全面反映膜真实结构的模型。

第三节 膜的特性

生物膜的两个重要特性就是具有流动性和不对称性，这是细胞进行生命活动的必备条件。

一、生物膜的流动性

生物膜的流动性是指膜内部的脂类和蛋白质两种分子的运动。

(一) 膜脂的流动性

生物膜在生理条件下，多呈液晶态，温度下降到某一点时，可从液晶态转变为晶态，当温度上升到某一点时，晶态又可溶解再变成液晶态。这一临界温度值称为相变温度。这种膜脂的状态改变称为相变（phase transition）。生物膜上有各种不同的磷脂，其相变温度各不相同，在某一温度下，有些脂类处于晶态，而另外一些脂类处于液晶态，处于两种不同状态的磷脂分子分别各自汇集而形成相分离（phase separation）。从而形成一些流动性不同的区域。

应用电子自旋共振、磁共振等技术可以探测生物膜中脂类分子的运动，大量研究表明，在相变温度以上的条件下，有以下几种运动方式（图 4-13）。

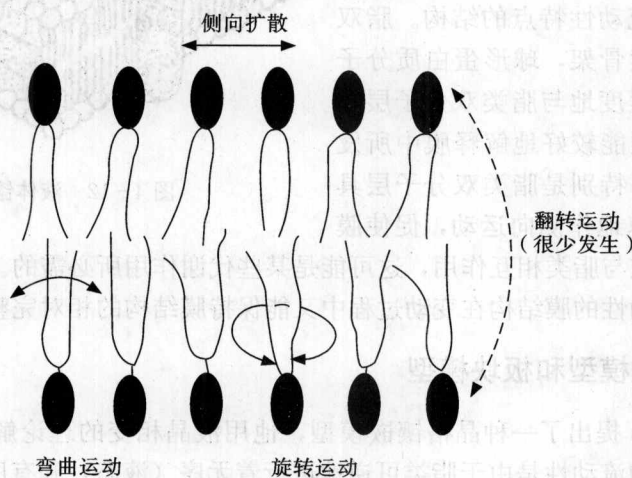


图 4-13 膜脂分子的几种运动方式

1. 侧向扩散 (lateral diffusion)

侧向扩散是指在同一单分子层内的脂类分子与邻近分子交换位置。侧向扩散速度快，每秒约 10^7 次，相当于每秒扩散 $2\mu\text{m}$ 。

2. 旋转运动 (rotation)

膜脂分子围绕与膜平面垂直的轴不断地作快速旋转运动。

3. 翻转运动 (flip-flop)

翻转运动是指膜脂分子从脂双层的一层翻转到另外一层的运动。该运动速度很慢，也很少发生，磷脂分子平均几个小时才翻转一次，这对维持膜脂分子的不对称性是很重要的。

4. 弯曲运动 (flexion)

膜脂的脂肪酸链可作弯曲运动，尾部摆动幅度大、头部摆动小。

(二) 膜蛋白的流动性

膜蛋白在膜中也能进行运动，主要有两种方式。

1. 旋转运动

沿着与膜平面垂直的轴作旋转运动。如位于视杆感光细胞外段的感光视盘膜上的视紫红质就是首先被证明能在膜中作旋转运动的膜蛋白。

膜蛋白的旋转运动具有重要的生理意义，它对酶与底物，蛋白与蛋白之间相互作用时调整正确构象起重要作用。

2. 侧向运动

膜蛋白在膜平面作侧向扩散运动。

1970年，L. David Frye 和 Michael Edidin 用间接免疫荧光法和细胞融合证明了膜抗原蛋白质在脂双层二维平面中可进行侧向扩散。首先用发绿色荧光的荧光素标记小鼠的抗体蛋白，用发红色荧光的罗丹明标记人的抗体蛋白，被标记的抗体分别与小鼠细胞膜和人细胞膜的抗原相结合，这样，它们分别产生绿色荧光和红色荧光。然后将小鼠细胞和人的细胞进行融合，在荧光显微镜下观察，刚融合后的异核细胞一半为红色颗粒，另一半为绿色颗粒，在37℃温度下保温40min后，两种不同颜色的荧光颗粒呈均匀分布（图4-14）。这一实验证明了细胞膜上的抗原蛋白在细胞膜上可进行侧向运动。但是运动速度较慢，一个直径20μm的细胞，膜表面蛋白从细胞的一侧扩散到另一侧需10~60min，比类脂分子慢10~100倍。

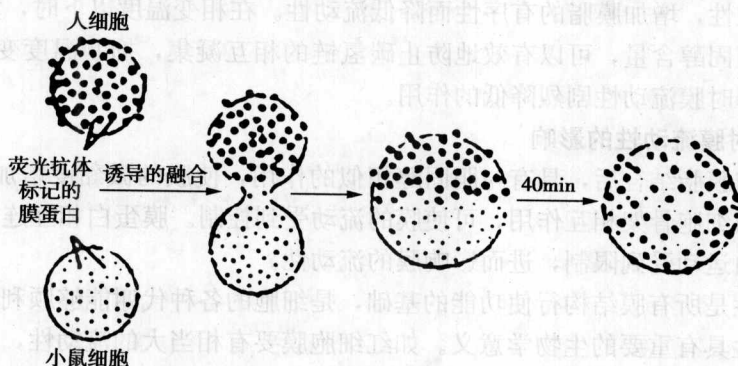


图4-14 小鼠-人细胞融合过程中，膜表面抗原的运动性

(三) 影响膜流动性的因素

1. 膜脂肪酸链不饱和度和链的长度

脂肪酸链上含不饱和双链的部位易弯曲，降低了分子间排列的有序性，增加了流动性。另外，脂肪酸链越短，就越能降低脂肪酸链尾部间的相互作用，使膜流动性增加（图4-15）。

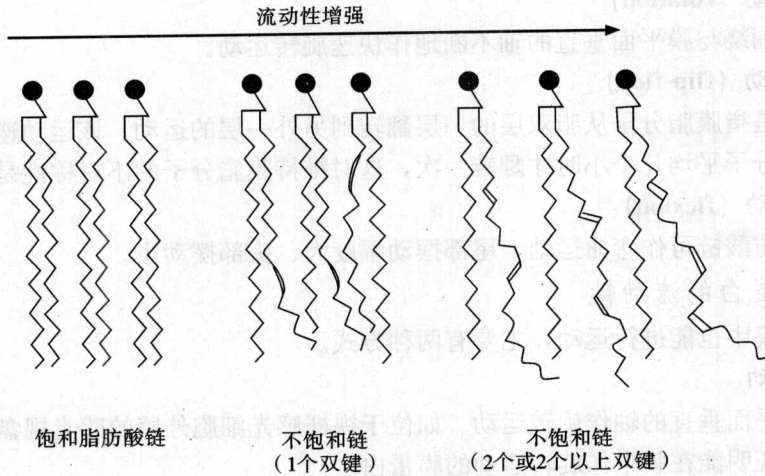


图 4-15 膜脂脂肪酸链不饱和程度与流动性

2. 卵磷脂和鞘磷脂的比例

在哺乳动物细胞膜中，卵磷脂和鞘磷脂的含量约占整个膜脂的 50%，它们的流动性不同，卵磷脂不饱和程度高，脂肪酸链较短，相变温度低，而鞘磷脂饱和程度高，相变温度也较高且范围也宽（在 25℃~35℃之间），在 37℃时，虽然两者都处于流动状态，但鞘磷脂的微黏度值比卵磷脂大 5~6 倍，所以，卵磷脂/鞘磷脂比值越高，膜的流动性越大。在衰老和动脉粥样硬化的细胞膜上卵磷脂和鞘磷脂的比值低，故膜的流动性下降。

3. 膜中胆固醇的影响

真核细胞膜中含有大量的胆固醇，是调节膜流动性的重要因素。在脂双分子层中。胆固醇分子的羟基紧紧靠近磷脂分子的极性头部，而刚性的板状固醇环与接近磷脂极性头部的碳氢链相互作用，在相变温度以上时，胆固醇可抑制磷脂分子脂肪酸链旋转异构化运动，加强膜脂双层的稳定性，增加膜脂的有序性而降低流动性。在相变温度以下时，大部分真核细胞膜上所存在的胆固醇含量，可以有效地防止碳氢链的相互凝集，抑制温度变化引起的相变，阻碍了温度下降时膜流动性剧烈降低的作用。

4. 膜蛋白对膜流动性的影响

内在蛋白与膜脂结合后，具有与胆固醇相似的作用，使膜的微黏度增加，流动性降低。另外，膜蛋白与细胞骨架相互作用，可使膜的流动受到控制。膜蛋白相互连接，特化为细胞连接而使膜蛋白运动受到限制，进而影响膜的流动性。

膜的流动性是所有膜结构行使功能的基础，是细胞的各种代谢能够顺利进行的保证。因此，膜的流动性具有重要的生物学意义。如红细胞膜要有相当大的流动性，才能使膜具有变形能力，穿越毛细血管而携带氧。细胞的物质运输、溶酶体的消化作用、膜受体的运动、信息传递、细胞周期、细胞分化等都与膜的流动性密切相关。

二、生物膜的不对称性

(一) 膜脂的不对称性

膜脂双分子层的不对称性表现在同一种膜脂分子在膜的脂双分子层中呈不对称分布，但不是绝对的，仅含量上有差异，如人红细胞膜中的鞘磷脂和磷脂酰胆碱主要分布在脂双层的

外层，而磷脂酰丝氨酸和磷脂酰乙醇胺主要分布于脂双层的内层。

糖脂不对称分布是绝对的，它都分布在细胞膜脂双层的外面。

膜脂不对称分布的生物学意义尚不清楚，可能与膜蛋白的相互作用有关，对保持膜蛋白在脂双层中的正确位置是非常重要的。

(二) 膜蛋白不对称性

所有的膜蛋白在细胞膜上都呈不对称分布，每种膜蛋白在膜内都有特定的排布方向，如细胞表面受体、膜上载体蛋白等都是按一定方向传递信号和转运物质的。又如血型糖蛋白肽链的 N 端在细胞膜的非胞质侧，而斑带 III 蛋白的 N 端却在细胞膜的胞质侧。与细胞膜相关的酶促反应也都发生在膜的某一侧面，如细胞膜外表面有 Mg^{2+} -ATP 酶，5'-核苷酸酶、磷酸酯酶等，细胞膜的内表面有腺苷酸环化酶。膜蛋白的不对称性特别表现在糖蛋白上，其糖残基都分布在细胞膜的非胞质侧。

用冰冻蚀刻技术得到膜的两个剖面（图 4-16），可以清楚地看到，颗粒分布并非随机的，而是有着明显差异，如红细胞膜冰冻蚀刻标本显示内层细胞质侧蛋白颗粒约 2800 个/ μm^2 ，而外层非细胞质侧蛋白颗粒只有 1400 个/ μm^2 。

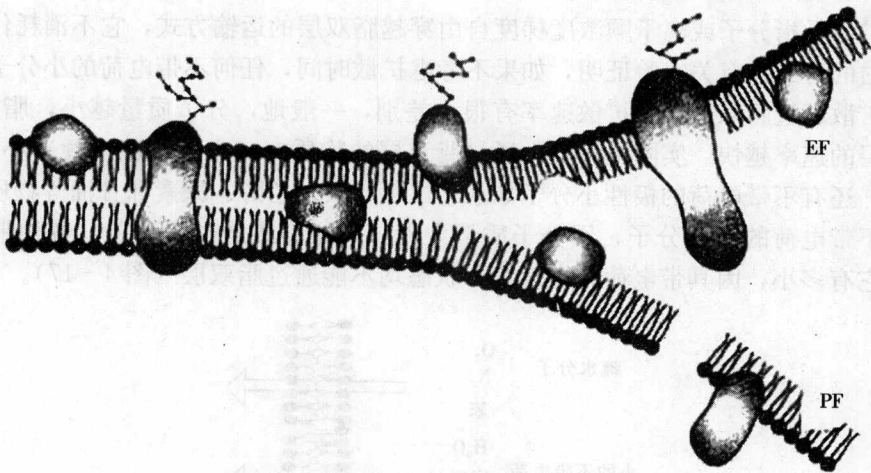


图 4-16 生物膜各膜面的名称

冷冻断裂复型技术所显示的两个断裂面，即 EF 面和 PF 面

可见膜蛋白分布的不对称性是绝对的，这种不对称性决定了细胞膜内外表面功能的特异性。如红细胞的外表面受体蛋白具有细胞识别的功能，而内表面血影蛋白则对维持红细胞特有的外形具有重要作用。

第四节 细胞膜的物质运输

细胞膜是细胞与外界环境之间的界膜，具有十分重要的生理功能，它是物质运输、能量转换、信息传递的场所，又与细胞识别、细胞通讯以及细胞免疫有关。以维持细胞的正常生命活动。

活细胞都要通过细胞膜与外界环境进行物质交换，摄取营养物质，排出代谢产物，这是

细胞进行正常生理活动所必需的基本条件。

各种不同细胞的细胞膜在不同条件下，对不同物质的通透性不同，按其物质大小可分为小分子物质的运输及大分子和颗粒物质的膜泡转运。

一、小分子和离子的跨膜转运

细胞膜的脂双层由于内部是疏水性的，因此不允许大多数极性和水溶性分子通过，只有极少数脂溶性、非极性或不带电荷的小分子可以自由扩散进出细胞。但细胞要摄取营养，排泄代谢废物，调节细胞内外离子浓度。因此运送水溶性的、带电荷的营养物、代谢物以及离子等小分子物质主要是靠膜运输蛋白完成的。

小分子物质和离子的跨膜转运分为被动运输和主动运输两大类。

(一) 被动运输

被动运输 (passive transport) 是指物质顺浓度梯度，从高浓度一侧通过细胞膜转运到低浓度一侧，物质转运的动力来自膜两侧的浓度梯度，因此，不消耗代谢能。

被动运输包括简单扩散和协助扩散

1. 简单扩散 (simple diffusion)

简单扩散是指分子或离子顺浓度梯度自由穿越脂双层的运输方式，它不消耗代谢能，也不需膜蛋白的帮助。有关实验证明，如果不考虑扩散时间，任何不带电荷的小分子都可以顺浓度梯度扩散通过脂双层，但扩散速率有很大差别，一般地，分子质量越小，脂溶性越大，通过脂双层的速率越快。实际上可自由通过脂双层的物质有疏水性 (脂溶性) 小分子如氧、氮、苯等，还有不带电荷的极性小分子如水、二氧化碳、乙醇、尿素和甘油等物质，而像葡萄糖这类不带电荷的极性分子，因分子质量太大，不能直接通过脂双层。各种带电荷的离子，不管它有多小，因其带电荷和高度水合状态均不能通过脂双层 (图 4-17)。

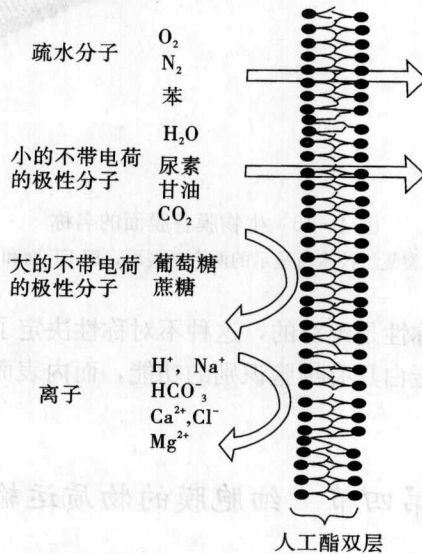


图 4-17 人工脂双分子层对不同分子的相对透性

2. 协助扩散 (facilitated diffusion)

协助扩散又称易化扩散，是指一些非脂溶性或亲水性分子，如葡萄糖、氨基酸和各种离

子等借助细胞膜上的特殊膜蛋白的介导，顺浓度梯度进行的、不消耗代谢能的物质转运。这些介导物质运输的膜蛋白称为膜转运蛋白 (membrane transport protein)，它们都是跨膜蛋白，通常每种跨膜蛋白只转运一种特定的物质。

根据膜转运蛋白介导运输的形式不同，将它们分为两类：载体蛋白 (carrier protein) 和通道蛋白 (channel protein)。

(1) 载体蛋白介导协助扩散

载体蛋白是一种跨膜蛋白，它能与特定的物质相结合，通过可逆性构象变化，顺浓度梯度进行物质转运。该过程也不需消耗代谢能。

载体蛋白的功能细节尚不清楚，一般认为载体蛋白有特异的结合位点，只能与某一种物质进行暂时的、可逆的结合和分离，当与某一物质结合后，构象改变，其亲和力下降，物质与载体分离，载体蛋白恢复到原来的构象，物质则从细胞膜的一侧转运到另一侧 (图 4-18)。

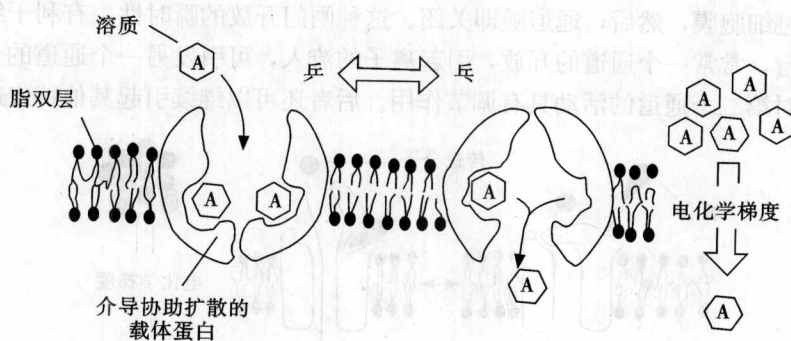


图 4-18 载体蛋白通过构象变化介导溶质 A 协助扩散模式图 (引自 B. Alberts)

根据载体蛋白转运物质的方向可分为单运输 (uniport) 和协同运输 (coupled transport)。在单运输中，载体蛋白只将一种物质从膜的一侧转运到膜的另一侧。在协同运输中，载体蛋白在转运一种物质的同时，要转运另一种物质。若两种物质转运的方向相同，称共运输 (symport)，若转运的方向相反，则称对向运输 (antiport) (图 4-19)。

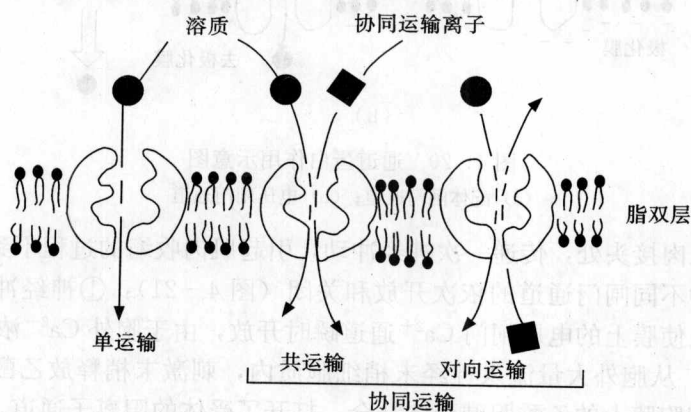


图 4-19 转运蛋白的单运输、共运输与对向运输 (引自 B. Alberts)

(2) 通道蛋白介导的协助扩散

通道蛋白是靠形成贯穿质膜的亲水性通道来完成物质运输的。它能允许适当大小的和带电荷的离子以简单扩散的方式通过通道蛋白进出细胞，运输的对象仅限于离子，如 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Cl^- 等。通道运输的速率是很高的，平均高出载体运输的 100 倍以上，每秒可有 10^6 个离子通过一个通道。

还有一些通道蛋白形成的通道与上述通道不同，它不是持续开放的，而是间断开放，受闸门控制的。闸门实际上是通道蛋白构象变化形成的不同开闭形态。当通道蛋白受到特定的刺激时，发生构象改变，闸门瞬时开放，随后关闭，开放的时间很短，仅几个毫秒时间。引起闸门开放的特异性刺激有配体、膜电压变化、胞内离子的改变等。当配体与细胞表面特定受体结合时，引起闸门开放，称配体闸门通道 (ligand gated channel)。若膜电位变化引起闸门开放，称电压闸门通道 (voltage gated channel) (图 4-20)。因细胞内离子浓度变化引起闸门开放的，称离子闸门通道 (ion gated channel)。例如：胞质中游离 Ca^{2+} 浓度增加时，引起一些 K^+ 通道打开，闸门通道在瞬时开放时，一些离子、代谢物或其他物质顺浓度梯度自由扩散通过细胞膜，然后，通道随即关闭。这种闸门开放的瞬时性，有利于细胞内一些顺序性活动的进行，常常一个通道的开放，引起离子的流入，可引发另一个通道的开放。第一个通道的关闭，对第二个通道的活动具有调节作用。后者还可以继续引起其他特定通道的开放。

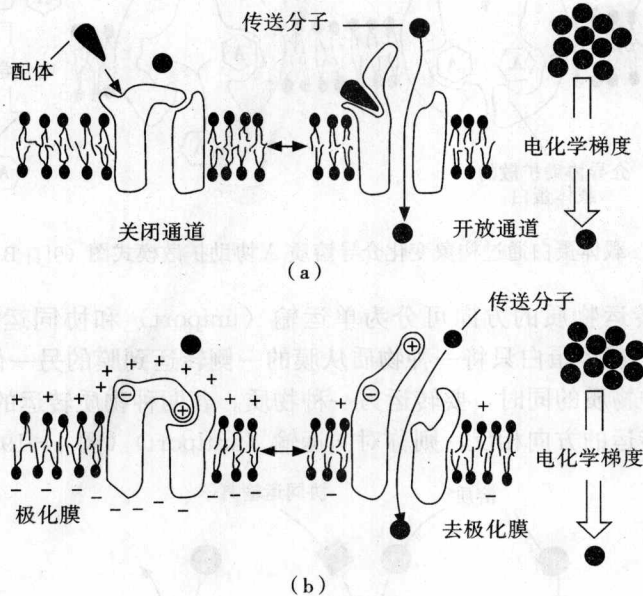


图 4-20 通道蛋白作用示意图
(a) 配体闸门通道；(b) 电压闸门通道

例如：神经肌肉接头处，传递一次神经冲动，引起肌肉收缩的过程不到一秒钟时间，但整个过程包括 4 种不同闸门通道的依次开放和关闭 (图 4-21)：①神经冲动到达神经终板时，质膜去极化，使膜上的电压闸门 Ca^{2+} 通道瞬时开放，由于胞外 Ca^{2+} 浓度比胞内高 1000 倍以上，所以 Ca^{2+} 从胞外大量流入神经末梢细胞质内，刺激末梢释放乙酰胆碱；②乙酰胆碱与突触后的肌细胞膜上的乙酰胆碱受体结合，打开了受体的阳离子通道， Na^+ 大量内流入胞，引起局部膜去极化；③细胞膜去极化促使膜上的电压闸门 Na^+ 通道开放，使更多的 Na^+ 进入胞内，膜进一步去极化，促使更多的电压闸门 Na^+ 通道开放，导致整个膜形成去极化波——动作电位；④肌细胞膜的去极化引起肌质网上的电压闸门 Ca^{2+} 通道打开， Ca^{2+} 从高浓

度的肌质网中流入胞质，使胞质内的 Ca^{2+} 浓度突然增加，从而引发胞内的肌原纤维收缩。

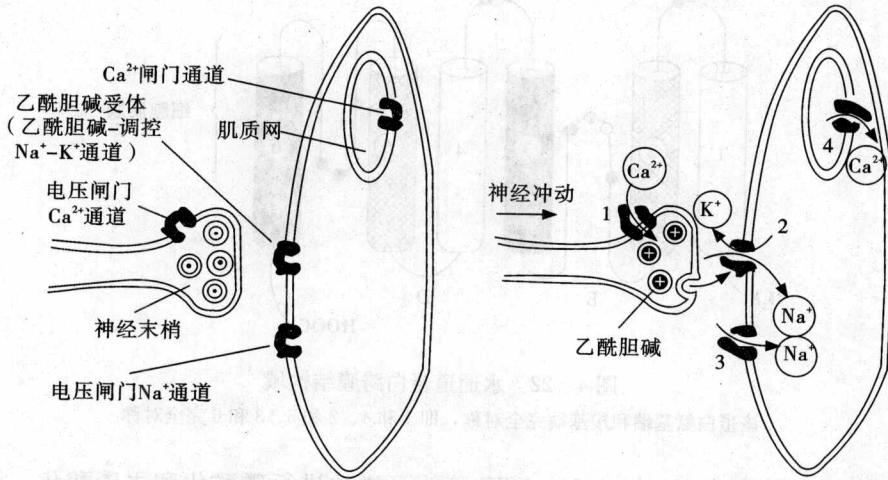


图 4-21 神经肌肉接头处的闸门通道

(3) 水的被动运输

人体重量的 70% 是水，水是构成生物体最重要的物质之一。水是一种特别的物质，水分子不溶于脂并具有极性，但很容易通过细胞膜。大部分水是直接通过脂双层进入细胞的，有一部分水是通过蛋白通道进行扩散的，20 世纪 90 年代发现的水通道 (water channel 或 aquaporin, AQP)，为快速跨膜运输水的专用通路。迄今已克隆出 10 种水通道基因 AQP0~AQP9，在全身各组织均有表达，对机体各部位的水分泌与吸收起重要作用。如肾近曲小管每天重吸收水量超过 150L，就是通过 AQP1 型通道完成的，每秒流经每个 AQP 通道的水分子达 3×10^9 个。鼻部有大量的 AQP3，内耳也检测出 AQP1，这些发现对探讨变应性鼻炎和梅尼埃病的发病机制和防治方法起重要作用。AQP1 也存在于其他组织的细胞中，AQP1 及它的同系物能够让水自由通过，但不允许离子或其他的小分子通过。

AQP1 是由四个相同的亚基构成，每个亚基的分子质量为 28ku，有 6 个跨膜结构域，在跨膜结构域 2 与 3、5 与 6 之间有一个环状结构，是水通过的通道。另外，AQP1 的氨基端和羧基端的氨基酸序列是严格对称的，因此，同源跨膜区 (1 和 4、2 和 5、3 和 6) 在质膜的双层中的方向相反 (图 4-22)。AQP1 对水的通透性受氯化汞的可逆性抑制，对汞的敏感位点是结构域 5 与 6 之间的 189 位的半胱氨酸。

(二) 主动运输

主动运输 (active transport) 是指物质的逆浓度梯度运输，即物质从低浓度一侧转运到高浓度一侧的运输方式，需载体蛋白的帮助及能量的供应。主动运输普遍存在于动植物细胞及微生物细胞中，如人红细胞内 K^+ 含量相当于血浆中 K^+ 含量的 30 倍，而 Na^+ 浓度低于细胞外 10~20 倍，这种胞内外离子浓度差的维持，就是靠 Na^+-K^+ 泵的作用。

1. Na^+-K^+ 泵

Na^+-K^+ 泵实际上是一种 Na^+-K^+ ATP 酶，它是由一个大的多次穿膜的催化亚基和一个小的糖蛋白相连组成的。小的糖蛋白功能尚不清楚，催化亚基在胞质面有 Na^+ 和 ATP 的结合位点，在膜外侧有与 K^+ 或乌本苷的结合位点 (图 4-23)。乌本苷是 Na^+-K^+ ATP 酶抑制

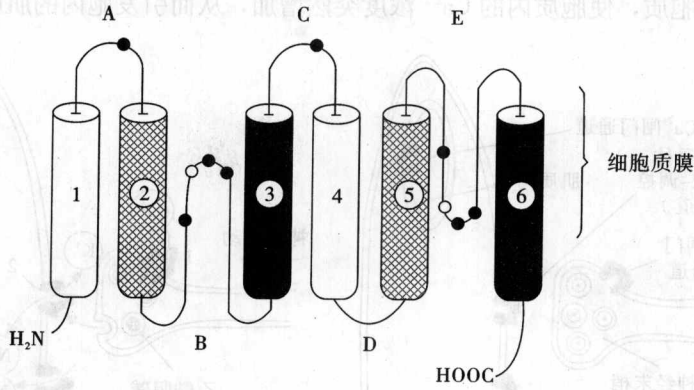


图 4-22 水通道蛋白跨膜结构域

该蛋白氨基端和羧基端完全对称，即 1 和 4、2 和 5、3 和 6 完全对称

剂，可与 K^+ 竞争结合位点。 Na^+-K^+ ATP 酶能可逆地进行磷酸化和去磷酸化。研究证明，当膜内侧的 Na^+ 与 ATP 酶结合后，激活了 ATP 酶的活性，使 ATP 分解成 ADP 和高能磷酸根，高能磷酸根与酶结合，使酶磷酸化，这种依赖 Na^+ 的磷酸化引发了酶构象改变，于是与 Na^+ 结合的部位转向膜外侧。这种磷酸化的酶对 Na^+ 的亲合力低，对 K^+ 的亲合力高，导致 Na^+ 被运送出细胞，而与 K^+ 结合。 K^+ 与磷酸化酶结合后促使酶去磷酸化，磷酸根水解脱落，结果酶的构象又恢复原状，这样与 K^+ 结合的部位转向膜内侧。这种去磷酸化的构象与 K^+ 亲合力低，结果 K^+ 被运送入细胞。但这种构象与 Na^+ 的亲合力高，于是又与 Na^+ 结合，重复上述磷酸化与去磷酸化过程。由此将 Na^+ 不断的排出胞外，将 K^+ 泵入细胞内 (图 4-24)。

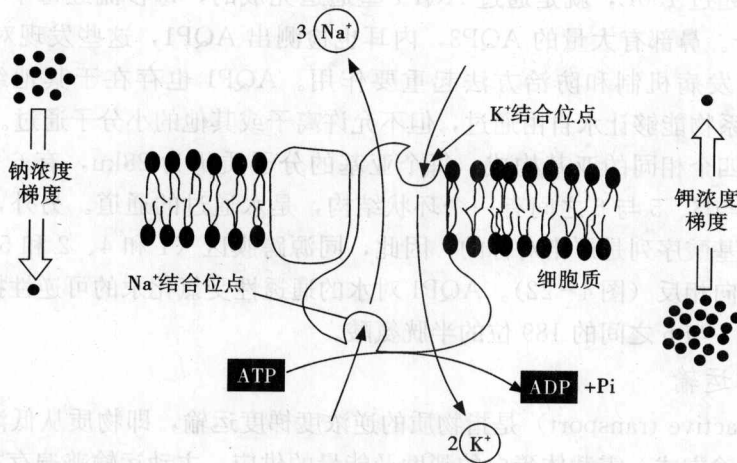
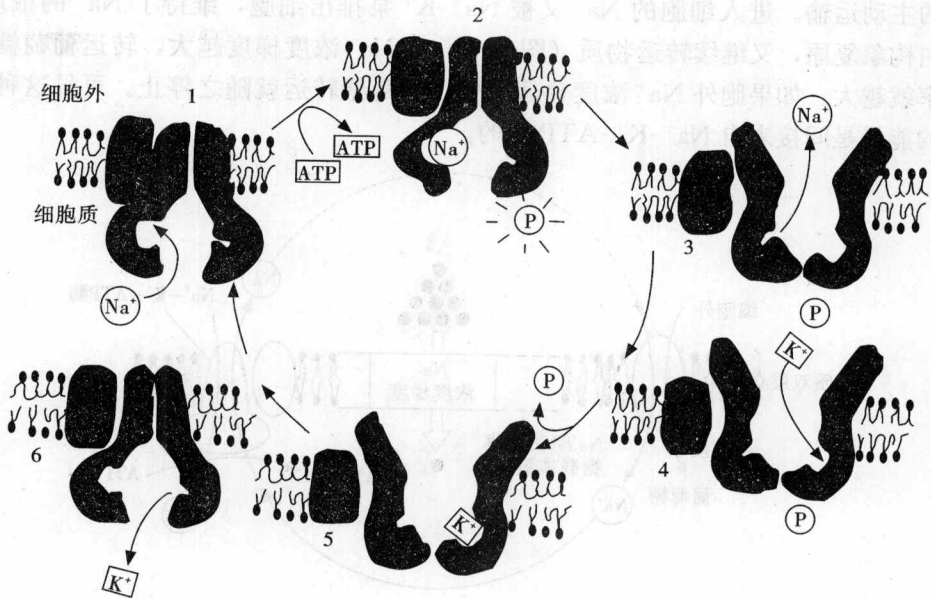


图 4-23 Na^+-K^+ 泵示意图

Na^+-K^+ ATP 酶每水解 1 分子 ATP，可同时泵出 3 个 Na^+ ，泵入 2 个 K^+ 。结果形成细胞外高钠、细胞内高钾的特殊离子浓度梯度。这种浓度梯度有利于维持细胞内外渗透压的平衡，并保证了另一些物质的主动运输，如钠离子浓度梯度中储存的能量使某些载体蛋白可同向或异向的主动运输氨基酸或葡萄糖进入细胞，把 H^+ 运出细胞。还在膜电位形成中起重要

图 4-24 $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATP 酶活性模型

1— Na^+ 结合到酶内表面；2—酶磷酸化；3—酶构象变化， Na^+ 释放到细胞外；4— K^+ 结合到酶外表面；5—酶去磷酸化；6— K^+ 释放到细胞内，酶构象恢复原始状态（引自 B. Alberts 等）

作用。

2. Ca^{2+} 泵

真核细胞胞质中游离 Ca^{2+} 的浓度很低（约 10^{-7} mol/L），而细胞外 Ca^{2+} 浓度则很高（约 10^{-3} mol/L）。这种细胞内外的 Ca^{2+} 梯度差是由细胞膜上的 Ca^{2+} 泵维持的， Ca^{2+} 泵主动将胞质中的 Ca^{2+} 转运到细胞外。在肌细胞中 Ca^{2+} 泵主要存在于肌质网膜上，它能将胞质中的 Ca^{2+} 运送入肌质网，使其中 Ca^{2+} 的浓度也大大高于细胞质。

目前了解最清楚的钙泵是肌质网膜上的 $\text{Ca}^{2+}\text{-ATP}$ 酶，它约占肌质网膜蛋白重量的 90%。 Ca^{2+} 泵与 $\text{Na}^+\text{-K}^+$ 泵一样，也是 ATP 酶，在其转运 Ca^{2+} 的过程中也经历磷酸化和去磷酸化的过程，每水解 1 分子 ATP 把 2 个 Ca^{2+} 从胞质泵入肌质网内，所以，肌质网是肌细胞内储存 Ca^{2+} 的场所。肌细胞基质中 Ca^{2+} 浓度的变化影响肌纤维的收缩和舒张，当神经兴奋传到肌质网时，引起肌质网中的 Ca^{2+} 释放到胞质中，当浓度达到 10^{-5} mol/L 时，引起肌纤维收缩，随后 Ca^{2+} 泵负责把 Ca^{2+} 从胞质泵进肌质网，肌纤维重新舒张。

膜两侧的这种钙离子浓度梯度有十分重要的意义，当外界信号作用于细胞时， Ca^{2+} 顺浓度梯度流入细胞，形成钙离子流使细胞质中的 Ca^{2+} 浓度增高，这对于跨膜信息传递是十分重要的。

3. 离子梯度驱动的主动运输

有些物质进行主动运输的动力不是来自 ATP，而是来自储存于离子梯度中的能量。在动物细胞中最常见的是由 Na^+ 的电化学梯度对另一种物质的主动运输提供驱动力。如小肠和肾脏上皮细胞中有多种同向运输系统，每个系统特异地将一组有关的糖或氨基酸运入细胞。在这些运输系统中，所转运物质与 Na^+ 结合于同一载体的不同位点上，由于 Na^+ 可顺电化梯度流入细胞，这样就把所运物质一同带进细胞，再与载体蛋白脱离，实现了葡萄糖或

氨基酸的主动运输。进入细胞的 Na^+ 又被 Na^+-K^+ 泵排出细胞，维持了 Na^+ 的浓度梯度，载体蛋白构象复原，又继续转运物质（图 4-25）。 Na^+ 浓度梯度越大，转运葡萄糖或氨基酸的速率就越大。如果胞外 Na^+ 浓度显著降低，葡萄糖转运就随之停止。可见这种协同运输系统的能量是间接来自 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶的。

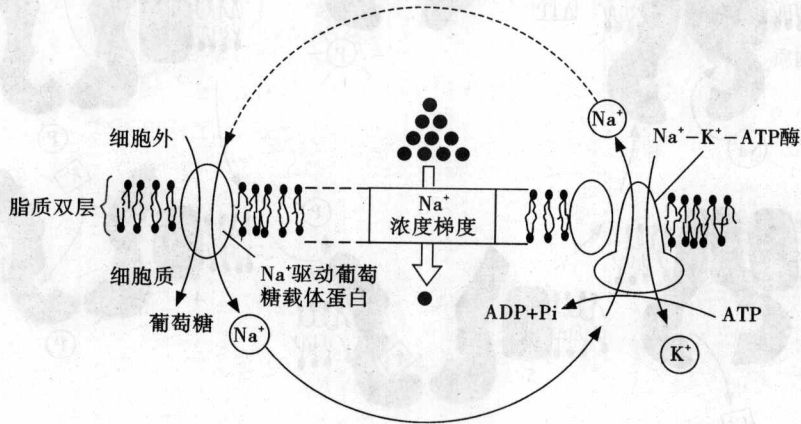


图 4-25 Na^+-K^+ 泵维持的 Na^+ 梯度驱动葡萄糖主动运输示意图

在许多上皮细胞中，载体蛋白在质膜上的分布是不对称的，使被吸收的物质作穿越细胞的运输。如肠上皮细胞中 Na^+ -葡萄糖同向运输系统位于细胞膜的游离面，主动运输葡萄糖进入细胞，使细胞内葡萄糖的浓度比肠腔高 176 倍。而将胞内葡萄糖运出细胞的载体蛋白位于细胞的基底面或侧面，经易化扩散进入细胞外液。维持电化学梯度的 Na^+-K^+ 泵也位于基底面，负责将 Na^+ 排出胞外（图 4-26）。

在所有脊椎动物细胞中，有一种由 Na^+ 梯度驱动的同向运输，就是 Na^+-H^+ 交换载体，对维持细胞内的 pH 值（一般在 7.1~7.2）起关键作用。这种载体将 H^+ 输出与 Na^+ 流入相偶联，可清除细胞内代谢所产生的过量氢离子，这种载体的活动受细胞内 pH

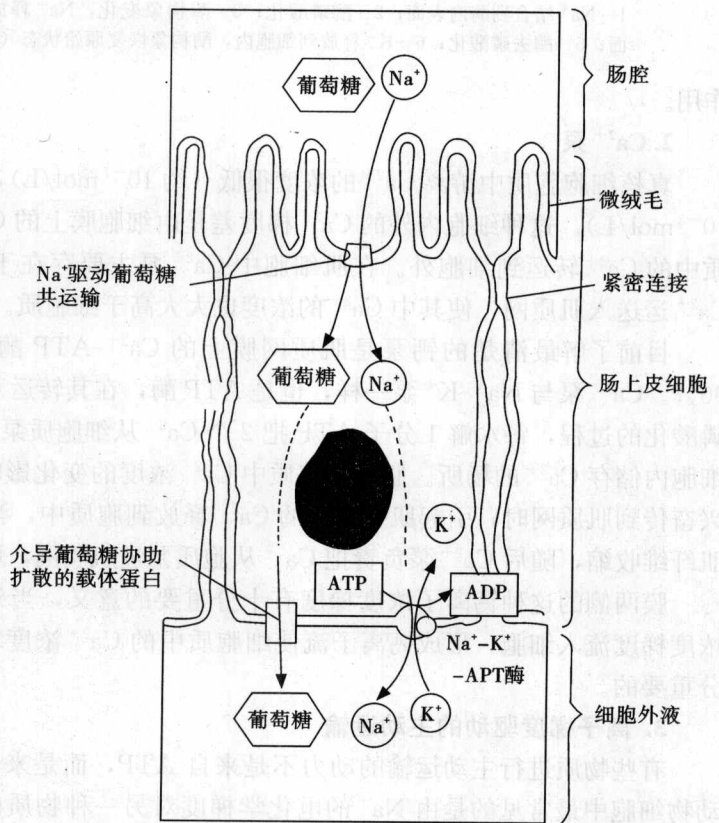


图 4-26 肠上皮细胞的转运蛋白不对称分布造成葡萄糖从肠腔到血液的跨细胞运输

值的调节, pH 值愈低, 交换愈活跃, 当 pH 值上升到一定程度, 这种载体交换停止活动, 因为在载体的细胞质面有一个调节位点, 细胞内 H^+ 增多时就结合在该位点上, 提高运输速率。

二、大分子和颗粒物质的膜泡转运

细胞膜上的转运蛋白不能转运大分子物质, 如蛋白质、多核苷酸和多糖等, 但事实上大多数细胞能够摄入和排出特定的大分子, 甚至能吞入大的颗粒, 细胞运送这些大分子的机制不同于小分子和离子的转运, 它是通过一系列囊泡有顺序的形成和融合来完成物质运输的。因此称膜泡转运。它是通过两种特殊机制完成的, 这就是细胞的胞吞作用和胞吐作用。

(一) 胞吞作用

当细胞摄取大分子或颗粒物质时, 它们首先附着于细胞表面, 然后质膜内陷, 从质膜上分离下来形成细胞内小泡, 其中含有被摄入的物质, 该过程称胞吞作用 (endocytosis) (图 4-27)。根据形成小泡的大小和内容物的不同可分为 3 种类型: 吞饮作用、吞噬作用和受体介导的胞吞作用。

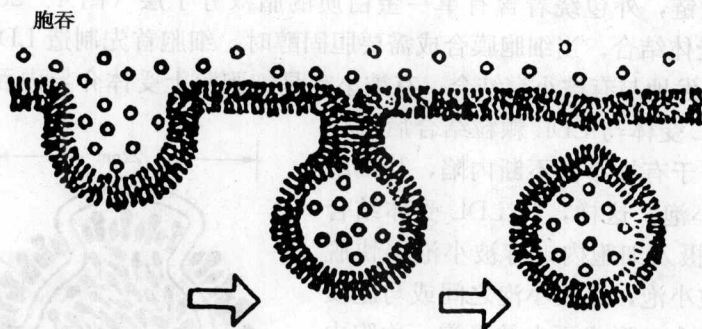


图 4-27 质膜的胞吞作用

1. 吞饮作用

细胞摄取直径小于 150nm 的可溶性物质的过程, 称吞饮作用 (pinocytosis)。吞饮作用是细胞摄入多种大分子物质的主要途径, 也是大多数细胞经常进行的一种活动。细胞吞饮时, 局部质膜下陷形成小凹, 再逐渐脱离质膜形成胞饮小泡 (pinocytic vesicle) 或胞饮体 (pinosome)。其中含有被吞入的可溶性物质和细胞外液。通常小泡相互融合, 其内容物被溶酶体降解, 产生的小分子物质, 如氨基酸、核苷酸和糖则进入细胞质被细胞利用。而小泡的膜不被降解, 它可通过各种途径回到细胞膜。

2. 吞噬作用

细胞摄入直径大于 250nm 的颗粒物质, 如细菌、细胞碎片等进行消化的过程, 称吞噬作用 (phagocytosis)。吞噬的过程是: 当被吞噬的物质与细胞表面接触时, 引发局部质膜伸出伪足, 包围细胞外的颗粒物质, 形成吞噬体 (phagosome)。然后吞噬体与溶酶体融合, 其中被吞噬的物质被溶酶体酶消化降解, 产生的小分子物质进入胞质, 被细胞再利用。

在哺乳动物体内大多数细胞不能进行吞噬作用, 只有几种具有吞噬功能的细胞才具有这种吞噬作用, 如巨噬细胞和中性粒细胞。巨噬细胞广泛分布在血液和组织中, 在清除衰老和损伤的细胞及细胞碎片中起重要作用。中性粒细胞是一种血细胞, 它们在体内担负消灭入侵

微生物的责任，使机体免受感染。

3. 受体介导的胞吞作用

细胞通过膜上的受体介导摄入特定大分子的过程，称受体介导的胞吞作用 (receptor mediated endocytosis)。它具有的特点是：所要摄入的大分子即配体在细胞膜上有特异的受体；配体与受体识别、结合后激发胞吞作用；受体与配体形成复合物聚集在细胞膜的有被小窝 (coated pit) 内，进一步内陷形成有被小泡 (coated vesicle) 进入细胞内。因此，受体介导的内吞作用具有一种选择性浓缩机制，使细胞能够摄取大量的特定配体而不必吸收大量相应的细胞外液，所以细胞摄入配体的效率提高了 1000 倍。

动物细胞摄取胆固醇的过程就是受体介导的胞吞作用中的典型例子。胆固醇是构成膜的脂类成分，也可以合成一些类固醇激素 (如肾上腺皮质激素等)。细胞通过受体介导的胞吞作用摄入所需的大部分胆固醇。如果此过程受阻，胆固醇就积累在血液中，导致血管壁形成动脉粥样硬化的斑块。由于胆固醇不溶于水，因此必须与蛋白质结合成复合物，称 LDL (low density lipoprotein, 低密度脂蛋白)，这样才能转运到各组织中参加代谢。研究表明，LDL 为大的球状颗粒，直径 22nm，每个 LDL 有一个核心，其中约 1500 个胆固醇分子，被脂化成长的脂肪酸链，外包绕着含有单一蛋白质的脂双分子层 (图 4-28)，该蛋白介导 LDL 与细胞表面受体结合。当细胞膜合成需要胆固醇时，细胞首先制造 LDL 受体蛋白，并插入到膜中，并自发地与有被小窝结合，有被小窝是细胞膜上受体介导内吞开始的特化区，其他部位上的 LDL 受体与 LDL 颗粒结合后也移

向有被小窝中，由于有被小窝不断内陷，与细胞膜断开形成有被小泡，这样，与 LDL 受体结合的 LDL 颗粒就被摄入细胞内，有被小泡很快脱掉外被，形成无被小泡，无被小泡之间或与胞质中其他小泡发生融合，形成更大的囊泡，称胞内体 (endosome)，在其膜上的 H^+ -ATP 酶作用下， H^+ 被泵入胞内体，当 pH 值达到 5~6 的酸性条件下，受体构象发生变化，受体与 LDL 颗粒分离，将它们分到两个不同的小囊泡中，含 LDL 受体的小囊泡又返回细胞膜，插入有被小窝中，准备再结合其他的 LDL 颗粒。含有 LDL 的小囊泡与溶酶体融合，在溶酶体内被溶酶体酶降解，形成游离的胆固醇，成为细胞中新膜合成所利用的物质 (图 4-29)。如果胆固醇在细胞内积累过多，细胞就停止胆固醇的合成及 LDL 受体蛋白的合成，这样，就使细胞合成和摄入的量减少以进行调节。

此外，目前了解到在细胞膜上尚有激素、铁传递蛋白等重要分子的受体，这些分子也是通过这种途径进入细胞的。

用冰冻蚀刻技术发现，有被小窝和有被小泡的外衣在电镜下呈网格样结构，分析得知由数种蛋白质组成，其中最主要的蛋白质是网格蛋白 (clathrin, 也称笼蛋白、包涵素、包涵蛋白)，是一种蛋白质复合物，由 3 条重链和 3 条轻链组成。重链是一种纤维蛋白质，分子质量为 180ku，轻链是较小的多肽，分子质量 35ku，两者组成二聚体，三个二聚体形成了组成包被的结构——三脚蛋白复合物 (triskelion)。36 个三脚蛋白复合物聚合成六边形或五

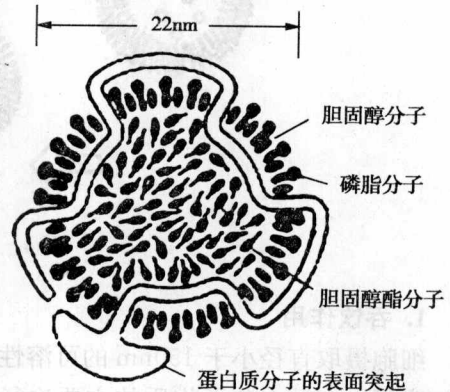


图 4-28 低密度脂蛋白颗粒横切面

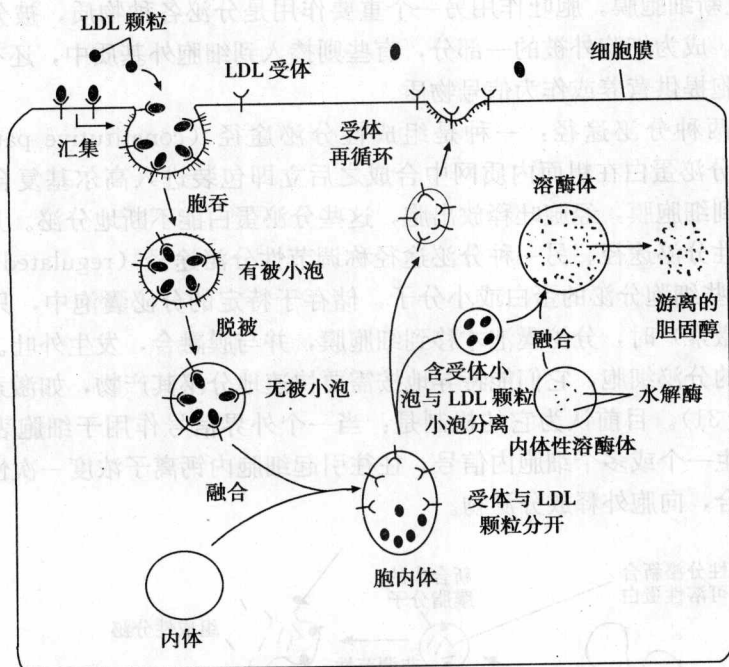


图 4-29 低密度脂蛋白 (LDL) 受体介导的胞吞作用

边形的网格，组成篮网结构，覆盖于有被小窝（有被小泡）细胞质侧面。三角复合物网架具有自我装配的能力，在体外实验时，在试管中能自动装配成封闭的篮网结构（图 4-30）。

由网格蛋白质包被的有被小窝有两个作用：牵拉质膜向内凹陷，形成有被小窝；捕获膜上的受体聚集于有被小窝内。当配体与膜上受体结合后，网格蛋白聚集在膜的胞质侧，牵动质膜凹陷，形成网格蛋白有被小窝，一种小分子 GTP 结合蛋白-发动蛋白（dynamin）在深陷的有被小窝颈部缢缩，脱离质膜形成网格蛋白有被小泡。有被小泡形成后，网格蛋白即脱离有被小窝返回质膜，被重新利用。有被小泡与早期内体融合，进一步进行细胞内消化。

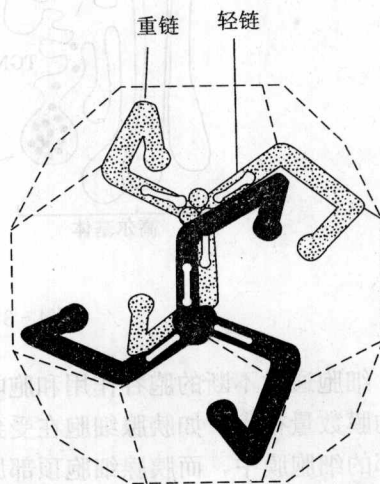


图 4-30 网格蛋白三腿复合物示意图

除受体介导的内吞作用外，其他的胞饮中也出现

有被小泡，还出现在细胞器之间的物质转运中，如内质网到高尔基复合体，高尔基复合体各膜囊之间都可形成有被小泡，只是外被的成分和结构与受体介导中的有被小泡有所不同。

（二）胞吐作用

与胞吞作用过程相反，细胞内的一些物质被一层膜所包围，形成小囊泡，并逐渐移到细胞膜，小囊泡的膜与细胞膜融合在一起，产生小孔，使其小囊泡里面的物质排出胞外，这个过程称胞吐作用（exocytosis）。

细胞通过胞吐作用补充因内吞作用减少的细胞膜及一些膜上的特异成分（如膜表面受

体)，以补充和更新细胞膜。胞吐作用另一个重要作用是分泌各种物质，被分泌的物质有些黏附在细胞表面，成为细胞外被的一部分，有些则掺入到细胞外基质中，还有些进入间质或血液，为其他细胞提供营养或作为信号物质。

胞吐作用有两种分泌途径：一种是组成性分泌途径（constitutive pathway of secretion），是指某些分泌蛋白在粗面内质网中合成之后立即包装进入高尔基复合体的分泌囊泡中，然后很快带到细胞膜，经胞吐释放出胞，这些分泌蛋白能不断地分泌。几乎所有的细胞都存在这种组成性分泌途径。另一种分泌途径称调节性分泌途径（regulated pathway of secretion），是指某些细胞分泌的蛋白或小分子，储存于特定的分泌囊泡中，只有当细胞接受细胞外信号（如激素）时，分泌囊泡才移到细胞膜，并与膜融合，发生外吐。这种分泌途径主要存在于特化的分泌细胞，它们能特异地按需要快速地分泌其产物，如激素、消化酶和神经递质等（图 4-31）。目前认为它的机制是：当一个外界信号作用于细胞表面受体后，受体被激活后又产生一个或多个细胞内信号，往往引起细胞内钙离子浓度一次性增高，使分泌囊泡与细胞膜融合，向胞外释放分泌物。

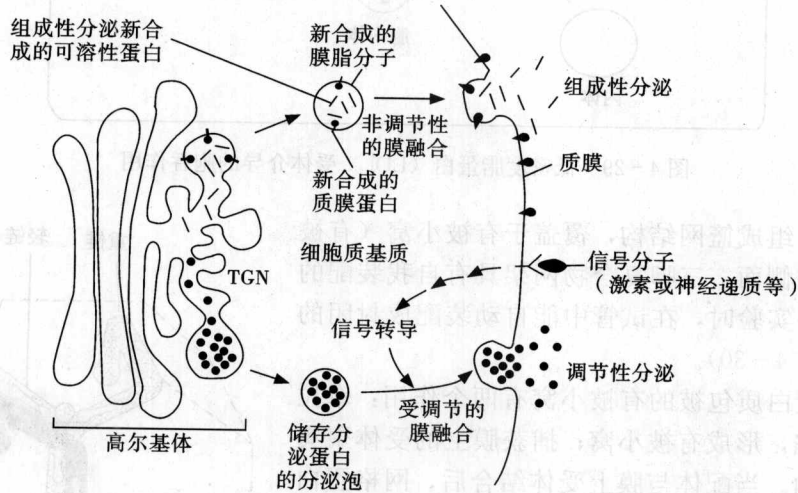


图 4-31 细胞组成性和调节性胞吐途径

细胞通过不断的胞吞作用和胞吐作用，使胞内膜与细胞膜不断发生交换，而且加到质膜上的膜数量很大，如胰腺细胞在受到刺激产生分泌时，大约有 $900\mu\text{m}^2$ 的囊泡膜掺入到细胞顶部的细胞膜中，而胰腺细胞顶部原来的膜大约只有 $30\mu\text{m}^2$ 。

细胞的胞吞作用和胞吐作用是细胞膜转运大分子的主动运输方式，它们的活动需要细胞提供能量。

第五节 细胞表面抗原与免疫

细胞表面抗原 (cell surface antigen) 或称膜抗原 (membrane antigen) 是镶嵌在细胞膜中的糖蛋白或糖脂，具有特定的抗原性。细胞免疫是细胞表面抗原与抗体相互识别并产生免疫应答的过程。机体通过免疫作用达到排除异己、保护自己，以维持正常的生命活动。细胞表面抗原在医学中应用十分广泛，对疾病的诊断、治疗、输血、器官移植以及肿瘤研究等方

是由糖链和肽链两部分决定的。

二、组织相容性抗原

组织相容性抗原主要存在于白细胞中，所以称人白细胞抗原 (human leucocytic antigen, HLA)，由于该抗原与器官移植后的排斥反应关系密切，又称器官移植抗原。

HLA 抗原是细胞膜上的跨膜糖蛋白，由轻、重两条多肽链通过非共价键连接而成 (图 4-34)。重链较长，带有糖基，肽链羧基端插入膜内，氨基端伸出细胞膜外，不同个体其氨基酸排列顺序有差异，决定了抗原的血清学特异性。轻链较短，不含糖基，是 β 微球蛋白，位于细胞膜外，不与膜脂结合，每个个体都相同。现已知的组织相容性抗原 140 多种，可形成不同的组织型，除同卵双生子外，每个人的组织型均不相同。这样 HLA 为免疫系统提供了识别的标志。T 细胞表面有识别 HLA 抗原的受体，当异体组织、器官移植时，就能识别异体细胞的 HLA，并与其结合，产生毒素等活性物质直接杀伤外来细胞，产生排斥反应。异体器官能否移植成功，关键是组织型是否相容。亲缘关系越近，相容性程度越高，移植成功率也越高，若组织型不相容则产生排斥反应。对组织型的鉴定也可用于同卵或异卵双生子的诊断，以及亲子鉴定等法医问题。

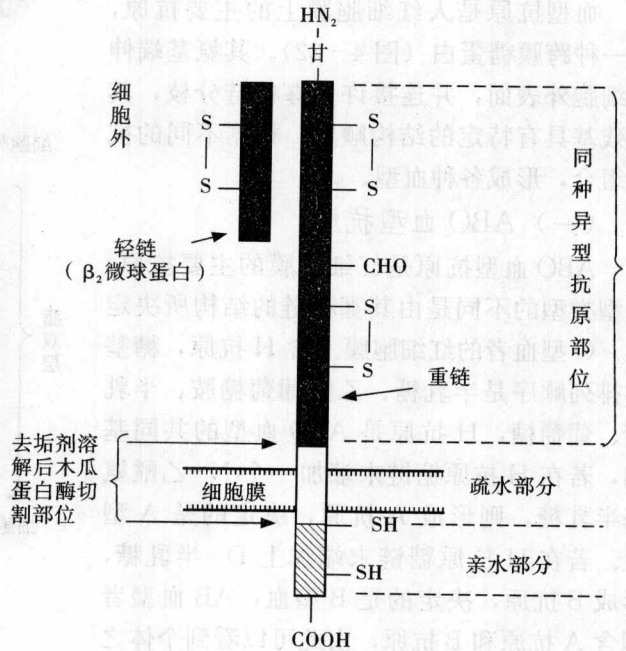


图 4-34 HLA 抗原结构

第六节 细胞膜与疾病

细胞膜是细胞的重要组成部分，对于维持细胞内环境的稳定，调节细胞正常生命活动起着重要作用，只有细胞膜的结构和功能正常，才能保证物质运输、信息传递、能量转换和细胞运动等基本功能的顺利进行，因此，膜结构任何成分的改变和功能异常，都将引起细胞发生一定的病变。

一、细胞膜与肿瘤

肿瘤细胞显著的变化是细胞膜组分和结构的变化。表现在：

(一) 膜脂的改变

细胞癌变过程中常伴随着膜脂特别是神经节苷脂的改变，如正常肝组织中含丰富的神经节苷脂 (GM₃)，肝癌组织中明显减少；而另一种神经节苷脂 (GD₃) 在正常肝组织中含量很少，而在肝癌组织中增加了 10 倍。糖脂的改变是糖链缩短，复杂的糖脂量下降或消失，

出现一些简单的糖脂，其原因是细胞表面糖基转移酶活性降低，而糖苷水解酶活性增加，致使糖链不能延伸而变短。

(二) 膜蛋白的变化

在癌细胞膜中可发生某些蛋白质丢失，某些蛋白质增加，如纤连蛋白在正常细胞间起黏着作用，但肿瘤细胞表面这种纤连蛋白明显减少；有利于肿瘤细胞的脱落转移。另一种含唾液酸和岩藻糖的多肽或糖蛋白的量增加，使细胞表面负电荷增高，增殖速度加快。

(三) 细胞表面出现异常抗原和受体

在消化道肿瘤细胞表面出现癌胚抗原 (CEA) 和异体的 ABO 血型抗原；O 型血或 B 型血胃癌患者，在细胞表面出现 A 型抗原。肾上腺皮质癌细胞出现正常细胞表面所没有的 β 受体。人鳞癌细胞表面表皮生长因子 (EGF) 受体比正常细胞高出 50 倍以上。

(四) 对外源凝集素反应

外源性凝集素有使细胞凝集的作用，肿瘤细胞表面凝集素受体含量增加，同时肿瘤细胞膜受体流动性增强，导致受体的聚集，易发生凝集现象，正常细胞则不发生凝集现象。

二、细胞膜受体异常

由于膜受体数量增减或结构上的缺陷所引起的疾病称为受体病 (receptor disease)。按照病因不同，可有以下类型：

(一) 遗传性受体病

受体基因突变使受体缺乏或结构异常所引起的疾病。如家族性高胆固醇血症、血小板表面黏着受体缺陷症、细胞表面纤连蛋白受体缺乏症、睾丸女性化综合征等。

家族性高胆固醇血症患者为什么血浆中胆固醇含量高？就是因为患者的某些 LDL 受体蛋白基因缺陷，引起细胞膜上 LDL 受体先天缺损，有的数目减少，严重患者的 LDL 受体只有正常人的 3.6%，这些人血中的胆固醇比正常人高出 6 倍，常在 20 岁前因动脉硬化而死于冠心病。有的患者受体数目虽然正常，但受体的有被小窝结合位缺失，不能被固定在有被小窝处 (图 4-35)，对 LDL 吸收造成困难。使血浆中胆固醇含量升高，形成高胆固醇血症。

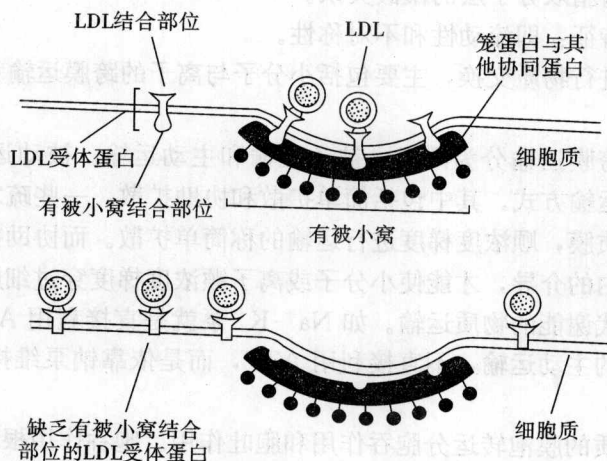


图 4-35 突变细胞上 LDL 受体缺陷示意图

(二) 自身免疫性受体病

由于患者自身产生该受体的抗体，并与受体结合，使受体失去功能或功能改变而引起的疾病。

如重症肌无力症，是由于患者血清中有能与乙酰胆碱受体相结合的抗体，这些抗体与乙酰胆碱受体结合，这样就减少了有结合能力的受体，也封闭了乙酰胆碱的作用。同时抗体也促进了受体的分解，使患者的乙酰胆碱受体减少一半以下，造成肌无力症。

(三) 继发性受体病

这是由于体内自身代谢紊乱造成的疾病。如肥胖使胰岛素受体功能下降，导致糖尿病。

三、膜转运系统异常

细胞膜上有许多与物质转运有关的转运蛋白，能够运送特定的物质，这些蛋白的结构缺损或功能异常，都将产生一定的疾病，如胱氨酸尿症、肾性糖尿病等。

胱氨酸尿症患者尿中有大量的胱氨酸，当尿的 pH 值下降时，胱氨酸沉淀形成结石，其病因是膜上相应的载体蛋白先天性缺损，是基因突变所致，使载体蛋白转运功能降低，造成对氨基酸吸收障碍。肾性糖尿病是由肾小管上皮细胞膜中吸收糖的载体蛋白功能降低所致。

提 要

所有的生物膜，包括细胞膜和真核细胞的内膜系统，都具有共同的结构和化学成分，它们都是由脂类、蛋白质和少量糖类组成的。脂类以磷脂和胆固醇为主，都是兼性分子，常排列成双分子层，构成膜的骨架。膜蛋白以球形蛋白为主，根据与脂类的结合方式分为内在蛋白质和周边蛋白质，它们在完成细胞的各项功能中起着重要作用。

很多学者对细胞膜的分子结构进行了研究，提出了许多模型，但人们普遍接受的是液态镶嵌模型，该模型认为，膜中脂双层构成膜的连续主体，它既具有固体分子排列的有序性，又具有液体的流动性，膜中球形蛋白质分子以各种形式与脂双分子层相结合，该模型强调了膜的流动性和蛋白质与脂双分子层的镶嵌关系。

生物膜具有两个特征：即流动性和不对称性。

细胞通过细胞膜进行物质交换，主要包括小分子与离子的跨膜运输和大分子与颗粒物质的膜泡转运。

小分子与离子的跨膜运输分为两类：被动运输和主动运输。被动运输是物质顺浓度梯度，不消耗代谢能的运输方式。其中包括简单扩散和协助扩散，一些疏水性和不带电荷的极性小分子可直接通过质膜，顺浓度梯度进行运输的称简单扩散。而协助扩散则需要细胞膜上的载体蛋白或通道蛋白的介导，才能使小分子或离子顺浓度梯度穿过细胞膜。主动运输是逆浓度梯度、需要消耗代谢能的物质运输。如 $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ 泵就是直接利用 ATP 完成离子的跨膜转运。离子梯度驱动的主动运输，不直接利用 ATP，而是依靠钠泵维持 Na^+ 的跨膜梯度来驱动进行伴随运输。

大分子和颗粒物质的膜泡转运分胞吞作用和胞吐作用。胞吞作用根据所吞物质不同分为吞噬作用和吞饮作用，还有一种需要受体介导的胞吞作用。物质的转运是通过一系列膜泡的形成、融合来完成的，需要代谢能。

膜抗原是镶嵌在脂双层中的糖蛋白或糖脂，如血型抗原、组织相容性抗原等。在输血和

器官移植中起重要作用。

膜结构和功能的异常都会引起疾病。

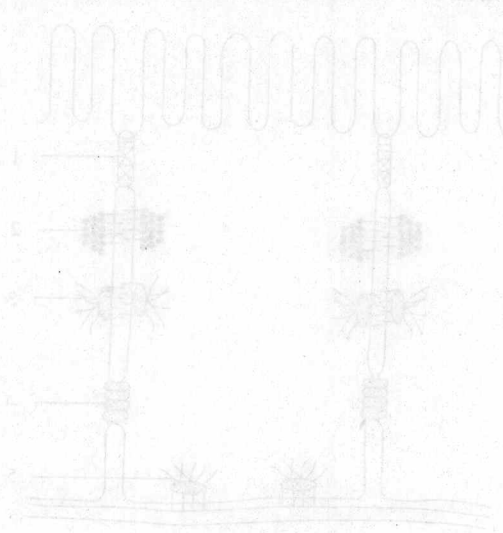
复习思考题 4

(一) 名词解释:

单位膜模型 液态镶嵌模型 简单扩散 载体蛋白 主动运输 受体介导的胞吞作用
有被小泡 通道蛋白 水通道

(二) 问答题:

1. 细胞膜的主要组成成分是什么? 有何功能?
2. 细胞膜的主要特性有哪些? 有何生物学意义? 试用液态镶嵌模型解释生物膜的特性。
3. 试述被动运输的几种运输方式?
4. 以 $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ 泵为例, 说明物质的主动运输过程。
5. 以 LDL 为例, 说明受体介导的胞吞作用。



(杨粤军)

第五章

细胞连接和细胞外基质

第一节 细胞连接

人和多细胞动物体内除结缔组织和血液等游离细胞外，各种组织的细胞之间都按一定的排列方式彼此接触，在相邻细胞表面形成各种连接装置，以加强细胞间的机械联系，维持组织结构的完整性和牢固性，同时协调细胞间的代谢活动，这种细胞间的连接结构称为细胞连接 (cell junction)。通过细胞的识别、粘连和连接形成组织、器官和系统，最终构建成完整的有机体。细胞连接的发现和对其结构的逐步了解，依赖于电镜技术，尤其是冰冻蚀刻技术的应用。近几年来分子生物学和细胞生物学技术的应用，使人们对各种细胞连接的化学特性和功能有了进一步的认识。根据其形态结构和功能的特点，将细胞连接分为三种类型，即紧密连接 (tight junction)、锚定连接 (anchoring junction) 和通讯连接 (communication junction) (图 5-1)。几种类型细胞连接以特殊方式排列称为连接复合体 (junctional complex)。由于各种细胞的连接方式或连接结构有差异，因此连接复合体是几种相邻连接结构的总称，并非恒定的结构。

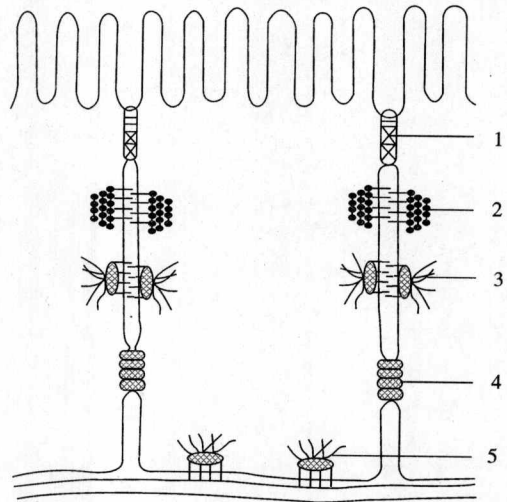


图 5-1 细胞间主要连接的示意图

1—紧密连接；2—锚定连接；3—桥粒；
4—缝隙连接；5—半桥粒

一、紧密连接

(一) 紧密连接的分布

紧密连接是一种封闭连接 (occluding junction)，主要存在于上皮细胞和内皮细胞间 (上皮细胞管腔面细胞间隙的顶端)，如消化上皮、膀胱上皮、脑毛细血管上皮、曲精小管生精上皮的支持细胞基部和腺体上皮细胞等区域。

(二) 紧密连接的结构

光学显微镜观察立方上皮和柱状上皮，即可见细胞顶部侧面有连续带状结构，便是紧密连接存在部位。

电镜超薄切片观察显示，紧密连接处的相邻细胞膜紧紧地靠在一起，没有间隙，似乎融

合在一起。目前认为紧密连接构造是相邻质膜上各有许多跨膜蛋白颗粒，每一跨膜蛋白与相邻质膜上对应的跨膜蛋白连接，就构成一条封闭链，将细胞间隙封闭起来。从紧密连接结构模型的切面可见它为一系列点状对合结构。这些点立体观是一些嵴状突起，嵴与嵴相互吻合，即相邻细胞膜的跨膜蛋白质互相结合。从细胞外表面观察，可见到嵴状条索结构，形成网状，平行于细胞游离面，紧密连接正是由数条交错成网的封闭链组成的（图 5-2）。目前已经从紧密连接中分离出数十种跨膜蛋白质。

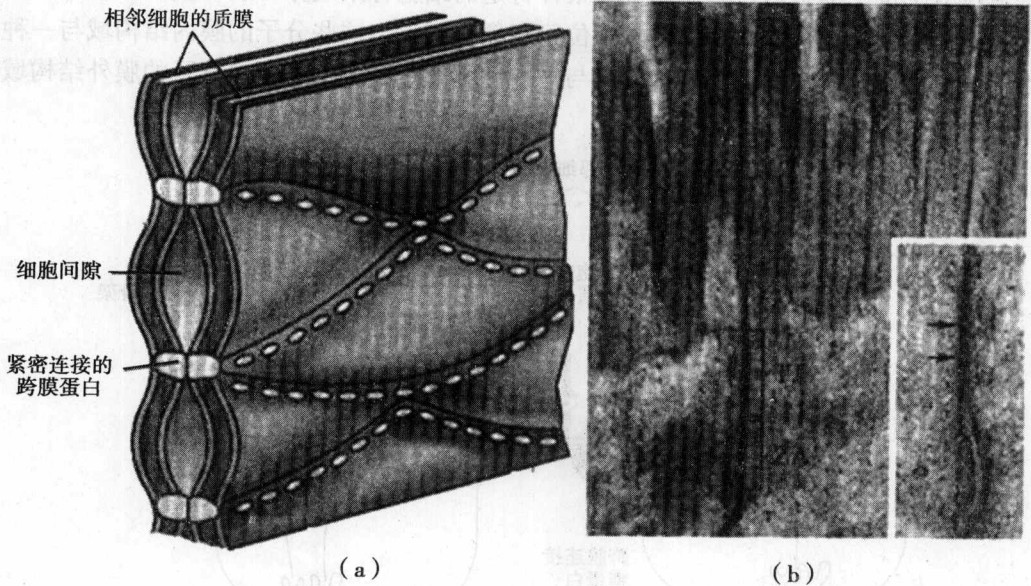


图 5-2 紧密连接

(a) 结构模式图；(b) 上皮细胞间紧密连接的电镜照片

(三) 紧密连接的功能

紧密连接的功能主要是封闭上皮细胞的间隙，形成一道与外界隔离的封闭带，防止细胞外物质无选择地通过间隙进入组织，或组织中物质回流到腔中，保证组织内环境的稳定性。例如小肠上皮对肠腔内大部分物质起了阻隔作用，只吸收其中的一部分物质如葡萄糖、氨基酸等，这些营养物质通过细胞膜上载体蛋白以协助扩散或主动运输方式进入细胞内，之后被输送至上皮下结缔组织中的毛细血管。紧密连接可阻止肠腔中物质通过间隙进入血液，也防止组织中物质回流入肠腔。保证了小肠上皮细胞的极化和物质运转的方向性。在胰腺细胞中，紧密连接可以防止分泌物溢入血液，保证机体内环境的稳定性。脑毛细血管内皮细胞的紧密连接构成血-脑脊液屏障，防止有害物质从血流进入脑，水分子和离子也不能够自由透过血-脑脊液屏障。血-脑脊液屏障也可防止许多药物到中枢神经系统。此外，紧密连接还能将细胞游离面、基底面及侧面的膜蛋白定位在质膜的一定区域，防止膜蛋白的自由扩散，保证受体蛋白、载体蛋白等行使其功能，所以紧密连接还具有隔离作用和一定的支持功能。

二、锚定连接

(一) 存在部位

锚定连接主要存在于上皮细胞紧密连接深部或上皮细胞与基底层接触处，也存在于非上

皮组织细胞连接处，如心肌和子宫等组织的细胞之间。

(二) 锚定连接的类型

锚定连接是一个细胞中的骨架系统成分与另一个细胞中的骨架系统成分相连接，或与细胞外基质相连接。根据参与连接的细胞骨架成分不同，锚定连接可以分为两类：一类为肌动蛋白丝形成的构造，有黏着带和黏着斑，统称为黏着连接；另一类为中间丝形成的构造，有桥粒和半桥粒，统称为桥粒连接。在锚定连接中包含这样两类蛋白质：①细胞内附着蛋白，这些蛋白分子位于细胞内，其作用是让某种特定的细胞骨架成分（肌动蛋白丝或中间丝）附着在连接位点上；②跨膜连接糖蛋白，位于相邻质膜上。这些分子的膜内结构域与一种或数种附着蛋白结合，分子的膜外结构域则与另一细胞的跨膜连接糖蛋白分子的膜外结构域结合或与细胞外基质结合（图 5-3）。

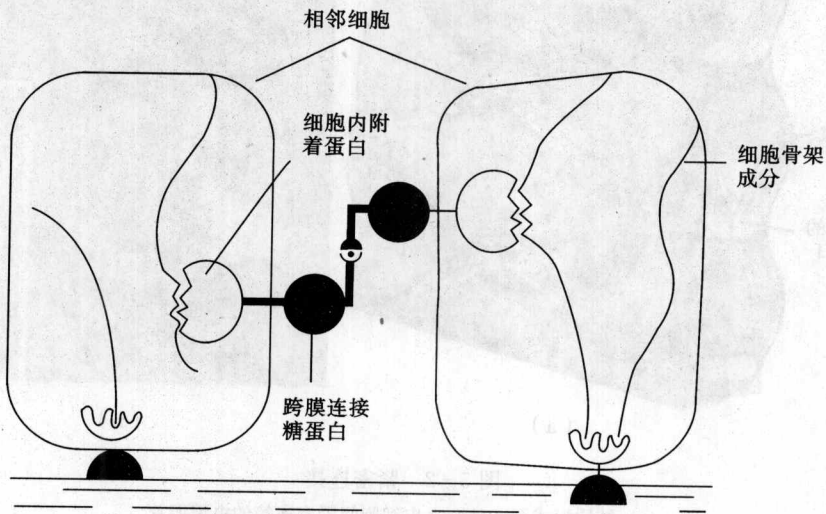


图 5-3 锚定连接结构

1. 黏着连接

黏着连接有黏着带 (adhesion belt) 和黏着斑 (focal contact) 之分。

(1) 黏着带

在上皮细胞中（也存在于心肌细胞中），黏着连接常形成一条连续的带，称为黏着带，常位于上皮细胞近顶部侧面，紧密连接下方。此处的相邻细胞质膜互相黏合，但并不融合，而是隔有 15~20nm 的间隙。膜的胞质面有张力微丝束平行环绕细胞膜，通过黏着斑连接蛋白 (vinculin) 与一种称为黏连素 (cadherin) 的跨膜蛋白相连，延伸形成跨膜网架，使组织成为一个坚固的整体。

由于微丝中的肌动蛋白有收缩功能，黏着带在脊椎动物形态发生，如神经管形成时有重要作用。

(2) 黏着斑

细胞借助肌动蛋白纤维与细胞外基质相连，是以点状接触的形式完成的，这种点状接触称为黏着斑。其跨膜糖蛋白把细胞内肌动蛋白丝与细胞外基质纤黏连蛋白 (FN) 连接起来（图 5-4），介导细胞与细胞外基质黏着。体外培养的成纤维细胞通过黏着斑附着在瓶壁上，并且铺展开来。因此，黏着斑与细胞的贴附铺展和迁移运动密切相关。

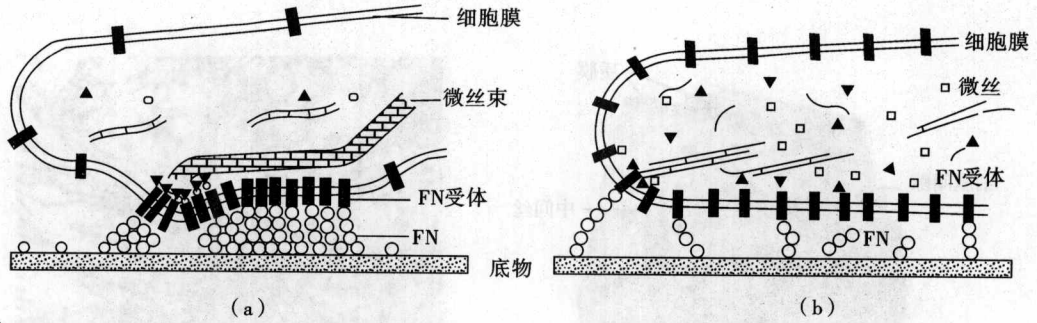


图 5-4 静态细胞和迁移细胞黏着斑的结构示意图
(a) 静止的细胞与底物形成黏着斑；(b) 迁移的细胞黏着斑结构解离

2. 桥粒连接

桥粒连接广泛分布于皮肤、心肌、消化道上皮、子宫和阴道上皮等处，形成细胞间一种坚实的连接结构，有较强的抗张、抗压作用。

(1) 桥粒：桥粒主要存在于上皮组织中，也存在于心肌和脑表面一些细胞中。在上皮细胞黏着带连接的下方，相邻细胞间有 30nm 的间隙，形成一种纽扣状的结构，将两个细胞牢固地扣接在一起。

电镜下可见桥粒区细胞膜胞质面有盘状致密的胞质斑 (cytoplasmic plaque)，直径约 $0.5\mu\text{m}$ ，其化学成分是细胞膜内的附着蛋白，充当中间丝 (角蛋白纤维) 附着的部位。角蛋白纤维伸向胞质斑，然而又折回，形成袢状结构，交联成连续网架，起加固和支持作用，并提供张力。跨膜连接糖蛋白附着于胞质斑上，将两个细胞结合在一起 (图 5-5)，桥粒的完整性，依赖于 Ca^{2+} 的存在。桥粒对上皮结构的维持非常重要。

胰蛋白酶 (trypsin)、胶原酶 (collagenase)、透明质酸酶 (hyaluronidase)、乙二胺四乙酸二钠 (EDTA) 能破坏桥粒的结构，使细胞分散开来。乙二胺四乙酸二钠是一种 Ca^{2+} 的螯合剂，能降低 Ca^{2+} 的浓度，使相邻桥粒解开。人类某些皮肤疾病或上皮癌变时，上皮细胞间的桥粒明显减少，甚至消失。天疱疮是一种桥粒结构缺陷的疾病，患者对自身的一种或多种桥粒蛋白产生了抗体，与桥粒跨膜连接蛋白结合，破坏桥粒的结构，使上皮细胞松开，组织液通过细胞间隙，漏入表皮，导致水疱形成。

(2) 半桥粒

是上皮细胞与基膜的连接装置，因其结构仅为桥粒的一半而得名半桥粒。仅细胞基底面细胞膜内侧有胞质斑，角蛋白纤维与跨膜连接糖蛋白相连，将上皮细胞铆接在基膜上，防止机械力造成上皮细胞层与基膜脱离 (图 5-6)。

三、通讯连接

(一) 通讯连接的概念

通讯连接是一种在相邻细胞之间形成连接通道的细胞连接，这种细胞连接能实现细胞之间在电信号和化学信号的通讯联系，从而完成群体细胞的合作协调。通讯连接广泛存在于胚胎和成体的多种细胞之间。在神经细胞、心肌、平滑肌等可兴奋细胞中尤其多见。

(二) 通讯连接的类型

通讯连接根据结构和功能分为间隙连接和化学突触。

个氨基酸残基组成的多肽链，分子质量为 20~30ku。中间形成 1.5~2nm 的中空结构，相邻细胞膜上的两个连接子对合连接，就在两个细胞之间形成一条亲水通道。细胞内的离子和小分子可借此出入相邻细胞。连接子在质膜上成簇出现，故常形成斑块状，一个间隙连接块内可以有几对甚至成千上万对连接子（图 5-7）。

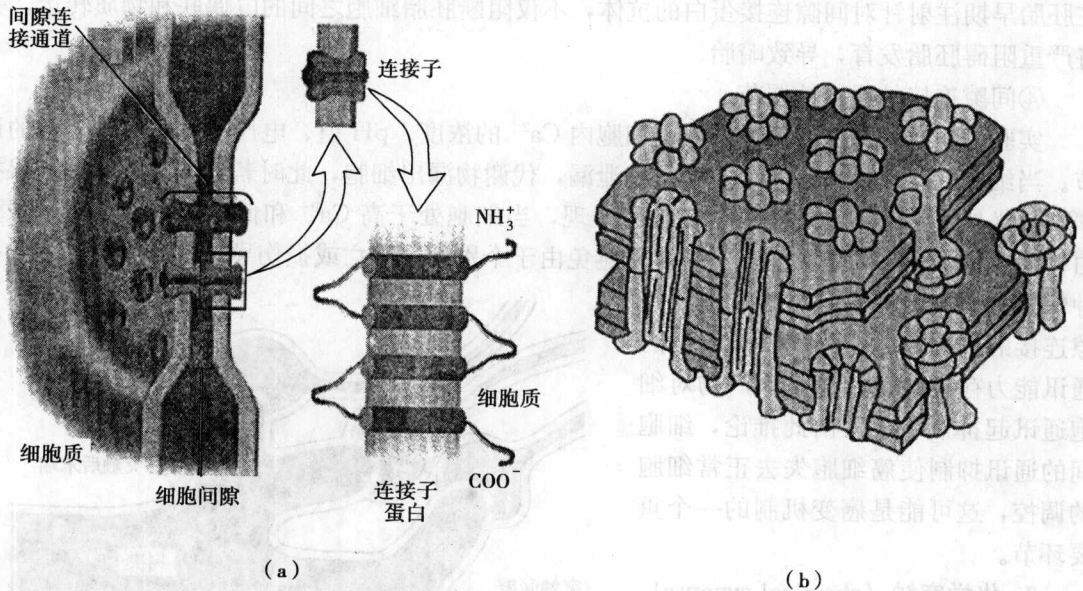


图 5-7 间隙连接结构
(a) 结构模式；(b) 在膜上的分布情况

(2) 功能

间隙连接的功能，除连接细胞之外，主要介导细胞之间电信号和化学信号的传递，包括代谢偶联和电偶联。

① 代谢偶联 (metabolic coupling)

连接子通道允许分子质量 1~1.5ku 以下的水溶性小分子，如葡萄糖、氨基酸、核苷酸和维生素等代谢物从一个细胞迅速到达另一个细胞，使细胞产生代谢互助或偶联。有人把分子质量小于 1.5ku 的荧光染料分子注射入一个细胞，染料能随即扩散至相邻细胞而不渗透至细胞间隙。这种细胞的通讯与电镜下见到的间隙连接结构相关联。

实验证明，缺乏胸苷激酶的突变细胞，不能吸取培养基中标记的胸苷合成胸苷三磷酸，故核中未发现胸苷的标记物。正常细胞能利用标记的胸苷合成胸苷三磷酸掺入 DNA 合成，故核中有胸苷标记物。若将正常细胞与突变型细胞混合培养，两种细胞产生间隙连接。正常细胞合成胸苷三磷酸，通过间隙连接进入突变细胞内，故突变细胞核中也可见到胸苷的标记物。

② 电偶联 (electric coupling) 或离子偶联 (ionic coupling)

在电兴奋组织，间隙连接的重要性显而易见。电信号经间隙连接直接在相邻细胞中传导，造成相邻细胞的电偶联。例如电偶联使心肌亿万细胞同步收缩和舒张；小肠平滑肌细胞通过电偶联实现收缩和肠蠕动同步化；神经细胞通过电偶联使动作电位从一个细胞扩散到另一个细胞，速度快而准确，等等。总之，细胞通过小的代谢分子或带电的离子的分配，提供一种协调细胞功能活动的机制。

③胚胎发育过程的作用

在胚胎发育过程中，间隙连接介导的细胞通讯显得非常重要。在胚胎发育的一定阶段，一部分细胞与另一部分细胞失去偶联，开始向各自的特定方向发展，而同一部分的这群细胞则保持互相偶联，以协调的方式向同一方向发展，表现出整体化，以保证胚胎的正常发育。在胚胎早期注射针对间隙连接蛋白的抗体，不仅阻断胚胎细胞之间的电偶联和物质转运，并将严重阻碍胚胎发育，导致畸胎。

④间隙连接的通透性调节

实验证明，间隙连接的通透性受细胞内 Ca^{2+} 的浓度、pH 值、电压梯度和胞外信号的调节。当细胞死亡或受损时，细胞膜发生泄漏，代谢物漏出细胞，此时若继续与正常细胞保持偶联，必然影响细胞的代谢活动。研究发现，当细胞处于高 Ca^{2+} 和低 pH 值时，连接子蛋白构象改变，连接通道关闭，这可能是避免由于个别细胞死亡或损伤导致整片组织受害的一种保护性措施。此外，对肿瘤细胞间隙连接的研究表明，恶性肿瘤细胞的通讯能力存在缺陷，癌基因产物对细胞通讯起抑制作用。由此推论，细胞间的通讯抑制使癌细胞失去正常细胞的调控，这可能是癌变机制的一个重要环节。

2. 化学突触 (chemical synapse)

化学突触是神经细胞传递信息的一种细胞连接，以化学物质（如神经递质）作通讯的媒介。

化学突触由突触前膜、突触间隙和突触后膜组成。信息传递需有传递物。当动作电位将膜去极化时， Ca^{2+} 入胞导致突触前膜神经递质释放，神经递质通过突触间隙到达接受信号的突触后膜，使突触后神经细胞出现兴奋或抑制性变化，进而影响突触后神经细胞的活动（图 5-8）。

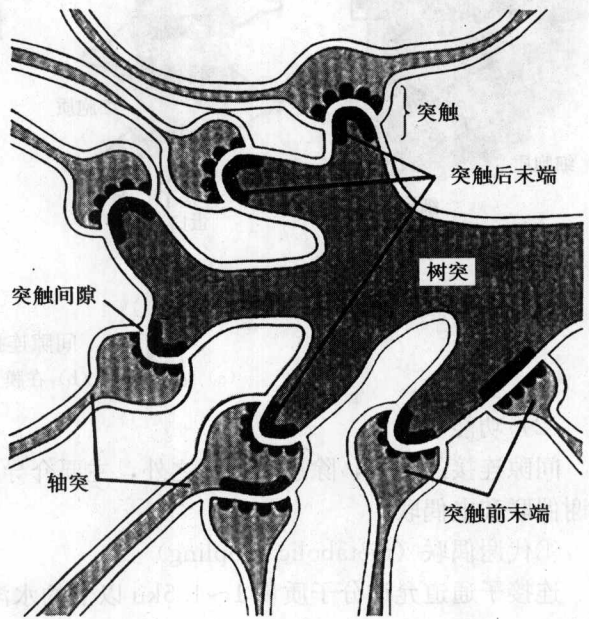


图 5-8 化学突触结构的示意图

第二节 细胞外基质

在多细胞生物中，细胞大多是以组织形式存在。机体组织除了细胞之外，还有一些非细胞性的物质，即细胞外基质 (extracellular matrix, ECM)。细胞外基质是机体发育过程中由细胞分泌到细胞外的蛋白质和多糖。它们组装形成高度水合的凝胶和纤维性的精密有序的网络结构。各种组织中细胞外基质含量和种类有很大差异。如皮肤和骨骼中细胞外基质是主要部分，而在肝、脑及骨髓中则很少。有些细胞外基质很硬（例如骨和牙的钙化基质），有些细胞外基质则透明而柔软（例如角膜的透明基膜），有些似绳索（例如肌腱）。皮肤结缔组织中的细胞外基质最有代表性（图 5-9）。

细胞外基质的成分、结构很复杂，功能非常重要。细胞外基质的功能主要有：①把细胞

与细胞或细胞与基膜联系在一起，形成组织与器官，再构成有机整体。②对细胞起支持、保护和营养作用。③在胚胎发育过程中，对细胞分裂、分化、迁移、识别、黏着、通讯联络等特定功能有重要作用。④促进组织创伤后的再生修复。⑤当细胞外基质的结构和功能发生改变时，会导致器官组织的病理改变，如器官组织纤维化、衰老、肿瘤恶变、转移和浸润，及某些遗传病的发生。所以说细胞外基质有重要的生理和病理功能。

细胞外基质是由多种大分子成分形成的高度有组织的网络结构。这些大分子主要有4类：胶原蛋白、弹性蛋白、纤黏连蛋白和层黏连蛋白、氨基聚糖和蛋白聚糖。

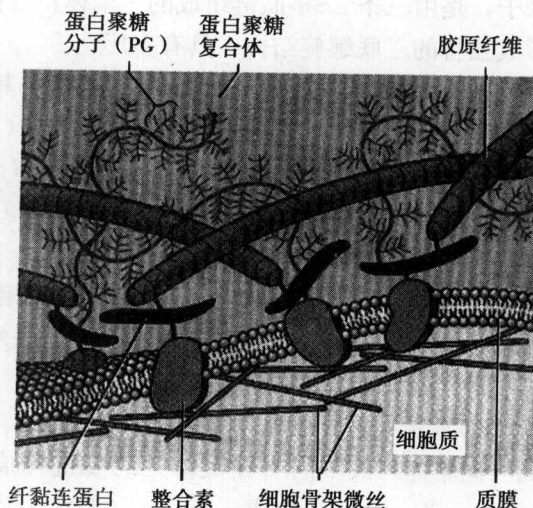


图 5-9 细胞外基质

一、胶原

胶原 (collagen) 是胶原蛋白的简称，是细胞外基质中特有的蛋白质。其含量占人体蛋白质总量的 30% 以上，分布于各种组织细胞间，在哺乳动物结缔组织中最丰富。

(一) 胶原的类型

通过单克隆抗体及基因工程技术发现多种新型胶原。每一种胶原在机体中均有特定的位置，但在相同的细胞外基质中常含有 2 种或 3 种以上的胶原。目前了解最多的是 I-V 型胶原、I-III 型胶原含量最丰富，形成类似的纤维结构。I 型胶原常形成较粗的纤维束，分布广泛，主要存在于皮肤、肌腱、韧带及骨中，具有很强的抗张强度；II 型胶原主要存在于软骨中；III 型胶原形成微细的纤维网，广泛分布于伸展性的组织，如疏松结缔组织；IV 型胶原形成二维网格样结构，是基膜的主要成分及支架；V 型胶原围绕在内皮基膜、神经及脂肪细胞周围呈鞘状，也存在于弹性软骨与透明软骨中 (表 5-1)。

表 5-1 几种主要胶原及其特征

类型	分子式	超微结构	α 链分子质量 (ku)	组织分布
I	$[\alpha_1(I)]_2\alpha_2(I)$	67nm 横纹纤维	95	皮肤、肌腱、骨、韧带、眼角膜
	$[\alpha_1(I)]_3$	67nm 横纹纤维	95	肿瘤、皮肤
II	$[\alpha_1(II)]_3$	67nm 横纹纤维	95	软骨、椎间盘、脊索、眼玻璃体
III	$[\alpha_1(III)]_3$	67nm 横纹纤维	95	皮肤、血管
IV	$[\alpha_1(IV)]_2\alpha_2(IV)$	网状非纤维结构	170~180	基底膜
V	$[\alpha_1(V)]_2\alpha_2(V)$	细纤维	120~145	胎盘、骨和皮肤
VI	$[\alpha_3(V)]_3$	N 端球形	140~340	与 I 型胶原共分布

(二) 胶原的分子结构

胶原类型有不同，但所有胶原至少有两个重要结构特征。一是所有胶原的基本结构是胶

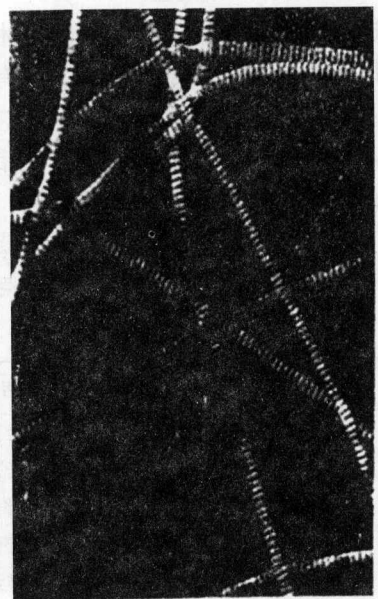
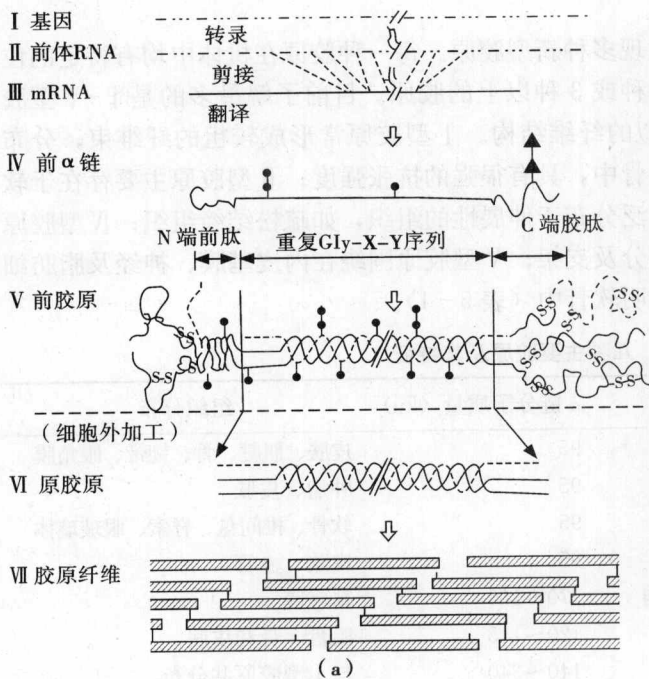
原分子，是由三条 α -多肽链组成的三聚体；二是沿着长轴方向，胶原三条 α -多肽链相互缠绕形成独特的三联螺旋结构，具有多形性。

每条 α -多肽链约有 1000 个氨基酸残基，其氨基酸的组成比较特殊。甘氨酸 (Gly) 含量占 1/3；同时富含脯氨酸 (Pro) 和赖氨酸 (Lys)。脯氨酸常羟化成羟脯氨酸 (Hypro)；赖氨酸常羟化成羟赖氨酸 (Hylys)，不含色氨酸、酪氨酸和蛋氨酸，其他必需的氨基酸含量也很低；赖氨酸选择性糖基化。肽链中的氨基酸组成规则的三肽重复顺序 (Gly-X-Y)，其中 X 常为 Pro，Y 常为 Hypro 或 Hylys。由于甘氨酸的分子质量很小，可使肽链蜷曲形成规则的 α -螺旋结构。羟化和糖基化使肽链互相交联，形成稳定的 3 α -螺旋结构，螺旋直径 1.5nm，长约 300nm。胶原肽链 Gly-X-Y 的序列对胶原纤维的高级结构的形成是重要的。胶原是不溶于水的纤维性蛋白，属于硬蛋白类。

α -多肽链是胶原的基本亚单位，有 α_1 、 α_2 、 α_3 之分。目前已知 α_1 有 20 多种。由三条相同 (同聚体) 或不同 (异聚体) 的 α 链构成一个胶原分子。例如，I 型胶原由两条 α_1 (I) 和一条 α_2 (I) 构成，用 $[\alpha_1 (I)]_2\alpha_2 (I)$ 表示；II 型胶原由三条 α_1 (II) 构成，用 $[\alpha_1 (II)]_3$ 表示。

(三) 胶原的合成

胶原由结缔组织的成纤维细胞、间充质的成骨细胞、成软骨细胞、各种上皮细胞、牙本质细胞和神经组织的雪旺细胞等合成和分泌。胶原合成的全过程包括细胞内和细胞外两个阶段。基因转录、mRNA 的翻译、前 α -链的羟基化、糖基化修饰及修饰后的聚合在细胞内进行。前胶原分泌后，前肽的水解以及胶原分子间的交联在细胞外进行。其基本过程如图 5-10 所示。



(b)

图 5-10 胶原纤维的分子结构、形成过程及其电镜照片
(a) 胶原纤维的分子结构与形成过程；(b) 胶原纤维的电镜照片

1. 在细胞内形成前胶原分子

胶原的基因很大,为30~40kbp,约含50个外显子。多数外显子由54个或54倍数的核苷酸组成,说明 α -链基因是由54个核苷酸的原始基因成倍扩大演化而来。在细胞核内,编码 α -链的基因转录成hnRNA,再经过精确的剪接和加工形成mRNA。mRNA经核孔进入细胞质,在粗面内质网上的核糖体中合成前体链,再进入内质网腔中切去信号肽,在肽链两端加上一小段氨基酸顺序,即前肽(prepeptide),合成为前 α -链。 α -链的N端前肽具有150个氨基酸残基,C端具有250个氨基酸残基,前肽的一级结构没有Gly-X-Y序列,具有较多的酸性氨基酸及芳香族氨基酸残基,并含有半胱氨酸残基。然后带有前肽的前 α -链被运输到高尔基体中,在混合功能氧化酶、羟化酶和辅助因子(如维生素C、 Fe^{2+} 、 α -酮戊二酸等)作用下,脯氨酸残基羟化成羟脯氨酸;赖氨酸残基羟化并选择性糖基化,然后三条前 α -链互相缠绕,合成绳索状的前胶原分子(procollagen molecule)。在溶解状态的前胶原分子中,肽连两端的前肽通过二硫键交联形成球状结构,以防止前胶原分子在胞内装配成胶原纤维大分子。前胶原分子通过出胞作用,分泌到细胞外。

2. 在细胞外形成胶原纤维

细胞外的前胶原分子,在前肽酶的作用下切去前肽,形成直径1.5nm,长300nm的胶原分子(collagen molecule)。胶原分子的相邻分子相错1/4的长度(约67nm),前后分子首尾相隔35nm的距离自我装配,成为明暗相间直径约10~30nm的胶原原纤维(collagen fibril)。若干胶原原纤维再经糖蛋白黏合成为粗细不等的胶原纤维(collagen fiber)。

胶原纤维的形成受多方面的影响和调控,如细胞内脯氨酸的含量直接影响前 α -链的合成。缺氧或缺乏维生素C或 Fe^{2+} 等辅助因素,导致前 α -链的羟化受到抑制,造成前胶原蛋白合成障碍,影响创伤的愈合。聚合时,胶原分子内和分子间的交联障碍将影响胶原纤维的稳定性。

IV型胶原有其特殊性:链中不含规则的Gly-X-Y三肽重复顺序,不形成规则的 α -螺旋结构;分泌到细胞外基质的前胶原分子保留前肽;两个前胶原分子的羧基端头对头相接形成二聚体。几个二聚体再互相交联成网络,构成基膜的骨架结构。在基膜中IV型胶原与层黏连蛋白、硫酸乙酰肝素、蛋白聚糖等组装形成基膜。

(四) 胶原的功能

同一组织中常含有不同类型的胶原,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,以适应特定的功能。

哺乳动物皮肤中的胶原编织成柳条状,分布于皮下结缔组织中,具多方向的抗张性;肌腱中的胶原沿应力主轴呈平行束排列,使肌腱与骨骼连接,具有很强的韧性和抗张能力;在骨和角膜中,胶原纤维分层排布,同一层的胶原彼此平行,而相邻两层的纤维彼此垂直,形成三合板样的结构,使组织具有牢固、不易变形的特性;在腺泡、骨骼肌和平滑肌细胞周围,III型胶原构成细纤维网络,包围于细胞表面;IV型胶原构成各种上皮细胞基膜的网架结构。胶原通过与细胞外基质中各种成分结合,将细胞外基质组织起来,同时与细胞表面受体结合,连成组织和器官。

胶原通过细胞表面受体介导与细胞内骨架相互作用,影响细胞的形态和运动。如将脉管上皮细胞放在I、III型胶原培养基上培养,细胞生长增殖形成单层;若转移到IV型胶原培养基上培养,转变成毛细血管结构。

胶原能刺激上皮细胞分化,维持上皮细胞生长。胶原是细胞相互作用的支架和细胞迁移

附着的基质，并能引导细胞迁移。有人将两块鸡胚心脏组织置于一定距离的胶原培养基上培养，4天后，两块组织的成纤维细胞沿着它们之间的胶原纤维向外增生移行。

由于胶原分布广泛，纤维状胶原形成异常可引起多种严重疾病。因胶原的含量、结构或类型异常而导致的疾病颇为多见。胶原异常累及心血管系统时，可发生动脉瘤、动脉硬化及心瓣膜病；累及骨、关节时，可导致骨质疏松增加而骨折、关节活动度过大和关节炎；累及皮肤时，可造成皮肤创伤愈合不良等。

二、弹性蛋白

弹性蛋白 (elastin) 是高度疏水的非糖基化蛋白，约含 830 个氨基酸残基。由两种类型短肽交替排列构成。一种短肽是疏水短肽，提供弹性；另一种短肽为富有丙氨酸及赖氨酸残基的 α -螺旋，并在相邻分子间形成交联。弹性蛋白的氨基酸组成与胶原相似，也富含甘氨酸及脯氨酸，但很少含羟脯氨酸，不含羟赖氨酸。弹性蛋白没有胶原特有的 Gly-X-Y 序列，故不形成规则的三股螺旋结构，而呈无规则蜷曲。弹性蛋白每一短肽由一个外显子编码，合成后分泌到细胞外基质中，肽链之间通过赖氨酸残基互相交联，形成富有弹性的网络结构 (图 5-11)。

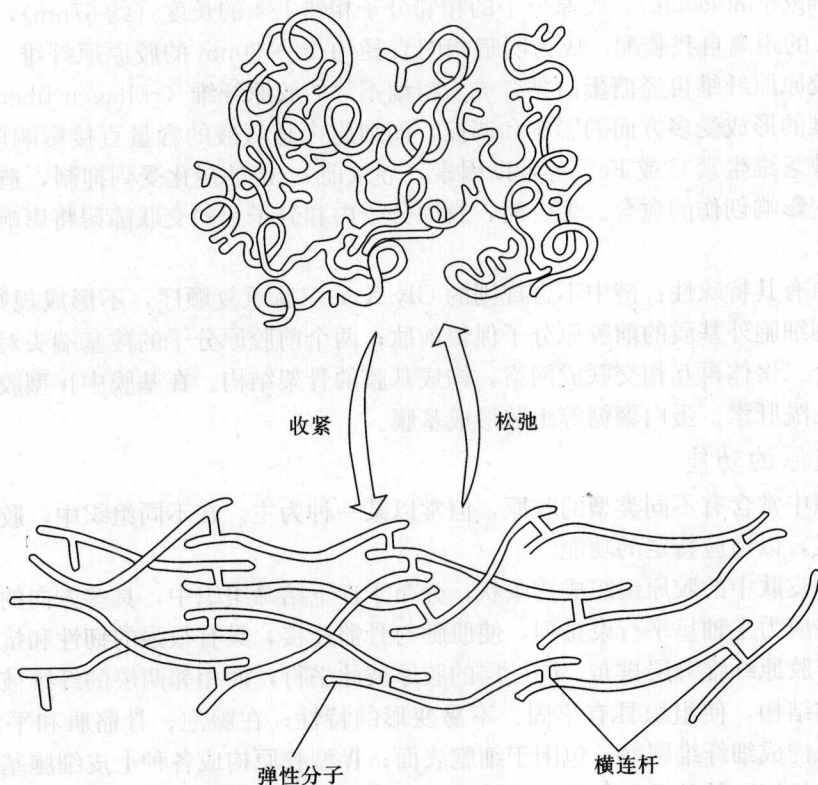


图 5-11 弹性蛋白的伸长与回缩示意图

弹性蛋白是弹性纤维的主要成分。通过细胞外基质中的弹性纤维网络使组织具有弹性和回缩能力。弹性纤维主要存在于脉管壁及肺，在皮肤、肌腱和疏松结缔组织中也少量存在，这些组织不仅有一定强度，而且具有弹性。弹性纤维与胶原互相交织，可维持皮肤等的韧

性，防止组织和皮肤撕裂和过度伸展。

三、纤黏连蛋白和层黏连蛋白

纤黏连蛋白和层黏连蛋白是存在细胞外基质中的糖蛋白。

(一) 纤黏连蛋白

1. 纤黏连蛋白的类型

纤黏连蛋白 (fibronectin, FN) 是高分子糖蛋白，含糖 4.5%~9.5%，其亚单位分子质量为 220~250ku。各亚单位在 C 末端形成二硫键交联。目前至少已鉴定了 20 种纤黏连蛋白多肽。纤黏连蛋白的不同亚单位为同一基因的产物，只是在转录后 RNA 的剪接上有所差异，因而产生不同的 mRNA，再翻译不同的纤黏连蛋白亚单位。FN 在动物体内分布十分广泛，根据存在部位不同分两种类型。

(1) 血浆纤黏连蛋白

血浆 FN 是一种由两条相似的肽链 (A 链和 B 链) 在 C 端以二硫键交联形成的“V”字形二聚体 (图 5-12)，主要来自于肝实质细胞，少量来自于血管内皮细胞。血浆 FN 以可溶形式存在于血浆及各种体液中。正常人血浆中纤黏连蛋白的浓度约为 0.3mg/mL，男人和老人的水平略高，妇女在经期及妊娠后升高，直至分娩达到最高。

(2) 细胞纤黏连蛋白

细胞 FN 为多聚体。包括细胞表面纤黏连蛋白和基质纤黏连蛋白。细胞表面纤黏连蛋白，主要由间质细胞分泌产生，分布于细胞外基质中，能瞬时附于细胞表面，与细胞表面特异受体结合发挥作用。基质纤黏连蛋白是一种高度不溶性的纤黏连蛋白原纤维，常聚集在基质中或沉积在细胞表面，通过二硫键互相交联，是构建间充质的主要纤黏连蛋白。

纤黏连蛋白的每个亚单位由数个结构域构成，具有与细胞表面受体、胶原、纤维素和硫酸蛋白多糖高亲和性的结合部位，用蛋白酶进一步消化细胞结合区，发现这一结构域中的 Arg-Gly-Asp (RGD) 三肽序列是细胞识别的最小结构单位。

2. 纤黏连蛋白的功能

纤黏连蛋白是一种多功能分子，主要功能是介导细胞黏着，纯化纤黏连蛋白可增强细胞间黏连及细胞与基质的黏连，能使细胞锚定在底物静止不动；通过黏着，纤黏连蛋白可以调节细胞的形状和细胞骨架的组织，促进细胞铺展。

纤黏连蛋白还能诱导细胞运动迁移，一个突出的例子是胚胎发育早期神经脊细胞的迁移。在神经管形成时，神经脊细胞从神经管的背侧迁移到胚胎各个区域，分化成神经节、色素细胞等不同类型的细胞。一般认为纤黏连蛋白基质纤维为细胞的运动提供了轨道。

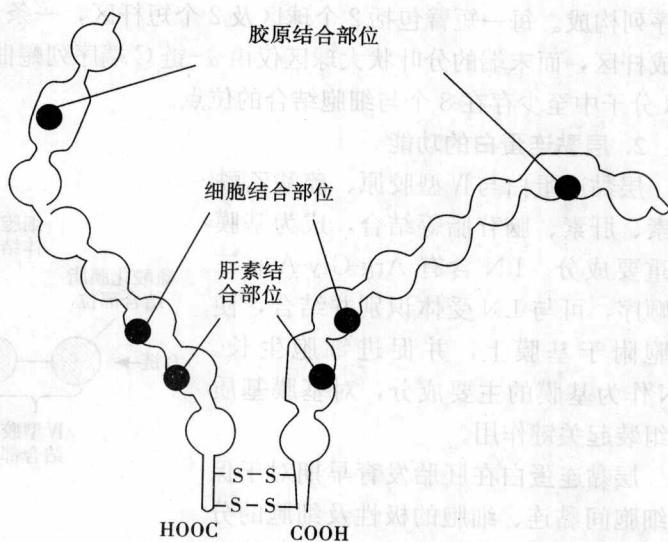


图 5-12 纤黏连蛋白二聚体结构示意图

纤黏连蛋白在组织创伤修复中起重要作用，如促进巨噬细胞和其他免疫细胞迁移到受损部位。血浆纤黏连蛋白能促进血液凝固和创伤面修复。组织创伤时，可与血浆纤维蛋白结合，在伤口处吸引成纤维细胞、平滑肌细胞和内皮细胞向伤口迁移，形成肉芽，然后形成瘢痕，刺激上皮细胞增生，使创面修复。

(二) 层黏连蛋白

1. 层黏连蛋白分子结构特点

层黏连蛋白 (laminin, LN) 是各种动物的胚胎及成体组织的基膜的主要成分之一，也是胚胎发育过程中出现最早的细胞外基质成分。在正常血液和组织液中的浓度极低。LN 是高分子糖蛋白 (含糖量 15%~28%)，分子质量巨大，约 850ku，由一条重链 (α -链，过去称为 A 链) 和两条轻链 (β 链、 γ 链，过去称为 B_1 链和 B_2 链) 构成，三条肽链借二硫键交联成不对称的“十”字形分子 (图 5-13)，“十”字形分子的 3 条短臂各由 3 条肽链的 N 端序列构成。每一短臂包括 2 个球区及 2 个短杆区，一条长臂由 3 条肽链的近 C 端序列共同构成杆区，而末端的分叶状大球区仅由 α -链 C 端序列蜷曲而成，是与硫酸肝素结合的部位。LN 分子中至少存在 8 个与细胞结合的位点。

2. 层黏连蛋白的功能

层黏连蛋白与 IV 型胶原、硫酸乙酰肝素、肝素、脑苷脂等结合，成为基膜的重要成分。LN 含有 Arg-Gly-Asp 三肽顺序，可与 LN 受体识别并结合，使细胞附于基膜上，并促进细胞生长。LN 作为基膜的主要成分，对基膜基质的组装起关键作用。

层黏连蛋白在胚胎发育早期对于保持细胞间黏连、细胞的极性及细胞的分化有重要意义，还有助于神经元在体外存活，并在缺乏神经生长因子的情况下促进中枢及外周各种神经元轴突的生长。

四、氨基聚糖和蛋白聚糖

氨基聚糖 (glycosaminoglycan, GAG) 与蛋白聚糖 (proteoglycan, PG) 是一些高分子质量的含糖化合物，形成细胞外基质高度亲水性的凝胶。

(一) 氨基聚糖

1. 分子结构

氨基聚糖是由重复的二糖单位构成的无分枝长链多糖。其二糖单位之一是氨基己糖 (N-乙酰氨基葡萄糖或 N-乙酰氨基半乳糖)，故得名氨基聚糖 (以前称为酸性黏多糖)。二糖单位的另一个是糖醛酸。只有硫酸角质素例外，以半乳糖代替了糖醛酸。在多数种类中，其糖基常硫酸化。

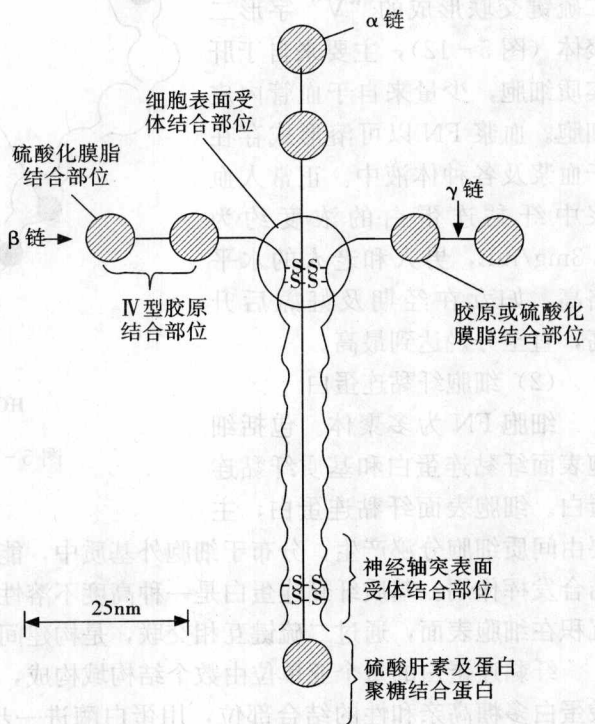


图 5-13 层黏连蛋白分子结构示意图

2. 氨基聚糖的分类

氨基聚糖根据组成的糖基、连接方式、硫酸化数量及位置的不同可分为7种,其结构、特性及分布列于表5-2。

表5-2 氨基聚糖的分子特性及组织分布

氨基聚糖	重复二糖 (A-B) n		每个二糖单位中的硫酸根	与蛋白质共价连接	所含其他糖成分	分布
	单糖 A	单糖 B				
透明质酸	D-葡萄糖醛酸	N-乙酰氨基葡萄糖	0	—	0	结缔组织、皮肤、玻璃体、软骨、滑液
4-硫酸软骨素	D-葡萄糖醛酸	N-乙酰氨基半乳糖	0.2~1.0	+	D-半乳糖 D-木糖	软骨、角膜、皮肤动脉、骨
6-硫酸软骨素	D-葡萄糖醛酸	N-乙酰氨基半乳糖	0.2~2.3	+	D-半乳糖 D-木糖	角膜、皮肤、动脉、骨
硫酸皮肤素	D-葡萄糖醛酸 L-艾杜糖醛酸	N-乙酰氨基半乳糖	1.0~2.0	+	D-半乳糖 D-木糖	皮肤、血管、心、心瓣膜
硫酸乙酰肝素	D-葡萄糖醛酸 L-艾杜糖醛酸	N-乙酰氨基葡萄糖	0.2~0.3	+	D-半乳糖 D-木糖	肺、动脉、细胞表面
肝素	D-葡萄糖醛酸 L-艾杜糖醛酸	N-乙酰氨基葡萄糖	2.0~3.0	+	D-半乳糖 D-木糖	肺、肝、皮肤、肥大细胞
硫酸角质素	D-半乳糖	N-乙酰氨基葡萄糖	0.9~1.8	+	D-氨基半乳糖, D-甘露糖, L-岩藻糖, 唾液酸	软骨、角膜、椎间盘

透明质酸 (hyaluronic acid, HA) 是一种结构简单而重要的氨基聚糖,是增殖细胞和迁移细胞的胞外基质的主要成分,同时也是蛋白聚糖的主要结构组分。HA 不发生硫酸化,糖基特别长。一个 HA 分子通常由多达 5000 个二糖单位 (葡萄糖醛酸和 N-乙酰氨基葡萄糖) 重复排列构成,HA 分子表面含有大量亲水基团,可结合大量水分子,形成黏性的水化凝胶,如果没有空间制约的因素,透明质酸分子可以占据比自身体积大 1000 倍以上的空间。由于 HA 分子表面糖醛酸的羧基还可结合阳离子,增加了基质的离子浓度和渗透压,大量水分子被摄入基质,因此 HA 倾向于向外膨胀,产生压力,使结缔组织具有抗压能力。在体液 (尤其是关节液) 中 HA 起润滑作用,利于细胞运动迁移。在胚胎发育早期和创伤修复时,细胞分泌大量的 HA,促进细胞迁移和增殖,细胞迁移结束,多余的 HA 立即被透明质酸酶降解。

(二) 蛋白聚糖

蛋白聚糖 (proteoglycan, PG) 见于所有结缔组织的细胞外基质中,是由氨基聚糖与核心蛋白质 (core protein) 的丝氨酸残基共价结合而成的巨分子,含糖量可达 90%~95%。一个核心蛋白分子上可连接一至数百个不同的氨基聚糖,形成蛋白聚糖单体,若干个蛋白聚糖单体可借连接蛋白以非共价键与透明质酸结合成蛋白聚糖多聚体。蛋白聚糖的一个显著特点是多态性,不同的蛋白聚糖具有不同的核心蛋白质和不同种类、数量的氨基聚糖,一种蛋白聚糖分子可含数种不同的氨基聚糖。由此可见,自然界中蛋白聚糖的种类是难以估量的,

具有结构的无限多样性。在分类上十分困难，近年采用 DNA 重组技术，根据核心蛋白氨基酸序列进行分类。

由于蛋白聚糖多聚体中的氨基聚糖含有大量负电荷，而同电相斥，其长链分子呈高度伸展的僵直状，似试管刷（图 5-14），有极大的亲水性，其分子可吸收大量水而膨胀，形成多孔的胶冻状细胞外基质，占据大量空间，具有很强的抗压力，可缓冲机械力，减轻冲撞所造成的损伤。它还允许水溶性分子在其间通过和细胞在其间迁移，可以作为分子和细胞通过的筛。如肾小球基底膜中的蛋白聚糖有此功能。

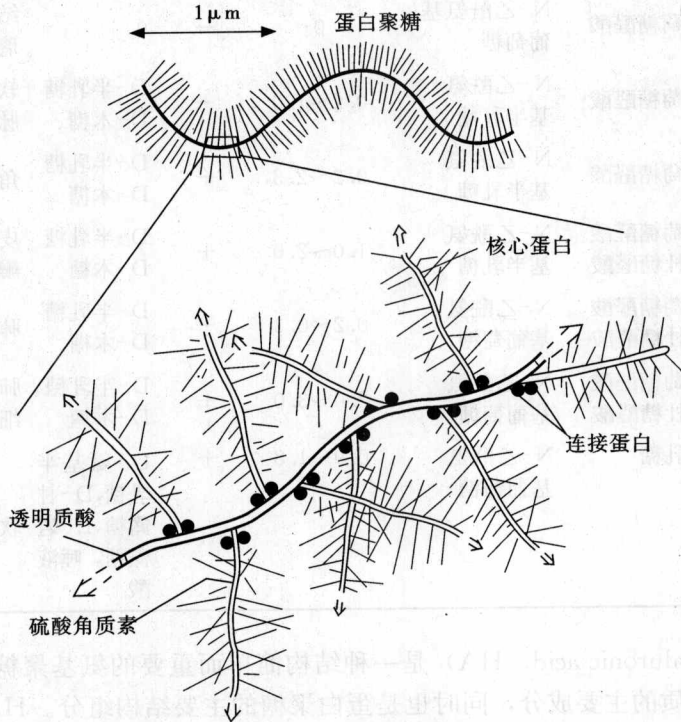


图 5-14 蛋白聚糖分子结构示意图

(三) 氨基聚糖和蛋白聚糖的功能

在机体不同发育阶段，氨基聚糖和蛋白聚糖的种类和含量不同。胚胎早期，皮肤中主要含透明质酸和硫酸软骨素蛋白聚糖。随着年龄增长，硫酸角质素和硫酸皮肤素蛋白聚糖含量增加，硫酸软骨素蛋白聚糖含量和硫酸化程度降低，透明质酸含量下降。

氨基聚糖和蛋白聚糖具有以下功能：

1. 使组织具有弹性和抗压性

在细胞外基质中，氨基聚糖和蛋白聚糖与胶原的抗张性及弹性蛋白提供的弹性相辅相成。氨基聚糖和蛋白聚糖构成细胞外高度水合的凝胶状基质，使组织具有渗透压和膨压，有抗张、反弹和抗机械压力的缓冲作用，维持组织形态，防止机械损伤。在软骨中，许多蛋白聚糖结合到一个透明质酸分子上，形成巨大复合体，使软骨具有很好的弹性和抗压性。

2. 对物质转运有选择渗透性

由于糖链中糖醛酸的羧基提供大量负电荷，借助负电荷间的相斥作用，糖链挺直交错，构成大小不等和电荷密度不同的网孔，吸引阳离子，具有分子筛的作用。水、离子和各种营

养性小分子、代谢物、激素、维生素和细胞因子等可进行选择性渗透。肾小球基膜由于蛋白聚糖形成高度水合的筛状凝胶，成为血浆和尿液的过滤器。

3. 细胞表面的蛋白聚糖有传递信息作用

乙酰肝素蛋白聚糖可跨越细胞膜，细胞外区肽链能结合细胞外基质中各种信号分子，细胞质区的肽链与细胞骨架相互作用，使细胞内外信息相通。

4. 角膜中的蛋白聚糖具有透光性

角膜中主要含硫酸软骨素和硫酸角质素，由于高度硫酸化，使基质脱水变得致密，阻止血管形成，使角膜柔软具透光性，同时角质化具保护作用。

5. 抗血凝作用

由靠近血管的肥大细胞分泌产生的肝素蛋白聚糖，常以单体存在。接受刺激时肝素释放入血液中，与抗凝血酶相结合，抑制凝血因子的作用，具抗凝血功能。

此外还有促进细胞迁移、增殖和组织润滑等作用。

五、细胞外基质的受体

细胞外基质通过与细胞表面的特异性受体结合而表现出各种生物学作用。近年来已鉴定出许多种细胞外基质成分的受体，大多为跨膜糖蛋白，某些糖脂与跨膜蛋白聚糖可作为一些细胞外基质成分的辅助受体。每种细胞外基质分子都有数种受体，不同的细胞外基质分子又可结合同一种受体，使细胞外基质与细胞外基质受体的相互作用具有多样性和复杂性。正是这种作用特性才能表现出细胞外基质的多种生物学作用。

提 要

细胞连接是相邻细胞的细胞膜、细胞膜内胞质和细胞间隙共同组成的结构，普遍存在于动物各种组织的细胞之间。紧密连接是以相邻细胞膜点状融合形成的封闭连接；锚定连接是一个细胞中的骨架系统成分与另一个细胞中的骨架成分相连接，有黏着连接和桥粒连接；通讯连接在相邻细胞间建立连接通道，实现细胞间的电信号和化学信号的通讯联系，有间隙连接和化学突触。通过细胞连接协调细胞间的代谢活动，使组织结构更稳定，功能更完善。

细胞外基质是由细胞分泌的多种大分子构成的精细而复杂的网络结构。主要的大分子有胶原、弹性蛋白、纤黏连蛋白、层黏连蛋白、氨基聚糖和蛋白聚糖等。胶原是人体内含量最多的一种蛋白质，为三条 α -螺旋肽链构成的三股螺旋结构，肽链中有三肽重复顺序(Gly-X-Y)的氨基酸组成。弹性蛋白是高度疏水的非糖基化蛋白，由两种类型短肽交替排列构成，肽链之间相互交联，形成网络结构。纤黏连蛋白和层黏连蛋白都是高分子质量糖蛋白。纤黏连蛋白有血浆纤黏连蛋白(二聚体)和细胞纤黏连蛋白(多聚体)两种类型；层黏连蛋白是由三条肽链借二硫键交联而成的不对称的“十”字形分子。氨基聚糖是由重复的二糖单位构成的无分枝长链多糖。氨基聚糖与核心蛋白质的丝氨酸残基共价结合形成巨分子蛋白聚糖。细胞外基质的组成成分及组装形式与组织的特殊功能相适应。细胞外基质不仅参与组织结构的维持，而且对细胞的存活、形态、功能、代谢、增殖、分化、迁移等基本生命活动具有全方位的影响。近年来对细胞外基质成分及生物学作用的研究，成为细胞生物学领域的研究热点。

复习思考题 5

(一) 名词解释:

细胞连接 连接子 细胞外基质 透明质酸 层黏连蛋白

(二) 问答题:

1. 细胞连接分哪几种类型? 各种类型的分子结构和功能有何特点?
2. 细胞外基质化学组成主要有哪些? 它们有哪些主要功能?
3. 胶原的分子组成和结构有何特点? 如何合成和装配? 有何功能?
4. 纤黏连蛋白分子结构如何? 有哪些类型? 有哪些生物学作用?
5. 氨基聚糖有哪几种类型?
6. 氨基聚糖和蛋白聚糖主要有哪些功能?

(罗桐秀)

第六章

核糖体

早在 1897 年, Garnier 等在光镜下发现, 在各种细胞的细胞质内具有强嗜碱性的物质, 有的均匀分布于细胞质中, 有的则聚集成致密的小群, 由于能被碱性染料深染的性质与 DNA 相像, 故称核外染色质 (chromidial substance) 或动质 (ergastoplasm)。

1955 年 Palade 用电镜观察腺细胞时发现细胞质中有许多致密的小颗粒, 即所谓“Palade 颗粒”。1958 年 Roberts 建议命名此颗粒为“ribosome”, 即核糖核蛋白体, 简称核糖体或核蛋白体。

核糖体是由 RNA 和蛋白质组成的一种亚显微的细胞器, 它是细胞中蛋白质合成的场所。它游离在细胞质中或附着于粗面内质网上, 尤其在快速增殖的细胞中含量更多。除了非细胞形态的病毒和哺乳动物的成熟的红细胞中没有核糖体外, 核糖体普遍存在于所有原核细胞和真核细胞内。此外, 核仁、核质、核外膜中也能看到类似的颗粒, 线粒体基质和叶绿体基质中也存在着核糖体, 可以说核糖体是细胞最基本的不可缺少的结构。

第一节 核糖体的形态结构

在电镜下, 核糖体是一种电子密度较高的圆形或椭圆形的致密小颗粒。原核细胞的核糖体较小, 宽 17nm, 长 20nm; 真核细胞的核糖体较大, 宽 25nm, 长 30nm。

每个核糖体由大小两个亚基组成 (图 6-1)。大亚基侧面观呈圆锥形, 在一侧伸出三个突起称为中心突、柄和嵴, 小亚基侧面观略呈弧形, 可分为头部, 基部和平台三部分, 上面

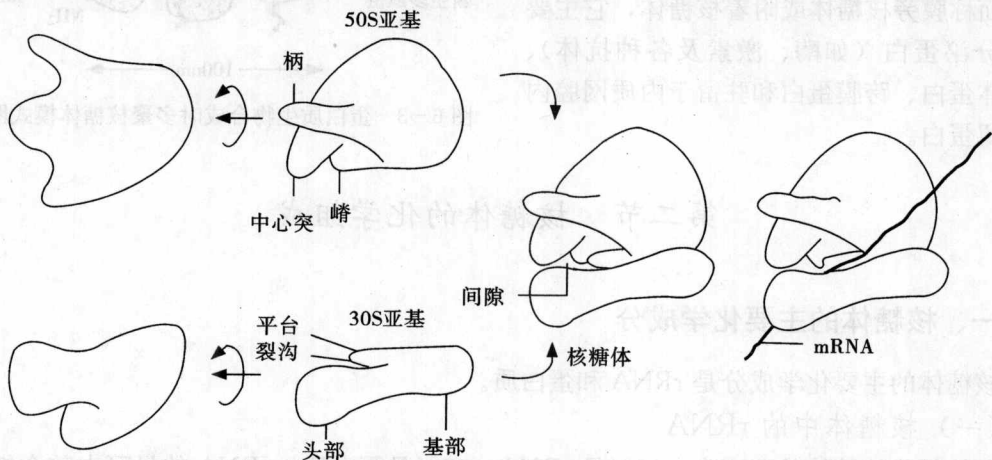


图 6-1 核糖体的形态

1/3 称头部，下面 2/3 称基部，从基部伸出的部位为平台。当大小亚基结合时，小亚基水平地与大亚基相结合，腹面与大亚基之空穴相抱，它的头部与大亚基中含蛋白质较多的一侧相结合。两亚基接合面上留有相当大的空隙，可允许一条 mRNA 分子通过，蛋白质的生物合成就在空隙中进行。此外，在大亚基的中央还有一个与其底面相垂直的中央管（图 6-2），在蛋白质合成时，新合成的肽链经中央管释放出来，以保护多肽链不受蛋白酶的分解。

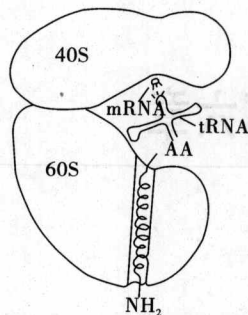


图 6-2 真核细胞核糖体剖面图

当进行蛋白质生物合成时，数个单核糖体被一条 mRNA 分子纤维串联在一起，成为合成蛋白质的功能团，称为多聚核糖体 (polyribosome) (图 6-3)。多聚核糖体中单体数目取决于 mRNA 长度，一般是 3~6 个，有的多到几十个甚至上百个。例如，兔网织红细胞合成血红蛋白的 mRNA 分子上有 5~6 个核糖体，每个核糖体的直径为 22nm，两个核糖体之间的间隔为 3nm。而鸡胚肌细胞合成肌球蛋白的 mRNA 分子上有 60 个核糖体。电镜观察到，多聚核糖体具有三维空间结构，6 个以上的核糖体组成的多聚核糖体是较稳定的结构。在活细胞中，核糖体的亚基，核糖体单体及多聚核糖体三者之间处于动态平衡。

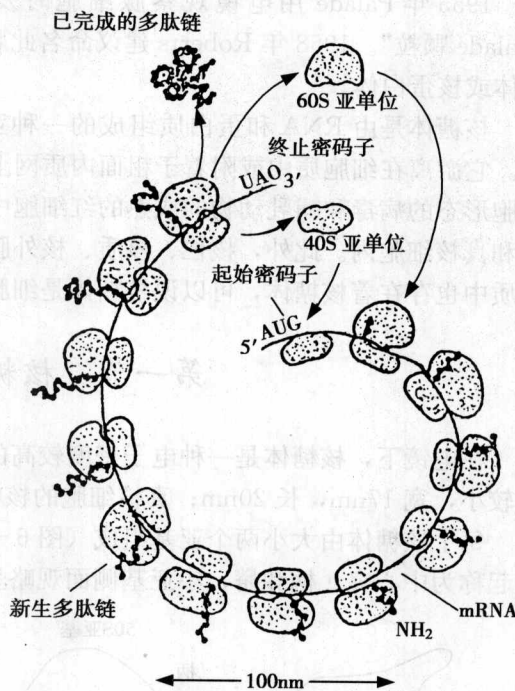


图 6-3 蛋白质生物合成时多聚核糖体模式图

核糖体可以游离在细胞质中称为游离核糖体。游离在细胞质中的多聚核糖体为螺旋状或花簇状的集合体，它主要合成细胞质本身所需要的结构蛋白；也可以附着在内质网膜表面称膜旁核糖体或附着核糖体，它主要合成分泌蛋白（如酶、激素及各种抗体）、溶酶体蛋白、跨膜蛋白和驻留于内质网腔内的驻留蛋白。

第二节 核糖体的化学组成

一、核糖体的主要化学成分

核糖体的主要化学成分是 rRNA 和蛋白质。

(一) 核糖体中的 rRNA

原核细胞核糖体的组成中，65%是 rRNA，35%是蛋白质。rRNA 的量可占整个细胞中 RNA 总量的 85%。23S rRNA、5S rRNA 与蛋白质整合，形成 50S 的大亚基；16S rRNA 与蛋白质整合形成 30S 的小亚基。23S rRNA 和 16S rRNA 分别含有 2904 个和 1541 个核苷

酸, 5S rRNA 含有 120 个核苷酸, 其核苷酸顺序均已测定, 几种核糖体蛋白的作用也已确定。rRNA 在形成核糖体的结构和功能上都起重要作用。rRNA 有很多双螺旋区。图 6-4 为 16S rRNA 的二级结构, 它在识别 mRNA 上的多肽合成起始点中起重要作用。对 rRNA 的其他生物学功能还缺少了解。

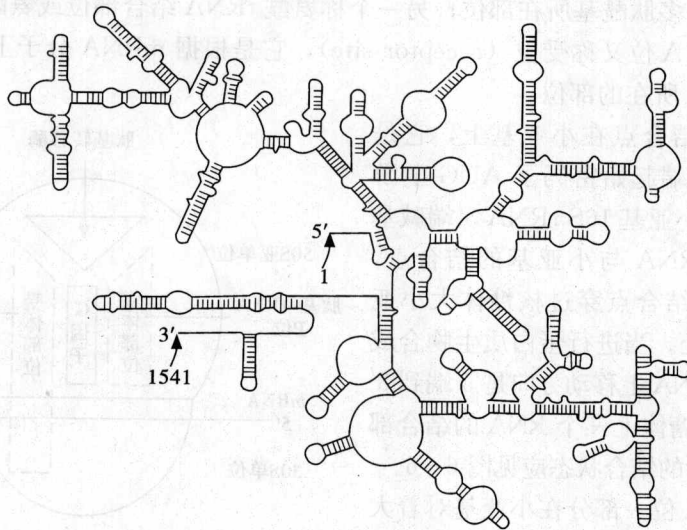


图 6-4 16S rRNA 的二级结构 (含 1541 个核苷酸)

60S 的大亚基含 5S、5.8S 和 28S 三种 rRNA; 40S 的小亚基含 18S rRNA, 其中 5S、5.8S 的 rRNA 顺序已测定。除 5S rRNA 是由核仁外的 DNA 转录的外, 其他的 28S rRNA、18S rRNA、5.8S rRNA 均由核仁合成。

(二) 核糖体蛋白质

应用双向聚丙烯酰胺凝胶电泳技术, 已成功地将大肠杆菌的核糖体蛋白进行分离。有关资料表明: 大肠杆菌的小亚基上有 21 种蛋白质 ($S_1 \sim S_{21}$), 大亚基上有 34 种 ($L_1 \sim L_{34}$), 这些蛋白质已分离, 它们的分子质量和一级结构也已清楚, 大多数蛋白呈纤维状, 只有极少数呈球形的。

真核细胞核糖体的蛋白质有 70~80 种, 其中大多数蛋白质不同于原核细胞。

原核细胞和真核细胞核糖体化学组成比较见表 6-1。

表 6-1 原核细胞与真核细胞核糖体的化学组成比较

来源	沉降系数	分子质量 (ku)	rRNA		蛋白质种数	rRNA/蛋白质
			种类	核苷酸数 (个)		
原核细胞						
核糖体	70S	2700	3 种		55	1.5/1
大亚基	50S	1800	23S	2904	34	65/35
			5S	120		
小亚基	30S	900	16S	1541	21	65/35
真核细胞						
核糖体	80S	4500	4 种		78	1/1
大亚基	60S	3000	28S	4700	45 (40~50)	55/45
			5.8S	160		
			5S	120		
小亚基	40S	1500	18S	1900	33 (30~40)	45/55

二、rRNA 的结合部位

核糖体上共有 3 个 RNA 分子结合部位、1 个 mRNA 和 2 个 tRNA 部位。与 tRNA 结合的部位一个称肽酰 tRNA 结合部位或肽基部位 (peptidyl site, P 位), P 位又称给位 (donor site), 它是延伸中多肽酰基所在部位; 另一个称氨酰 tRNA 结合部位或氨酰基部位 (aminoacyl site, A 位), A 位又称受位 (acceptor site), 它是根据 mRNA 分子上的信息, 携带所需的氨酰 tRNA 所在的部位。

mRNA 分子结合点在小亚基上, 它是通过 mRNA 的 5' 端起始密码子 AUG 上游 3~9 个碱基对与小亚基 16S rRNA 3' 端碱基对配对而形成 mRNA 与小亚基的结合点, 然后 mRNA 通过结合点穿过核糖体大小亚基结合面的空隙处。当进行蛋白质生物合成时, 核糖体在 mRNA 上移动方向是 5' 端到 3' 端。图 6-5 是核糖体上三个 RNA 的结合部位示意图, 而实际的结合状态应见图 6-6。

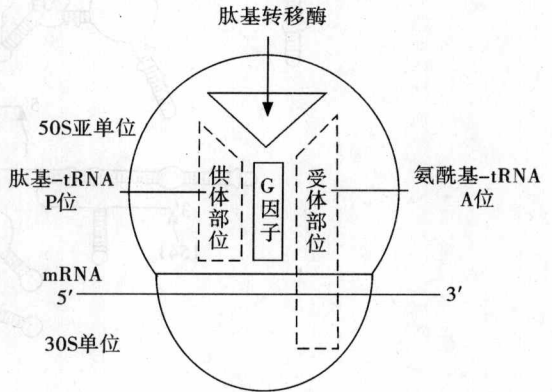


图 6-5 核糖体的活性部位结合示意图

从正面观, A 位一部分在小亚基对着大亚基的那个面上, 而另一部分在大亚基上。大亚基上除有 P 位外, 还有一个出口部位

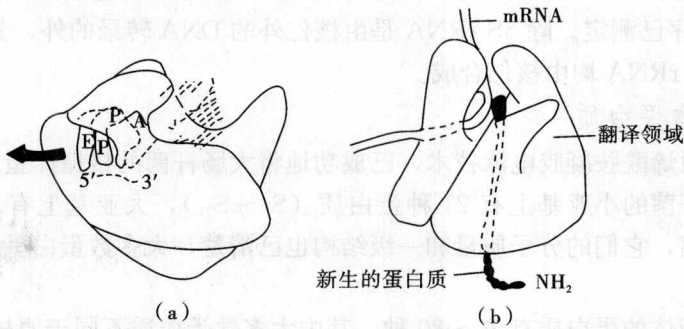


图 6-6 一个正在进行工作的细菌核糖体

(a) 正面观 (引自 H. F. Nolllet, 1991 年); (b) 侧面观 (引自 J. A. Lake, 1985 年)

(exit site), 简称 E 部位, 新形成的蛋白质由这个出口伸到外面。从侧面观, 小亚基在左边, 大亚基在右边, mRNA 从中穿过, 结合点在小亚基上, 新形成的蛋白质从核糖体的基部伸出。然而, 对其中的确切情况还很不清楚。

三、核糖体蛋白质在核糖体上的定位

利用免疫电子显微镜和中子衍射技术, 可发现特异的蛋白质抗体结合到核糖体表面上的蛋白质位置 (图 6-7)。每个小亚基上的蛋白质, 除 S₁₉ 很清楚地在核糖体表面上显示出 2 个位置外, 其余的蛋白质在核糖体表面上只显示出一个位置。S₄ 位于 S₅ 和 S₁₂ 的背面。S₅、S₈ 和 S₁₂ 都位于小亚基的头部和基部之间。实验证明: S₁₆ 在核糖体组装中起重要作用, S₁₂ 是多肽链的起始部位。S₁₁ 缺失时翻译错误增加, S₁₁、S₁₈ 与 mRNA 结合。小亚基近裂隙处与平

台处是阅读密码的位点，由 S_3 、 S_4 、 S_5 、 S_{10} 、 S_{12} 、 S_{14} 6 种蛋白组成，其中 S_4 、 S_5 、 S_{12} 能与链霉素结合，另外三种蛋白质与 tRNA 结合。

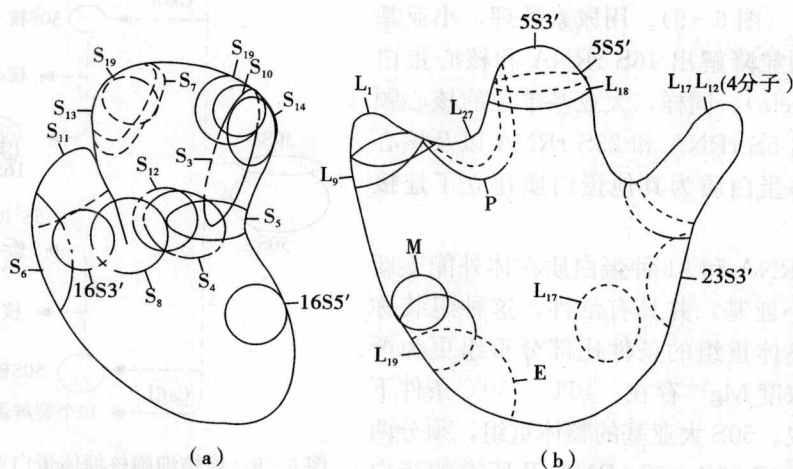


图 6-7 在核糖体上显示蛋白质、RNA 和几个功能部位的位置

虚线遮盖部分表示位于亚基的另一面

(a) 核糖体的小亚基；(b) 核糖体的大亚基

S—小亚基蛋白质；L—大亚基蛋白质；P—肽基转移酶部位；E—新形成蛋白质出口部位；

M—与膜结合部位；16S 5'、23S 3'等分别表示 5'和 3'末端（引自 J. A. Lake, 1985 年）

大亚基上的蛋白质，除 L_{17} 和 L_{19} 位于出口领域（exit domain）外，其余的大部分分布在翻译域（translation domain）。

第三节 核糖体的解离及自我组装

一、 Mg^{2+} 对核糖体组装的影响

核糖体的大小亚基之间可因环境条件及生理状态的改变而发生聚合与解离。其中 Mg^{2+} 对大、小亚基的聚合和解离有较大影响。实验表明：当 Mg^{2+} 浓度为 1~10mmol/L 时，能促进大小亚基的聚合； Mg^{2+} 浓度小于 1mmol/L 时，单个核糖体解离为大、小亚基，当 Mg^{2+} 浓度大于 10mmol/L 时，两个单核糖体结合成二聚体（dimer）（图 6-8）。原核细胞的二聚体为 100S，真核细胞的二聚体为 120S。



图 6-8 Mg^{2+} 浓度对核糖体聚合和解离的作用

二、核糖体的解离与自我组装

核糖体的蛋白质可以从核糖体中解离下来，也可以加回去而重新建成有活性的核糖体。例如大肠杆菌的核糖体在 5mol/L 的 CsCl 介质中离心可脱掉 30%~40% 的蛋白质，这些蛋

白质称裂解蛋白质 (split protein)。当这些裂解蛋白质重新加入到无活性核糖体亚单位的核心颗粒中时, 在 37°C 条件下, 可重新组装成有活性的核糖体 (图 6-9)。用尿素处理, 小亚基单位的核心颗粒降解出 16S rRNA 和核心蛋白质 (core protein)。同样, 大亚基单位的核心颗粒可以分离出 5S rRNA 和 23S rRNA 以及核心蛋白质, 核心蛋白质为其他蛋白质建立了连接的部位。

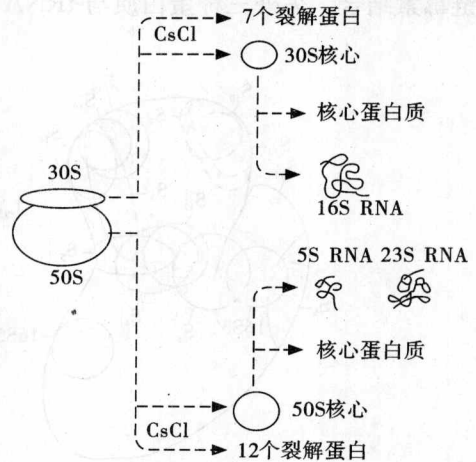


图 6-9 原核细胞核糖体蛋白亚单位的解离

用 16S rRNA 和 21 种蛋白质在体外能重新组装成 30S 小亚基, 并具有活性, 这种组装称整体重组。整体重组的条件比部分重组更为严格。在一定浓度 Mg^{2+} 存在、40°C~50°C 条件下重组过程最快。50S 大亚基的整体重组, 须分两步保温。首先把 23S、5S rRNA 及所有的蛋白质在 4mmol/L 的 Mg^{2+} 介质中保温 (44°C) 20min, 形成有活性的 41~48S 核糖体中间颗粒, 然后再放在 20mmol/L 高浓度的 Mg^{2+} 介质中保温 (50°C) 90min, 可得到重组的 50S 的大亚基。

重组实验表明核糖体是一种自组装 (selfassembly) 的结构。在没有模板或亲体结构的情况下, 可以由提纯的 rRNA 分子和分离的蛋白质重新装配成有功能的核糖体大小亚基。S₁₆ 在组装中起重要作用, 缺失时组装速率下降, 但不影响亚单位的功能。

体外核糖体的重组与活体内的装配过程相似。活体与试管条件下明显的不同是活体内装配更为迅速、有效, 而且不需要体外重组时的高温。前核糖体亚单位是在核仁内组装的, rRNA 在核仁内转录和加工, 细胞质中合成的核糖体蛋白质通过核孔复合体进入核内。核心蛋白质较早地与新生的 rRNA 结合, 其他蛋白质可能晚些与 rRNA 结合。当蛋白质进入细胞核后, 50S rRNA 与蛋白质结合形成一种 70S 核糖体颗粒, 然后逐渐降解为较小颗粒。另有研究表明: 当 28S rRNA 形成后, 即与蛋白质结合, 形成大亚基前体, 而 18S rRNA 是进入细胞质后再与蛋白质结合形成核糖体小亚基的, 因此体内核糖体的自我组装过程是一个极其复杂的生物发生过程。

第四节 核糖体与蛋白质的生物合成

核糖体在蛋白质生物合成时起“加工厂”的作用。mRNA 是蛋白质合成的遗传信息, 决定合成蛋白质的氨基酸顺序, mRNA 接合在核糖体的小亚基上; tRNA 根据 mRNA 上的遗传信息携带氨基酸到核糖体上; 核糖体上具有激活肽基转移酶, 将 tRNA 运来的氨基酸通过肽键连接成蛋白质的一级结构——多肽链。因此, 核糖体是蛋白质生物合成的场所。

核糖体中的大小亚基分工协作, 共同来完成蛋白质的生物合成。

小亚基的功能是: ①与 mRNA 结合; ②当 tRNA 的反密码“阅读” mRNA 上的密码时, 小亚基提供阅读部位 (reading site) 即 R 位点; ③提供与 tRNA 结合的 A 位一部分。

大亚基的功能是合成多肽链: ①提供 A 位的另一部位; ②提供结合激活肽基转移酶的部位; ③提供携带不断延伸的肽链的 P 部位; ④G 因子: GTP 酶活性部位, 供应蛋白质生物

合成时所需要的能量；⑤以大亚基单位附着到内质网膜上；⑥大亚基上存在中央管，新合成的肽链通过它转移至细胞质或内质网腔内。

由此可见，DNA 通过转录形成的三种 RNA 都将参与蛋白质的生物合成，其具体过程中如何呢？

一、mRNA 通过密码子决定蛋白质的一级结构

(一) 遗传密码与密码子

遗传信息蕴藏于 DNA 链上 4 种不同的碱基即脱氧核糖核苷酸中 (dAMP、dGMP、dCMP、dTMP)，通过转录形成由 4 种核糖核苷酸 (AMP、GMP、CMP、UMP) 组成的 RNA。mRNA 是一种多核苷酸的单链，mRNA 的碱基是如何决定 20 种氨基酸参加蛋白质合成呢？

1961 年，尼尔柏格 (Nirenberg) 等利用正在进行蛋白质合成的大肠杆菌制备出的无细胞提取液，进行蛋白质体外合成实验。在此提取液中含有蛋白质合成所需要的核糖体、各种氨基酸、tRNA、酶、ATP、GTP 等物质。当把人工合成的多聚尿苷酸 (poly U) 作为蛋白质合成的模板加入大肠杆菌无细胞提取液中，发现合成了多聚苯丙氨酸，由此可知 UUU 是苯丙氨酸的密码。如果在上述提取液中加入 poly A，则合成一条由多个赖氨酸构成的多肽，同样说明 AAA 编码了赖氨酸。随后，许多学者在此基础上进一步人工合成多聚二核苷酸 (如 poly UG)、多聚三核苷酸 (如 poly UUA)、多聚四核苷酸 (如 poly UUCG)，从而明确了碱基组成与氨基酸的关系。这样，1966 年全部 20 种氨基酸与 64 种 3 个相邻碱基所代表的遗传信息间的关系得到了阐明，并由此得出结论，每 3 个相邻的碱基构成了决定一种氨基酸的密码子 (codon)，所有 64 种密码子总称为遗传密码 (genetic code) (表 6-2)。

表 6-2 遗传密码表

第一碱基 (5'端)	第二碱基				第三碱基 (3'端)
	U	C	A	G	
U	苯丙氨酸	丝氨酸	酪氨酸	半胱氨酸	U
	苯丙氨酸	丝氨酸	酪氨酸	半胱氨酸	C
	亮氨酸	丝氨酸	终止密码	终止密码	A
	亮氨酸	丝氨酸	终止密码	色氨酸	G
C	亮氨酸	脯氨酸	组氨酸	精氨酸	U
	亮氨酸	脯氨酸	组氨酸	精氨酸	C
	亮氨酸	脯氨酸	谷氨酰胺	精氨酸	A
	亮氨酸	脯氨酸	谷氨酰胺	精氨酸	G
A	异亮氨酸	苏氨酸	天冬酰胺	丝氨酸	U
	异亮氨酸	苏氨酸	天冬酰胺	丝氨酸	C
	异亮氨酸	苏氨酸	赖氨酸	精氨酸	A
	甲硫氨酸* 或合成起步信号	苏氨酸	赖氨酸	精氨酸	G
G	缬氨酸	丙氨酸	天冬氨酸	甘氨酸	U
	缬氨酸	丙氨酸	天冬氨酸	甘氨酸	C
	缬氨酸	丙氨酸	谷氨酸	甘氨酸	A
	缬氨酸	丙氨酸	谷氨酸	甘氨酸	G

* 原核细胞为甲酰甲硫氨酸。

(二) 遗传密码的特点

研究表明,遗传密码具有以下特点:

1. 密码子具阅读方向性

密码子是对 mRNA 分子的碱基序列而言的,它的阅读方向是与 mRNA 的合成方向或 mRNA 的编码方向一致的,即从 5' 端到 3' 端。例如,5'-ACG-3' 则是苏氨酸,而 5'-GCA-3' 则是丙氨酸,两者是不同的。

2. 密码子具简并和兼职性

从遗传密码表可知,总共有 64 个密码子,除三个终止密码子 UAA、UAG 和 UGA 外,余下有 61 个氨基酸密码子,而氨基酸仅有 20 种,这样,一些氨基酸的对应密码子就有两种或两种以上,如编码苏氨酸的密码子有 ACU、ACC、ACA、ACG 4 种,这种现象称“简并 (degeneracy)”。决定同一种氨基酸的密码子,互称为同义密码子 (synonymous codon),如 CCU、CCC、CCA、CCG 都是决定脯氨酸的同义密码子。研究发现,同义密码子几乎都有一个共同特点,即密码子前两个碱基对是相同的,区别仅在于第三个碱基,因此,前两个碱基在决定氨基酸中起作用更大。另一方面,在密码子中,还有一个密码子是“兼职”的,即一个密码子具有两种作用,如在真核细胞中,AUG 既是起始密码子,又是甲硫氨酸的密码子。

3. 密码子具通用性

不论体外实验还是体内研究,都表明从病毒、原核细胞到真核细胞使用同一遗传编码。例如,poly U 促进多聚苯丙氨酸的合成可以在各种生物体系中实现。但是,对人、牛、酵母菌线粒体基因序列的研究发现,各种不同生物的线粒体,其基因的密码子是不同的,也不不同于核 DNA 的遗传编码,其意义尚待探讨。

4. 密码子具不重叠性、无标点性和连续性

密码子具有不重叠性、无标点性,而且顺着核苷酸 5'→3' 的方向一个接一个地阅读。应该注意的是,密码子不重叠与基因重叠是两个不同概念。密码子不重叠是指密码子中 3 个碱基,即每个碱基只能读一次,如:5'-AGC-3' 是丝氨酸的密码子,如将它读作为 5'-AGG C-3', 则就成了精氨酸的密码子,而碱基 C 只能作为下一个密码子中第一个碱基,这样,就会引起整个遗传密码的阅读错误。而基因重叠是指在有些生物 (主要是指病毒) 中,同一段基因可以编码几种蛋白质,但这段基因在编码蛋白质时只能分别阅读而并不重叠。例如 ΦX174 是一种 DNA 病毒,同一段基因可以编码 2 种蛋白质,但各蛋白质使用的阅读框架是不一样的,因而产生了不同氨基酸序列的蛋白质 (图 6-10), 举例如下:

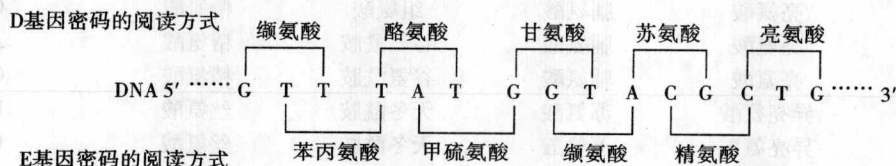


图 6-10 基因重叠示意图

二、在酶的催化下 tRNA 携带特定的氨基酸

(一) tRNA 的结构

资料表明,所有的 tRNA 分子都是单链的,但由于某些小片段中碱基的互补配对,使

tRNA 链形成三叶草形的结构 (图 6-11)。它们共有的特征: ①受体臂: 在 tRNA 3' 端的最后 3 个碱基为 CCA, 它是与氨基酸结合的部位。②T ψ C 环: 由 5 对配对的碱基和 7 个未配对的碱基形成的环。T ψ C 臂是根据环中的 T ψ C 3 个碱基而命名的。 ψ 表示假尿嘧啶, 它是 tRNA 分子中的稀有碱基。T ψ C 环的功能是与真核细胞中核糖体的 5.8S rRNA 相互作用 (在原核细胞中为 5S rRNA), 因此 T ψ C 与识别核糖体有关。③D 环是根据它含有二氢尿嘧啶 (dihydrouracil) 而命名的, 它是氨酰-tRNA 合成酶 (aminoacyl-tRNA synthetase), 识别的部位。④反密码环: 在受体臂相对的一端, 由 7 个未配对的碱基对构成反密码环, 此环中央的 3 个碱基构成反密码子, 它与 mRNA 相应密码子的 3 个碱基反向互补配对。因此反密码环的作用是决定 tRNA 携带特定的氨基酸 (图 6-12)。例如, 丙氨酸-tRNA 带有反密码子 CGC, 它能识别密码子 GCG、GCU、GCC 和 GCA。密码子与反密码子的配对并不十分严格, 因为密码子的第三位碱基与反密码子的第一位碱基可以摆动配对, 即除 A-U、G-C 配对外, U-G 也可以配对, 这就是卡拉斯克 (click) 在 1966 年提出的摆动假说观点。

(二) tRNA 的功能

tRNA 的主要功能是在蛋白质的生物合成中转运特异性氨基酸。即在 tRNA 的受体臂的 3' 末端 CCA 处挂上相应的氨基酸, 并转运到核糖体的 A 位。这一过程是: ①借助于氨酰 tRNA 合成酶的催化, 氨基酸被活化, 并以氨酰的形式连接在对应的 tRNA 3' 末端, 即生成氨酰-tRNA (aa-tRNA), 使特异氨基酸连接在 tRNA 的 CCA 臂上。此反应过程中, 需要消耗能量 ATP。氨酰-tRNA 合成酶具有高度的特异性, 既能识别特异的氨基酸, 又能识别特定 tRNA 上的 D 环, 每一种氨基酸残基至少有一种氨酰-tRNA 合成酶, 但 tRNA 的种类则可多达几十种, 因此就可能出现同一种酶催化同一种氨基酸与不同的 tRNA 结合的现象, 这些能携带同一种氨基酸的不同 tRNA 称为同工受体 tRNA (isoacceptor-tRNA), 简称同工 tRNA, 如大肠杆菌中能转运亮氨酸的同工 tRNA 就有 5 种。②氨酰-tRNA 进入核糖体的 A 位, 被携带到 mRNA 密码子相应序列的位置上。这一过程是 aa-tRNA 在蛋白质因子的作用下, 通过其 T ψ C 环对核糖体的识别, 并进入核糖体的 A 位, 又通过 tRNA 上的反密码子与 mRNA 上的密码子相互配对作用, 使氨酰-tRNA 携带到密码子相应序列的位置上。

后来科学家又发现了一种现象, 即如果编码蛋白质的基因发生了突变, 那么 tRNA 基因也跟着发生突变以校正上述基因的突变, 它的作用机制也是以密码子与反密码子不十分严格配对为基础的。例如, 由于突变使某一基因的甘氨酸密码子 GGG 中间多了一个 G, 这就

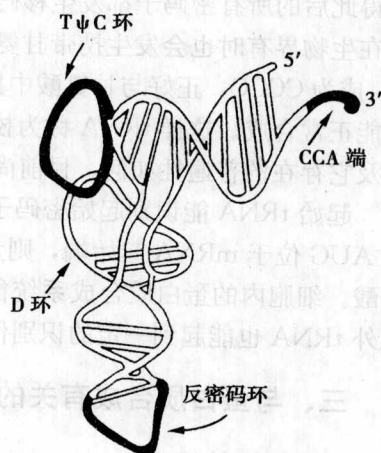


图 6-11 tRNA 的二级结构模式图

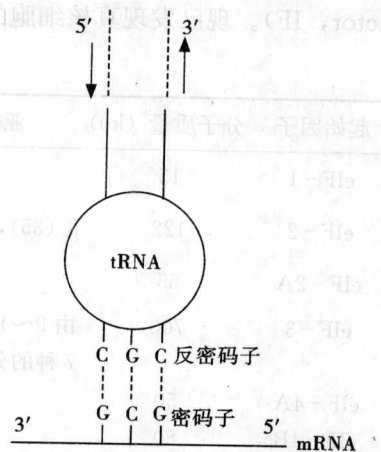


图 6-12 丙氨酸上 tRNA 的反密码子 CGC 与 mRNA 上的丙氨酸密码子 GCG 间的配对

使得此后的所有密码子都发生移码（密码子移位），也就是不能合成一条正常功能的蛋白质，但在生物界有时也会发生携带甘氨酸 tRNA 基因的突变，使之反密码子 CCC 中再加进一个 C，成为 CCCC，正好与甘氨酸中插入的 G 即 GGGG 配对，这样也就不会再发生移码，蛋白质能正常合成。这样 tRNA 称为校正 tRNA（suppressor tRNA）。这种校正 tRNA 出现的机制及它存在的普遍性如何，目前尚知之甚少。

起始 tRNA 能识别起始密码子，AUG 既是起始密码子，也是甲硫氨酸的密码子。如果 AUG 位于 mRNA 起始端，则为起始密码子，如果位于 mRNA 的其他位置，则决定甲硫氨酸。细胞内的蛋白质合成系统能正确地识别起始密码子 AUG 或决定甲硫氨酸的 AUG，此外 tRNA 也能起到一定的识别作用。

三、与蛋白质合成有关的蛋白因子

（一）起始因子

蛋白质合成的起始步骤是形成核糖体-mRNA-tRNA 复合物，称为起始复合物。复合物的形成必须在蛋白质因子的帮助下进行，这些有关的蛋白质因子统称为起始因子（initiation factor, IF）。现已发现真核细胞的起始因子及其作用（表 6-3）。

表 6-3 真核细胞的起始因子

起始因子	分子质量 (ku)	亚基分子质量 (ku)	已知功能
eIF-1	15		稳定 40S-mRNA-Met-tRNA 复合物
eIF-2	122	β (35), γ (55)	与 40S 亚基结合
eIF-2A	65		生理功能不详
eIF-3	700	由 9~10 种亚基组成，其中至少 7 种的分子质量已测出	与 40S 结合，也与 mRNA 及 40S-Met-tRNA-GTP 复合物有关
eIF-4A	50		辅助 mRNA 结合
eIF-4B	80		识别 mRNA，有 ATPase 活性
eIF-4C	19		与 40S 结合
eIF-4D	17		生理功能不详
eIF-4E	24		帽结合蛋白
eIF-5	150		释放起始因子，结合核糖体亚基

（二）延伸因子

延伸因子（elongation factor, EF）能帮助氨酰-tRNA 进入核糖体的 A 位，参与肽链的形成和移位等过程。真核细胞中的这一过程需要有 EF-1 和 EF-2 等延伸因子。EF-1 能与 GTP 和除了甲硫氨酰-tRNA 以外的所有 aa-tRNA 结合形成复合物（EF-1-GTP-aa-tRNA），并使它与核糖体结合，进入核糖体 A 位。EF-2 为另一种延伸因子，它能帮助氨酰-tRNA 由核糖体 A 位移向 P 位，同时它具有 GTP 酶的作用。

（三）释放因子

核糖体在 mRNA 分子上阅读密码子的过程中，当遇到终止密码子（UAA、UAG、UGA）时，意味着蛋白质的生物合成将终止，此时，aa-tRNA 不再与核糖体结合，释放因子（relieving factor, RF，又称终止因子）与终止密码子结合并终止蛋白质生物合成。但目

前对真核细胞 RF 的作用细节了解还太少。

四、多肽链合成的基本过程

多肽链是组成蛋白质的一级结构，因此蛋白质的生物合成过程实际上是多肽链的形成过程，它包括以下 3 个步骤。

(一) 起始复合物的形成

多肽链合成的第一步是起始复合物的形成 (图 6-13)，即在起始因子作用下，核糖体、mRNA 和 tRNA 及其他因子参与，形成起始复合物 (核糖体-mRNA-tRNA)。真核细胞和原核细胞的起始过程不仅参与反应的物质不同，而且反应的顺序也不同 (表 6-4)。最大的差异为原核细胞的小亚基首先与 mRNA 结合，而真核细胞的 40S 小亚基首先是与 tRNA 结合的。

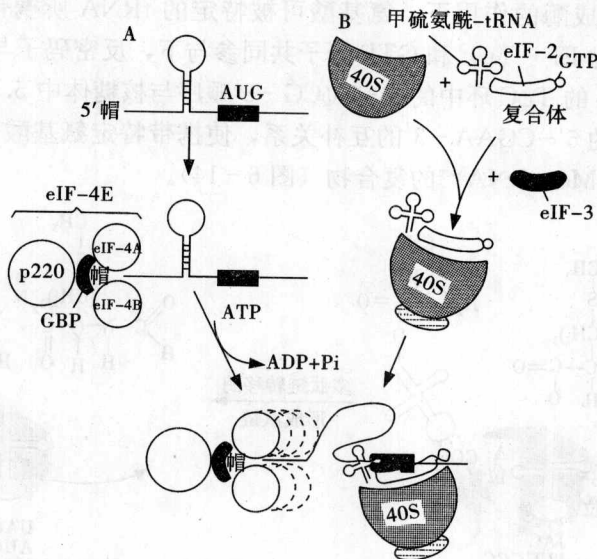


图 6-13 真核细胞蛋白质合成起始过程示意图

表 6-4 原核和真核细胞蛋白质合成起始的区别

内容	原核生物	真核生物
完整核糖体	70S	80S
核糖体亚基	50S, 30S	60S, 40S
起始 tRNA	fMet-tRNA ^{Met}	Met-tRNA ^{Met}
起始因子	3 种	至少 7 种
起始复合物生成顺序	①30S-mRNA ②30S-mRNA-fMet-tRNA ^{Met} ③70S-mRNA-fMet-tRNA ^{Met}	①40S-Met-tRNA ^{Met} ②40S-mRNA-Met-tRNA ^{Met} ③80S-mRNA-Met-tRNA ^{Met}

注：fMet-tRNA^{Met}为 N-乙酰甲硫氨酸-tRNA^{Met}；Met-tRNA^{Met}为甲硫氨酸-tRNA^{Met}。

研究表明，真核细胞的多肽链起始复合物的形成还可以包括以下几个过程 (图 6-13)：①帽结合蛋白 (cap-binding protein, CBP) 复合物的形成及对 mRNA 分子帽结构的识别。帽结合蛋白复合物指的是在起始因子 eIF-2 作用下形成的复合物，这包括 eIF-2、GTP、Met-tRNA。它能识别 mRNA 分子的 5' 端的帽子结构。与此同时，eIF-4 类蛋白因子 (可

能包括 eIF - 4A、eIF - 4B) 与 mRNA 分子 5' 端的帽子结合, 并对 mRNA 分子 5' 端主干——环形结构起解旋作用, 只有解旋了的 5' 端, 才能被核糖体的小亚基识别。②核糖体 40S 的小亚基在 eIF - 3、帽结合蛋白复合物作用下被激活。③当帽结合复合物与 mRNA 分子结合后, 就能使活化了的核糖体小亚基位于起始密码子上。④在 eIF - 5 的参与下, 复合物上的核糖体小亚基与核糖体 60S 大亚基相结合, 形成 80S 核糖体的起始复合物 (核糖体-mRNA-tRNA)。

(二) 肽链的延伸

肽链的延伸在真核与原核细胞中大致相同, 它是一个由许多循环组成的重复步骤, 每一个循环包括以下几个过程。

1. aa-tRNA 与核糖体结合

在氨酰-tRNA 合成酶的作用下, 氨基酸可被特定的 tRNA 所携带, 形成 aa-tRNA。在 EF - 1 (原核细胞为 EF - Tu) 和 GTP 分子共同参与下, 反密码子与 mRNA 上的密码子碱基相互配对, tRNA 的 T ψ C 环中的 5' - T ψ CG - 3' 顺序与核糖体中 5.8S rRNA (原核细胞为 5SrRNA) 分子中的 5' - CGAA - 3' 的互补关系, 使携带特定氨基酸的 tRNA 进入核糖体 A 位形成 80S-mRNA-Met-tRNA^{Met} 的复合物 (图 6 - 14)。

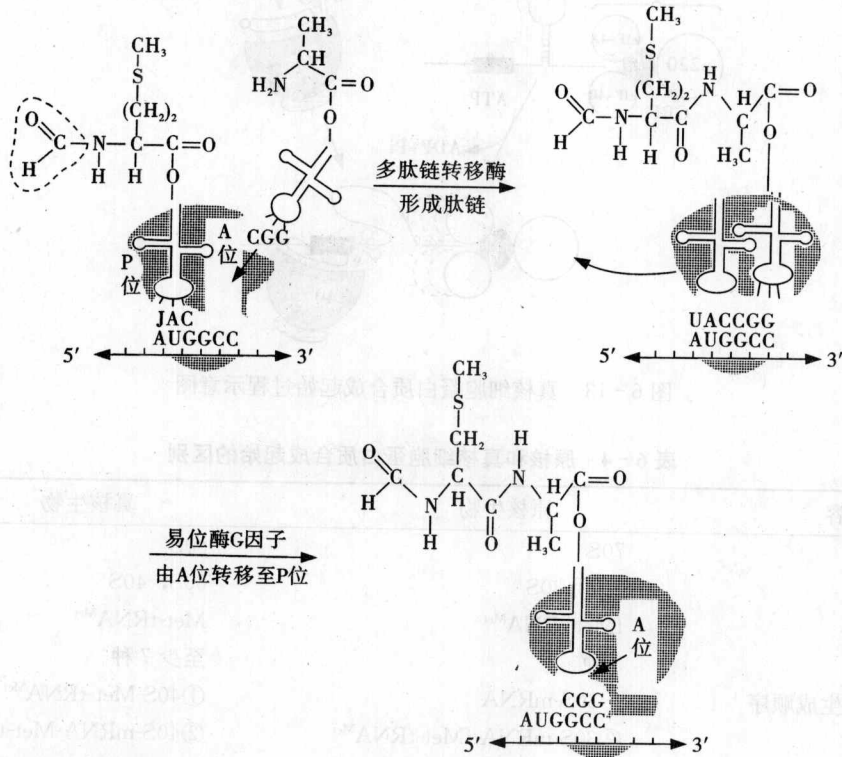


图 6 - 14 肽链的延伸过程图

2. 肽键的形成

aa-tRNA 结合于核糖体并进入 A 位后, 核糖体上结合的肽基转移酶开始作用, 它将 P 位 tRNA (起始后的第一次延伸时为甲硫氨酰-tRNA; 第二次及以后延伸时为肽酰-tRNA) 上的肽基 (或甲硫酰基) 通过其羧基与 A 位 tRNA 上的氨基酸的氨基结合, 脱去一个分子

的水形成肽键 (图 6-15)。

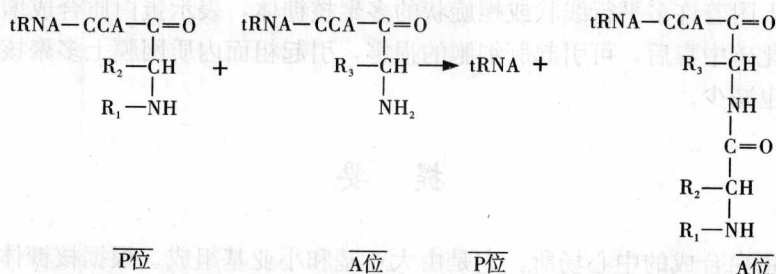


图 6-15 A 位肽链的形成

3. 移位

肽键形成以后, 在 P 位的 tRNA 离开核糖体, 在 EF-2 (原核细胞为 EF-G) 的作用下, 核糖体上 GTP 酶使 GTP 水解; 同时核糖体在 mRNA 上相对移动一个密码子距离, 在 A 位上的肽酰-tRNA 由 A 位转移到 P 位, 使 A 位空出。而又进入到新一轮的循环。

(三) 肽链合成的终止

当核糖体在 mRNA 上移动遇到 mRNA 上的终止密码子 (UAA, UAG, UGA) 时, 由于没有相应的 aa-tRNA 与之结合, 因此肽链就不能再延伸下去, 而释放因子 (RF) 能识别所有这些终止密码子并与 A 位结合后, 活化肽基转移酶, 使 P 位上的肽酰与 tRNA 间的键水解, tRNA 分子和新生的肽链从核糖体上脱落。此外, RF 还具有 GTP 酶的作用, 分解 GTP, 以促进这一过程的完成。最后, 完成多肽链合成后的核糖体从 mRNA 分子上脱下, 并分离成大、小亚基, 重新参与新的多肽链的生物合成。

新合成的多肽链是没有活性的, 必须经过加工修饰并折叠成适当的空间构型, 才能成为有活性的蛋白质。有些蛋白质在肽链合成过程中转移到粗面内质网中, 经小泡转运到高尔基复合体, 糖基化后分送到分泌泡、膜或溶酶体。有些蛋白质留在细胞质中, 其中一部分运到线粒体, 一部分迁移至细胞核内。那么, 蛋白质如何定向转运? 定位于细胞器内的蛋白质又如何跨膜运送? 跨膜之后又依靠什么信息来进行识别? 这些都是当今细胞生物学研究中活跃的领域。

第五节 异常情况下核糖体变化

电镜下, 多聚核糖体的解聚 (disaggregation) 或粗面内质网膜上的核糖体脱落 (degranulation), 均可视为蛋白质合成降低或休止的一个形态指标。

游离的多聚核糖体的解聚, 将伴随着内源性蛋白质生成的减少。如幼红细胞及网织红细胞, 均处于合成血红蛋白的过程中, 此时细胞质中充满多聚核糖体, 随着细胞逐渐成熟, 这些成簇的多聚核糖体逐渐分散为单体。当完全成熟时, 红细胞全被血红蛋白充填, 核糖体逐渐从细胞中消失。细胞培养时, 一些分化较低的肿瘤细胞和胚胎细胞, 在其细胞质中充满多聚核糖体; 而当细胞进入有丝分裂阶段, 则出现多聚核糖体解聚, 蛋白质的合成也明显下降。

附着于粗面内质网膜上的多聚核糖体解聚时, 就出现外输性的蛋白质形成减少。如当豚鼠缺乏维生素 C 引起坏血病时, 成纤维细胞中粗面内质网膜上的多聚核糖体解聚为单体,

但不脱落下来,此时,外输性蛋白质合成减少;相反,在创伤愈合过程中的成纤维细胞,其粗面内质网膜上附着许多平行线状或螺旋状的多聚核糖体,表示蛋白质合成增强。

动物四氯化碳中毒后,可引起肝细胞的损害,引起粗面内质网膜上多聚核糖体脱落,此时蛋白质合成也减少。

提 要

核糖体是蛋白合成的中心场所。它是由大亚基和小亚基组成。根据核糖体分布在细胞中的不同部位,可分成游离核糖体和附着核糖体。多聚核糖体是蛋白质生物合成的功能单位。

核糖体的化学组成是 rRNA 和蛋白质。原核细胞与真核细胞的核糖体的化学组成是不同的。核糖体为 mRNA 和两个 tRNA (A 位和 P 位) 提供结合部位。利用免疫电镜和中子衍射技术可对大、小亚基上特异性蛋白质进行定位,不同的蛋白质具有不同的功能。

Mg^{2+} 对核糖体的解离、聚合影响较大。核糖体在解离过程中又可将蛋白质分为裂解蛋白和核心蛋白两种。核心蛋白为其他蛋白提供连接部位。在体外没有模板和亲本结构的情况下, rRNA 和蛋白质能自我组装成核糖体。活体内核糖体组装更迅速。

核糖体是蛋白质合成加工的场所,蛋白质的生物合成(多肽链的形成)可分为肽链的起始、延伸和终止 3 个阶段。起始复合物形成,核糖体沿 mRNA 从 5' 端向 3' 端移动,阅读 mRNA 上遗传信息, tRNA 携带遗传信息上所需的氨基酸进入 A 位。大亚基上具激活肽基转移酶,能将氨基酸通过肽键的连接形成肽链,带有肽链的 tRNA 进入 P 部位。新合成的肽链进入中央管,并从出口处 E 转移到细胞质或内质网腔,合成后的多肽链经过加工修饰成为有活性的蛋白质。

复习思考题 6

(一) 名词解释:

游离核糖体 附着核糖体 多聚核糖体 A 位 P 位 密码子 反密码子
遗传密码 同义密码 同工受体 tRNA 起始因子 终止因子

(二) 问答题:

1. 以 70S 核糖体为例,说明核糖体的组成及其功能。
2. 简述核糖体解离和聚合过程。
3. 简述 mRNA、tRNA 及蛋白质因子在蛋白质生物合成过程中的作用。
4. 简述蛋白质生物合成的过程。

(言惠文)

第七章

细胞质基质与细胞内膜系统

原核细胞结构简单，只具有包围细胞的细胞膜，细胞质中只有拟核和核糖体。真核细胞具有典型的细胞结构，除细胞膜之外，还存在以生物膜为基础而进一步演变的内膜系统(endomembrane system)。一般把内质网、高尔基复合体、溶酶体、过氧化物酶体、各种转运囊泡和核膜等在结构、功能和发生上具有相互联系的膜性细胞器称内膜系统。线粒体虽然也是膜性结构，但由于它在结构、功能及发生上有一定的独立性，故不列入内膜系统。

内膜系统是细胞进化过程中膜性结构高度分化和特化的产物。它的出现，不仅有效地增加了细胞内有限空间的表面积，为细胞提供足够面积的膜，而且使细胞内形成许多互相分隔的封闭性区室。并各具备一套独特的酶系，互不干扰地执行着专一的生理功能，完成各种重要的生命活动。如粗面内质网主要合成分泌蛋白、膜蛋白、驻留蛋白、溶酶体酶蛋白；滑面内质网主要合成脂类；高尔基复合体能对蛋白质、脂类修饰加工、分选和转运；溶酶体含有多种水解酶，能将生物大分子如蛋白质、核酸等降解成简单的小分子；过氧化物酶体含有多种氧化酶和过氧化氢酶，过氧化氢酶能将过氧化氢还原成水。虽然这些区室具有各自独立的结构和功能，但它们又是密切相关的，尤其是它们的膜结构是相互转换的，转换的机制则是通过蛋白质分选和膜流而实现。这样极大地提高了细胞整体的代谢水平和功能效率。

第一节 细胞质基质

内膜系统及各种细胞器均分布于细胞质基质中。在真核细胞的细胞质中，除去可分辨的细胞器以外的胶状物质，称细胞质基质(cytoplasmic matrix or cytomatrix)，也称胞质溶胶(cytosol)。为较均质而半透明的胶状物质，占细胞总体积的55%。细胞与环境，细胞质与细胞核，以及细胞器之间的物质运输、能量转换、信号转导等都与细胞质基质相关，很多重要的中间代谢反应也发生在细胞质基质中。

一、细胞质基质的化学组成

细胞质基质的化学组成可按其分子质量大小分3类：小分子、中等分子和大分子。小分子包括水、无机离子(K^+ 、 Cl^- 、 Na^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 等)和溶解的气体。属于中等分子的是各种代谢中间产物如脂类、糖(葡萄糖、果糖、蔗糖)、氨基酸、核苷酸及其衍生物等。大分子包括蛋白质、脂蛋白、多糖、RNA等。细胞质基质中还含有大量的酶，它们是一些大分子(如蛋白质、脂蛋白、核酸等)的合成和一些主要代谢途径(如糖酵解途径、磷酸戊糖途径、糖原代谢等)所必需的酶。

二、细胞质基质的特性

(一) 细胞质基质的理化特性

细胞的生命活动处于运动、发展状态中，细胞质基质也是处于不断变动状态中，在细胞内不断地进行着与各种功能有关的代谢反应，而且随着温度、酸碱度、压力等条件的影响而发生改变。因此它是一种动态的、复杂的、有生命的结构。

在细胞质基质中蛋白质含量占 20%~30%，多数蛋白质，其中包括水溶性蛋白，并不是以溶解状态存在，而是形成一种黏稠的胶体，多数的水分子是以水化物的形式紧密结合在蛋白质和其他大分子表面的极性部位，只有部分水分子以游离态存在，起溶剂作用。细胞质基质中蛋白质分子和颗粒性物质的扩散速率仅为水溶液的 1/5，更大的结构如分泌泡和细胞器等则固定在细胞质基质的某些部位上，或沿细胞骨架定向运动。人们推测，细胞质基质是一个高度有序的体系。其中细胞质骨架纤维贯穿在黏稠的蛋白质胶体中，多数的蛋白质直接或间接地与骨架结合，或与生物膜结合，从而完成特定的生物学功能。如与酵解有关的酶类，彼此之间可能以弱键结合在一起形成多酶复合体，定位在细胞质基质的特定部位，催化从葡萄糖至丙酮酸的一系列反应。

目前，人们仍在从细胞超微结构与生物化学等不同侧面的相互结合来研究细胞质基质中特殊的复杂结构体系。在细胞质基质中，蛋白质与蛋白质之间，蛋白质与其他大分子之间都是通过弱键而相互作用的，并且常常处于动态平衡之中。

(二) 细胞质基质的生物学特性

1. 细胞质基质是生命活动物质反应的场所

这些反应主要是在与线粒体、内质网、高尔基复合体等细胞器的接触面和与外环境分界的界面进行，同时也在整个细胞质内进行。

2. 细胞质基质在细胞生长过程中起作用

细胞质基质由于同化作用而使细胞体积逐渐增加，当达到一定程度时就进行分裂。

3. 细胞质基质具有应激性

细胞质基质对外界各种因素的影响，能产生各种不同的反应，如细胞质的运动、收缩和移动等特性，就是细胞质基质对外界环境变化的最普遍的反应。

4. 细胞质基质具有外部运动和内部运动

如黏液变形虫和黏液菌可以不断地伸展伪足和变形；又如离体培养的上皮细胞，也能伸出伪足移动和变形。此外，还有细胞质内部运动，如细胞质的环流。又如受精卵内亦出现细胞质的剧烈流动，由卵的植物极流向动物极，这种由蛋白质和 RNA 的特定分布形成的位置信息，往往对个体胚胎发育早期的细胞分化起重要作用。

三、细胞质基质的功能

细胞质基质对细胞的生命活动有着极其重要的作用。细胞的很多重要代谢活动都是在细胞质基质内进行的，具有多方面的功能。

(一) 在细胞的物质代谢中起作用

- 细胞质基质是细胞内含物的重要储藏仓库，如蛋白质、脂肪滴和糖原颗粒等。
- 为细胞器完成其功能提供所需的离子环境和各种底物。

● 是细胞内物质进行水解、氧化和某些中间代谢活动的场所。如糖酵解、核酸、脂肪酸和氨基酸代谢的某个阶段, 需要依靠细胞质内游离状态的酶来完成。在细胞质基质内进行的生化反应中, 糖酵解、磷酸戊糖途径和脂肪酸的合成, 就是三条重要的代谢途径。

近年来对蛋白质在细胞质基质中的分选及其转运机制的研究取得了重要进展。如证明了 N 端含有某种信号序列的蛋白质合成起始后可被转移到内质网上继续进行蛋白质的合成, 这些蛋白质合成后通过膜泡运输的方式由内质网转运至高尔基复合体。有些蛋白质合成后根据自身所携带的信号, 分别转运到线粒体、叶绿体、微体以及细胞核中。也有些蛋白质则驻留在细胞质基质中, 构成本身的结构成分。

(二) 对蛋白质的作用

细胞质基质在蛋白质的修饰、选择性降解和分子构象上起重要作用。

1. 蛋白质的修饰

在细胞质基质中发生蛋白质修饰的类型主要有:

- (1) 辅酶或辅基与酶的共价结合。
- (2) 调节许多蛋白质生物活性的磷酸化与去磷酸化。
- (3) 对某些蛋白质的 N 端进行甲基化修饰。如细胞骨架蛋白和组蛋白等, 这种修饰的蛋白质不易被细胞内的蛋白水解酶水解, 从而使蛋白质在细胞中维持较长的寿命。
- (4) 对蛋白质的酰基化修饰。最常见的一类酰基化的修饰是粗面内质网上合成的跨膜蛋白在通过内质网和高尔基复合体的转运过程中发生的。另一类酰基化修饰发生在诸如 *src* 基因和 *ras* 基因这类细胞癌基因的产物上, 催化这一反应的酶可识别蛋白中的信号序列, 将脂肪酸链共价地结合到蛋白质特定的位点上。如 *src* 基因编码的酪氨酸蛋白激酶, 与豆蔻酸的共价结合。酰基化与否并不影响酪氨酸蛋白激酶的活性, 但只有酰基化的激酶才能转移并靠拢豆蔻酸链结合到细胞膜上, 也只有这样, 细胞才可能被转化。

2. 控制蛋白质的寿命

细胞内新生的蛋白质通常有 3 种特别的信号: 决定蛋白质在细胞内定位的信号、与修饰作用有关的信号、决定蛋白质寿命的信号。每一种蛋白质都有寿命特征, 称为半寿期 (half life), 蛋白质的半寿期通常与蛋白质的功能相关。在控制蛋白质寿命的机制中, 有一种是多肽链 N 端特异的氨基酸, 对蛋白质的寿命有控制作用。若 N 端的第一个氨基酸是 Met (甲硫氨酸)、Ser (丝氨酸)、Thr (苏氨酸)、Ala (丙氨酸)、Val (缬氨酸)、Cys (半胱氨酸)、Gly (甘氨酸) 或 Pro (脯氨酸), 则蛋白质是稳定的, 寿命长; 如是其他 12 种氨基酸之一, 则是不稳定的, 寿命短。每种蛋白质开始合成时, N 端的第一个氨基酸都是甲硫氨酸 (细菌中为甲酰甲硫氨酸), 但合成后不久便被特异的氨基肽酶水解除去, 然后由氨酰-tRNA 蛋白转移酶 (aminoacyl-tRNA-protein transferase) 把一个信号氨基酸加到某些蛋白质的 N 端, 最终在蛋白质的 N 端留下一个不稳定的或稳定的氨基酸残基。

识别蛋白质 N 端不稳定的氨基酸信号并准确地将这种蛋白质降解, 依赖于泛素的降解途径 (ubiquitin-dependent pathway)。泛素是一个由 76 个氨基酸残基组成的小分子蛋白, 具有多种生物学功能。在蛋白质降解过程中, 多个泛素分子共价结合到含有不稳定氨基酸残基的蛋白质的 N 端, 然后将这种蛋白质送入一种 26S 的蛋白酶体 (proteasome) 中进行降解。蛋白酶体对蛋白质的降解作用分为两个过程: 一是由泛素对被降解的蛋白质进行标记; 二是由蛋白酶体催化的蛋白酶解作用。

3. 降解变性和错误折叠的蛋白质

细胞质基质中的变性蛋白质、错误折叠的蛋白质，以及其他非正常修饰氨基酸的蛋白质，不管其 N 端氨基酸残基是否稳定，也常常被清除。这种蛋白质的降解作用，可能涉及对畸形蛋白质所暴露出来的氨基酸疏水基团的识别，并由此启动对蛋白质 N 端的第一个氨基酸残基的作用，其结果形成了 N 端不稳定的氨基酸，这种蛋白质的降解依赖于泛素及蛋白酶体途径。

4. 帮助变性或错误折叠的蛋白质重新折叠成正确的分子构象

蛋白质重新折叠主要靠热休克蛋白 (heat shock protein, Hsp) 的修饰。热休克蛋白具有 60ku、70ku 和 90ku 三个家族。有证据表明，在正常细胞中，热休克蛋白选择性地与错误折叠蛋白质结合形成聚合物，利用水解 ATP 释放的能量使聚合蛋白质溶解，并进一步折叠成正确构象的蛋白质。

(三) 与细胞质骨架的关系

细胞质骨架中的各种蛋白质存在于细胞质基质中，微管、微丝的聚合和解聚与细胞质基质中的骨架蛋白常常处于动态平衡中。如果离开细胞质基质的特定环境，骨架系统就失去了功能；细胞质中如果没有骨架的支持，其他物质也失去了锚定点，细胞质基质也就不成其为高度有序的结构体系。因此，有些学者对细胞质基质提出了新的解释，认为细胞质基质是由微管、微丝和中间纤维等形成的相互联系的结构体系。其中蛋白质和其他分子以凝聚状态或暂时的凝聚状态存在，并与周围溶液的分子处于动态平衡。

第二节 内质网

内质网是由 K. R. Porter 和 A. D. Claude 等在 1945 年发现的。他们在电子显微镜下观察培养的小鼠成纤维细胞，发现细胞质不是均质的，其中可见一些形状和大小略有不同的小管，小囊连接成一个连续的网状结构。因为集中分布于细胞核周围的内质区，故称之为内质网 (endoplasmic reticulum, ER) (图 7-1)。后来，更多的观察研究表明，内质网并非仅仅分布于内质区，而且常常延伸至细胞膜。尽管如此，内质网这一名称仍旧沿用下来。大量研究证明内质网普遍存在于动、植物细胞中。20 世纪 60 年代以后，随着核素标记放射自显影技术、电镜细胞化学，免疫细胞化学、分子生物学等技术的应用及发展，对于内质网的结构、化学组成与功能都有了深入的了解。

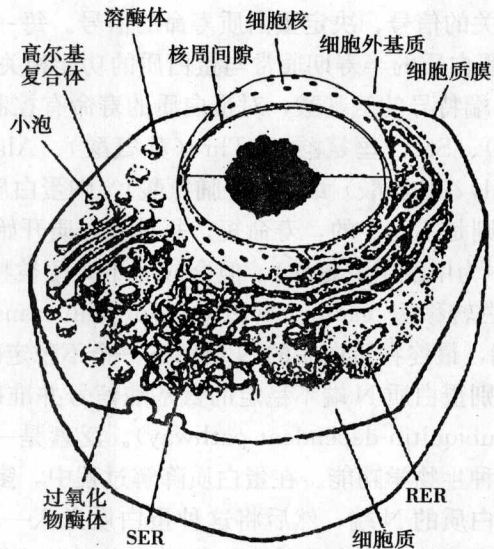


图 7-1 细胞中内质网与细胞核、高尔基复合体的立体结构

(引自 Becker et al. 1996 年)

一、内质网的形态结构

内质网是由一层单位膜所形成的

一些形状大小不同的小管、小囊或扁平囊构成的。内质网膜的厚度比细胞膜稍薄，厚5~6nm。小管、小囊和扁平囊是内质网的“单位结构（unit structure）”。在细胞质中，由它们连成一个连续的网状膜系统（图7-2）。通常占内膜系统的一半左右，体积占细胞总体积的10%以上，由内质网膜所围成的空腔为内质网腔。腔内充满着均匀一致的、极其细微的颗粒。在蛋白质合成很活跃的细胞，如浆细胞中，内质网腔扩张得很大，可见到稠密的大分子物质，主要是蛋白质的混合物。内质网腔与细胞质基质之间物质交换需通过内质网膜，而它与高尔基复合体之间的物质交换则通过运输小泡进行。

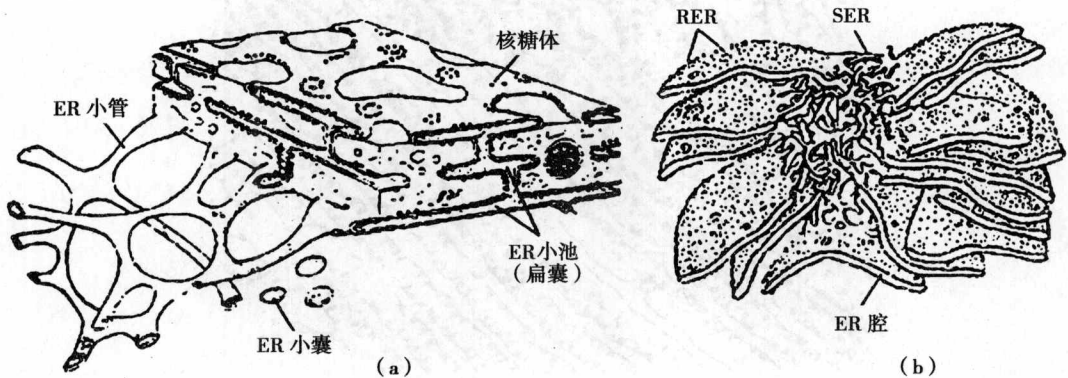


图7-2 内质网立体结构模式图

(a) 引自 W. M. Copenhaver, R. P. Bunge 和 M. B. Bunge, 略加修改; (b) 引自 R. V. Ristic

内质网膜与外层核膜是相连续的，内质网腔与两层核膜之间的腔也相通连，这种通连不仅明显而且恒定。有人将内质网、核膜和高尔基复合体统称为液泡系统（vacuolar system）。

由于内质网是一种封闭的扁平囊状、管状和泡状结构，因此它有两个面，其外表面称为细胞质基质面，内表面称为腔面。

内质网的形态变异很大，其形态、数量和分布在各种细胞中不同，常与细胞的类型、生理功能状态、分化程度以及环境条件有关。如在不同的发育时期，随着生理功能的不同，内质网不一样，如在卵细胞、胚胎细胞或未分化的细胞中，内质网比较小，相对的不发达，随着细胞的生长发育，内质网的数量逐渐增加，同时结构从简单到复杂。在有些细胞中，内质网的小管、小囊和扁平囊这三种单位结构都存在，而在另一些细胞中只有其中一种或两种，如在鼠肝细胞中，内质网主要为扁平囊；而在睾丸间质细胞中，内质网则由大量的分支小管和小泡形成网状结构。而且，单位结构成分之间的连续性和形状不是固定不变的，在细胞生活中的一个时期可能是一些连续的小管小囊系统，而在另一个时期又可能是不连续的。同时，内质网对细胞的生理变化相当敏感，在不正常或服药的情况下，如饥饿、缺氧、辐射、胆碱缺乏、肝炎，或服用激素、某些药物等，均可使肝细胞的内质网囊泡化（vesiculation）。

二、内质网的类型

内质网依其结构与功能而分为粗面内质网和滑面内质网两种。

（一）粗面内质网

粗面内质网（rough endoplasmic reticulum, RER），又称颗粒内质网（granular endo-

plasmic reticulum, GER), 常由扁平囊构成, 排列较为整齐。其表面附着有大量核糖体(ribosome), 由于表面粗糙, 因而得名(图7-3)。粗面内质网腔内的内容物通常为均质的, 具有较低或中等电子密度的蛋白质类物质, 其内容物的性状随着不同的生理与病理情况而有所改变。如细胞发生混浊肿胀时, 水进入内质网使其膨胀, 内容物的电子密度变低, 较透亮。

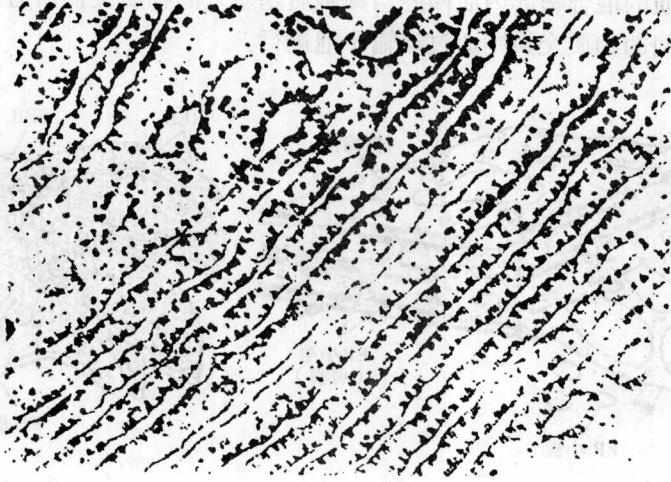


图7-3 粗面内质网

粗面内质网是细胞内一种动态的可变的细胞器, 它随着细胞的类型、生理活动和病理状态而发生形态、大小、数量上的变化。如在大量合成分泌性蛋白质的细胞中, 粗面内质网特别发达。胰腺外分泌细胞、唾液腺细胞在分泌旺盛期, 粗面内质网增加, 而静止期时则减少。分化较完善的细胞, 粗面内质网发达, 而未成熟或未分化的细胞, 如干细胞、胚胎细胞等, 粗面内质网不发达。在分化程度不同的肿瘤细胞中也是如此: 凡是分化高、生长慢的肿瘤细胞, 其粗面内质网发达, 如泌乳的小鼠乳腺癌、甲状腺癌都含有丰富的粗面内质网; 而在分化低、生长快的肿瘤细胞中, 则只能见到少量的粗面内质网, 如艾氏腹水癌是一种生长快, 可接种的癌细胞, 其粗面内质网稀少。因此粗面内质网结构的复杂程度, 可作为判断细胞分化和功能状态的形态指标。

另外, 粗面内质网上附着的核糖体的数量多少也随着生理功能活动或病理变化而变化。如四氯化碳中毒引起大白鼠肝细胞的变化, 可见明显的粗面内质网解聚和脱粒(粗面内质网膜上核糖体失去有规则的排列现象称为解聚, 如核糖体解聚后进一步从膜上脱落, 游离到细胞质中去, 则称为脱粒)。

(二) 滑面内质网

滑面内质网(smooth endoplasmic reticulum, SER), 也称为无颗粒内质网(agranelar endoplasmic reticulum, ARE)或光面内质网, 膜表面不附着核糖体, 表面光滑平整, 故称滑面内质网, 结构上与粗面内质网不同, 很少有扁平囊, 常由分支小管或圆形小泡构成(图7-4)。

在某些特化细胞中, 滑面内质网十分丰富, 如合成类固醇激素的间质细胞、肾上腺皮质细胞, 以及胃壁细胞、皮脂腺细胞、肌细胞等都含有大量滑面内质网。其中心肌和骨骼肌细胞中

的滑面内质网称为肌质网 (sarcoplasmic reticulum)，其功能是参与肌肉收缩活动。肌质网膜上的 Ca^{2+} -ATP 酶将细胞质基质中 Ca^{2+} 泵入肌质网中储存起来，使肌质网中 Ca^{2+} 的浓度升高。受到神经冲动刺激后，能通过释放和回收 Ca^{2+} 来调节肌肉的收缩活动。

以上两种类型的内质网在不同细胞中的分布情况各不相同。胰腺外分泌细胞中的全都为粗面内质网；肌细胞中的全部为滑面内质网；而在肾上腺皮质细胞中则两种类型都存在。鼠肝细胞的内质网在鼠出生前大部分为粗面内质网，在出生后却是滑面内质网占多数。

三、内质网的化学组成

将组织或细胞匀浆后，通过超速离心得到的直径为 100nm 的球形封闭小泡结构，称为微粒体 (microsomes)。它实际上是破碎的内质网。其中来自粗面内质网的微粒体，其外有核糖体附着，称为粗面微粒体 (rough microsomes)，没有核糖体附着的称为滑面微粒体 (smooth microsomes)，主要来自滑面内质网，部分也可能来自细胞膜、高尔基复合体或其他细胞器的碎片 (图 7-5)。



图 7-4 滑面内质网

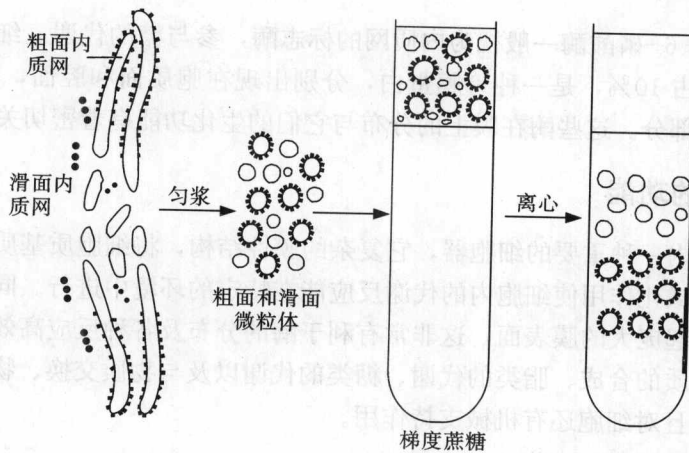


图 7-5 利用蔗糖密度梯度离心技术分离粗面内质网和滑面内质网

由于粗面微粒体含有大量核糖体而比滑面微粒体致密，因此用蔗糖梯度离心方法可将两者分离。分离的微粒体仍然保持着内质网的功能，特别是粗面微粒体，在形态上与粗面内质

网以相同的方式封闭，可以在体外进行各种实验，目前有关粗面内质网功能的资料大部分来自于对微粒体的研究。

通过对微粒体的生化分析，得知内质网膜和所有生物膜一样，也由脂类和蛋白质组成。蛋白质约占 2/3，脂类约占 1/3。如大鼠肝细胞的微粒体含 30%~40% 的脂类和 60%~70% 蛋白质。

内质网膜含有的脂类成分主要包括：磷脂、中性脂、缩醛磷脂和神经节苷脂等。其中以磷脂含量最多。各类磷脂含量的比例大致为：卵磷脂（磷脂酰胆碱）占 55% 左右；磷脂酰乙醇胺 20%~25%；磷脂酰肌醇 5%~10%；磷脂酰丝氨酸 5%~10%；鞘磷脂 4%~7%。可见内质网膜中以卵磷脂含量最多，而鞘磷脂含量较少。

通过聚丙烯酰胺凝胶电泳的分析表明，内质网膜蛋白质的含量比质膜多。例如从大鼠肝细胞的内质网膜至少可以观察到 33 条多肽的电泳图，胰腺细胞的内质网膜有 30 个多肽，分子质量从 15ku 到 150ku 不等。内质网膜上具有大量的酶，表 7-1 所列的是目前了解较多的一些酶在内质网膜上的分布及定位情况。

表 7-1 内质网中主要酶的分布及定位

酶	分布定位	酶	分布定位
细胞色素 b ₅	胞质面	磷脂酸磷酸酶	胞质面
细胞色素 P ₄₅₀	胞质面和腔面	胆固醇羟化酶	胞质面
NADH-细胞色素 b ₅ 还原酶	胞质面	转磷酸胆碱酶	胞质面
NADPH-细胞色素 c 还原酶	胞质面	磷脂转化酶	胞质面和腔面
ATP 酶	胞质面	核苷二磷酸酶	腔面
5'核苷酸酶	胞质面	葡萄糖-6-磷酸酶	腔面
核苷焦磷酸酶	胞质面	β 葡萄糖醛酸酶	腔面
GDP-甘露糖基转移酶	胞质面	乙酰苯胺-水解酯酶	腔面
脂肪酸 CoA 连接酶	胞质面	蛋白质二硫键异构酶	腔面

其中，葡萄糖-6-磷酸酶一般视为内质网的标志酶，参与糖的代谢。细胞色素 P₄₅₀ 在内质网中含量最大，占 10%，是一种跨膜蛋白，分别出现在胞质面和腔面，是内质网上电子传递链的一个组成部分。这些酶在膜上的分布与它们的生化功能有着密切关系。

四、内质网的功能

内质网是细胞内一种重要的细胞器，它复杂的膜性结构，将细胞质基质分隔成许多不同的小区域，这种区域化作用使细胞内的代谢反应能在特定的环境中进行。同时，它使细胞在有限的空间内建立起庞大的膜表面，这非常有利于酶的分布及各种反应高效率进行。内质网参与了细胞内蛋白质的合成、脂类的代谢、糖类的代谢以及与物质交换、物质运输和解毒作用等密切相关，并且对细胞还有机械支持作用。

(一) 粗面内质网的功能

粗面内质网上由于附着有核糖体，所以它的主要功能与核糖体相关联。粗面内质网主要参与蛋白质合成、加工与修饰，蛋白质的转运等。

1. 蛋白质的合成

粗面内质网上的核糖体合成的蛋白质主要包括外输性或分泌性蛋白，如消化酶、抗体、

肽类激素、细胞外基质成分等；膜蛋白，如膜抗原、膜受体等；驻留蛋白（retention protein）；溶酶体酶蛋白等。所有蛋白质多肽链的合成，均起始于细胞质中游离核糖体上。那么，这些游离核糖体是怎样附着到内质网膜上去的？新合成的蛋白质多肽链又是如何被转移到内质网腔中的？关于附着核糖体与内质网的结合及蛋白质合成的机制，1975年，G. Blobel 和 D. Sabatini 等提出的信号假说（signal hypothesis）揭示了细胞中不同蛋白质合成后是怎样找到自己工作岗位的秘密。这一发现开辟了生命科学新的研究领域，为此获得了1999年诺贝尔奖。

1981年，Blobel、Walter 和其他研究者们通过实验发现在核糖体与内质网的结合过程中需要信号识别颗粒、停靠蛋白等蛋白质复合物的参与，这些发现对信号假说作了进一步的补充。

核糖体同内质网的结合受制于 mRNA 中特定的密码序列，具有这种密码序列的新生肽才能与核糖体一起附着到内质网膜的特定部位。在翻译分泌蛋白的 mRNA 5' 端的起始密码 AUG 之后，有一组编码特殊氨基酸序列的密码子，称为信号密码（signal codon）。蛋白质合成时，首先在游离核糖体上由信号密码翻译出一段肽链，称为信号肽（signal peptide）。由 16~30 个氨基酸组成，N 端含有多个带正电荷的氨基酸，其后是 6~12 个连续的疏水氨基酸。信号肽是个信号，是附着核糖体的标记，凡带有这段多肽链的游离核糖体都向内质网靠拢并附着其上。也就是说核糖体被信号肽引导而结合于内质网上。那么它们又是如何结合的呢？研究表明在细胞质中存在一种信号识别颗粒（signal recognition particle, SRP），它是一种核糖核蛋白复合物。主要由 6 条多肽链和 1 个 7S RNA 分子组成（图 7-6）。SRP 能识别信号肽并与其结合，形成 SRP-核糖体复合物。此时，SRP 占据了核糖体的 A 位（氨酰基 tRNA 的位置），阻止了携带氨基酸的 tRNA 进入核糖体，使蛋白质的合成暂时终止。

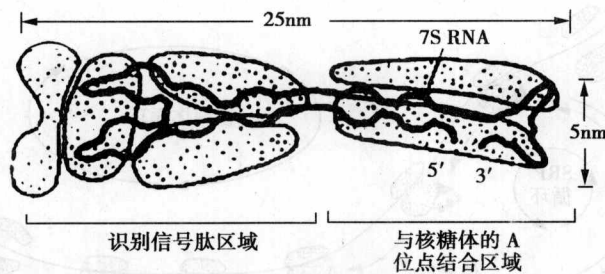


图 7-6 信号识别颗粒模式图（引自 B. Alberts 等）

粗面内质网膜上存在能识别 SRP 的特异性蛋白质，称为 SRP 受体（SRP receptor），也称为停靠蛋白（docking protein），为膜整合蛋白，横跨内质网膜，并暴露于内质网膜表面（细胞质基质面）。SRP-核糖体复合物在 SRP 的介导下，向粗面内质网上的 SRP 受体靠近，通过 SRP 受体识别并结合 SRP，使正在合成蛋白质的核糖体附着在内质网上。与此同时，核糖体也以大亚基与膜上的核糖体结合蛋白（ribophorin）I 和 II 结合，从而加强了核糖体与内质网结合的稳定性。核糖体结合蛋白 I 和 II 也是膜结合蛋白，分子质量分别为 36ku 和 65ku。

核糖体结合蛋白只存在于粗面内质网上，在滑面内质网中并不存在。

SRP 与 SRP 受体的结合是暂时的，当核糖体附着于内质网膜之后，SRP 受体发生构象

变化, SRP 便与受体分开, 离开内质网, 又回到细胞质基质中, 重新进入 SRP 的循环 (图 7-7)。

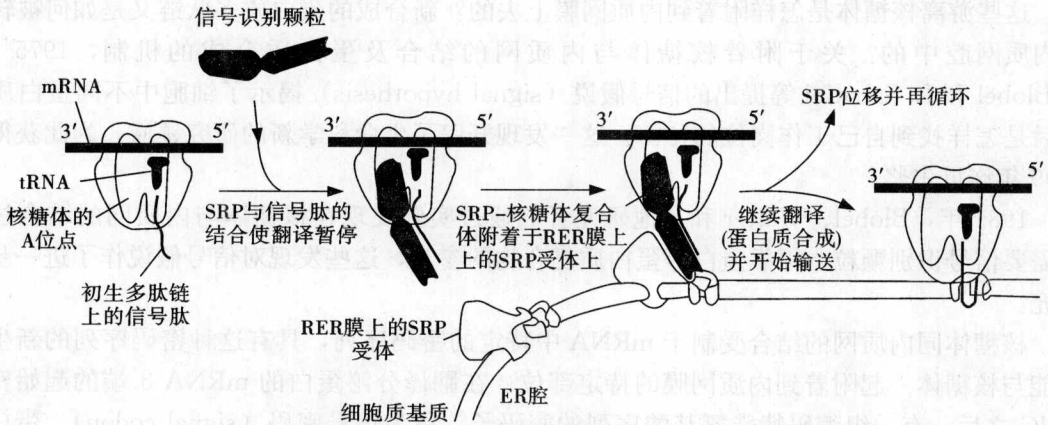


图 7-7 SRP 与核糖体的结合与分离模式图 (引自 Alberts 等)

SRP 与膜上受体分离以后, 离开核糖体 A 位, 处于暂停状态的肽链合成又恢复。新合成的肽链通过由核糖体大亚基的中央管和转移器蛋白共同形成的通道, 穿膜进入内质网腔, 这时, 信号肽的引导作用完成, 由内质网腔面的信号肽酶 (signal peptidase) 切掉, 新生肽链继续合成。当核糖体沿 mRNA 阅读到终止密码时, 多肽的合成停止。合成后的多肽链游离于粗面内质网腔中。

多肽链合成结束后, 核糖体大、小亚基分开, 在分离因子的作用下与内质网脱离, 回到胞质中重新加入“核糖体循环”(图 7-8)。

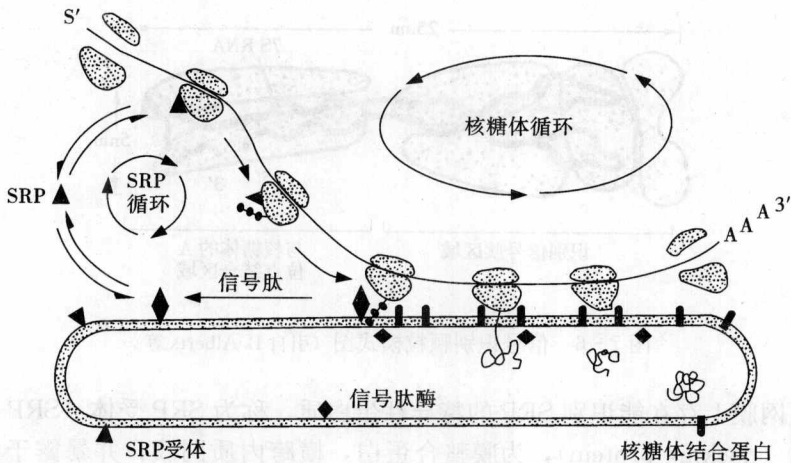


图 7-8 核糖体上进行分泌蛋白合成的信号假说模式图 (引自 P. Walter)

那么核糖体上合成的多肽链是如何通过内质网膜进入腔内的呢? 最新的解释是: 多肽链通过内质网膜是随着翻译同时转移至腔内的, 这种转移方式称为协同翻译转移 (co-translational translocation)。结合到内质网膜的核糖体利用蛋白质合成的能量, 使生长的多肽链穿过内质网膜上由转移器形成的通道进入内质网腔内。转移器 (translocator) 是内质网膜上的一种有孔道的蛋白质。转移器孔是一种亲水通道, 也是一种动态结构, 当核糖体与延长的

多肽链结合到内质网膜上时，孔打开，多肽链得以穿过脂双层；在多肽链被完全转移之后，当核糖体从膜上脱离下来时，孔呈关闭状态。

综上所述，信号假说的主要内容是：①游离核糖体上合成信号肽；②细胞质基质中SRP识别信号肽，形成SRP-核糖体复合体，翻译暂停；③核糖体与粗面内质网结合，形成SRP-SRP受体-核糖体复合物；④SRP脱离核糖体，再参加SRP循环，核糖体上的多肽链继续合成，并向内质网腔转运；⑤信号肽被信号肽酶切除，在内质网腔内降解；⑥蛋白质合成结束，附着核糖体脱离内质网膜，大小亚基分离，参与核糖体再循环。

2. 蛋白质的修饰

新生肽链进入内质网腔之后，要经过各种不同的修饰和正确的折叠之后才能运送到其他的部位。粗面内质网上合成的蛋白质大多需要进行糖基化，形成糖蛋白。蛋白质的糖基化(glycosylation)是指单糖或寡糖与蛋白质共价结合形成糖蛋白的过程。糖基化作用是在内质网腔中开始进行，最后在高尔基复合体中完成。而在细胞质中游离核糖体上所合成的可溶性蛋白质却没有糖基化，这是因为催化糖基化的酶在粗面内质网膜上。

在粗面内质网中连接到蛋白质的寡糖主要的是由N-乙酰葡萄糖胺(N-acetylglucosamine)、甘露糖和葡萄糖组成，共含有14个糖残基。这种寡糖是与蛋白质的天冬酰胺残基侧链上的氨基基团连接。寡糖基转移到天冬酰胺(Asn)残基上称N-连接糖基化(N-linked glycosylation)，与Asn连接的寡糖称为N-连接寡糖(N-linked oligosaccharides)，是糖蛋白中最普遍的一种糖基，由此而连接后的蛋白质称N-连接的寡糖蛋白。除此之外，还有与蛋白质的丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸残基侧链上的羟基基团连接的寡糖，称O-连接寡糖(O-linked oligosaccharides)，这种糖基化方式称O-连接的糖基化(O-linked glycosylation)，N-连接寡糖的糖基化在粗面内质网腔中进行；O-连接寡糖的糖基化主要在高尔基复合体中进行。

N-连接寡糖与蛋白质连接之前，先要与内质网膜中的多萜醇分子(dolichol)连接并被活化。当核糖体上合成的肽链中天冬酰胺一出现在腔内面，已被活化的寡糖就在糖基转移酶(glycosyl transferase)的催化下，转移到Asn残基上(图7-9)。与活化的寡糖连接的是新生肽链中特定的三肽序列Asn-X-Ser/Thr(X代表任何一种氨基酸)，天冬酰胺作为受体。被转移到新生肽上的寡糖在内质网中进一步加工，切除3分子葡萄糖和1分子甘露糖。

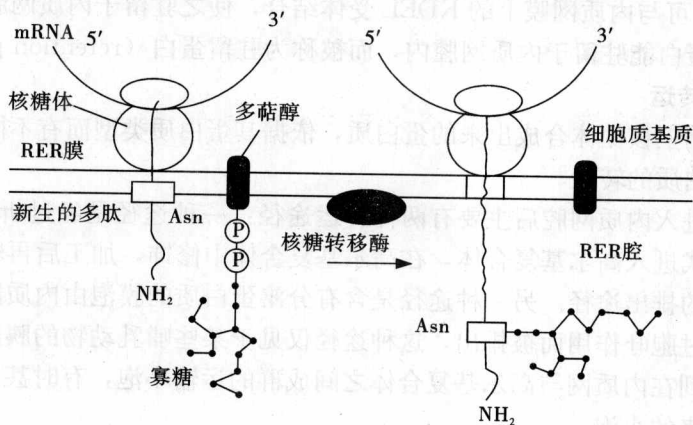


图7-9 粗面内质网腔内蛋白质糖基化示意图

多萜醇是内质网膜中的脂质分子，它的疏水尾部能够结合在膜的脂双层上，寡糖链是结合在多萜醇的磷酸基上，当内质网膜上有蛋白质合成时，整个糖链一起转移。糖基转移酶是位于内质网膜腔面的一种镶嵌蛋白，所以，糖基化必须是在内质网的腔面进行。而胞质中游离核糖体合成的可溶性蛋白不能进行糖基化。

糖基化完成后，糖蛋白经过内质网腔至高尔基复合体，在此处寡糖的成分被修饰和加工。蛋白质糖基化作用在糖蛋白的功能方面和指导大分子到细胞内的其他部位方面都有重要的意义。

除了糖基化以外，新生肽的脯氨酸和赖氨酸可进行羟基化 (hydroxylation)，形成羟脯氨酸和羟赖氨酸。在合成胶原的细胞中，脯氨酸和赖氨酸羟基化是一个主要反应。

3. 新生肽链的折叠与装配

由内质网膜上的核糖体合成的多肽链转移到内质网腔内进行折叠与装配。内质网腔内存在蛋白二硫键异构酶 (protein disulfide isomerase, PDI)、结合蛋白 (binding protein, Bip)、葡萄糖调节蛋白 94 (glucose regulated protein 94) 和钙网素 (calreticulin) 等分子伴侣 (molecular chaperon)。这些分子伴侣对新生肽的修饰、转运和折叠起作用。

PDI 可以切断错误结合的二硫键，以帮助新合成的蛋白质重新生成二硫键并处于正确折叠的状态。

折叠的蛋白质，内部往往有个疏水核心，未折叠的蛋白质由于疏水核心的外露，即使在很低的浓度下，也很容易发生聚集，甚至与其他的蛋白质形成复合物。Bip 同未折叠蛋白质的疏水氨基酸结合，防止蛋白质不正确折叠和聚合，并促使它们重新折叠和装配。一旦这些蛋白质正确折叠或装配完成，便与 Bip 分离，进入高尔基复合体中。同时 Bip 也可阻碍蛋白质的聚集并帮助它们保留在内质网中。Bip 的第二个作用是防止新合成的蛋白质在转运过程中变性或断裂。

Grp94，也称内质网素 (endoplasmic reticulum chaperone)，为内质网的标志分子伴侣，它被蛋白酶激活后可参与新生肽链的折叠和转运。Grp94 在高侵袭力的癌细胞中表达增多，其特性与 *c-myc* 癌基因相关，因此，Grp94 除修饰蛋白质之外，也与癌细胞侵袭和细胞癌变有关。钙网素除参与对糖蛋白的折叠外，由于有很高的 Ca^{2+} 结合能力，对内质网 Ca^{2+} 储存库具有调控作用。

分子伴侣的 C 端末尾具有滞留信号肽 (retention signal peptide) Lys-Asp-Glu-Leu (KDEL)，KDEL 可与内质网膜上的 KDEL 受体结合，使之滞留于内质网腔而不被转运。由于分子伴侣这类蛋白能滞留于内质网腔内，而被称为滞留蛋白 (retention protein)。

4. 蛋白质的转运

由粗面内质网上核糖体合成出来的蛋白质，依据其蛋白质类型而有不同的转运方式。

(1) 分泌蛋白质的转运

分泌蛋白质进入内质网腔后主要有两种转运途径：一种途径是经过折叠及糖基化作用，以运输囊泡的形式进入高尔基复合体，在高尔基复合体中修饰，加工后再输出细胞外，这是分泌蛋白质常见的排出途径。另一种途径是含有分泌蛋白质的膜泡由内质网上脱离下来形成一种浓缩泡，通过胞吐作用而被排出。这种途径仅见于某些哺乳动物的胰腺外分泌细胞。在电镜下可观察到在内质网与高尔基复合体之间成群的运输小泡，有时甚至可以见到刚从粗面内质网芽生出来的小泡。

上述两条途径显示所有分泌蛋白的胞内运输过程是以膜泡形式与细胞质基质隔离而进行转运的。

(2) 跨膜蛋白的膜转移

跨膜蛋白分为单次跨膜蛋白 (single-pass transmembrane protein) 和多次跨膜蛋白 (multi-pass transmembrane protein) 两种 (图 7-10)。

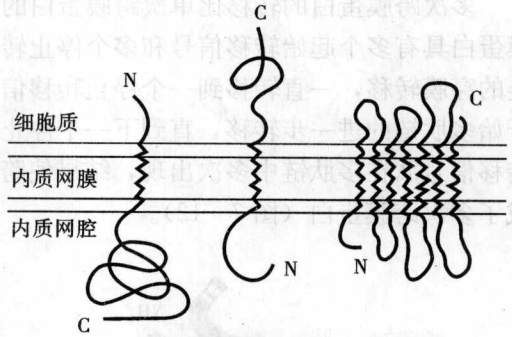


图 7-10 跨膜蛋白可分为单次跨膜蛋白和多次跨膜蛋白

单次跨膜蛋白的转移有两种可能的机制：一是新生肽链协同翻译插入 (co-translation insertion)。其过程为：在新生跨膜蛋白的肽链中既含有 N 端起始转移信号 (start-transfer signal)，又具有停止转移信号 (stop-transfer signal)，它们均是肽链中的疏水区区段。由起始转移信号引导肽链向内质网膜转移，在整个

肽链尚未完成转移之前，停止转移信号便停止肽链转移。起始转移信号从转移器上解除释放，停止转移信号形成单次跨膜 α -螺旋结构区 (由 20~25 个疏水氨基酸组成)，其蛋白的氨基端深入内质网腔内，羧基端则滞留于细胞质侧。转移的另一种过程为：信号肽在肽链内部，称为内信号肽 (internal signal peptide)，内信号肽具有与 N 端信号肽同样的功能。内信号肽作为起始转移信号启动多肽链的转移，多肽链被转移后从转移器释放。当内信号肽到达转移器时，则保留在内质网膜的脂质双层中，成为单次跨膜的 α -螺旋结构。内信号肽能以两个不同的方向与转移器结合，转移的方向取决于内信号肽两端氨基酸节段携带的电荷。当内信号肽前部的氨基端比后部的羧基端具有更多的带正电荷的氨基酸，内信号肽结合于转移器的方向则为羧基端在内质网的腔面，氨基端在细胞质基质侧 [图 7-11 (a)]。如果内信号肽的后段比其前段的氨基端带有正电荷的氨基酸多时，内信号肽的方向则是氨基端在内质网腔面，羧基端留在细胞质基质侧 [图 7-11 (b)]。

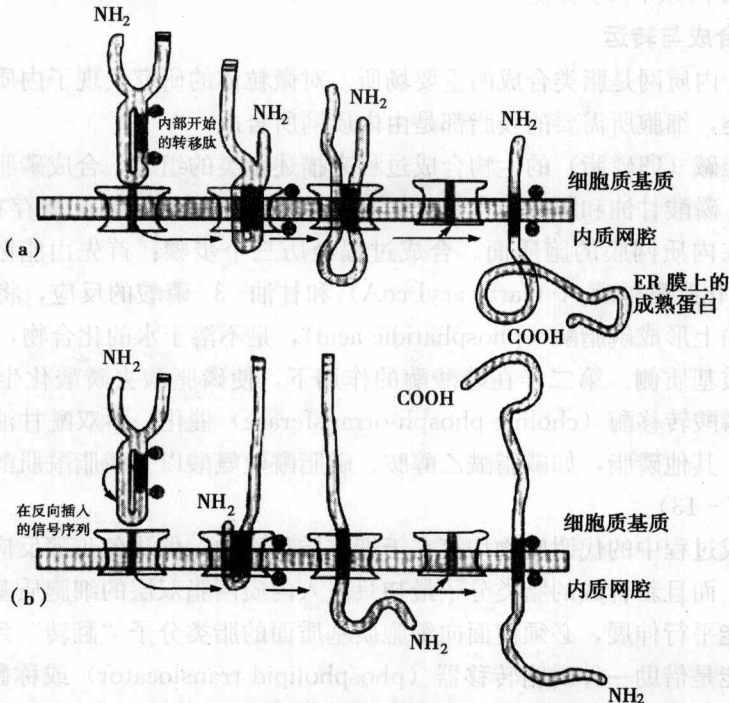


图 7-11 具有内信号肽的单次跨膜蛋白的内质网膜转移

多次跨膜蛋白的转移比单次跨膜蛋白的转移更为复杂，但其基本原理大致相同。这些跨膜蛋白具有多个起始转移信号和多个停止转移信号。内信号肽充当起始转移信号，启动多肽链的穿膜转移，一直转移到一个停止转移信号，才停止转移。当第二个内信号肽出现时，再开始多肽链的进一步转移，直到下一个停止转移信号引起多肽的释放。如此内信号肽和停止转移信号肽在多肽链中多次出现，结果使跨膜蛋白在翻译完成之前多次穿过内质网膜，便形成了多次跨膜蛋白（图 7-12）。

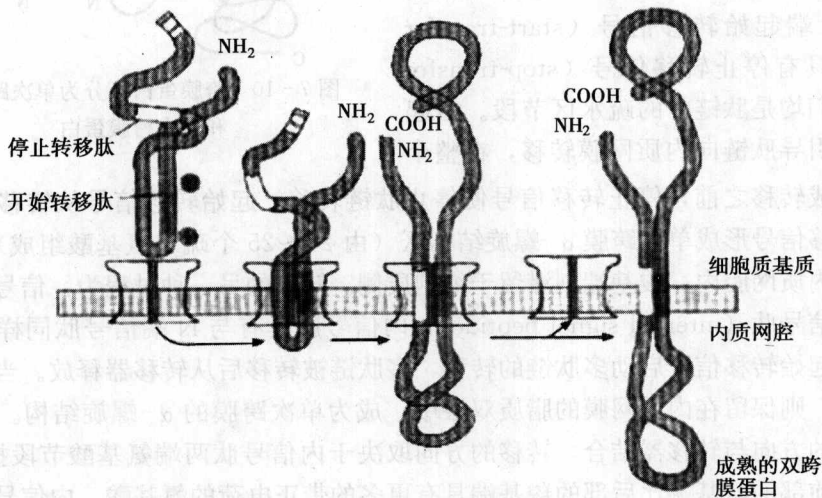


图 7-12 具有内信号肽的多次跨膜蛋白的内质网膜转移

(二) 滑面内质网的功能

1. 脂类的合成与转运

实验证实，内质网是脂类合成的重要场所。对微粒体的研究发现了内质网上含有与脂类合成有关的酶类，细胞所需要的膜脂都是由内质网所合成。

以磷脂酰胆碱（卵磷脂）的生物合成过程来描述脂类的组装。合成磷脂酰胆碱所需要的底物（脂肪酸、磷酸甘油和胆碱）存在于细胞质基质中，合成所需的酶存在于内质网膜上，合成的部位是在内质网膜的胞质面。合成过程经历三个步骤：首先由脂酰基转移酶（acyl transferase）催化脂酰辅酶 A（fatty acyl coA）和甘油-3-磷酸的反应，将 2 个脂肪酸转移结合到磷酸甘油上形成磷脂酸（phosphatidic acid），是不溶于水的化合物，合成后便保留在脂双层的细胞质基质侧。第二步在磷酸酶的作用下，使磷脂酸去磷酸化生成双酰甘油，然后，再由胆碱磷酸转移酶（choline phosph otransferase）催化，由双酰甘油和 CDP-胆碱合成磷脂酰胆碱。其他磷脂，如磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸以及磷脂酰肌醇等都是以此方式合成的（图 7-13）。

卵磷脂合成过程中的代谢底物均存在于细胞质基质中，催化各步骤反应的酶的活性部位也都朝向基质，而且新合成的脂类分子最初只嵌入内质网脂双层的细胞质基质面。为了使内质网的脂双层能平行伸展，必须使面向细胞质基质面的脂类分子“翻转”到腔面。这种“翻转”作用，可能是借助一种磷脂转移器（phospholipid translocator）或称翻转酶（flippase）的帮助来完成的。它能选择地将脂类分子从细胞质基质面“翻转”到腔面的膜层中（图 7-

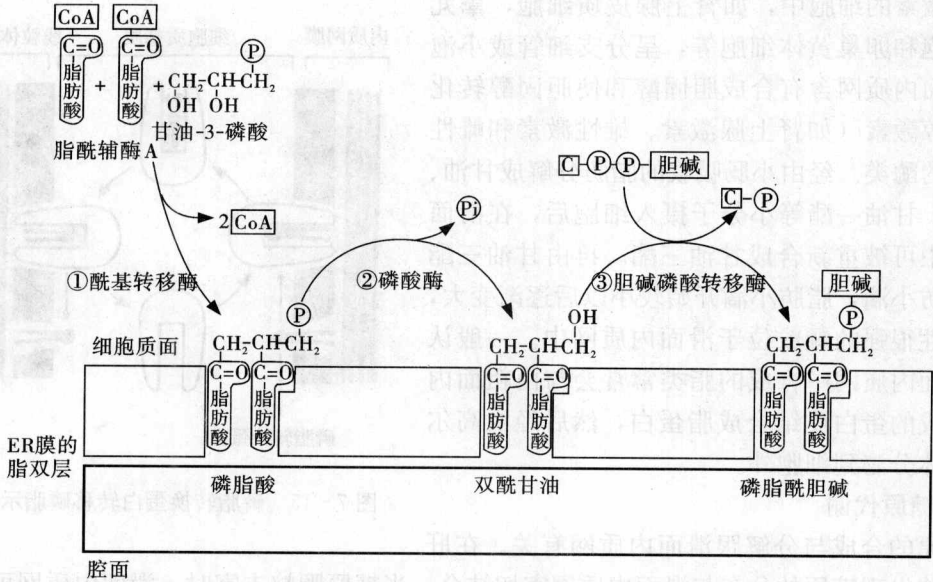


图 7-13 磷脂酰胆碱在 ER 膜上合成过程示意图

14)。有了这种翻转酶的帮助，在内质网膜上合成的磷脂几分钟后就由细胞质一面转向腔面，其转位速度比自然转位速度快。而且实验也发现，它对含胆碱的磷脂的转位能力要比含丝氨酸、乙醇胺和肌醇的磷脂的转位能力强。因此，磷脂酰胆碱更容易转到内质膜的腔面。由此可见翻转酶负责脂类在脂双层中的不对称分布。

磷脂由内质网向其他膜结构上的转运主要有两种方式：一种是以出芽形成运输小泡的方式转运到高尔基复合体、溶酶体和细胞膜上；另一种可能是凭借一种水溶性的载体蛋白，称为磷脂转换蛋白 (phospholipid exchange protein, PEP) 或称磷脂转移蛋白 (phospholipid transfer protein, PTP) 的作用被转运至线粒体和过氧化物酶体上。体外实验表明，这种转换蛋白分子在膜之间能转移单个磷脂分子。每种磷脂转换蛋白仅能识别一种磷脂。它能从内质网膜磷脂中“提取”单个分子，并将磷脂及其结合位点埋藏在其分子内，成为水溶性的复合物进入细胞质基质中，通过自由扩散，直至碰到其他的膜时，转换蛋白释放结合的磷脂分子并插入到脂双层中 (图 7-15)。已报道磷脂酰丝氨酸是以这种方式运输至线粒体，然后再脱羧形成磷脂酰乙醇胺。而磷脂酰胆碱则是原封不动地、完整地转移到线粒体。

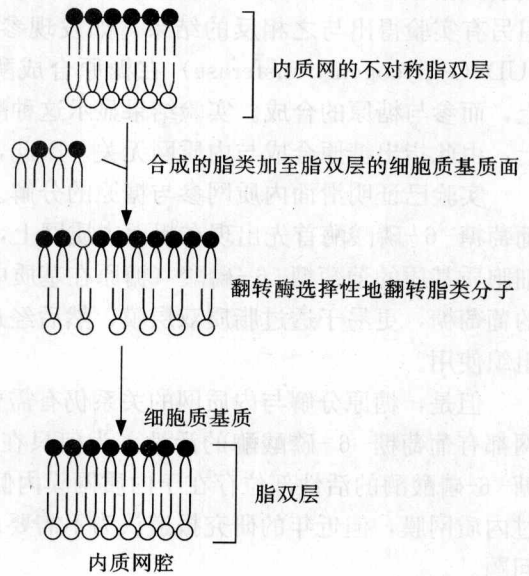


图 7-14 脂类分子从内质网膜的一层翻转到另一层示意图

类固醇的代谢 (包括氧化与还原反应) 发生在滑面内质网。滑面内质网广泛存在于分泌

类固醇的代谢 (包括氧化与还原反应) 发生在滑面内质网。滑面内质网广泛存在于分泌

类固醇激素的细胞中，如肾上腺皮质细胞，睾丸间质细胞和卵巢黄体细胞等，呈分支细管或小泡状。滑面内质网含有合成胆固醇和使胆固醇转化为类固醇激素（如肾上腺激素、雄性激素和雌性激素）的酶类。经由小肠吸收的脂肪分解成甘油、脂肪酸、甘油一酯等小分子摄入细胞后，在滑面内质网中可被重新合成甘油三酯。再由甘油三酯形成脂肪小滴，脂肪小滴开始较小以后逐渐变大，呈嗜碱性很强的颗粒位于滑面内质网中。一般认为在滑面内质网中合成的脂类常常会与由粗面内质网合成的蛋白质结合成脂蛋白，然后经由高尔基复合体分泌到细胞外。

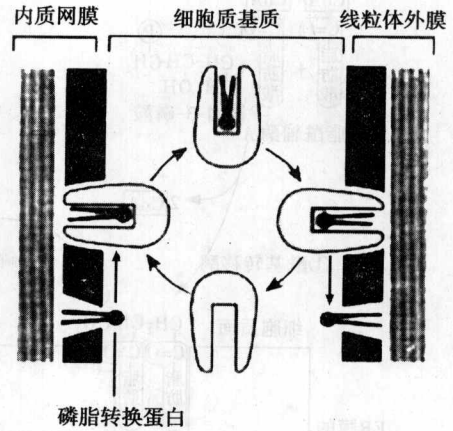


图 7-15 磷脂转换蛋白转移磷脂示意图

2. 糖原代谢

糖原的合成与分解跟滑面内质网有关。在肝细胞中曾发现糖原的分布与滑面内质网密切结合，当糖原颗粒丰富时，滑面内质网可被遮盖而不易辨认。如把动物绝食 5 天，发现糖原减少，可见滑面内质网的小管小囊集中地围绕着残余的糖原。再喂食时，滑面内质网的量显著增加。这说明糖原的合成与滑面内质网有关。但另有实验得出与之相反的结果，如发现参与糖原合成的尿苷二磷酸葡萄糖-糖原转移酶 (UDPG-glycogen transferase) 在糖原合成酶的作用下，加到引物糖原 (primer glycogen) 上，而参与糖原的合成。实验结果显示这种酶不是结合在内质网膜上，而是结合到糖原颗粒上，由此指出糖原合成与内质网无关。因此，内质网与糖原合成的问题仍需要进一步研究。

实验已证明滑面内质网参与糖原的分解。研究新出生的动物，观察到在肝细胞分化时，葡萄糖-6-磷酸酶首先出现在粗面内质网上，然后出现在滑面内质网部分；这种酶可将来自细胞质基质的葡萄糖-6-磷酸（糖原在基质中降解的产物）分解为磷酸与葡萄糖，去磷酸化的葡萄糖，更易于透过脂质双层膜，然后经过内质网被释放到血液中，以供有机体内细胞和组织使用。

但是，糖原分解与内质网的关系仍有需要进一步探讨的问题：①粗面内质网和滑面内质网都有葡萄糖-6-磷酸酶的活性，为何只在滑面内质网与糖原密切结合；②以前认为葡萄糖-6-磷酸酶的活性部位存在于内质网膜内侧，需要特别的运输系统协助作用物和反应物通过内质网膜，但近年的研究报道认为不需要；③葡萄糖-6-磷酸酶在内质网膜中的确切定位问题。

3. 解毒作用

一些脂溶性的代谢产物和外来药物不易被直接排出，需要在肝细胞中经过氧化、还原、水解和结合等方式使之毒性降低，易溶于水而排出体外。这个过程称肝细胞的解毒作用，主要是在滑面内质网上进行的。滑面内质网含有参与解毒作用的各种酶系，如电子传递体系：细胞色素 P₄₅₀、NADPH-细胞色素 P₄₅₀ 还原酶、细胞色素 b₅、NADH-细胞色素 b₅ 还原酶、NADPH 细胞色素 C 还原酶等。这些酶类能使许多有害物质降解，转化为易于排泄的物质。如以大量的苯巴比妥 (phenobarbital) 喂动物，其肝细胞内的滑面内质网的量明显增加，参与药物解毒作用有关的酶含量和活性也增加，如 NADPH-细胞色素 C 还原酶和细胞色素 P₄₅₀ 的含量，在延长服用苯巴比妥后可增加 50%~100%。但一旦动物不再服用外来药物，

增多的滑面内质网会被溶酶体吞噬消化分解，数天后，内质网又恢复原来的状态。

内质网的电子传递链在功能和细节上与线粒体不同。内质网的电子传递链较短，在电子传递、氧化还原过程中，能催化多种化合物羟化（hydroxylation）或其他的加氧反应，能使多种脂溶性的物质如某些药物、毒物、类固醇等氧化。因此，有人把内质网电子传递链酶系称作羟化酶和加单氧酶（monooxygenases）系。还有人称之为混合功能氧化酶（mixed function oxidases）。内质网酶的催化反应与体内许多重要的活性物质的合成、灭活以及药物、毒物的生物转化等过程都有密切关系。

解毒的基本原理是：在电子传递的氧化还原过程中，通过催化多种化合物的氧化或羟化，一方面使药物、毒物的毒性作用降低或者破坏；另一方面因为羟化作用，出现羟基，化合物的极性增强，使之更容易排泄。其中对细胞色素 P₄₅₀ 的解毒反应过程研究得较为清楚，它是一种末端氧化酶，可通过羟化使脂溶性废物或某些代谢产物失活，并溶于水，再被排出体外。许多对机体有害的物质，经氧化酶系的作用可被解毒或转化，由氨基酸代谢而生成尿素，再经肾脏排出。然而，这种氧化作用也有可能使某些物质的毒性增强。如致癌物 3-甲基胆蒽、3,4-苯并芘及黄曲霉素等。

4. Ca²⁺ 的储存及调节

滑面内质网在肌肉细胞中形成一种特化的结构——肌质网，是储存 Ca²⁺ 的细胞器。肌质网膜上有 Ca²⁺ 泵，能将细胞质基质中 Ca²⁺ 泵入到肌质网中储存起来，以调节 Ca²⁺ 的浓度。当肌细胞受到刺激时出现动作电位，使肌质网中 Ca²⁺ 释放出来，Ca²⁺ 激活 ATP 酶，使 ATP 转变为 ADP 并放能，成为肌丝滑动的动力，而引起肌肉收缩。当肌纤维松弛时，Ca²⁺ 又重新泵回到肌质网中。滑面内质网在肌细胞中通过摄取和释放 Ca²⁺ 以参与肌肉的收缩活动。所以肌质网实际上是作为钙库，其内有高浓度的钙结合蛋白，每个钙结合蛋白分子可与 30 个左右的 Ca²⁺ 结合。

五、内质网的病理变化

内质网在病理条件下受到损伤或受到某些因素的作用时，会发生肿胀、肥大和某些物质的累积等异常改变。

肿胀主要是由于水分子和钠的流入，使内质网变成囊泡。这些囊泡还可互相融合而扩张形成更大的囊泡。肿胀是一种水样变性。低氧、辐射和阻塞所造成的压力等均能引起内质网的肿胀和扩张。其中低氧还能引起核糖体从内质网上脱落影响蛋白质合成。如病毒性肝炎，肝细胞中呈扩张态的内质网腔含有大量水分，呈现出混浊肿胀现象。如果水分进一步聚集，便可使内质网破裂。当肝细胞发生水分丢失，出现脱水时，粗面内质网上的核糖体会脱落。这种萎缩的内质网和其他细胞成分一起浓缩成团块，肝细胞呈皱缩状。

当某些感染因子（细菌或毒物）刺激特定细胞时，会引起这些细胞的内质网变得肥大，这反映了内质网具有抗感染作用。如当 B 淋巴细胞受到抗原物质刺激时，可转变成浆细胞。浆细胞表现出内质网肥大，免疫球蛋白的分泌增加。巨噬细胞的内质网肥大，表现为溶酶体酶的合成增强。在组织损伤的修复过程中，形成肉芽组织时，成纤维细胞中的粗面内质网和高尔基复合体肥大，同时胶原前分子的合成和组装也增加。细胞在药物作用下，常出现内质网的代偿性增大，这时药物可经内质网予以解毒或降解。

由基因突变造成的某些遗传性疾病中，可观察到蛋白质、糖原和脂类在内质网中的累积。例如，在 α -1-抗胰蛋白酶缺乏患者（肝硬化患者），其血清中缺乏 α -1-抗胰蛋白酶，

而在肝细胞的粗面和滑面内质网中却储存这种酶。这种酶在内质网中的累积是由于酶的分子结构发生异常，它们缺少唾液酸、半乳糖和 N-乙酰氨基葡萄糖，但甘露糖残基却增加了近 2 倍。这种结构上的异常改变，导致了 α -1-抗胰蛋白酶不能从肝细胞排出，而聚集于内质网中，造成血清中缺乏这种酶。

在具有不同生物学特性的癌变细胞中，内质网的形态结构和功能呈现特异的改变。通常，低分化癌细胞中，内质网比较稀少；高分化癌细胞中内质网丰富发达，呈网状遍布于细胞质中。

第三节 高尔基复合体

1898 年，意大利学者高尔基 (Camillo Golgi) 应用银染方法，在光镜下观察一种象 (barnowl) 和猫的神经细胞时，在核周围发现一种嗜银网状结构，称为内网器 (internal reticular apparatus)。以后在多种细胞中相继发现了类似的结构。为了纪念高尔基，将它命名为高尔基体 (Golgi body)，又称为高尔基复合体 (Golgi complex) 或高尔基器 (Golgi apparatus)。20 世纪 50 年代前，对高尔基复合体的研究主要是固定染色技术，用硝酸银或醋酸处理后，所看到的形态变化较大，而且由于高尔基复合体的折光率与基质相似，所以在活细胞中一般看不到，因此对高尔基复合体是否真实存在，曾经引起了一些人的怀疑，而一直对此争论不休。直至 20 世纪 50 年代应用电子显微镜技术研究附睾、胰腺细胞、神经细胞和肾细胞等的高尔基复合体，才证实了高尔基复合体的存在，并了解了高尔基复合体的微细结构。而且也发现是普遍存在于真核细胞内的一种细胞器。20 世纪 60 年代采用超速离心技术分离出较纯的高尔基复合体。20 世纪 70 年代的研究，揭示了高尔基复合体对蛋白质修饰加工的重要功能。以后，又进一步应用一些新技术，如单克隆抗体免疫化学电镜技术，对高尔基复合体内的酶进行定位，鉴别出高尔基复合体至少有三个区隔，各含有一组特有的酶系。目前，对高尔基复合体的细微结构与功能正从分子水平进行深入研究。

高尔基复合体不仅在细胞的分泌活动中起着重要作用，而且是细胞内物质运输的重要环节。

一、高尔基复合体的形态结构

(一) 光镜下高尔基复合体的形态结构

在光镜下，高尔基复合体形状不一，一般为不规则网状，有时为颗粒状或弯曲盘绕的线状。在一定类型的细胞中，高尔基复合体的形态、分布位置各有其特点，如分泌细胞的高尔基复合体呈粗密网状，位于细胞核与分泌极之间；肝细胞的高尔基复合体分布在细胞边缘；神经细胞的高尔基复合体呈网状，分布于细胞核周围 (图 7-16)。高尔基复合体的数量与细胞分化程度、功能有关。在分泌功能旺盛的细胞，如杯状细胞、胰腺外分泌细胞、浆细胞中，高尔基复合体数量多；而一些未分化的胚胎细胞、干细胞或分泌功能不旺盛的淋巴细胞、肌细胞中，高尔基复合体数量少；在成熟的红细胞和粒细胞中，高尔基复合体消失或显著萎缩。

(二) 电镜下高尔基复合体的形态结构

最初的电子显微镜观察认为高尔基复合体是由扁平囊 (cisterna)、小泡 (vesicles) 和大泡 (vacuoles) 组成。后来，通过对高尔基复合体的电镜细胞化学和三维结构重建的研

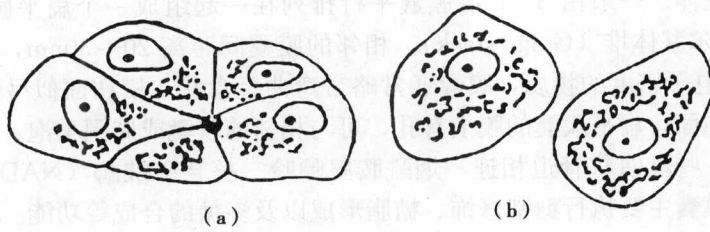


图 7-16 光镜下高尔基复合体（银染）示意图
(a) 胰腺细胞；(b) 神经细胞

究，发现高尔基复合体的膜囊结构从形成面到成熟面各不相同，有些呈典型膜囊状，有些为管状，还有些一部分为膜囊状，另一部分呈管状。另外，各层膜囊的标志细胞化学反应和执行的功能也有差异。根据膜囊区的形态结构、细胞化学反应和执行功能，可把高尔基复合体分为顺面高尔基网状结构（cis Golgi network, CGN）、高尔基中间膜囊（medial Golgi stack, MGS）和反面高尔基网状结构（trans Golgi network, TGN）3个组成部分，每一部分又可划分出更精细的间隔（图 7-17，7-18）。

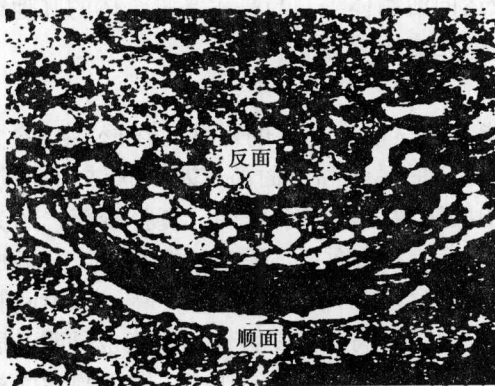


图 7-17 高尔基复合体透射电镜图

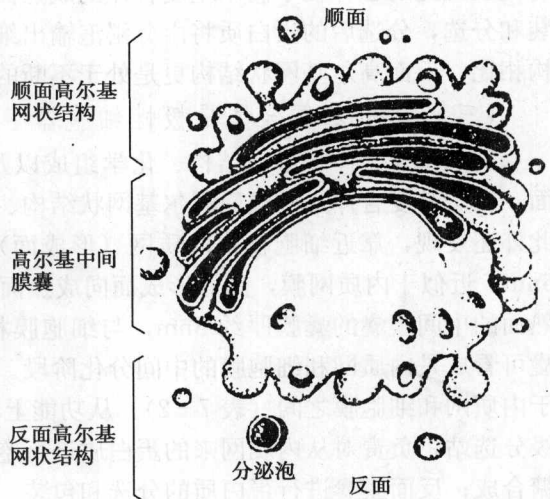


图 7-18 高尔基复合体重建模式图

1. 顺面高尔基网状结构

顺面高尔基网状结构靠近内质网，顺面也称形成面（forming face）。位于高尔基复合体顺面的最外侧，可见许多粗面内质网“芽生”出来的小泡，渐渐趋向于顺面，并于顺面膜囊融合形成扁平囊泡。这些小泡称运输小泡（transfer vesicle），直径 40~80nm，膜厚 6nm。小囊泡数量较多，散布于顺面网状结构的周围，它载有粗面内质网合成的蛋白质。顺面高尔基网状结构的外侧，呈连续分支的管网状。细胞化学特征是能被钨酸特异地染色，成为高尔基复合体形成面的标志反应。一般认为该结构的主要功能是分选由内质网合成，由运输小泡运输来的物质，分选后将其大部分转入高尔基中间膜囊，一小部分再返回内质网。

2. 高尔基中间膜囊

高尔基中间膜囊位于顺面高尔基网状结构与反面高尔基网状结构之间的片层膜囊。这是

高尔基复合体的主体。一般由 3~8 层膜囊平行排列在一起组成一个扁平膜囊堆 (stack of saccule), 又称高尔基体堆 (Golgi stack)。相邻的膜囊间距离 20~30nm, 每个囊腔宽 5~15nm, 内含中等电子密度的物质, 膜囊通常略带弯曲呈盘状, 横切面似弓形, 其凹面朝向反面, 凸面朝向顺面, 扁平膜囊的膜上有孔, 可与相邻的膜囊或周围小泡、小管相通。膜囊与膜囊之间可由一些盘曲状管道相连。烟酰胺腺嘌呤二核苷酸酶 (NADP 酶) 是该结构的标志酶。中间膜囊主要执行糖基修饰、糖脂形成以及多糖的合成等功能。高尔基中间膜囊特殊的形态使其具有很大的膜表面, 增大了进行糖的合成与蛋白质修饰的有效面积。

3. 反面高尔基网状结构

反面高尔基网状结构位于高尔基复合体反面的外层, 与朝向反面的中间膜囊相连, 又称成熟面 (mature face), 形态为管网状, 并与大囊泡 (vacuoles) 相连。大囊泡是直径为 100~500nm 的球形泡, 膜厚 8nm。一般认为大囊泡是由膜囊的两端和反面的膜局部膨大, 脱离而成的。大囊泡内含有分泌物质和溶酶体酶。大囊泡能对所含的物质继续浓缩, 故又称浓缩泡 (condensing vacuole)。如某个大囊泡最终将内含物质分泌到细胞膜外, 那么该囊泡又称分泌泡 (secreting vacuole)。通常采用焦磷酸硫酸素酶 (TPP 酶) 和胞嘧啶单核苷酸酶 (CMP 酶) 的细胞化学反应可显示出该结构。CMP 酶属酸性磷酸酶, 为溶酶体的标志酶, 研究发现此酶也存在于高尔基复合体的成熟面结构中。该结构的主要功能是对蛋白质进行包装和分选, 分选后的蛋白质将由分泌泡输出细胞或运向溶酶体等。与高尔基复合体的其他结构相比, 反面高尔基网状结构更是处于不断的动态变化之中。

(三) 高尔基复合体是极性细胞器

高尔基复合体在形态结构、化学组成以及功能上均显示出一定的极性。在形态结构方面, 高尔基复合体是由顺面高尔基网状结构、高尔基中间膜囊和反面高尔基网状结构构成。此外还发现, 靠近细胞核或内质网 (形成面) 的中间膜囊, 囊较小而狭, 囊膜较薄, 约为 6nm, 近似于内质网膜, 随着形成面向成熟面过渡, 囊渐变大而宽, 膜也逐渐加厚, 至近成熟面的中间膜囊的囊膜厚约 8nm, 与细胞膜相似。从发生和分化的角度看, 高尔基中间膜囊可看成是内质网和细胞膜的中间分化阶段。在化学组成上高尔基复合体的膜脂也是明显居于内质网和细胞膜之间 (表 7-2)。从功能上看, 不同的膜囊有不同的功能, 顺面膜囊是初级分选站, 负责对从内质网来的蛋白质进行鉴别; 中间膜囊进行糖基修饰、糖脂形成以及多糖合成; 反面膜囊进行蛋白质的分选和包装。因此, 高尔基复合体是一个极性细胞器。

二、高尔基复合体的化学组成

从大鼠肝细胞分离的高尔基复合体含 55% 的蛋白质和 45% 的脂类。高尔基复合体膜的脂类含量介于内质网和细胞膜之间 (表 7-2), 说明高尔基复合体是一种过渡性的细胞器。

表 7-2 内质网膜、高尔基复合体膜、细胞膜的脂类含量

膜的类型	总脂含量	神经鞘磷脂	磷脂酰胆碱 (卵磷脂)	磷脂酰乙醇胺	磷脂酰丝氨酸	胆固醇	%
内质网	61	3.4	47.8	36.8	5.6	0.12	
高尔基复合体	45	14.2	31.4	36.5	4.7	0.47	
细胞膜	40	19.2	32	34.4	4.6	0.51	

从表 7-2 可见, 按内质网、高尔基复合体、细胞膜次序, 所含神经鞘磷脂和胆固醇均

逐渐增高,其他磷脂较为恒定。粗面内质网中含有相当数量的不饱和磷脂,细胞膜含有相当高的饱和磷脂和胆固醇,因此是一种稳定的膜;而高尔基复合体的膜所含饱和与不饱和磷脂、胆固醇均介于两者之间。

高尔基复合体含有多种酶,如参与糖蛋白生物合成的糖基转移酶,催化糖脂合成的磺基-糖基转移酶、催化磷脂合成的转移酶和磷脂酶,以及磷酸(酯)酶、甘露糖苷酶等(表7-3)。一般认为,糖基转移酶是高尔基复合体的特征性酶,它能将寡糖转移到蛋白质分子上形成糖蛋白。

表7-3 动物细胞高尔基复合体中的酶类

糖基转移酶:糖蛋白的生物合成	磷酸酶
唾液酸转移酶	5'-核苷酸酶
UDP-半乳糖:N-乙酰葡萄糖胺半乳糖基转移酶	腺苷三磷酸酶
糖蛋白 β -半乳糖基转移酶	硫酸素焦磷酸酶
UDP-N-乙酰葡萄糖胺-糖蛋白N-乙酰葡萄糖胺基转移酶	激酶
磺基-糖基转移酶:脂质的生物合成	酪蛋白磷酸激酶
半乳糖脑苷脂硫酸转移酶	甘露糖苷酶
CMP-NANA:乳糖基神经酰胺唾液酸转移酶	α -甘露糖苷酶
CMP-NANA:GM ₁ 唾液酸基转移酶	转移酶:磷脂合成
CMP-NANA:GM ₃ 唾液酸基转移酶	溶血卵磷脂酰基转移酶
UDP-半乳糖:GM ₂ 半乳糖基转移酶	磷酸甘油磷脂酰转移酶
UPP-GaINAC:GM ₆ N-乙酰葡萄糖胺基转移酶	磷脂酶:磷脂合成
氧化还原酶	磷脂酶A ₁
NADH-细胞色素C还原酶	磷脂酶A ₂
NADPH-细胞色素还原酶	

三、高尔基复合体的功能

高尔基复合体的主要功能是将内质网合成的多种蛋白质进行加工、分类和包装,然后分门别类地运送到细胞的特定部位或分泌到细胞外。内质网上合成的脂类一部分也通过高尔基复合体向细胞膜和溶酶体膜等部位运输。因此高尔基复合体不仅是细胞内物质合成、加工的重要场所,也是胞内物质运输的主要交通枢纽。

(一) 参与细胞的分泌活动

多年来研究已证明高尔基复合体与细胞的分泌有关。伯拉得(Palade)等人应用放射自显影术研究高尔基复合体在细胞分泌活动中的作用。他们将豚鼠胰腺组织块浸入有³H标记的亮氨酸培养液中,以脉冲方式标记。3min后,放射自显影显示出银粒主要集中在细胞基部富有粗面内质网的区域;约20min后,绝大部分集中在高尔基复合体;117min后,银粒集中在细胞顶部的分泌泡并开始释放,此时在胰腺的腺泡腔内也可见到标记物,表示分泌物已排出细胞(图7-19)。

从这个实验可以看出外输性蛋白质合成与分泌途径是:①分泌蛋白质首先在粗面内质网的核糖体上合成;②新合成的蛋白质进入内质网腔中;③从内质网再转移到高尔基复合体,收集、包装形成酶原颗粒;④酶原颗粒转移到细胞顶端,释放于细胞外。在此分泌过程中,

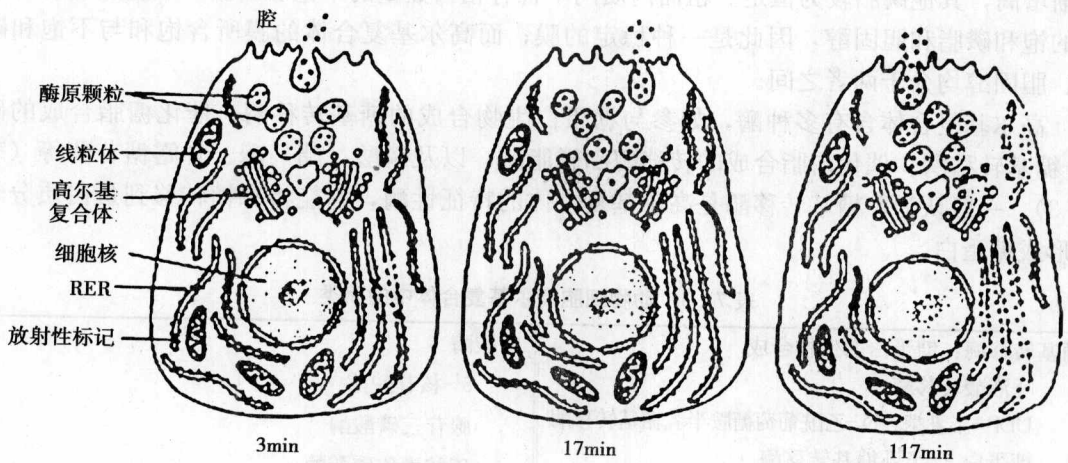


图 7-19 放射自显影跟踪放射性标记氨基酸在豚鼠胰腺细胞内的分布
标记氨基酸后 3 个不同的跟踪时间 (引自 C. J Avers)

高尔基复合体还在分泌蛋白质的形成过程中起着加工、修饰等重要作用。

此后的研究还证明，除分泌蛋白质之外，许多其他蛋白，如多种细胞膜蛋白、溶酶体中的酸性水解酶以及细胞外基质中的胶原纤维等，也是经由高尔基复合体进行修饰和定向转运。

如果外输性分泌蛋白的分泌泡形成之后随即被排出细胞，则称之为恒定型分泌 (constitutive secretion) 或连续分泌 (continuous secretion)。如果分泌泡形成后，暂时储存下来，当需要时再释放分泌到细胞之外，则被称之为非连续分泌 (discontinuous secretion)。

(二) 对蛋白质和脂类的修饰加工

1. 对蛋白质的修饰加工

在粗面内质网合成的各种蛋白质，经由高尔基复合体后，大多数都要进行糖基化的修饰加工，才能形成具有特定功能的蛋白质。

前已述及，糖蛋白的糖基化主要包括两种：一种是 N-连接的糖基化，另一种是 O-连接的糖基化。前者的糖链合成与糖基化修饰开始于内质网，完成于高尔基复合体；而后者则主要或全部在高尔基复合体内合成。这些蛋白质的酪氨酸、丝氨酸、苏氨酸残基侧链的 -OH 与寡糖共价结合，糖基化形成 O-连接的糖蛋白。

高尔基复合体对蛋白质的糖基化修饰作用是在其各个特异的功能区室中进行的。动物细胞中的糖蛋白主要位于溶酶体、分泌产物及细胞质膜中。

细胞内 N-连接糖基化主要有两种：一种是高甘露糖寡聚糖 (high-mannose oligosaccharide)，含有 N-乙酰葡萄糖胺和多个甘露糖；另一种是复合寡糖 (complex oligosaccharide)。除了 N-乙酰葡萄糖胺和甘露糖外，还含有半乳糖、唾液酸和岩藻糖。

糖蛋白的形成，起始于粗面内质网中，然后由粗面内质网以出芽方式经运输小泡，转运到顺面高尔基网状结构中。高尔基复合体再继续对其进行修饰加工。转移到多肽链上的糖链最初有 2 分子 N-乙酰葡萄糖胺、9 分子甘露糖和 3 分子葡萄糖，对于糖蛋白中的寡糖侧链而言，葡萄糖和一些甘露糖是多余的，在加入其他糖基之前必须切除。葡萄糖分子和个别甘露糖分子在内质网中就被切除，其余甘露糖在高尔基复合体中被切除。

分泌性蛋白质与膜蛋白的加工顺序是：先由膜上的甘露糖苷酶 I、甘露糖苷酶 II 去掉大部分甘露糖，接着 N-乙酰葡萄糖胺转移酶 I、N-乙酰葡萄糖胺转移酶 II 将 2 分子 N-乙酰葡萄糖胺结合到存留的甘露糖上，然后通过半乳糖转移酶、唾液酸转移酶等的作用再加上 2 分子半乳糖和 2 分子唾液酸，从而完成糖蛋白的合成和修饰（图 7-20）。对溶酶体酶蛋白的加工则不同于分泌性蛋白、膜蛋白的加工，溶酶体酶蛋白在加工过程中，保留了全部甘露糖，因为在顺面区溶酶体酶蛋白接受了磷酸基团，在它的糖链上形成了甘露糖-6-磷酸，以备溶酶体酶的进一步集中。

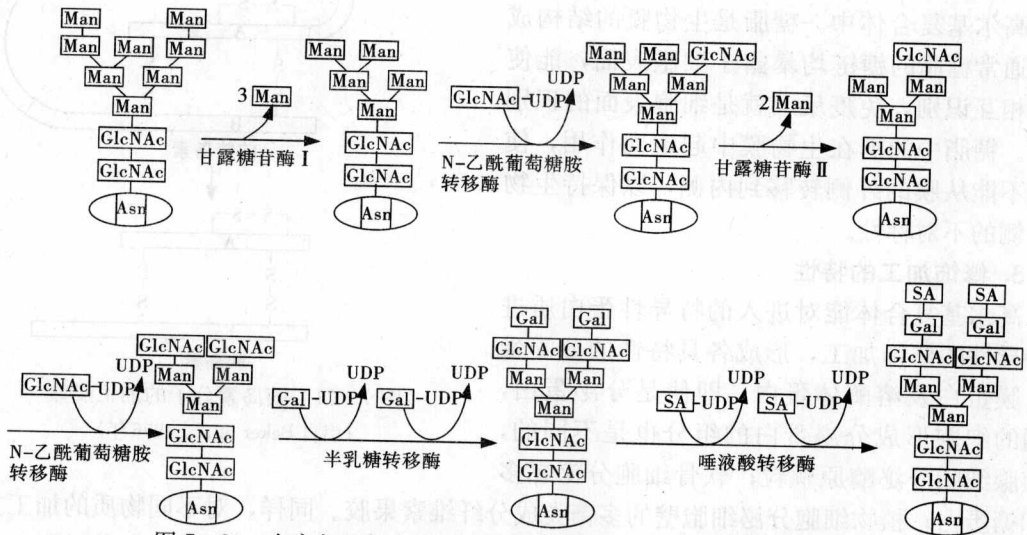


图 7-20 在高尔基复合体内一系列的酶促反应完成糖蛋白合成途径

Man—甘露糖；GlcNAc—N-乙酰葡萄糖胺；Asn—门冬酰胺；SA—唾液酸；Gal—半乳糖

高尔基复合体对糖蛋白的合成和修饰过程，通过核素和放射自显影等方法得到了证实。例如，用 ^3H 标记甘露糖进行短期培养，经放射自显影观察，只在粗面内质网发现银粒；用 ^3H 标记半乳糖和唾液酸，放射自显影观察，银粒只存在于高尔基复合体；用 ^3H 标记 N-乙酰葡萄糖胺，可在粗面内质网和高尔基复合体同时发现银粒。说明 N-乙酰葡萄糖胺、甘露糖是在粗面内质网上的糖基转移酶的作用下加在肽链上的，形成了糖蛋白寡糖链的核心部位。这些未完全糖化的蛋白质经运转小泡转运到顺面高尔基网状结构，进入高尔基中间膜囊，再在膜囊中糖基化转移酶的作用下，使糖链进一步延伸，即在糖链的远端加入半乳糖、唾液酸，形成糖链的周围部分。因此，蛋白质的糖基化过程是严格地按顺序进行的。

蛋白质糖基化的重要意义是：①增强蛋白质的稳定性，对蛋白质具有保护作用；②具有运输信号的作用，有利于高尔基复合体的分选与包装，以便进行蛋白质的靶向运输；③形成细胞膜表面的糖被，在细胞膜的保护、细胞识别以及信号转导等生命活动中发挥重要作用。

高尔基复合体对蛋白质的修饰加工，除了对蛋白质的糖基化，还可以表现在其他方面（蛋白质的水解）。例如，来自内质网的某些蛋白质或酶（如胰岛素、胰高血糖素、血清白蛋白等）的前体物，起初是无活性的。这些蛋白质被送至高尔基复合体经过蛋白水解作用才成为有活性的激素。胰岛素的合成就是一个典型的例子。粗面内质网中最初合成的称为前胰岛素原（preproinsulin），分子质量为 12ku，随后切除信号肽，称为胰岛素原（proinsulin），有 86 个氨基酸，分子质量 9ku，包括 A、B 两条多肽链和一个起连接作用的 C 肽链。胰岛素原运到高尔基复合体中，在酶的作用下，将中间的 C 链切掉，余下的 A 链和 B 链由 51 个

氨基酸组成，以两个二硫键相连，成为具有生物活性的胰岛素（图 7-21）。

2. 对脂类的修饰加工

高尔基复合体还对糖脂进行糖基化，如对脑苷脂、神经节苷脂等含有末端半乳糖和唾液酸的糖脂进行糖基化。生化分析表明，参与糖脂糖基化的一些糖基转移酶和磺基转移酶均存在于高尔基复合体中。糖脂是生物膜的结构成分，通常糖脂的糖链均暴露于细胞表面，能使细胞相互识别，免疫反应就是细胞表面的识别过程。糖脂中的糖在生物膜中起定向作用，使糖脂不能从膜的外侧转移到内侧，以保持生物膜两侧的不对称性。

3. 修饰加工的特性

高尔基复合体能对进入的特异性蛋白质进行特异性的修饰加工，形成各具特性的分泌蛋白、膜蛋白及溶酶体蛋白。即使是分泌蛋白，不同的细胞形成分泌蛋白的组分也是不同的，如胰腺细胞分泌酶原颗粒；软骨细胞分泌黏多糖和糖蛋白；植物细胞分泌细胞壁的多糖类成分纤维素果胶。同样，对不同物质的加工方式也各不相同。因此高尔基复合体对物质的修饰加工是一个极其复杂、精密有序的过程，但具体的机制目前尚不清楚。

利用电镜细胞化学技术，发现高尔基复合体内各种酶的分布是定位的。例如，N-乙酰葡萄糖胺转移酶 I 只在高尔基中间膜囊中央的 2~3 个膜囊中；磷酸转移酶几乎只存在于顺面膜囊；而半乳糖基转移酶、唾液酸转移酶只存在于反面膜囊。因此认为，高尔基复合体的扁平膜囊至少可以分成 3 个区隔（或称区室）（图 7-22），各由 1 个或多个膜囊组成，每个区隔中含有完成蛋白质修饰过程中一些特定酶，区隔类似于工厂的工段，要正确修饰加工某种蛋白质，必须顺序地通过所有区隔，进行选择性地修饰加工。区隔化的结构意义尚不十分清楚，但至少它使某一特定酶集中，为物质的修饰加工提供场所。例如，溶酶体蛋白在加工过程中，保留了全部甘露糖，这是因为在顺面膜囊区隔中，溶酶

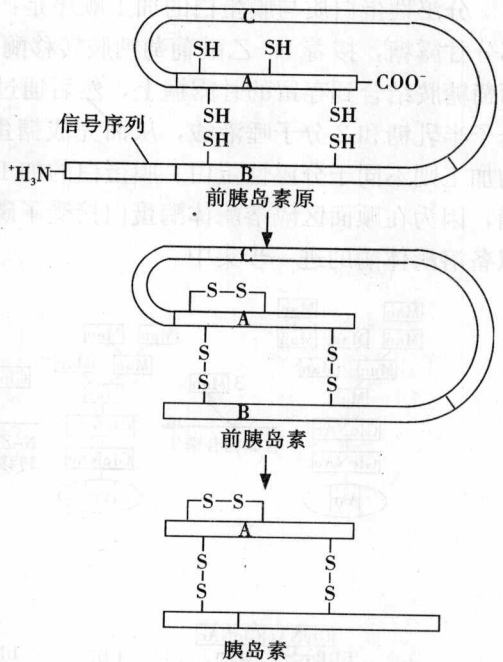


图 7-21 胰岛素分子的加工成熟
(引自 Beker et al, 1996 年)

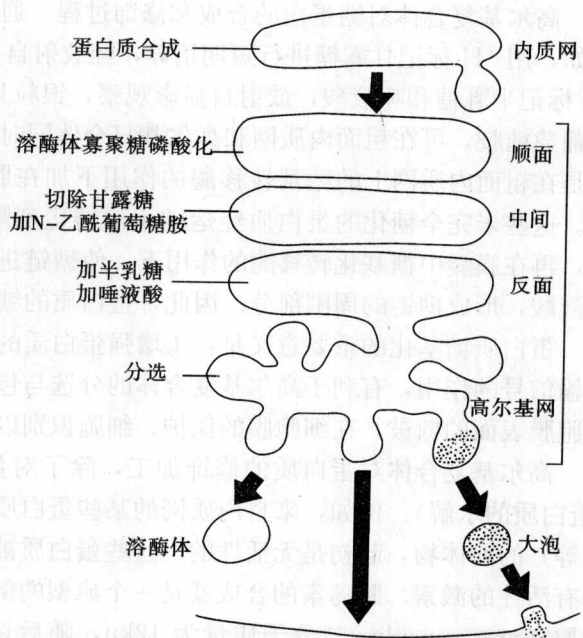


图 7-22 高尔基复合体扁平囊的区室化

体蛋白接受了磷酸基团，使甘露糖磷酸化，形成甘露糖-6-磷酸，保护了甘露糖免受中间膜囊的甘露糖苷酶的切割，这样反面膜囊中的N-乙酰葡萄糖胺、半乳糖和唾液酸等也不能掺入。区隔化对蛋白质的分选也起一定作用。综上所述，高尔基复合体对进入物质的修饰加工是顺序性、区隔化和选择性地进行的。

(三) 对蛋白质的分选和运输

经高尔基复合体修饰加工后的物质必须经过严格的分选，才能准确无误地送到细胞的相应部位，以保证细胞活动的正常进行。

近年来大量研究工作表明，被运送的蛋白质存在独特的分选信号，而相应的靶膜和靶细胞器上存在分选信号的受体，它们特异性识别和结合，从而实现蛋白质的分选。因此，分选作用主要是由信号序列和受体之间的相互作用决定的。

一些蛋白质的分选信号在RER上合成后即可形成，如ER-驻留蛋白，其蛋白质的羧基端有一段由4个氨基酸组成的分选信号(Lys-Asp-Glu-Leu)。有些蛋白质的分选信号经高尔基复合体修饰加工后才获得，例如分泌蛋白、溶酶体蛋白及细胞膜蛋白。现已发现多种蛋白质的分选信号，有的是肽链的某一段氨基酸序列，有的是氨基酸侧链的特殊基因，甚至氨基酸侧链上的极性和电荷、蛋白质的空间构象等均可作特异蛋白质的分选信号。

经粗面内质网“出芽”而形成的运输小泡，它们将内质网中合成的蛋白质无选择性地运输到顺面高尔基网状结构中，即：需经高尔基复合体加工的蛋白质和需留在内质网里的驻留蛋白混淆在一起进入到顺面高尔基网状结构内。但在顺面高尔基网状结构的膜上，有一种特异分选信号的受体，能识别驻留蛋白的分选信号，并将显示这种信号的所有驻留蛋白包裹起来，成为特异性的运输囊泡，返回内质网(图7-23)。对这些驻留蛋白，内质网像一个开放的监狱，没有什么阻止它们离开，可是如果它们离开了，就被捉回。说明在内质网和高尔基复合体之间发生两个方向的运输。通过顺面高尔基网状结构中的分选，既保证了必须修饰加工的蛋白质顺利地进入高尔基复合体中，又确保了驻留蛋白驻留在内质网内。

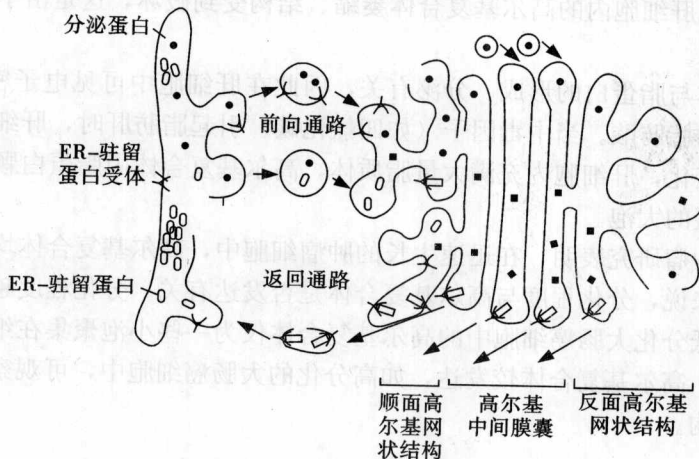


图7-23 高尔基复合体对ER-驻留蛋白的分选机制

(引自 B. Alberts 等)

蛋白质经中间高尔基膜囊各生化区隔的修饰获得分选信号后，与反面膜囊相应的膜受体结合，出芽形成运输泡或分泌泡，再分别运输至相应的结构区域，如甘露糖-6-磷酸作为溶酶体酶的分选信号，可以被高尔基复合体反面膜囊的膜专一受体识别，并互相结合，引导溶

酶体酶集中, 出芽形成运输泡。经高尔基复合体加工后的蛋白质经反面高尔基网状结构的分选后, 主要有三条可能的去向: ①分泌蛋白集中, 以分泌泡形式通过分泌活动, 将分泌蛋白分泌释放到细胞外。②溶酶体酶集中后, 经运输泡与内体合并形成内体性溶酶体。③膜蛋白直接运送到细胞膜, 并嵌入细胞膜。当分选发生错误时, 救援受体 (salvage receptor) 能识别被错误分选、转运的蛋白, 再把它们运回高尔基复合体。

(四) 参与膜的转化

高尔基复合体既是蛋白质修饰加工、分选的场所, 又是分泌物质的转运站, 在转运物质过程中, 高尔基复合体参与膜的转化, 在膜的转化上起着重要作用。

前面已讲述高尔基复合体在膜的厚度及化学组成上都介于内质网膜与细胞膜之间。

从生理功能上看, 高尔基中间膜囊内的物质浓度似乎存在一个定向梯度, 即内质网腔内的内含物是一种稀水样的液体, 经高尔基复合体后, 浓度增高, 变成较浓稠的物质。从分泌泡形成过程中可看到, 由内质网“芽生”的小泡与顺面高尔基网状结构的膜融合, 经高尔基中间膜囊, 在反面高尔基网状结构中又“芽生”, 形成分泌泡, 移向细胞膜, 最终与其融合而成细胞膜的膜, 并将分泌物排出。像这种细胞内各种膜性结构间相互联系和转移的现象称为膜流 (membrane flow)。细胞的这种由高尔基复合体参与的膜流活动 (或膜的转化), 不仅在细胞内的物质运输上起重要作用, 而且还使膜性细胞器的膜成分不断得到补充和更新。

四、高尔基复合体的异常变化

高尔基复合体是一种动态细胞器, 其形态、数量和分布位置在不同类型的细胞中是不同的, 即使是同一类型的细胞在不同生理、病理条件下也会发生变化。

高尔基复合体可因功能亢进或代偿性功能亢进而肥大。例如, 大白鼠肾上腺皮质再生过程中, 在垂体前叶分泌促肾上腺皮质激素 (ACTH) 的细胞内, 高尔基复合体显著肥大。当再生将结束时, ACTH 水平下降; 高尔基复合体结构又恢复正常大小。在中毒等病理情况下的肝细胞, 可见肝细胞内的高尔基复合体萎缩、结构受到破坏, 这是由于脂蛋白的合成及分泌功能障碍所致。

高尔基复合体与脂蛋白的形成、分泌有关, 因此在肝细胞中可见电子密度不等的颗粒, 为饱和与不饱和的脂肪酸。当中毒因子 (如四氯化碳) 引起脂肪肝时, 肝细胞内高尔基复合体的内容物发生变化, 肝细胞内充满大量脂质体, 高尔基复合体中脂蛋白颗粒消失, 而代之以大量扩张或断裂的大泡。

人和动物的肿瘤研究表明, 在迅速生长的肿瘤细胞中, 高尔基复合体均不很发达。对某一类型的癌细胞来说, 分化程度与高尔基复合体是否发达有关。分化程度越低, 高尔基复合体越不发达, 如低分化大肠癌细胞中的高尔基复合体仅为一些小泡聚集在细胞核周围; 而分化较高的癌细胞, 高尔基复合体较发达, 如高分化的大肠癌细胞中, 可观察到高尔基复合体完整的三部分结构。

第四节 溶酶体

溶酶体 (lysosome) 是细胞内由一层单位膜包围的膜性细胞器, 内含由粗面内质网的附着核糖体合成的多种酸性水解酶, 能消化分解各种内源性或外源性物质, 称为细胞内的消化器官。

1949年, C. de Dure 等人应用大鼠肝组织匀浆研究与糖代谢有关的酶分布时, 出现了反

常现象，发现了酸性磷酸酶活性。后来，经过反复实验终于找到了含有酸性磷酸酶活性的颗粒。这种颗粒经过细胞化学鉴定和电镜观察，于1955年确认为一种新的细胞器，并定名为溶酶体。现已知，所有动物细胞（除成熟的红细胞外）均具有溶酶体。在原生动物和植物细胞中观察到类似溶酶体的结构。

一、溶酶体的形态结构和化学组成

溶酶体的形态呈圆形或卵圆形，大小差异较大，为异型性细胞器，其直径一般为 $0.2\sim 0.8\mu\text{m}$ ，最小的为 $0.05\mu\text{m}$ ，最大的可达数微米。是一种由6nm的单位膜包围的囊状结构。由于其中含有多数高浓度的酸性磷酸酶，因此用Gomori的酸性磷酸酶法显示，在光镜下成为可见的小颗粒。

细胞经超薄切片，柠檬酸铅、醋酸铀双重染色后，在电镜下观察，可见溶酶体大多呈圆形，其中充满电子密度高的物质（图7-24）。由于不同类型溶酶体的形态具有多型性和异质性，在组织切片的电镜照片中，溶酶体的形态和体积不仅在不同细胞中不同，即使在同一细胞中也不一样。这主要是由于溶酶体处于不同的生理功能阶段的缘故。

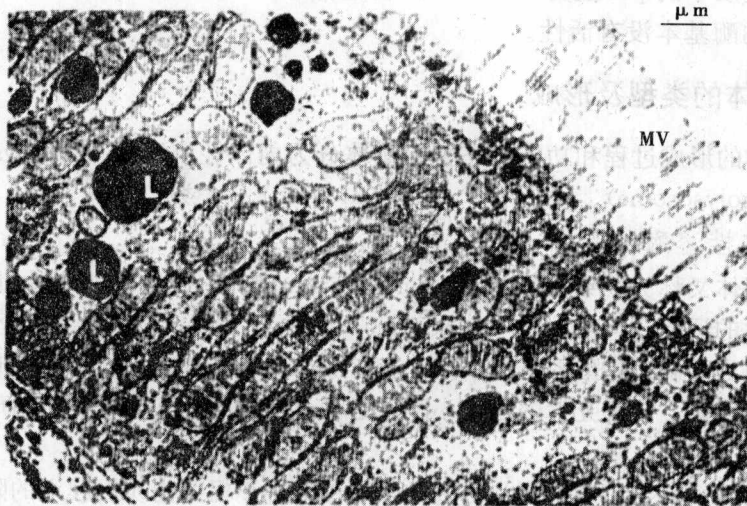


图7-24 肾小管上皮细胞电镜照片

L—溶酶体；M—线粒体；MV—微绒毛

（一）溶酶体的膜

溶酶体的膜与细胞膜或其他内膜不同，具有特殊的性质。

- （1）溶酶体膜中含有特殊的质子转运蛋白（ H^+ -ATPase），借助水解ATP释放出的能量将 H^+ 泵入溶酶体内，使溶酶体中的 H^+ 浓度比细胞质中高，以形成和维持酸性的内环境。
- （2）具有多种载体蛋白用于水解的产物向外运送，供细胞再利用或排出细胞外。
- （3）构成溶酶体膜的蛋白质高度糖基化，可保护膜免受溶酶体内水解酶的消化，有利于防止自身膜蛋白的降解。

（二）溶酶体的酶

目前在溶酶体中已发现有60多种酸性水解酶，主要包括：蛋白酶、核酸酶、糖苷酶、脂酶、磷酸酶、硫酸酯酶和磷脂酶等（图7-25）。常见的有：酸性RNA酶、酸性DNA

酶、酸性磷酸酶、蛋白磷酸酶、组蛋白酶、氨基酸酶、胶原酶、 α -葡萄糖苷酶、 β -葡萄糖醛酸苷酶、 β -N-乙酰氨基葡萄糖苷酶、 α -甘露糖苷酶、 β -半乳糖苷酶、葡聚糖酶、透明质酸酶、溶菌酶、酸性脂肪酶、磷脂酸磷酸酶和芳香基硫酸酯酶等。不同类型细胞溶酶体酶的种类和比例不同，同一类型细胞的溶酶体酶也不一定相同，但都存在酸性磷酸酶，所以酸性磷酸酶是溶酶体的标志酶。这些酶的最适宜的 pH 值为 5.0 左右，在酸性环境中能把蛋白质、核酸、多糖及脂类等复杂大分子分解成为氨基酸、核苷酸、单糖、游离脂肪酸等小分子。溶酶体中的酶在 pH 值 7.0 左右的环境下，则丧失活性，这种特性对细胞的自身保护很有利，即使有少量的溶酶体酶泄漏到细胞质基质中，也不会引起细胞损伤，这是因为细胞质基质中的 pH 值为 7.0~7.2，在这种环境下，溶酶体的酶基本没有活性。

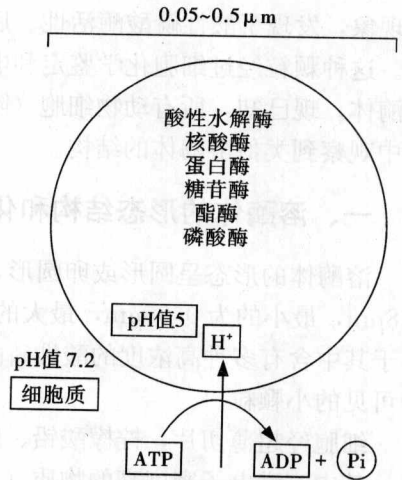


图 7-25 溶酶体酶图解
通过膜上的 H^+ -ATP 泵将 H^+ 泵到溶酶体内以维持其腔内的酸性环境 (引自 B. Aberts 等, 1994 年)

二、溶酶体的类型及形成

根据溶酶体的形成过程和功能状态把溶酶体分为内体性溶酶体 (endolysosome)、吞噬性溶酶体 (phagolysosome)、残余小体 (residual body) 3 大类。

(一) 内体性溶酶体

内体性溶酶体又称为初级溶酶体 (primary lysosome)。研究证明内体性溶酶体是由高尔基复合体芽生的运输小泡和内体 (endosome) 合并而成。形成过程是，运输小泡先由高尔基复合体成熟面的扁平囊形成有被小泡，当有被小泡从高尔基复合体脱离时，包于其表面的网格蛋白被便脱落，成为光滑的运输小泡。运输小泡与由细胞的胞吞作用形成的内体融合后便形成内体性溶酶体。

溶酶体内的水解酶与其他分泌蛋白一样，是由结合于粗面内质网膜上的附着核糖体合成的。合成后在粗面内质网腔中进行糖基化，形成 N-连接的甘露糖糖蛋白。再通过内质网以出芽的形式包裹形成运输小泡，转运到高尔基复合体的形成面。在形成面囊腔内，由磷酸转移酶与 N-乙酰葡萄糖胺磷酸糖苷酶催化，形成甘露糖-6-磷酸 (mannose-6-phosphate, M6P)。M6P 是溶酶体水解酶分选的重要识别信号。带有 M6P 的溶酶体水解酶前体到达高尔基复合体成熟面，高尔基复合体成熟面膜上有 M6P 的受体，能特异地与 M6P 结合，而使溶酶体水解酶聚集在一起。然后触发成熟面局部出芽和网格蛋白的组装，并最终与网格蛋白被 (clathrin coat) 的有被囊泡形式脱离高尔基复合体。脱离高尔基复合体的有被囊泡，很快脱去网格蛋白外被形成无被运输小泡。当运输小泡与内体合并而形成内体性溶酶体之后，溶酶体膜上具有依赖于 ATP 的质子泵，泵入胞质内 H^+ 使囊内 pH 值从 7.4 左右降到 6.0 左右。在酸性环境中，M6P 标记的水解酶前体与 M6P 受体分离，具 M6P 的水解酶由磷酸酶去除甘露糖基团上的磷酸，成为酸性水解酶。

M6P 受体释放其结合的酶后，经出芽、形成运输囊泡返回到反面高尔基网，被回收再利用 (图 7-26)。

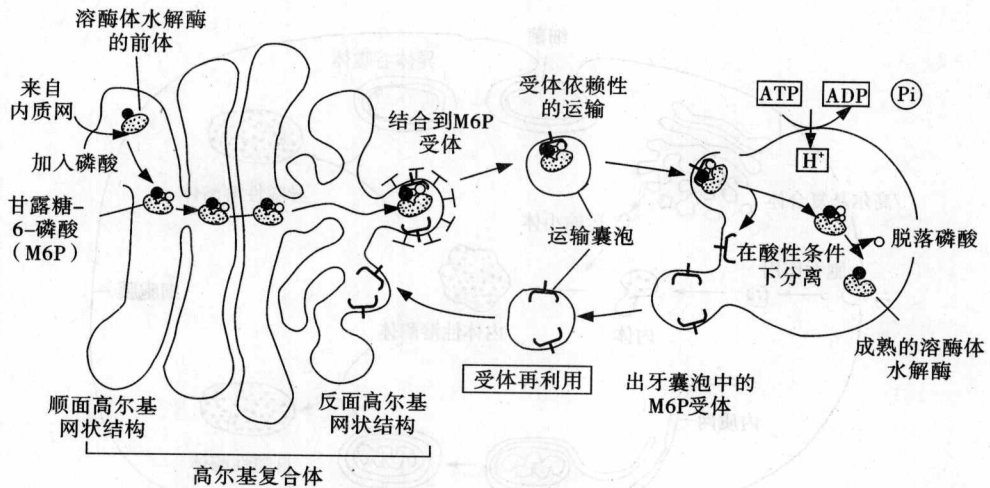


图 7-26 溶酶体水解酶的运输示意图 (引自 B. Albert 等, 1994 年)

内体是细胞的胞吞作用形成的一类膜泡, 有早期内体 (early endosome) 和晚期内体 (late endosome) 之分, 在最初形成的早期内体中, 其 pH 值和细胞外液大致相似, 属碱性。当早期内体与其他胞内小泡发生融合后, 即为晚期内体。晚期内体中的 pH 呈酸性, 且具有分拣作用, 使受体与配体分离。

以 M6P 为标志的途径是溶酶体分选的主要途径, 但并非唯一途径, 在有些细胞中还存在非 M6P 分选机制。

(二) 吞噬性溶酶体

内体性溶酶体与不同的作用底物结合后, 就成为吞噬性溶酶体, 又称为次级溶酶体 (secondary lysosome)。吞噬性溶酶体形状常不规则, 较大, 电镜显示其内部结构非常复杂, 常含有正在消化的颗粒或膜的碎片等。根据作用底物的来源不同, 吞噬性溶酶体又可分为异噬性溶酶体、自噬性溶酶体和混合性溶酶体。

1. 异噬性溶酶体

如果溶酶体中被消化的底物是由细胞通过吞噬作用或吞饮作用而摄入的外源性物质, 称为异噬性溶酶体 (heterophago lysosome)。异噬性溶酶体的作用底物包括外来异物、病毒、细菌、衰老红细胞、血红蛋白、铁蛋白、酶、糖原颗粒等。这些物质被吞入细胞后, 由细胞膜包裹形成吞噬体, 称为异体吞噬体 (图 7-27), 异体吞噬体与内体性溶酶体融合而成异噬性溶酶体, 多见于巨噬细胞、白细胞、肝细胞和肾细胞等。

2. 自噬性溶酶体

如果溶酶体中被消化的底物是内源性的, 则称为自噬性溶酶体 (autophago lysosome)。内源性物质来自细胞内的衰老和损伤的细胞器或细胞内含物等, 它们由膜包围形成自体吞噬体, 内部常可见残留的内质网、线粒体等 (图 7-27)。正常细胞中的自噬性溶酶体对细胞内结构更新起着重要作用。当细胞受到射线照射、药物作用和机械损伤时, 自噬性溶酶体数量明显地增多。在病变的细胞中也常可见到自噬性溶酶体。

3. 混合性溶酶体

混合性溶酶体 (ambilyosome) 的作用底物兼有内源性和外源性两种。例如: 肾细胞内的混合性溶酶体既含有来自细胞内的膜性结构, 又包含外源性的血红蛋白。

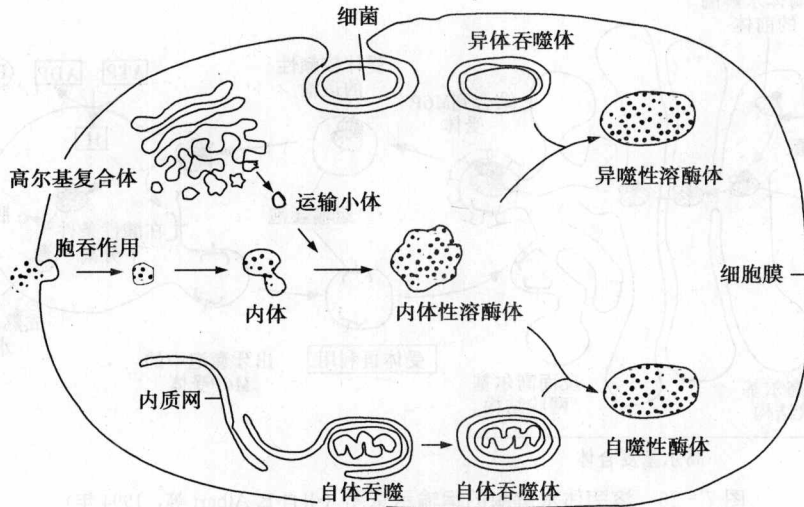


图 7-27 自噬性溶酶体和异噬性溶酶体形成过程示意图 (引自 B. Alberts 等)

(三) 残余小体

吞噬性溶酶体进行消化作用，形成的小分子物质可通过溶酶体膜上的载体蛋白转运，重新释放到细胞质中，被细胞利用。消化不了的残渣物质累积在溶酶体中，形成残余小体。残余小体可通过胞吐作用将其残余物排出细胞之外，有的残余小体则长期滞留在细胞内而不被排出。在电镜下，残余小体呈现为电子密度较高，色调较深的物质。在不同细胞内见到的残余小体有脂褐质 (lipofusion)、含铁小体 (siderosome)、髓样结构 (myelin figure) 和多泡体 (multivesicular) 等 (图 7-28)。

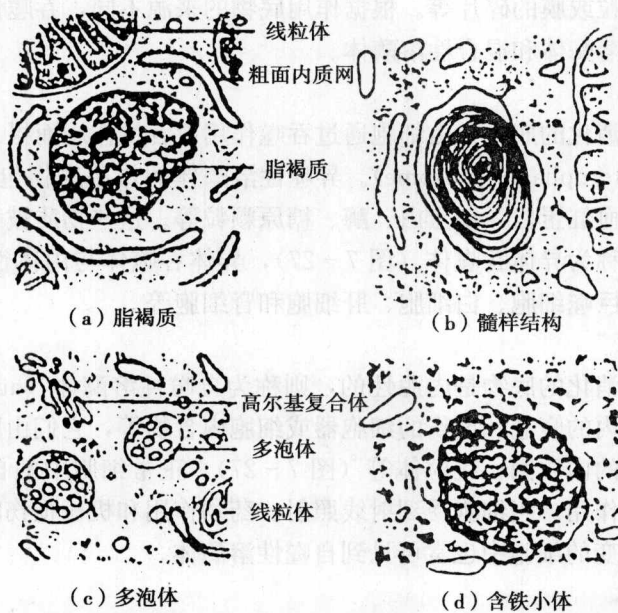


图 7-28 次级溶酶体形成的各种残余小体

1. 脂褐质

脂褐质是一种围以单位膜的不规则小体，常见于神经细胞、心肌细胞和肝细胞中。其内容物电子密度较高，色较深，常含有浅亮的脂滴。如神经细胞内的脂褐质随着年龄增长其数量逐渐增多。

2. 髓样结构

髓样结构的特点是所含有的膜性成分呈同心圆状、板状或指纹状等排列。髓样结构可出现于正常细胞中，如单核巨噬细胞系统的细胞、大肺泡细胞等。在病变细胞（如肿瘤细胞和病毒感染的细胞）中，髓样结构的数量显著增多。

3. 含铁小体

含铁小体被以单位膜，内部充满电子密度较高的含铁颗粒，颗粒直径为50~60nm。在正常的单核巨噬细胞中常可见到少量含铁小体。但当病理性摄入大量铁时，肝、肾等器官的吞噬细胞中可出现许多含铁小体。多数情况下，含铁小体与脂类、线粒体等其他成分混合，形成混合性溶酶体。

4. 多泡体

多泡体多呈圆形，直径为0.2~0.5 μm ，被以单位膜，内含许多小泡。通常可在神经细胞、盐酸细胞和卵母细胞中观察到。有人认为多泡体可能来自于高尔基复合体，也有人认为是由多个胞饮小泡合并而成。

三、溶酶体的功能

溶酶体是多功能的细胞器，除具有消化分解各种物质和保护细胞之外，还参与细胞激素的生成、机体器官组织变态和退化、协助精子和卵细胞受精等过程，并且在骨质更新中也起一定的作用。

（一）细胞正常的消化作用

不论是外源性还是内源性大分子物质，都可被溶酶体中的酸性水解酶分解为可溶性的小分子，释放到细胞质基质内被重新利用，以补充细胞内所需营养，故溶酶体对细胞有消化和营养作用。

经胞吞作用形成的胞饮小体（pinosome）和吞噬小体（phagosome）以及细胞内的自噬小体（autophagosome）可以与内体性溶酶体合并形成吞噬性溶酶体。吞噬性溶酶体内的各种大分子在水解酶的作用下，可被分解为简单的小分子物质。例如，能将蛋白质分解为二肽或游离氨基酸；把核酸分解为核苷和磷酸；使碳水化合物分解为寡糖类或单糖；将中性脂肪分解为甘油和脂肪酸等。这些被分解而生成的可溶性小分子物质，能透过溶酶体膜进入细胞质基质，重新参与细胞的物质代谢，一些未被完全消化的物质残留下来，成为残余小体。

一般把溶酶体对外源性物质的消化过程称为异噬作用（heterophagy）；溶酶体消化细胞自身衰老损伤的细胞结构称自噬作用（autophagy）。

（二）保护和防御作用

溶酶体能消化分解侵袭细胞的病毒和细菌，以及细胞内破损的细胞器等，以防止细胞受到损害和避免细胞的正常生命活动受到障碍。特别是当机体受到创伤或发生炎症时，溶酶体在清除细胞碎片和消灭细菌方面均发挥重要作用。

在自噬性溶酶体内，细胞内衰废的细胞器被降解，分解为小分子，通过溶酶体膜释放到胞质中，有利于细胞器的更新。细胞中的许多生物大分子和细胞器都有一定的寿命，如肝细

胞中线粒体的平均寿命为 10 天左右,核糖体为 5 天左右。当动物处于饥饿状态时,其细胞内常有自噬性溶酶体出现,自噬作用大大加强,以分解细胞自身的部分物质作为营养,这是细胞处于应激状态时,自我保护的一种措施,以维持细胞整体的生存。

(三) 其他功能

1. 参与激素的生成

溶酶体与部分激素的分泌有关,如甲状腺素是在溶酶体的参与下形成的。在甲状腺滤泡上皮细胞内合成的甲状腺球蛋白,分泌到甲状腺滤泡腔内被碘化后,甲状腺球蛋白被滤泡上皮细胞吞入形成吞饮泡,吞饮泡与细胞内的溶酶体互相融合后,溶酶体内的蛋白酶将碘化甲状腺球蛋白水解生成甲状腺素。然后,甲状腺素再分泌到细胞外,进入毛细血管中。

2. 参与器官组织变态和退化

细胞内消化作用是在溶酶体内进行的。而溶酶体的自溶作用 (autolysis) 是指溶酶体膜破裂,释放出其中的水解酶到细胞质中,结果引起细胞自身物质的溶解,整个细胞被释放的酶所消化。在个体发生过程中,器官、组织的形态改变和退化,通常是通过溶酶体的生理自溶作用来实现的。

无尾两栖类蝌蚪变青蛙时的尾部吸收、哺乳类动物子宫内膜的周期性萎缩、断乳后乳腺的退行性变化,均与溶酶体有密切关系。电镜下观察,当蝌蚪变态时,尾部细胞具有丰富的溶酶体。发生自溶时,溶酶体膜破裂,其中的组织蛋白酶能消化尾部退化的细胞,以致尾部消失。在蝌蚪尾部消失过程中,除溶酶体起作用外,细胞内基因调控的细胞凋亡机制也起重要作用。哺乳类动物当受精卵着床于子宫内膜时,子宫便继续发育。但当卵没有受精时,子宫内膜便发生萎缩。子宫内膜萎缩时,可见巨噬细胞和吞噬细胞的活性均明显增强,细胞内的溶酶体也增多。这些含有大量溶酶体的细胞在分解萎缩细胞的过程中发挥了重要作用。

3. 协助受精

溶酶体能协助精子与卵细胞受精。动物精子头部顶端的顶体 (acrosome) 是由精母细胞内的高尔基复合体演变来的。顶体内含有多种水解酶,如透明质酸酶、神经氨酸酶、酸性磷酸酶、 β -N-乙酰葡萄糖胺酶和芳香基硫酸酯酶等。所以,实际上顶体是一种特化的巨大溶酶体。在卵细胞受精时,精子与卵细胞的外被接触后,顶体膜便与精子的细胞膜互相融合并形成孔道。此时顶体内的水解酶可通过孔道被释放出来,消化围绕卵细胞的滤泡细胞,有利于精子进入卵细胞内。

4. 对骨质的更新作用

在骨发生和骨再生过程中,破骨细胞的溶酶体酶能释放到细胞外,分解和消除陈旧的骨基质,这是骨质更新的一个重要步骤。溶酶体酶释放的具体过程可能是细胞内的环化酶活性发生改变后,随着 cAMP 的增加,蛋白质激酶被活化而引起微管及其周围的蛋白质磷酸化,其结果微管发生聚集,致使溶酶体向细胞膜方向移动,并与细胞膜相互融合,而后溶酶体内的水解酶被释放到细胞外,以分解和消除陈旧的骨质。

四、溶酶体与疾病

近年来对溶酶体功能的研究已远远超出了细胞学的范围,医学遗传学、临床医学中的许多问题都与溶酶体有关。不少疾病如硅沉着病,先天性溶酶体病,类风湿关节炎等都是由溶酶体异常而引起的。

(一) 溶酶体与硅沉着病

人体的硅沉着病 (silicosis), 又称矽肺, 是一种与溶酶体膜受损导致溶酶体酶释放的常见职业病。当人体的肺吸入空气中的硅尘颗粒 (二氧化硅, SiO_2) 后, 硅尘颗粒被肺内巨噬细胞吞噬形成吞噬小体。吞噬小体再与内体性溶酶体融合形成吞噬性溶酶体。带有负电荷的硅粉末在吞噬性溶酶体内形成硅酸分子, 硅酸的羧基与溶酶体膜上的受体分子形成氢键, 使膜变构而破裂, 以至大量水解酶和硅酸流入细胞质内, 引起巨噬细胞死亡。由死亡细胞释放的硅粉末再被正常细胞吞噬, 将重复同样过程 (图 7-29)。如此巨噬细胞的不断吞噬、死亡, 最后诱导成纤维细胞的增生, 并分泌大量胶原物质, 出现胶原纤维结节, 造成了肺组织纤维化, 结果降低了肺组织的弹性, 损伤了肺的功能而形成矽肺。

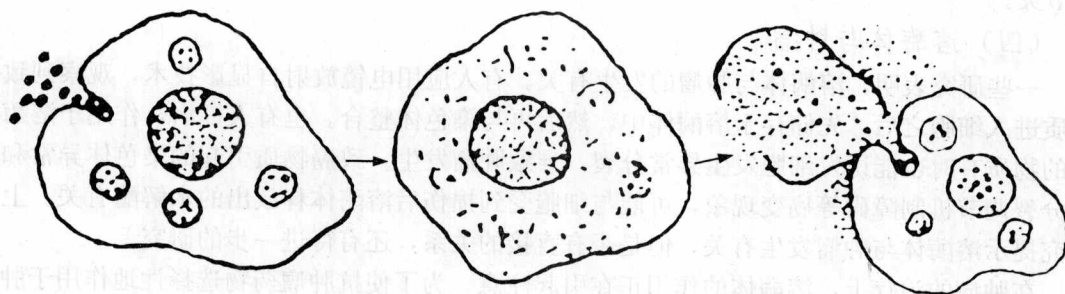


图 7-29 硅沉着病的产生

硅沉着病患者常出现吐血症状, 这是由于血小板内的溶酶体在二氧化硅的作用下, 膜发生了破裂, 释放出来的酸性水解酶溶解了气管的微血管壁, 而造成了血液的外流。克矽平类药物能治疗硅沉着病, 治疗机制是该药物中的聚 α -乙炔吡啶氧化物能与硅酸分子结合, 代替了硅酸分子与溶酶体膜的结合, 从而保护了溶酶体膜不发生破裂。

此外, 石棉纤维以及某些细菌 (如肺结核菌), 也不能被溶酶体酶所破坏。常年接触石棉纤维的人员, 肺中形成纤维结节, 称为石棉沉着病 (asbestosis)。此病在很多方面与硅沉着病相似。

(二) 先天性溶酶体病

现已发现有 40 多种先天性溶酶体病 (inborn lysosomal disease) 是由于溶酶体中缺乏某些酶而引起的。由于溶酶体缺乏某些酶, 相应的作用底物不能被分解而积累于溶酶体内, 而造成代谢障碍而导致疾病的发生, 又称储积病 (storage disease)。例如 II 型糖原储积病 (glycogen storage disease type II) 是由于患者的常染色体隐性基因的缺陷, 不能合成 α -葡萄糖苷酶, 致使糖原无法被分解而沉积于肝和肌细胞的溶酶体内, 使溶酶体肿胀, 细胞变性。此病多见于婴儿, 症状为肌无力, 进行性心力衰竭等。患这种病的婴儿一般在 2 岁内死亡。泰-萨病 (Tay-Sachs disease), 又称黑蒙性先天愚型, 病人脑组织细胞的溶酶体中储累了大量的神经节苷脂 (ganglioside) M_2 , 即 GM_2 比正常的超过 100~300 倍, 并形成同心圆状膜。此病多发现于儿童, 病孩在生后 6~8 个月出现精神呆滞的临床症状, 一般在 2~6 岁内死亡。该病的病因是, 患者细胞内先天性缺乏一种氨基己糖苷酯酶 A, 不能将神经节苷脂 M_2 上糖链末端的 N-乙酰半乳糖切下, 而使糖脂不能降解。因而储积于神经细胞内引发先天性痴呆。

对于因溶酶体缺乏某些酶而引起的溶酶体储积病，有人设想将溶酶体所缺失的酶包裹在人工脂质体内，由细胞的吞噬作用将脂质体吞入细胞内，当脂质体与溶酶体并合后，脂质体被水解，内含的酶便进入溶酶体内，但此法尚存在些问题，有待进一步研究。

(三) 溶酶体与类风湿性关节炎

对于类风湿性关节炎 (rheumatoid arthritis) 的发病原因目前仍不十分清楚，但由该病所引起的关节软骨细胞的侵蚀，被认为是由于细胞内的溶酶体膜脆性增加，溶酶体酶局部释放所致。释放的原因可能是由于类风湿因子被巨噬细胞或中性粒细胞吞入后，刺激溶酶体酶外逸。被释放出来的酶中有胶原酶，它能侵蚀软骨细胞，导致关节局部损伤和炎症反应。肾上腺皮质激素 (cortisone) 类药物具有稳定溶酶体膜的作用，所以临床上用来治疗类风湿性关节炎。

(四) 溶酶体与肿瘤

一些研究表明，溶酶体与肿瘤的发生有关。有人应用电镜放射自显影技术，观察到致癌物质进入细胞之后，先储存于溶酶体中，然后再与染色体整合。也有人提出，作用于溶酶体膜的物质有时也能诱发细胞发生异常分裂，导致肿瘤发生。致癌物质引起的染色体异常和细胞分裂调节机制障碍等癌变现象，可能与细胞受到损伤后溶酶体释放出的水解酶有关。上述研究提示溶酶体与肿瘤发生有关，但是否有直接的关系，还有待进一步的研究。

在肿瘤的治疗上，溶酶体的作用正在引起注意。为了使抗肿瘤药物选择性地作用于肿瘤细胞，可以根据肿瘤细胞的胞吞作用比正常细胞强的特点，制定新的治疗方案。即将抗肿瘤药物与载体分子结合，使之通过入胞作用进入肿瘤细胞。在溶酶体中载体分子被水解酶分解，抗肿瘤药便可直接在肿瘤细胞内发挥作用，提高抗肿瘤药物的特异性，减少不良反应。

第五节 过氧化物酶体

过氧化物酶体 (peroxisome) 也称过氧化物体、过氧化氢体、过氧小体或微体 (microbody)。1954年，瑞典的 Rhodin 用电镜研究小鼠肾近曲小管上皮细胞时首次发现，它是由一层膜包围的小囊泡，里面充满微细的粒状基质。由于当时缺乏任何作为命名的特征，所以 Rhodin 称其为微体。后来，又在大鼠肝细胞中发现这种结构，以后经过 10 余年的研究，发现微体中含有氧化酶和过氧化氢酶，能分解细胞的过氧化物，后改名为过氧化物酶体。过氧化物酶体存在于各种真核细胞中，是一种高度异质性的细胞器。

一、过氧化物酶体的形态结构

电镜下观察过氧化物酶体是由单位膜包裹的直径为 $0.2 \sim 1.7 \mu\text{m}$ 的圆形或卵圆形小体，内含有多氧化酶。中央常有一个高密度的核心，呈规则的结晶状结构，称类核体 (nucleoid)。类核体为尿酸氧化酶的结晶 (图 7-30)。人类和鸟类的过氧化物酶体中不含尿酸氧化酶，故其过氧化物酶体中没有类核体。在哺乳动物中，只有在肝、肾、成骨细胞、嗜中性粒细胞内可观察到典型的过氧化物酶体。过氧化物酶体在不同的组织细胞中，其数目、形状和大小均不一样。如不同种动物的肝细胞中过氧化物酶体大小变动范围为 $0.1 \sim 1.0 \mu\text{m}$ ，一般为 $0.5 \mu\text{m}$ 。大鼠肝细胞有 $70 \sim 100$ 个过氧化物酶体，形状多为卵圆形，直径约 $0.6 \mu\text{m}$ ，内含电子密度较高的核心和纤细颗粒状的基质。大多数细胞的过氧化物酶体颗粒小，直径为 $0.1 \sim 0.2 \mu\text{m}$ ，呈圆形、长形或线形。有人将这些小颗粒称为微过氧化物酶体 (microperoxi-

some)。

过氧化物酶体与初级溶酶体在形态与大小上很相似, 较难区分。如果过氧化物酶体含有类核体则容易辨别, 否则只能从所含酶的性质分析来加以确认。

二、过氧化物酶体的酶

过氧化物酶体内含丰富的酶, 目前已知在过氧化物酶体中存在有 40 多种酶, 主要是氧化酶 (oxidase) 和过氧化氢酶 (catalase)。氧化酶包括 L-氨基酸氧化酶、D-氨基酸氧化酶、L- α -羟氨基酸氧化酶、尿酸氧化酶等, 氧化酶约占过氧化物酶体酶总量的 60%。过氧化氢酶几乎存在于各类细胞的过氧化物酶体中, 因此被称为过氧化物酶体的标志酶, 约占过氧化物酶体内酶总量的 40%, 能分解过氧化氢。除上述氧化酶和过氧化氢酶之外, 过氧化物酶体中还含有苹果酸脱氢酶、柠檬酸脱氢酶、乙醛酸酯还原酶等一些其他酶类。不同细胞的过氧化物酶体中含有不同种类的酶。迄今为止, 尚未发现在一种过氧化物酶体中含有全部 40 多种酶。

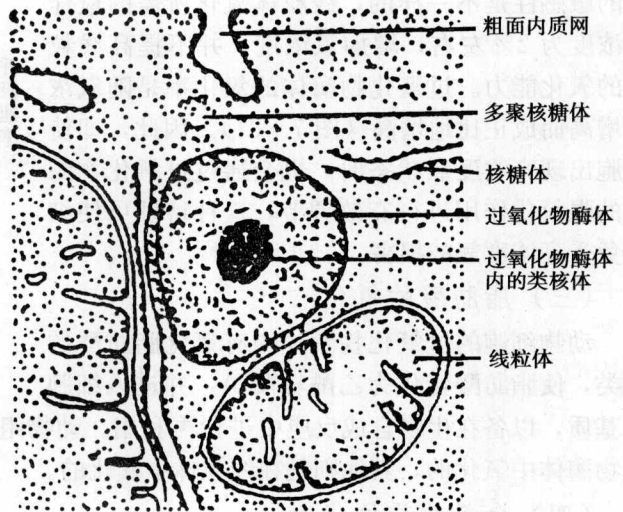
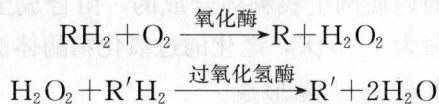


图 7-30 哺乳动物肝细胞的过氧化物酶体

三、过氧化物酶体的功能

(一) 解毒作用

过氧化物酶体中的各种氧化酶能氧化多种底物 (RH_2)。在氧化底物的过程中, 氧化酶使氧还原成过氧化氢 (H_2O_2), 而过氧化氢酶使过氧化氢还原成水。



第一步反应中由氧化酶氧化作用物 (RH_2), 如尿酸、D-氨基酸、L-羟乙酸等, 反应中产生 H_2O_2 ; 第二步反应中供给电子的是过氧化氢酶的作用物 ($\text{R}'\text{H}_2$), 如甲醇、乙醇、甲酸、亚硝酸盐等。在这步反应中, 如果这些供体不存在时, 供给电子的还可以是 H_2O_2 本身, H_2O_2 在细胞中有毒害作用, 过氧化氢酶可催化过氧化氢分解而解毒。过氧化物酶体的氧化反应在人体的肝、肾细胞中很重要, 因为人的肝、肾细胞中的过氧化物酶体可氧化分解血液中的有毒成分, 担负着解除血液中各种毒素的作用。例如, 人们饮入体内的乙醇, 约有一半是以这种方式氧化成乙醛的, 从而解除了乙醇对细胞的毒性作用。

(二) 对氧浓度的调节作用

过氧化物酶体中的氧化酶可利用分子氧, 通过氧化反应, 在氧化底物的过程中, 使氧还原成过氧化氢。这一反应对细胞内氧的浓度有很大的影响。例如在肝细胞中, 有 20% 的氧是由过氧化物酶体消耗的, 其余的在线粒体中消耗。在过氧化物酶体中氧化产生的能量以产热的方式消耗掉, 而在线粒体中氧化产生的能量储存在 ATP 中。线粒体与过氧化物酶体对

氧的敏感性是不一样的,线粒体氧化所需的最佳氧浓度为2%左右,增加氧浓度,并不提高线粒体的氧化能力。过氧化物酶体的氧化率是随氧浓度增高而成正比地增高(图7-31)。因此,即使细胞出现高浓度氧状态时,也会通过过氧化物酶体的强氧化作用进行有效调节,这种特性可使细胞免受高浓度氧的损害。

(三) 脂肪酸的氧化

动物细胞的过氧化物酶体中有氧化脂肪酸的酶类,使脂肪酸转化为乙酰辅酶A,并进入细胞质基质,以备在生物合成反应中进行再利用。动物组织中有25%~50%的脂肪酸是在过氧化物酶体中氧化的,其他则是在线粒体中氧化的。

(四) 含氮物质的代谢

在大多数动物细胞中,尿酸氧化酶(urate oxidase)对于尿酸的氧化是必需的。尿酸是核苷酸和某些蛋白质降解代谢的产物,尿酸氧化酶可将这种代谢废物进一步氧化去除。另外,过氧化物酶体还参与其他的氮代谢,如转氨酶(aminotransferase)催化氨基的转移。

四、过氧化物酶体的形成

关于过氧化物酶体的形成主要有两种观点。

(一) 过氧化物酶体来自粗面内质网

人们根据一些形态观察获得的实验资料,认为过氧化物酶体的发生和形成过程类似于溶酶体。过氧化物酶体的蛋白质在粗面内质网上的附着核糖体上合成,合成后进入内质网腔,集中于内质网某一区域,然后出芽,形成过氧化物酶体小泡。许多学者观察到动物细胞的过氧化物酶体与粗面内质网之间有连接现象。用电镜和组织化学方法观察胚胎细胞,结果表明过氧化物酶体的蛋白质是粗面内质网上核糖体合成的,由合成至完成转运大约需1h。过氧化物酶体更新速率很快,寿命为4~5天,老化的过氧化物酶体被溶酶体的自噬作用分解。

(二) 原过氧化物酶体生长分裂形成

现在有证据提出,过氧化物酶体的发生与线粒体类似,新的过氧化物酶体是从已存在的过氧化物酶体通过生长分裂形成的。有实验证明过氧化物酶体中的酶是由细胞质中的游离核糖体合成,然后转运到过氧化物酶体中的。进一步的实验证明,在许多过氧化物酶体内的酶蛋白的近羧基端有一特异的三肽序列(丝氨酸-赖氨酸-亮氨酸)的信号肽,能引导胞质中合成的蛋白质输入到过氧化物酶体。过氧化物酶体膜上具有识别相应信号肽的受体,通过受体识别过氧化物酶体酶的信号肽,并将其输入到过氧化物酶体中(图7-32)。

五、过氧化物酶体与疾病

在病变细胞中,过氧化物酶体可表现为数量、形态结构等多种异常。例如,在患有甲状腺功能亢进、慢性酒精中毒或慢性低氧血症等疾病时,可见患者肝细胞中过氧化物酶体数量增多。而在甲状腺功能低下、脂肪肝变性或高脂血症等情况下,过氧化物酶体数量减少、老化或发育不全。过氧化物酶体数目、大小以及酶含量的异常变化也常见于病毒、细菌及寄生

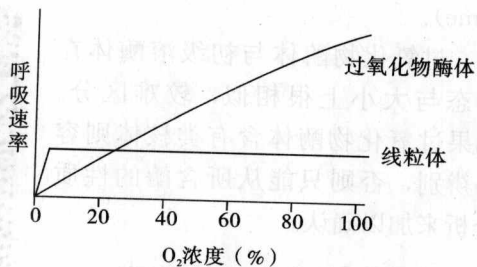


图7-31 过氧化物酶体和线粒体中氧浓度与呼吸速率的关系

(引自 Kleinsmith et al., 1996年)

虫感染、炎症或内毒素血症等病理情况以及肿瘤细胞中。

Zellweger 脑肝肾综合征为一种常染色体隐性遗传病，患者肝、肾和脑细胞中过氧化物酶体及过氧化氢酶缺乏，临床表现为严重肝功能障碍，重度骨骼肌张力减退，脑发育迟缓及癫痫等综合症状。

第六节 蛋白质分选与囊泡转运

一、蛋白质分选运输的基本途径

蛋白质由核糖体合成之后必须准确无误地运送到细胞的各个部位。由于各个部位所需蛋白质在结构和功能方面各不相同，为了能准确地运送蛋白质，每种蛋白质都会有分选定位的信号，细胞通过对蛋白质信号的识别进行运送。

从蛋白质分选定位的细胞内空间部位来看，可分为 3 种类型：①没有膜障碍，如细胞质基质中的细胞骨架蛋白、各种酶及蛋白质分子。②有完全封闭的膜障碍，如线粒体、叶绿体、过氧化物酶体、内质网、高尔基复合体、溶酶体等。由于运送到细胞质膜和细胞外的蛋白质要通过内质网和高尔基复合体的膜障碍，所以也归于此类。③有膜障碍，但是膜上有孔，如细胞核。

由于蛋白质定位的空间障碍不同，因此其运输机制也不同，蛋白质分选运输可分为 4 种基本途径。

(一) 核孔运输

核孔运输 (transport through nuclear pore) 是指细胞质中游离核糖体上合成的蛋白质通过核孔复合体进入细胞核。核孔运输又称为门控运输，核孔如同一扇具有选择性的门，能够主动运输特殊的生物大分子 (参见细胞核)。

(二) 跨膜运输

跨膜运输 (across membrane transport) 主要是指在细胞质中合成的蛋白质进入到内质网、线粒体、叶绿体和过氧化物酶体等细胞器中的运输过程，需要运输蛋白的帮助。被运输的蛋白质通常呈解折叠的状态 (参见线粒体)。

(三) 囊泡运输

蛋白质从内质网转运到高尔基复合体以及从高尔基复合体转运到溶酶体、分泌泡、细胞质膜、细胞外等则是通过囊泡运输 (vesicular transport)。内膜系统的蛋白质定位，除了内质网本身之外，其他膜性细胞器的蛋白质定位都是通过形成运输囊泡，将蛋白质从一个区室转运到另一个区室。囊泡的形成是通过出芽的方式，到达目的地时则是通过膜融合的方式使囊泡成为另一个区室的部分，实现蛋白质的运输。在此过程中，也将膜脂和膜蛋白从一个区室运输到另一个区室。

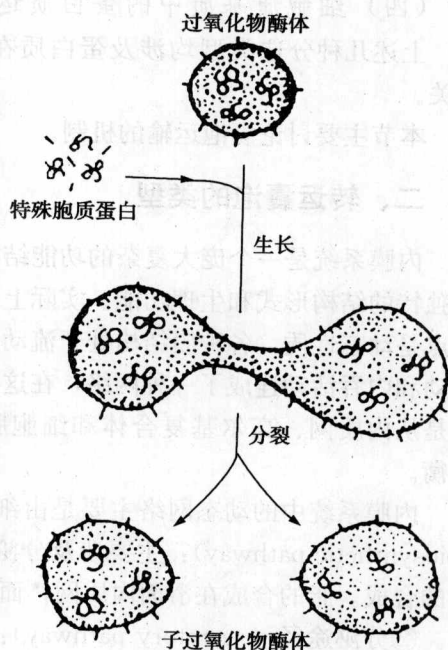


图 7-32 过氧化物酶体的形成

(四) 细胞质基质中的蛋白质运输

上述几种分选类型均涉及蛋白质在细胞质基质中的转运，这一过程与细胞骨架密切相关。

本节主要讨论囊泡运输的机制。

二、转运囊泡的类型

内膜系统是一个庞大复杂的功能结构体系。构成内膜系统的各主要细胞器都具有各自相对独特的结构形式和生理功能。实际上，内膜系统中的结构是不断变化的，内膜系统的最大特点是动态性质，各种膜结构处于流动状态。正是这种流动状态，将细胞的合成活动、分泌活动和内吞活动连成了一种网络，在这些结构之间常常看到一些囊泡来回穿梭，这些囊泡分别是内质网、高尔基复合体和细胞膜上产生的，这就使内膜系统的结构处于一种动态平衡。

内膜系统中的动态网络主要是由细胞中 3 种不同的代谢途径造成的。①生化合成途径 (biosynthetic pathway)：主要涉及分泌性蛋白、膜蛋白、溶酶体蛋白、驻留蛋白的合成与脂的合成。脂的合成在滑面内质网，而蛋白质的合成起始于粗面内质网，完成于高尔基复合体。②分泌途径 (secretory pathway)：在内质网上合成的蛋白质和脂类经出芽形成囊泡，并逐步向外运输传递。细胞的分泌活动分为组成型和调节型，组成型分泌途径从内质网经高尔基复合体到细胞表面的物质运输是自动进行的，不需要信号的触发；调节型分泌途径需要信号激发才进行。③内吞途径 (endocytosis pathway)：可将细胞外的物质吞进内体和溶酶体。

囊泡运输是真核细胞特有的一种细胞物质内外转运形式。囊泡类型多样，结构特殊，有着十分精密复杂的产生、形成过程。在物质运输过程中，不但涉及蛋白质、脂类的修饰、加工和装配，还涉及内膜系统不同膜泡之间定向物质转运过程及调控机制。

近年来的研究发现承担细胞内物质定向运输的囊泡类型有多种。其中网格蛋白有被囊泡 (clathrin-coated vesicle)、COP I (coatmer-protein subunits I) 和 COP II 有被囊泡是目前了解较多的 3 种囊泡类型。它们不仅外被蛋白不同，囊泡形成时所需的小 GTP 结合蛋白和衔接蛋白也不相同，而且物质运输作用也不同 (表 7-4)。

表 7-4 3 种不同类型囊泡的外被蛋白、衔接蛋白、小 GTP 结合蛋白及运输路线

囊泡类型	外被和衔接蛋白	小 GTP 结合蛋白	运输方向
网格蛋白囊泡	网格蛋白重链和轻链, AP2	ARF	质膜→内体 (内吞作用)
	网格蛋白重链和轻链, AP1	ARF	高尔基复合体→胞内体
	网格蛋白重链和轻链, AP3	ARF	高尔基复合体→溶酶体
COP I 有被囊泡	COP α , β , β' , γ , δ , ϵ , ζ	ARF	高尔基复合体→ER 高尔基复合体膜囊间的回运
COP II 有被囊泡	Sec23/Sec24 复合物 Sec13/Sec31 复合物, Sec16	Sar1	ER→高尔基复合体

(一) 网格蛋白有被囊泡

网格蛋白有被囊泡可产生于高尔基复合体的 TGN，也可由细胞膜受体介导的内吞作用

而形成。由高尔基复合体产生的网格蛋白囊泡，主要介导从高尔基复合体向溶酶体、胞内体或质膜外的物质转运；而通过细胞内吞作用形成的网格蛋白囊泡，则是将外来物质从质膜运送到细胞质，或者从胞内体输送到溶酶体。

网格蛋白有被囊泡的结构特点包括两部分：一是囊泡的表面包被着由网格蛋白纤维构成的网架结构，故而得名。二是在网格蛋白结构与囊膜之间存在衔接蛋白（adaplin, AP），构成囊泡的内壳结构。

AP 一端与网格蛋白重链末端结合，能使网格蛋白聚合，另一端还介导网格蛋白与跨膜蛋白受体的连接，从而形成了网格蛋白-囊泡转运的结构体系。目前已经发现的衔接蛋白有 4 种，其中 3 种（AP1、AP2、AP3）的性质已经探明，但是从高尔基复合体形成的网格蛋白有被囊泡与从细胞质膜形成的网格蛋白有被囊泡所用的 AP 是不同的。它们选择性地与不同受体——转运分子复合体结合，形成特定的转运囊泡，进行不同的物质转运。

在囊泡的形成过程中，除网格蛋白和衔接蛋白外，还必须有发动蛋白（dynammin）的参与，发动蛋白是细胞质中一种可结合并水解 GTP 的特殊蛋白质。由 900 个氨基酸组成，在膜囊形成时，发动蛋白与 GTP 结合，并在芽生膜囊的颈部聚合形成环状，通过水解 GTP 调节自己收缩，直至囊泡断离形成。而一旦囊泡形成，便会立即脱去网格蛋白外被，转化为无被转运囊泡，开始转运运行（图 7-33）。发动蛋白是一种 G 蛋白，也是网格蛋白形成的装配反应因子（assembly reaction factor, ARF）。

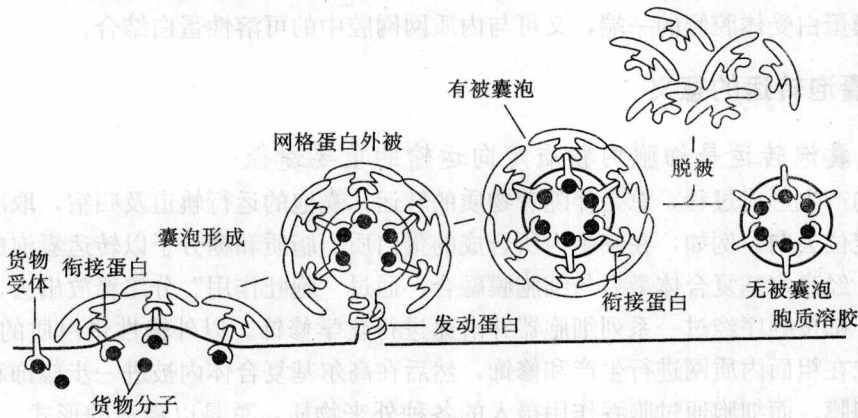


图 7-33 网格蛋白囊泡的形成过程（引自 Alberts et al, 1998 年）

（二）COP I 有被囊泡

COP I 有被囊泡首先在高尔基复合体中发现，也属于非网格蛋白有被囊泡类型。主要负责内质网逃逸蛋白的捕捉、回收转运以及高尔基复合体膜内蛋白的逆向运输（retrograde transport）。

COP I 包被蛋白是由多个亚基组成的多聚体。共有 7 个亚基相继被发现，它们是 α 、 β 、 γ 、 δ 、 ϵ 、 ζ 等几种蛋白亚基成分。ARF 蛋白是一种调节膜泡转运的 GTP 结合蛋白，可控制外被蛋白复合物的聚合、装配及膜泡的转运。

COP I 囊泡形成的大致过程是：①游离于细胞质基质中的非活化状态的 ARF 蛋白与 GDP 解离，并与 GTP 结合形成 GTP-ARF 复合物；②GTP-ARF 复合物与高尔基复合体膜上的 ARF 受体结合；③COP I 蛋白亚基聚合，同 ARF 一起与高尔基复合体囊膜表面的其

他相关蛋白结合,形成有被囊泡。一旦 COP I 有被囊泡从高尔基复合体顺面膜囊生成断离出来, COP I 蛋白即可解离,随后 GTP 与 ARF 之间的键发生水解。体外实验证明: GTP 的存在,是 COP I 外被蛋白发生聚合与解离的必要条件。

(三) COP II 有被囊泡

COP II 有被囊泡由粗面内质网产生,属于非网格蛋白有被囊泡类型,主要负责从内质网到高尔基复合体的物质运输。利用酵母细胞突变体进行研究鉴定,发现 COP II 外被蛋白由 5 种亚基组成。其中的 Sar 蛋白属于一种小的 GTP 结合蛋白(功能类似 ARF),它可作为分子开关调节膜泡外被的装配与去装配。当 Sar 蛋白与 GDP 结合,处于非活性状态;当与 GTP 结合时, Sar 蛋白被激活,并导致它与内质网膜结合,同时引发其他蛋白质亚基组分在内质网膜上聚合、装配、出芽,随即断离形成 COP II 有被囊泡。

实验证明,应用 COP II 囊泡外被蛋白的抗体,能够有效地阻止内质网膜小泡的出芽,但不影响高尔基复合体不同组分之间的膜泡运输。有人采用绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)标记示踪技术观察 COP II 有被囊泡的转运途径发现:当 COP II 囊泡在内质网生成之后,在向高尔基复合体的转移途中,常常数个彼此融合,形成“内质网-高尔基体中间体”(ER-to-Golgi intermediate compartment),然后再沿微管系统继续运行,最终到达高尔基复合体的顺面。COP II 囊泡具有对转运物质的选择性并使之浓缩。实现这种选择的机制:一是 COP II 蛋白能识别并结合内质网跨膜蛋白受体胞质侧一端的信号序列;二是内质网跨膜蛋白受体腔侧的一端,又可与内质网网腔中的可溶性蛋白结合。

三、囊泡转运的意义

(一) 囊泡转运是细胞内物质定向运输的重要途径

囊泡的产生形成过程,总是伴随着物质的转运;囊泡的运行轨道及归宿,取决于其所转运物质的定位去向。例如,在细胞内所合成的蛋白质、脂质和糖分子以转运囊泡的形式从内质网出发,经高尔基复合体最后与细胞膜融合,通过“胞吐作用”分泌释放出去,而转运的每一个分子都按顺序经过一系列细胞器并沿途进行化学修饰。以外输性蛋白质的分泌为例,蛋白质首先在粗面内质网进行生产和修饰,然后在高尔基复合体内被进一步修饰和归类,最后到达细胞膜。而细胞通过胞吞作用摄入的各种外来物质,总是以囊泡的形式,自外而内,从细胞膜输送到胞内体或溶酶体。由此可见,由囊泡转运所承载和介导的双向物质运输,不仅是细胞内外物质交换和信号传递的一条重要途径,而且也是细胞物质定向运输的一种基本形式。

(二) 囊泡转运是一个高度有序、受到严格选择和精密控制的物质运输过程

运输囊泡的形成、转运及与靶膜的融合涉及多种蛋白质识别、包装、去装配的复杂调控。首先,膜泡融合的特异性表现在源于内质网的膜泡与顺面高尔基复合体管网区(CGN)融合,而不会与中间膜囊融合。同样,源于中间膜囊的出芽膜泡只与反面膜囊融合。选择性融合是保证细胞内物质定向运输的因素之一。

囊泡转运不仅仅只是物质的简单输送,而且还是一个严格的质量检查、修饰加工过程。例如,进入内质网的蛋白质,首先要被决定是去或是留;然后,外输性蛋白质,往往还要经过一定的修饰、加工和质量检查,才能以囊泡的形式被转运到高尔基复合体。有时某些内质网驻留蛋白或不合格的外输蛋白可能会从内质网逃逸外流,但是,它们在进入高尔基复合体

后也还是会被识别、捕捉，并由 COP I 有被囊泡遣返回来。逃逸的内质网蛋白的回收是通过回收信号介导的特异性受体完成，这类受体能以 COP I 有被小泡形式捕获逃逸分子，并将它们回收回内质网。这是因为内质网的正常驻留蛋白，不管在腔中还是在膜上，它们在 C 端含有一段驻留信号序列，如果它们被意外地逃逸进入转运泡，从内质网运至高尔基复合体 CGN，则 CGN 区的膜结合受体蛋白将识别并结合逃逸蛋白的驻留信号，形成 COP I 有被囊泡使它们返回内质网。如蛋白二硫键异构酶和协助折叠的分子伴侣，均具有典型的驻留信号 Lys-asp-glu-leu (或 KDEL)。如果一个内质网的蛋白缺乏这种序列，那么这种蛋白将不能返回内质网，而是被转运泡带到质膜。相反，如果通过重组 DNA 技术方法使表达的溶酶体蛋白或分泌蛋白含有一段附加的 KDEL C 端，那么这种蛋白质将返回内质网，而不是被转运至溶酶体或分泌泡。内质网的膜蛋白（如 SRP 受体）在 C 端有一个不同的驻留信号，通常是 KKXX (K: lysine, X: 任意氨基酸)，同样可保证它们的回收。在生物合成途径中，每种膜组分也许都具有它自己独特的回收信号，这有助于解释任凭转运泡在特定区域内外不断运动，但每种细胞器仍可保持它独特的蛋白质组成。研究观察表明，膜泡转移不仅沿内质网→高尔基复合体方向进行顺行转运 (anterograde transport)，也可沿相反方向进行逆行转运 (retrograde transport)。有证据表明，COP I 有被小泡除行使高尔基复合体→内质网逆行转运外，也可行使从内质网→高尔基复合体的顺行转运，以至通过高尔基复合体的不同分区。事实上，无论何种来源或经何种途径的囊泡转运，都是高度有序的并受到严格选择和精密控制的物质运输过程 (图 7-34)。

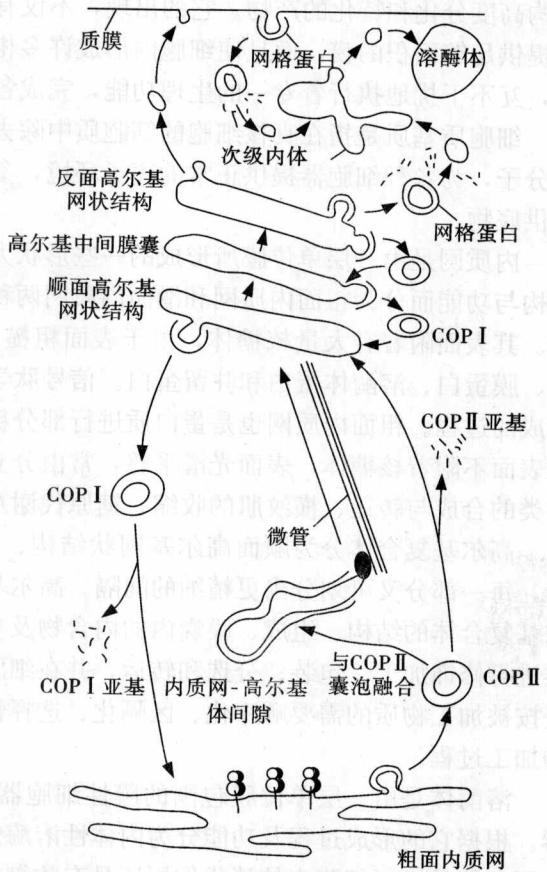


图 7-34 在细胞分泌途径和内吞途径中 3 种类型的被膜囊泡及运输途径 (引自 Lodish et al, 1995 年)

(三) 囊泡转运实现了细胞膜与内膜系统结构功能的协调统一

囊泡运输是细胞内外物质交换的主要形式。细胞膜和内质网是囊泡转运的主要发源地，而高尔基复合体则构成了囊泡转运的交通枢纽。囊泡介导具有双向性，一方面由内质网产生的转运囊泡融合到高尔基复合体，其囊膜成为高尔基复合体形成面膜的一部分；由高尔基复合体成熟面产生的不同分泌囊泡，或被直接输送到细胞膜，或经由溶酶体最终流向和融入细胞膜。另一方面细胞膜来源的囊泡转运，则以胞内体或吞噬（饮）体的形式与溶酶体发生融合转换。由此可见，不断地生成并穿梭于质膜及内膜系统结构之间的囊泡转运，在承载和介导细胞物质定向运输功能的同时，又经常被融合更替，从一种细胞器膜到另一种细胞器膜，形成了一个有条不紊、源源不断的膜流。

膜流不但保证物质的定向运输, 还使各种膜性细胞器在结构和功能上协调统一。

提 要

内膜系统是指在形态、结构和功能上相互联系的一些膜性细胞器。包括内质网、高尔基复合体、溶酶体、过氧化物酶体、各种转运囊泡和核膜等。内膜系统是细胞进化过程中膜性结构高度分化和特化的产物。它的出现, 不仅有效地增加了细胞内有限空间的表面积, 为细胞提供足够面积的膜, 而且使细胞内形成许多相互分隔的封闭性区室。并各具一套独特的酶系, 互不干扰地执行着专一的生理功能, 完成各种重要的生命活动。

细胞质基质是指在真核细胞的细胞质中除去细胞器之外的胶状物质。内含大、中、小三种分子, 为各种细胞器提供正常的离子环境, 参与某些生化代谢过程, 并为细胞的生命活动提供底物。

内质网是由一层单位膜所形成的一些形状大小不同的小管、小囊或扁平囊的结构。依其结构与功能而分为粗面内质网和滑面内质网两种。粗面内质网常由扁平囊构成, 排列较为整齐。其表面附着有大量核糖体, 由于表面粗糙, 因而得名。粗面内质网主要合成分泌性蛋白、膜蛋白、溶酶体蛋白和驻留蛋白。信号肽学说阐明了核糖体在内质网上进行蛋白质生物合成的过程。粗面内质网也是蛋白质进行部分糖基化(N-寡糖连接)的场所。滑面内质网膜表面不附着核糖体, 表面光滑平整, 常由分支小管或圆形小泡构成。滑面内质网的功能和脂类的合成与转运、横纹肌的收缩、糖原代谢及解毒作用有关。

高尔基复合体分为顺面高尔基网状结构、高尔基中间膜囊和反面高尔基网状结构三部分, 每一部分又可划分出更精细的间隔。高尔基复合体是一个极性细胞器, 其极性显示在高尔基复合体的结构、组成、膜囊内的内含物及功能上。高尔基复合体的功能是对蛋白质、脂类进行修饰加工、包装、分选和转运, 并在细胞内参与膜的转化。高尔基复合体的加工过程是按被加工物质的需要顺序化、区隔化、选择性地进行的, 它是一个高度复杂, 而又极其精密的加工过程。

溶酶体是由一层单位膜包围的膜性细胞器, 内含多种酸性水解酶, 是一种异质性细胞器。根据它的形成过程及功能分为内体性溶酶体、吞噬性溶酶体、残余小体3大类。溶酶体主要功能是进行细胞内的消化作用还具有防御功能及其他重要的生理功能。溶酶体功能的缺陷会引起多种病症。

过氧化物酶体是由单位膜包裹的, 内含多种氧化酶和过氧化氢酶的细胞器。过氧化物酶体中的各种氧化酶能氧化多种底物。在氧化底物的过程中, 氧化酶使氧还原成过氧化氢, 而过氧化氢酶使过氧化氢还原成水, 除去过氧化氢对细胞的毒害。

内膜系统中的各种细胞器, 随机体的生理和病理变化而发生异常甚至疾病。

内膜系统的最大特点是动态性质, 各种膜结构处于流动状态。正是这种流动状态, 将细胞的合成活动、分泌活动和内吞活动连成了一个网络, 在这些结构之间常常看到一些囊泡来回穿梭, 这些囊泡分别从内质网、高尔基复合体和细胞膜上产生, 是特有的一种细胞物质内外转运形式。囊泡类型多样, 结构特殊, 有着十分精密复杂的产生、形成过程。囊泡类型有多种。其中网格蛋白有被囊泡、COP I 和 COP II 有被囊泡是目前了解较多的3种囊泡类型, 它们具有不同的物质运输作用。

网格蛋白有被囊泡可产生于高尔基复合体的 TGN, 也可由细胞膜受体介导的内吞作用

而形成。由高尔基复合体产生的网格蛋白囊泡，主要介导从高尔基复合体向溶酶体、胞内体或质膜外的物质转运，而通过细胞内吞作用形成的网格蛋白囊泡，则是将外来物质从质膜转送到细胞质，或者从胞内体输送到溶酶体。

COP I 有被囊泡首先发现于高尔基复合体，也属于非网格蛋白有被囊泡类型。主要负责内质网逃逸蛋白的捕捉、回收转运以及高尔基复合体膜内蛋白的逆向运输。

COP II 有被囊泡由粗面内质网产生，属于非网格蛋白有被囊泡类型，主要负责从内质网到高尔基复合体的物质运输。

囊泡转运是细胞内物质定向运输的重要途径；囊泡转运是一个高度有序、受到严格选择和精密控制的物质运输过程；囊泡转运实现了细胞膜与内膜系统结构功能的协调统一。

复习思考题 7

(一) 名词解释：

内膜系统 微粒体 信号密码 信号肽 信号识别颗粒 信号识别颗粒受体 N-寡糖连接
O-寡糖连接 滑面内质网 粗面内质网 内体性溶酶体 吞噬性溶酶体 自体吞噬体
异物吞噬体 残余小体

(二) 问答题：

1. 细胞质基质的组分是什么？谈谈你对其在细胞生命活动中作用的理解。
2. 何为内膜系统？包括哪几个部分？
3. 比较两种内质网的结构及功能。
4. 信号假说的主要内容是什么？
5. 试阐明高尔基复合体是一个极性细胞器。
6. 根据高尔基复合体的结构和功能，说明它在内膜系统中的作用和地位。
7. 蛋白质糖基化的类型、特征及生物学意义是什么？
8. 溶酶体是怎样形成的？它有哪些基本功能？
9. 试从溶酶体的形成过程，阐明溶酶体是一种异型性的细胞器。
10. 简述与溶酶体相关的人类疾病。
11. 阐明过氧化物酶体对其作用底物的氧化过程。
12. 以外输性分泌蛋白为例，阐明细胞的膜转化过程及意义。
13. 说明细胞内膜系统的各种细胞器在结构与功能上的联系。
14. 蛋白质分选的基本途径有哪些？
15. 何为囊泡转运？转运囊泡的类型及特点是什么？
16. 囊泡转运的意义有哪些？

(刘艳平)

第八章

线粒体

线粒体 (mitochondrion) 是细胞内一种重要的膜性细胞器, 是细胞能量转换的中心场所, 通过氧化磷酸化作用为细胞的各种生命活动提供所需要的能量。1890 年, 德国生物学家阿特曼 (Altman) 首先在动物细胞内发现杆状和颗粒状结构, 描述为生命小体 (bioblast)。1897 年, 班达 (Benda) 将此颗粒命名为线粒体 (mitochondrion)。1900 年米查尔 (Michaelis) 用詹纳斯绿 (Janus green) 进行活体染色, 证明了线粒体是细胞内进行氧化还原反应的场所。20 世纪 50 年代初, 由于电子显微镜和超速离心机的应用, 揭示了线粒体的超微结构与功能之间关系。60 年代后, 确定了线粒体有独立的遗传系统与蛋白质合成体系。线粒体具有复杂的亚微结构和能量转换系统, 通过氧化磷酸化作用, 收回食物中所包含的能量, 转变为 ATP 的高能键。

第一节 线粒体的形态结构

一、光镜下线粒体的形态结构

在光学显微镜下, 线粒体的形态多种多样, 可见呈线状、粒状、杆状、泡状、哑铃状等。线粒体形态的不同与细胞种类的不同和所处的生理状态不同有关。在一定条件下, 同一种细胞线粒体形态是可逆的。如细胞处于低渗时, 线粒体膨胀呈泡状; 而处于高渗环境下, 线粒体则伸长呈线状。在不同的细胞中线粒体大小也不一致。一般直径为 $0.5 \sim 1.0 \mu\text{m}$ 左右。个别的还可以见到巨大线粒体, 如骨骼肌细胞的线粒体, 长度可达 $8 \sim 10 \mu\text{m}$ 。

在不同的细胞中, 线粒体数目也相差较大。如哺乳动物肝细胞中有 2000 个左右, 精子中约有 25 个。一般说来, 在生理活动旺盛的细胞 (如脊髓的运动神经细胞和分泌细胞) 要比代谢不旺盛的细胞 (如淋巴细胞和精子细胞) 的线粒体数目多; 动物细胞比植物细胞的线粒体多。但在同一类型细胞中, 线粒体的数目是相对稳定的。

线粒体在细胞内的分布一般是不均匀的, 因细胞类型和形态的不同而存在差别, 但仍具有一定规律。通常在细胞生理功能旺盛的区域和需要能量较多的部位分布。如外输性蛋白质合成活跃的细胞, 线粒体被包围在粗面内质网、肌细胞中, 线粒体沿肌原纤维规则排列; 处于分裂时期的细胞, 线粒体均匀地集中在纺锤丝的周围。但在有些细胞内线粒体通常是均匀分布的, 如肝细胞。柱状细胞中线粒体分布在细胞两极; 球状细胞如血细胞中, 线粒体为放射状排列。

二、电镜下线粒体的形态结构

在电镜下观察, 线粒体是由两层单位膜围成的封闭的膜囊状结构。主要由外膜、内膜、

膜间腔和基粒几个部分组成。两层膜将线粒体内部空间与细胞质隔离，并使线粒体内部空间分隔成内膜与外膜而构成线粒体的支架。内、外膜之间形成膜间腔（外室），内膜向内突伸形成嵴，嵴与嵴之间形成嵴间腔（内室），内含基质（图 8-1）。

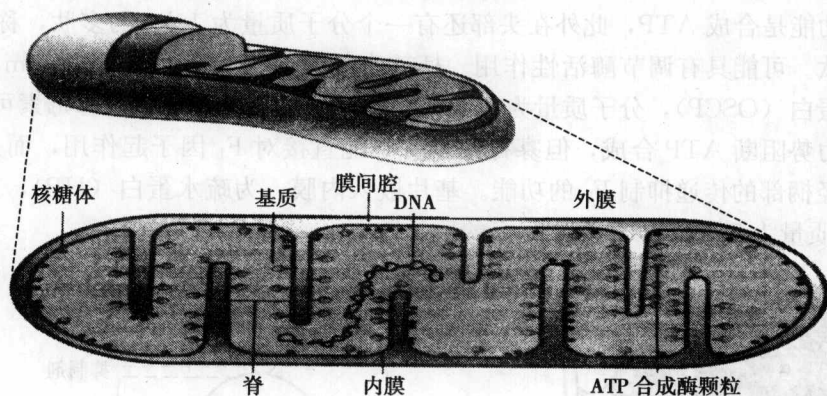


图 8-1 线粒体亚微结构示意图（引自 Gerald Karp）

（一）外膜

外膜（outer membrane）是包围在线粒体外表面的一层单位膜，光滑而富有弹性，厚 5~7nm，与内膜不相通，脂类与蛋白质的组成与内膜也有所不同，却与内质网膜组成相似。

外膜上排列整齐的筒状圆柱体，高 5~6nm，直径 6nm，其成分为孔蛋白（porin），筒状圆柱体中央有小孔，孔径 1~3nm，分子质量在 10ku 以下的小分子均能通过。

（二）内膜

内膜（inner membrane）厚 4~6nm，也是由一层单位膜组成。内、外膜之间的空隙称膜间腔（intermembrane space），宽 6~8nm，其内含多种可溶性酶、底物和辅助因子。内膜通透性很低，能严格控制分子和离子通过，在代谢过程中产生的许多小分子物质是借助于内膜上各种不同的运输蛋白选择地进行膜内外间的物质交换。

内膜是皱褶的，内膜向线粒体内室褶叠，形成嵴（cristae），从而增加了线粒体内膜的表面积。嵴与嵴之间的间隙称嵴间腔（inter cristal）或内室（inner chamber），其内充满基质。嵴内的空隙称嵴内腔（interacristal space），与外室相通。

（三）嵴与基本微粒

线粒体的嵴是由内膜向内室褶叠而形成的。嵴的形成增加了内膜的表面积，如肝细胞中的线粒体内膜的总面积大约是外膜的 5 倍。

嵴是线粒体中形态变化最大的结构。不同类型细胞内线粒体嵴的形状和排列方式有很大差别。嵴的形状主要有两种类型：板层状和小管状。如胰腺细胞和肾小管上皮细胞，线粒体的嵴呈板层状；而分泌固醇类激素的细胞，如肾上腺皮质细胞，线粒体内的嵴呈小管状；还有一些细胞具有两种类型的嵴，如肝细胞中线粒体嵴以板层状为主，偶尔有小管状。嵴的长度也因细胞而异，如肝细胞中线粒体嵴短小而稀疏，肌细胞中线粒体嵴长而密。线粒体嵴的数目与细胞本身的生理活动有关，一般需要能量较多的细胞，其线粒体数量多，嵴也多，如心肌细胞；反之则少，如肝细胞和小肠上皮细胞其嵴稀少。

在内膜和嵴膜的基质面上有许多带柄的小颗粒称基粒（elementary particle），也称 ATP 酶复合体，是氧化磷酸化的关键装置。基粒与膜面垂直而规则排列，粒间相距 10nm。估计

每个线粒体有 $10^4 \sim 10^5$ 个基粒。

基粒由头部、柄部和基片 3 部分组成 (图 8-2、图 8-3)。头部呈球形, 直径为 8~10nm, 含有可溶性 ATP 酶 (F_1), 也称偶联因子 F_1 , 分子质量为 360ku, 是一种球形蛋白质。头部的功能是合成 ATP, 此外在头部还有一个分子质量为 10ku 的多肽, 称 ATP 酶复合体抑制多肽。可能具有调节酶活性作用。柄部直径为 3~4nm, 长 4.5~5nm, 它是对寡霉素敏感的蛋白 (OSCP), 分子质量为 18ku, 其作用是调控质子通道。寡霉素可通过干扰, 利用质子动力势阻断 ATP 合成, 但寡霉素本身不能直接对 F_1 因子起作用, 而是作用于柄部蛋白, 再经柄部的传递抑制 F_1 的功能。基片嵌入内膜, 为疏水蛋白 (HP), 又称偶联因子 F_0 , 分子质量为 70ku, 形成一个跨膜的质子通道。

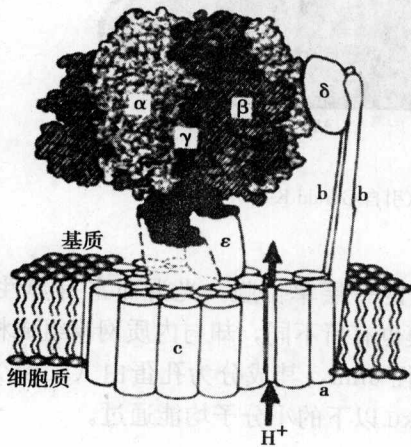


图 8-2 线粒体 ATP 合成酶结构示意图
(引自 Matti Saraste)

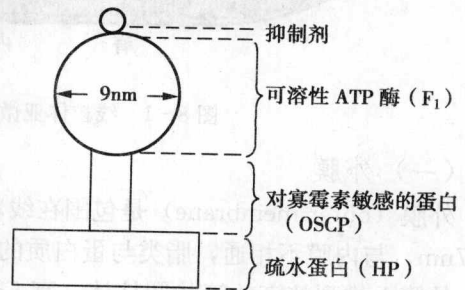


图 8-3 ATP 合成酶组分示意图
(引自杨福愉)

(四) 基质

在线粒体内膜以内, 线粒体嵴间的空隙存在基质 (matrix), 基质腔里充满电子密度较低的可溶性蛋白质和脂肪等成分。存在着与三羧酸循环、脂肪酸氧化、氨基酸分解和蛋白质合成等有关的酶类以及核酸合成酶系, 此外, 还含有线粒体的环状 DNA 分子、mRNA、tRNA 及其核糖体。基质中还含有一些较大的致密颗粒, 直径为 30~50nm, 称基质颗粒 (etrical granule), 内含有钙、镁、磷等元素。基质颗粒的功能可能是调节线粒体内的离子环境。

线粒体内膜和外膜的差别见表 8-1。

表 8-1 线粒体内膜与外膜的差别

	内 膜	外 膜
厚度	4~6nm	5~7nm
形状	皱褶	伸展
表面	内面有规则的突出亚基, 外面光滑	内面光滑, 外面偶有突出
用丙酮抽提磷脂	双层结构仍然存在	双层结构破坏
密度	1.192~1.230	1.094~1.122

续表

	内 膜	外 膜
通透性	有专一传递系统, 分子质量 1.5ku 以下不带电荷的分子可通透	分子质量 10ku 以下的大多数物质可通透
渗透性降低的影响	可逆地伸展与重褶叠	不可逆地伸展与破裂
磷脂/蛋白	0.27	0.82
心磷脂	高	低
磷脂酰肌醇	低	高
胆固醇	低	高
辅酶	有	无

第二节 线粒体的化学组成与酶的定位

一、线粒体的化学组成

完整线粒体中水是主要成分, 化学成分主要是蛋白质和脂类。

(一) 蛋白质

蛋白质是线粒体的主要组分, 其含量占线粒体干重的 65%~70%, 以内膜中含量较多, 可占线粒体蛋白总量的 66%。各种线粒体的不同组成部分的蛋白质含量有很大差异。如大鼠肝细胞线粒体, 内膜的蛋白质占线粒体蛋白质含量的 21%; 外膜和膜间腔含量各为 6%; 基质含量为 67%。

线粒体的蛋白质分可溶性和不溶性两类。可溶性蛋白质主要是基质中的酶和外周膜蛋白; 不溶性蛋白质是膜的镶嵌蛋白、结构蛋白和酶蛋白。用电泳方法分析线粒体外膜和内膜的蛋白质, 可辨别出外膜上含有 14 种蛋白质, 内膜上含有 21 种蛋白质。

(二) 脂类

脂类含量占线粒体干重的 25%~30%。大多数以磷脂为主要成分, 占脂类总量的 3/4 以上, 其中以磷脂酰胆碱(卵磷脂)和磷脂酰乙醇胺(脑磷脂)占多数, 也还有一定数量的心磷脂, 但胆固醇的含量却较低。含有较丰富的心磷脂和较少的胆固醇, 这是线粒体在组成成分上与细胞其他膜结构的显著区别。

外膜的磷脂总量约为内膜的 3 倍, 胆固醇主要分布于外膜。不仅内、外膜所含磷脂总量不同, 而且磷脂的成分也不一样, 心磷脂是内膜的主要组成成分, 但外膜却很少。磷脂酰肌醇是外膜的重要组成成分。外膜中所含的中性胆固醇是内膜的 6 倍。线粒体外膜致密度低是由于它的磷脂和胆固醇含量高而造成的。内、外膜上脂类的差异, 体现了化学组成和结构功能的密切相关。总之, 脂类的组成成分说明, 外膜较内膜更近似于细胞的其他膜结构。还有实验证明, 在电子传递系统的运转中, 磷脂起着重要的作用, 辅酶 Q 和其他氧化还原分子与其相邻载体的相互作用也要依靠脂类分子。

二、线粒体中酶的定位

线粒体中已被确认的酶有百种以上, 分布在各个结构组分中。图 8-4 列出一些主要酶

在线粒体各组成部分中的分布。可以见到：外膜中含有合成线粒体脂类的酶类，单胺氧化酶是外膜的标志酶；内膜中含有执行呼吸链氧化反应的酶系和 ATP 合成酶系，内膜的标志酶是细胞色素 C 氧化酶；基质中有高浓度的多种酶的混合物，如参与三羧酸循环反应、丙酮酸与脂肪酸氧化的酶系，蛋白质与核酸合成酶类，其中苹果酸脱氢酶为基质的标志酶；在膜间腔内，只含有少数几种酶，如腺苷酸激酶、核苷酸激酶，腺苷酸激酶为膜间腔的标志酶。

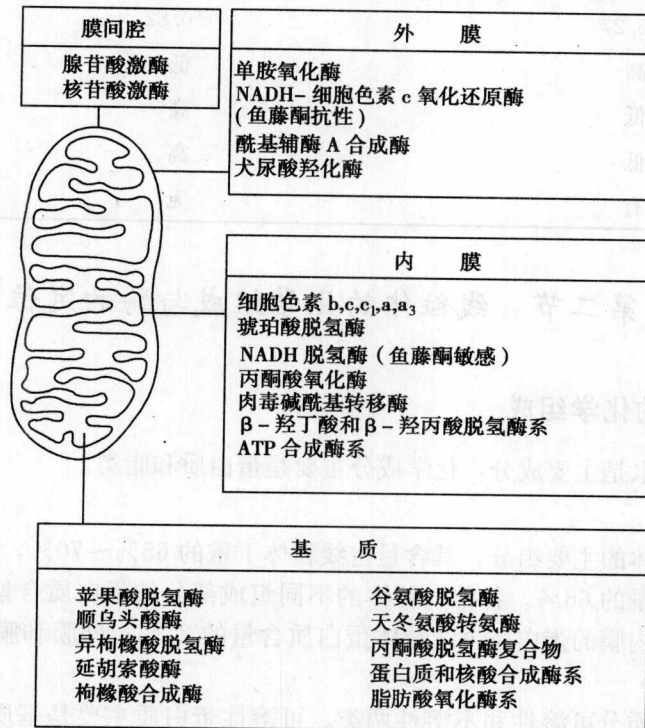


图 8-4 线粒体中一些主要酶的分布

第三节 线粒体蛋白质穿膜进入线粒体

线粒体上有百余种蛋白质，线粒体基质内虽有 DNA，但它只能合成极少量的蛋白质，而绝大部分蛋白质都由核 DNA 提供遗传信息，在细胞质中的游离核糖体上合成后运输到线粒体中。即：在细胞质中游离核糖体上合成的线粒体蛋白质，必须穿过线粒体的膜才能到达各自部位。蛋白质跨膜运输到线粒体，是真核细胞的蛋白质跨膜运输的主要类型之一，在这个运输过程中，导肽 (leader sequence) 起着重要的作用。

一、蛋白质运输过程中的特性

在游离核糖体上合成线粒体所需的蛋白质，在运输以前，它们以前体形式存在。这种前体是由“成熟”形式的蛋白质和氨基末端引伸出一段导肽。在跨膜运输过程中都呈解折叠状态 (unfold state)，运输完成后，又转变为折叠状态。跨膜运送的蛋白质在解折叠和重新折叠这两个过程中，都有一种被称为分子伴侣 (molecular chaperone) 的分子参与。分子伴侣是一种蛋白质，具有解折叠酶的作用，防止蛋白质分子聚集或折叠，促使解折叠状的蛋白质

跨膜进入线粒体，并参与进入线粒体的蛋白质分子重新折叠。实验证明，如在运输过程中蛋白质呈折叠状态，运输就很难进行。

二、导肽的性质与作用

导肽是位于输入线粒体前体蛋白质 N-末端引伸出的一段氨基酸顺序，导肽含有 20~80 个氨基酸残基，导肽对线粒体蛋白质的识别，跨膜运输和进入线粒体后的蛋白质定位起着关键作用。导肽具有下列共性：①带有正电荷的碱性氨基酸（特别是精氨酸和赖氨酸）含量较多，如果这些碱性氨基酸被不带电荷的氨基酸取代，导肽就失去引导的功能。②不含有或基本上不含有带负电荷的酸性氨基酸。③含有较高含量的羟基氨基酸（特别是丝氨酸）。④具有能形成既有亲水性又有疏水性的 α -螺旋结构。导肽的这种构型有利于穿越线粒体的双层膜（图 8-5）。

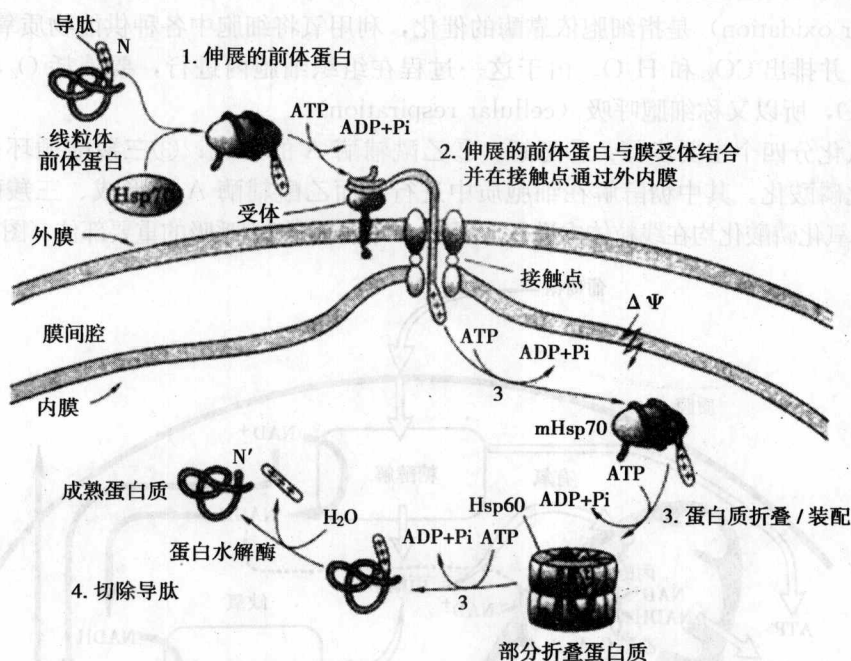


图 8-5 线粒体蛋白质的跨膜转运分布 (引自 Gerald Karp)

导肽对线粒体蛋白质膜上的受体识别和跨膜运输无疑起着关键作用。例如，细胞色素氧化酶 IV 亚单位 (COX IV) 是在细胞质中游离核糖体上合成，合成的前体蛋白 N-末端含有 25 个氨基酸残基的导肽。当 COX IV 前体蛋白跨膜运输时，导肽先与线粒体外膜上受体结合，具导肽的前体蛋白质再通过内、外膜之间的接触点进一步插入膜内。电镜观察证明，线粒体内外膜之间的确存在这样的接触点。有人估计，直径为 $1\mu\text{m}$ 的鼠肝线粒体约有 115 个接触点。前体蛋白在运输通过内膜之后，其导肽即被线粒体基质中的酶水解除去，蛋白质重新蜷曲折叠，形成成熟的蛋白质，它不能再通过膜。定位于线粒体外膜上的蛋白质，一般不含有特殊的导肽，其 N-末端的氨基酸序列即具有导肽的功能，可使其直接定位于外膜上。

利用基因融合方法，将酵母线粒体细胞色素氧化酶 (COX IV) 导肽的基因与小鼠细胞中二氢叶酸还原酶 (dihydrofolate reductase, DHFR) 的基因进行融合，然后将融合基因注入酵母进行表达，得到一种杂合蛋白 (hybrid protein)，即连接有酵母线粒体 COX IV 导肽

的 DHFR，再通过跨线粒体运输，结果在酵母线粒体的基质中出现了 DHFR。实验说明原定位于小鼠细胞质中的 DHFR 依靠细胞色素氧化酶亚单位 IV 的导肽，也能通过酵母线粒体膜而被输送至导肽引向的部位。以上说明，在细胞质中游离核糖体上合成的蛋白质所携带的导肽，能识别线粒体膜上受体的信息，有牵引蛋白质通过线粒体膜进行运输的功能。导肽只决定运输的方向，而对被运输的蛋白质并无特异性。

通过实验分析证明：导肽上具有不同的导向信息，即含有导向基质、膜间腔等不同信息，因此导肽对线粒体蛋白质还具有分选转运的作用。

第四节 线粒体的功能

细胞活动的能量主要来自 ATP。线粒体是糖、脂肪和氨基酸最终氧化的场所。细胞氧化 (cellular oxidation) 是指细胞依靠酶的催化，利用氧将细胞中各种供能物质氧化、分解、释放能量，并排出 CO_2 和 H_2O 。由于这一过程在组织细胞内进行，要消耗 O_2 ，并释放出 CO_2 和 H_2O ，所以又称细胞呼吸 (cellular respiration)。

细胞氧化分四个主要步骤：① 酵解；② 乙酰辅酶 A 的形成；③ 三羧酸循环；④ 电子传递偶联氧化磷酸化。其中糖酵解在细胞质中进行，而乙酰辅酶 A 的形成、三羧酸循环及电子传递偶联氧化磷酸化均在线粒体内进行。因此，线粒体是细胞呼吸的重要部位 (图8-6)。

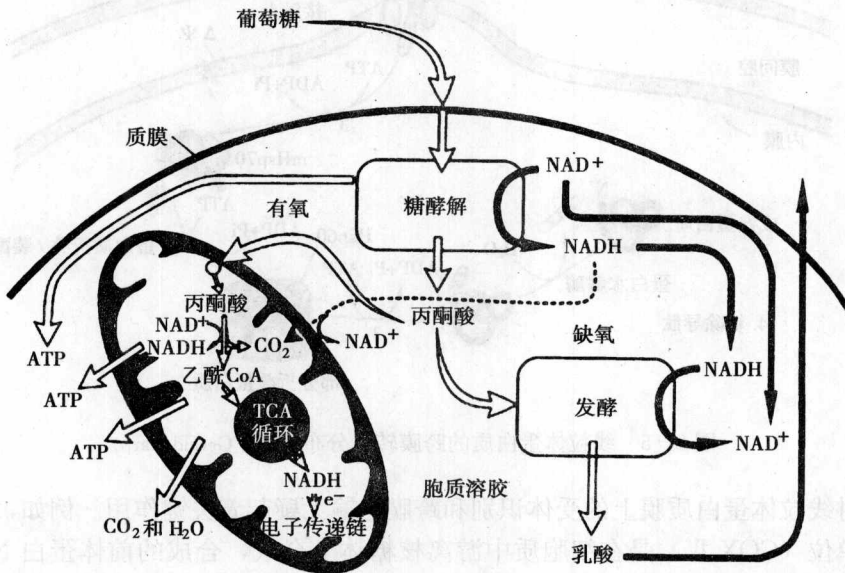
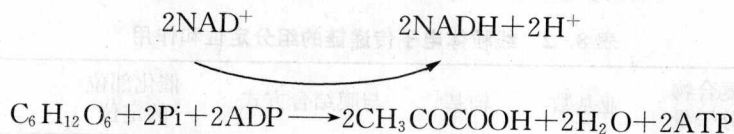


图 8-6 真核细胞内代谢反应图 (引自 Gerald Karp)

从食物中摄取蛋白质、脂肪、糖等能源物质，首先要经过消化，成为氨基酸、脂肪酸和甘油、单糖等小分子，然后才能被细胞摄取。这步降解反应在细胞质基质内进行，反应过程不需氧，故称酵解。以葡萄糖为例，在细胞质基质中酵解，1 分子葡萄糖可分解为 2 分子丙酮酸，产生 2 个 NADH (受氢体称烟酰胺腺嘌呤二核苷酸)，在能量上只得了 2 个 ATP 分子。因此，能量的产生是非常有限的，而绝大部分能量仍蕴藏在丙酮酸分子中。只有这些能源分子进入线粒体，形成乙酰辅酶 A (acetyl CoA)，进入三羧酸循环 (tricarboxylic acid

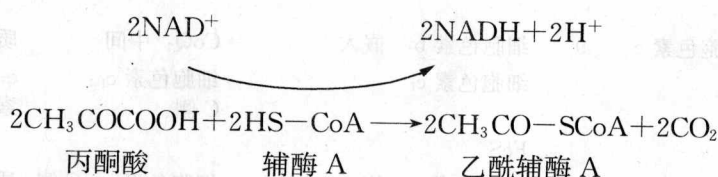
cycle), 经一系列酶促反应、电子传递和氧化磷酸化的复杂过程, 释放全部能量, 最终促成 ATP 的合成。

在细胞质基质中, 以葡萄糖为例的酵解过程可用下列反应式表示:



一、乙酰辅酶 A 的形成

丙酮酸进入线粒体基质后, 经线粒体基质中丙酮酸脱氢酶复合体催化, 转化为乙酰辅酶 A, 生成 1 分子 NADH。这样, 使三碳丙酮酸转变成活泼的二碳乙酰辅酶 A, 该过程无 ATP 形成。反应式如下:



二、三羧酸循环

三羧酸循环是生物体内重要的代谢途径, 因为它是糖的有氧氧化的必经之路, 也是脂肪及氨基酸的代谢途径。三羧酸循环在线粒体基质中进行。循环是以乙酰辅酶 A 与 4 个碳原子的草酰乙酸缩合成 6 个碳原子的枸橼酸开始, 枸橼酸经过 7 个连续反应, 一再氧化脱羧后, 又重新生成草酰乙酸, 组成一个循环。如此周而复始, 不断循环, 每循环一次, 氧化分解一个乙酰辅酶 A, 产生 4 对氢原子和 2 个 CO_2 分子。大量的能量就储存在 4 对氢原子中 (图 8-7)。

脱下的 4 对氢原子中, 有 3 对以 NAD 为受氢体, 另 1 对以 FAD (黄素腺嘌呤二核苷酸) 为受氢体。 CO_2 通过膜排出线粒体外。

三、电子传递偶联氧化磷酸化

电子传递偶联氧化磷酸化就是将三羧酸循环中脱下的氢原子, 通过内膜上一系列呼吸链酶系的逐级传递, 最后与氧结合成水。电子传递过程中释放的能量被用于 ADP 磷酸化形成 ATP。

呼吸链 (respiratory chain) 传递电子, 故又称电子传递链 (electron-transfer chain), 它是一组酶复合体, 分布并嵌在线粒体的内膜上, 包括辅酶 I (NAD)、黄酶 (FAD、FMN)、辅酶 Q

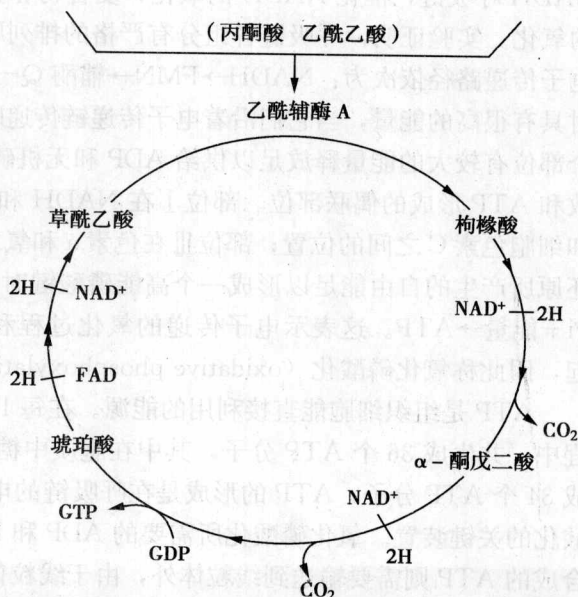


图 8-7 三羧酸循环示意图 (引自宋今丹)

和细胞色素 b、c₁、c、a、a₃。这些呼吸链的组分除辅酶 Q 和细胞色素 c 之外，均以多分子复合物的形式包埋在线粒体的内膜。现将线粒体电子传递链复合物的组分、定位及作用列于表 8-2 中。

表 8-2 线粒体电子传递链的组分定位和作用

复合物名称	酶复合物及分子量	亚基数	辅基	与膜结合方式	催化部位的定位	作用
复合物 I	NADH-CoQ 还原酶 850kD	25	FMN FeS	嵌入	NADH: M 侧	质子移位
复合物 II	琥珀酸-CoQ 还原酶 140kD	4	FAD、FeS 细胞色素 b	嵌入	CoQ: 中间 琥珀酸酶: M 侧 CoQ: 中间	e ⁻ : NADH → CoQ e ⁻ : FAD → CoQ
复合物 III	CoQ-细胞色素 c 还原酶 250kD	9	细胞色素 b 细胞色素 c ₁ FeS	嵌入	CoQ: 中间 细胞色素 c ₁ : C 侧	质子移位 e ⁻ : CoQ → 细胞色素 c ₁
复合物 IV	细胞色素 c 氧化酶 160kD	8	细胞色素 a 细胞色素 a ₃ Cu	嵌入	细胞色素 a: C 侧 O ₂ : M 侧	质子移位 e ⁻ : 细胞色素 → O ₂
	细胞色素 c 13kD	1	细胞色素 c	不与内膜结合	细胞色素 c: C 侧	e ⁻ : c → a

注: FeS 为铁硫蛋白, M 侧为线粒体基质侧, C 侧为膜间腔侧或称细胞质侧。

电子传递链在内膜上都有固定的位置和方向 (图 8-8), 好似工厂的生产线一样, 各种载体像一台台机器, 4 种复合物在电子传递过程中相互协调。复合物 I、III、IV 组成主要的 NADH 呼吸链, 催化 NADH 的氧化; 复合物 II、III、IV 组成 FADH₂ 呼吸链, 催化琥珀酸的氧化。实验证明, 呼吸链各组分有严格的排列顺序和方向。现在一般公认的排列顺序也即电子传递路径依次为: NADH → FMN → 辅酶 Q → 细胞色素 b → c₁ → c → a → a₃ → O。电子开始时具有很高的能量, 当它们沿着电子传递链传递时, 能量逐渐释放。目前认为: 呼吸链中 3 个部位有较大的能量释放足以供给 ADP 和无机磷形成 ATP。这 3 个部位是呼吸链中能量释放和 ATP 形成的偶联部位。部位 I 在 NADH 和辅酶 Q 之间的位置; 部位 II 在细胞色素 b 和细胞色素 C 之间的位置; 部位 III 在色素 a 和氧之间的位置。在电子传递到一定位置, 氧化还原所产生的自由能足以形成一个高能磷酸键时, 能量就被磷酸化转换成 ATP, 即 ADP + Pi + 能量 → ATP。这表示电子传递的氧化过程和能量转换 ATP 磷酸化过程必然偶联在一起, 因此称氧化磷酸化 (oxidative phosphorylation) (图 8-9)。

ATP 是组织细胞能直接利用的能源。在每 1 个分子葡萄糖完全氧化成 CO₂ 和 H₂O 的过程中, 共生成 36 个 ATP 分子, 其中在胞质中糖酵解产生 2 个 ATP 分子, 而在线粒体内生成 34 个 ATP 分子, ATP 的形成是在呼吸链的电子传递过程中完成的。基粒是偶联氧化磷酸化的关键装置。氧化磷酸化所需要的 ADP 和 Pi 是由细胞质基质输入到线粒体基质中, 而合成的 ATP 则需要输送到线粒体外, 由于线粒体内膜具有高度不透性, 线粒体的蛋白质利用导肽进入线粒体, 此外, 腺苷酸转移酶利用内膜内外的 H⁺ 梯度势能, 把 ADP 和 Pi 运入线粒体基质, 并把 ATP 输出线粒体外, 提供细胞正常生理活动所需的能量。

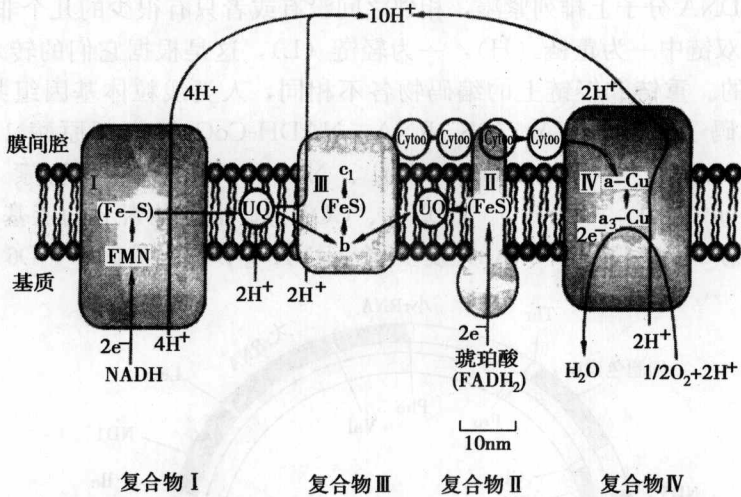


图 8-8 电子传递链示意图

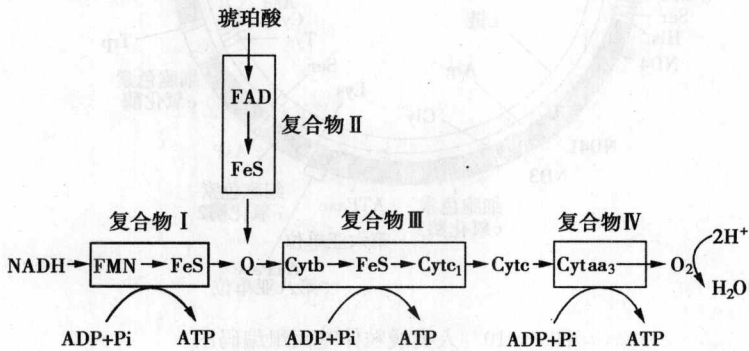


图 8-9 电子传递与氧化磷酸化偶联 (引自翟中和等)

第五节 线粒体的半自主性

自从 1963 年发现线粒体 DNA (mtDNA) 以来, 对线粒体 DNA 的结构和功能进行研究, 进一步发现线粒体有自己的遗传系统和蛋白质合成体系。到目前为止, 线粒体是动物细胞内除核外, 唯一具有遗传和蛋白质合成系统的细胞器。但线粒体 DNA 只编码少量线粒体蛋白质, 大多数蛋白质还是由核 DNA 编码, 线粒体基因的复制与表达所需的许多酶, 又是由核 DNA 所提供的, 所以线粒体是一个半自主性的细胞器 (semiautonomous organelle)。

一、线粒体 DNA

真核细胞中, 线粒体 DNA 大多数是一条封闭的双链环状分子, 和细菌相似, 裸露而不与组蛋白结合, 分散在线粒体基质的不同区域。不同生物线粒体内 DNA 分子数目很不相同, 如人每个线粒体中有两三个 DNA 分子。大多数动物细胞线粒体 DNA 长度约为 $5\mu\text{m}$, 分子量较小, 约为 10000kD。如 1981 年英国伯罗尔 (B. G. Baucell) 等发表人类线粒体 DNA 全长序列测定结果, 线粒体 DNA 全长 16569 个碱基对, 基因编码的功能也已基本清

楚。这些基因在 DNA 分子上排列紧凑，相邻之间没有或者只有很少的几个非编码的碱基隔开（图 8-10）。双链中一为重链（H），一为轻链（L），这是根据它们的转录本在 CsCl 中密度不同而区分的。重链和轻链上的编码物各不相同，人类线粒体基因组共编码了 37 个基因。重链上编码了 12S rRNA、16S rRNA、NADH-CoQ 氧化还原酶 1（NADH-CoQ oxidoreductase1, ND1）、ND2、ND3、ND4L、ND4、ND5、细胞色素 C 氧化酶 1（cytochrome C oxidase I, COX I）、COX II、COX III、细胞色素 b 的亚基、ATP 合成酶的第 6 亚单位和第 8 亚单位（A6、A8）及 14 个 tRNA 等；轻链编码了 ND6 及 8 个 tRNA。

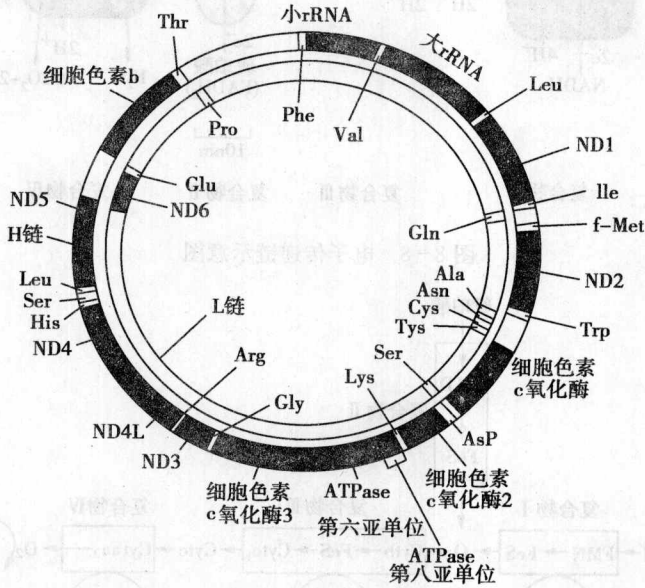


图 8-10 人类线粒体基因组编码图

在酵母线粒体编码基因之间存在相当数量的非编码区域，它们的功能还不清楚。估计其中大约 30% 的信息用于合成 rRNA 和 tRNA，70% 的信息用于合成蛋白质的 mRNA。

线粒体 DNA 具有自我复制能力，同样以自身为模板，进行半保留复制。它附着在线粒体内膜上并以此作为复制起始点，线粒体 DNA 复制不局限于 S 期，可存在细胞整个周期，线粒体 DNA 复制的周期与线粒体增殖是平行的，由此保证线粒体本身 DNA 在生命过程中的连续性。线粒体 DNA 复制时所需要的 DNA 聚合酶是由核 DNA 编码的。

二、线粒体基因组编码的蛋白质生物合成体系

线粒体内进行蛋白质生物合成所必需的各种 RNA（rRNA，tRNA，mRNA）都是线粒体所特有的。

在转录过程中所需的 RNA 聚合酶是由核 DNA 编码并在细胞质中合成后输入线粒体中的。一般说线粒体 RNA 聚合酶更类似于原核细胞 RNA 聚合酶，它可被菲啉溴红（E. B）等原核细胞 RNA 聚合酶抑制剂所抑制，但真核细胞 RNA 聚合酶抑制剂如放线菌素 D（actinomycin D）， α -鹅膏蕈碱（ α -amanitine）对它却没有抑制作用。

线粒体的核糖体因生物不同而不同，低等真核细胞（如酵母等）线粒体核糖体为 70~80S；植物线粒体核糖体稍大，为 78S 左右；动物线粒体核糖体比其细胞质核糖体（80S）

小得多,为 50~60S。通过电镜观察到核糖体和多聚核糖体游离在基质中或结合于内膜上。核糖体的蛋白质是核 DNA 所编码的,在细胞质游离核糖体上合成后再转运到线粒体内装配成线粒体核糖体。线粒体核糖体与细胞质核糖体不一样,除反映在 RNA 组分和蛋白质不同外,也表现在对药物的不同敏感性上,如放线菌酮 (cycloheximide) 可抑制所有真核细胞质核糖体蛋白质合成,但不能抑制线粒体核糖体蛋白质合成;而氯霉素和红霉素可抑制线粒体蛋白质合成,但对细胞质蛋白质合成却无影响。

线粒体蛋白质的合成与原核细胞相似,而与真核细胞不同,除上述蛋白质合成过程中对药物敏感性不同外,还表现在其一,线粒体蛋白质合成与原核生物一样,mRNA 的转录和翻译两个过程几乎在同一时间和地点进行,而真核细胞的转录在核内,蛋白质合成待 mRNA 进入到细胞质后才能进行;其二,线粒体蛋白质合成的起始 tRNA 也与原核细胞一样,为 N-甲酰甲硫氨酰 tRNA,由它开始蛋白质合成,而在真核细胞中,起始的 tRNA 为甲硫氨酰 tRNA。

1979 年,Barrel 和 Macino 等人分别报告了人 mtDNA 和酵母 mtDNA 所用的遗传密码与“通用”密码(核 DNA 的遗传密码)不同(表 8-3),而且人和酵母线粒体的遗传密码也不完全相同,目前尚不清楚这种差别的原因。

表 8-3 “通用”遗传密码和两种线粒体遗传密码的差别

密码子	哺乳动物线粒体编码	酵母线粒体编码	通用遗传密码
UGA	色氨酸	色氨酸	终止子
AUG	蛋氨酸	蛋氨酸	异亮氨酸
CUA	亮氨酸	苏氨酸	亮氨酸
AGG	终止子	精氨酸	精氨酸

通过研究,人线粒体 DNA 编码线粒体细胞色素 C 氧化酶 3 个亚基,ATP 合成酶中 Fo 的 2 个亚基,NADH-CoQ 还原酶 7 个亚基和细胞色素 b。不同生物线粒体基因编码的产物是不同的,现列表于 8-4。

表 8-4 不同生物线粒体基因编码的产物

	动物	酵母	真菌(脉孢菌)	植物
rRNA				
大亚基	16S	21S	21S	26S
小亚基	12S	15S	15S	18S
5S RNA	—	—	—	+
细胞色素 C 氧化酶 1, 2, 3 亚基	+	+	+	+
脱辅基细胞色素 b	+	+	+	+
ATP 合成酶				
亚基 6	+	+	+	+
亚基 8	+	+	+	+
亚基 9	—	—	—	+
NADH-CoQ 还原酶	7	0	6	6

三、线粒体遗传系统与细胞核遗传系统的相互关系

前已谈及 mtDNA 只能编码部分蛋白质,在 mtDNA 自我复制与蛋白质生物合成过程

中，均需核 DNA 所编码的蛋白质参与，因此线粒体遗传系统与细胞核遗传系统是相互协作的关系（图 8-11）。如在链孢霉中，线粒体的生物合成可能分成两个阶段：第一阶段是通过核遗传系统，合成线粒体内膜大部分蛋白质和线粒体遗传装置的有关酶系，将它们转运到线粒体内。第二阶段：即线粒体 DNA 开始转录，翻译产生组成线粒体的有关蛋白，同时也产生了控制细胞核 DNA 转录的阻遏物，这样就中止了细胞核的作用。当细胞核基因的转录产物用完后，线粒体 DNA 的作用也随即停止，影响细胞核 DNA 转录阻遏物也就不再形成，于是又重新引起细胞核基因的转录，线粒体又开始下一轮的形成过程。实验表明，用菲啶溴红和氯霉素能专一地抑制 mtDNA 的转录和翻译过程，这样线粒体产生的阻遏物减少，核 DNA 的转录和翻译过程加强，RNA 聚合酶的合成量增加，从而使线粒体遗传系统又得到一定程度的恢复。

综上所述，线粒体的遗传系统虽能独立进行蛋白质合成，但线粒体基因组的复制、转录与翻译受核遗传系统的指导和控制。所以线粒体的遗传系统是半自主性的。

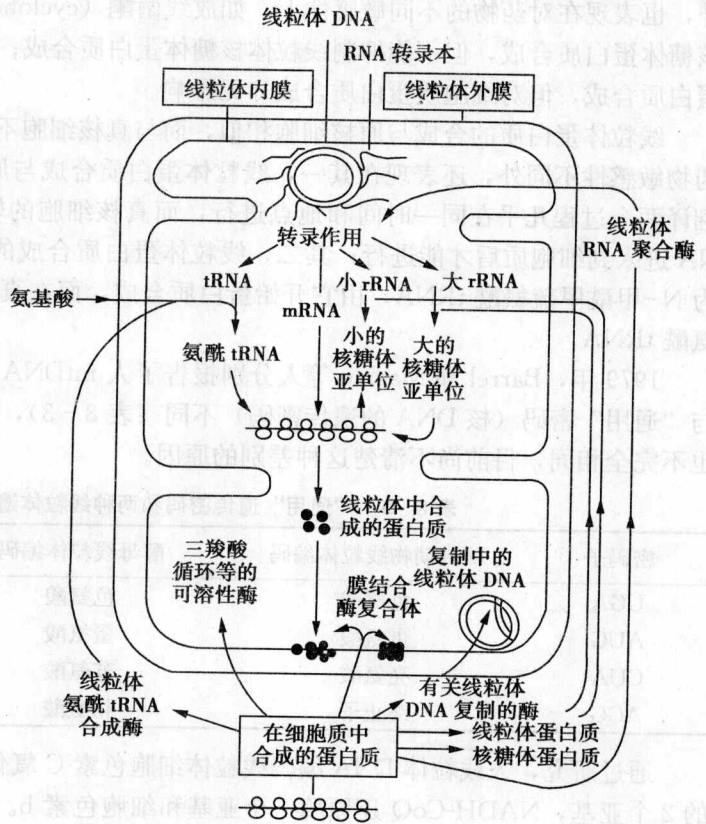


图 8-11 细胞核 DNA 与线粒体 DNA 转录和翻译关系图解

第六节 线粒体的生物发生

一、线粒体的增殖

细胞内的线粒体处于不断更新状态，衰老的和病变的线粒体被溶酶体消化分解，而通过增殖又不断产生新的线粒体。关于线粒体的增殖过去有两种不同看法：一种认为是在细胞质中重新形成；另一种则认为是由原来线粒体分裂或出芽而产生的。

莱克 (Luch) 1965 年用放射性核素实验有力地证明了线粒体分裂或出芽的增殖方式。红色面包霉的生存需要有胆碱的供应，用放射性 ³H 标记胆碱作为磷脂的前体而被掺入膜中，然后使这些细胞在没有放射性的培养基中培养，经过数代的生长，用放射自显影测定线粒体内标记物分布。当细胞分裂时，线粒体的数目按比例增加，发现所有线粒体均被标记，并且每个线粒体所含的标记物的量随时间延长而减少。这个实验说明：已经标记的线粒体进行分

裂或出芽形成新的线粒体。因为如果线粒体是重新合成，那么该实验的结果，应该观察到线粒体有两个群体存在，即原来已经标记的线粒体和新的无标记的线粒体。

阿道德 (Attardi) 等 (1975) 年认为，线粒体的生物发生可分为两个阶段。第一阶段：线粒体膜进行生长和复制，然后分裂增殖。第二阶段：线粒体本身的分化过程，建成能够使氧化磷酸化的装置。线粒体的生长和分化分别接受两个遗传系统的控制，因此，它不是一个完全自我复制的实体。

线粒体的分裂方式有 3 种 (图 8-12)：①间壁分裂。主要由线粒体的内膜向中心内褶形成间壁，或者是某一个嵴的延伸，当其延伸到对侧内膜时，线粒体一分为二。如鼠肝细胞和植物分生组织的线粒体增殖。②收缩分裂。分裂时，线粒体中央部分收缩，并向两端拉长，整个线粒体呈哑铃形，再断裂成两个线粒体。如酵母和蕨类植物中线粒体增殖。③出芽分裂。一般是先从线粒体上长出小芽，然后小芽与母线粒体分离，经过不断长大，形成新的线粒体。这种分裂方式见于酵母和藓类植物中。

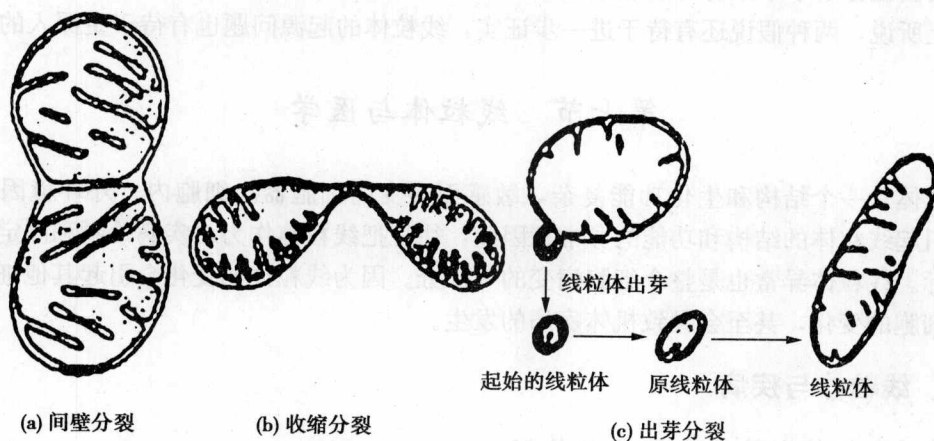


图 8-12 线粒体的增殖方式

二、线粒体起源

目前，关于线粒体的起源有两种假说：内共生假说和非共生假说。

(一) 内共生假说

许多科学家认为线粒体起源于古老厌氧真核细胞共生的需氧细菌。在长期进化过程中，两者共生联系极其紧密，共生细菌的大部分遗传信息转移到细胞核上，而留在线粒体内的遗传信息就大大减少。支持内共生假说的依据：线粒体的 DNA 呈环状，裸露而不与组蛋白结合，与细菌相似；线粒体的核糖体为 70S 与细菌相同，而真核细胞为 80S；线粒体的蛋白质合成的过程更接近于细菌，转录与翻译同时同地进行，蛋白质合成起始的 tRNA 都是 N-乙酰甲硫氨酰 tRNA，其蛋白质合成也都受氯霉素抑制，与真核细胞不同；线粒体的内膜和外膜在结构与功能上有很大差别，外膜与真核细胞的滑面内质网相似，内膜与细菌的质膜相似；线粒体的增殖与细菌一样，均为直接分裂。

但是，内共生假说对某些方面也难以解释。例如，真核细胞线粒体细胞色素 C 与细菌细胞色素 C 并没有显著的相似性，它们之间的氨基酸排列顺序的差异很大。再如，根据内共生假说，在进化过程中，大量内共生基因转移到宿主的核内，但这个需氧细菌在代谢上要

比宿主占优势,那么为什么细菌还要把遗传信息转移到宿主细胞中去呢?所以,有人提出非共生假说。

(二) 非共生假说

非共生假说又称分化假说。这一假说认为线粒体的发生是质膜内陷的结果。主要根据是在原核细胞中,细胞色素集中于间体,原核细胞的染色体也有 DNA 存在。因此,认为真核细胞的前身是一种进化程度较高的需氧细菌,它比典型的原核细胞大,随着进化发展,电子传递氧化磷酸化膜的表面积增加,从而导致这些质膜不断内陷、折叠、愈合成小囊泡。囊泡脱离质膜,逐渐进化成一个完整的呼吸单位。在内陷、愈合的过程中,又包进一个质粒,最后演变成线粒体。支持这种假说的依据:认为细菌的中膜体与线粒体相似,均为凹陷的细胞膜,中膜体含有细胞的呼吸酶系,它具有类似于线粒体的功能;质粒与线粒体 DNA 在结构、复制方式以及对药物的敏感性等方面,均有相似之处,但具体证据不多,还无法说明线粒体与细菌在分子水平上有许多相似之处。

综上所述,两种假说还有待于进一步证实,线粒体的起源问题也有待于更深入的探讨。

第七节 线粒体与医学

线粒体是一个结构和生化功能复杂,敏感而多变的细胞器。细胞内、外环境因素的改变,可引起线粒体的结构和功能的异常。因此,往往把线粒体作为对疾病诊断和测定环境因素的指标。线粒体异常也是整个细胞病变的一部分。因为线粒体的变化会引起其他细胞器乃至整个细胞的变化,甚至会导致机体疾病的发生。

一、线粒体与疾病

(一) 线粒体肌病与心肌线粒体病

线粒体肌病是肌细胞线粒体异常,为先天性遗传病。由于骨骼肌线粒体缺少某些酶,引起线粒体基质的转运、氧化磷酸化或呼吸链障碍,导致肌细胞呈粗糙的红色肌纤维,甚至累及脑和全身脏器,因此又称线粒体脑病或线粒体细胞病。

克山病是一种心肌线粒体病,因营养缺乏而引起。在亚急性病人中,可见心肌线粒体结构受损、琥珀酸脱氢酶和细胞色素氧化酶活性明显下降;ATP 酶活性及对寡霉素敏感性也明显下降;对膜起稳定作用的硒含量低于正常人,总之,是线粒体的功能明显下降而导致该疾病。

(二) 线粒体与肿瘤

肿瘤组织代谢的一个显著特点是细胞呼吸能力减弱,酵解增加,细胞内线粒体数目较相应组织少,线粒体嵴也减少,电子传递链酶系和 ATP 含量均减少。

Rous 肉瘤病毒,在细胞内复制被氯霉素等所抑制,这提示线粒体的核酸和蛋白质合成系统对病毒复制可能起重要作用。实验还发现,一些致癌物质与 mtDNA 的结合率高于核 DNA,认为致癌物质使 mtDNA 发生突变是细胞癌变的原因之一。

(三) 线粒体对缺血性损伤的反应

当机体组织和器官缺血时,细胞内的氧压随之下降,线粒体的功能亦由减弱到停止。其过程变化如此迅速是因为缺血后细胞内 ATP 的水平迅速下降(1分钟即可到达零)。这时线

粒体的功能发生一系列变化。开始是线粒体功能失去控制，若缺血在 0.5~1 小时，供血情况还得不到改善，那么线粒体内膜的结构和功能发生明显变化，膜通透性改变，ATP 酶活性下降，形态上出现凝集现象、内膜浓缩，外腔扩大，体积增加，最后线粒体基质成分变性，出现形状不规则的絮状致密物，以致线粒体解体。

二、线粒体与衰老

近期，线粒体与衰老研究十分活跃，研究表明，随年龄增加，细胞中线粒体数量逐渐减少，而线粒体的体积却随年龄而增大。在各种老年动物的不同组织细胞中观察到线粒体丧失，如肝细胞和心细胞。线粒体是细胞内自由基的重要源泉，自由基是细胞衰老的指标之一。在真核细胞的线粒体中存在衰老 DNA，很可能衰老 DNA 会抑制线粒体 DNA 的复制，从而导致线粒体结构与功能的破坏，引起细胞衰老与死亡。

三、药物和毒物对线粒体的影响

某些药物的作用原理，至少有一部分与线粒体有关。如氯丙嗪、安密妥、甲状腺素等。某些抗生素（氯霉素、红霉素等）能通过抑制细菌的蛋白质合成达到治疗细菌感染的目的，而这些抗生素很少能通过哺乳类线粒体的内膜。

某些毒物的作用主要是影响线粒体的功能，如氰化物、一氧化碳、叠氮钠等能阻断线粒体的电子传递过程。如 CO 能强有力地与细胞色素 a_3 结合，而使电子传递受阻。

四、线粒体与疾病治疗

鉴于线粒体重要的生理功能，以及某些疾病关系到线粒体功能的改变，因此很早就有人设想，用线粒体上一些组分治疗疾病。由于内膜上各组分大多是结合紧密的大分子蛋白质，所以，至今还只限于细胞色素和辅酶的应用。

（一）细胞色素 C

治疗组织缺氧的急救用药和辅助用药，如一氧化碳中毒，新生儿窒息，高山缺氧，肺功能不全，心肌炎及心绞痛等。

（二）辅酶 Q

用于治疗肌肉萎缩症、牙周病和高血压等。也有人报道，对某些肿瘤有一定疗效。辅酶 Q 还作为急性黄疸型肝炎的辅助药物。

（三）辅酶 I (NAD⁺)

用于治疗进行性肌肉萎缩症和肝脏病等。

提 要

线粒体是细胞内高效地将能量转换成细胞进行各种生命活动的直接能源 ATP。线粒体形状是多样的、易变的，随不同生理状态而异，大小和数目也不恒定。

线粒体的超微结构和它的功能紧密联系。具封闭的双层单位膜。外膜上有排列整齐的筒状体的多套运输蛋白质。内膜向内折叠成嵴。嵴膜上有基粒。它是 ATP 酶复合体，是偶联磷酸化的关键装置。

线粒体的化学成分主要是蛋白质和脂类。还有少量核酸、无机盐和辅助因子（如 NAD^+ 、ADP、辅酶 A 等）。

线粒体中有三羧酸循环，氨基酸代谢，脂肪酸分解，电子传递，能量转换，DNA 复制、转录、翻译等过程的酶和辅酶，它们是定向地分布在外膜、外室、内膜和基质中。

线粒体的蛋白质大部分是在胞质中的游离核糖体上合成。它们以前体的形式通过导肽转运到线粒体内。导肽能识别外膜上的受体，牵引蛋白质通过内外膜接触点插入。转运是耗能的过程。蛋白质穿膜时必须呈解折叠状态。转运后的导肽被蛋白酶水解。

线粒体的主要功能是对糖、脂肪、氨基酸等能源物质进行氧化和能量转换。氧化的过程分四个阶段。电子传递和氧化磷酸化是线粒体的主要功能。ATP 是线粒体产生的唯一能源。

线粒体有自己的 DNA 和蛋白质合成体系，即有自己的遗传系统。但线粒体大部分蛋白质是核 DNA 编码的。线粒体的遗传系统受控于细胞核遗传系统。线粒体是半自主性细胞器。

线粒体是从原先存在的线粒体分裂而增殖的。

线粒体的起源有两种假说：内共生假说和非共生假说。

线粒体与医学关系密切。

复习思考题 8

（一）名词解释：

电子传递呼吸链 氧化磷酸化 基粒 导肽 细胞呼吸

（二）问答题：

1. 如何理解线粒体在细胞内起到的重要作用？
2. 线粒体蛋白质是如何转运到线粒体内的？
3. 线粒体嵴上的基粒结构和功能如何？
4. 线粒体氧化分几个阶段？以葡萄糖为例简述各阶段发生的场所以及地点。
5. 为什么说线粒体是一个半自主性的细胞器？
6. 简述线粒体的增殖方式。
7. 如何评价线粒体的两种起源假说？
8. 线粒体与医学有何关系？

（秦志峰）

第九章

叶绿体

叶绿体 (chloroplast): 藻类和植物体中含有叶绿素进行光合作用的器官。

几乎可以说一切生命活动所需的能量来源于太阳能 (光能)。绿色植物是主要的能量转换器, 它们体内均含有叶绿体这一完成能量转换的细胞器, 因此能够利用光能同化二氧化碳和水, 合成储藏能量的有机物, 同时产生氧。

绿色植物的光合作用是地球上有机体生存、繁殖和发展的根本源泉。

第一节 叶绿体的形态结构

一、光镜下叶绿体的形态结构

叶绿体是植物细胞所特有的能量转换细胞器, 其功能是进行光合作用, 即利用光能同化二氧化碳和水, 合成糖, 同时产生分子氧。

叶绿体是由植物中的前质体 (proplastid) 发育而成的。前质体的直径约为 $1\mu\text{m}$, 或更小一些, 由双层膜包裹着未分化的基质 (stroma)。植物中的前质体随着在发育过程中所处的位置以及接受光的程度, 分化成功能各异的质体 (plastid): 叶绿体、白色体、有色体、蛋白质体、油质体和淀粉质体等。

高等植物中的叶绿体多为球形、椭圆形或卵圆形, 为双凹面, 有些叶绿体呈棒状, 中央区细小而两端膨大, 充满叶绿素和淀粉粒。在同一物种的不同细胞内叶绿体的形态变化较大, 但在同一种组织的细胞内形态比较稳定。叶绿体的大小变化很大, 高等植物叶绿体通常宽为 $2\sim 5\mu\text{m}$, 长 $5\sim 10\mu\text{m}$, 藻类的叶绿体变化更大, 而且叶绿体并不是一种稳定的细胞器, 它能够伴随着不同的环境条件, 如光照条件的变化, 产生不同的适应性变化。事实上, 许多叶绿体基因属于光诱导基因。高等植物的叶肉细胞内一般含有 $50\sim 200$ 个叶绿体, 可占细胞质体积的 $40\%\sim 90\%$ 。据统计, 每平方毫米蓖麻叶中含有 $3\times 10^7\sim 5\times 10^7$ 个叶绿体, 叶绿体的总表面积比叶片面积大得多, 这无疑有利于植物对太阳光辐射能和空气中 CO_2 的吸收和利用。

二、叶绿体的超微结构

叶绿体是一种特殊的膜结构细胞器, 外膜、内膜和类囊体膜 3 种不同类型的膜将其内部分隔成三个不同的区室: 膜间隙、叶绿体基质和类囊体腔。故我们将叶绿体的结构分为: 叶绿体膜 (chloroplast membrane)、基质 (stroma) 和类囊体 (thylakoid) 3 部分 (图 9-1)。

叶绿体膜是控制胞内物质进出叶绿体的重要屏障, 由双层单位膜即外膜和内膜所组成。每层膜厚 $6\sim 8\text{nm}$, 内膜和外膜之间为 $10\sim 20\text{nm}$ 宽的电子密度低的空隙, 称为膜间隙

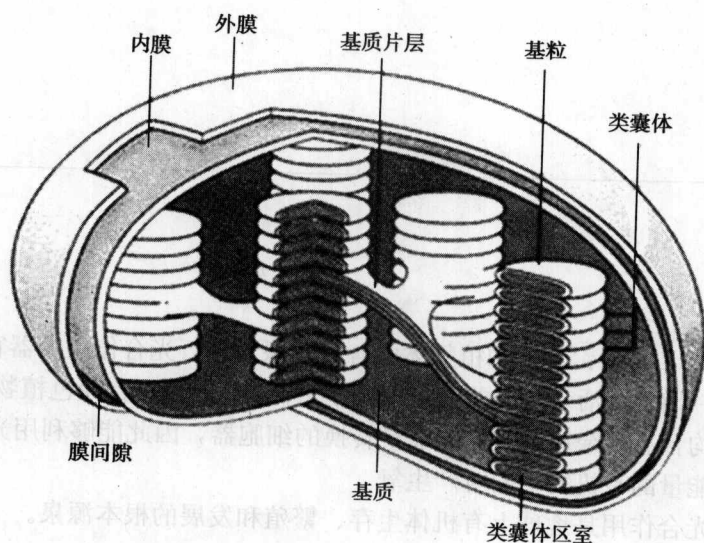


图 9-1 叶绿体的超微结构模式图

(intermembrane space)。外膜通透性大，许多化合物如核苷、无机磷、甘油、磷酸衍生物和羧酸类化合物等均可透过。内膜对物质透过的选择性强，是细胞质和叶绿体基质间的功能屏障，ADP、ATP、葡萄糖及果糖等透过内膜较慢，磷酸甘油酸、苹果酸和草酰乙酸等不能直接透过内膜，需由内膜上的特殊载体协助才能通过，因此叶绿体膜具有控制代谢物进出叶绿体的功能。

基质是指叶绿体内膜与类囊体之间的无定形物质，是暗反应的重要场所，也是叶绿体自身合成蛋白质的重要场所，其中悬浮着片层系统。

在叶绿体基质中，有许多由单位膜独立封闭形成的扁平膜囊系统，称为类囊体。类囊体沿叶绿体的长轴平行排列，在结构上极其不对称。类囊体膜中含有光合作用所需的叶绿素及其电子传递链的重要组分，是光合作用的重要场所，也叫做光合膜。

在某些部位，许多圆饼状类囊体叠置成垛构成基粒，组成基粒的类囊体叫做基粒类囊体 (granum thylakoid)，其片层称为基粒片层 (grana lamella)。基粒直径 $0.25 \sim 0.8 \mu\text{m}$ ，由 $5 \sim 30$ 个基粒类囊体组成，最多的可达上百个，每个叶绿体中有 $40 \sim 60$ 个基粒。组成基粒类囊体的数目依不同植物或同一植物不同部位的细胞而有很大变化。例如，烟草叶绿体的基粒有 $10 \sim 15$ 个类囊体，玉米则有 $15 \sim 50$ 个。同是冬小麦，基粒类囊体数目随着叶位上升而增多，至旗叶达到高峰。

贯穿在两个或两个以上基粒之间的没有发生垛叠的类囊体称为基质类囊体 (stroma thylakoid)，其片层称为基质片层 (stroma lamella)。类囊体中叠垛和非叠垛不是固定不变的，是可逆发生的。类囊体垛叠成基粒，是高等植物细胞所特有的膜结构，这种结构大大增加了膜片层的总面积，更有效地捕获光能，加速光反应。

类囊体的整个膜系统是连续的和完全相通的，这就使膜系统的膜囊与基质相隔开，有利于光合磷酸化过程中 H^+ 梯度的形成。用冰冻蚀刻技术处理类囊体发现其膜上分布着大小、数量不同的颗粒，这些颗粒是光合作用能量转换体系的重要组成部分。这些组分包括：捕光色素、两个光反应中心、各种电子载体、合成 ATP 的系统和从水中抽取电子的系统等。它们分别组装在光系统 I (photosystem I, PSI)、光系统 II (photosystem II, PSII)、细

胞色素 bf (Cytbf)、叶绿体 ATP 合成酶 (CF₀-CF₁ 复合物) 等主要膜蛋白复合物中 (图 9-2)。PS I 和 PS II 复合物都是由核心复合物 (core complex) 和捕光复合物 (light harvesting complex, LHC) 组成, 但它们在组分、结构甚至功能上是不同的。PS I 的核心复合物的反应中心是一个包含多种不同还原中心的多蛋白复合体; PS II 的核心复合物是由 20 多个不同的多肽组成的叶绿素-蛋白质复合体, 它的反应中心多肽很可能是两个 32ku 的蛋白 D₁ 和 D₂。

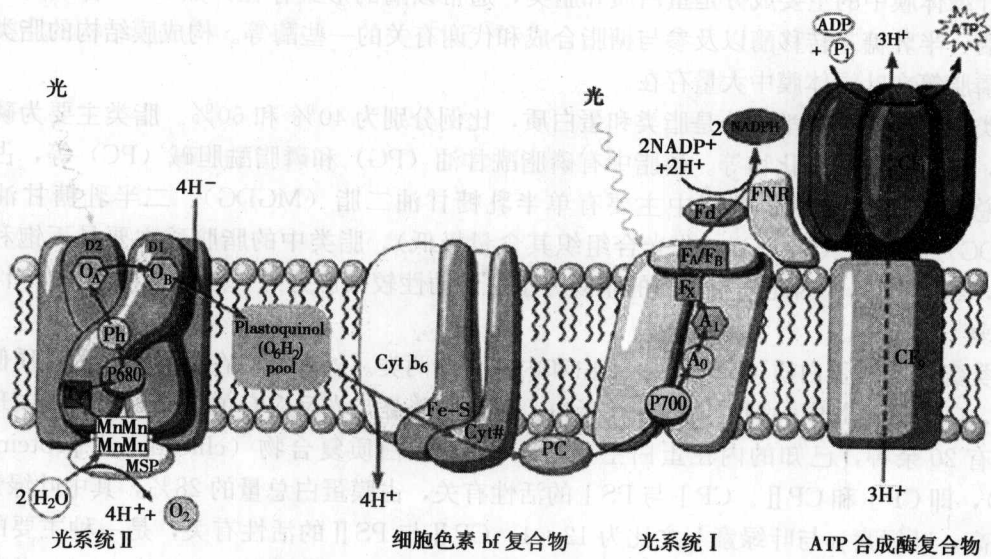


图 9-2 类囊体膜上各组分示意图

CF₀-CF₁ ATP 合成酶是由跨膜的 H⁺ 通道 CF₀ 和类囊体膜基质的催化蛋白 CF₁ 组成 (图 9-3)。在亚基组分、结构和功能上均与线粒体的 ATP 合成酶很相似。但两者也有不同的特性, 叶绿体的 CF₁ 的激活需有 SH 基化合物, 如二硫苏糖醇, 同时还需 Mg²⁺。此外寡霉素对 CF₁ 无抑制作用。

叶绿体中的蛋白复合物在类囊体膜中呈不对称分布。PS II 几乎全部分布在基粒与基质非接触区的膜中; PS I 主要分布在基粒与基质接触区及基质类囊体的膜中; 细胞色素 bf 在类囊体膜上分布较为均匀; ATP 合成酶位于基粒与基质接触区及基质类囊体的膜中。

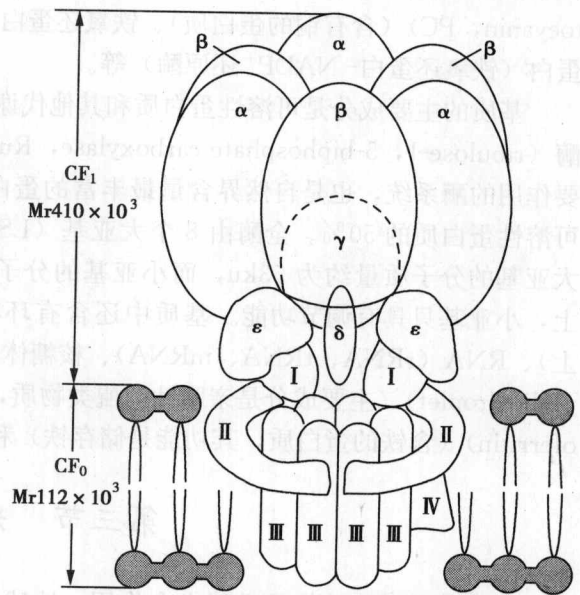


图 9-3 叶绿体的 ATP 合成酶结构示意图

第二节 叶绿体的化学组成

叶绿体的主要成分是蛋白质、脂类、DNA、RNA、糖类及一些无机离子，如 Fe 和 Mn 等，但在不同物种及叶绿体结构的不同区域中，其各组成成分的含量却有着巨大的差异。

叶绿体膜中的主要成分是蛋白质和脂类，通常以酶的形式存在，如 ATP 合成酶、腺苷酸激酶、半乳糖基转移酶以及参与糖脂合成和代谢有关的一些酶等。构成膜结构的脂类如糖脂、磷脂等在叶绿体膜中大量存在。

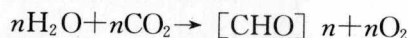
类囊体的主要化学成分是脂类和蛋白质，比例分别为 40% 和 60%。脂类主要为磷脂和糖脂，还有色素、醌化物等。磷脂中有磷脂酰甘油 (PG) 和磷脂酰胆碱 (PC) 等，占类囊体膜总量的 10% 左右；糖脂中主要有单半乳糖甘油二酯 (MGDG)、二半乳糖甘油二酯 (DGDG) 和硫脂 (SQDG) (非光合组织其含量极低)。脂类中的脂肪酸主要是不饱和的亚麻酸，约占 87%，因此类囊体膜的脂双分子层流动性较大。另外，还包括色素 (如叶绿素、类胡萝卜素) 等。

类囊体膜的蛋白质可分为外在蛋白和内在蛋白两类。外在蛋白在类囊体膜的基质侧分布较多，CF₁ 就是其中一种主要的外在蛋白，还有一些是与光反应有关的酶；内在蛋白现在已经发现有 20 余种，已知的内在蛋白主要是叶绿素-蛋白质复合物 (chlorophyll-protein complex)，即 CP I 和 CP II。CP I 与 PS I 的活性有关，占膜蛋白总量的 28%，其中叶绿素 a 含量较高，叶绿素 a 与叶绿素 b 之比为 12:1；CP II 与 PS II 的活性有关，是一种主要的叶绿素-蛋白质复合物，占膜蛋白总量的 50%，其中叶绿素 a 与叶绿素 b 之比为 1:1。此外，内在蛋白还有质体醌 (plastoquinone, PQ)、细胞色素 (cytochrome, Cyt)、质体蓝素 (plastocyanin, PC) (含有铜的蛋白质)、铁氧还蛋白 (ferredoxin, Fd) (属铁硫蛋白) 以及黄素蛋白 (铁氧还蛋白-NADP⁺还原酶) 等。

基质的主要成分是可溶性蛋白质和其他代谢活跃物质，其中核酮糖-1, 5-二磷酸羧化酶 (ribulose-1, 5-biphosphate carboxylase, RuBPase, 或 Rubisco) 是光合作用中一个起重要作用的酶系统，也是自然界含量最丰富的蛋白质，占类囊体可溶性蛋白质的 80%，叶片可溶性蛋白质的 50%。全酶由 8 个大亚基 (LSU) 和 8 个小亚基 (SSU) 组成，其中每个大亚基的分子质量约为 53ku，而小亚基的分子质量约为 14ku，酶的活性中心位于大亚基上，小亚基只具有调节功能。基质中还含有环状 DNA (通常是靠近或附着在叶绿体内膜上)、RNA (rRNA、tRNA、mRNA)、核糖体、脂滴 (lipid droplet) 或称嗜饿滴 (osmophilic droplet) (主要成分是亲脂性的醌类物质，可能是脂类的储存库)、植物铁蛋白 (phytoferritin) (含铁的蛋白质，其功能是储存铁) 和淀粉粒 (starch grain) 等。

第三节 光合作用

叶绿体的主要功能是进行光合作用。地球上每年由植物捕获的太阳能至少可转化产生 4.2×10^{17} J 的自由能。叶绿体通过光合作用，利用吸收的光能将 CO₂ 和 H₂O 转化成糖类，同时释放 O₂。这一过程可以用下列方程式来表示：



实际中的光合作用并不像方程式中表达的那样简单，它是由一系列复杂而又繁琐的过程

构成的。在 1905 年, F. Blackman 就提出光合作用可分为两个不同的阶段, 即光反应 (light reaction) 和暗反应 (dark reaction) 两个过程。现代资料表明, 光反应是在类囊体膜上由光引起的光化学反应, 通过叶绿素等光合色素分子吸收、传递光能, 并将光能转换为电能, 进而转换为活跃的的化学能, 产生氧、ATP 和 NADPH, 包括原初反应、电子传递和光合磷酸化等步骤。暗反应是在叶绿体基质中进行的不需光的酶促化学反应, 利用光反应产生的 ATP 和 NADPH, 使 CO_2 还原为糖类等有机物, 即将活跃的的化学能最后转换为稳定的化学能, 积存于有机物中。暗反应过程是二氧化碳同化为有机物的过程, 即碳同化过程。

光反应和暗反应不是绝对的, 光反应仅在原初反应开始的瞬间需要光, 其后的电子传递和光合磷酸化反应是不需要光的; 而碳同化的暗反应中的 CO_2 还原成糖的过程虽然不需要光, 但催化其反应的某些酶 (如甘油醛磷酸脱氢酶等) 还是需要光来激活。光反应和暗反应两个过程相互依赖, 相互促进 (图 9-4)。

一、原初反应

原初反应 (primary reaction) 是指叶绿素分子从受到光激发开始至第一个光化学反应发生为止的过程, 包括光能的吸收、传递与转换, 即光能被捕光色素分子吸收, 并传递至反应中心, 在反应中心发生最初的光化学反应, 使电荷分离从而将光能转换为电能的过程 (图 9-5)。

在绿色植物中, 吸收光能的主要分子是叶绿素, 包括叶绿素 a 和叶绿素 b; 另一类色素分子是类胡萝卜素, 包括胡萝卜素和叶黄素。

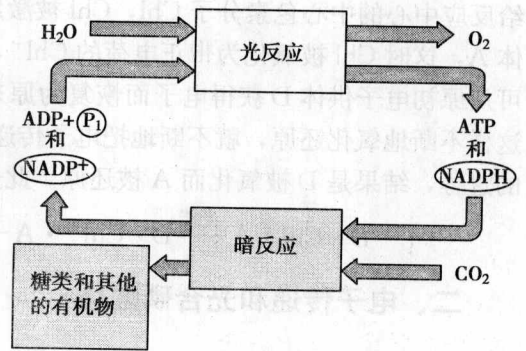


图 9-4 光合作用两过程及其相互关系

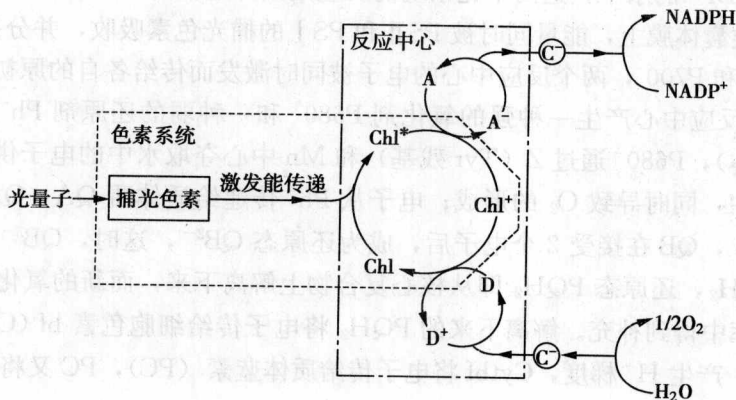


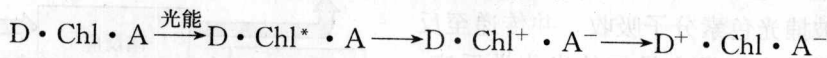
图 9-5 光合作用原初反应的能量吸收、传递与转换
Chl—反应中心色素分子; D—原初电子供体; A—原初电子受体

在一些细菌和藻类中还有藻胆素和叶绿素 c 或叶绿素 d 等。这些色素分子按其作用可分为两类: 一类为捕光色素 (light harvesting pigment), 这类色素只具有吸收聚集光能和传递激发能的作用, 而无光化学活性, 故又称为天线色素 (antenna pigment), 由全部的叶绿素 b、大部分的叶绿素 a、胡萝卜素及叶黄素等组成。另一类属反应中心色素 (reaction centre

pigment), 由一种特殊状态的叶绿素 a 分子组成, 既是光能的捕捉器, 又是光能的转换器, 具有光化学活性, 可将光能转换为电能, 这种叶绿素分子按其最大吸收峰处的光波波长分为两类: 波长为 700nm 者称为 P700, 是 PS I 的中心色素, 为 680nm 者称为 P680, 是 PS II 的中心色素。

反应中心由一个中心色素分子 Chl 和一个原初电子供体 D 及一个原初电子受体 A 组成。反应中心的基本成分是蛋白质和脂类, 数量很少的叶绿素 a 分子与这些脂蛋白结合, 有序地排列在片层结构上, 形成特殊状态的非均匀系统。反应中心色素的最大特点是, 能够直接吸收光量子或从其他色素分子传递来的激发能后, 本身被激发, 产生电荷分离和能量转换。捕光色素与反应中心构成了光合作用单位 (photosynthetic unit), 它是进行光合作用的最小结构单位。

在原初反应过程中, 捕光色素分子吸收的光能通过共振机制极其迅速地 (10^{-10} s) 传递给反应中心的中心色素分子 Chl, Chl 被激发而成激发态 Chl^* , 同时放出电子给原初电子受体 A, 这时 Chl 被氧化为带正电荷的 Chl^+ , 而 A 被还原为带负电荷的 A^- 。氧化的 Chl^+ 又可从原初电子供体 D 获得电子而恢复为原来的状态 Chl, 原初电子供体 D 则被氧化为 D^+ 。这样不断地氧化还原, 就不断地把电子传递给原初电子受体 A, 这就完成了光能转换为电能的过程, 结果是 D 被氧化而 A 被还原。此过程可归纳如下:



二、电子传递和光合磷酸化

(一) 电子传递

实验证明, 光合作用的电子传递是在两个不同的光系统中进行的, 即由 PS I 及 PS II 协同完成。PS II 把电子从低于 H_2O 的能量水平提高到一个中间点, 而 PS I 又把电子从中间点提高到高于 NADP^+ 的水平, 这两个光系统的反应是接力进行的。

光照射在类囊体膜上, 能量同时被 PS II 和 PS I 的捕光色素吸收, 并分别传递给各自的反应中心 P680 和 P700, 两个反应中心的电子被同时激发而传给各自的原初电子受体。

在 PS II 的反应中心产生一种强的氧化剂 P680^+ 和一种弱的还原剂 Ph^- (脱镁叶绿素, 为原初电子受体), P680^+ 通过 Z (Tyr 残基) 和 Mn 中心夺取水中的电子供给 Ph^- , H^+ 释放到类囊体腔中, 同时导致 O_2 的形成; 电子从 Ph^- 传递给质体醌 QA, QA 将电子传给另一个质体醌 QB, QB 在接受 2 个电子后, 成为还原态 QB^{2-} , 这时, QB^{2-} 从基质中吸收 2 个 H^+ 形成 PQH_2 , 还原态 PQH_2 即从核心复合物上解离下来, 而新的氧化态 PQ 则从类囊体膜中的 PQ 库中得到补充。解离下来的 PQH_2 将电子传给细胞色素 bf (Cytbf), 而 H^+ 释放到类囊体腔, 产生 H^+ 梯度, Cytbf 将电子传给质体蓝素 (PC), PC 又将电子传给带正荷的 P700^+ 。

在 PS I 的反应中心产生一种强的还原剂 A_0^- (A_0^- 是一种特殊状态的叶绿素 a, 为原初电子受体) 和一种弱的氧化剂 P700^+ , P700^+ 从还原的质体蓝素 (PC) 捕获电子变成 P700, 可再一次激发出电子; 高能电子从 A_0^- 经 A_1 和铁硫蛋白 (FeS) 传给铁氧还蛋白 (Fd), 在 NADP 还原酶的参与下, NADP^+ 从 Fd 接受电子的同时, 从基质中吸收一个 H^+ 而还原为 NADPH。这两个光系统互相配合, 利用所吸收的光能把一对电子从水传递给 NADP^+ 。

现在公认, 电子的传递路线呈 Z 形, 故称为 Z 链或光合链 (photosynthetic chain)

(图 9-6), 它通过一些电子传递体将两个原初光化学反应联系起来。这些电子传递体可按氧化还原电位顺序进行排列, 负值越大代表还原势越强, 正值越大代表氧化势越强, 电子定向转移。光合链中的电子传递体是质体醌 (PQ)、细胞色素 bf (Cytbf) 和质体蓝素 (PC) 等。其中 PQ 的数量最多 (菠菜叶绿体内 PQ 含量达全部叶绿素的 1/7), 同时它既可传递电子, 又可传递质子, 在光合电子传递链中起着重要的作用。

光合链中的电子传递体在类囊体膜上的空间分布是不对称的, 有的接近膜表面, 有的深埋膜中。PS II 的放氧一端位于类囊体膜的内侧, 因此水经光解而放出的 O_2 和 H^+ 进入类囊体腔。PS I 的 $NADP^+$ 还原一端位于类囊体膜的外侧, 因此 $NADP^+$ 被还原生成的 $NADPH$ 进入叶绿体基质。PQ 是亲脂分子, 位于膜的脂双分子层中, 可在流动的膜中迅速地扩散, 它在膜的外侧接受电子和 H^+ 被还原, 而在膜的内侧放出电子和 H^+ 被氧化。因此, 伴随着电子传递, 把类囊体膜外的 H^+ 不断地转运到类囊体腔中, 使膜内外两侧形成 H^+ 浓度差。PC 位于膜的 inner 表面, Fd 位于膜的外表面, 它们在膜中易流动, 可沿膜的内外表面迅速扩散。虽然 PS II 与 PS I 在类囊体膜中是分隔分布的, 但电子还是能顺利地由 PS II 传递到 PS I。

(二) 光合磷酸化

由光照所引起的电子传递与磷酸化作用相偶联而生成 ATP 的过程, 称为光合磷酸化 (photophosphorylation)。光合磷酸化作用是与电子传递相偶联的, 没有光合链的电子传递, 就没有光合磷酸化, 电子传递在前, 磷酸化作用在后, 磷酸化的存在, 又可促进电子传递。已知呼吸作用消耗有机物, 通过氧化磷酸化作用形成 ATP。光合作用通过光合磷酸化将光能变成 ATP, 光合作用把 CO_2 同化为能量高的有机物质, 也就是靠 ATP 和 $NADPH$ 的“换能”作用来完成的。

1. 光合磷酸化的类型

按照电子传递的方式可将光合磷酸化分为非循环式和循环式两种类型。

非循环式光合磷酸化: PS II 接受红光后, 激发态 $P680^*$ 从水光解得到电子, 传递给 $NADP^+$, 电子传递经过两个光系统, 在传递过程中产生的 H^+ 梯度, 驱动 ATP 的形成。在这个过程中, 电子传递是一个开放的通道, 故称为非循环式光合磷酸化 (noncyclic photophosphorylation) (图 9-6)。它包括 PS I 和 PS II, 其产物除 ATP 外, 还有 $NADPH$ (绿色植物) 或 $NADH$ (光合细菌)。目前比较公认的非循环式光合磷酸化有两个部位: H_2O 与 PQ 之间, PQ 与 Cytbf 之间。两个部位的 ATP/O 均为 0.6, 加起来 ATP/O 为 1.2。每放出 1 分子 O_2 只能形成 2.4 个 ATP 分子, 但每同化一个分子 CO_2 需要 3 个分子 ATP, 因此非循环式光合磷酸化达不到形成 3 分子 ATP 的要求, 这就需要循环式光合磷酸化形成的 ATP 来补充, 推动 CO_2 的同化过程。

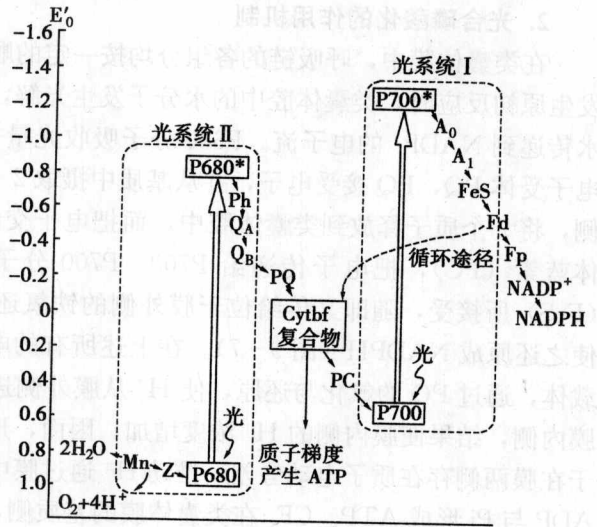


图 9-6 光合作用中的两个光系统和电子传递途径

循环式光合磷酸化：PS I 接受远红光后，产生的电子经过 A_0 、 A_1 、FeS 和 Fd，又传给 Cytbf 和 PC 而流回到 PS I（图 9-6）。电子循环流动，产生 H^+ 梯度，从而驱动 ATP 的形成。这种电子的传递是一个闭合的回路，故称为循环式光合磷酸化（cyclic photophosphorylation）。在整个过程中，只有 ATP 的产生，不伴随 NADPH 的生成，PS II 也不参加，所以不产生氧。当植物缺乏 $NADP^+$ 时，就会发生循环式光合磷酸化。

2. 光合磷酸化的作用机制

在类囊体膜中，呼吸链的各组分均按一定的顺序排列，而呈不对称分布。当两个光系统发生原初反应时，类囊体腔中的水分子发生光解，释放出氧分子、质子和电子，引起电子从水传递到 $NADP^+$ 的电子流。P680 分子吸收光量子后，激发出的电子，经 Q 传至膜外侧的电子受体 PQ，PQ 接受电子，并从基质中摄取 2 个质子，还原为 PQH_2 。 PQH_2 移到膜的内侧，将 2 个质子释放到类囊体腔中，而把电子交给细胞色素 bf，随后又经位于膜内侧的质体蓝素（PC），把电子传递给 P700。P700 分子吸收光量子后，放出电子，被铁硫蛋白（FeS）所接受，随即又传给位于膜外侧的铁氧还蛋白（Fd），最后，将电子交给 $NADP^+$ ，使之还原成 NADPH（图 9-7）。在上述所有的电子传递体中，PQ 既是电子载体又是质子载体，通过 PQ 的氧化与还原，使 H^+ 从膜外侧进入膜内侧，水的光解所产生的 H^+ 也留在膜内侧，结果使膜内侧的 H^+ 浓度增加，因而，形成了类囊体膜内外两侧的 H^+ 浓度差。由于在膜两侧存在质子电动势差，推动 H^+ 通过膜中的 CF_0 到膜外的 CF_1 发生磷酸化作用，使 ADP 与 P_i 形成 ATP。 CF_1 在类囊体膜的基质侧，所以新合成的 ATP 立即被释放到基质中。同样光系统 I 生成的 NADPH 也在基质中，这样光合作用的光反应产物 ATP 和 NADPH 都处于基质中，便于被暗反应所利用。

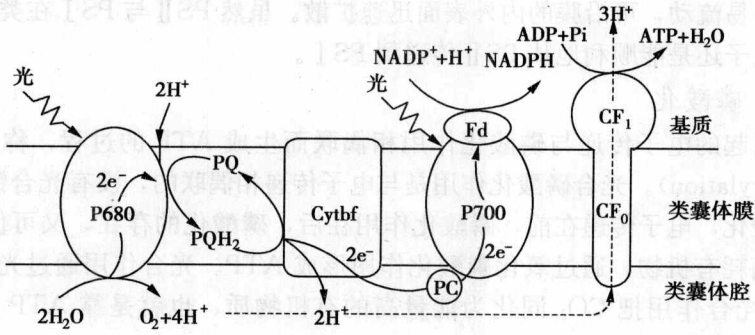


图 9-7 叶绿体类囊体膜中进行光合磷酸化的图解

由上述可知，叶绿体中 ATP 合成的机制与线粒体的十分相似。在光合磷酸化和氧化磷酸化中，ATP 的形成都是由 H^+ 移动所推动的；叶绿体的 CF_1 因子与线粒体的 F_1 因子都具有催化 ADP 和 P_i 形成 ATP 的作用；在光合磷酸化和氧化磷酸化中都需要完整的膜等。但两者又有所不同，叶绿体中通过 1 对电子的两次穿膜传递，在基质中摄取 3 个 H^+ ，在类囊体腔中产生 4 个 H^+ ，每 3 个 H^+ 穿过 CF_1 - CF_0 ATP 合成酶，生成 1 个 ATP 分子。而在线粒体中，1 对电子 3 次穿膜传递，将基质中的 3 对 H^+ 抽提到膜间隙中，每两个 H^+ 穿过 F_1 - F_0 ATP 合成酶，生成 1 个 ATP 分子。

三、碳同化

二氧化碳同化 (CO_2 assimilation) 是光合作用过程中的一个重要方面。从能量转换角

度讲，碳同化是将光反应所生成的 ATP 和 NADPH 中的活跃的化学能，转换为储存在糖类中稳定的化学能的过程。现已阐明，高等植物的碳同化主要有三条途径：卡尔文 (Calvin) 循环、C₄ 途径和景天科酸代谢途径。其中卡尔文循环是碳同化最重要最基本的途径，只有这条途径才具有合成淀粉等产物的能力。其他两条途径只能起固定和转运 CO₂ 的作用，不能单独形成淀粉等产物。

(一) 卡尔文循环

固定 CO₂ 的最初产物是 3-磷酸甘油酸 (三碳化合物)，故称为 C₃ 途径，也叫卡尔文循环 (Calvin cycle) (图 9-8)。由于卡尔文在碳同化途径上做出了重大贡献，他因此获得了 1961 年诺贝尔化学奖。C₃ 途径是所有植物进行光合碳同化所共有的基本途径。它包括一系列复杂的反应，但可简化为 3 个阶段，即羧化、还原和 RuBP 再生阶段。

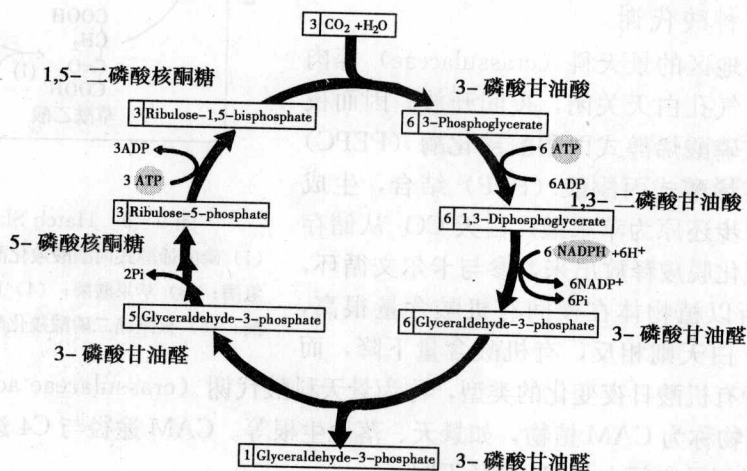


图 9-8 Calvin 循环

羧化阶段：CO₂ 在被 NADPH 还原之前，必须经过羧化阶段，固定成羧酸，然后才被还原。核酮糖-1,5-二磷酸 (RuBP) 是 CO₂ 的接受体，在 RuBP 羧化酶的催化下，CO₂ 与 RuBP 反应形成 2 分子 3-磷酸甘油酸 (PGA)。

还原阶段：PGA 在 3-磷酸甘油酸激酶催化下被 ATP 磷酸化，形成 1,3-二磷酸甘油酸，然后在甘油醛磷酸脱氢酶催化下被 NADPH 还原形成 3-磷酸甘油醛。这一阶段是一个吸能反应，光反应中形成的 ATP 和 NADPH 主要是在这一阶段被利用。所以，还原阶段是光反应与暗反应的连接点。一旦 CO₂ 被还原成 3-磷酸甘油醛，光合作用的储能过程便完成。

RuBP 再生阶段：利用已形成的 3-磷酸甘油醛经一系列的相互转变，最终再生成 5-磷酸核酮糖。然后在磷酸核酮糖激酶的催化下发生磷酸化作用形成 RuBP，再消耗一分子 ATP。

综上所述，C₃ 途径是靠光反应合成的 ATP 及 NADPH 作为能源，推动 CO₂ 的固定和还原。每循环一次只能固定一个 CO₂ 分子，循环 6 次才能把 6 个 CO₂ 分子同化成一个己糖分子。

(二) C₄ 途径

20 世纪 60 年代，发现某些热带或亚热带起源的植物中，除了具有卡尔文循环外，还存

在着另一个独特固定 CO₂ 的途径，它们固定 CO₂ 的最初产物是草酰乙酸（四碳化合物），所以称为四碳植物（C₄ 植物），如甘蔗、玉米、高粱等。其主要特点是：在叶脉周围有一圈含叶绿体的维管束鞘细胞，其外面又环列着叶肉细胞。C₄ 植物对 CO₂ 的净固定是由这两类细胞密切配合而完成的，其利用 CO₂ 的效率特别高，即使 CO₂ 浓度很低时，也可固定 CO₂（图 9-9）。因此，这类植物积累干物质的速度很快，为高产型植物。C₄ 植物固定 CO₂ 的途径称为 C₄ 途径（C₄ pathway）或 Hatch-Slack 循环。

（三）景天科酸代谢

生长在干旱地区的景天科（crassulaceae）等肉质植物的叶子，气孔白天关闭，夜间开放。因而夜间吸进 CO₂，在磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶（PEPC）催化下，与磷酸烯醇式丙酮酸（PEP）结合，生成草酰乙酸，进一步还原为苹果酸。白天 CO₂ 从储存的苹果酸中经氧化脱羧释放出来，参与卡尔文循环，形成淀粉等。所以植物体在夜间有机酸含量很高，而糖含量下降；白天则相反，有机酸含量下降，而糖分增多。这种有机酸日夜变化的类型，称为景天科酸代谢（crassulaceae acid metabolism, CAM）。这些植物称为 CAM 植物，如景天、落地生根等。CAM 途径与 C₄ 途径相似，只是 CO₂ 固定，在时间及空间上与 C₄ 途径不同。

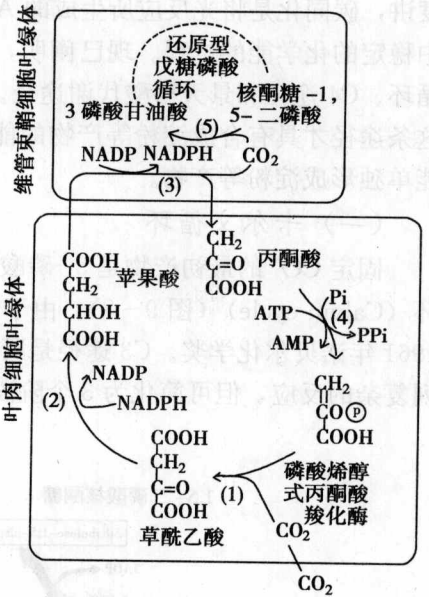


图 9-9 Hatch-Slack 循环

(1) 磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶；(2) 苹果酸脱氢酶；(3) 苹果酸酶；(4) 丙酮酸正磷酸二激酶；(5) 核酮糖二磷酸羧化酶

第四节 叶绿体的半自主性

1951 年，Chiba 以卷柏、紫万年等为材料，在它们的叶绿体中发现福尔根染色阳性的颗粒，推测其中可能有 DNA。但不同作者观察的结果有异，因此没有定论。1962 年，Hans Ris 和 Walter Plaut 应用电镜分别观察衣藻等植物叶绿体的超薄切片，发现在基质中电子密度比较低的部分有 2.5nm 左右的细纤维存在，当用 DNA 酶处理时，这种纤维就消失了，因此证明叶绿体中确实有 DNA 存在。进一步研究发现，叶绿体中还有 RNA（mRNA、tRNA、rRNA）、核糖体、氨基酸活化酶等，这说明叶绿体中含有自我繁殖所必需的基本组分，具有独立进行转录和翻译的功能，具有相当程度的自我繁殖能力，特别是低等植物，在细胞生活史的各个阶段叶绿体都能自行分裂，分配到子细胞之中，所有这些特征说明了叶绿体具有一定程度的自主性。

在叶绿体中仅有 90 多种特有的蛋白质是在叶绿体内合成的，而参与组成叶绿体的蛋白质有上千种之多。显而易见，叶绿体的绝大多数蛋白质是由核基因编码，在细胞质核糖体上合成，然后转移至叶绿体内，细胞核与叶绿体之间存在着密切的协同作用关系。其中，细胞核的功能更重要，一方面它提供了绝大部分遗传信息；另一方面它具有关键的控制功能。也就是说，叶绿体自身含有遗传表达系统但编码的遗传信息十分有限，其 RNA 转录、蛋白质翻译、自身构建和功能发挥等必须依赖核基因组编码的遗传信息，其生长和增殖受核基因组

及自身的基因组两套遗传系统同时控制，所以称为半自主性细胞器 (semiautonomous organelle)。

一、叶绿体的基因组

叶绿体基因组呈环状。不同植物的叶绿体基因组的大小变化很大，高等植物的叶绿体基因组通常为 20~160kb，绿藻的较小，长为 85kb。大型绿藻地中海伞藻的叶绿体基因组，比其他藻类和高等植物的都要复杂，长度为 2000 kb 左右。在高等植物中，叶绿体基因组是多拷贝的，通常可达 20~40 个。叶绿体基因组的主要特点是大多数植物含有反向重复序列 (inverted repeat, IR)，长度 6~76 kb 不等。IR 序列被一个大的单拷贝区 (large single copy region, LSC) 和小的单拷贝区 (SSC) 隔开。也有些植物叶绿体基因组不含 IR，某些植物含随机重复 (random repeat) 序列。烟草叶绿体基因组的结构研究得较为清楚，全长 155844bp，它的基因排列顺序被认为是陆生植物的代表。通过基因的序列分析，不同植物的叶绿体基因组的组成是不完全相同的。

叶绿体 DNA (ctDNA) 可自我复制，其复制也是以半保留方式进行的。它们的复制仍受核的控制，复制所需的 DNA 聚合酶是由核 DNA 编码，在细胞质核糖体上合成的。

二、叶绿体的蛋白质合成、运送与装配

参加叶绿体组成的蛋白质来源有 3 种情况：①由 ctDNA 编码，在叶绿体核糖体上合成；②由核 DNA 编码，在细胞质核糖体上合成；③由核 DNA 编码，在叶绿体核糖体上合成。由 ctDNA 编码的 RNA 和多肽有：叶绿体核糖体中的 4 种 rRNA (23S、16S、4.5S 及 5S)，30 种 (烟草) 或 31 种 (地钱) tRNA，约 90 种多肽。Keegstra (1989) 认为类囊体中至少有 50 种多肽，可能有一半是叶绿体自己合成的。目前在各种植物的叶绿体中已确定了 20 个电子传递和光合磷酸化的基因：编码 RuBP 羧化酶的大亚基，PS I 的 2 个亚基，PS II 的 8 个亚基，ATP 合成酶的 6 个亚基，细胞色素 bf 复合物的 3 个亚基，这些都是叶绿体核糖体所合成的重要蛋白质。仅就叶绿体核糖体而言，叶绿体 rRNA 是叶绿体基因的产物，而参加组成核糖体的蛋白质，则既有核基因的产物也有叶绿体基因的产物，70S 核糖体含有 58~62 种蛋白质，其中只有 1/3 是由叶绿体基因组编码的。目前公认，组成叶绿体的绝大多数蛋白质都来自细胞质，估计至少 70% 的叶绿体蛋白质是由核基因组编码的。

所有叶绿体 DNA 编码的蛋白质都是在叶绿体基质中合成后再运送到目的地。而核基因编码的蛋白质则是在细胞质中合成后，通过与线粒体蛋白类似的转运方式运入叶绿体。细胞质中所合成的叶绿体中多肽的前体几乎都带有一段含几十个氨基酸序列的导肽 (leading peptide)，这些前体由导肽引导进入叶绿体后，导肽被蛋白酶切去，同时相应的多肽到达预定部位，这些导肽因植物和蛋白质种类不同而表现出明显的差异。由于叶绿体由外膜、膜间隙、内膜、基质、类囊体膜和类囊体腔等 6 个区隔组成，其蛋白转运途径与线粒体相比更复杂一些。

(一) 叶绿体基质蛋白的转运

核酮糖-1, 5-二磷酸羧化酶 (Rubisco) 是叶绿体基质中进行 CO₂ 固定的重要酶类，该酶是一个双功能酶，它既可催化羧化反应，又可催化加氧反应，16 个亚基中的 8 个大亚基含有催化位点，8 个小亚基是全酶活性所必需的。大亚基由叶绿体 DNA 编码，并在叶绿体的核糖体上翻译，小亚基由核基因编码，在细胞质的游离核糖体上合成后被运送到叶绿体基质

中。Rubisco 小亚基前体蛋白的 N 端有一段导肽序列，长为 44 个氨基酸残基，作为定位运输的信号；在 Rubisco 小亚基蛋白运输中，与通道形成和打开有关的受体蛋白有 3 种：Toc86 主要是识别信号序列，Toc75 是通道蛋白，Toc34 是调节蛋白，与 GTP 结合后可改变 Toc75 的构型，使通道打开。Hsc60 和 Hsc70 是分子伴侣，分子伴侣以其特殊的结构指导着蛋白的转运和蛋白质分子的折叠。与线粒体基质蛋白转运不同的是，叶绿体基质蛋白转运仅仅是靠 ATP 能量，不需要电化学梯度的驱动（图 9-10）。

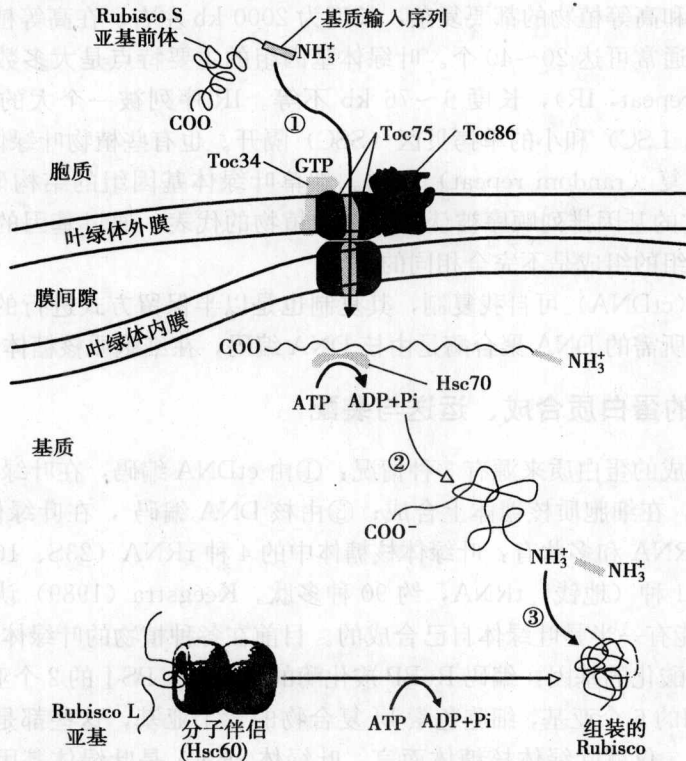


图 9-10 Rubisco 小亚基蛋白的转运及全酶装配

(二) 类囊体蛋白的定位

定位于类囊体膜或腔的蛋白质除了要有叶绿体基质引导序列外，还须有插入类囊体膜或跨过类囊体膜的引导序列。类囊体蛋白的转运需要两个导肽，进入叶绿体基质后切除一个，另一个引导肽进入类囊体。如质体蓝素 (plastocyanin, PC) 和金属结合蛋白 (metal binding protein) 等。

第五节 叶绿体的生物发生和起源

一、叶绿体的生物发生

在个体的发育过程中，叶绿体是由前质体分化过来的。前质体为双层膜包被的椭圆形或球形的小体，分布于根和芽的分生组织细胞中，内含均匀的基质、DNA、核糖体、淀粉或其他糖类。未发育的前质体中内膜内折而形成管状的类囊体原基，在有光和无光两种不同条

件下发育、分化成不同的结构和功能的质体。在光照条件下，由内膜内折成的小泡和小管连成链状，继而于内膜断开，在基质中逐渐生长、融合、重排，形成扁平的小囊即基质类囊体，有些地方的类囊体堆叠成垛就组成了基粒。与此同时还合成了叶绿素，这样完整的叶绿体就发育完全了。在没有光照刺激的情况下，前质体形成的小泡转变成小管，继而相互之间规则的连接构成晶格结构，形成了白色体和黄化质体。前质体形成的叶绿体和白色体也并不是固定不变的，绿色植株如果长期置于黑暗环境中培养液会发生类囊体退化，转变成白色体，当重新接受光照时它又能重新构建并转化成有正常功能的叶绿体。有些植物的前质体接受不到光照，如果发生了淀粉沉淀就变成了造粉体。有些质体中也积累非光合色素，如类胡萝卜素、番茄红素等，就变为有色体（图 9-11）。

叶绿体除由原质体分化发育形成外，幼龄阶段的叶绿体通过分裂发生增殖，并通过新的膜物质的增加而使其体积增加，分裂是靠中部缢缩而实现的。成熟叶绿体正常情况下一般不再分裂或很少分裂。此外，也偶见叶绿体的芽生现象。

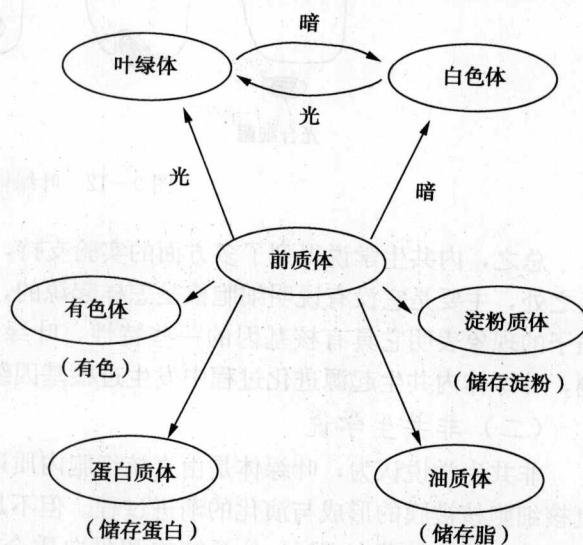


图 9-11 前质体分化途径

二、叶绿体的起源

目前，关于叶绿体的起源，同线粒体一样，有两种学说：内共生学说和非共生学说。

(一) 内共生学说

目前，关于叶绿体的起源普遍接受内共生学说 (endosymbiosis hypothesis)，该学说认为叶绿体的祖先是蓝藻或光合细菌，在生物进化过程中被原始真核细胞吞噬，共生在一起进化成为今天的叶绿体（图 9-12）。由于叶绿体在形态、结构、化学组成、遗传体系等方面与蓝藻相似，人们推测叶绿体可能起源于内共生的方式，是寄生在细胞内的蓝藻演化而来的。某些古代真核生物靠吞噬其他生物维生，它们吞下的某些蓝藻没有被消化，反而依靠吞噬者的生活废物制造营养物质。在长期共生过程中，古代蓝藻形成叶绿体，植物也由此产生。其根据是：①叶绿体可分裂繁殖；②叶绿体表现出明显的非孟德尔式母系遗传现象，即遗传性不完全受核基因控制；③叶绿体 DNA 与核 DNA 某些生化特性不同，叶绿体 DNA 更类似于蓝细菌 DNA，DNA 的组成中也都无 5-甲基胞嘧啶，它们的 DNA 都不与组蛋白结合在一起；④叶绿体的形态大小和沉降值与蓝藻相似；⑤有些管藻被软体动物海螺吞食后，其叶绿体可以在海螺细胞质内生存，并进行光合作用，说明叶绿体可与其他生物共生；⑥叶绿体都有自己特殊的蛋白质合成系统，不受核的合成系统的控制；⑦叶绿体的核糖体与蓝藻的一致，是由 30S 和 50S 两个亚基组成，真核生物的核糖体由 40S 和 60S 两个亚基组成；⑧叶绿体的内、外膜有显著差异，化学成分明显不同，外膜与宿主的膜比较一致，特别是和内质网膜很相似，内膜则同蓝藻的膜相似。

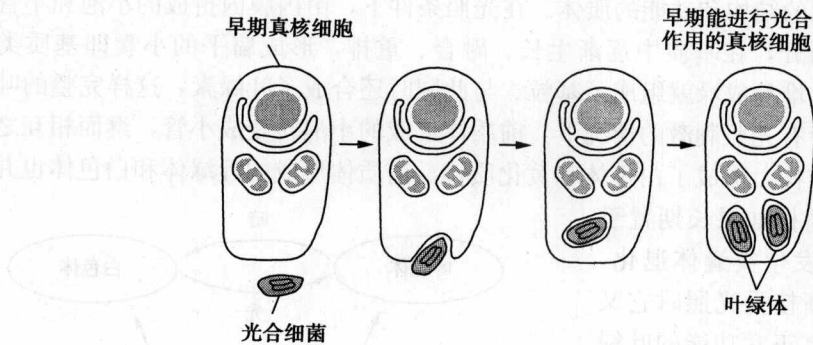


图 9-12 叶绿体的起源

总之，内共生学说得到了多方面的实验支持，因而被越来越多的人所接受。但它也有不足之处，主要是它没有说明细胞核是怎样起源的，也很难解释叶绿体基因具有内含子以及增强子的现象表明它具有核基因的一些特性，叶绿体中许多蛋白质也是由核基因编码的。推测，叶绿体内共生起源进化过程中发生过核基因组和叶绿体基因组之间的 DNA 重组事件。

(二) 非共生学说

非共生学说认为，叶绿体是由真核细胞内质逐步分化而形成的，非共生学说成功解释了真核细胞核被膜的形成与演化的渐进过程。但不足之处非常明显，实验证据不多。无法解释为何叶绿体与细菌在 DNA 分子结构和蛋白质合成性能上有那么多相似之处，对叶绿体的 DNA 酶、RNA 酶和核糖体的来源也很难解释。

提 要

叶绿体：藻类和植物体中含有叶绿素进行光合作用的器官。

叶绿体是植物细胞所特有的能量转换细胞器，其功能是进行光合作用，即利用光能同化二氧化碳和水，合成糖，同时产生分子氧。

叶绿体结构分为叶绿体膜、基质和类囊体 3 部分。叶绿体膜是由外膜和内膜所组成。外膜通透性大，内膜对物质透过的选择性强，是细胞质和叶绿体基质间的功能屏障。叶绿体膜中的主要成分是蛋白质和脂类。基质是指叶绿体内膜与类囊体之间的无定形物质，是暗反应的重要场所也是自身合成蛋白质的重要场所。基质的主要成分是可溶性蛋白质和其他代谢活跃物质，其中核酮糖-1, 5-二磷酸羧化酶是自然界含量最丰富的蛋白质。在叶绿体基质中，有许多由单位膜独立封闭形成的扁平膜囊系统，称为类囊体。类囊体膜的蛋白质可分为外在蛋白和内在蛋白两类。

光合作用可分为两个不同的阶段即光反应和暗反应两个过程。光反应是在类囊体膜上由光引起的光化学反应，包括原初反应、电子传递和光合磷酸化等步骤。原初反应是指叶绿素分子从受到光激发至第一个光化学反应发生为止的过程，是光能被捕光色素分子吸收，并传递至反应中心，在反应中心发生最初的光化学反应，使电荷分离从而将光能转换为电能的过程。电子传递是在两个不同的光系统中进行的，即由 PSI 及 PSII 协同完成，这两个光系统的反应是接力进行的，电子的传递路线呈 Z 形。光合磷酸化是电子传递与磷酸化作用相偶联而生成 ATP 的过程。光合磷酸化分为非循环式和循环式两种类型。

暗反应在叶绿体基质中进行,将活跃的化学能最后转换为稳定的化学能,积存于有机物中。暗反应过程是二氧化碳同化为有机物的过程,又称为碳同化过程。高等植物的碳同化有3条途径:卡尔文循环、C₄途径和景天科酸代谢途径。其中卡尔文循环是碳同化最重要最基本的途径;卡尔文循环可简化为3个阶段,即羧化、还原和RuBP再生阶段。

叶绿体自身含有遗传表达系统但编码的遗传信息十分有限,其RNA转录、蛋白质翻译、自身构建和功能发挥等必须依赖核基因组编码的遗传信息,其生长和增殖是受核基因组及自身的基因组两套遗传系统同时控制,是半自主性细胞器。

叶绿体基因组呈环状。细胞质中所合成的叶绿体中多肽的前体含有导肽,这些前体由导肽引导进入叶绿体后,导肽被蛋白酶切去,同时相应的多肽到达预定部位。在个体的发育过程中,叶绿体是由前质体分化过来的。叶绿体除由原质体分化发育形成外,幼龄阶段的叶绿体通过分裂发生增殖。

目前,关于叶绿体的起源普遍接受内共生学说,认为叶绿体的祖先是蓝藻或光合细菌,在生物进化过程中被原始真核细胞吞噬,共生在一起进化成为今天的叶绿体。

复习思考题 9

(一) 名词解释:

叶绿体 光合作用 光反应 暗反应 原初反应 光反应中心 电子传递 光合磷酸化 卡尔文循环

(二) 问答题:

1. 叶绿体包括哪些结构?
2. 光反应的具体步骤有哪些?
3. 细胞质中合成的叶绿体多肽是如何进入叶绿体的?
4. 为什么说叶绿体是半自主性细胞器?
5. 关于叶绿体的起源为什么普遍接受内共生学说?

(张树冰)

第十章

细胞骨架

细胞骨架 (cytoskeleton) 是指真核细胞的蛋白质纤维网架系统。1924 年, 在光学显微镜下发现了细胞内具有一些纤维状结构, 并命名为应力纤维 (stress fiber)。1928 年, Klotzoff 提出了细胞骨架的原始概念。1963 年采用戊二醛常温固定的方法, 才广泛地观察到各类骨架纤维的存在, 真正把它们当作一类非膜性细胞器——细胞骨架。

真核细胞质中的细胞骨架包括微管 (microtubule, MT)、微丝 (microfilament, MF) 和中间纤维 (intermediate filament, IF)。近年来又发现在真核细胞核中存在另一骨架体系, 即核骨架-核纤层体系。核骨架 (nuclear skeleton)、核纤层 (nuclear lamina) 与中间纤维在结构上相互连接, 形成贯穿于细胞核和细胞质的统一网络体系。细胞骨架的概念是在不断发展的。目前, 狭义的细胞骨架是指细胞质骨架, 包括微管、微丝、中间纤维; 广义的细胞骨架包括细胞核骨架、细胞质骨架、细胞外基质。

现在发现细胞骨架不仅在维持细胞的结构形态中起重要的作用, 而且与细胞运动、物质运输、信息传递、能量交换、细胞的分裂分化和基因的表达调控都有着密切的关系。

随着技术的改进和方法的更新, 对细胞骨架的研究从形态观察、定位、定量, 迅速推进到分子结构、功能调节及病理变化的研究, 使该领域成为细胞生物学及分子生物学中最活跃的研究领域之一。

第一节 微管

微管是真核细胞中普遍存在的非膜性结构。在不同类型的细胞中微管呈现相同的形态, 由微管蛋白 (tubulin) 组装成管状的细胞结构, 大多数见于细胞质基质内, 同时, 它们又是纤毛、鞭毛及中心粒的组成部分。其主要功能为参与细胞的各种运动、细胞内物质运输以及信号传递等。

一、微管的形态结构和化学组成

微管为中空圆柱状结构, 管的外径约 24nm, 内径约 15nm, 管壁厚 6~9nm。各种细胞内的微管长短不同, 随生理状态和功能不同而异。

微管的管壁由 13 条原纤维 (profilament) 纵向围绕而成。每条原纤维由 α -微管蛋白和 β -微管蛋白组成异二聚体 (heterodimers), 首尾相连而成长链。从微管的外观看, 由 α 和 β 亚单位分别形成两条螺旋绕微管长轴斜向盘旋成圆筒状 (图 10-1)。

分析表明, 构成微管的基本化学组成是微管蛋白, 分子质量为 120ku, 沉降系数为 6S, 在变性条件下 (如尿素、胍和 SDS 等变性剂), 可产生 α 和 β 微管蛋白, 每个分子质量约为 55ku, 分别含 450 个和 455 个氨基酸残基。它们的组成和顺序不同, 两者是不同的基因产

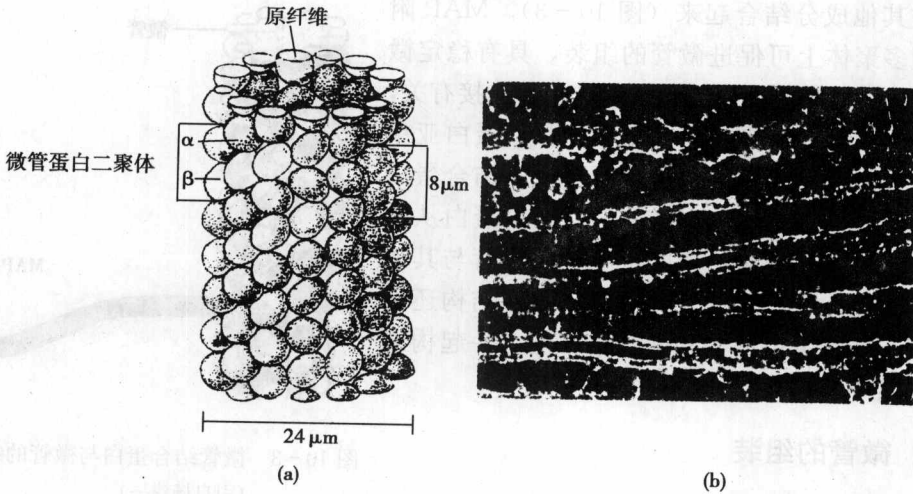


图 10-1 微管结构示意图

(a) 微管结构模拟图 (引自 Amos 等, 1976 年); (b) 微管电镜照片 (陈建国)

物。每个二聚体含有 2 个鸟嘌呤核苷酸结合位点, 其中一个与 GTP 分子结合紧密, 另一个与 GTP 分子结合较为疏松, 而且可以很快交换。每个二聚体还可以与秋水仙素、长春碱等结合。秋水仙素的结合可阻止二聚体聚合, 而长春碱的结合稳定了微管蛋白分子, 从而增强了秋水仙素的结合。因此, 利用秋水仙素来制备中期染色体, 而长春碱则广泛用作抗癌剂。

细胞中的微管以单管 (singlet)、二联管 (doublet) 和三联管 (triplet) 3 种类型而存在。单管由 13 条原纤维围绕而成, 质膜下凝胶层的微管是由单管组成的网状结构, 不稳定, 随细胞周期各时相变更而变化; 二联管由 A 管和 B 管组成, 主要是构成鞭毛和纤毛的杆状部分, A 管和 B 管共用 3 条原纤维; 三联管由 A、B、C 三管组成, 它是中心粒的主要组成部分。此外, 鞭毛、纤毛的基体也是由三联管构成。同样, A 管和 B 管之间及 B 管和 C 管之间也共用 3 条原纤维。二联管和三联管均为稳定的结构 (图 10-2)。

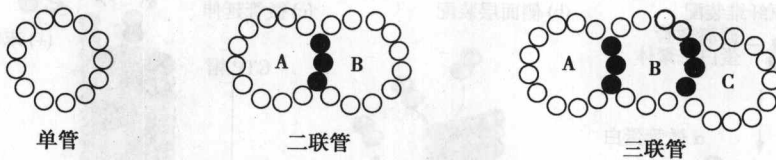


图 10-2 微管的 3 种类型横断面示意图

二、微管结合蛋白

微管除了含有微管蛋白外, 还有一些与微管相结合的蛋白质, 称微管结合蛋白 (microtubule-associated proteins, MAP)。这些 MAP 分为高分子及低分子两类。高分子类 (200~300ku) 主要包括 MAP-1 和 MAP-2, 低分子类主要为 tau 蛋白 (55~62ku)。MAP 多肽链由两个区段组成, 一个区段是微管结合区, 另一区段以横桥方式与其他微管纤维连接。电镜下可见 MAP-2 分子呈“L”形, 以短臂 (short arm) 结合到微管表面。短臂是微管促进装配区 (assembly promoting domain); 长臂 (long arm) 以垂直方向向微管方面伸出, 使微

管与胞质其他成分结合起来 (图 10-3)。MAP 附着于微管多聚体上可促进微管的组装, 具有稳定微管的作用。微管结合蛋白与骨架纤维间的连接有关, 不同的微管结构都是由相同的 α 和 β 微管蛋白亚单位组成, 其结构和功能的差异由所含微管结合蛋白的不同而不同。在电镜下可看到一些结合蛋白从微管壁伸向细胞质, 它们的功能可能是把微管与其他细胞质的组成成分结合起来。所以无论从结构还是功能来看, 微管蛋白都是和微管结合蛋白一起构成了完整的系统。

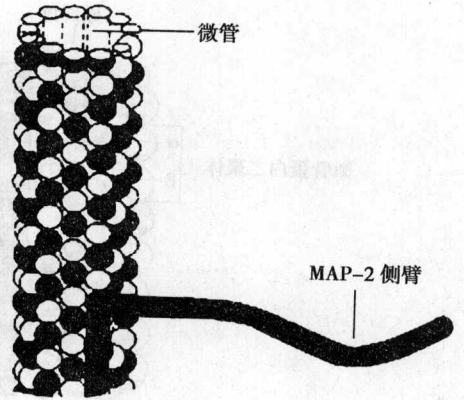


图 10-3 微管结合蛋白与微管的结合方式 (引自杨建一)

三、微管的组装

(一) 微管体外组装

1972 年, 威逊伯格 (Weisenberg) 首次在体外装配微管获得成功。研究表明微管主要装配方式是: 先是一些二聚体形成短的原丝 [图 10-4 (a)], 经过在两端和侧面增加二聚体而使之扩展成片状带 [图 10-4 (b)], 当片状带加宽到 13 条原丝时, 即合拢成一段微管, 新的二聚体再不断加到这段微管的端点, 使之延长 [图 10-4 (c)]。微管是具极性的, 即微管两端在结构上不是等同的, 决定了它们添加二聚体的能力不同, 因而微管两端具有不同的组装与解聚速度, 组装快的为 (+) 极, 另一端为 (-) 极。微管的延长主要依靠在 (+) 极装配 GTP 微管蛋白, 然后 GTP 水解为 GDP 或 GTP 与微管蛋白分离。目前的微管装配动态模型认为, 微管两端具有 GTP 帽 (取决于微管蛋白浓度), 微管将继续装配, 反之, 具有 GDP 帽则解聚。这说明微管能在一定条件下, 一端发生组装使微管延长; 而另一端解聚使微管缩短, 形成一种“踏车行为” (treadmiling) 的组装形式。最终使细胞质中的微管蛋白库与微管达到相对的动态平衡。

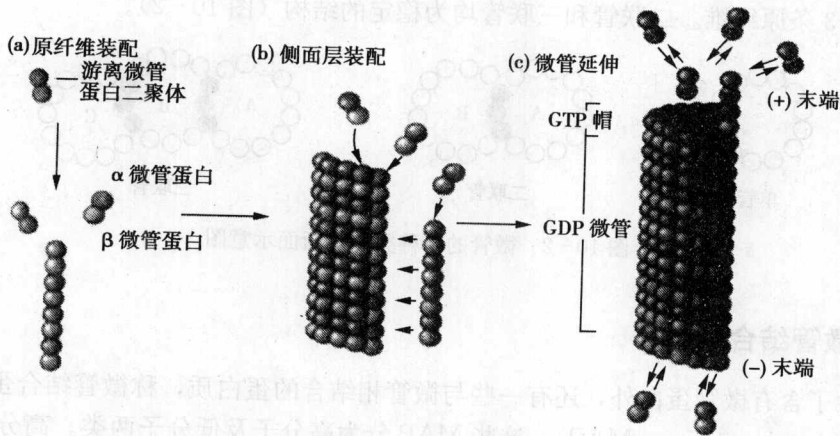


图 10-4 微管的组装与“踏车”现象 (引自翟中和等)

目前已发现许多因素影响微管的组装和解聚: 微管蛋白的浓度、GTP、EDTA (Ca^{2+} 螯合剂) 和 Mg^{2+} 在生理温度下能促使微管的聚合; 若温度低于 4°C 或加入过量 Ca^{2+} , 形成的微管又可解聚, 秋水仙素和长春碱均可阻止微管的组装, 破坏纺锤体形成及终止有丝分裂。

重水 (D_2O) 和紫杉酚 (taxol) 与微管结合稳定微管, 而促进微管的组装, 并能使微管聚集成束, 抑制微管去组装。

(二) 微管体内组装

细胞内的微管组装和解聚在时间上和空间上受到高度调节和控制。纺锤丝微管的组装与解聚发生在细胞分裂期, 受细胞周期调控而发生显著改变。而在间期细胞中, 细胞质中微管与微管蛋白亚单位库处于相对平衡状态。细胞内不同部位的微管各自具有特殊的结构, 如纺锤丝和鞭毛, 这是由于两种微管的组装受空间控制的结果。

一般认为在细胞内微管通过两种形式组装: 一是在短微管间形成连接, 形成长微管; 二是在微管的发源部位长出微管。微管的装配总是先由一定区域开始的, 微管的发源部位即称微管组织中心 (microtubule organizing center, MTOC)。已知的微管组织中心有中心粒、基体和动粒等。

四、微管的功能

真核细胞的细胞形态多种多样。细胞内充满膜性系统和运输系统, 细胞进行各种运动, 细胞的有丝分裂, 这些均与微管有关。

(一) 支持功能

细胞形状的维持与微管支撑作用有密切关系。如哺乳动物红细胞呈双凹形, 这种形状靠质膜下的微管形成环形束带来维持。

(二) 运输功能

微管在细胞内对运输大分子颗粒的微循环系统起重要作用, 如色素颗粒、病毒颗粒、各类小泡的定向运输均与微管相关。它们借助相邻微管之间的滑动, 或有些微管在近核一侧组装, 在近膜一侧去组装, 从而造成微管从细胞核向细胞膜方向移动。神经细胞轴突中布满微管, 这些微管按神经细胞的调控进行运动, 同时也进行物质的运输。

(三) 微管与细胞器运动

微管的组装、解聚、相互间的滑动, 可使染色体在细胞内运动, 纤毛和鞭毛摆动可驱使细胞运动。如细胞在有丝分裂时, 连接在染色体动粒上的微管, 中心体的星体微管及纺锤体微管, 均参与染色体的分裂和位移。

(四) 微管与细胞吞噬和融合

细胞吞噬异物和病菌时, 细胞内与吞噬活动有关的部位均出现微管, 并参与活动。

(五) 微管与信息传递

神经细胞内的微管与某些信息传递有关, 微管介导使细胞内化学物质得到传递。质膜上的糖脂和糖蛋白能起一种“接收天线”的作用, 而质膜下的微管则作为“导线”连接细胞器和代谢分子共同完成细胞的信息传递。

第二节 微丝

一、微丝的形态与分布

微丝是真核细胞中普遍存在的由肌动蛋白组成的实心纤维状结构。直径约 7nm, 长短

不定，随生理和病理变化而变化。受精的卵细胞微绒毛拉长，微绒毛的增长是其内部的肌动蛋白分子聚集的结果。恶性转化的肿瘤细胞内微丝较正常者短。

肌细胞内微丝稳定，而非肌细胞内微丝的稳定性的不同。小肠上皮微绒毛中的微丝较为稳定，多数细胞膜下的微丝形成不稳定的束状和网状的结构。

二、微丝的分子组成

肌动蛋白 (actin) 是构成微丝的基本成分，分子质量为 43ku，以球形单体 (globular actin, G-actin) 和聚合型的纤维多聚体 (fibrous actin, F-actin) 两种形式存在。肌动蛋白分为 α 、 β 和 γ 三种异构体，三者分子量相同。 α -肌动蛋白存在于心肌与骨骼肌的肌原纤维中，平滑肌含 α 肌动蛋白和 γ 肌动蛋白， β 肌动蛋白和 γ 肌动蛋白分布于非肌细胞中。微丝是由双股肌动蛋白丝右手螺旋排列成的纤维 (图 10-5)。

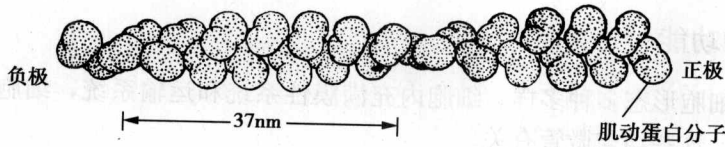


图 10-5 微丝模式图 (引自宋今丹等)

在微丝中每一个肌动蛋白单体都是以相同的方式与相邻的单体相结合，每一个单体都有极性，因此整个微丝也是具有极性的。细胞松弛素 B (cytochalasin B) 能特异地破坏微丝的组装，而鬼笔环肽 (phalloidin) 则能与微丝强烈亲和，起着稳定微丝和促进微丝聚合的作用。

三、微丝的组装

在离体溶液中，肌动蛋白微丝的组装首先由球形肌动蛋白单体 (G-actin) 形成核心，然后，快速加到微丝的两端，形成直径约 7nm 的双股螺旋纤维。这种聚合是可逆的，在含 ATP 和 Ca^{2+} ，以及低浓度的单价离子 (Na^+ 、 K^+ 等) 溶液中，微丝趋向解聚。

而在 Mg^{2+} 和高度浓度的 K^+ 或 Na^+ 溶液中，则趋向聚合。像微管一样，微丝也具有极性。在适当条件下，G-actin 加到微丝 (+) 端的速度较 (-) 端快 10 倍，因而在临界浓度时，G-actin 加到 (+) 端而延长，而在 (-) 端脱落，这样也出现微管那样的“踏车”现象 (图 10-6)。

细胞内肌动蛋白组装存在不同方式。肌肉细胞的细丝和微绒毛的核心微丝由肌动蛋白组装成永久性稳定的微丝；哺乳动物血小板中微丝和无脊椎动物精子顶体中微丝，则是在需要时才由肌动蛋白装配，形成质膜下的微丝。

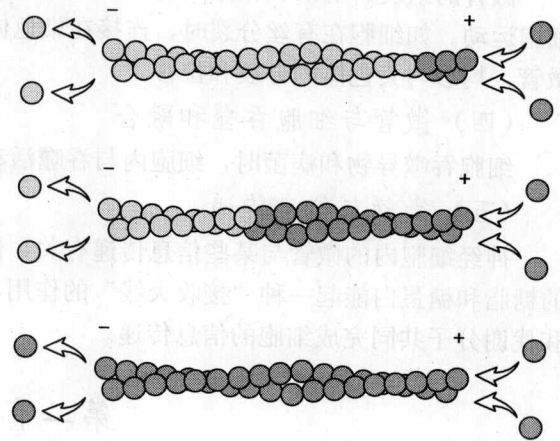


图 10-6 微丝的组装和踏车现象 (引自翟中和等)

四、肌动蛋白结合蛋白

同样的肌动蛋白微丝，可以组装成不同的结构。如张力纤维、肌原纤维的细肌丝、小肠绒毛的轴心，以及精子顶体的刺突等，这些结构的形式及其功能的行使，很大程度上与肌动蛋白结合蛋白有关。

(一) 肌球蛋白

肌球蛋白 (myosin) 存在于肌细胞与非肌细胞中。在肌细胞中，肌原纤维内的粗丝是由肌球蛋白装配而成的。在非肌细胞中，肌球蛋白按生理需要组装成肌球蛋白丝，再与肌动蛋白结合，共同参与细胞运动。

肌球蛋白分子为 460ku，每个分子由 6 条多肽链组成，其中有 2 条重链和 4 条轻链。每个肌球蛋白分子有头部和杆部两个结构域，两条重链互相拧成麻花状，构成杆部。头部区由部分重链和轻链组成，具有左右两个头，每个头各有一个 ATP 酶活性位点和肌动蛋白结合位点 (图 10-7)。在非肌细胞中的肌球蛋白丝是由 20~30 个肌球蛋白分子聚集而成，两个肌球蛋白分子按尾对尾方向相反地排列在一起，组成短纤维，而分子的头部裸露在短纤维的两侧。肌动蛋白结合在肌球蛋白分子头部的肌动蛋白结合位点上，当肌动蛋白与肌球蛋白结合时，酶位点上结合的 ATP 酶，将 ATP 分解为 ADP，并释放能量。但这种结构不稳定，很难在细胞质中观察其形态，可用肌球蛋白抗体与肌球蛋白的结合证明其存在。

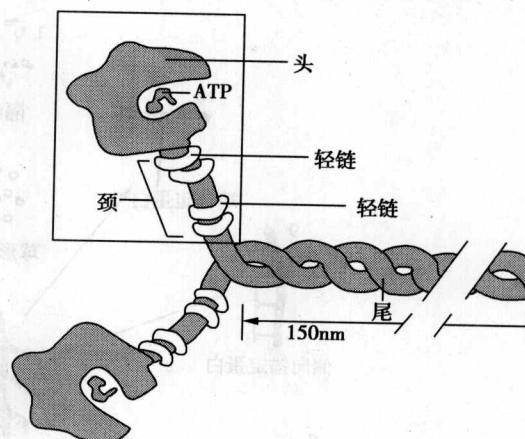


图 10-7 肌球蛋白分子结构 (引自 Gerald Karp)

(二) 其他结合蛋白

除肌球蛋白外，目前已发现有 40 余种其他肌动蛋白结合蛋白。表 10-1 及图 10-8 是一些重要的肌动蛋白结合蛋白。

表 10-1 肌动蛋白结合蛋白 (部分)

结合蛋白	功能
纽蛋白 (vinculin)	将微丝束固定在质膜上
踝蛋白 (talin)	将微丝束固定在质膜上，属端锚定蛋白
肌球蛋白 I (myosin I)	头部与微丝相连，尾部与质膜相连属侧向锚定蛋白，也有输送囊泡功能
肌球蛋白 II (myosin II)	头部与微丝接触使微丝运动，属收缩蛋白
α -辅肌动蛋白 (α -actinin)	在微丝正端横向连接微丝使之成束，也参与微丝与膜的结合，属间隔蛋白
细丝蛋白 (filamin)	使微丝连接成网状，属凝胶化蛋白
束捆蛋白 (fascin)	在平行微丝间形成连接，使之成束
丝束蛋白 (fimbrin)	在平行微丝间形成连接，使之成束，属集束蛋白

续表

结合蛋白	功能
原肌球蛋白 (tropomyosin)	与微丝平行侧向连接, 对微丝有加强稳定作用, 属稳定蛋白
凝溶胶蛋白 (gelsolin)	低 Ca^{2+} 时促进形成微丝装配核心, 高 Ca^{2+} 时将微丝切割成片段, 属截断蛋白
封端蛋白 (capping protein)	结合于微丝正端, 阻止亚单位加上或脱落
原调蛋白 (tropomodulin)	结合于微丝负端, 阻止亚单位加上或脱落, 属封端蛋白
胸腺素 (thymosin)	结合于 G-actin 单体, 抑制聚合, 属隔绝蛋白
前纤维蛋白 (profilin)	结合于 G-actin, 促进聚合, 属隔绝蛋白

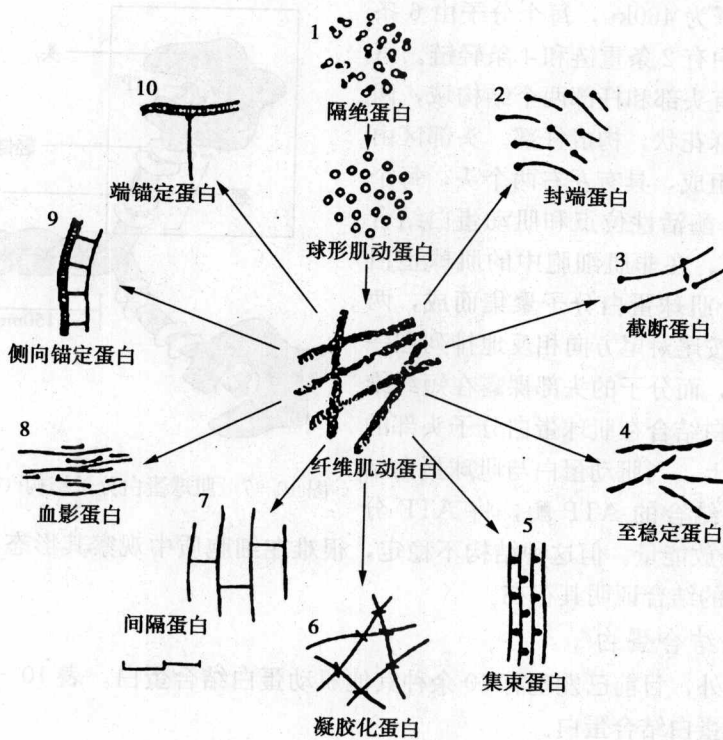


图 10-8 肌动蛋白结合蛋白的功能示意图

五、微丝的功能

(一) 肌肉的收缩

有机体的一切机械运动及各脏器的重要生理功能都要通过肌肉的收缩与松弛才能实现。肌细胞 (肌纤维) 内含有许多肌原纤维 (myofibril), 肌原纤维由粗肌丝和细肌丝组装形成, 粗肌丝的成分是肌球蛋白。细肌丝由肌动蛋白、原肌球蛋白 (tropomyosin) 和肌钙蛋白 (troponin) 组成。两条肌动蛋白纤维形成螺旋状的链, 原肌球蛋白于肌动蛋白的螺旋沟内, 横跨 7 个肌动蛋白分子。由 3 个亚单位 (Tn-T, Tn-C, Tn-I) 组成的肌钙蛋白结合在原肌球蛋白纤维上, 由此构成细肌丝 (图 10-9)。其中 Tn-I 能抑制肌球蛋白的 ATP 酶活性, Tn-C 能特异地与 Ca^{2+} 结合, Tn-T 尾部与原肌球蛋白结合。关于肌肉收缩的机制, 早在 20

世纪 50 年代末, 海逊 (Hanson) 等提出肌肉收缩的“滑动丝模型”认为肌肉的收缩是由于粗肌丝与细肌丝之间相互滑动的结果。后来的研究表明, 肌肉的收缩单位是肌动蛋白丝和肌球蛋白丝。肌球蛋白头部为横桥, 肌肉依靠能量使横桥在相邻的肌动蛋白丝与肌球蛋白丝之间来回摆动, 为肌肉收缩提供动力。

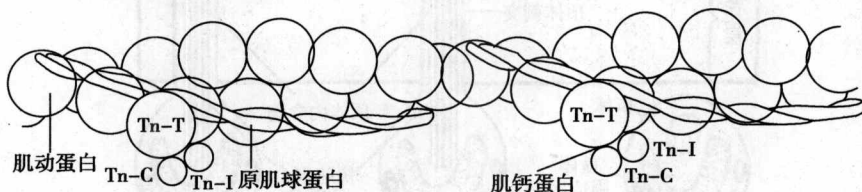


图 10-9 细肌丝分子结构模式图 (引自翟中和等)

(二) 微丝的支撑功能

细胞中存在一种由较稳定的肌动蛋白纤维束组成的张力纤维。张力纤维在细胞膜下沿细胞长轴平行排列, 通过附着点与质膜相连, 用以对抗细胞张力, 使细胞维持一定的形状。如哺乳动物红细胞质膜下的肌动蛋白和一些肌动蛋白结合蛋白形成的膜下骨架网络, 它们参与维持红细胞双凹形圆盘结构。又如, 肠上皮细胞表面具有更复杂密致的细胞骨架。一个肠上皮细胞约有 1000 多个指状突起称微绒毛 (图 10-10), 用以增加肠上皮表面积, 吸收营养物质。每一根微绒毛为一束状纤维肌动蛋白, 其中有绒毛蛋白和毛缘蛋白, 它们将一系列微丝以横桥连成束, 以达到微绒毛的质膜, 这种微丝束对维持微绒毛形状起重要作用。

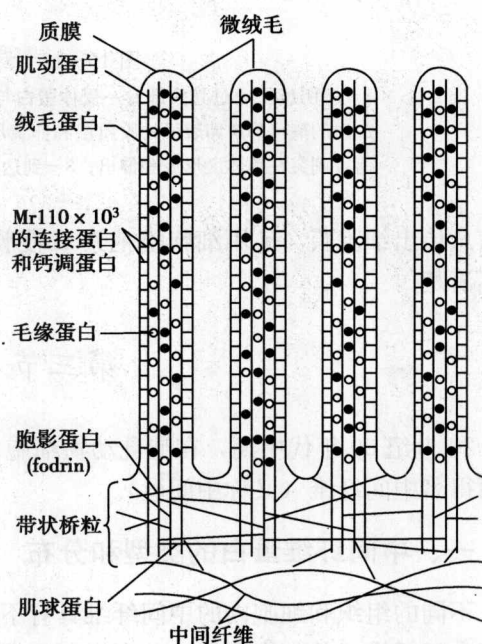


图 10-10 肠上皮细胞微绒毛结构示意图 (引自翟中和等)

(三) 微丝与细胞运动

使细胞产生运动是微丝的重要功能之一。肌细胞中的微丝起着收缩作用。在非肌细胞中, 细胞质膜下的微丝呈网络状, 与细胞定向运动、变皱膜运动、胞质环流和细胞内吞、外吐运动有关; 细胞微绒毛中的微丝呈同向束状排列, 与细胞微绒毛的伸缩有关; 而胞质分裂时的收缩环和张力纤维中的微丝呈反向束状排列, 与细胞分裂运动和细胞分化时的运动有关。如精子与卵子受精时, 精子顶体中的微丝使顶体突出穿入卵子周围的胶质层, 触发顶体释放酶降解卵表面的胶状层和卵黄层, 两者发生细胞融合。在这融合过程中精子顶体快速成长, 形成顶体刺突 (图 10-11)。

(四) 微丝与信息传递

微丝是某些信息传递的介质。细胞外的某些信号通过膜受体跨膜传给膜下微丝, 继续传导至核膜及核内骨架, 从而影响 DNA 遗传系统的功能。该信息传递也可逆向进行, 即使核

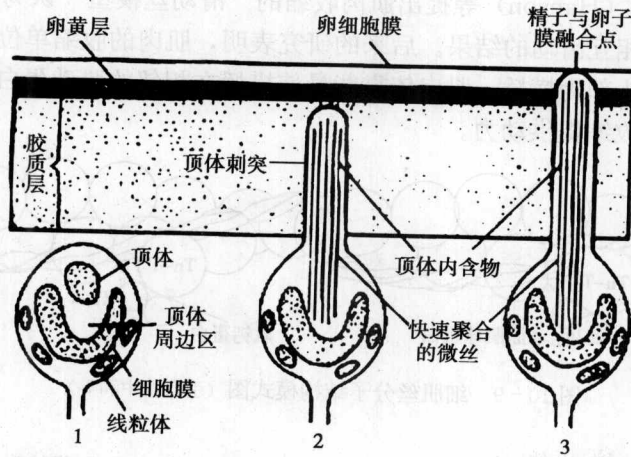


图 10-11 海胆精子的顶体反应

1—海胆精子通过其头部专一受体蛋白与卵子的胶质层结合；2—触发顶体的外排，释放出的酶可降解卵表面的胶质层和卵黄层，同时也触发肌动蛋白单体上的结合蛋白脱落，刺突在顶体区形成和伸出；3—到达卵黄膜时，精卵细胞的膜融合。

内信息传出细胞膜。使用细胞松弛素 B 使膜下微丝解聚，信息传递受阻，但对其机制目前尚不清楚。

第三节 中间纤维

20 世纪 60 年代中期，在哺乳动物细胞中发现 10 nm 纤维，介于肌肉粗丝和细丝之间，因而得名中间纤维（又称中间丝）。

一、中间纤维蛋白的类型和分布

不同的组织和细胞内的中间纤维具有不同的特性，按其免疫和电泳性质，有 5 种生化特征的中间纤维，并相当严格地分布在不同类型的细胞中（表 10-2）。

表 10-2 中间纤维蛋白的类型和分布（按其免疫和电泳性质）

顺序类型	名称	组织分布
1	角蛋白 (keratin)	上皮细胞或外胚层起源的细胞
2	神经丝蛋白 (neurofilament protien)	中枢和外周神经系统的神经细胞
3	结蛋白 (desmin)	成熟肌肉细胞
4	胶质纤维酸性蛋白 (glial fibrillary acidic protein)	中枢神经系统的胶质细胞
5	波形蛋白 (vimentin)	间质细胞和中胚层起源的细胞

根据中间纤维的氨基酸顺序的同源性，中间纤维蛋白也可以分为 6 种类型（表 10-3）。

表 10-3 中间纤维蛋白的类型和分布 (按其氨基酸顺序的同源性)

顺序类型	名称	分子量 (kD)	组织分布
I	酸性角蛋白 (acidic keratin)	40~57	上皮细胞
II	碱性角蛋白 (basic keratin)	53~67	上皮细胞
III	结蛋白 (desmin)	53	肌细胞
	胶质纤维酸性蛋白 (glial fibrillary acidic protein)	50	胶质细胞和星形细胞
	波形蛋白 (vimentin)	57	间充质细胞
	外周蛋白 (peripherin)	57	神经元
IV	神经纤维蛋白 (neurofilament protein)	62~100	成熟的外周和中枢神经系统
V	核纤层蛋白 A、B、C (lamin A、B、C)	60~70	真核细胞的细胞核
VI	巢蛋白 (nestin)	240	中枢神经系统干细胞
	融合蛋白 (synemin)	182	肌肉细胞
	平行蛋白 (paranemin)	178	肌肉细胞

二、中间纤维的分子结构

大部分中间纤维的结构已经清楚。它们彼此都具有的结构是一个约 310 个氨基酸残基, 在长度和序列上都非常保守的 α -螺旋杆状区, 而两端则是非螺旋的头部区 (氨基端) 和尾部区 (羧基端) (图 10-12)。中间纤维蛋白杆状区由螺旋 1 和螺旋 2 构成, 螺旋 1 和螺旋 2 的长度约为 22nm, 杆状区的长度约为 47nm。螺旋 1 和螺旋 2 又可分为 A、B 两个亚区, 4 个螺旋区间由 3 个短片段相连接, 其中 L12 连接螺旋 1 和螺旋 2, L1 和 L2 分别连接 1A 与 1B 和 2A 与 2B。中间纤维蛋白头尾两端是高度可变的。各种中间纤维蛋白之间的主要区别取决于非螺旋的头部、尾部的长度和氨基酸的顺序。对于每一特定类型的中间纤维蛋白, 其头部和尾部又可进一步分为不同亚区, ①H 亚区: 同源; ②V 亚区: 可变区; ③E 亚区: 末端区。

三、中间纤维的组装

中间纤维的组装较微管、微丝的组装更为复杂。中间纤维首先由 2 个中间纤维蛋白分子以相互对齐的方式缠绕形成双股超螺旋 (二聚体)。继而, 双股超螺旋再遵从反向平行方式组装成四聚体 (图 10-13)。四聚体是能在溶液中存在的最小单位。这样的 2 个四聚体再围绕形成 1 根亚丝, 4 根亚丝盘绕形成 1 根完整的中间纤维 [图 10-14(a)]。另一种模型则认为不存在亚丝的层次, 直接由 8 个四聚体的螺旋形式组成空心管状的中间纤维 [图 10-14(b)]。无论亚丝是否存在, 中间纤维在横切面上共有 32 条多肽链。这两种模型都符合离子相互反应计算和 X 线衍射结果。但前者有更好的生化证据, 而后者与电镜观察形态更一致。从整体上看, 由于中间纤维在组装过程中出现了反向平行的结构, 使中间纤维与微管、微丝不同, 它的两端是对称的, 因而完整的中间纤维在结构上是非极性的。

各类中间纤维均可在体外进行自我组装, 不需要其他蛋白质参加。不受秋水仙素和细胞松弛素 B 的影响。此外, 中间纤维在细胞内的组装也与微管、微丝不同, 微管、微丝只有

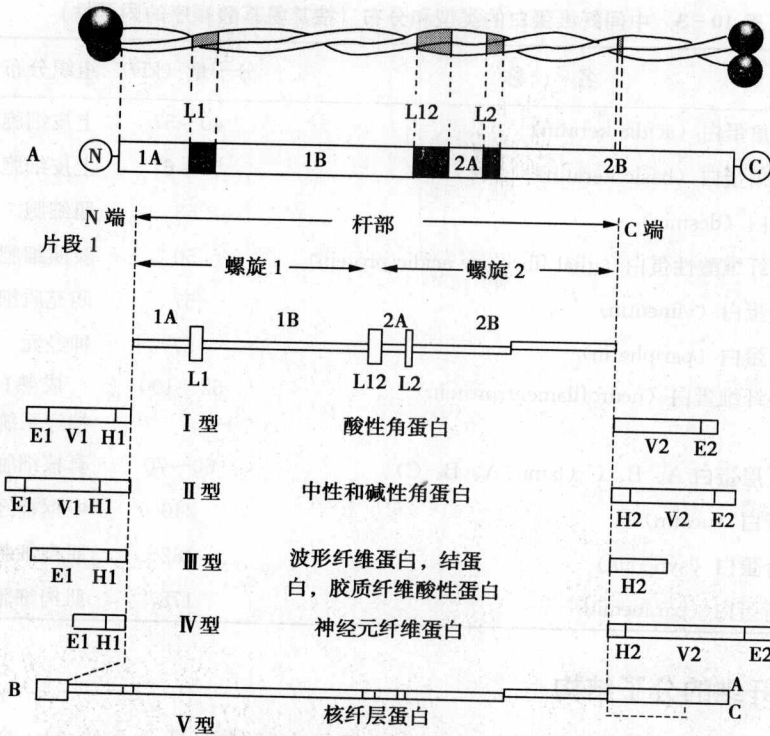


图 10-12 中间纤维蛋白分子结构 (引自翟中和等)

约 30 % 处于装配状态, 而中间纤维蛋白大部分已装配成中间纤维, 几乎不存在相应的可溶性蛋白库, 也没有与之相应的“踏车”现象。

四、中间纤维的功能

(一) 中间纤维与骨架功能

中间纤维在细胞内形成完整的支撑网架体系。研究发现中间纤维在近核区多次分支, 最后与核表面, 特别是核纤层及核孔复合体相连, 而核纤层又与核骨架相连。同时整个纤维网架通过细胞质终止于细胞膜, 因此中间纤维形成的三维网状结构维持着细胞器和核的位置及形态。

(二) 中间纤维与信息传递

研究表明, 中间纤维蛋白本身是一种信息分子或者是信息分子的前体。研究者发现中间纤维蛋白在体外与单链 DNA 高度亲和, 提示它可能与 DNA 的复制和转录活性有关。同时, 实验证实中间纤维还与核小体的 4 种核心蛋白有高度亲和性, 这是由于 Ca^{2+} 激活的中性硫酸醇蛋白酶和另外一种蛋白水解酶, 优先解聚中间纤维的 N 末端, 使中间纤维蛋白失去装配成纤维的能力, 但仍保持与 DNA、组蛋白的亲合性。

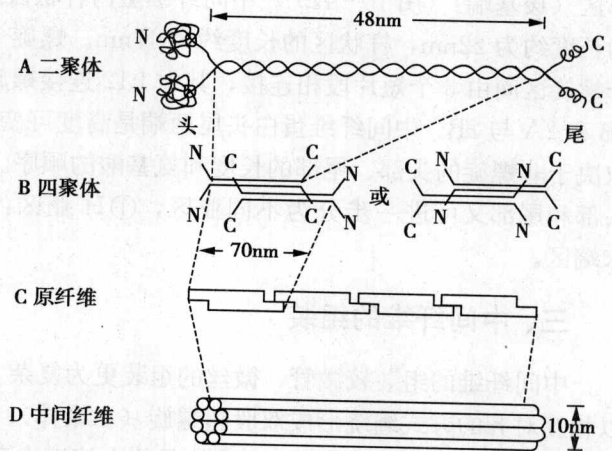


图 10-13 中间纤维的组装 (引自 Klymdowsky)

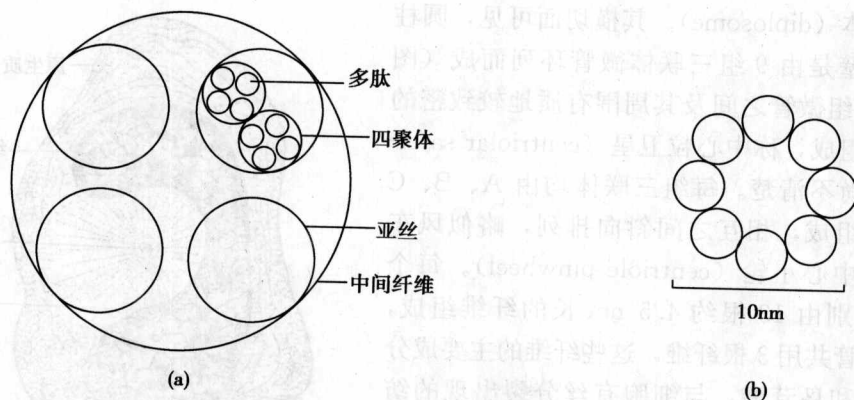


图 10-14 中间纤维的横切面 (引自汪肇仁)

(三) 中间纤维与细胞分化

微管和微丝在各种细胞中都是相同的，但不同的中间纤维却在各类组织中有特异的表达，表明中间纤维与分化有密切关系。但人们对中间纤维在细胞分化中确切的作用仍然所知甚少。对鼠胚早期发育的研究表明：在 8 个细胞阶段之前，中间纤维没有明显表达，表明早期未分化细胞中，中间纤维是不必需的。但在桑椹胚后期，细胞开始表达某些角质蛋白，其后在滋养外胚层出现中间纤维及中间纤维束，而在内部细胞中则不出现中间纤维。大约在胚胎发育的第 8~第 9 天，将要发育为间叶的细胞群中，角质蛋白迅速减少和停止表达，同时出现波形纤维蛋白。该研究表明在发育过程中，早期胚胎的上皮细胞群能根据其发育方向停止表达某种中间纤维蛋白而转为表达另一种中间纤维蛋白。因此中间纤维与分化关系密切。

由于不同类型的中间纤维严格地分布在不同类型的细胞中，故可根据中间纤维的种类区分上皮细胞、肌细胞、间质细胞、胶质细胞和神经元细胞。因此中间纤维分类成为肿瘤诊断的有力工具。1984 年，主要人类肿瘤类群的中间纤维目录的建立，对肿瘤的鉴别诊断具有重要意义。中间纤维的显微技术与羊膜穿刺的应用，能揭露某些先天性畸形。如羊水内含有胶质细胞原纤维或神经丝细胞时，就显示胎儿具有中枢神经系统的畸形。因此中间纤维的分析，已逐步成为一种临床诊断的可行方法，特别是一些疑难和常见的肿瘤病鉴别诊断。

第四节 微管组成的特殊结构

一、中心粒

中心粒 (centriole) 是在 19 世纪末由鲍维尔 (Boveri) 发现的。中心粒是由微管构成的非膜性细胞器，存在于动物细胞和低等植物细胞中，它参与细胞分裂活动。

光镜下所见到的是中心体 (centrosome)，它是一种球状小颗粒，也是一种复合构造，包括中心粒和中心球 (centrosphere) (图 10-15)。有人认为中心球实际上是中心粒周围的透明细胞质区，因而认为中心体是由中心粒和中心粒周围物质共同组成的。

(一) 中心粒的结构和组成

电镜下所见到的中心粒，不是球形小粒，而是呈圆柱状的小体，其直径为 $0.16 \sim 0.26 \mu\text{m}$ ，长度变动于 $0.16 \sim 0.65 \mu\text{m}$ 之间，成对并彼此相互垂直排列。因此，有人将中心

粒又称双心体 (diplosome)。其横切面可见，圆柱状小体的管壁是由 9 组三联体微管环列而成 (图 10-16)，各组微管之间及其周围有质地较致密的细粒状物质组成，称中心粒卫星 (centriolar satellite)，成分尚不清楚。每组三联体均由 A、B、C 三个亚微管组成，相互之间斜向排列，略似风车的旋翼，称中心小轮 (centriole pinwheel)。每个亚微管又分别由 13 根约 4.5 nm 长的纤维组成，两相邻亚微管共用 3 根纤维，这些纤维的主要成分是微管蛋白和鸟苷酸，与细胞有丝分裂出现的纺锤丝成分相似。此外，中心粒没有中央微管，其结构图式为“9×3+0”。

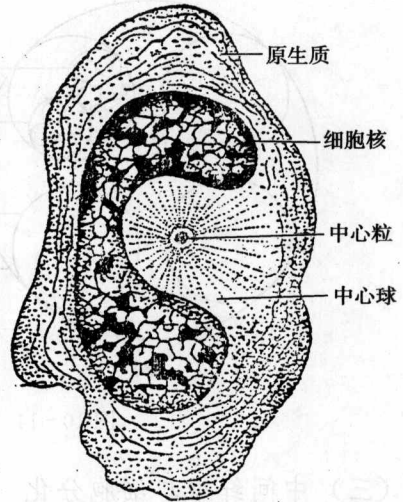


图 10-15 光镜下蛛螭白细胞中心体模式图

(二) 中心粒的功能

1. 中心粒与微管组织中心

单独的微管对细胞的作用是有限的，必须聚集在一起，或连结到细胞的其他部分，才能发挥微管的作用，作为结构上的构架或参与细胞运动。间期细胞的细胞质内微管绝大部分都终止于靠近细胞核附近的中心体上。用药物处理而被解聚的微管又可在中心体处重新生长。可以认为微管的聚合是受某些细胞器或“中心”控制的，它是在一对中心粒周围的一团透明的，电子密度高的中心粒周围的物质，实际上它具有微管组织中心 (microtubule organizing center, MTOC) 的作用。

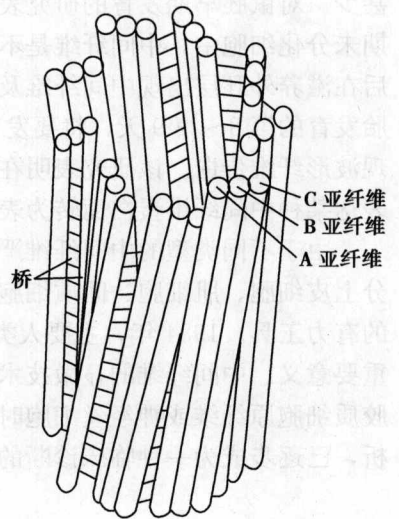


图 10-16 中心粒结构模式图 (引自翟中和等)

在组织培养的间期细胞中，用抗微管蛋白的荧光抗体标记细胞，可以看到围绕核有大量致密的微管，并由此伸出微管纤维，微管的 (+) 端都朝向 MTOC 的对侧。但对如何启始微管的组装仍不清楚，未观察到微管与中心粒的直接联结，微管是插入中心粒周围的物质，虽然中心粒周围物质组成至今仍未搞清楚，但研究表明真核细胞中存在第三种微管蛋白 γ 微管蛋白，分子质量为 50ku，其含量不足微管蛋白总量的 1%，存在于中心粒周围，若用 γ 微管蛋白抗体与之孵育，中心粒便失去启始组装微管的作用。因此说明 γ 微管蛋白与 MTOC、微管的启始组装有密切关系，但其作用机制尚不清楚。

2. 中心粒与细胞运动

中心粒组织形成鞭毛和纤毛，并参与细胞的有丝分裂，中心粒上存在 ATP 酶，因而与细胞能量代谢有关，为细胞运动和染色体移动提供能量。

二、纤毛和鞭毛及其运动

真核细胞的纤毛 (cilium) 和鞭毛 (flagellium) 是伸出细胞表面能运动的特化结构。通常将少而长的称鞭毛，多而短的称纤毛。原生动物中的纤毛虫和鞭毛虫以及高等动物的精子

就是依靠纤毛或鞭毛在液体中运行；高等动物的呼吸道的上皮细胞，凭借纤毛的摆动排除悬浮在液体中的固体颗粒，两栖类和哺乳类的卵是依靠输卵管内摆动的纤毛推动前进的。

(一) 纤毛和鞭毛的形态与结构

以纤毛为例阐述其细微结构。

纤毛在整体结构上由三部分组成：纤毛本体 (shaft)、基体 (basal body) 和纤毛小根 (ciliary rootlet)。

1. 纤毛本体

纤毛本体是由细胞表面向外伸出的细长突起物。外包有一层质膜，内部是由微管组成的轴丝 (axonema)。这些轴丝的横切面则为 $9 \times 2 + 2$ 的结构图式 (图 10-17)，中央为一对中央微管 (central singlet)，由中央鞘 (central sheath) 所包裹。外周是由 9 组二联体微管规则排列成一圈，每对微管中有一个电子致密度高的称亚微管 A (submicrotubule A)，另一个为亚微管 B。亚微管 A 又分别伸出内、外臂 (arm)，两臂伸出的方向朝向相邻二联体的亚微管 B。二联体还向中央微管伸出辐条 (radial spoke)，其末端膨大为辐条头 (spoke-head)。辐条连接中央微管和周围微管，此外在外围二联体之间以及中央单管之间均有连接丝，从而使它们牢固地连接在一起。

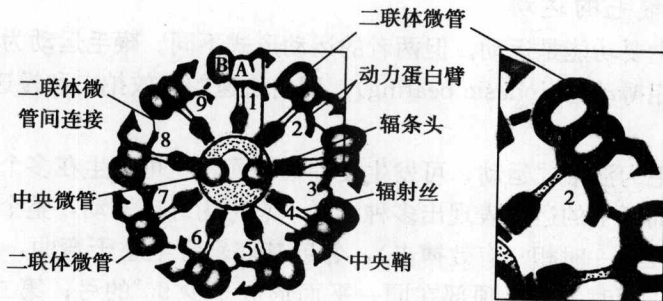


图 10-17 纤毛横切面模式图 (引自 De Rbertis)

2. 基体

纤毛基质膜下的筒状结构，源于中心粒，其结构与中心粒完全相同，横切面观，外围由 9 组三联体微管组成，中央无微管和鞘，结构图式为 $9 \times 3 + 0$ 。

3. 纤毛小根

纤毛小根是由基体发生的微细原纤维，尖端集中成圆锥形束，止于细胞核的一侧，大多数纤毛小根具有 ATP 酶活性，使其既具有固定纤毛的作用，又具有收缩的功能。

此外，在基体的一侧，由 2 个或 3 个三联体上伸出由微丝组成的致密的突起物，称基底足 (basal feet)。这些突起物与纤毛摆动方向有关。

某些有鞭毛的细菌，其鞭毛则完全不同于真核细胞中的鞭毛，这是由 5 条长的鞭毛蛋白分子连为一组，紧密缠绕成一管状结构，它的基部有基粒，结构与基体也不同。鞭毛运动时，也没有 ATP 酶的催化作用。

(二) 纤毛和鞭毛的化学成分

经离心、纯化等生化技术分析表明，构成纤毛、鞭毛的主要蛋白有 3 种。

1. 微管蛋白

微管蛋白的分子质量为 $55 \sim 60 \text{ku}$ ，它是构成外围二联体或三联体以及中央微管的蛋白质。构成 A 微管的 α 和 β 微管蛋白与组成 B 微管的微管蛋白不完全相同，二联体微管中的

微管蛋白缺乏秋水仙素结合的部位，通常这一部位为鸟苷二磷酸（GDP）所占据。因此，秋水仙素对纤毛、鞭毛不起作用。

2. 动力蛋白

动力蛋白（dynein）是构成二联体 A 微管上内、外臂的主要成分，分子质量为 300~400ku，是一种具有 ATP 活性的高分子化合物，能被 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 所激活，在 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 作用下，能将 ATP 水解为 ADP 和 Pi，从而使化学能转变为机械能，使纤毛或鞭毛发生运动。在合适的生理条件下，每个动力蛋白分子，每秒钟能水解 11~35 个 ATP 分子，即纤毛在一次摆动中，每一个动力蛋白分子，约能水解 1 个 ATP 分子。

现知有的先天性精子不动症患者精子中的 A 微管，以及呼吸道易感染（鼻窦炎、气管炎、肺炎、感冒等）患者的呼吸道上皮纤毛的 A 微管，都没有动力蛋白臂，因而纤毛不能运动，影响精子的活动和呼吸道的清除能力。

3. 连接蛋白

连接蛋白（nexin）分子质量为 150~160ku，存在于二联体亚微管彼此间连接处及中央微管的横桥之中。其功能是稳定两个相邻二联管间的滑动。

此外，辐条和中央鞘也是由蛋白质构成的。

（三）纤毛和鞭毛的运动

纤毛和鞭毛的主要功能是运动。但两者的运动形式不同。鞭毛运动为均匀的波动，频率较快；而纤毛为双相搏动（biphasic beating），即由快速的有效拍击和慢速的回复拍击组成，频率较慢。

真核细胞的鞭毛为波浪式运动，可发生在一个平面，也可发生在多个平面，它的特征是对称和呈波浪形。而纤毛的运动表现出多种多样，总称为纤毛搏动，整个过程可分为两个既独立又连续时相。在第一时相（有效搏击），邻近基部纤毛主干弯曲，而纤毛的其他部分仍直立或轻度弯曲。同时，纤毛顶部在同一平面形成至少 90° 的弓；第二时相（恢复搏击）的特征是从纤毛基部区域到顶部的弯曲，传播很慢，使纤毛恢复到有效搏击前的位置。有效搏击决定了纤毛运动的方向。

纤毛、鞭毛的运动机制，早期的推测认为是由纤毛或鞭毛一侧的二联体微管伸长或收缩引起的。但后来的实验证明，在运动过程中，微管的长度和粗细均未发生变化，目前被广泛接受的假说是“微管滑动假说”（sliding microtubule hypothesis）。

根据滑动假说认为纤毛的运动是由相邻二联体相互滑动所致（图 10-18）。

每一循环包括以下几个步骤：①动力蛋白臂头部与相邻二联体上 B 微管结合，促进动力蛋白臂上结合的 ATP 水解，同时动力蛋白臂头部的构象发生改变，并牵拉相邻的 B 微管向纤毛顶端方向滑动，从而产生两个相邻二联体之间的弯曲力；②新的 ATP 结合于动力蛋白臂上，使动力蛋白臂头部与相邻的二联体 B 微管脱离；③结合的 ATP 再次水解，释放的能量使动力蛋白臂头部构象恢复原状；④带有水解产物（ADP）的动力蛋白臂头部与 B 微管上的另一位点结合，从而又开始新一轮循环。

二联体之间原来产生的滑动运动转变成纤毛或鞭毛整个轴丝的弯曲运动，这是由二联体之间、二联体与中央鞘之间分别通过连接丝、辐条相互牵制而形成的。实验证明，当用胰蛋白酶消化这些连接蛋白后，纤毛或鞭毛的轴丝就丧失了传播运动的能力；相反，未用胰蛋白酶消化的轴丝在 ATP 存在时，能产生弯曲。这说明，纤毛或鞭毛的轴丝是负责运动部分的，运动产生的原因是由于“微管的滑动”通过连接丝和辐条而转变成轴丝的弯曲运动。

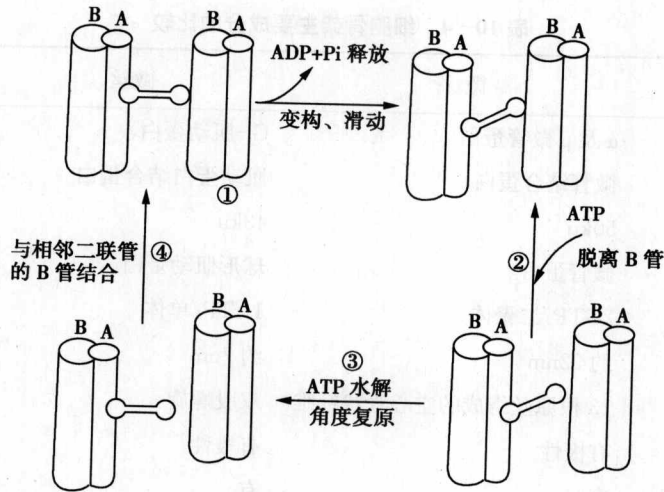


图 10-18 纤毛运动中的微管滑动机制 (引自翟中和等)

第五节 细胞质骨架内的相互协调

微管、微丝、中间纤维是细胞质骨架中的 3 种主要成分。其组成成分、结构、组装、对药物的反应等各不相同 (表 10-4), 在功能上也发挥着各自的作用, 但 3 种骨架成分之间仍有重要联系, 相互协调形成细胞质骨架体系。

3 种细胞骨架成分在细胞内的分布是相互配合的, 从而也促成功能上的相互联系。微管和中间纤维都是从细胞核出发向细胞的周边呈放射状延伸, 并在细胞质的许多部位都平行分布。在质膜下凝胶层中发现: 中间纤维在最上层, 微管在次层, 微丝在下层, 这 3 种纤维之间有肌动蛋白丝连接。在电镜下可见在微管和微丝之间有微管结合蛋白作横桥, 微管和中间纤维之间也有横桥存在, 这样, 微管、微丝、中间纤维在细胞质内形成了一个完整的网架, 支撑细胞, 维持各细胞器的空间位置, 参与细胞运动、胞内物质的运输及信息传递等。

细胞内 3 种骨架组成之间的调控是非常复杂的, 但还是有一定层次的。当外界各种因素如激素、药物、毒物和离子等与细胞质膜作用后, 通过膜上相应的受体或蛋白质引起细胞内 cAMP、IP₃、Ca²⁺ 等第二和第三信使一系列的连锁反应, 最后调节到骨架蛋白质及其结合蛋白质上, 使 3 种细胞骨架组成按照生理的需要, 发挥其独特的功能, 参与细胞的生理活动, 当然, 在这过程中也有细胞对细胞骨架的调控作用, 使 3 种骨架组成之间相互协调, 构成完整、统一的骨架体系。在各种细胞骨架纤维的组装方面, 我们同样可以发现: 各种骨架蛋白质单体与多聚体之间是处于动态平衡状态的, 这种平衡必须与生理活动的需要相适应, 其中也存在细胞对细胞骨架组装的调控问题。总之, 各种细胞骨架组成均在细胞的统一调控下密切配合来完成细胞的生命活动。

表 10-4 细胞骨架主要成分的比较

类型特征	微管	微丝	中间纤维
主要组成成分	α 及 β 微管蛋白 微管结合蛋白	G-肌动蛋白 肌动蛋白结合蛋白	多种类型蛋白 的不同成分
分子质量	50ku	43ku	40~200ku
亚单位	微管蛋白	球形肌动蛋白	线状蛋白
结合核苷酸	2GTP/二聚体	1ATP/单体	无
纤维直径	约 22nm	约 7nm	约 10nm
结构	13 根原丝组成的空心管状纤维	双股螺旋	多级 α 螺旋
极性	有极性	有极性	无极性
可溶性亚单位蛋白库	有	有	无
“踏车”行为	有	有	无
特异性药物	秋水仙素、长春花碱	细胞松弛素 B、鬼笔环肽	无
与运动有关的主要结合蛋白	动力蛋白	肌球蛋白	无

第六节 细胞骨架的病理变化

各种病理状态下，其细胞骨架系统会发生变化，细胞骨架在组装与分布上的改变，必然会影响细胞的功能。

一、恶性生长细胞的细胞骨架

肿瘤与转化细胞的特征是细胞生长和增殖的失控。细胞恶化时细胞骨架异常的结构与功能也是导致肿瘤失控的重要因素之一。

我们可以发现，转化和肿瘤细胞中的微管数比正常细胞内微管数大为减少。同时肿瘤细胞内的钙调蛋白为正常细胞的两倍，这可能是钙调蛋白抑制了微管蛋白的聚合，使微管数目减少。在肿瘤细胞中，中心体内三联管的排列不是互相垂直的，而是紊乱分布的。细胞质内微管的分布常常没有达到质膜下区域。使癌细胞的形状和细胞器的运动均发生异常。

恶化细胞内的微丝束减少，并常出现成片的肌动蛋白凝聚小体。培养的成纤维细胞转化为肿瘤细胞后，其中的肌动蛋白微丝束消失。由 SV₄₀ 病毒转化的恶性细胞中，肌动蛋白微丝束消失。结肠与直肠腺癌患者成纤维细胞内肌动蛋白微丝束减少。这些都说明由于微丝的组装和分布发生了变化，使微丝不能成束，并且不与质膜相连，不受细胞正常调控，这些均与肿瘤细胞的生长与增殖失控有关。

虽然恶性肿瘤细胞中中间纤维的形态、超微结构和免疫学特征与正常细胞表现相同，但在化学组成上却发生了改变。

二、衰老细胞内的细胞骨架

机体衰老的主要特征表现为细胞的功能减弱。衰老细胞的细胞骨架在结构与功能上的改

变也同样反映出机体的衰老。

实验证明,老化动物脑皮质神经元中的微管呈扭曲或缠绕状态,妨碍神经轴突中微管的运动和营养物质的运输,使神经元的营养和代谢受到阻抑,致使老年人和动物出现痴呆现象。衰老也表现为神经元中微管数目大减,影响神经细胞的各种功能,特别是降低神经细胞运动的能力,故机体的衰老首先表现为脑症状,最后导致机体代谢与运动能力的减弱。老化的小鼠腹腔巨噬细胞内肌动蛋白微丝较年轻者同种细胞内的数量要减少。当两种细胞同步化时,老化的巨噬细胞内肌动蛋白微丝含量也明显减少。微丝量的减少可能影响细胞的吞噬能力。

提 要

细胞骨架是真核细胞中蛋白纤维网架体系。广义的细胞骨架包括细胞核骨架、细胞质骨架、细胞膜骨架、细胞外基质。狭义的细胞骨架仅指细胞质骨架,它由微管、微丝、中间纤维组成。

微管是由 α 、 β 微管蛋白组成的中空圆柱状结构,是有极性的细胞器。GTP为组装的能源。对低温、高压、秋水仙素、长春碱敏感。组装时表现出聚合、解聚的动态状态。微管结合蛋白对微管的结构和功能是必需的。

微丝是由肌动蛋白亚单位组成的螺旋状纤维,是有极性的细胞器。ATP为组装能源。 Na^+ 、 K^+ 、细胞松弛素B等因子能影响微丝的聚合和解聚。肌动蛋白与肌球蛋白结合共同参与细胞运动。肌动蛋白结合蛋白的参与使微丝在不同细胞中形成不同亚微结构和行使不同的功能。

中间纤维可按免疫和电泳性质及氨基酸的同源性两种方法分类。它是由中间纤维蛋白分子通过多级 α 螺旋形成的非极性细胞器。

三种骨架自成体系,具有各自的结构和功能,它们共同参与支撑细胞,维持细胞形状、细胞器空间位置,参与细胞运动、物质运输和信息传递等功能。通过外界因素的影响和细胞的调控,它们相互密切配合以适应细胞的生理活动需要。机体病变或衰老时,会引起细胞骨架一系列的病理变化。

中心粒、纤毛和鞭毛是由微管组成的特化细胞器,参与细胞分裂和细胞运动。纤毛和鞭毛运动产生的机制是微管滑动假说。

复习思考题 10

(一) 名词解释:

cytoskeleton microtubule microfilament intermediated filament

踏车行为 二联管 三联管

(二) 问答题:

1. 如何理解细胞骨架在细胞内是一种动态结构?
2. 简述细胞质骨架内各组成之间的相互关系。
3. 简述细胞骨架各种纤维的结构特征、化学组成及功能。
4. 简述中心粒、纤毛和鞭毛的亚微结构及其功能。

(秦志峰)

第十一章

细胞核

细胞核是真核细胞内最大、最重要的结构，它使核物质稳定在一定区域，建立遗传物质稳定的活动环境。是遗传物质储存、复制和转录的场所，并指导细胞内蛋白质合成，从而调控细胞增殖、生长、分化、衰老和死亡，是细胞生命活动的指挥控制中心。细胞核的出现是生物进化史上极为重要的转折点。原核细胞与真核细胞的主要差别在于有无完整的核。

所有真核细胞，除哺乳动物的成熟红细胞和高等植物韧皮部的成熟筛管等少数细胞之外，都含有细胞核。失去细胞核的细胞，由于不能执行正常的生理功能，很快趋于死亡。如失去细胞核的哺乳动物红细胞，平均寿命仅 120 天左右。

细胞核的形态与细胞的形态有一定的关系。在圆形、卵圆形、多边形的细胞中，核的形态一般为圆球形；在柱形、梭形的细胞中，则呈椭圆形；在细长的肌细胞中呈杆状。但是，也有少数细胞的细胞核呈不规则状，如白细胞的细胞核呈马蹄形或多叶形。在一些异常细胞如肿瘤细胞中，常可见畸形核。

细胞核的大小、数量和位置与生物的种类、发育时期和生理状态等有一定的关系。高等动物细胞核直径一般为 $5\sim 10\mu\text{m}$ ，高等植物细胞核直径一般为 $5\sim 20\mu\text{m}$ 。幼稚细胞的细胞核相对较大，而衰老细胞的核则较小。细胞核的大小常用核质比（细胞核与细胞质的体积比）来表示：

$$\text{核质比} = \frac{\text{细胞核的体积}}{\text{细胞体积} - \text{细胞核体积}}$$

核质比大表示核相对大，核质比小则表示核相对小。

大多数细胞为单核，但也有双核和多核的，如肝细胞、肾小管细胞和软骨细胞为双核，而破骨细胞的核可达几百个。细胞核通常位于细胞的中央，但也可因细胞中分泌颗粒的形成或包含物的推挤而发生位移。如在含有分泌颗粒的腺细胞中，核偏于细胞的一端，而在脂肪细胞中，核被脂滴挤至边缘。

细胞核的形态结构在细胞周期中变化很大，分裂间期的细胞核称为间期核，只有在间期才能看到完整的细胞核。间期核由核被膜、染色质、核仁和核基质（核骨架）等构成（图 11-1、图 11-2）。

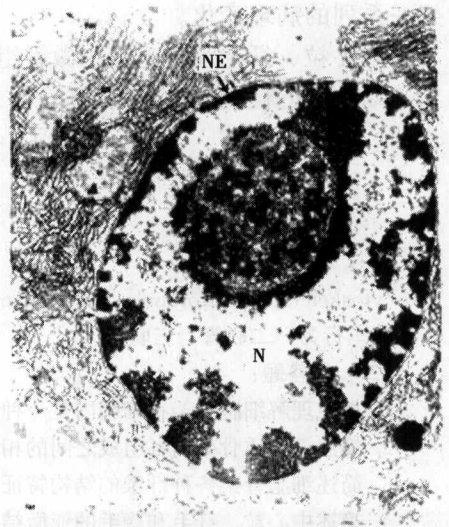


图 11-1 大鼠胰腺细胞核电镜照片

N—细胞核；NE—核被膜

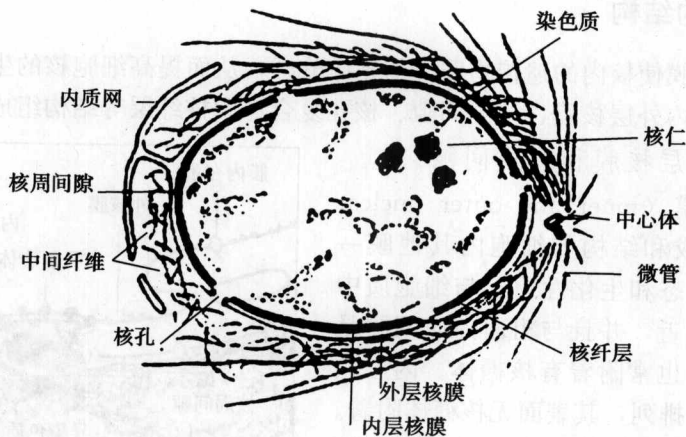


图 11-2 典型的细胞核横切面图

核被膜由两层膜组成。核外膜与内质网相连续。核内膜与核外膜的脂双层在每一个核孔处相连接。中间纤维的网络为核被膜提供机械支持，核内侧的中间纤维形成片状的核纤层（引自 B. Alberts, 1994 年）

第一节 核被膜

核被膜 (nuclear envelope) 又称核膜 (nuclear membrane), 是细胞核与细胞质之间的界膜。它将细胞分成核与质两大结构与功能区域: DNA 复制、RNA 转录与加工在核内进行, 蛋白质翻译则在细胞质中进行。这样就避免彼此互相干扰, 使细胞的生命活动更加秩序井然; 同时核被膜还能保护核内的 DNA 分子免受细胞骨架运动所产生的机械力损伤。另一方面, 通过核被膜, 核质之间进行物质交换与信息交流。

一、核被膜的主要化学成分

核被膜的主要化学成分是: 蛋白质和脂类, 此外, 还有少量核酸成分。

(一) 蛋白质

核被膜中的蛋白质占 65%~75%, 通过电泳分析可鉴别出核被膜含有 20 种蛋白质, 包括组蛋白、基因调节蛋白、DNA 和 RNA 聚合酶、RNA 酶等。

核被膜所含的酶类与内质网的极为相似。如内质网的标记酶 G6PD 也见于核被膜, 与电子传递有关的酶类, 如 NADH 细胞色素 c 还原酶、NADH 细胞色素 b5 还原酶、细胞色素 P₄₅₀ 等也存在于核被膜上, 说明两者在酶成分上的相似性, 但其浓度有差异, 如细胞色素 P₄₅₀ 的浓度, 内质网高于核被膜。

(二) 脂类

核被膜中所含的脂类也与内质网相似。例如, 它们都含有卵磷脂和磷脂酰乙醇胺, 此外还有胆固醇、甘油三酯等。但其浓度有差别, 核被膜所含的不饱和脂肪酸的浓度都较低, 而胆固醇和甘油三酯的浓度却较高。这种结构成分的相似性和特异性, 不仅说明核被膜与内质网的密切关系, 同时也说明两者又具有各自的结构特点。

二、核被膜的结构

核被膜作为界膜使核内的遗传物质与细胞质分开，从而提高细胞核的生物学功能。在电镜下，核被膜是由内外层核膜、核周间隙、核孔复合体和核纤层等结构组成的（图 11-3）。

（一）内、外层核膜和核周间隙

内、外层核膜（inner and outer nuclear membrane）的组成和结构与细胞内其他膜一样。外层核膜在形态和生化性质上与细胞质中的粗面内质网膜相近，并且与粗面内质网膜是相连的，其外表面也常附着有核糖体。内层核膜与外层核膜平行排列，其表面无核糖体附着。在与核质相邻的核膜内表面附有一层蛋白质的纤维层，叫作核纤层。在外层核膜与细胞质相邻的表面也有一层由中间纤维交织的网架附着，但不像核纤层那么规则、完整。在细胞有丝分裂过程中，核膜能快速崩解形成核膜小泡，然后小泡互相融合构成新的核膜。

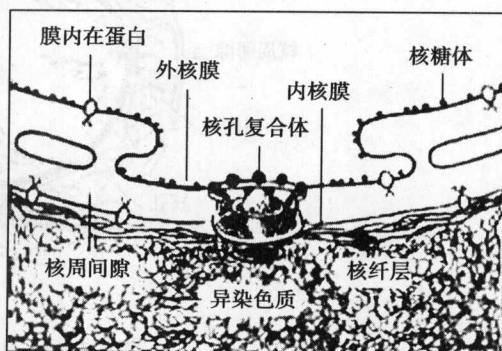


图 11-3 核被膜示意图

内、外层核膜在核孔的位置互相融合。两层核膜之间的腔隙称为核周间隙（perinuclear space），宽 20~40nm。这一宽度常随细胞种类不同和细胞的功能状态不同而改变。核周间隙与胞质中的内质网腔是相通的。核周间隙内充满液态不定形物质，含有多种蛋白质和酶类。

（二）核孔和核孔复合体

在内外核膜的融合之处形成环状开口，称为核孔（nuclear pore）。核孔的数目、疏密程度和分布形式随细胞种类和功能不同而有很大的变化，一般来说，动物细胞的核孔数多于植物细胞；合成功能旺盛的细胞其核孔数目较多。

核孔并非简单的孔洞，而是由一组蛋白质颗粒和纤维物质以特定方式排列形成的复合结构，称为核孔复合体（nuclear pore complex, NPC）（图 11-4）。

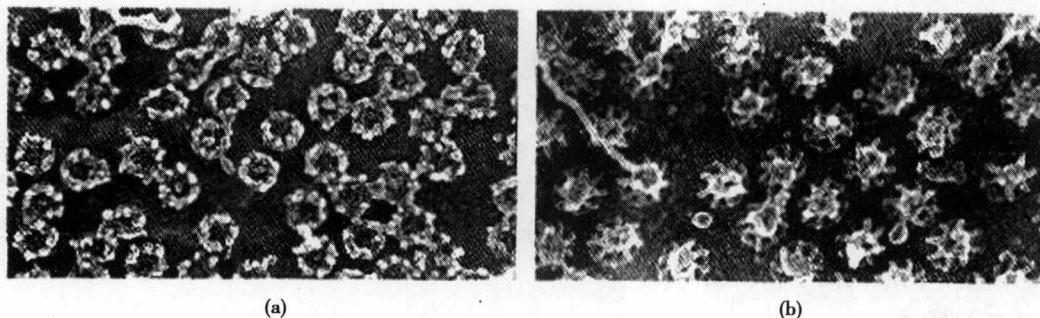


图 11-4 核孔复合体结构电镜照片

(a) 抽提后核孔胞质面的结构；(b) 抽提后核孔核质面的结构

许多研究者利用不同的方法研究核孔复合体，提出了不同的核孔复合体模型。但由于分离纯化核孔复合体的难度较大，迄今对核孔复合体的描述仍没有完全统一的模型。1974年，

Franke 提出的核孔复合体的模型曾被广为引用。该模型认为核孔复合体由孔环颗粒 (annular granule)、周边颗粒 (peripheral granule)、中央颗粒 (central granule) 和细纤丝组成 (图 11-5)。

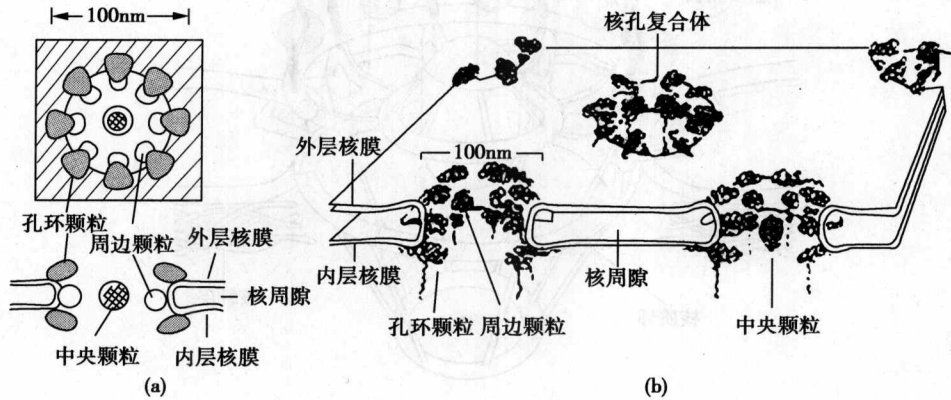


图 11-5 核被膜中核孔复合体的排列模式图

(a) 顶面观和中心垂直切面; (b) 一小块核被膜的三维图像

孔环颗粒共有 8 对, 位于核孔周围, 内外核膜的周缘, 呈八重对称分布。每个孔环颗粒的直径为 10~25nm, 由微细粒子和纤丝盘绕而成, 其纤丝分别伸向胞质和核质, 并与胞质和细胞核中的基质蛋白相连。与孔环颗粒相对应的还有 8 个周边颗粒, 它们位于内外两层核膜的交界处, 通过纤丝与相对应的内、外孔环颗粒相连在一起。在核孔复合体的中心, 有一个直径 5~30nm 的中央颗粒。中央颗粒与孔环颗粒也有细纤丝相连。中央颗粒并不充满整个核孔, 也不是每个核孔都有。细纤丝的直径为 4~8nm, 它们连接于各种颗粒之间, 组成网状结构, 使核孔复合体保持稳定。

目前比较普遍被接受的是捕鱼笼式 (fish-trap) 核孔复合体模型 (图 11-6)。该模型认为核孔复合体的基本结构包括以下几个部分: ①胞质环 (cytoplasmic ring): 朝向胞质面, 与外核膜相连, 环上对称分布 8 条细长的纤维, 并伸向细胞质。②核质环 (nuclear ring): 位于核质面, 与内核膜相连, 在核质环上也对称分布比胞质面纤维长的 8 条纤维, 伸向核质 50~70nm 处, 在纤维末端形成一个直径约 60nm 的小环, 小环由 8 个颗粒组成。构成捕鱼笼似的结构, 称核篮 (nuclear basket)。③辐 (spoke): 由核孔边缘伸向中心, 呈辐射状八重对称, 其结构较复杂。④中央栓 (central plug): 位于核孔的中心, 呈颗粒状或棒状, 推测在核质交换中发挥一定的作用。

这种新的核孔复合体模型与上述的传统模型相比, 更突出了核孔复合体对垂直于核膜的中心轴呈八重对称, 而对平行于核膜的平面呈两侧不对称的结构特征。这种结构上的两侧不对称性, 正好与其功能不对称性是一致的, 推测核篮和胞质丝状物可能介导运输物质与核孔复合体之间的相互作用。

核孔复合体主要由蛋白质构成, 目前已知的核孔复合体蛋白有 100 余种, 可分为两类: 一类是跨膜蛋白, 另一类是外周蛋白。迄今已鉴定的脊椎动物的核孔复合体蛋白成分也已经达到十多种, 其中 gp210 和 p62 是最具代表性的两个成分, 它们分别代表着核孔复合体蛋白的两种类型。

gp210 代表着一类结构性跨膜蛋白, 是第一个被鉴定出来的核孔复合体蛋白, 位于核膜

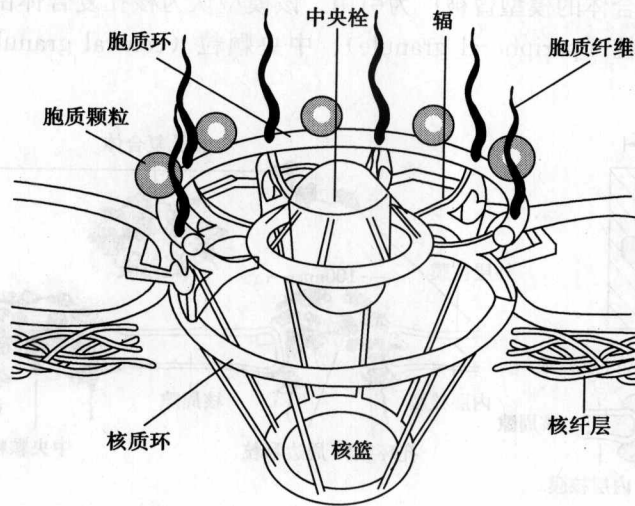


图 11-6 核孔复合体的结构模型

的“孔膜区”，在锚定核孔复合体的结构上起重要作用。它是一种糖蛋白，其糖基化修饰位点在天冬酰胺残基上，为 N 连接甘露糖残基寡糖链。

gp210 介导核孔复合体与核被膜的连接，将核孔复合体锚定在“孔膜区”，从而为核孔复合体装配提供一个起始位点；另外，在内、外核膜融合形成核孔中起重要作用。gp210 氨基酸序列中有两段疏水区，其中靠近 C 端的疏水区位于孔膜区，是跨膜结构域，另一段疏水区则位于核周间隙内，推测当核孔复合体装配开始时，gp210 位于核周间隙内的肽段构象发生变化，从而使其中的疏水区暴露，使之与核膜相互作用，通过这一方式诱导内外核膜融合。

p62 代表一类功能性的核孔复合体蛋白。它带有 O 连接 N-乙酰葡萄糖胺残基寡糖修饰。脊椎动物的 p62 分子主要有两个结构域：疏水性 N 端区，具有 XFXFX (F: 苯丙氨酸; X: 任意氨基酸) 形式的重复序列，糖基化修饰发生在这个区域中接近 C 端区的肽段。这个区域可能在核孔复合体功能活动中直接参与核质交换。C 端区，类似一些纤维蛋白(如中间纤维蛋白、核纤层蛋白)的杆状区，推测这个区域可能参与通过卷曲螺旋与其他核孔复合体蛋白成分相互作用，从而将 p62 分子稳定到核孔复合体上，为其 N 端进行核质交换活动提供支持。p62 对核孔复合体行使主动运输的功能非常重要。

(三) 核纤层

核纤层(nuclear lamina)是真核细胞中紧贴内核膜内层、由电子密度高的蛋白质组成的纤维状网架结构，其厚薄随细胞不同而异。一般厚 10~20nm，在有些细胞中可达 30~100nm。

核纤层的主要化学成分是核纤层蛋白(lamin)。在哺乳类和鸟类细胞中，核纤层是由 3 种属于中间纤维的多肽组成，分别称为核纤层蛋白 A、核纤层蛋白 B、核纤层蛋白 C。爪蟾有 4 种核纤层蛋白，而果蝇只有 2 种核纤层蛋白(表 11-1)。

核纤层与核被膜、核孔复合体及染色质在结构和功能上有密切的联系(图 11-7)。在间期细胞中，核纤层与内核膜的脂双分子层中的镶嵌蛋白相结合，与核基质也相互连接，组成了核的支架，参与维持核孔的位置和核被膜的形状。核纤层蛋白可与染色质上的一些特殊

位点相结合，为染色质提供了结构支架。因此，核纤层在维持和稳定间期细胞核的形状和染色质高度有序性方面起重要作用。

表 11-1 几种生物细胞内的核纤层蛋白

动物	核纤层蛋白	分子量
哺乳动物	A	74ku
	B	72ku
	C	62ku
鸟类	A	75ku
	B	71ku
	C	68ku
非洲爪蟾	LI	72ku
	LII	68ku
	LIII	68ku
	LIV	75ku
果蝇		76ku
		74ku

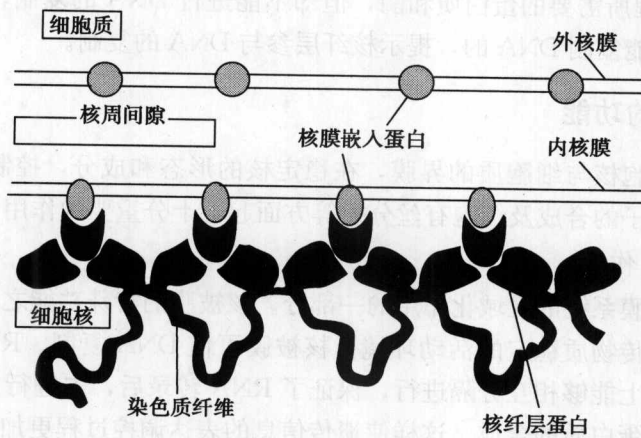


图 11-7 核纤层与核内膜、染色质的关系

在细胞分裂期间，核纤层发生去组装和重新组装的周期性变化，参与核膜的重建、染色质凝集及细胞核的构建等多方面的活动。在细胞有丝分裂前期，核纤层蛋白磷酸化，核纤层可逆性去组装，发生解聚，使核膜破裂。有丝分裂末期，核纤层蛋白去磷酸化，而重新装配，使核膜重建（图 11-8）。说明核纤层在细胞的有丝分裂过程中与核被膜的崩解、重组密切相关。

此外，核纤层可对细胞分裂中染色质凝集进行调节。细胞分裂间期，染色质与核纤层紧密结合，因此不能螺旋化成染色体；而在细胞有丝分裂前期，随着核纤层蛋白的解聚，染色质与核纤层蛋白的结合丧失，染色质逐渐凝集成染色体。

1986 年，Burke 等在 CHO 细胞非细胞体系核组装系统中，选择性地除去 LaminA、

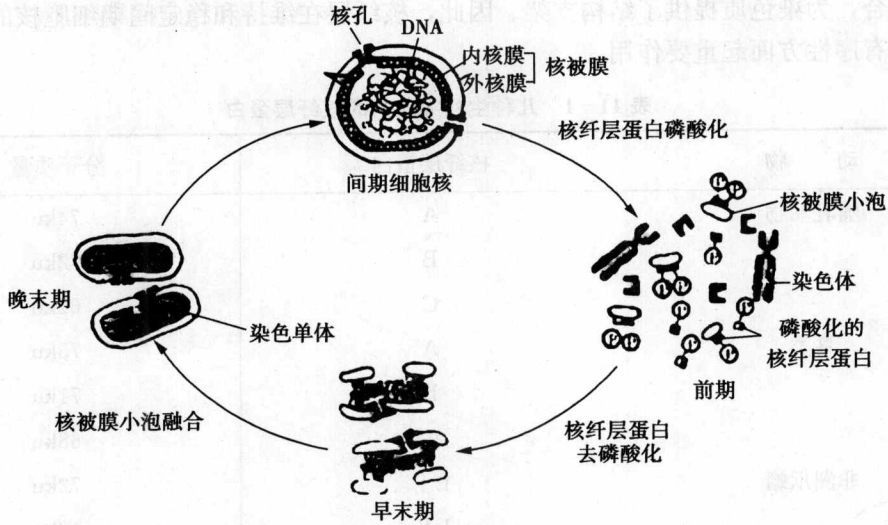


图 11-8 有丝分裂期间核被膜的崩解和重建

LaminB 和 LaminC, 可广泛地抑制核膜和核孔复合体围绕染色体的组装。研究表明, 核纤层在间期核的组装中具有决定性作用。

利用爪蟾卵母细胞核重建体系的研究发现, 重建的没有核纤层的细胞核, 虽然细胞核里具有 DNA 复制过程所需要的蛋白质和酶, 但却不能进行 DNA 的复制, 表明只有染色质而无完整的核膜是不能复制 DNA 的, 提示核纤层参与 DNA 的复制。

三、核被膜的功能

核被膜作为细胞核与细胞质的界膜, 在稳定核的形态和成分, 控制核质之间的物质交换, 参与生物大分子的合成及细胞有丝分裂等方面起着十分重要的作用。

(一) 区域化作用

核被膜是整个膜系统的区域化作用的一部分。核被膜的特殊功能之一是使核物质稳定在一定区域, 建立遗传物质稳定的活动环境。核被膜可使 DNA 复制、RNA 的转录及蛋白质合成在时间及空间上能够相互分隔进行, 保证了 RNA 转录后, 先进行加工修饰才输入细胞质中, 指导和参与蛋白质的合成。这样使遗传信息的表达调控过程更加精确、高效。

(二) 生物合成功能

在外层核膜的表面附着核糖体, 所以可进行蛋白质的合成。运用免疫电镜技术已证实, 抗体的形成首先出现在核膜的外层。在核周间隙中存在多种结构蛋白和酶类, 它也能合成少量膜蛋白、脂质。有人曾报道核被膜有糖的合成功能。

(三) 核质之间的物质运输

核被膜是细胞核和细胞质之间物质运输的通道, 其运输方式可分为被动扩散与主动运输两种。

1. 被动扩散

实验表明, 水分子和某些离子如 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Cl^- 等, 以及一些 5ku 以下的小分子如单糖、双糖、氨基酸、核苷和核苷酸等, 可以自由扩散, 穿梭于核质之间。大分子物质

则需要经核孔复合体进行主动运输。

2. 主动运输

生物大分子的核质分配主要是通过核孔复合体的主动运输完成的。核孔复合体上存在着受体蛋白，它可以准确识别大分子物质上的特殊信号，通过识别结合，从而可以使核孔复合体的孔径扩大，在 ATP 酶参与提供能量的条件下通过核膜。核孔复合体的主动运输具有双向性，兼有核输入和核输出两种功能。DNA 复制、RNA 转录所需的各种酶及组蛋白、核糖体蛋白和核质蛋白等，在细胞质中游离核糖体上合成后经核孔复合体进入细胞核；细胞核内装配好的核糖体大小亚基和经转录加工后的 RNA 通过核孔复合体运到细胞质。

(1) 亲核蛋白质的核输入

亲核蛋白质 (karyophilic protein) 是指在细胞质内合成，然后输入到细胞核内发挥作用的一类蛋白质，常见的有核糖体蛋白、组蛋白、核纤层蛋白、DNA 聚合酶、RNA 聚合酶等。核质蛋白 (nucleoplasmin) 是一种亲核蛋白质，由 5 个单体组成，分子质量为 165ku，具有头、尾两个不同的结构域。用蛋白水解酶可把核质蛋白切成头、尾两部分，用放射性核素标记后，把带有放射性标记的完整核质蛋白，及它的头、尾片段分别注射到爪蟾卵母细胞的细胞质中，结果发现，完整的核质蛋白和其尾部片段均可以在核内出现，而头部却仍停留在细胞质中。把直径为 20nm 的胶体金颗粒用尾部包裹，虽然它们的直径已大大超过核孔复合体的有效直径，但电镜下却可看到胶体金颗粒通过核孔进入核内 (图 11-9)，在运输过程中核孔复合体的直径从 9nm 可扩大到 26nm，说明核孔复合体中央亲水性通道的大小是可被调节的，蛋白质的核输入具有选择性。

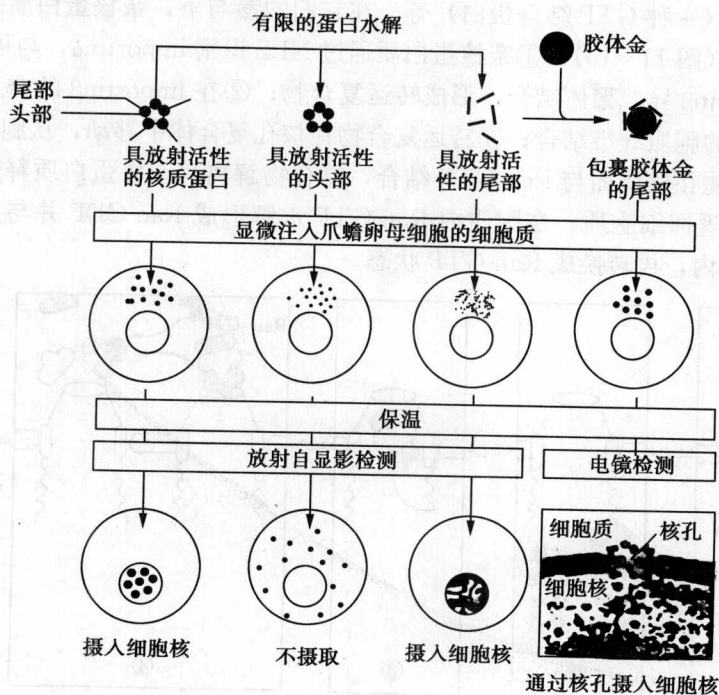


图 11-9 通过核孔摄取核质蛋白示意图 (引自 B. Alberts 等)

通过对亲核蛋白质的序列分析，发现这些亲核蛋白质一般都有一段特殊的氨基酸信号序列，正是这些信号序列起到一个“定向”、“定位”的作用，从而可保证蛋白质通过核孔复合

体向核内输入，因此，将这一特殊的信号序列命名为核定位信号（nuclear localization signal, NLS）。具有核定位信号的蛋白质才具备进入核内的条件。核定位信号首先在 SV40 病毒的 T 抗原中发现。该抗原对于病毒 DNA 在宿主细胞中的复制有重要作用。T 抗原的 NLS 由 Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val 七个氨基酸残基构成。若其中某个氨基酸残基发生突变，T 抗原就不能进入细胞核中。如果将这段 NLS 序列连接到非亲核蛋白质上，则非亲核蛋白质也被转运到核内。此后，通过大量的研究发现核定位信号是含有 4~8 个氨基酸的短肽序列。不同的亲核蛋白质上的核定位信号不同，但都富含带正电荷的赖氨酸和精氨酸，通常还有脯氨酸。这些信号序列与指导蛋白质跨膜运输的信号肽不同，它可以位于亲核蛋白质的任何部位，并且在完成核输入以后不被切除，有利于细胞分裂完成后，亲核蛋白质重新输入核。

通过大量研究表明，仅有核定位信号的蛋白质自身不能通过核孔复合体，它必须通过和 NLS 受体结合才可通过核孔复合体，这种受体称为输入蛋白（importin）。推测这些输入蛋白在被转运的亲核蛋白质与核孔复合体运输装置之间作为一种接头分子（adaptor molecule）而起作用，其作用方式可能有 3 种：①本身是核孔复合体的组分之一，结合亲核蛋白质直接转运到核内；②作为一种停泊受体（docking receptor），在细胞质内与 NLS 结合，然后把亲核蛋白质运输到核孔复合体，再向核内转运；③作为一种穿梭受体（shuttling receptor），在细胞质内与亲核蛋白质结合，一起穿过核孔复合体，在核内解离，然后再返回细胞质。

亲核蛋白质首先结合到核孔复合体的胞质面，这一步不需要能量，但依赖正常的 NLS；随后的转移步骤则需要 GTP 水解供能。目前比较确定的输入蛋白受体有 importin α 、importin β 、Ran（一种 GTP 结合蛋白）等。在它们的参与下，亲核蛋白质的入核转运可分为以下几个步骤（图 11-10）：①亲核蛋白质通过 NLS 识别 importin α ，与可溶性 NLS 受体 importin α /importin β 异二聚体结合，形成转运复合物；②在 importin β 的介导下，转运复合物与核孔复合体的胞质纤维结合；③转运复合物在核孔复合体中移动，从胞质面转移到核质面；④转运复合物在核质面与 Ran-GTP 结合，复合物解离，亲核蛋白质释放；⑤受体的亚基与结合的 Ran 返回细胞质，在胞质内 Ran-GTP 水解形成 Ran-GDP 并与 importin β 解离，Ran-GDP 返回核内，再转换成 Ran-GTP 状态。

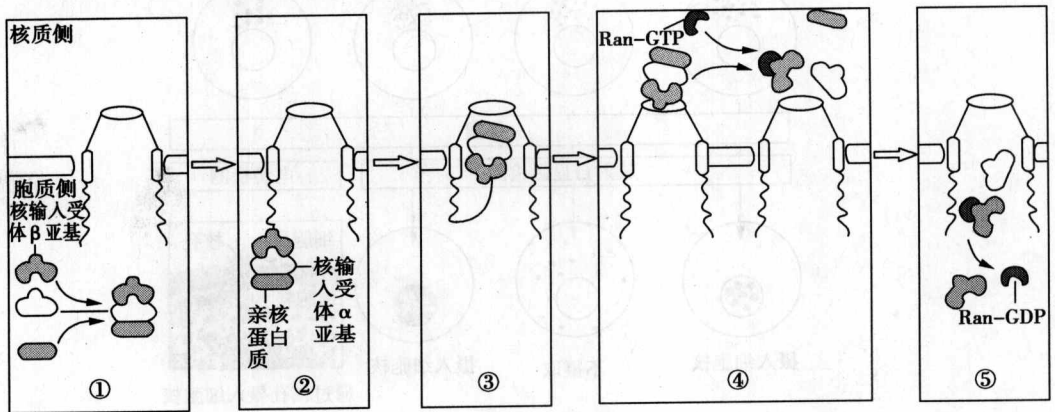


图 11-10 亲核蛋白质从细胞质向细胞核输入的过程示意图

(2) RNA 及核糖体亚基的核输出

核孔复合体除了把亲核蛋白质输入核内以外，还要把新合成的核糖体大小亚基、

mRNA和 tRNA 等输出到细胞质。用小分子 RNA (tRNA 或 5SrRNA) 包裹着直径为 20nm 的胶体金颗粒, 然后注入蛙的卵母细胞核中, 发现它们可以迅速地从细胞核进入细胞质中; 如果将它们注入蛙的卵母细胞质中, 则它们会停留在细胞质内。由此看来, 核孔复合体除了有核蛋白质输入信号的受体外, 还有识别 RNA 分子的受体。这些受体称输出蛋白 (exportin), 当核孔复合体存在这些受体时, 就向细胞质运输 RNA 或与 RNA 结合的蛋白质。

第二节 染色质和染色体

染色质 (chromatin) 和染色体 (chromosome) 是一种由 DNA、组蛋白、非组蛋白及 RNA 等组成的核蛋白复合物, 是基因的载体。它们是同一种物质在细胞周期的不同时期中所表现的两种不同存在形式。在间期核中伸展 (解螺旋) 呈细丝状, 形态不规则, 弥散在细胞核内, 称为染色质; 在细胞分裂期, 细丝状的染色质高度螺旋、折叠而缩短变粗, 形成条状或棒状的特定形态, 称为染色体。染色体是染色质的高级结构形式, 以保证遗传物质 DNA 能够准确地分配到子细胞中。

一、染色质的化学组成

染色质的化学组成为 DNA、组蛋白、非组蛋白以及 RNA 等。DNA 和组蛋白 (碱性蛋白) 的含量比较稳定, 两者的比例接近 1:1。而非组蛋白 (酸性蛋白) 的含量变动较大, 常随着细胞生理状态的不同而改变, RNA 含量很少。

(一) DNA

DNA 是染色质的主要组成部分, 是遗传信息的携带者, 含量稳定。

遗传信息是蕴藏在 DNA 分子的核苷酸序列之中的, 不同的核苷酸序列组成不同的信息, 具有不同的功能。在真核细胞中, 每条未复制的染色体含 1 个 DNA 分子, 每一种生物体细胞之间的 DNA 分子结构及其含量是一致的, 生殖细胞是体细胞含量的一半。一个生物储存在生殖细胞中的单倍染色体组中的总遗传信息, 称为基因组 (genome)。真核细胞中染色质 DNA 序列根据其在基因组中分子组成的差异分为单一序列和重复序列两大类型, 重复序列又分为中度重复序列和高度重复序列。

1. 单一序列

单一序列 (unique sequence), 又称非重复序列, 在一个基因组中一般只有单一拷贝或少数几个拷贝。真核生物大多数编码蛋白质 (酶) 的结构基因属这种形式。

2. 中度重复序列

中度重复序列 (middle repetitive sequence), 重复次数在 $10 \sim 10^5$ 之间。序列长度由几百到几千个碱基对不等。中度重复序列多数是不编码的序列, 构成基因内和基因间的间隔序列, 在基因调控中起重要作用, 涉及 DNA 复制、RNA 转录及转录后加工等方面。在中度重复 DNA 序列中, 有一些是有编码功能的基因, 如 rRNA 基因、tRNA 基因、组蛋白的基因、核糖体蛋白的基因等。

3. 高度重复序列

高度重复序列 (highly repetitive sequence), 其长度较短 ($< 200\text{bp}$), 一般为几个、十几个或几十个 bp, 但重复拷贝数超过 10^5 以上, 分布在染色体的端粒、着丝粒区。它们有些散在分布, 另一些则串联重复, 均不能转录, 主要是构成结构基因的间隔, 维系染色体结

构，还可能与减数分裂中同源染色体联会有关。

(二) 组蛋白

组蛋白 (histone) 是真核细胞染色质的主要结构蛋白质。组蛋白富含带正电荷的精氨酸和赖氨酸等碱性氨基酸，等电点一般在 pH 10.0 以上，属碱性蛋白质。用聚丙烯酰胺凝胶电泳可将组蛋白分离成 5 种，即 H₁、H₂A、H₂B、H₃、H₄。真核细胞几乎都含有这 5 种组蛋白，其特性见表 11-2。但也有例外，在鱼类和鸟类的红细胞中 H₁ 被 H₅ 取代。5 种组蛋白在染色质的分布与功能上存在差异，可分为核小体组蛋白和连接组蛋白。

表 11-2 组蛋白的分类及特性

种类	赖氨酸/ 精氨酸	残基数	分子质量 (ku)	保守性	存在部位及结构作用
H ₁	29.0	215	23.0	低	存在于连接线上，锁定核小体及参与高一层次的包装
H ₂ A	1.22	129	14.0	高	存在于核心颗粒，形成核小体
H ₂ B	2.66	125	13.8	高	存在于核心颗粒，形成核小体
H ₃	0.77	135	15.3	极高	存在于核心颗粒，形成核小体
H ₄	0.79	102	11.3	极高	存在于核心颗粒，形成核小体

核小体组蛋白包括 H₂A、H₂B、H₃、H₄ 四种，分子质量较小，一般由 102~135 个氨基酸残基组成，这类组蛋白之间有相互作用形成聚合体的趋势，从而可将 DNA 蜷曲形成核小体。核小体的组蛋白在进化上高度保守，无种属及组织特异性，其中 H₃ 和 H₄ 是已知蛋白质中最为保守的，不同种属间这两种蛋白的一级结构高度相似，例如牛和豌豆的 H₄ 组蛋白的 102 个氨基酸残基中仅有 2 个不同，海星与小牛胸腺的 H₄ 组蛋白仅有一个氨基酸不同，这一特点表明 H₃ 和 H₄ 的功能几乎涉及它们所有的氨基酸，以致其分子中任何氨基酸残基的改变都将对细胞产生有害影响。已经知道 H₃ 和 H₄ 在染色质的高度凝集过程中可起重要的作用。

H₁ 组蛋白由 215 个氨基酸组成，分子质量较大，为连接组蛋白。H₁ 组蛋白在进化中不如核小体组蛋白那么保守，有一定的种属特异性，H₁ 组蛋白在构成核小体时起连接作用，与染色质的高级结构的构建有关。

组蛋白可以和酸性的 DNA 紧密结合，对维持染色质结构和功能的稳定性起关键作用。组蛋白与 DNA 结合可抑制 DNA 的复制与转录，但当组蛋白乙酰化或磷酸化后，则可改变组蛋白的电荷性质，降低组蛋白与 DNA 的结合，从而有利于复制和转录的进行。而甲基化则可增强组蛋白与 DNA 的相互作用，降低 DNA 的转录活性。

(三) 非组蛋白

非组蛋白 (non-histone) 是细胞核中除组蛋白以外所有蛋白的总称。为一类带负电荷的酸性蛋白质。非组蛋白约有 500 多种不同组分。分子质量一般在 15~100ku 之间。包括染色体骨架蛋白、调节蛋白及参与核酸代谢和染色质化学修饰的相关酶类。

非组蛋白有种属和组织特异性。在整个细胞周期都能合成。而且随着细胞的生理状态不同，含量也有变化，一般功能活跃细胞的染色质中非组蛋白的含量高于不活跃细胞中的染

色质。

非组蛋白能识别特异的 DNA 序列，识别信息来源于 DNA 核苷酸序列本身，识别位点存在于 DNA 双螺旋的大沟部分。识别与结合靠氢键和离子键。在不同的基因组之间，非组蛋白所识别的 DNA 序列在进化上是保守的。

非组蛋白的主要功能有：

1. 参与染色体的构建

组蛋白把 DNA 双链分子装配成核小体串珠结构后，非组蛋白则帮助 DNA 分子进一步盘曲折叠。在染色质结构的“袈环”模型中，DNA 袈环停泊在非组蛋白的支架上，构建成染色质的高级结构。

2. 启动 DNA 的复制

非组蛋白的组分中含有启动蛋白、DNA 聚合酶、引物酶等，它们以复合物形式结合在某段 DNA 分子上，启动和推进 DNA 分子的复制。

3. 调控基因的转录

有些非组蛋白是转录活动的调控因子，与基因的选择性表达有关。非组蛋白作用于一段特异 DNA 序列上，能特异地解除组蛋白对 DNA 的抑制作用，以调控有关基因的转录。

(四) RNA

染色质中含有少量 RNA，但其含量有较大的变化，其存在部位和作用还不清楚。这些 RNA 是染色质中的正常组分还是 DNA 转录出来的各种 RNA 的混杂，有待进一步研究。

二、染色质的类型

如前所述，染色质是细胞间期核中解螺旋染色体的形态表现。根据其所含核蛋白分子螺旋化程度以及功能状态的不同，染色质可分为常染色质 (euchromatin) 和异染色质 (heterochromatin)。

(一) 常染色质

常染色质是指间期核中处于伸展状态，螺旋化程度低，用碱性染料染色时着色浅而均匀的染色质。构成常染色质的 DNA 主要是单一序列 DNA 和中度重复序列 DNA (如组蛋白基因和核糖体蛋白基因)，常染色质具有转录活性，是正常情况下经常处于功能活性状态的染色质，但并非常染色质的所有基因都具有转录活性，处于常染色质状态只是基因转录的必要条件。常染色质大部分位于间期核的中央，一部分介于异染色质之间，如在浆细胞中，常、异染色质相间排列形成典型的车轮状图形。在核仁相随染色质中也有一部分常染色质，往往以袈环的形式伸入核仁内。在细胞分裂期，常染色质位于染色体的臂。

(二) 异染色质

异染色质是指间期核中，螺旋化程度高，处于凝集状态，碱性染料染色时着色较深的染色质，一般位于核的边缘或围绕在核仁的周围，是转录不活跃或者无转录活性的染色质。

异染色质可分为结构异染色质 (constitutive heterochromatin) 和兼性异染色质 (facultative heterochromatin) 两类。结构异染色质是异染色质的主要类型，在各种细胞类型的细胞周期中 (除复制期外) 都呈浓缩状态，由高度重复的 DNA 序列构成，如卫星 DNA (satellite DNA)；在中期染色体上常位于染色体的着丝粒区、端粒区、次缢痕等部位；具有显著的遗传惰性，不转录也不编码蛋白质；在复制行为上，较常染色质早浓缩晚复制。将培养

细胞同步化，在 S 期掺入³H 胸腺嘧啶的实验证明，结构异染色质多在 S 期的晚期复制，而常染色质多在 S 期的早、中期复制。

兼性异染色质是指在某些细胞类型或在一定发育阶段，原来的常染色质聚缩，丧失转录活性，变为异染色质。兼性异染色质的总量随不同细胞类型而变化，一般胚胎细胞含量少，而高度分化的细胞含量较多，这就说明随着细胞分化，较多的基因渐次以聚缩状态而关闭。因此，染色质的压缩折叠可能是关闭基因活性的一种途径。

例如人类女性卵母细胞和胚胎发育早期，两条 X 染色体均为常染色质。至胚胎发育的第 16~第 18 天，体细胞将随机保持一条 X 染色体有转录活性，呈常染色质状态；而另一条 X 染色体则失去转录活性，成为异染色质。在间期核中失活的 X 染色体呈异固缩状态，形成直径约 $1\mu\text{m}$ 的浓染小体，紧贴核膜内缘，称为 X 染色质或 X 小体。X 染色质检查可用于性别和性染色体异常鉴定（图 11-11）。

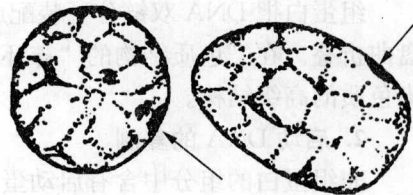


图 11-11 X 染色质（箭头所指）

三、染色质的结构与包装

一条染色体在复制前含有一条 DNA 双链分子。在复制后每条染色体由两条 DNA 双链分子构成，其中每条 DNA 双链分子分别构成一条染色单体（chromatid）。在正常人体二倍体细胞中具有 46 条染色体，长短不一，如将这 46 条染色体中 DNA 的长度相加起来，其总长度可近 2m。这么长的 DNA 分子以及结合的组蛋白、非组蛋白等分子，充塞在直径只有几微米的细胞核内，必须经过有序的安装、压缩，才能保证在细胞分裂中将遗传物质平均分配到两个子细胞中去。现在已经知道染色质的基本结构单位是核小体（nucleosome），由核小体再进一步构成更高级的结构。

（一）核小体为染色质的基本结构单位

组成染色质和染色体的基本结构单位是核小体。每个核小体由核小体核心颗粒和连接丝组成，包括有 200 个左右碱基对（bp）的 DNA、8 个组蛋白分子组成的八聚体及一分子组蛋白 H_1 。八聚体是由 4 种组蛋白 H_2A 、 H_2B 、 H_3 和 H_4 各两个分子组成，两个 H_3 、 H_4 二聚体相互结合形成四聚体，位于核心颗粒中央，两个 H_2A 、 H_2B 二聚体，分别位于四聚体两侧。每个二聚体通过离子键和氢键结合约 30 个 bp 的 DNA。146 个 bp 的 DNA 分子在八聚体上缠绕 1.75 圈，形成核小体核心颗粒。在两个相邻的核小体之间由 50~60 个 bp 的 DNA 分子连接，称为连接丝，其长度变异较大，随细胞类型不同而不同，其上结合一个组蛋白分子 H_1 ，组蛋白 H_1 锁定核小体 DNA 的进出端，起稳定核小体的作用。很多个核小体形成一条念珠状的纤维，直径约为 10nm（图 11-12）。

组蛋白与 DNA 之间的互相作用主要是结构性的，基本不依赖核苷酸的特异序列。实验表明，核小体具有自装配的性质。

核小体沿 DNA 的定位受不同因素的影响，如与 DNA 特异位点结合的非组蛋白能够影响邻近核小体的位置；DNA 围绕组蛋白核心弯曲也是影响核小体定位的因素，因为富含 AT 的 DNA 片段优先存在于 DNA 双螺旋的小沟，面向组蛋白八聚体，而富含 GC 的 DNA 片段优先存在于 DNA 双螺旋的大沟，背向组蛋白八聚体，由此看来，核小体通常位于富含 AT 区和富含 GC 区的理想分布，核小体在 DNA 中的精确定位对于基因表达具有十分重要

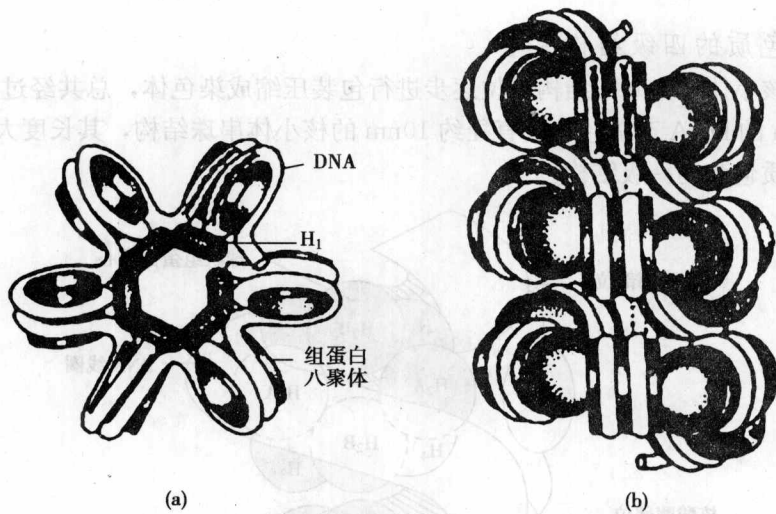


图 11-13 螺线管模型
(a) 顶面观; (b) 侧面观

体 (图 11-14)。

祥环模型最早是由 Laemmli 等 (1997) 根据大量的实验结果提出的。他们用 2mol/L 的 NaCl 溶液加肝素处理 HeLa 细胞中期染色体, 以去除组蛋白及大部分非组蛋白。电镜下观察染色体铺展标本, 看到由非组蛋白构成的染色体骨架, 两条染色体的骨架相连于着丝粒区。由骨架的一点伸展出许多直径 30nm 的染色质纤维构成的侧环。若用 EDTA 处理染色体标本后, 则可见 30nm 的纤维解螺旋, 形成 10nm 的纤维。因此, 染色体从纵轴向周围伸展出的 30nm 的祥环, 其基部与非组蛋白的轴相连。

四、染色体

(一) 染色体的形态结构

染色体的形态结构在细胞增殖周期中不断运动变化着, 一般在有丝分裂中期, 染色体的形态最典型、最清晰、最易辨认和区别, 可用光学显微镜进行观察, 常用于染色体研究及染色体病的诊断检查。

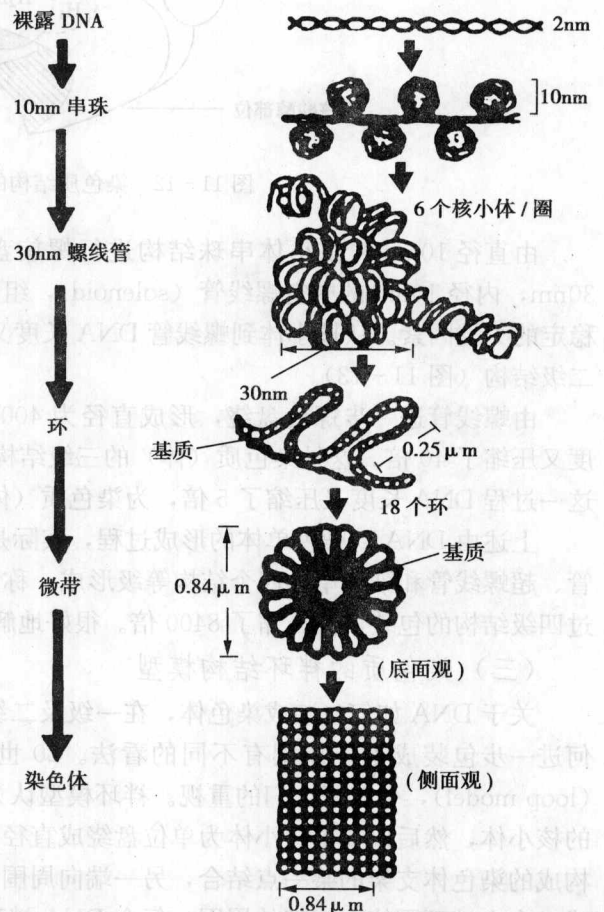


图 11-14 染色体包装的祥环结构模型示意图

每一中期染色体都是由两条相同的染色单体构成。彼此互称为姐妹染色单体 (sister chromatid)。两条染色单体在着丝粒 (centromere) 处相连, 该处染色体凹陷缩窄, 称为初级缢痕 (primary constriction) 或主缢痕。着丝粒位于主缢痕内两条染色单体相连处的中心部位, 即主缢痕的内部结构。在主缢痕处两条染色单体的外侧表层部位有一盘状结构, 称为动粒 (kinetochore)。动粒可分为外、中、内三层, 外层电子密度中等, 厚 30~40nm; 中层电子密度低, 最透明, 为无结构的亮区, 厚 15~60nm; 内层电子密度高, 为颗粒状结构, 厚 15~40nm; 动粒是纺锤体微管附着之处, 它与细胞分裂过程中染色体的运动密切相关 (图 11-15)。在细胞分裂后期, 微管拉着两条染色单体向细胞两极移动, 动粒起着核心作用, 控制着微管的装配和染色体的移动。

着丝粒将染色体分为短臂 (代表符号为 p) 和长臂 (代表符号为 q)。在长、短臂的末端有一特化的部分, 称为端粒 (telomere)。它是染色体末端必不可少的结构, 对维持染色体形态结构的稳定性和完整性起着重要作用。在正常情况下, 染色体末端彼此之间不相接, 但当染色体发生断裂而端粒丢失后, 染色体的断端可以彼此粘连相接, 形成异常染色体。此外, 在有些染色体的长、短臂上可见凹陷缩窄区, 称为次级缢痕 (secondary constriction)。在人类近端着丝粒染色体短臂的末端, 可见球状结构, 称为随体 (satellite)。随体柄部凹陷缩窄的次级缢痕与核仁的形成有关, 称为核仁组织区或核仁形成区 (nucleolus organizing region, NOR) (图 11-16, 图 11-17)。

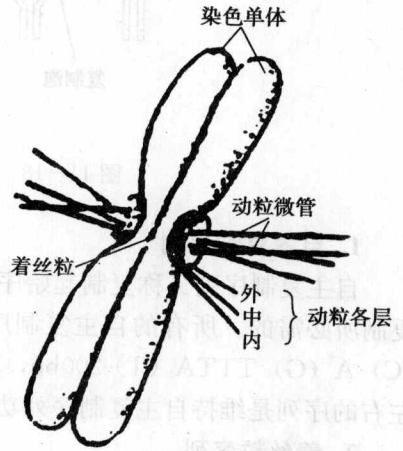


图 11-15 着丝粒与动粒的模式图

(二) 染色体稳定遗传的功能序列

真核生物进行有丝分裂和减数分裂时, 首先要进行染色体复制, 然后均等分配到两个子细胞中。要达到这个目的, 在染色体上必须具有 3 个功能序列, 即: 自主复制序列 (autonomously replication sequence, ARS)、着丝粒序列 (centromeric sequence, CEN sequence) 和端粒序列 (telomeric sequence, TEL sequence) (图 11-18)。

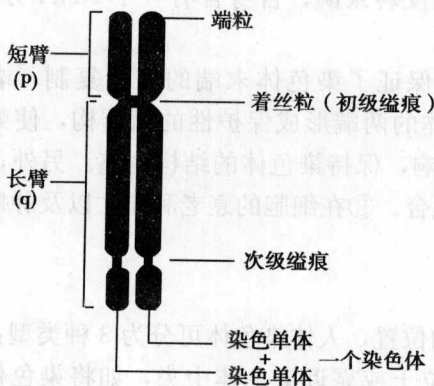


图 11-16 中期染色体模式图

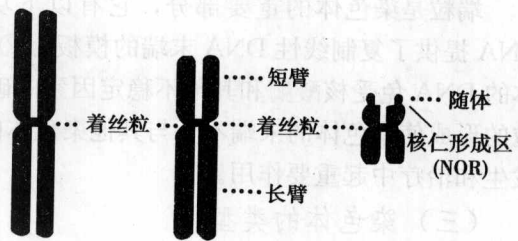


图 11-17 人类染色体的三种类型

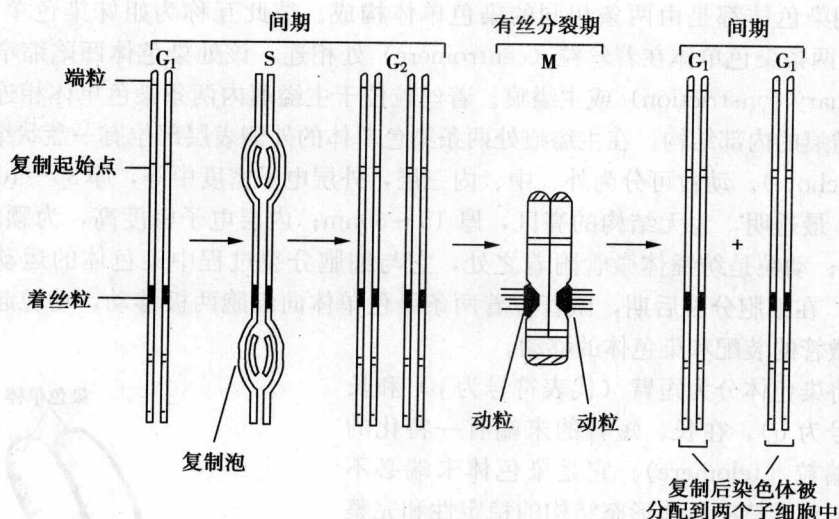


图 11-18 真核细胞染色体 DNA 的三个关键序列

1. 自主复制序列

自主复制序列又称复制起始序列 (replication origin sequence)。这种序列是染色体起始复制所必需的。所有的自主复制序列的 DNA 均有一段保守序列：200bp-A (T) TTTAT (C) A (G) TTTA (T)-200bp，真核生物染色体上有多个自主复制序列。上下游各 200bp 左右的序列是维持自主复制序列功能所必需的。

2. 着丝粒序列

着丝粒序列是真核生物在有丝分裂和减数分裂时，两个姐妹染色单体连接的区域，含有 11 个高度保守的碱基序列：-TGATTTCGAA-，功能是形成着丝粒，在细胞分裂时，两个姐妹染色单体从着丝粒分离，保证均等分配两个子代染色单体。

3. 端粒序列

端粒序列是线性染色体两端的特殊序列，在序列组成上十分相似。端粒 DNA 为一串联重复序列，双链中的一条 3' 端为富含 TG 的序列，互补链为富含 CA 的序列；这个重复序列单位在进化中高度保守，如草履虫的 TTGGGG、锥虫的 TAGGG、拟南芥的 TTAGGG、人类的 TTAGGG。端粒是由端粒酶合成的。该酶是反转录酶，自身含有一个 RNA 分子，可作为延长 DNA 末端的模板，合成的方向是 5'→3'。

端粒是染色体重要部分，它有以下功能：①保证了染色体末端的完全复制，端粒 DNA 提供了复制线性 DNA 末端的模板。②在染色体的两端形成保护性的帽结构，使染色体的 DNA 免受核酸酶和其他不稳定因素的破坏和影响，保持染色体的结构完整。另外，端粒的形成使染色体的末端不会与其他染色体的末端融合。③在细胞的衰老和死亡以及肿瘤的发生和治疗中起重要作用。

(三) 染色体的类型

染色体上着丝粒的位置是恒定的。根据着丝粒的位置，人体染色体可分为 3 种类型：中着丝粒染色体 (metacentric chromosome)，着丝粒位于或靠近染色体中央，如将染色体全长分为 8 等份，则着丝粒位于染色体纵 (长) 轴的 1/2~5/8 之间，将染色体分为长、短相近的两个臂；亚中着丝粒染色体 (submetacentric chromosome)，着丝粒位于染色体纵轴的

5/8~7/8 之间, 将染色体分为长、短明显不同的两个臂; 近端着丝粒染色体 (acrocentric chromosome), 着丝粒靠近一端, 位于染色体纵轴的 7/8 至近末端之间, 短臂很短, 在短臂的末端具有球形的随体, 其柄部的次缢痕为核仁形成区 (NOR) (图 11-17)。此外, 在某些动物细胞中可见到另一种类型的染色体, 即着丝粒位于染色体的末端, 无短臂, 称为端着丝粒染色体 (telocentric chromosome) (图 11-19), 在人类正常染色体中没有这种端着丝粒染色体, 但在肿瘤细胞中可以见到。

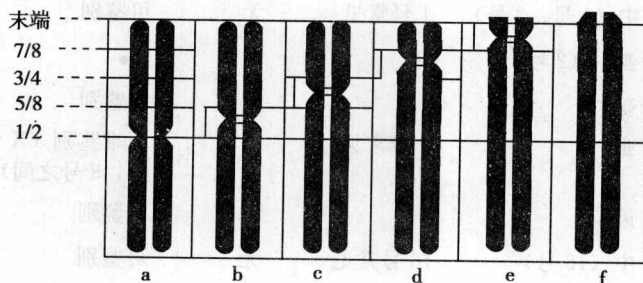


图 11-19 染色体的 4 种类型图解

a、b—中着丝粒染色体; c、d—亚中着丝粒染色体; e—近端着丝粒染色体; f—端着丝粒染色体

(四) 人类的正常核型

1956 年确定证实了人类正常体细胞中染色体数为 46 条, 即 $2n=46$ 条, 正常性细胞 (精子或卵细胞) 中染色体数为 23 条, 即 $n=23$ 条。

核型 (karyotype) 是指一个体细胞中的全部染色体, 按其大小、形态特征顺序排列所构成的图像。将待测细胞的核型进行染色体数目、形态特征的分析, 称为核型分析 (karyotype analysis)。

1960 年在美国丹佛、1963 年在英国伦敦、1966 年在美国芝加哥相继召开了三次人类细胞遗传学国际会议, 讨论制定了人类染色体的识别、分组、编号以及正常和异常核型描述等统一的国际标准命名。按照这一命名体制, 根据染色体的长度和着丝粒的位置, 将人类体细胞的 46 条染色体进行配对, 顺序排列编号, 其中 22 对为男女所共有, 称为常染色体 (autosomal chromosome), 编为 1~22 号, 并分为 A、B、C、D、E、F、G 七个组, A 组最大, G 组最小。另一对随男女性别而异, 称为性染色体 (sex chromosome)。女性为 XX 染色体, 男性为 XY 染色体。X 染色体较大, 为亚中着丝粒染色体, 列入 C 组; Y 染色体较小, 为近端着丝粒染色体, 列入 G 组。正常发育时, 具 XY 染色体的个体发育为男性, 具有 XX 染色体的个体发育为女性。人类各组染色体的形态特征见表 11-3。

按照国际标准, 核型的描述包括两部分内容, 第一部分是染色体总数 (包括性染色体), 第二部分是性染色体组成, 两者之间用逗号隔开。

正常女性核型描述为 46, XX。正常男性核型描述为 46, XY。在核型中每对染色体是成对存在的, 其中一条来自父方的精子, 一条来自母方的卵子, 每对染色体在形态结构、大小和着丝粒位置上基本相同, 称为同源染色体 (homologous chromosome), 而不同对的染色体彼此称为非同源染色体 (non-homologous chromosome)。

上述人类非显带染色体核型, 是指应用常规染色方法所得到的染色体标本。染色体除着

丝粒和次缢痕外，整条染色体着色均匀，因此在正常核型中，除 A 组和 E 组外，组内各号染色体均难以鉴别。20 世纪 60 年代末至 70 年代染色体显带技术的问世和发展，使染色体研究跨入了一个新纪元。

表 11-3 人类核型分组与各组染色体形态特征（非显带）

组号	染色体号	大小	着丝粒位置	次缢痕	随体	组内鉴别程度
A	1~3	最大	中 (1 号、3 号) 亚中 (2 号)	1 号常见	无	可鉴别
B	4~5	次大	亚中		无	难鉴别
C	6~12; X	中等	亚中	9 号常见	无	难鉴别 (X 位于 6 号, 7 号或 7 号, 8 号之间)
D	13~15	中等	近端		有	难鉴别
E	16~18	小	中 (16 号) 亚中 (17 号、18 号)	16 号常见	无	可鉴别
F	19~20	次小	中		无	难鉴别
G	21~22; Y	最小	近端		(21 号、22 号) 有 (Y) 无	难鉴别 (21 号、22 号) 可鉴别 (Y 两长臂平行靠拢)

染色体标本经过一定程序处理，并用特定染料染色，使染色体沿其长轴显现出明暗或深浅相间的横行带纹，称为染色体显带，而这种显示染色体带的技术，称为显带技术。通过显带技术，使各号染色体都显现出独特的带纹，这就构成了每条染色体的带型。每对同源染色体的带型基本相同且相对稳定，不同对染色体的带型不同，因此通过显带染色体核型分析，可准确地识别每一号染色体。这大大提高了核型分析的精确度，为临床上某些疾病的诊断和病因研究提供了有效的手段。

显带技术主要有 G 显带、Q 显带、R 显带，高分辨显带、C 显带、T 显带和 N 显带等。

第三节 核 仁

核仁是真核细胞间期核中出现的结构，在细胞分裂期表现出周期性的消失和重建。核仁的形状、大小、数目依生物的种类、细胞的形状和生理状态而异。每个细胞核一般有 1~2 个核仁，但也有多个的。蛋白质合成旺盛、生长活跃的细胞，如分泌细胞、卵母细胞中的核仁较大，其体积可达细胞核的 25%；蛋白质合成不活跃的细胞，如精子和肌细胞，休眠的植物细胞其核仁不明显或不存在。核仁的最主要功能是 rRNA 合成、加工和核糖体亚基的装配场所。

一、核仁的化学组成

细胞化学和生化分析等研究表明，核仁含有 3 种主要成分：蛋白质、RNA 和 DNA。但这三种成分的含量很不恒定，依细胞类型和生理状态而异。

从离体核仁的分析得知，核仁的蛋白质占核仁干重的 80% 左右。核仁的蛋白质包括核糖体蛋白、组蛋白、非组蛋白等多种蛋白质。电泳分析表明核仁蛋白质有百种以上。核仁中

存在许多参与核仁生理功能的酶类，例如碱性磷酸酶、核苷酸酶、ATP 酶、RNA 聚合酶、RNA 酶、DNA 酶和 DNA 聚合酶等。

核仁中的 RNA 含量大约占核仁干重的 10%，变动范围在 3%~13%。RNA 转录及蛋白质合成旺盛的细胞，其核仁的 RNA 含量高。

核仁的 RNA 与蛋白质常结合成核糖核蛋白。

核仁中含有约 8% 的 DNA，主要是存在于核仁相随染色质中的 DNA。

核仁还含有微量脂类。含水量较核内其他组分少。

二、核仁的结构

光学显微镜下，核仁通常是匀质的球体，具有较强的折光性，容易被某些碱性或酸性染料着色。

在电镜下，核仁是裸露无膜的、由纤维丝构成的网状结构，由核仁相随染色质、纤维成分、颗粒成分和核仁基质 4 部分组成（图 11-20）。

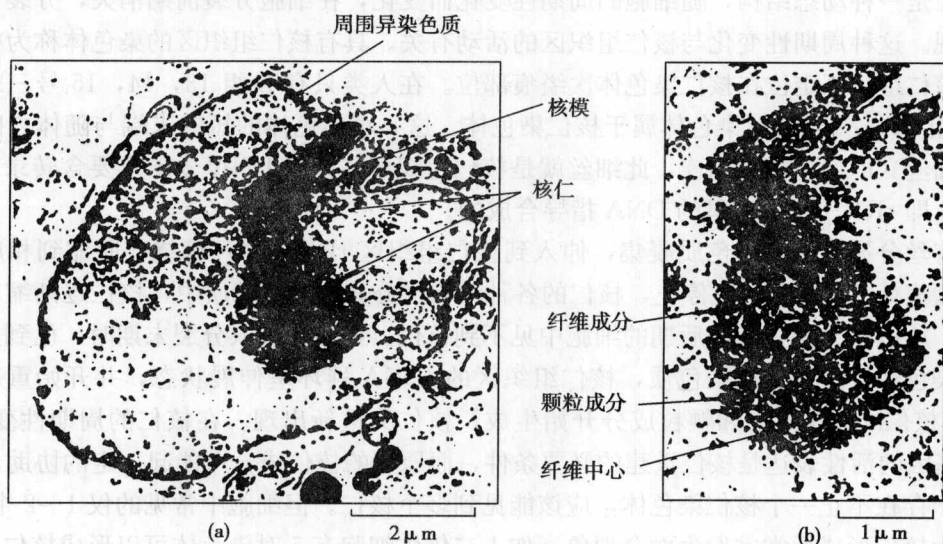


图 11-20 人成纤维细胞核仁电镜图

(a) 细胞核；(b) (a) 图的放大

(一) 核仁相随染色质

电镜下核仁相随染色质 (nucleolar associated chromatin) 由直径 10nm 的纤维组成，位于核仁中央部位的浅染低电子密度区，包埋在颗粒成分的内部。包括两部分：一部分围绕在核仁周围，叫核仁周围染色质 (perinucleolar chromatin)，主要由不活跃的异染色质组成；另一部分深入核仁内，称为核仁内染色质 (intra-nucleolar chromatin)，这一部分主要是有功能活性的常染色质，其中 DNA 分子以环袂形式伸展到核仁的纤维结构部分，内含有 rRNA 的基因，称为 rDNA，为合成 rRNA 提供模板。rRNA 基因成串排列，通过转录产生 rRNA，在形成核仁的过程中发挥作用。因此被称为核仁组织者 (nuclear organizer)。

(二) 纤维成分

纤维成分 (fibrillar component) 位于核仁浅染区周围的高电子密度区，染色深，呈环

形或半月形分布。电镜下可见该区域由紧密排列的细纤维丝组成，长 20~40nm，直径 5~8nm，多在核仁的中心部位。纤维丝的主要成分是 rRNA 和蛋白质，构成核仁的海绵状网架。用 RNA 酶及蛋白酶可将该区域的纤维丝消化。

(三) 颗粒成分

颗粒成分 (granular component) 是电子密度较大的颗粒，直径 15~20nm，密布于纤维网架之间，或围绕在纤维成分的外侧。颗粒成分主要由 RNA 和蛋白质组成，其大小比胞质中的核糖体略小，一般认为它们是正在加工的核糖体前体颗粒。

(四) 核仁基质

上述三种组分存在于核仁基质中。核仁基质为无定形的蛋白质性液体物质，电子密度低。因核仁基质与核基质互相沟通，所以有人认为核仁基质与核基质是同一物质。

三、核仁的形成

核仁是一种动态结构，随细胞的周期性变化而变化，在细胞分裂前期消失，分裂末期又重新出现。这种周期性变化与核仁组织区的活动有关。具有核仁组织区的染色体称为核仁染色体。核仁组织区定位在核仁染色体次缢痕部位。在人类只有 D 组 13, 14, 15 号三对染色体和 G 组 21, 22 号两对染色体属于核仁染色体。这 5 对染色体的短臂末端与随体之间有一染色质细丝 (即次缢痕) 相连，此细丝就是核仁组织区，此段 DNA 分子主要含转录 rRNA 的基因，即 rRNA 是由这里的 DNA 指导合成的。

在有丝分裂前期，染色质凝集，伸入到核仁组织区 rDNA 祥环缠绕、回缩到相应的染色体次缢痕处，rRNA 合成停止，核仁的各种结构成分分散于核基质中，核仁逐渐缩小，最后消失。所以在分裂中期和后期的细胞中见不到核仁。当细胞进入分裂末期时，已到达细胞两极的染色体逐渐解旋成染色质，核仁组织区的 rDNA 祥环呈伸展状态，并开始重新合成 rRNA，核仁的纤维成分和颗粒成分开始生成，核仁又重新出现。在核仁的周期性变化中，rRNA 基因的活性表达是核仁重建的必要条件，而原有的核仁成分可能起一定的协助作用。

由于存在不止一个核仁染色体，应该能见到多个核仁。但细胞中常见的仅 1~2 个核仁，这是因为核仁形成后常常发生融合现象。如人二倍体细胞有 5 对染色体可以形成核仁，应该有 10 个小的核仁，但它们很快相互融合，形成在间期细胞中所见到的一个较大的核仁 (图 11-21)，在一个大的核仁中包含有从 5 对染色体上来的 DNA 祥环，这些祥环上包含有 rRNA 的基因 (图 11-22)。

四、核仁的功能

核仁是 rRNA 合成、加工和装配核糖体亚基的重要场所。在 RNA 聚合酶等多种酶的参与下，核仁中的 rDNA 开始转录 rRNA，转录的 rRNA 成熟有一个过程，初级产物是纤维状，以后是颗粒状，最后完全成熟，形成核糖体亚基，由核仁转运至细胞质。

(一) rRNA 的合成和加工

真核生物中的 18S、5.8S 和 28SrRNA 基因组成一个转录单位，在核仁组织区呈串状重复排列。已知在所有的细胞中均含有多拷贝编码 rRNA 的基因。如人单倍体基因组的 rRNA 基因拷贝，成簇串联分布在 5 条不同的染色体上，每个基因之间由间隔 DNA 分开。

根据在两栖类卵母细胞和其他细胞中具有转录活性的 rRNA 基因的电镜观察，发现它

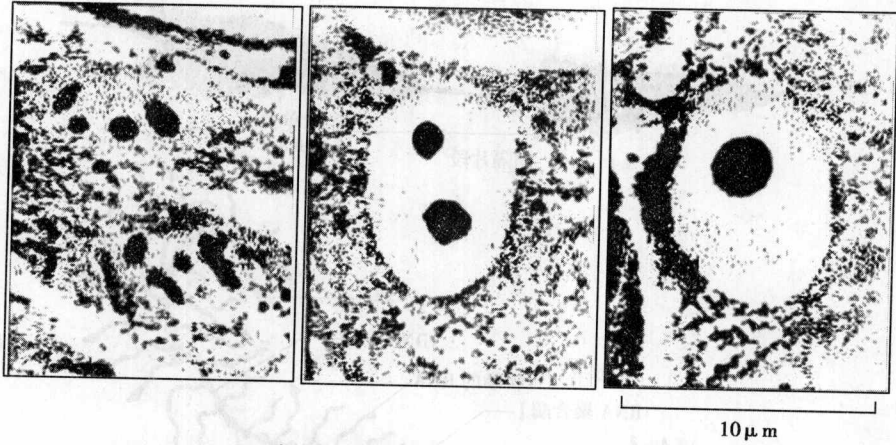


图 11-21 核仁的融合 (光学显微镜下体外培养人成纤维细胞核仁融合的不同阶段)

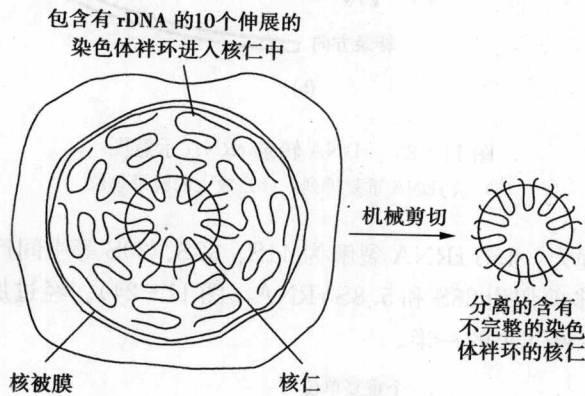


图 11-22 包含有 rRNA 基因的人细胞中 10 个核仁染色体上的袈环延伸入核仁, 形成核仁中的 DNA 袈环

们都有共同的形态特征, 即核仁的核心部分由长的 DNA 纤维组成, 新生的 RNA 链从 DNA 长轴两侧垂直伸展出来, 而且是从一端到另一端有规律地增长, 构成箭头状, 似圣诞树 (christmas tree) 的结构外形 (图 11-23)。沿 DNA 长纤维有一系列重复的箭头状结构单位。每个结构单位中的 DNA 纤维是一个 rRNA 的基因, 因而每个箭头状结构代表一个 rRNA 基因转录单位。在两个箭头状的结构之间存在着裸露的不被转录的间隔 DNA。不同动物的 DNA 间隔片段长度不同, 人的间隔片段长约 30kb。在 DNA 长轴纤维和 RNA 纤维相连接部位有 RNA 聚合酶 I, 它们一边读码一边沿 DNA 分子的转录起点向转录终点移动, 使转录合成中的 rRNA 逐渐加长, 最终转录成 45SrRNA 分子。

从 45S rRNA 剪切为 18S、5.8S 和 28S 三种 rRNA, 是一个多步骤的复杂加工过程, 通过聚丙烯酰胺凝胶电泳, 可以从核仁 RNA 中分离出许多沉降系数不同的 rRNA, 它们是成熟 rRNA 生成过程中的中间产物。通过³H 标记尿嘧啶和放线菌素 D 研究 HeLa 细胞前 rRNA 合成时发现: 当 HeLa 细胞同³H 标记尿嘧啶共培养 25 分钟后, 被标记的 rRNA 的沉降系数是 45S, 加入放线菌素 D 阻断 RNA 的合成后, 标记的 45S rRNA 首先转变成 32S 的 rRNA, 随着培养时间的延长, 逐渐出现被标记的 28S、18S 的 rRNA。根据这一研究结果

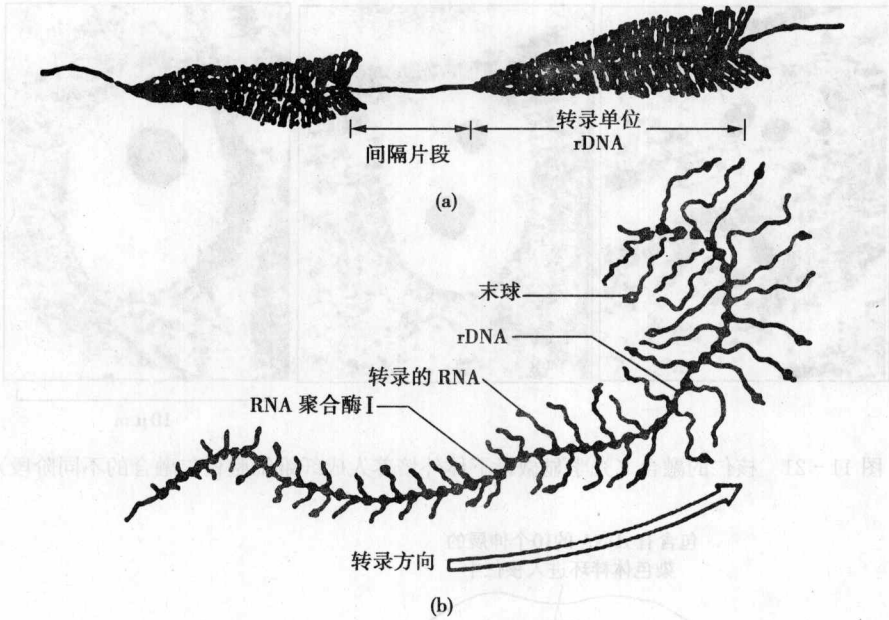


图 11-23 rDNA 转录 rRNA 示意图
 (a) 示 rDNA 重复排列；(b) 放大的转录单位

推测 rRNA 的加工过程为：45S rRNA 裂解为 41S、32S、20S 等中间产物。20S 很快裂解为 18S rRNA，32S 进一步剪切为 28S 和 5.8S rRNA (图 11-24)。经过加工后，成熟的 rRNA 的核苷酸序列约为 45S rRNA 的一半。

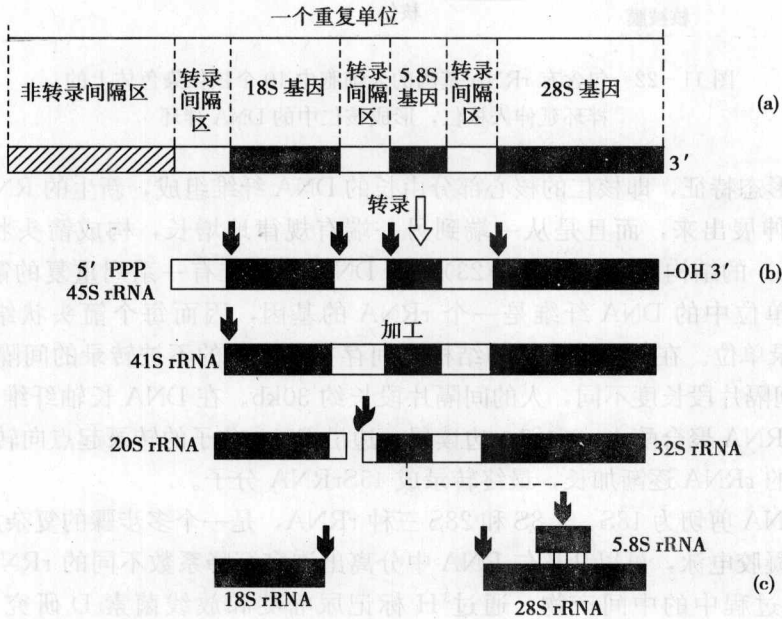


图 11-24 45S rRNA 前体加工过程示意图
 (a) 一个 rDNA 单位基因图谱示意图；(b) 转录的 45S rRNA 前体分子；(c) 加工后的 3 种 rRNA

虽然所有真核生物的 18S、5.8S 和 28S rRNA 基因是相同的，并且在染色体上组成同一个转录单位，但是不同生物中的 18S、5.8S 和 28S rRNA 基因的转录起点和间隔区的长短并不完全相同。

由于不同生物的 rDNA 转录起点不同、间隔区长短不同，所以前 rRNA 的大小不都是 45S，范围在 34~45S 之间（表 11-4）。

在 rRNA 的成熟过程中，前 rRNA 分子中的某些碱基进行甲基化修饰，甲基化的主要部位在核糖第二位的羟基上。甲基化可能对加工起引导作用。实验证明前 rRNA 中被甲基化的部位在加工过程中并未被切除，而是一直保持到成熟的 rRNA 中。研究发现，如果人为地阻断前 rRNA 的甲基化，前 rRNA 的成熟加工也被阻断，因此，推测前 rRNA 的甲基化对 rRNA 的加工具有指导作用。另外，前 rRNA 的修饰可能有利于 rRNA 的正确折叠以及与别的分子正确的相互作用。

真核细胞核糖体中 5S rRNA（含有 120 个核苷酸）基因不定位在核仁组织区，如人类的 5S rRNA 基因定位在 1 号染色体上，也是串联重复排列的，中间同样有不被转录的间隔区域，5S rRNA 是由 RNA 聚合酶 III 所转录的，转录后被运至核仁中，参与核糖体大亚基的装配。

(二) 核糖体亚基的组装

核糖体大小亚基的组装是在核仁内进行的。如图 11-25 所示，45S rRNA 前体转录出来以后，很快与进入核仁的蛋白质结合，组成 80S 的核糖核蛋白颗粒。以核糖核蛋白方式进行加工，即边转录边进行核糖体亚基的组装。根据对带有放射性标记的核仁组分的分析，发现大部分核糖体蛋白质参与了 45S rRNA 的包装，在加工过程中，80S 的大核糖核蛋白颗粒逐渐失去一些 RNA 和蛋白质，然后剪切形

表 11-4 不同生物的前 rRNA

生物	前 rRNA 的沉降系数
果蝇	34S
裂殖酵母	37S
烟草	38S
蛙	40S
鸡	45S
小鼠	45S
人	45S

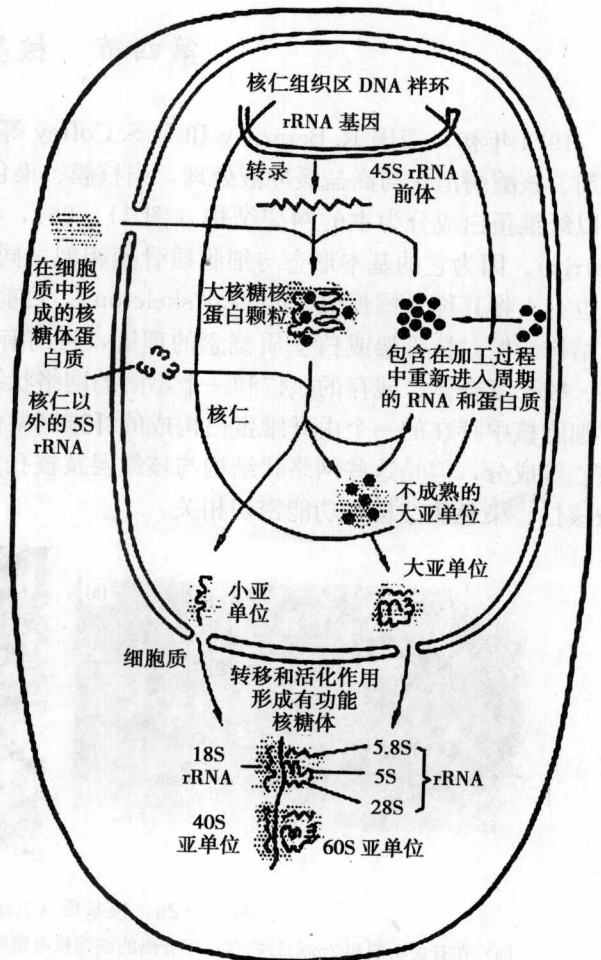


图 11-25 核仁在核糖体合成与组装中的作用图解

成两种大小不同的核糖体亚基。由28S rRNA、5.8S rRNA、5S rRNA与蛋白质一起装配成核糖体的大亚基，其沉降系数为60S。18S rRNA与蛋白质共同构成核糖体的小亚基，其沉降系数为40S。大、小亚基形成后，经过核孔进入细胞质，进一步装配为成熟的核糖体。

通过放射性脉冲标记和示踪实验表明，在30分钟内，核糖体小亚基在核仁中首先成熟，并很快通过核孔进入细胞质中，而核糖体大亚基的组装需1小时左右，所以核仁中核糖体的大亚基比小亚基多。加工下来的蛋白质和小的RNA分子存留在核仁中，可能起着催化核糖体构建的作用。

一般认为，核糖体的成熟作用只发生在其亚基被转移到细胞质以后，这样有利于阻止有功能的核糖体与细胞核内加工不完全的hnRNA分子结合，避免mRNA前体提前在核内进行翻译，这一特点对于保证真核细胞的转录、翻译控制在不同时空中进行有重要的意义。

由于核糖体是合成蛋白质的机器，只要控制了核糖体的合成和装配就能有效地控制细胞内蛋白质的合成速度，调节细胞生命活动的节奏。因此，从某种意义上说，核仁实际上操纵着蛋白质的合成。

第四节 核基质

1974年初，美国R. Berezney和D. S. Coffey等将分离纯化的大鼠肝细胞核用非离子去垢剂、核酸酶消化与高盐缓冲液处理，当核膜、染色质和核仁被抽提后，发现核内仍保留一个以纤维蛋白成分为主的网架结构（图11-26），将这种网状结构命名为核基质（nuclear matrix）。因为它的基本形态与细胞质骨架相似，同时与胞质骨架体系存在一定的联系，所以也有人将其称为核骨架（nuclear skeleton）。目前已知，低等和高等真核细胞中都存在这种结构。但对核骨架或核基质概念的理解，目前有两种看法：广义的概念是核基质由核纤层、核孔复合体、残存的核仁和一个不溶的网络状结构（即核基质）组成。狭义的概念是指在细胞核中存在的一个由纤维蛋白构成的纤维网架体系，它不包含核膜、核纤层、染色质和核仁等成分，但是这些网络状结构与核纤层及核孔复合体等有结构上的联系，而且在功能上与核仁、染色质结构和功能密切相关。

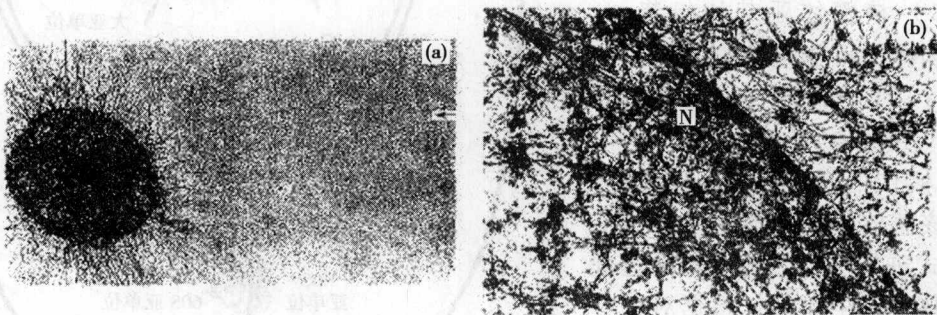


图11-26 核基质（引自Karp, 1996年）

(a) 在有去垢剂和2mol/L盐存在下分离的细胞核电镜照片。只剩下由DNA环包围的核基质。箭头所指是DNA环的最外限；(b) 小鼠成纤维细胞的核基质，首先用去垢剂、高盐提取，然后用核酸和低盐处理除去染色质的DNA。可见由残存的纤维状基质构成的细胞核(N)和细胞骨架基质构成的细胞质区

一、核基质的形态结构与基本组分

核基质的形态结构根据不同报道有所差异, Berezney 和 Coffey (1974) 等将细胞核纯化, 然后进行一系列处理, 将 DNA、RNA、组蛋白与脂类等成分先后除去, 电镜下观察, 核基质是一个以纤维蛋白成分为主的纤维网架结构, 分布在整个细胞核内。这些网架纤维的粗细是不一致的, 直径为 3~30nm。估计单纤维的直径 3~4nm, 而较粗的纤维可能是单纤维的复合体。

核基质的主要化学成分是蛋白质, 其含量达 90% 以上, 另有少量的 RNA。RNA 含量虽少, 但对于维持核基质三维网络结构的完整性是必需的。在制备核基质过程中, 用 RNase 消化处理, 制备的核基质上的网状颗粒结构变得稀疏, 并发现核基质纤维的三维空间结构有很大的改变。因此, 认为 RNA 在核基质纤维网络之间可能起着某种连接作用。由于在核基质纤维上牢固结合有一定数量的 RNP 颗粒, 因此, 有人提出核基质的结构组分是以蛋白质为主的 RNP 复合物。

组成核基质的蛋白质成分较为复杂, 它不像细胞质骨架如微管、微丝那样, 是由专一的蛋白质成分组成。并且核基质蛋白在不同类型细胞和不同生理状态的细胞中均有明显差异, 同时也与提取核基质成分时采用的方法、步骤与盐溶液的不同有关。

双向电泳显示, 核基质蛋白多达 200 余种, 可分为两类: 一类是核基质蛋白 (nuclear matrix protein, NMP), 是各种类型细胞所共有的; 另一类是功能性的核基质结合蛋白 (nuclear matrix associated protein, NMAP), 与细胞类型、分化程度、生理及病理状态有关。

现已发现多种核基质蛋白, 分子质量在 40~60ku 之间, 其中多数是纤维蛋白, 也含不少硫蛋白。用免疫荧光标记, 表明其主要定位在核基质上, 且呈现纤维颗粒样分布, 很可能是核基质上 DNA 环域的结合蛋白。

核基质复杂多样的生物学功能除了靠核基质本身的蛋白质完成外, 更重要的是通过多种核基质结合蛋白的共同参与。

研究表明, 核基质结合蛋白大致有 4 种类型: ①与核基质结合的酶, 如 DNA 多聚酶 α 和引物酶、RNA 多聚酶 II、原癌基因 c-myc 基因产物、RB 蛋白等。②细胞调控蛋白, 如蛋白激酶 C、钙调蛋白、热休克蛋白等。③RNP, 如 hnRNA 与 RNP、前 rRNA 与 RNP、SnRNA 与 RNP 等。④病毒蛋白, 如腺病毒 E1A 蛋白、单纯疱疹病毒转录活性蛋白 ICP4、HIV Tat 蛋白、 α -病毒 nsp2 等。

二、核基质的功能

近年的研究表明, 核基质可能参与 DNA 复制、基因表达、hnRNA 加工、染色体 DNA 有序包装和构建等生命活动。

(一) 核基质与 DNA 复制

D. S. Coffey (1980)、R. Berezney (1981) 等分别以体外培养的 3T3 成纤维细胞、大鼠再生肝细胞为材料, 用 ^3H -TdR 进行脉冲标记, 发现标记后 30 分钟内, 90% 的放射性掺入是集中在与核基质结合的 DNA 上。这表明, 新合成的 DNA 先结合在核基质上。McCready (1980) 的实验, 以 HeLa 细胞为材料, 也证实新合成的 DNA 是结合在核基质上的。他们认为, 一个祥环中可能有几个复制起始点。只有起始点结合到核基质时, DNA 合成才能开始。

电镜放射自显影的实验也指出了 DNA 复制的位点结合于核基质上。通过研究表明, DNA 祥环是通过其特定位点结合在核基质上的。该特定位点的核苷酸序列称为核基质结合序列 (matrix-attached region, MAR), 该序列富含 AT, 它通过与核基质相互作用, 调节基因的复制与转录等。

实验表明, DNA 祥环与 DNA 复制有关的酶和因子锚定在核基质上形成 DNA 复制复合体 (DNA replication complex) 进行 DNA 复制。有人认为从链的起始到链的终止, 整个过程在核基质上进行。核基质可能是 DNA 复制的空间支架。

(二) 核基质与基因表达调控

1. 核基质与基因转录活性

D. A. Jackson 等 (1981) 用³H-尿嘧啶核苷脉冲标记 HeLa 细胞, 发现 95% 以上新合成的 RNA 存在于核基质上。说明 RNA 是在核基质上进行合成的。

Volgestin 等 (1983) 利用雌激素刺激鸡输卵管细胞中卵清蛋白基因的表达, 发现只有活跃转录的卵清蛋白基因才能结合于核基质上, 而不转录的 β 珠蛋白基因不结合。Hentzen 等 (1984) 却报道了成红细胞中正在转录的 β -珠蛋白基因结合于核基质上。上述实验表明, 具有转录活性的基因结合在核基质上, 只有与核基质结合的基因才能进行转录, 核基质上有 RNA 聚合酶的结合位点, RNA 合成是在核基质上进行的。

2. 核基质与 hnRNA 的加工

一些实验报道了核基质可能是细胞核内 hnRNA 加工的场所。Ciejek (1982) 等以小鸡输卵管细胞为材料, 在 -20℃ 低温条件下 (降低内源核糖核酸酶活性) 分离出核基质, 发现所有的卵清蛋白和卵黏蛋白 mRNA 的前体都仅存在于核基质中。有人则具体指出 hnRNA 上的 polyA 区可能就是 hnRNA 在核基质中的附着点。

(三) 核基质与染色体构建

J. Pienta 等 (1984) 提出了 DNA 祥环与核基质共同构建染色体的模型, 他们认为先由 2nm 的 DNA 与组蛋白八聚体构建成直径 10nm 的核小体, 再以 6 个核小体为单位盘绕为直径 30nm 的螺线管, 螺线管进一步形成 DNA 祥环。DNA 以祥环的形式锚定在核基质纤维上, 每 18 个祥环呈放射状排列结合在核基质上构成微带。微带是染色体的高级结构单位。再由微带沿着核基质形成的轴心支架构成染色单体 (图 11-14)。根据这个模型说明核基质可能对于间期核内 DNA 有规律的空间构型起着维系和支架的作用, 它们参与 DNA 超螺旋化的稳定过程。

(四) 核基质与病毒复制

病毒是最简单的生命体, 其生命活动必须依赖宿主细胞。病毒基因的复制、转录和翻译依靠宿主细胞的结构及供给的能量。资料表明胞质病毒的代谢与细胞质骨架有关, 核内病毒的发生与核基质相关。Bibor-Hardy 等人 (1982) 发现单纯疱疹病毒核衣壳在核基质上装配。Mariman 等人 (1982) 发现腺病毒的 hnRNA 在拼接过程中能与核基质结合。翟中和等人 (1987) 进一步证实了腺病毒 (核内 DNA 病毒) 的复制和装配与核基质关系密切。

第五节 细胞核的功能

细胞核是遗传信息储存、复制和表达的重要结构, 在生命活动中起着重要的作用。

DNA 分子储存有遗传信息，依靠 DNA 合成酶系统，合成与原来分子结构相同的 DNA 分子，这种半保留的复制过程，在细胞核中进行，保证了遗传信息的稳定性。DNA 分子借复制方式将遗传信息传递给下一代的细胞。使子细胞具有与亲代细胞相同的性状，说明细胞核在遗传信息储存、细胞繁殖、维持自身稳定性上起重要作用。

蛋白质的生物合成，需要有 DNA，3 种 RNA (mRNA、rRNA 和 tRNA) 以及许多蛋白质因子的参加，这是一个十分复杂的生物学过程。3 种 RNA 的合成均在细胞核中进行。

mRNA 的转录由 RNA 聚合酶 II 催化完成，其初级转录本是不均一核 RNA (hnRNA)，在核内经一系列的加工过程转变为成熟的 mRNA。除 5S rRNA 外，构成核糖体的其余 rRNA 在核仁内由 RNA 聚合酶 I 催化转录，并在核仁内加工、成熟，最后和 5S rRNA 以及相关的蛋白质一起装配为核糖体的大、小亚基。5S rRNA 和 tRNA 的转录则均由 RNA 聚合酶 III 催化，在核内合成的。

细胞核的这些功能是由其各部分共同完成的。染色质 DNA 分子携带遗传信息；DNA 复制和 mRNA、tRNA 以及 5S rRNA 的转录在核基质进行；核仁合成大部分 rRNA 并把它们和蛋白质一起装配为核糖体的大、小亚基。而这些 mRNA、tRNA 和核糖体亚基从核内运输到细胞质，以及蛋白质和能源物质等成分从细胞质转运入核内，都需要依靠核被膜的运输，它调节着核-质间的物质交换。这些充分体现了细胞核的各结构的协调关系以及细胞核在整个生命活动中所起的重要作用。

总之，细胞核是细胞功能及细胞代谢、生长、增殖、分化的控制中心。细胞核的这些生理功能是在与细胞质的相互作用，密切配合下完成的。细胞质向细胞核提供 ATP 和各种蛋白质及酶类，由细胞质转入核内的某些物质，可影响核基因的表达及核内大分子的合成。细胞是一个整体，细胞质与细胞核在结构和功能上都有着密切的关系，两者协调才能完成细胞的生命活动。

第六节 细胞核与疾病

细胞核是细胞生命活动的控制枢纽，它影响细胞的生化代谢活动、能量转换、物质运送、信息传递，细胞的增殖、分化、衰老、死亡等。细胞核的结构和功能受损，将导致严重的后果。恶性肿瘤和染色体病就是细胞核异常所致的两大类疾病。

一、细胞核异常与肿瘤

与正常细胞相比，肿瘤细胞核的形态结构有很多的异常。

在肿瘤细胞中，细胞核通常较大，核质比增高。核表现为：拉长、边缘呈锯齿状、有凹、长芽、分叶及弯月形等畸形。在骨髓瘤细胞中，甚至出现仅细胞核分裂但细胞质不分裂而形成的双核细胞（四倍体）。

肿瘤细胞的染色质沿核的周边分布并呈粗颗粒或团块状，分布不均匀。当染色质形成染色体时，可出现正常或异常的有丝分裂相。肿瘤组织的有丝分裂相数目一般是增多的，据此可诊断某些类型的恶性肿瘤。

肿瘤细胞的核被膜增厚且呈不规则状，核被膜可出现小泡、小囊状突起。核孔的数目在肿瘤细胞中往往增加。

肿瘤细胞核仁大而数目较多，常规染色的肿瘤细胞中核仁深染。这是由于这些核仁的形

态变化反映了肿瘤细胞活跃的 RNA 代谢的变化。

恶性肿瘤细胞的组蛋白磷酸化程度加强。磷酸化可以改变组蛋白中的赖氨酸所带的电荷，降低组蛋白与 DNA 的结合，从而有利于转录的进行。

染色体异常被认为是肿瘤的特征之一，很多的肿瘤细胞都有染色体畸变。恶性肿瘤细胞的染色体通常为非二倍体，特别是超二倍体。染色体的变化是肿瘤早期诊断的客观指标，在医学上具有一定的意义。

二、染色体畸变与染色体病

染色体畸变可以表现为染色体的数目异常，也可表现为染色体的结构异常。由染色体数目异常和结构畸变所引起的疾病称染色体病 (chromosomal disease)。

(一) 染色体数目畸变与疾病

人的体细胞因含有两套染色体组而称作二倍体 (diploid, $2n$)，以二倍体为标准，其体细胞染色体数目的增加或减少，称为染色体数目畸变，包括整倍体畸变和非整倍体畸变两大类。

1. 整倍体畸变

人类正常生殖细胞中的全套染色体为一个染色体组，含有 23 条染色体，称为单倍体 (n)。正常人体细胞中，包含两个染色体组，即 46 条染色体，称为二倍体 ($2n$)。如果染色体数目整倍地增加，将形成多倍体，例如三倍体，其细胞中染色体数为 69 条；四倍体，染色体数为 92 条。人类单倍体和四倍体以上的多倍体胎儿和新生儿尚无报道。三倍体和四倍体多发生在自然流产的胚胎中，约占自发流产胚胎的 22%。人类全身性三倍体是致死的，所以，能活到出生的极为罕见，迄今为止，也只报道了 10 多例，存活着也都是二倍体和三倍体的嵌合体。

已报道的三倍体病例的核型有 $69, XXX$ ； $69, XXY$ ； $69, XYY$ 及其与二倍体的嵌合体。

一般认为，多倍体的形成机制包括双雄受精、双雌受精和核内复制等。双雄受精即同时有两个精子进入一个卵细胞。双雌受精是一个精子与含有两个染色体组的异常卵细胞结合。在卵细胞发生的第二次减数分裂过程中，次级卵母细胞由于某种原因未形成第二极体，因此应分给第二极体的染色体组仍留在卵细胞中。当它与一正常的精子结合后，将形成含有三个染色体组的合子，即三倍体。因此，双雄受精和双雌受精都可以导致三倍体的发生。核内复制是指在细胞分裂时，DNA 复制了两次，而细胞只分裂了一次。这样形成的两个子细胞都是四倍体。

2. 非整倍体畸变

体细胞在二倍体的基础上，增加或减少一条或几条染色体的称为非整倍体畸变。比二倍体染色体数少一条或几条的称为亚二倍体；比二倍体染色体数多一条或几条的称为超二倍体。畸变可以涉及常染色体和性染色体，主要有单体型、三体型及多体型。

(1) 单体型

由于某一号染色体减少了一条，而使得该对染色体成为单体型。细胞中染色体总数为 $2n-1=45$ 条。例如 $45, X$ 综合征，也称为先天性性腺发育不全综合征，是人类染色体病中单体型最典型的例子，约占女性的 $1/3500$ ，但在自发流产胎儿中可高达 $18\% \sim 20\%$ 。先天性性腺发育不全综合征的患者身材矮小，短颈，肘外翻。50% 有蹠颈。原发性闭经，其性腺

呈条索状（主要为结缔组织），有卵巢基质而无卵巢滤泡，外生殖器发育幼稚，女性副性征不明显，无生育能力。

(2) 三体型

由于某一号染色体增加了一条，即为三体型，细胞中染色体总数为 $2n+1=47$ 条。这是人类染色体数目异常中种类最多的一类畸变，几乎涉及每一号染色体，但只有少数三体型可以存活。常染色体三体型以 21、18、13 三体型较为常见，性染色体三体型有 XXX；XXY 和 XYY3 种类型。

先天愚型 (Down syndrome)，又称 21 三体综合征。核型为 47, XX (XY), +21。这表示此人核型中多了一条 21 号染色体。患者的主要临床特征是智能发育不全、生长发育迟缓、眼距宽、睑裂上斜、鼻根低平、颌小、腭狭、面容呈伸舌样痴呆、常伴有先天性心脏病及易患肺炎等呼吸道感染。

先天性睾丸发育不全综合征 (Klinefelter syndrome)，又称小睾丸症。核型为 47, XXY，或 46, XY/47, XXY 嵌合型。本病发病率占男性中的 $1/800\sim 1/1000$ 。患者儿童时无任何症状，青春期后出现临床症状。患者四肢修长，体高，但不匀称，25% 以上的患者有乳房发育，皮肤细嫩；体毛稀少，胡须阴毛稀少，喉结不明显。睾丸小，曲细精管透明变性，无精子发生，因而不育。

(3) 多体型

由于某一号染色体增加了两条或两条以上的称为多体型，染色体总数为 48 条，即 $(2n+2)$ ，或多于 48 条，这种畸变类型，仅见于性染色体异常。如四体型的 48, XXXX；48, XXXY；48, XXYY 和五体型的 49, XXXXX；49, XXXYY 等。不论男性或女性，随着性染色体数目的增加，对男女表型等影响程度亦将随之递增。

非整倍体产生的原因多数是在减数分裂或有丝分裂时，染色体不分离或染色体丢失。染色体不分离可以发生在第一次减数分裂，同源染色体不分离；也可发生在第二次减数分裂，姐妹染色单体不分离。

(二) 染色体结构畸变与疾病

由于内外因素的影响，染色体发生断裂和变位重接。根据染色体断裂后重接的方式不同，染色体结构畸变主要有缺失 (deletion)、倒位 (inversion)、易位 (translocation)、重复 (duplication) 等几种主要形式。

缺失即染色体发生断裂后其片段丢失，它包括末端缺失和中间缺失。末端缺失是指染色体发生一次断裂后，无着丝粒的片段丢失。中间缺失是指染色体发生两次断裂，两断裂点之间的片段丢失。

倒位是一条染色体上发生两次断裂后，两个断裂点之间的片段旋转 180° 重接，包括臂内倒位和臂间倒位两种。臂内倒位是在染色体的同一臂——长臂或短臂上同时发生两次断裂，断片倒转后重接。臂间倒位即一条染色体的长、短臂各发生一次断裂，且断片倒转后重接。

易位是两条染色体同时发生断裂，一条染色体的断片接合到另一条染色体上，包括单方易位、相互易位、罗氏易位和复杂易位等。相互易位是两条染色体同时断裂后，两个断片相互交换位置后重接，从而形成两条新生的染色体，称为衍生染色体。若两条染色体同时发生断裂，但仅一条染色体的断片接合在另一条染色体上，则称为单方易位；如果一条染色体上发生了两次断裂，断片转移到另一条染色体的中间部位则为插入。罗氏易位是发生在两条近

端着丝粒染色体之间的一种特殊的易位形式，即两条近端着丝粒染色体在近着丝粒处发生断裂，两长臂和两短臂各形成一条新的染色体。复杂易位是指涉及三条或三条以上染色体的易位。

重复即某一染色体片段在同一条染色体上出现两次或两次以上，包括正位重复和倒位重复。

染色体结构畸变所引起的疾病常见的有 14/21 易位型先天愚型。患者有典型的先天愚型的临床症状，例如核型为 46, XX (XY), -14, +t (14q, 21q)，即核型中染色体数仍为 46 条，少了一条 14 号染色体，多了一条由 14 号长臂和 21 号长臂所形成的易位染色体。这种易位可以是新发生的，也可以是由双亲之一传来。

5P⁻综合征，又称猫叫综合征 (cat cry syndrome)，为最常见的染色体缺失综合征。核型为 46, XX (XY), del (5) (p15)，这表明患者 5 号染色体短臂 1 区 5 带以远的部分缺失。患儿头小、脸圆、眼裂向外下方倾斜，眼距宽，下颌小，由于喉肌发育不良致哭声似猫叫，因而得名。患儿出生时体重较轻，生长发育迟缓、智力发育障碍。

提 要

细胞核是真核细胞内最大、最重要的结构。间期细胞核主要由核被膜（包括核孔复合体）、染色质、核仁及核基质（核骨架）构成。

核被膜由内外层核膜、核周间隙、核孔复合体、核纤层等组成，是真核细胞所特有的结构。核被膜作为界膜首先将细胞区分为核与质两个彼此独立又相互联系的功能区，从而使转录和翻译这两个基因表达过程在时空上分开。核孔复合体构成核质间双向运输的亲水性通道，通过被动扩散和主动运输两种方式完成核质之间的物质运输。

染色质是间期细胞核内由 DNA、组蛋白、非组蛋白及少量 RNA 组成的核蛋白复合结构。染色质按其螺旋化程度及功能状态的不同分为常染色质和异染色质两类，异染色质又分为结构异染色质和兼性异染色质。

构成真核细胞染色质（体）的 DNA 序列，包括单一序列、中度重复序列和高度重复序列 3 种类型。染色质 DNA 结合蛋白有两类，一类是组蛋白，与 DNA 非特异性结合，是构成染色质的基本结构蛋白；另一类是非组蛋白，它只与 DNA 上特异的核苷酸序列相结合，是重要的基因调控蛋白。

核小体是构成染色质的基本结构单位，每个核小体由组蛋白八聚体核心颗粒及 200bp 左右的 DNA 和一分子组蛋白 H₁ 组成。

由 DNA 到染色单体的形成过程，现在有多种模型解释，其中四级结构模型和袢环结构模型比较流行。

细胞分裂中期染色体具有比较稳定的形态，主要结构包括染色体臂、着丝粒与动粒、次缢痕、核仁组织区、随体和端粒。

人体染色体有中着丝粒、亚中着丝粒、近端着丝粒 3 种类型。人类的正常核型为 46 条染色体，男性为 46, XY，女性为 46, XX。

核仁是真核细胞间期核中最显著的结构。由核仁相随染色质、纤维成分、颗粒成分和基质四部分组成。核仁的形成与某些特殊染色体上存在的含有 rRNA 基因的核仁组织区有关。核仁的主要功能是合成除 5S rRNA 之外的所有 rRNA 及装配核糖体大小亚基。

在真核细胞的核内除核膜、核孔复合体、核纤层、染色质及核仁外，还有一个以蛋白质成分为主的网架结构体系，称为核基质。核基质与 DNA 复制、基因表达及染色体构建有着密切的关系。

细胞核是遗传信息的储存场所，核内进行基因复制、转录和转录出的初级产物的加工等活动，从而控制细胞代谢、生长、繁殖和分化。

细胞核的结构或功能受损，可导致肿瘤和染色体病的发生。

复习思考题 11

(一) 名词解释：

核质比	核孔复合体	亲核蛋白质	核定位信号	常染色质	异染色质
结构异染色质	核小体	主缢痕	着丝粒与动粒	端粒	随体
核仁组织区	同源染色体	显带	核基质	核型	三体型与三倍体
单体型与单倍体					

(二) 问答题：

1. 简述核被膜的结构与功能。
2. 常染色质与异染色质在结构与功能上有何异同？
3. 两种染色质蛋白质有何特性和功能？
4. 试述核小体的结构要点。
5. 比较染色体包装的两种结构模型的主要区别。
6. 解释染色体的功能元件及其主要作用。
7. 简述中期染色体的形态特征。
8. 正常人类核型分为几组？每组染色体的主要特点是什么？
9. 试述核仁的超微结构及功能。
10. 核基质的结构如何？有何功能？
11. 细胞核有哪些功能？
12. 简述染色体畸变的类型及产生机制。

(刘艳平)

第十二章

细胞的信号转导

众所周知,无论单细胞生物还是多细胞机体,都必须对多变的外部环境及时做出反应并趋利避害,才有可能在自然界中占据有利地位。对于多细胞生物而言,则更是需要通过精确高效的通讯机制,使细胞与细胞之间在生长、发育、代谢、增殖、分化等行为上协调一致,才能作为生命整体对外界做出综合反应,而这一切都无不与信号传递有关,可见细胞间的信号联系及转导在协调细胞及其功能上的重要性。

第一节 概 述

一、基本概念

(一) 信号分子

信号分子也称配体 (ligand),它们不参与细胞的物质代谢和能量代谢,但能与细胞受体进行特异性地结合,然后经信号转导机制,引起细胞内产生一系列的生物学效应。

能产生信号分子的细胞称为信号细胞 (signaling cells),受到信号分子的作用而发生反应的细胞称为靶细胞 (target cells)。

细胞信号有化学信号,如激素、神经递质、生长因子等;有物理信号,如声、光、电及温度等;还有生物大分子信号,如蛋白质、多糖、核酸等。

信号分子根据其溶解性可分为脂溶性和水溶性两大类。

脂溶性信号分子以甾醇类激素(如性激素、肾上腺皮质激素、蜕皮激素等)、甲状腺激素和维生素 D 最常见,它们分子量小,疏水性强,很容易穿过靶细胞的细胞膜进入细胞,与胞核或胞质中的受体结合形成复合物,这种配体受体复合物通过与 DNA 的特定控制区结合,调节基因表达模式,通常影响特殊组织的生长和分化。

水溶性信号分子有神经递质、生长因子、细胞因子、局部化学递质和大部分激素。它们不能穿过靶细胞的细胞膜,只能与细胞膜上的受体进行特异性结合,通过信号转导机制,产生胞内信号即第二信使或激活某些酶的活性,使细胞对外界刺激产生反应。

第二信使都是小的分子或离子,细胞内最重要的第二信使有 5 种(图 12-1)。

(二) 受体

受体 (receptor) 是位于细胞内或细胞表面的一种糖蛋白或糖脂分子,它能够选择性地识别外来信号,并与之结合,从而激活或启动一系列生化反应,产生特定的生物学效应。

脂溶性信号分子的受体位于核质或胞质中,称为胞内受体。

水溶性信号分子的受体则位于细胞膜上,称为膜受体(或表面受体)。

不同的胞内受体在细胞中的分布状况不尽相同,如雌激素、雄激素这两种性激素的受体

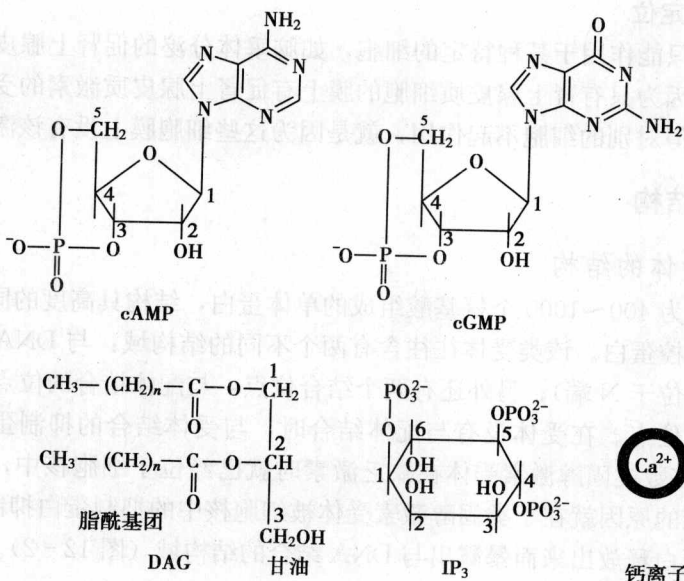


图 12-1 细胞内 5 种第二信使的结构

在胞核及胞质中同时存在，而肾上腺皮质激素受体只存在于胞质中，维生素 D 的受体则仅位于胞核内。

(三) 受体的生物学特征

受体具有一定的生物学特性：

1. 特异性

指受体与配体结合具专一性，配体与受体之间的结合是靠分子与分子之间立体构象的互补，使它们具高度亲和性，把两者契合在一起，好像锁和钥匙一样，但又不是静态关系，这种契合引起受体或配体本身的构象变化，从而引起细胞内一系列功能转换。但是这种特异性并非绝对，某一化学信号可以与一种以上的受体结合，使细胞产生不同的生物学效应。如肾上腺素可以与平滑肌细胞膜上的 α 受体结合，引起平滑肌收缩，也可以与 β 受体结合，则引起平滑肌松弛，说明即使是同一化学信号，由于激活的受体不同，对细胞的调节作用也不一样。另一方面，有些受体也可与一种以上的配体结合，如胰岛素受体除结合胰岛素外，还可与胰岛素样生长因子结合，产生不同的效应。

2. 高亲和性

受体与配体的结合能力，称受体亲和力，受体对配体的亲和力很强，亲和力的大小常用配体-受体复合物的解离常数 (K_d) 值表示，通常在 10^{-8} mol/L 以下。 K_d 值越小，亲和力愈大，受体就愈容易被占据。

3. 饱和性

细胞所含受体有限，提高配体浓度到一定程度，即可使受体处于饱和状态。

4. 可逆性

由于受体与配体是非共价键结合，键的强度比较弱，这就决定了分子间的识别反应是可逆的，当引起生物学反应后，受体-配体复合物就解离，受体又恢复到原来的状态，被再次利用，受体与配体的结合及解离处于可逆的动态平衡中。

5. 特定的细胞定位

某种化学信号只能作用于某种特定的细胞，如脑垂体分泌的促肾上腺皮质激素只作用于肾上腺皮质细胞，因为只有肾上腺皮质细胞的膜上有促肾上腺皮质激素的受体，虽然该激素随血液流经全身，但对别的细胞不起作用，就是因为这些细胞膜上没有该激素的受体。

二、受体的结构

(一) 胞内受体的结构

胞内受体通常为 400~1000 个氨基酸组成的单体蛋白，结构具高度的同源性，其本质是激素激活的基因调控蛋白。该类受体往往含有两个不同的结构域：与 DNA 结合的结构域和转录激活结构域（位于 N 端）；另外还有两个结合位点：与配体结合的位点（位于 C 端）和与抑制蛋白结合的位点。在受体没有与配体结合时，与受体结合的抑制蛋白抑制了受体与 DNA 的结合，大多数类固醇激素受体在缺乏激素时就已经位于细胞核中，但此时的受体不能促进基因的转录的原因就在于类固醇激素受体被细胞核中的抑制蛋白抑制。若受体与配体结合，则将抑制蛋白释放出来而暴露出与 DNA 结合的结构域（图 12-2）。

(二) 膜受体的结构

大多数膜受体是镶嵌在细胞膜上的糖蛋白或糖脂，多为跨膜糖蛋白，它们在细胞膜上呈分散式分布，也可以局限在某一个特定区域。每个细胞膜上受体的数量从几百到几十万不等。不同的受体有不同的结构，通常由 3 个部分组成：

识别部（discriminator）是受体蛋白向着细胞外的部分，多为糖蛋白的糖链部分，由于糖链多种多样，因而能识别各种不同信号物质。一般狭义的受体即指该部。

效应部（effector）是受体向着细胞质的部分，一般具酶的活性，受体在未与信号物质结合时是无活性的，只有与信号结合后，该酶才被活化，从而引起一系列变化，产生相应的生物学效应。

转换部（transducer），是受体与效应器之间的偶联部分，它能将识别部所接受的信息经过转换传给效应部。这三部分可以是同一蛋白质的不同亚单位，也可以是不同的蛋白质分子结合成的复合体。

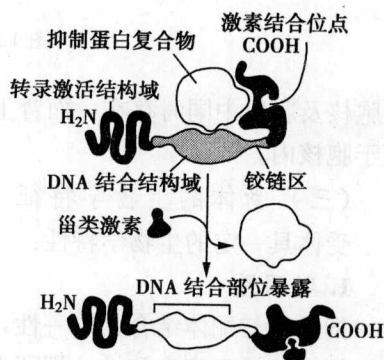


图 12-2 胞内受体的结构及其与抑制蛋白作用模型

第二节 胞内受体信号转导途径

脂溶性信号分子穿过细胞膜与相应受体结合后，该受体随即释放抑制蛋白，暴露出与 DNA 结合的结构域，所形成的受体-配体复合物即成为转录促进因子，该复合物作用于特异的基因调控序列，从而启动基因的转录和表达。例如：在糖皮质激素缺少时，其受体与抑制蛋白结合并存在于胞质溶胶中，抑制蛋白阻止受体进入到细胞核，受体无法与相应基因的顺式作用元件结合，此时糖皮质激素受体处于被抑制、无活性的状态；当糖皮质激素穿过细胞膜进入胞质与受体结合后，受体则释放抑制蛋白，暴露出与 DNA 结合的结构域并进入到细胞核，与核中特异基因上游的转录调控序列结合并促进基因的转录，进而引发特定的生物学

效应 (图 12-3)。

脂溶性信号分子诱导基因活化产生效应的过程一般较长, 需要历经数小时至数天, 整个过程主要分两步进行: 第一步为初级反应阶段, 即由激素直接活化少数特殊的基因转录, 该反应发生迅速; 第二步为次级反应阶段, 即由初级反应的基因产物再活化其他基因而产生延迟、放大作用。如果蝇注射蜕皮激素 5~10 分钟便可诱导唾腺染色体上 6 个部位的 RNA 转录, 再过一段时间至少有 100 个部位的 RNA 合成, 进而翻译为大量特异的蛋白质产物。

NO 是近年来发现的第一个气体性脂溶性信号分子, 因其广泛参与了生物体内众多的生理病理过程而备受关注。NO 的生成细胞主要有神经细胞和血管内皮细胞, NO 的生成需要一氧化氮合酶 (nitric oxide synthase, NOS), 在 NOS 的催化下, 将底物 L-精氨酸转化成瓜氨酸和 NO, 其中 NOS 为 Ca^{2+} -钙调素敏感性酶, 因此任何使细胞中 Ca^{2+} 浓度增加的因素均能增加 NOS 的活性, 并通过 NO 进行代谢调节, NO 的作用机制与 cGMP 信号体系关系非常密切, 它往往是通过刺激细胞生成 cGMP 而发挥多种效应的, 临床上应用硝酸甘油治疗心绞痛的药理作用也在于此, 硝酸甘油通过在人体内缓慢分解生成 NO, NO 与平滑肌细胞内 NO 受体的亚铁血红素基团结合, 诱导其构象变化, 活化鸟苷酸环化酶 (guanylate cyclase, GC) 的活性, 从而发挥松弛血管平滑肌, 扩大血管内径, 增加血流量的作用, 由此可见, NO 对于平滑肌细胞的作用是由第二信使 cGMP 来介导的。

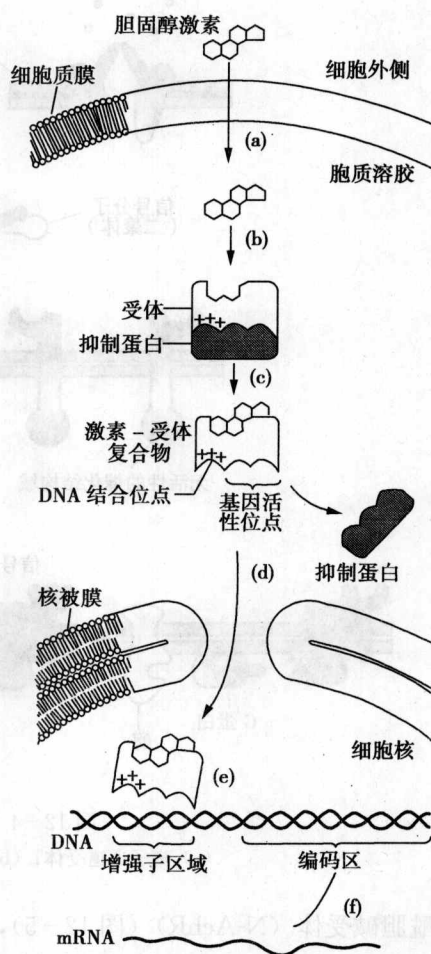


图 12-3 糖皮质激素受体激活效应图

NO 与平滑肌细胞内 NO 受体的亚铁血红素基团结合, 诱导其构象变化, 活化鸟苷酸环化酶 (guanylate cyclase, GC) 的活性, 从而发挥松弛血管平滑肌, 扩大血管内径, 增加血流量的作用, 由此可见, NO 对于平滑肌细胞的作用是由第二信使 cGMP 来介导的。

第三节 膜受体的类型及其转导途径

根据信号转导的机制和受体蛋白的类型, 膜受体可分为三种类型: 离子通道受体 (ion channel receptor)、催化受体 (catalytic receptor)、偶联 G 蛋白受体 (G-protein-linked receptor) (图 12-4)。

一、离子通道受体

离子通道受体是一种多次跨膜蛋白, 该类受体本身就是离子通道或与离子通道相偶联, 离子通道的“开”与“关”受细胞外配体的调节。当少量神经递质与受体结合时, 可瞬间打开或关闭离子通道, 从而引起细胞膜的通透性和突触后细胞兴奋性发生变化。这类受体如

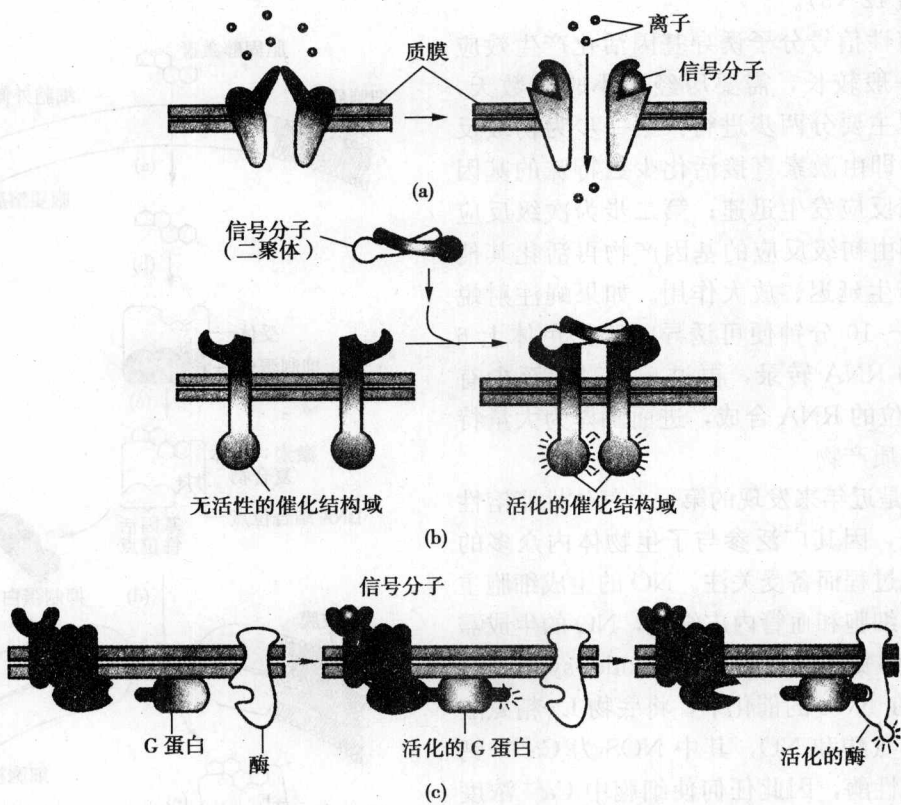


图 12-4 三种类型的膜受体

(a) 离子通道受体; (b) 催化受体; (c) 偶联 G 蛋白受体

N-乙酰胆碱受体 (N-AchR) (图 12-5), 它由 5 个亚单位 ($\alpha_2\beta\gamma\delta$) 组成, 它们共同围成一个 Na^+ 通道, 乙酰胆碱的结合位点在 α 亚单位的细胞膜外侧。当配体与受体结合时, 受体构型改变, 通道开放, Na^+ 进入细胞, 引起膜去极化, 导致突触后细胞兴奋。另外, 还有 γ -氨基丁酸受体, 它构成 Cl^- 通道。

烟碱样乙酰胆碱受体是目前研究得比较透彻的离子通道偶联受体, 存在于脊椎动物骨骼肌细胞以及某些鱼的放电器官细胞的质膜上。当受体与乙酰胆碱结合时, Na^+ 通道开放, Na^+ 流入靶细胞使得质膜去极化而引发细胞收缩。 α 银环蛇毒素的毒理作用主要是阻止乙酰胆碱同受体相互作用而导致呼吸麻痹和死亡的。

二、催化受体

这类受体多为单跨膜蛋白, 主要由三个部分组成, 在细胞外侧是配体的结合部位, 中间为一段跨膜结构, 位于胞质侧的部分则含酪氨酸, 具有酪氨酸蛋白激酶 (tyrosine-specific protein kinase, TPK) 活性。配体与受体结合, 活化了受体本身胞质侧的酪氨酸蛋白激酶的活性, 并使 TPK 的酪氨酸自身磷酸化, 然后再使靶蛋白的酪氨酸残基磷酸化, 触发细胞内一系列生理活动的变化, 这样就将细胞外信息传递到细胞内。这类受体有表皮生长因子受体 (EGFR)、血小板源生长因子受体 (PDGFR)、胰岛素受体等。

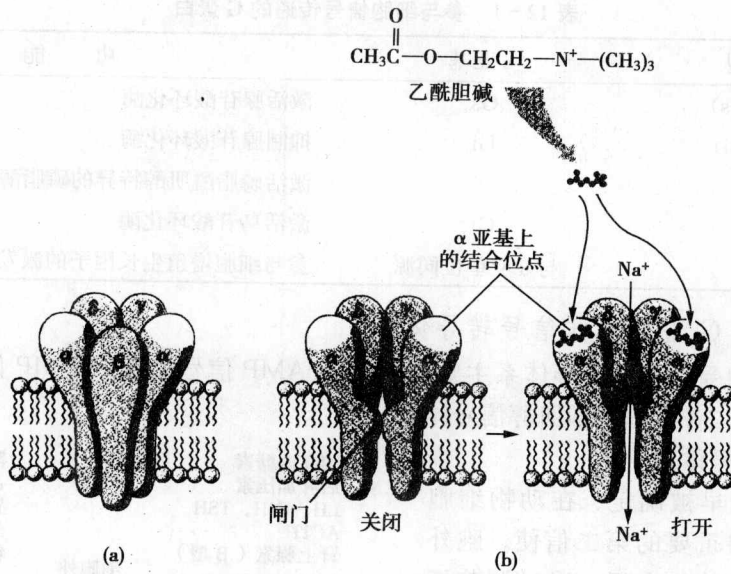


图 12-5 乙酰胆碱离子通道受体结构功能示意图
(a) 受体的结构; (b) 受体的功能

三、偶联 G 蛋白受体

是指受体和酶或离子通道之间的相互作用通过一种结合 GTP 的调节蛋白 (GTP-binding regulatory protein, G 调节蛋白或 G 蛋白) 介导来完成的。这类受体是由一条 350~400 个氨基酸残基组成的多肽链, 反复穿越细胞膜 7 次, 其 N-端位于细胞膜的外侧, C-端位于胞质侧, 在胞质侧还有与 G 蛋白的结合位点。配体与受体结合后通过 G 蛋白间接作用于酶或离子通道, 从而调节细胞的生理活动。这类受体是目前发现种类最多的一种类型, 如 β 受体、M 受体、视紫红质受体和几种神经多肽受体等均属于偶联 G 蛋白受体。

(一) G 蛋白的结构

G 蛋白最初是由美国科学家 Rodbell、Gilman 等分离纯化, 他们因此获得 1994 年诺贝尔医学和生理学奖。与跨膜信息传递有关的 G 蛋白都是膜蛋白, 由 α、β、γ 三个亚单位组成的异三聚体。其中 β 和 γ 亚单位紧密结合成二聚体, 在决定 G 蛋白的激活和失活过程中及 G 蛋白与膜的结合中起重要作用。α 亚单位目前在哺乳动物细胞中已发现有 20 多种, 由于 α 亚单位的不同, G 蛋白能对多种功能进行调节。但 α 亚单位仍有其共同点, 就是都具有特异的 GTP 结合位点, 有 GTP 酶活性, 能水解 GTP 为 GDP。在非活化状态下, G 蛋白的 α 亚单位与 GDP 结合, 并与 β 和 γ 亚单位形成三聚体, 当配体与受体结合后, 受体构象改变, 引起 G 蛋白构象变化, GTP 取代 GDP 与 α 亚单位结合, 活化的 α 亚单位与 β 和 γ 亚单位分离, 形成的 GTP-G_α 复合物具催化功能, 可进一步活化与之相连接的酶或离子通道, 引起细胞效应。但由于 α 亚单位具 GTP 酶活性, 能很快水解 GTP 成 GDP, α 亚单位与 GDP 结合而失活, 又与 β 和 γ 亚单位结合形成三聚体, 完成一次 G 蛋白循环。

(二) G 蛋白的类型

G 蛋白的种类很多, 参与细胞信号传递的 G 蛋白如表 12-1 所示。

表 12-1 参与细胞信号传递的 G 蛋白

G 蛋白类型	α 亚基	功 能
刺激型 G 蛋白 (Gs)	Gs _α	激活腺苷酸环化酶
抑制型 G 蛋白 (Gi)	Gi _α	抑制腺苷酸环化酶
G 蛋白 (Gp)		激活磷脂酰肌醇特异的磷脂酶 C
转运蛋白 (Gt)	Gt _α	激活鸟苷酸环化酶
ras 蛋白 (p21)	与 α 亚单位同源	参与细胞增殖生长因子的激发

(三) 偶联 G 蛋白受体信号转导体系

偶联 G 蛋白受体信号转导体系主要有 4 个：cAMP 信号体系；cGMP 信号体系；Ca²⁺ 信号体系；甘油二酯和三磷酸肌醇信号体系。

1. cAMP 信号体系

cAMP 是最早被确定、在动物细胞中普遍存在的最重要的第二信使。胞外激素与相应的受体结合后，通过调节细胞内的第二信使 cAMP 的水平而引起细胞反应的信号通路，称为 cAMP 信号体系。

(1) cAMP 信号体系

包括刺激型受体 (stimulatory receptor, Rs), 抑制型受体 (inhibitory receptor, Ri), 刺激型 G 蛋白 (Gs), 抑制型 G 蛋白 (Gi), 腺苷酸环化酶 (AC) 5 种成分 (图 12-6)。当配体与刺激型受体结合后，通过刺激型 G 蛋白，使腺苷酸环化酶活化，提高细胞内的 cAMP 水平。当配体与抑制型受体结合后，通过抑制型 G 蛋白抑制腺苷酸环化酶的活性，使胞内 cAMP 水平下降。

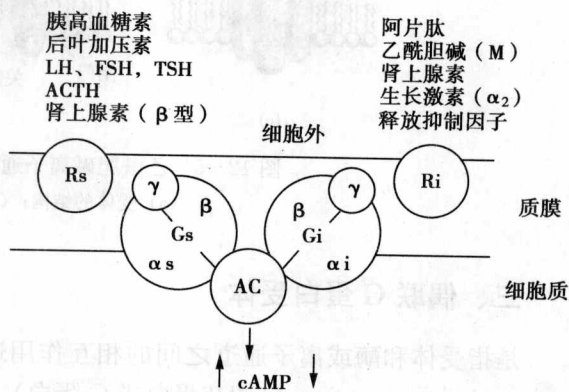


图 12-6 cAMP 信号体系的组成图解

(2) cAMP 信号传递途径

分为刺激型信号传递途径和抑制型信号传递途径。

刺激型信号转导过程 (图 12-7): ①激素未与受体结合时, Gs 蛋白的 α、β、γ 3 个亚基结合在一起, G 蛋白 α 亚基与 GDP 结合, 腺苷酸环化酶无活性。②当激素与刺激型受体 (Rs) 结合后, 受体被激活, 其构象发生改变, 暴露出与 Gs 的结合位点, 并与 Gs 结合。③Gs 构象改变, GDP 被释放, Gs 的 α 亚基结合 GTP 形成活化构象。④Gs 的 α 亚基与 β、γ 亚基解离, Gs_α 暴露出与腺苷酸环化酶的结合位点。⑤Gs_α 与腺苷酸环化酶结合, 使之活化, 水解 ATP 产生 cAMP, 细胞内 cAMP 浓度升高。⑥由于 Gs_α 具 GTP 酶活性, 水解 GTP 为 GDP, 最后导致受体、Gs_α 和腺苷酸环化酶分离, 终止了对腺苷酸环化酶的活化作用。α 亚基又与 β、γ 亚基结合, 恢复到原来状态。若配体和受体持续结合, 此过程可反复进行, 直到配体离开, 受体恢复原来的构象。

总之, 在此模型中, Gs 穿梭于膜上刺激型受体和腺苷酸环化酶之间, 起着信号传递者的作用。G 蛋白的 GTP-GDP 周期对于激素依赖性活化和钝化腺苷酸环化酶是非常重要的。如霍乱弧菌产生的霍乱毒素主要是催化 Gs 的 α 亚基 ADP-核糖基化, 抑制了 Gs 的

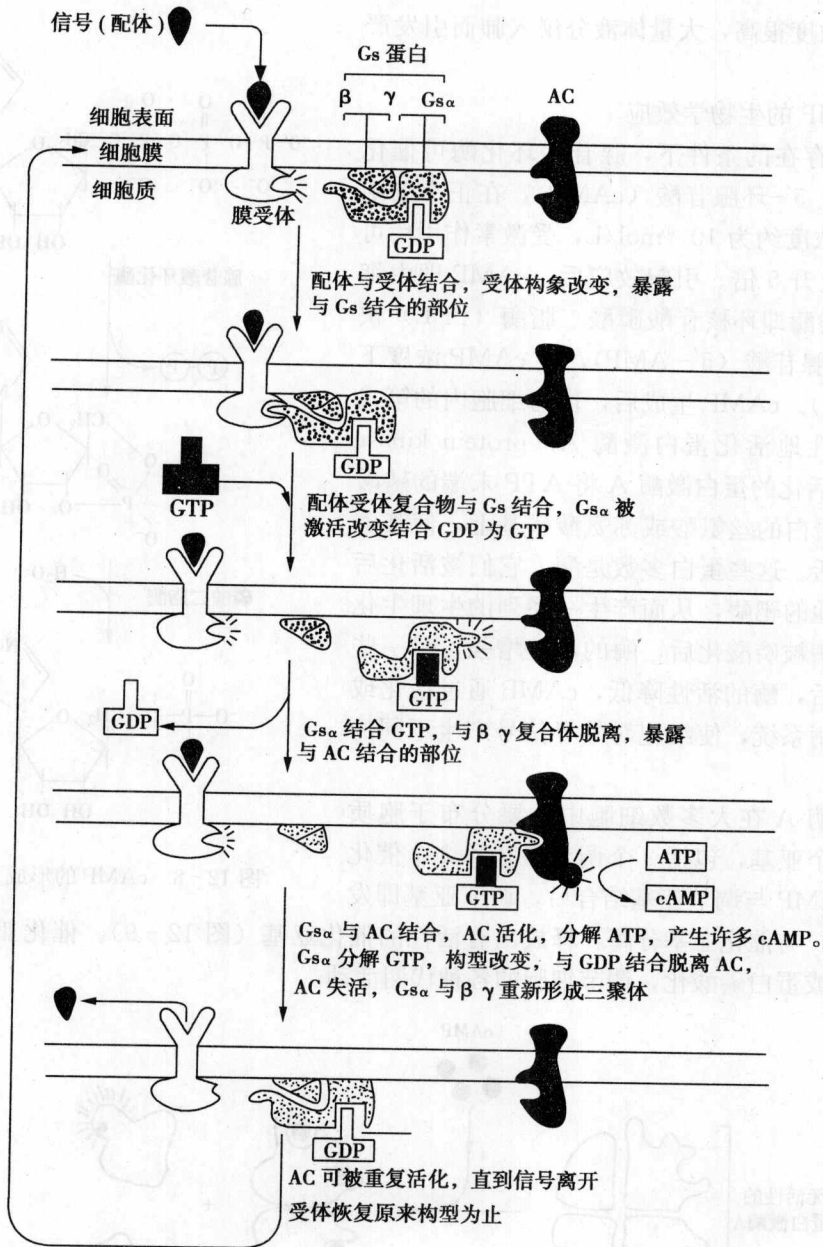


图 12-7 细胞表面刺激型受体 (Gs) 信号转导过程模式图

GTP 酶活性, 使 GTP 无法水解, Gs 始终处于激活状态, 小肠上皮细胞中 cAMP 合成失控, 导致膜蛋白让 Na^+ 和水外流到肠腔引发严重腹泻而脱水。

抑制型信号作用途径与上述途径基本相似, 抑制型信号与抑制型受体 (R_i) 结合, 受体活化, 构象改变, 与抑制型 G 蛋白 (G_i) 结合, G_i 活化, $G_i\alpha$ 释放 GDP 并结合 GTP, $G_i\alpha$ 构象改变, 与 β 、 γ 亚基脱离, 与腺苷酸环化酶结合, 抑制腺苷酸环化酶分解 ATP, 使 cAMP 浓度下降。百日咳杆菌产生的百日咳毒素则主要是催化 G_i 的 α 亚基 ADP-核糖基化, 阻止了 GDP 被 GTP 取代, 使 G_i 的 α 亚基无法活化, 因而无法抑制腺苷酸环化酶, 使细胞

中的 cAMP 浓度很高，大量体液分泌入肺而引发严重咳嗽。

(3) cAMP 的生物学效应

在 Mg^{2+} 存在的条件下，腺苷酸环化酶可催化 ATP 生成 3', 5'-环腺苷酸 (cAMP)，在正常细胞内 cAMP 的浓度约为 10^{-6} mol/L ，受激素作用后可在 1 秒钟内上升 5 倍。引起效应后，cAMP 即由细胞内的另一类酶即环核苷酸磷酸二酯酶 (PDE) 快速降解为 5'-腺苷酸 (5'-AMP)，使 cAMP 浓度下降 (图 12-8)。cAMP 生成后，作为细胞内的第二信使，特异性地活化蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA)，活化的蛋白激酶 A 将 ATP 末端的磷酸转移到底物蛋白的丝氨酸或苏氨酸残基上，使其磷酸化而被激活。这些蛋白多数是酶，它们被活化后又可激活其他的靶酶，从而产生一系列的生理生化反应。许多酶被磷酸化后，酶的活性增强，另一些酶被磷酸化后，酶的活性降低，cAMP 通过活化或抑制不同的酶系统，使细胞对外界信号产生不同的反应。

蛋白激酶 A 在大多数细胞中主要分布于胞质中，共有 4 个亚基，包括 2 个调节亚基和 2 个催化亚基，当 cAMP 与调节亚基结合后，调节亚基即发生构象改变，与催化亚基分离，释放出有活性的催化亚基 (图 12-9)。催化亚基再进一步使其他靶酶或蛋白磷酸化，调节细胞的各种代谢活动。

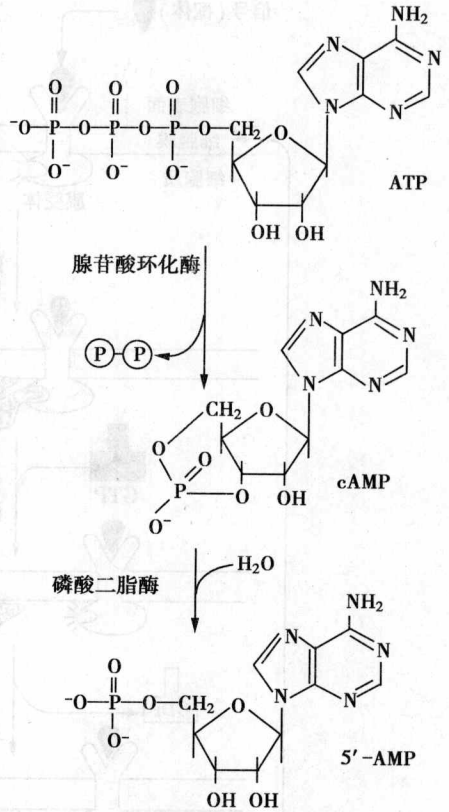


图 12-8 cAMP 的形成及降解

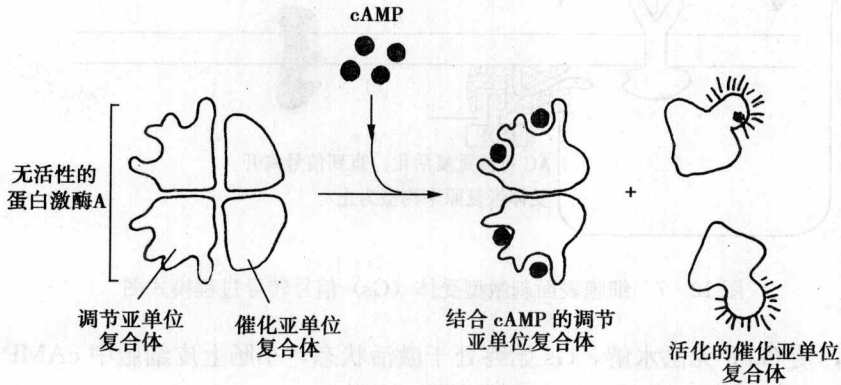


图 12-9 cAMP 激活蛋白激酶 A 的示意图

2. cGMP 信号体系

在大多数动物细胞内还存在另一种胞内信号，即环鸟苷酸 (cGMP)，它的浓度仅为 cAMP 的 $\frac{1}{10}$ 。cGMP 是由鸟苷酸环化酶分解 GTP 产生的，该酶是细胞膜上的可溶性蛋白，

受 G 蛋白调节。cGMP 能活化细胞内的蛋白激酶 G，磷酸化相应的靶蛋白、其他酶分子和离子通道，从而产生生物效应，包括血管平滑肌的松弛、糖原降解、光感转导、受精过程、细胞增殖等。

cAMP 和 cGMP 对细胞的正常代谢调节非常重要，两者在细胞中的浓度及作用往往相反。如在肝细胞中，cAMP 浓度升高时，糖原分解；而 cGMP 升高时，糖原合成加快；cAMP 升高时，细胞合成特异蛋白质，促使细胞分化；cGMP 升高时，DNA 复制加快，促使细胞分裂增殖。

3. Ca^{2+} 信号体系

Ca^{2+} 是细胞内广泛存在的一种重要的胞内信使，但游离 Ca^{2+} 在细胞质中的浓度很低，约 10^{-7} mol/L，而细胞外液中 Ca^{2+} 浓度很高，约 10^{-3} mol/L，因此，胞内外存在一个很大的浓度梯度。胞内 Ca^{2+} 大部分储存于钙库内（如内质网、线粒体），其浓度也是很高的。它们均存在一个大的浓度梯度势能，驱动 Ca^{2+} 穿过细胞膜和钙库膜进入细胞质，当信号作用于这些膜时， Ca^{2+} 通道打开， Ca^{2+} 迅速进入细胞质，使细胞质中 Ca^{2+} 浓度升高，触发细胞中 Ca^{2+} 敏感机制，产生细胞效应。 Ca^{2+} 的信号解除主要是通过降低细胞质中 Ca^{2+} 浓度，当细胞质 Ca^{2+} 浓度上升到正常浓度的 5 倍以上时，细胞膜和钙库膜上的钙泵被激活，将 Ca^{2+} 排出细胞外或泵入钙库中，这样，细胞质中的 Ca^{2+} 就能维持一个低水平。当细胞质受损时，胞内 Ca^{2+} 浓度上升到 10^{-5} mol/L 的危险水平时，线粒体膜上的 Ca^{2+} 泵启动，将大量 Ca^{2+} 泵入线粒体，所以在病变早期就可以观察到线粒体肿胀现象。

Ca^{2+} 信号传递有两种途径：一种存在于电活性细胞，已经在神经细胞中研究得很清楚，当一个动作电位使细胞去极化时，打开神经终端电压闸门 Ca^{2+} 通道， Ca^{2+} 流入神经终端，促使神经递质的分泌。第二种传递途径存在于大多数真核细胞，当外界信号与细胞表面受体结合后，受体被活化，通过肌醇磷脂信号途径中产生的第二信使 IP_3 ，激发钙库膜上的 Ca^{2+} 通道打开，由于浓度差的关系， Ca^{2+} 涌入细胞质，使 Ca^{2+} 浓度瞬时升高，启动 Ca^{2+} 信号系统，引起生物效应，如细胞分裂、细胞运动、物质转运等（图 12-10）。

4. 甘油二酯和三磷酸肌醇信号体系

这两种物质是肌醇磷脂代谢所产生的。肌醇磷脂是细胞膜的成分，占总膜磷脂的 10% 左右，主要分布在细胞膜的胞质侧，肌醇磷脂包括 3 种成分：磷脂酰肌醇（phosphatidylinositol, PI）；磷脂酰肌醇-4-磷酸（phosphatidylinositol-4-monophosphate, PIP）；磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸（phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate, PIP_2 ）。其代谢是 PI 经两步磷酸化，分别形成 PIP 和 PIP_2 ， PIP_2 在膜中的含量很少，仅占膜磷脂的 1%，但在该途径中是关键物质（图 12-11）。当胞外信号与膜受体结合后，受体被激活，进一步活化特异的 G 蛋白（Gp），G 蛋白再激活磷脂酶 C，不到 1 秒钟，活化的磷脂酶 C 分解 PIP_2 为两种产物，即甘油二酯（diacylglycerol, DG）和三磷酸肌醇（inositol-1,4,5-trisphosphate, IP_3 ）（图 12-11）。它们是细胞内两个重要的第二信使，分别启动两条信号传递途径，即 $\text{IP}_3/\text{Ca}^{2+}$ 信号途径和 DG/PKC 信号途径，因此，称为双信使途径。

IP_3 是一种水溶性分子，它可使 Ca^{2+} 从内质网释放出来，启动 Ca^{2+} 信号体系，引起生物效应。 IP_3 产生后，进入细胞质，与内质网膜上的 IP_3 受体结合，打开了膜上的 Ca^{2+} 闸门通道，使内质网钙库中的 Ca^{2+} 释放进入细胞质，引起细胞质中 Ca^{2+} 浓度的瞬时升高， Ca^{2+} 可活化各种钙结合蛋白引起细胞效应。目前了解较清楚的是钙调素（calmodulin, CaM），也称钙调蛋白。它由 148 个氨基酸组成，广泛存在于真核细胞中，含有 4 个结构域，每个结

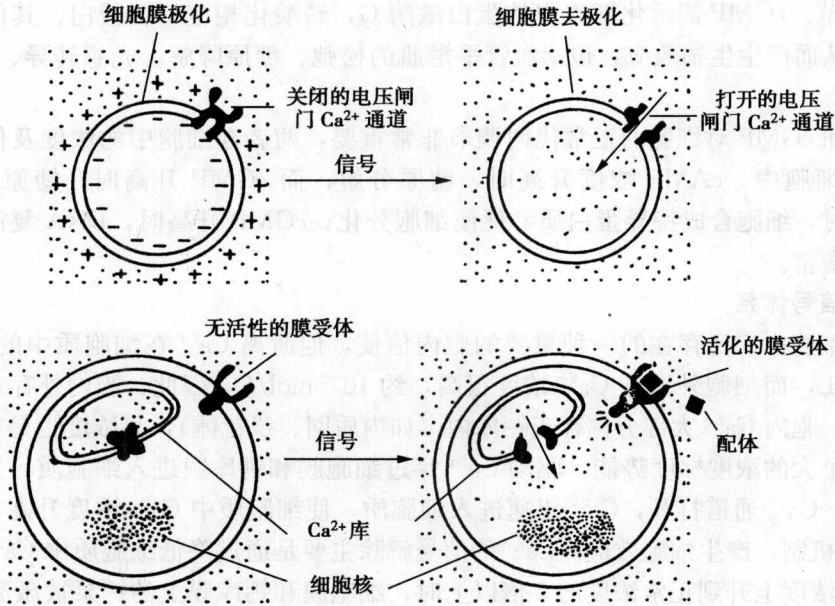


图 12-10 Ca²⁺ 进入细胞充当胞内介质的两种方式

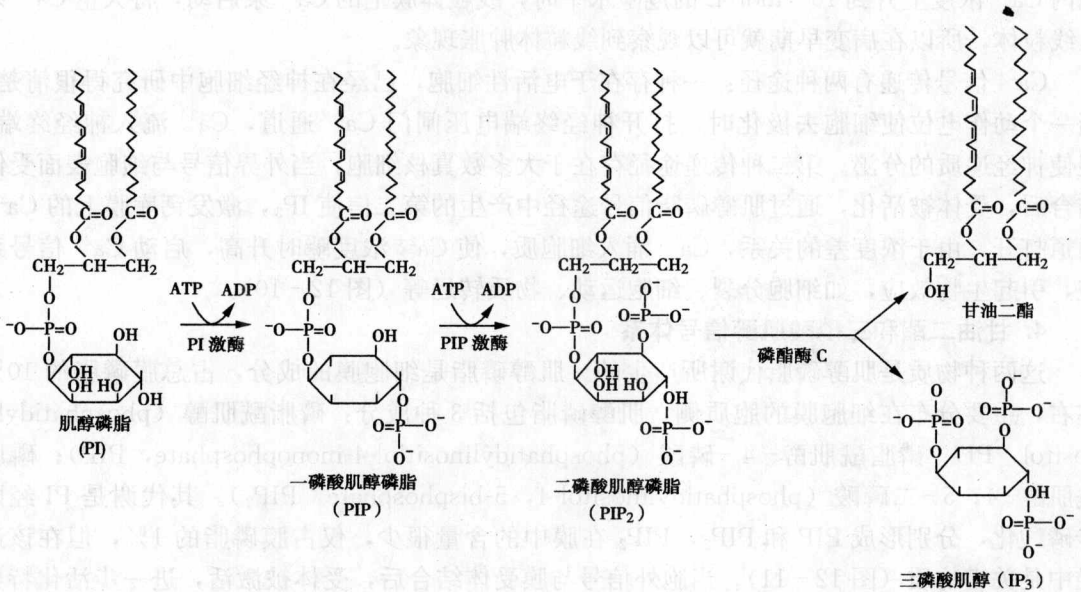


图 12-11 肌醇磷脂代谢

构域可结合一个 Ca^{2+} ，钙调素本身无活性，但当它与 Ca^{2+} 结合形成 Ca^{2+} -钙调素复合体时，钙调素构象改变，与细胞中的靶蛋白或靶酶结合，形成了活化的钙调素-酶复合物，从而改变了酶的活性，引起细胞产生各种生理反应（图 12-12），如糖原降解、平滑肌收缩运动、神经递质分泌等。

IP_3 信号的解除主要有两种途径（图 12-13）：

①活化的 IP_3 在一种膜结合的酶——5'-磷酸酶的作用下，水解为肌醇-1, 4-二磷酸，通过一系列反应最终生成无活性的肌醇-1, 3, 4,-三磷酸（inositol-1, 3, 4-trisphos-

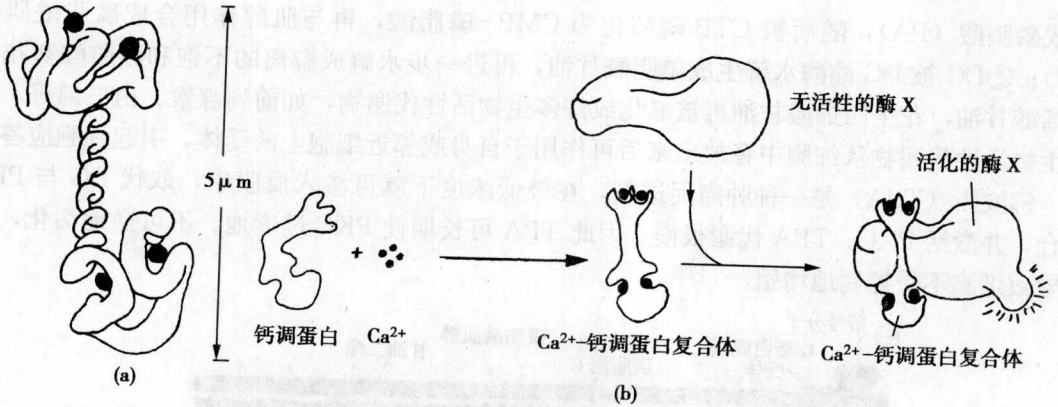


图 12-12 Ca^{2+} -钙调蛋白复合体的分子结构及对酶的调节

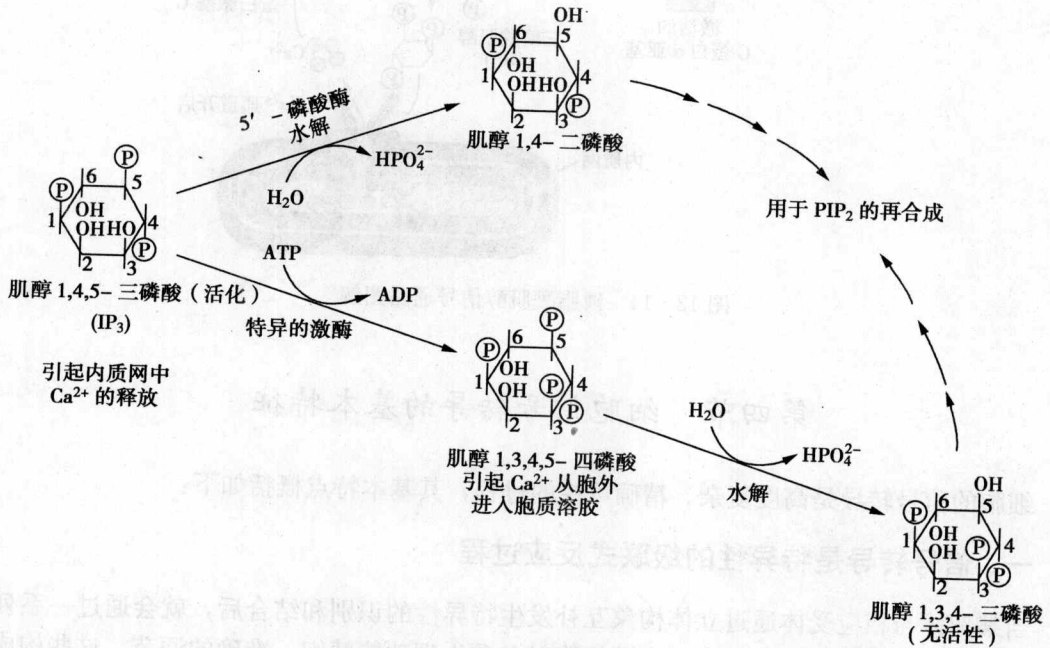


图 12-13 胞质溶胶中 IP_3 的命运

phate)。

②活化的 IP_3 在胞浆中的肌醇磷酸脂-3-激酶和 ATP 的作用下，被磷酸化生成肌醇-1, 3, 4, 5-四磷酸 (inositol-1, 3, 4, 5-tetraphosphate, IP_4)，再被水解成无活性的肌醇-1, 3, 4-三磷酸。

DG 生成后继续留在质膜中，其功能是活化与质膜结合的蛋白激酶 C (PKC)，这是一种 Ca^{2+} 依赖性酶，主要分布在细胞质中，呈非活性构象。当受体激活时， PIP_2 水解，DG 瞬时增高，并与细胞膜上的磷脂酰丝氨酸一起结合到蛋白激酶 C，增加了该酶对 Ca^{2+} 的亲合力，使 PKC 转位到细胞膜的内表面，DG 使 PKC 变为活性构象，从而激活其他靶蛋白 (图 12-14)。例如在许多动物细胞中，PKC 被活化后，激活了 Na^+-H^+ 交换系统，使 Na^+ 入胞， H^+ 出胞，胞质 pH 值上升，促进细胞增殖。

DG 寿命很短，在几秒钟就会发生降解，降解方式主要有两种：①先在磷酸激酶作用下

生成磷脂酸 (PA)，随后被 CTP 磷酸化为 CMP-磷脂酸，再与肌醇作用合成磷脂酰肌醇 (PI)；②DG 被 DG 酯酶水解生成单脂酰甘油，再进一步水解成游离的不饱和脂肪酸和花生四烯酸甘油，花生四烯酸甘油再被氧化成许多生物活性代谢物，如前列腺素、白三烯等。这些生物活性代谢物从细胞中释放出来后可作用于自身或邻近细胞上的受体，引起细胞应答。

佛波脂 (TPA) 是一种肿瘤促进剂，在极低浓度下就可渗入质膜中，取代 DG 与 PKC 结合，并激活 PKC。TPA 代谢很慢，因此 TPA 可长期使 PKC 过度地、不可逆地活化，从而导致细胞不受控制地增殖。

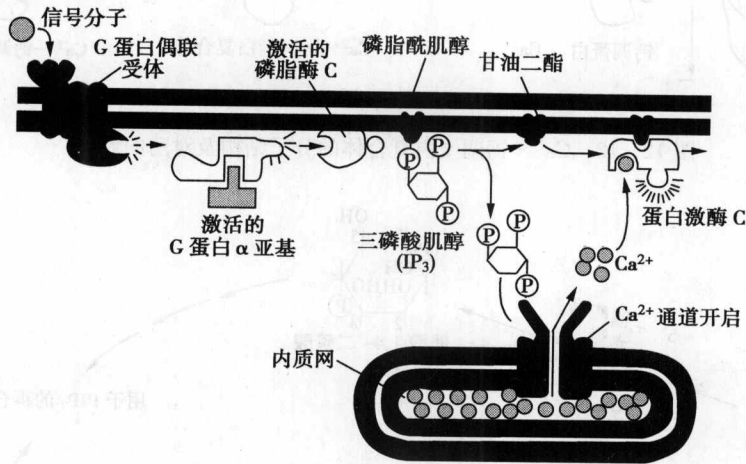


图 12-14 磷脂酰肌醇信号通路图解

第四节 细胞信号转导的基本特征

细胞的信号转导是高度复杂、精确可控的过程，其基本特点概括如下：

一、信号转导是特异性的级联式反应过程

当某配体与相应受体通过立体构象互补发生特异性的识别和结合后，就会通过一系列生化反应，产生特定的生物学效应，实现细胞对各项生理功能精细、准确的调节，这些构成了信号转导特异性的基础。在这一系列的酶促反应过程中，催化某一级反应的蛋白质往往由上一级反应的产物激活或抑制，如此形成的级联式反应使信息不断传递下去，直至细胞骨架发生改变，代谢酶类被激活、相应基因表达被启动等生理效应的产生。

由于细胞所接受的胞外信号纷繁复杂，而产生的应答反应往往只由少数几种第二信使来介导，这就意味着不同的外源信号可以诱导细胞产生相似的信号转导，如不同细胞因子与受体组成的复合体中往往含有共同亚基，从而诱导相似的信号转导；与此同时，同一条信号转导可在细胞中产生多项生理效应，如 cAMP 途径既可调控细胞的分裂增殖和分化，也可调节糖代谢；细胞的这种级联式反应相互交叉影响，共同构成了复杂的信号网络系统，最终将使细胞对胞外信号做出最合理的应答反应。

二、信号转导具有共同的作用机制

在各信号转导途径中，第二信使作用的发挥需要特异地活化相应的蛋白激酶，如 cAMP

激活 PKA、cGMP 激活 PKG、Ca²⁺ 与 CaM 一起激活 Ca²⁺/CaM 依赖蛋白激酶、DG 激活 PKC，这些激酶通过使底物蛋白磷酸化，引发一系列的生化反应，产生各种生物学效应。由此可见，蛋白质的这种磷酸化和去磷酸化的可逆变化，正是绝大多数信号分子激活的共同机制。

三、信号转导具放大作用

信号转导可以将细胞外信号跨膜传递到细胞内，而且还可以通过胞内信使逐级将信号放大（图 12-15）。一个胞外信号与受体结合后，每个受体可以激活若干个 G 蛋白，每个 G 蛋白能激活若干个腺苷酸环化酶，每个环化酶分子又可催化产生许多 cAMP，随后又依次激活其他的靶酶或靶蛋白，这样，经过一系列的酶促反应，将外界信号一级一级放大，最后产生明显的生物学效应。

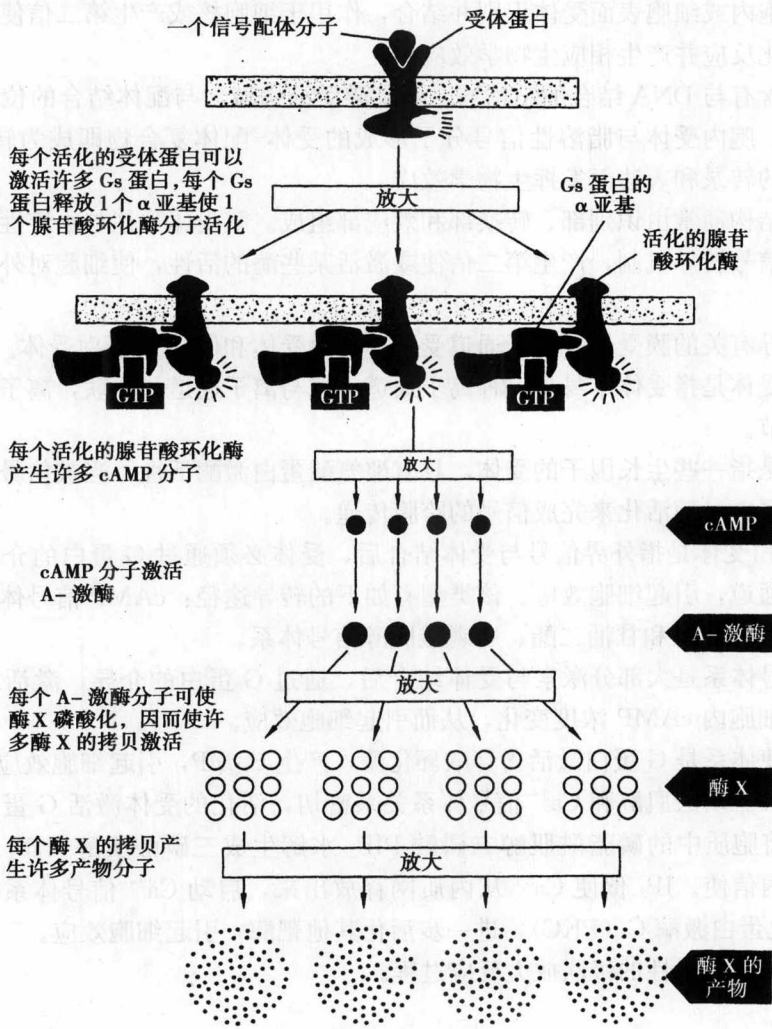


图 12-15 信号转导机制的放大作用

当然，这种放大作用不是持续无度的，细胞可通过控制第二信使的生成与降解，Ca²⁺

的释放与回收，G 蛋白与 GTP、GDP 结合状态的可逆变化来实现对信号转导精确适度的调控。一旦破坏了这种正常的正、负反馈机制，细胞就会发生病变。

四、信号转导具适应性

当细胞持续存在于某种形式的刺激下，细胞对刺激的反应将会降低而呈现适应性。细胞主要通过以下方式产生对信号的适应：一是通过表面受体数目的减少来降低游离受体对外界信号的敏感性；二是降低受体和微量配体的亲和力；三是通过负反馈使通路受阻实现适应。

提 要

细胞的信号转导是细胞对外界刺激做出必要反应的途径。信号分子有脂溶性和水溶性两种，分别与细胞内或细胞表面受体识别并结合，作用于细胞核或产生第二信使，启动细胞内一系列生理生化反应并产生相应生物学效应。

胞内受体含有与 DNA 结合的结构域、转录激活结构域、与配体结合的位点、与抑制蛋白结合的位点。胞内受体与脂溶性信号分子形成的受体-配体复合物即成为转录促进因子，通过调控基因的转录和表达而发挥生物学效应。

膜受体的结构通常由识别部、转换部和效应部组成。膜受体往往与水溶性信号分子特异性结合，通过信号转导机制，产生第二信使或激活某些酶的活性，使细胞对外界刺激产生相应反应。

与信号转导有关的膜受体有离子通道受体、催化受体和偶联 G 蛋白受体。

离子通道受体是指受体本身是一种离子通道，或与离子通道相偶联，离子通道的开关受胞外配体的调节。

催化受体是指一些生长因子的受体，具有酪氨酸蛋白激酶活性，当被信号激活时，受体本身的酪氨酸蛋白激酶活化来完成信号的跨膜传递。

偶联 G 蛋白受体是指外界信号与受体结合后，受体必须通过 G 蛋白的介导才能激活有关的酶或离子通道，引起细胞效应。该类型有如下的转导途径：cAMP 信号体系、cGMP 信号体系、Ca²⁺ 信号体系和甘油二酯、三磷酸肌醇信号体系。

cAMP 信号体系是大部分激素与受体结合后，通过 G 蛋白的介导，激活或抑制腺苷酸环化酶，引起细胞内 cAMP 浓度变化，从而引起细胞效应。

cGMP 信使体系是 G 蛋白激活鸟苷酸环化酶，产生 cGMP，引起细胞效应。

甘油二酯、三磷酸肌醇和 Ca²⁺ 信号体系关系密切，活化的受体激活 G 蛋白，进一步激活磷脂酶 C，将胞质中的磷脂酰肌醇二磷酸 PIP₂ 水解生成三磷酸肌醇 (IP₃) 和甘油二酯 (DG) 两个胞内信使。IP₃ 促使 Ca²⁺ 从内质网释放出来，启动 Ca²⁺ 信号体系，引起细胞效应。DG 可活化蛋白激酶 C (PKC)，进一步活化其他靶酶，引起细胞效应。

信号转导是具特异性的级联放大反应过程。

复习思考题 12

(一) 名词解释：

受体 离子通道受体 催化受体 偶联 G 蛋白受体 第二信使 G 蛋白

(二) 问答题:

1. 膜受体的生物学特性是什么? 有何意义?
2. 试述膜受体的类型及途径。
3. 偶联 G 蛋白受体信号转导体系有哪些转导途径?
4. 试述甘油二酯、三磷酸肌醇和 Ca^{2+} 信使途径的关系。
5. 细胞信号转导具有哪些基本特征?

(言惠文)

第十三章

细胞增殖及调控

细胞增殖 (cell proliferation) 是细胞生命活动的重要体现, 是通过细胞的生长和分裂使细胞数目增加的过程。细胞通过分裂, 将复制的遗传物质均等地分配到两个子细胞中, 保证了细胞遗传的稳定性。

生命的延续、繁衍, 是以细胞的生长和增殖为基础。低等的单细胞生物, 如酵母、眼虫、变形虫等是通过细胞分裂直接产生新的个体。而多细胞生物则是通过细胞增殖、成熟产生生殖细胞, 由精卵结合成受精卵, 再经过多次细胞分裂和细胞的分化过程逐渐发育成为新的机体。

生物机体发育成熟以后, 仍然需要通过细胞增殖不断地产生新的细胞, 以补充生命活动中衰老或损伤的细胞。例如人的红细胞平均寿命只有 120 天; 小肠绒毛上皮细胞每 2~3 天更新一次; 子宫内膜细胞的周期性脱落以及体表上皮细胞和毛发的更新等, 都说明了生命有机体随时都在进行更新。此外, 有机体创伤的修复也是依靠细胞增殖。当机体受到意外损伤、手术治疗或器官移植时, 创面的修复以及机体的免疫反应过程都必须有大量新生的细胞产生, 才能适应机体的需要, 恢复机体功能。

有机体对细胞增殖有精确的自我调节机制, 使细胞的增殖完全按照机体生命活动的需要进行, 表现出严格的时空有序性。细胞增殖一旦出现异常, 有机体就会失去平衡, 导致相关的疾病发生。如造血障碍引起红细胞增殖不足而造成再生障碍性贫血; 某些细胞失去了正常控制而无限增殖, 又会形成恶性肿瘤。因此, 探讨细胞增殖及增殖的调节机制, 对于了解人体的正常生命活动, 掌握医学基础理论和实践均具有重要意义。

第一节 细胞增殖的方式

细胞增殖是通过细胞分裂 (cell division) 过程而实现的。细胞分裂的前提是遗传物质的复制, 各种细胞器及生物大分子的倍增与细胞体积的增大。真核生物的细胞分裂方式有 3 种: 无丝分裂、有丝分裂和减数分裂。

一、无丝分裂

无丝分裂 (amitosis), 也称直接分裂 (direct division)。最早是在鸡胚红细胞中发现的。无丝分裂过程简单、迅速, 没有染色体组装和纺锤体的形成, 无核膜、核仁的消失和重建, 而是直接进行的细胞核与细胞质的分裂。

细胞进行无丝分裂前, 细胞以及细胞核体积增大, 进行 DNA 复制。细胞进入无丝分裂后, 细胞核逐渐伸长呈哑铃形, 中央部分逐渐缢缩断裂成两个子核。与此同时, 在细胞中部也形成环状缢缩、逐渐变细断裂, 最终分成两个子细胞 (图 13-1)。

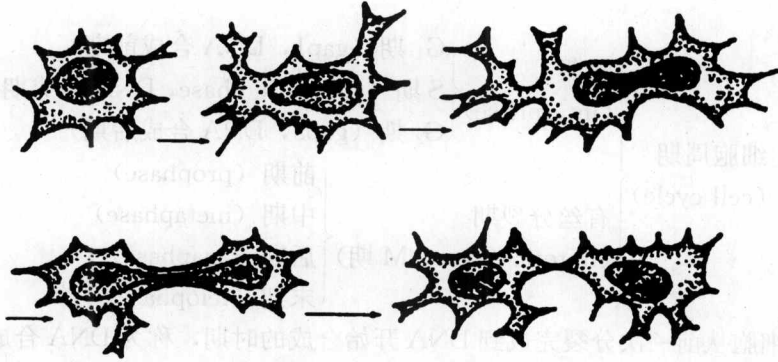


图 13-1 无丝分裂过程示意图

无丝分裂的子细胞核来自于亲代细胞核的断裂，因此不能完全保证两个子细胞获得与亲代细胞同样的遗传物质。无丝分裂是低等生物增殖的主要方式。在人体的某些迅速分裂的组织细胞（如口腔上皮）、创伤修复（伤口附近）、病理性代偿（肝炎、肝癌）等情况下，也能观察到无丝分裂的方式。研究表明，无丝分裂方式也存在于高等生物的多种正常组织中，如上皮组织，疏松结缔组织，肌肉组织等，其他细胞在体外培养状态下，有时也可发生无丝分裂。无丝分裂两个子细胞的遗传物质可能并不是均等的，但其分裂迅速，能量消耗少，分裂中细胞仍能继续执行生理功能等特点，使无丝分裂对于细胞适应外界环境变化有特殊的意义。

二、有丝分裂

有丝分裂 (mitosis)，也称间接分裂 (indirect division)。有丝分裂包括核分裂 (karyonitosis) 和胞质分裂 (cytokinesis) 两个过程，是真核细胞的主要增殖方式。细胞分裂过程中细胞核的形态发生急剧变化，有专门执行细胞分裂功能的有丝分裂器 (mitotic apparatus) 出现，以确保复制好的两套遗传物质平均分配给两个子细胞，这样确保了遗传的连续性与稳定性。（详见第二节）

三、减数分裂

减数分裂 (meiosis)，又称成熟分裂 (maturation division)。减数分裂是有性生殖个体在生殖细胞成熟过程中所发生的一种特殊的细胞分裂方式。整个分裂过程包括两次连续的分裂，而 DNA 只复制 1 次，结果所形成的生殖细胞染色体数目只有原来母细胞的一半。这样产生的精卵细胞再经受精后，受精卵的染色体又恢复到二倍体数目。（详见第六节）

第二节 细胞周期

一、细胞周期概述

（一）细胞周期的概念

细胞周期 (cell cycle)，又称细胞增殖周期，是指细胞从前一次分裂结束开始，到下一次分裂结束为止所经历的全过程。它可分为间期和分裂期两个阶段，每个阶段又可分为几个

时期。



G₁ 期是细胞从前一次分裂完成到 DNA 开始合成的时期，称为 DNA 合成前期。

S 期是细胞从 DNA 开始复制到 DNA 复制结束的时期，S 期完成后，细胞中 DNA 含量倍增，称为 DNA 合成期。

G₂ 期是细胞从 DNA 复制结束之后到有丝分裂开始之前的时期，称为 DNA 合成后期。

M 期是细胞进行有丝分裂的全过程。有丝分裂末期结束，新的子细胞形成，又一个增殖周期便又开始 (图 13-2)。

细胞在正常情况下，依次经过 G₁→S→G₂→M 期的路线运转。细胞周期所经历的时间叫做细胞周期时间 (cell cycle time, T_C)，细胞周期各阶段所需要的时间分别以 T_{G1}，T_S，T_{G2}，T_M 表示。如人宫颈癌体外培养细胞 (Hela 细胞)，T_C 是 20h，其中 T_{G1} 为 8h，T_S 为 6h，T_{G2} 为 4.5h，T_M 为 1.5h。一般而言，T_{G2} 和 T_M 变化较小，T_{G1} 的变化较大。

(二) 细胞周期室的概念

随着分子生物学的迅速发展和新技术方法的应用，对细胞增殖周期中细胞代谢过程有了更加深入的了解，细胞周期活动的主要观察指标不再局限于 DNA 含量的变化。大量研究表明，蛋白质和 RNA 代谢也可调节和控制细胞周期的运转。1980 年，Darzynkiewicz 根据细胞中 DNA、RNA 以及染色质代谢在细胞周期中紧密相关的事实，提出了细胞周期室 (cell cycle compartments) 的概念 (图 13-3)。在考虑以 DNA 含量周期性变化为基础的同时，又考虑到 RNA 含量的变化。

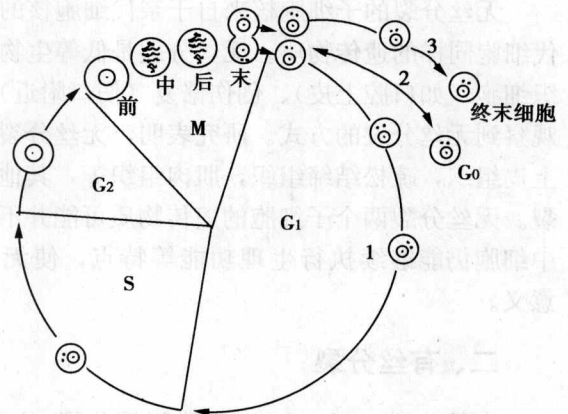


图 13-2 细胞周期示意图

1—连续增殖的细胞；2—暂不增殖的细胞；3—终末分化的细胞

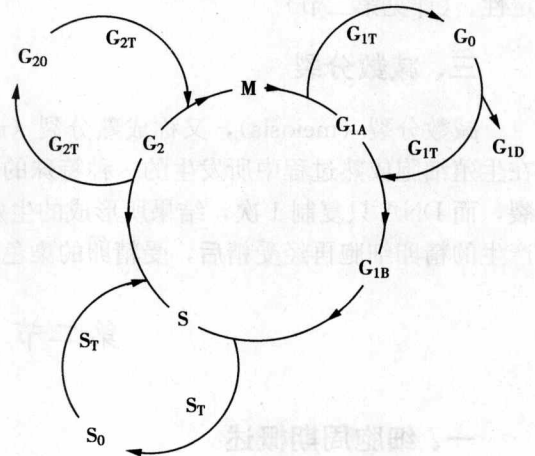


图 13-3 细胞周期室示意图

实验证明, 尽管体细胞在 G_1 期的 DNA 含量都是 $2C$ (content), 但它们的生理状况却有很大差别。分裂后的子细胞刚刚进入 G_1 期时, RNA 含量低, 染色质凝集程度依然较高, 这一状态称为 G_1A 态。 G_1A 态的细胞不能进入 S 期, 必须经过染色质进一步解螺旋化, 提高转录活性, 合成必要的 RNA 和蛋白质 (酶类), 使 RNA 含量增高并达到一定阈值, 细胞便进入 G_1B 态, 开始积极进行 DNA 复制的准备工作。只有 G_1B 态的细胞才能进入 S 期。 G_1A 态细胞没有必需的 RNA 积累, 会处于细胞增殖的静止状态 (quiescence subphase, G_1Q)。静止相的 G_1 期细胞又称为 G_0 期细胞。 G_1A 态的细胞还可以合成特殊结构和功能的 RNA 和蛋白质而进入分化状态 (differentiation subphase, G_1D)。在一定条件下, 这几种状态的细胞之间可以相互转换, 形成过渡状态 (transitional subphase, G_1T), 如 G_0 期细胞可由过渡态返回到 G_1A 态, 进而发育到 G_1B 态, 恢复增殖活性。同样, S 期或 G_2 期的细胞由于 RNA 含量和蛋白质代谢的差异也可以呈现静止状态 ($S_0 \cdot G_{20}$) 或过渡状态 ($ST \cdot G_2T$)。

总之, 无论细胞处于周期的哪一阶段, 只有 RNA 含量达到一定阈值, 才能进入增殖的活性状态。

(三) 细胞质周期和中心体周期

上述的细胞周期概念其主要的细胞代谢基础是 DNA 含量的周期性变化 (图 13-4), 即遗传物质复制和均等分配的过程。它被称为染色体周期或细胞核周期。

事实上, 细胞除了遗传物质的准备外, 所有其他细胞物质也必须进行积累。这些物质的积累如不及时, 就会造成细胞分裂停止。因此, 细胞周期中伴随着细胞核的变化, 细胞质也经历激烈的周期性变化, 子细胞必须经过生长过程, 进行功能性物质的合成 (RNA、蛋白质、细胞器组分等) 和细胞器的组装, 体积增长到一定状态时, 细胞才能进行分裂。细胞体积的生长和细胞质分裂交替发生的过程叫做细胞质周期或称生长周期。细胞质周期中生物化学的变化制约着 DNA 的复制和有丝分裂的进行。

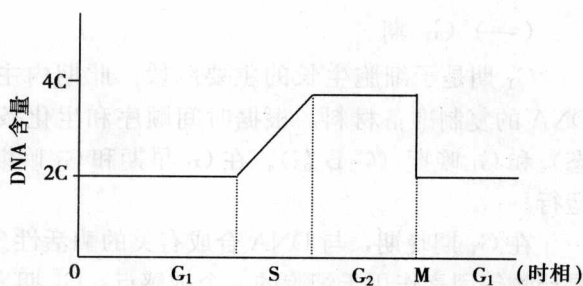


图 13-4 细胞周期各时相 DNA 含量的变化

同时, 在细胞增殖周期中, 中心体也发生规律性的变化, 要经过一个复杂的发育周期才会成熟并具有微管组织中心的作用。

中心粒 (centriole) 是由三联体微管组成的一对相互垂直的圆柱状结构, 它们的外围是折光性很强、电子密度高的一团中心粒周围物质 (pericentriolar material, PCM)。中心粒和 PCM 组成的复合体叫做中心体 (centrosome)。

G_1 期细胞有一对互相垂直的中心粒。到 S 期时, 两个中心粒稍有分离, 在距母中心粒 (原有中心粒) 的垂直方向新生出一个子中心粒。 G_2 期中心粒不断长大, 到 M 期两对中心粒逐渐分离。移到细胞的两极, 同时组织纺锤体及星体。到 M 末期, 每个子细胞各获得一对中心粒——一个母中心粒和一个子中心粒 (图 13-5)。从子中心粒的“新生”、生长、成熟, 以及中心体的分离、移动、组装纺锤体至分配到两个子细胞的过程叫做中心体周期。

细胞核周期、细胞质周期和中心体周期是三个独立又相互关联的事件。某些情况下可以只有细胞核分裂而不伴随细胞质的增长 (卵细胞分裂) 或分裂 (多核细胞)。更为常见的是

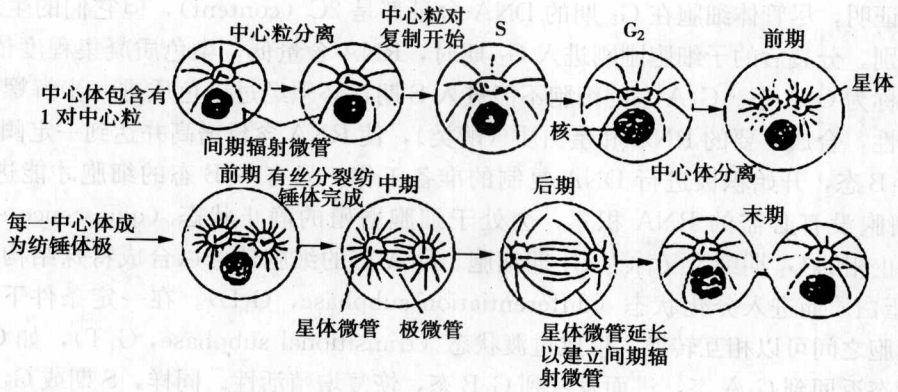


图 13-5 中心体周期

只有细胞生长而不发生细胞核分裂（静止期细胞）。但一般情况下，这三个周期之间是紧密配合、互相协调的。如新复制的 DNA 和新合成的组蛋白必须装配成染色质，中心体物质准备之后必须装配成新的中心体等。这些必要的结构如果装配不完全或者不正常，细胞也不能正常分裂，最终将导致细胞死亡。

二、细胞周期各时相的主要特点

(一) G₁ 期

G₁ 期是子细胞生长的主要阶段。此期内主要进行 RNA 和蛋白质（酶）的合成，为 DNA 的复制准备材料。根据时间顺序和生化条件等特点，G₁ 期又可分为 G₁ 早期（G₁A 态）和 G₁ 晚期（G₁B 态）。在 G₁ 早期和 G₁ 晚期之间有一个限制点，影响细胞在 G₁ 期内的运行。

在 G₁ 期晚期，与 DNA 合成有关的酶活性急剧增高，是推进细胞周期的关键时刻，也是药物等因素作用于细胞的一个敏感点。G₁ 期为细胞进入 S 期创造必需的基本条件，此时，每条染色质丝由 1 条 DNA 分子构成，即相当于一染色单体。

1. G₁ 期时间长度变化大

我们已经知道，各类细胞的周期时间有很大差异，这主要是因为各类细胞 G₁ 期的时间差异极大。细胞在 G₁ 期可以停留几天、几年，甚至几十年（如骨骼肌细胞和神经细胞）；也可以只停留几分钟，甚至完全没有 G₁ 期（如早期胚胎细胞）。而细胞进入 S 期以后，一直到有丝分裂完成所需要的时间是相当恒定的，哺乳类动物细胞一般只有 12~24h（表 13-1）。

表 13-1 说明细胞周期时间变化最大的是 G₁ 期。其原因主要是 G₁ 期细胞对环境因子和生理条件的变化敏感性高。

2. 通过 G₁ 期调整核质比值

细胞分裂过程中核物质的分裂是很严格的，复制好的两套染色体均等地分给两个子细胞，因此，分裂后所形成的子细胞与母细胞的遗传物质是相同的，但细胞质的分裂不是完全均等的，以致使子细胞之间产生体积上的差异。用流式细胞术证明：分裂后形成的两个子细胞，体积大的细胞 G₁ 期时间短，能够较快地进入 S 期，而体积小的细胞就需要经过更长的 G₁ 期，才能进入 S 期。

表 13-1 几种细胞的增殖周期时间

h

细胞种类	时 间				
	T_c	T_{G_1}	T_s	T_{G_2}	T_M
小鼠食道上皮	87	75	7.2	4.1	0.7
小鼠乳腺上皮	64	37.7	21.7	3	1.6
小鼠腹壁皮肤	151	139	6.2	5.3	0.5
大鼠正常肝	47.5	28	16	1.8	1.7
大鼠再生肝	15	3.5	8	2	1.5
人大肠粘膜	24	10	11.5	2	0.5
人宫颈癌 (Hela)	20	8	6	4.5	1.5
人腺癌	76.5	55	15.4	4.12	1.96
人羊膜	19.4	9.8	6.8	2.2	0.6

细胞分裂形成的子细胞体积小于母细胞，主要少在细胞质部分，这就造成核质比例失调，为调整核质比值，细胞要经过 G_1 期的生长过程，大量合成 RNA、蛋白质、脂类及糖类物质，增加细胞质体积，使核质比例恢复平衡。

正常的核质比一般应稳定在 0.3~0.5 之间。

3. G_1 期的生化活动

G_1 期细胞生化活动非常活跃，为 S 期 DNA 的复制作准备。在 G_1 期早期的生长主要合成三种 RNA，它们决定着特异性的蛋白质和酶的合成。 G_1 期早期也迅速转运氨基酸和糖，继而合成蛋白质和糖类。同时 cAMP 与 cGMP 相间形成。在 G_1 期晚期，主要合成 DNA 复制所需要的原料，如脱氧核苷酸、DNA 聚合酶、DNA 解旋酶、胸苷激酶和 DNA 合成启动因子等。此外， G_1 晚期还合成一些与细胞周期运行密切相关的蛋白，如细胞周期蛋白、触发蛋白、钙调蛋白等。

4. 限制点调节细胞增殖

G_1 期时间变化大的最根本原因是具有一个调节细胞增殖周期开和关的“阀门”，称为限制点 (restriction point, R 点)。

现在已经知道，几乎所有的动物细胞在 G_1 期均有限制点，大多数限制点发生在 G_1 期晚期并控制细胞从 G_1 期向 S 期过渡。对 G_1 期限制点研究最多的是芽殖酵母细胞 (*saccharomyces cerevisiae*)，酵母细胞 G_1 期限制点又称为启动点。细胞一旦通过启动就可以进入 S 期，继之通过整个细胞周期，但是， G_1 期启动点受细胞外信号的调节。例如当酵母细胞面临营养缺乏的情况时，细胞就停止在 G_1 期启动点上，并长期处于静止状态而不进入 S 期。由此可见，启动点是决定细胞进入细胞周期循环的决定点。

酵母细胞的启动点除了对外界信号起决定点作用以外，还具有协调细胞生长、DNA 合成以及细胞分裂活动的作用。芽殖酵母细胞是通过生芽方式产生大小不等的后代细胞，即大的母体细胞和小的芽生子细胞。为了使酵母细胞的体积保持恒定，使细胞生长与细胞周期的其他条件相协调，小的芽生子细胞在细胞分裂前的生长速度比母体细胞快，使每个细胞在通过启动点之前均达到最低限度的大小。

与酵母细胞不同，动物细胞在细胞周期内的运转主要靠细胞外生长因子。在适当生长因

子的刺激下,细胞能通过 G_1 期限制点,一旦通过限制点,即使去掉生长因子的刺激,细胞也能顺势通过 S 期完成一个细胞周期。相反 G_1 期细胞如果没有适当的生长因子刺激,细胞就停止在 G_1 期限制点。

采用一些方法可以检测出限制点。例如,可以用血清饥饿法测定 G_1 期细胞的血清控制点。在细胞体外培养时,培养基中必须加入血清(10%~30%),以补充细胞生长所需的生长因子。一般血清含量低于5%时,细胞就不能正常的生长和分裂,而静止在 G_1 期,这种现象称为血清饥饿。用血清饥饿法可以测定 R 点在 G_1 期的具体位置。如某种细胞已知其在正常条件下 G_1 期时间是 15h,首先将这种细胞同步在 M 期,再同步进入 G_1 期,将其分为若干组,分别在不同时间进行血清饥饿(例如,每隔 1h,将一组细胞换成不含血清的培养基),并继续培养。分别测定各组细胞的 DNA 含量或细胞数目增加的情况。结果可以看出,在 R 点以前进行饥饿的各组细胞都静止在 G_1 期,没有 DNA 合成和细胞分裂;而在 R 点以后进行饥饿的各组细胞,有正常的周期活动。如果在 0~9h 之间去除培养液中的血清,细胞不能合成 DNA 而进入 G_0 期,如果在 10~15h 之间去除血清,细胞能进行增殖,这时设定 R 点在 G_1 期的第 10h 处。血清饥饿实验还证明血清饥饿只对 G_1 期细胞产生影响,而对其他各阶段的细胞几乎没有作用;在 G_1 期 R 点以后接受血清饥饿的细胞能正常地通过 S 期甚至 M 期,但其下一个周期 G_1 期却被延长,说明 R 点还有“记忆”能力。

很多的实验证明,在增殖细胞中, RNA、蛋白质、营养物质、生长因子、温度、pH 值、离子浓度、药物及射线等均可作用于 R 点, R 点接受各种环境信号,调控着细胞增殖活动的进程。

5. G_1 期和细胞类群

在细胞社会中,细胞不仅彼此分工不同,增殖行为也有所差异。根据细胞的增殖行为,可将有机体中的细胞分为 3 类:

(1) 继续增殖细胞

又称为周期性细胞,即在细胞周期中连续运转的细胞。这类细胞始终保持旺盛的增殖活性,每次完成分裂后,又越过 R 点,顺序经过细胞周期各时相,而完成细胞分裂。它们不断地补充那些衰老死亡的细胞,保证组织的更新。这类细胞的物质和能量代谢水平高,对环境信号敏感,周期时间稳定。如精原细胞、卵原细胞、胚胎发育早期的细胞、上皮基底细胞、骨髓干细胞、消化道粘膜上皮细胞、指数生长的培养细胞和恶性肿瘤细胞等均属此类。

(2) 暂不增殖细胞

也称 G_0 期细胞或休眠细胞。此类细胞暂时脱离细胞周期或较长时间地停留在 G_1 期,不越过 R 点,处于暂不增殖状态。 G_0 期细胞代谢水平低,但并未丧失增殖能力,在适当条件下,可以恢复到增殖状态。如肝、肾实质细胞,结缔组织中的成纤维细胞,血液中的淋巴细胞等,通常处于 G_0 状态,当组织受到损伤时能恢复到增殖状态。这种特性对组织再生、创伤修复和免疫功能有重要意义。

(3) 不再增殖细胞

也称为不育细胞或终端分化细胞。这类细胞已丧失增殖能力,不再增殖,始终停留在 G_1 期,它们的形态结构与功能已高度分化,直到衰老、死亡,如哺乳动物成熟的红细胞、多形性白细胞、角质细胞、神经元细胞、肌细胞等。这些细胞在机体中执行特殊的生理功能。

(二) S 期

S 期主要是 DNA 复制、组蛋白和非组蛋白的合成。在 S 期结束时，细胞中 DNA 含量增加一倍。每条丝状的染色质具有两条 DNA 分子，即已由两条染色单体构成。S 期持续时间在大多数情况下相当恒定，约为 6~8h。此期对肿瘤治疗具有重要意义，临床上有些化疗药物专门作用于 S 期，阻断 DNA 合成。

1. S 期的启动

细胞在 G_1 期已经为 DNA 合成进行了准备，但是进行 DNA 合成还需要有一个启动过程。通过细胞融合实验，证实 G_1 期进入 S 期和 S 期激活因子有关。如将同步的 HeLa S 期细胞和 G_1 期细胞融合，可诱发 G_1 期细胞核提前进入 S 期，进行 DNA 合成，而 S 期细胞核则不受影响。如将 G_2 期细胞与 G_1 期细胞融合， G_2 期细胞并不能诱导 G_1 期细胞提前合成 DNA。当 G_2 期细胞与 S 期细胞融合时，S 期细胞继续合成 DNA，但 S 期细胞不能诱导 G_2 期细胞合成 DNA。

实验结果表明，S 期细胞中含有 DNA 复制起始的激活因子，它能催化处于“感受”状态的 G_1 期细胞提前完成 DNA 复制，使 G_1 期细胞提前进入 S 期。当细胞完成 DNA 复制进入 G_2 期时，S 期激活因子随之消失，所以 G_2 期细胞核不能重新再复制 DNA。这种 S 期激活因子又称为 S 期促进因子 (S-phase promoting factor, SPF)。

2. DNA 复制

DNA 是遗传信息的载体，它能准确地进行自我复制，真核生物中的 DNA 复制原则上和细菌基因组 DNA 及噬菌体 DNA 复制很相似，如半保留复制方式、冈崎片段复制的特点、复制叉的生长方式、需 RNA 引物等。但与原核生物相比，真核生物染色体 DNA 大得多，而且染色体 DNA 和组蛋白构成核小体结构，因而真核生物 DNA 复制具有其自身特点。在真核生物 DNA 中具有多个复制起点 (replication origin)。

每一个具有 DNA 复制起点的复制区组

成复制子 (replicon)，DNA 复制从复制子起点开始。复制起始部位的 DNA 为 100bp 左右的自动复制序列，很多与 DNA 合成有关的酶汇聚于此，DNA 首先在此解旋，先导链与后随链分开，开始双向复制 (图 13-6)。DNA 复制是分区段进行的，每一区段包括不同数目的复制子，他们对同一控制信号发生反应，同时启动复制。复制子之间的复制有恒定的顺序性。这种严格的顺序性既保证了全部基因都得到复制，又防止了基因的重复性复制，再次复制必须要有新的启动信号才能再次活化复制起始点。

关于 DNA 复制的时间在染色质的不同区段有所不同。一般说，大多数有转录活性的常染色质复制较早；在晚 S 期复制的有异染色质，如雌性动物 X 染色质和具有高度重复顺序的卫星 DNA 等。另外，早 S 期复制的 DNA 中，GC 含量较高，晚 S 期复制的 DNA 中，AT 含量较高。

在细胞周期中，复制时间的差异在染色体区域、DNA 顺序上表现出总是一定的，在前

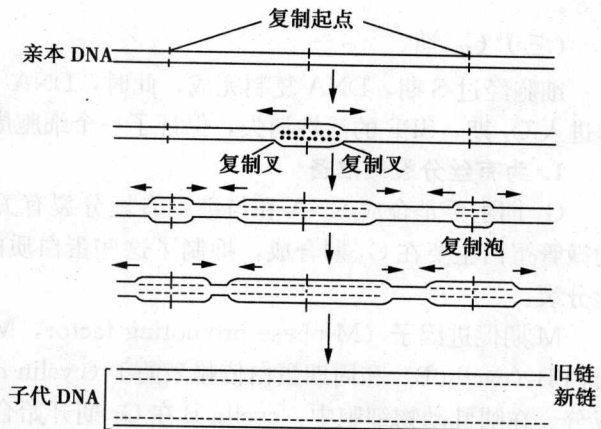


图 13-6 真核生物 DNA 复模式图

一个周期早 S 期和晚 S 期复制 DNA 的区域, 在下一个周期中能够重现。

3. 组蛋白合成与核小体组装

组蛋白的合成主要在 S 期, 而且组蛋白合成的速度和数量与 DNA 复制保持同步, 使新合成的 DNA 得以及时包装成核小体。当在 S 期细胞中加入 DNA 合成抑制剂, 如羟基脲、阿糖胞苷等, 组蛋白的合成也被阻断。如果在 S 期细胞中加入抑制蛋白质合成的药物 (如嘌呤霉素等), 阻断蛋白质的合成, 结果 DNA 的合成速度明显减慢, 以至停止。由此可知, 组蛋白合成与 DNA 复制在染色质组装过程中密切配合, 互为条件, 同步进行。

核小体组装过程的研究表明, DNA 合成后 2 分钟内就已和组蛋白参与核小体的组成。用³H、¹³C、¹⁵N 标记生长的细胞, 形成的新组蛋白, 并不与以前存在的旧组蛋白混合, 新的组蛋白八聚体完全由新的组蛋白构成。进一步实验表明新的组蛋白八聚体与新的 DNA 合成新的核小体。有人认为组蛋白被组装进入核小体后, 就不再离开所结合的 DNA 分子, 因此当 DNA 复制时, 复制叉向前推移, 必须通过亲本核小体, 每个亲本核小体暂时揭开折叠形成两个“半核体”(half-nucleosome), 通过 DNA 聚合酶作用合成 DNA。可能亲本核小体八聚体 (即旧八聚体) 位于复制叉前导链一侧的子代 DNA 螺旋, 而构成新核小体的组蛋白八聚体组装在 DNA 复制叉后随链的子代 DNA 螺旋上。

关于核小体组装机制还存在其他看法, 如认为新核小体沿着新合成的 DNA 是随机分布等。

(三) G₂ 期

细胞经过 S 期, DNA 复制完成, 此时, DNA 含量及其携带的遗传信息增加了一倍。细胞进入 G₂ 期, SPF 的活性消失, 保证了一个细胞周期中 DNA 只能复制一次。

1. 为有丝分裂做准备

G₂ 期主要是合成 RNA 和与细胞有丝分裂有关的特殊蛋白质, 如与有丝分裂装置相关的微管蛋白主要在 G₂ 期合成, 抑制了这些蛋白质的合成, 细胞停留在 G₂ 期而不能进行有丝分裂。

M 期促进因子 (M-phase promoting factor, MPF) 是有丝分裂调控的重要因子。周期蛋白 B (cyclin B) 和周期蛋白依赖激酶 1 (cyclin-dependent kinase, CDK1) 是 MPF 的主要成分。在哺乳动物细胞中, cyclin B 在 G₁ 期开始合成, G₂/M 达到高峰, 并与 CDK1 结合, 在有关激酶和磷酸酶的作用下, 形成活化的 MPF, 使细胞进入 M 期 (详见第四节)。

由于在有丝分裂过程中, 细胞内许多结构成分都发生剧烈运动, 消耗大量的能量, 因此, 在 G₂ 期还必须要有能量的准备。如果在分裂前抑制细胞呼吸或氧化磷酸化, 则有丝分裂受到抑制。

2. G₂ 期存在限制点

经大量的细胞周期限制点研究证明, 在 G₂ 期也有限制点。G₂ 期限制点的主要作用是限制没有经过 DNA 复制的细胞进入 M 期。如射线引起的 DNA 损伤可以作为信号使细胞阻止在 G₂ 期限制点, 以保证错误的遗传物质和信息不遗传到子代细胞中去, 或给细胞足够的时间对损伤进行修复。G₂ 期限制点对蛋白质合成抑制剂、各种射线及其他环境因子等均有较高的敏感性。在 S 期 DNA 复制后少量未完成的 (约 0.3%) DNA 必须在 G₂ 期完成复制。另外, 在 S 期和 G₂ 期 DNA 受到损伤的细胞, 必须在 G₂ 期完成修复以后才能进入 M 期。

G₂ 期的结束意味着 DNA 复制完全, 细胞体积增大到足以进入 M 期, 细胞已在物质和能量上为 M 期做好了充分准备。

(四) M 期

M 期在细胞周期中所占时间最短，但细胞形态结构变化最大。M 期的主要特点是染色质螺旋化为染色体，有丝分裂器形成，核仁和核膜的消失和重建，染色体均等地分到两个子细胞中。根据这些特征性变化可将 M 期分为前期、中期、后期和末期 4 个阶段（图 13-7）。

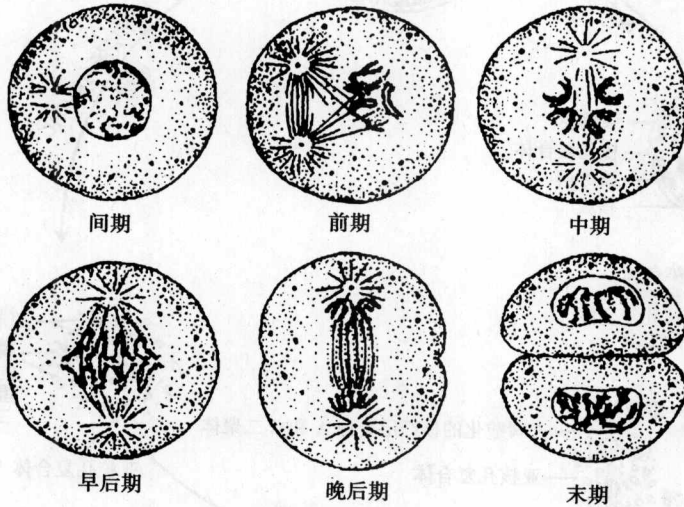


图 13-7 细胞有丝分裂各期模式图

1. 前期

前期主要发生染色质凝集、分裂极确定、核仁消失和核膜解体。

(1) 染色质凝集成染色体

当细胞由 G_2 期进入 M 期后，MPF 浓度上升，MPF 直接作用于染色体凝集蛋白使核内染色质螺旋化。染色质螺旋化缩短、变粗成染色体。这时每条染色体由 2 条染色单体（姐妹染色单体）组成，每一个染色单体由一个 DNA 分子构成。姐妹染色单体之间由着丝粒相连。着丝粒两侧各附有动粒，是动粒微管和染色体连接的部位。

(2) 确定分裂极

动物细胞分裂极的确定与中心粒的移动方向有关。当前期开始时，在 S 期复制的两对中心粒（两个中心体）分离，向细胞的两极移动，到达细胞核的两侧，并组装纺锤体和星体。因为中心粒是微管的组织中心，所以，中心粒移动的方向决定了细胞的分裂方向。

(3) 核仁和核膜解体

高等真核生物细胞常以核仁和核膜消失作为有丝分裂前期结束的标志。核仁消失是由于核仁相随染色质发生凝集，rRNA 的转录及核糖体亚基的组装活动停止。核膜解体主要是核纤层蛋白发生磷酸化而解聚，核膜裂解成许多小膜泡，核纤层蛋白 A 和 C 分散于胞质中，而核纤层蛋白 B 则结合于核膜囊泡上（图 13-8）。

在核膜崩解的同时，细胞内膜系统也被分解成小泡。

2. 中期

中期的主要特征是完整的有丝分裂器形成和染色体排列在细胞中央形成赤道板（equatorial plate）。

有丝分裂器是由中心体、纺锤体和染色体共同组成的复合装置，它是一个临时性细胞

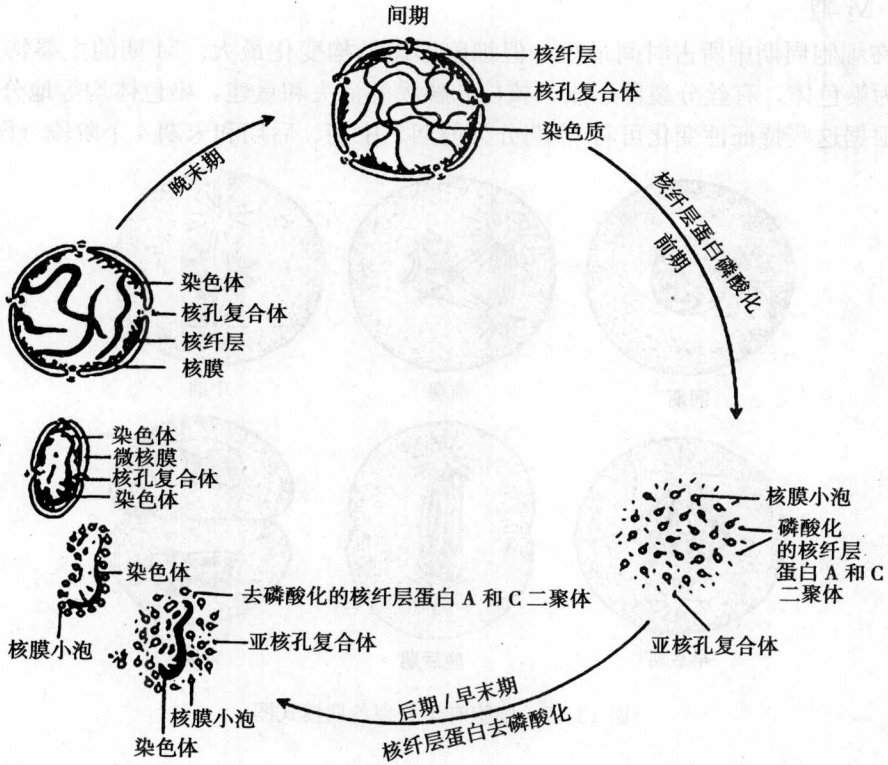


图 13-8 核纤层在核膜重组中起“组织者”作用示意图

器，与染色体的移动和平均分配有关。

纺锤体由三种微管组成，极微管 (polar microtubule)，贯穿在两个中心体之间，有人称之为连续微管。事实上，绝大多数极微管并非贯穿两极，而是来自两极的微管在纺锤体中部彼此以动力蛋白相互连接。动粒微管 (kinetochore microtubule)，由纺锤体的一极发出，另一端和染色体的动粒相连接，又称为染色体微管 (chromosomal microtubule)。星体微管 (astral microtubule)，是围绕中心粒向四周辐射的微管 (图 13-9)。

中期染色体在动粒微管的作用下，前后运动不断地调整位置最终聚集在细胞的赤道板上，就像是染色体两侧动粒微管向纺锤体两极拔河一样，使染色体固定在中央，形成赤道板。此时，从细胞侧面观察，染色体排列成线状；从细胞极面观察，染色体集中排列成菊花瓣状，两臂伸向外周，着丝粒位于花心，这是因为染色体两侧相反方向的力量达到相对平衡，确保两套染色体均等地分配给两个子细胞，避免发生误差。有丝分裂中期的染色体如果不能形成赤道板，细胞就不能正常的进入有丝分裂后期。

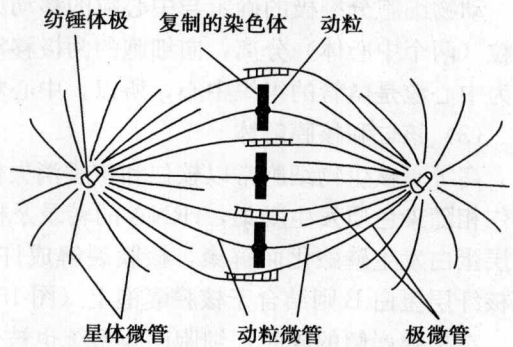


图 13-9 纺锤体中三类微管

如果用药物抑制微管聚合，破坏纺锤体的形成，细胞被阻断在有丝分裂中期。研究染色体形态结构的理想时期是在中期，因为中期染色体浓缩程度最高，具有典型形态，

每条染色体含两条染色单体。因此用药物阻断法可获得大量的中期细胞，可以检查染色体数目、结构畸变等。

3. 后期

后期的主要特征是每条染色体在着丝粒处纵裂，姐妹染色单体分开，两组染色体分别向两极移动，最后到达两极。

染色体的向极移动是由纺锤体微管的两种运动完成的：一种是动粒微管解聚，动粒微管缩短，使染色单体呈 V 字形，向细胞的两极移动 [图 13-10 (a)]。其二是极微管的聚合延长，并和对侧的极微管在相互重叠的部分向反方向产生滑动，由于推力使两组染色体分别向两极移动，在上述过程中，纺锤体两极之间的距离加大，纺锤体延长 [图 13-10 (b)]。哺乳动物细胞分裂后期的纺锤体可以加长 1.5~2 倍。

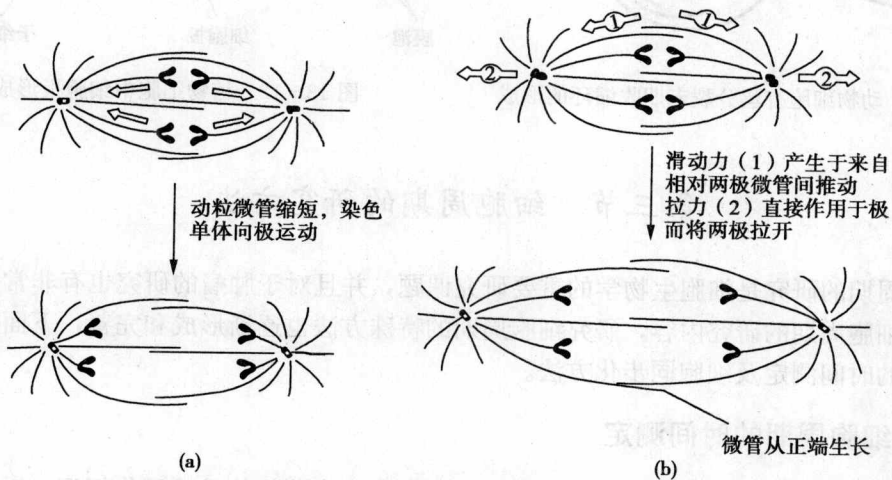


图 13-10 后期姐妹染色单体分离的两个过程

(a) 动粒微管缩短将染色体拉向两极；(b) 极微管延长推动两极分离的力

4. 末期

末期的主要特点是核重建和胞质分裂，两个子细胞形成，完成细胞分裂的过程。

(1) 染色体解旋和细胞核重建

后期结束，两组染色体到达细胞的两极，围绕每一组染色体重组新的核膜。核膜小泡首先与染色体表面相结合，然后融合形成核被膜，包围每组染色体，形成两个子细胞的核。在核被膜形成过程中，核孔也重新组装，在前期被磷酸化的核纤层蛋白，在末期去磷酸化重新形成核纤层。核重组以后，染色体去螺旋化形成间期状态的染色质，同时，基因的转录活性得到恢复，核仁重新出现，新的细胞核产生。

(2) 胞质分裂

胞质分裂 (cytokinesis) 是细胞分裂的最后一个环节。M 期不仅包括染色体分离和新核形成，也是细胞的其他成分和结构分配到两个子细胞中的时期。这些成分的分配是由胞质分裂完成的。

动物细胞胞质分裂时，由于细胞内微丝等结构的收缩作用，使细胞在赤道面处向内凹陷，产生收缩环 (contractile ring)。收缩环逐渐缩小，形成分裂沟，最终将细胞一分为二，有丝分裂过程结束 (图 13-11)。

植物细胞的胞质分裂与动物细胞不同，两个子细胞的分离不是由于收缩环的作用而断开，而是在细胞内部建造一个新的细胞壁。首先是高尔基复合体产生的小泡聚集在纺锤体的中央区出现成膜体 (phragmoplast)，成膜体逐步转变成细胞板 (cell plate)，细胞板最后导致细胞壁的形成。完整的新细胞壁将细胞一分为二，产生两个子细胞 (图 13-12)。

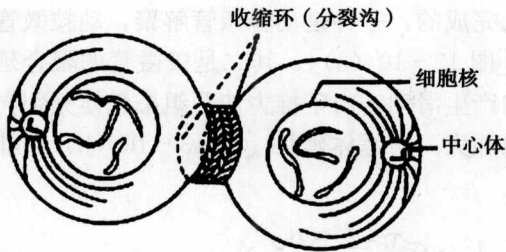


图 13-11 动物细胞有丝分裂末期收缩环的形成

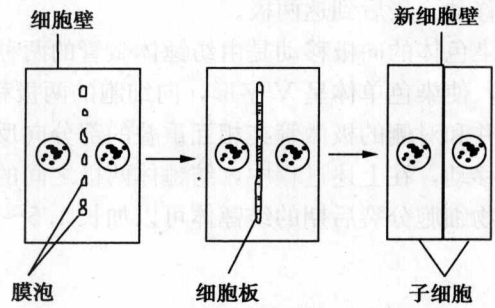


图 13-12 植物细胞中细胞板形成

第三节 细胞周期的研究方法

细胞周期的研究是细胞生物学的重要研究课题，并且对于肿瘤的研究也有非常重要的意义。根据细胞周期的研究内容，研究细胞周期的特殊方法也逐渐形成和完善，下面重点介绍细胞周期的时间测定及细胞同步化方法。

一、细胞周期的时间测定

测定细胞周期时间的基本原理是选择细胞周期中有变化规律的物质作标记，通过观察这些标记物在细胞周期中的变化，间接计算细胞周期及各时相的时间。

(一) 标记有丝分裂比率法

标记有丝分裂比率法 (percentage labeled mitoses, PLM) 是最经典的测定细胞周期各时相时间的方法。利用³H-TdR 标记培养的细胞，于不同时间进行放射自显影，测定有丝分裂细胞中已被标记的细胞比率，根据该比率变化发生的时间，求出细胞周期及各时相的时间 (图 13-13)。下面以体外培养细胞为例，介绍其实验过程：①用³H-TdR 放射自显影脉冲标记待测细胞群体，于细胞培养液中短暂培养后，再用过量的 TdR 将³H-TdR 洗脱，终止³H-TdR 的继续掺入，然后置换新鲜培养液继续培养。因³H-TdR 只掺入到 S 期细胞中，使在该段时间内已处于 S 期的全部细胞中的 DNA 被³H 标记，而当时处于其他时期的细胞则不带标记。②以 M 期为窗口，找出正处于有丝分裂的细胞，即以 M 期的³H-TdR 标记指数为指标，观察 S 期细胞在 M 期前进过程中的变化，至少要观察两个细胞周期。③³H-TdR 标记后每隔半小时或一小时定期取样，进行细胞放射自显影，检测标记细胞的动态变化，计算细胞周期及各时相的时间。

由于 S 期细胞群体进入 M 期内的变化是有规律的。当脉冲标记后，S 期细胞全部标记，G₂ 期、M 期以及 G₁ 期细胞均无标记。由于 S 期细胞需经过 G₂ 期才开始有丝分裂，故开始一段时间标记有丝分裂百分数为 0 [图 13-13 (a)]。当培养一定时间，被标记的细胞将陆续进入 M 期。最先进入 M 期的标记细胞是原来处于 S 期最后阶段的细胞。所以从³H-TdR

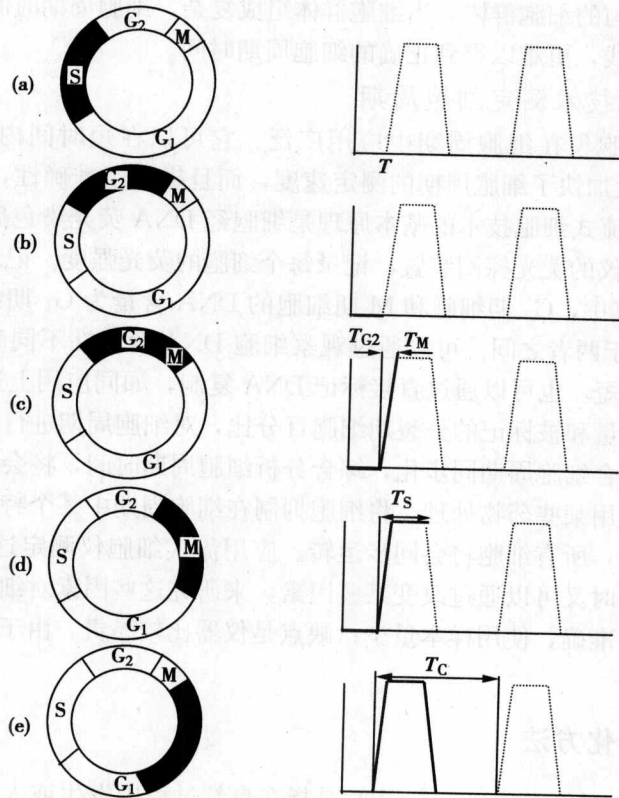


图 13-13 标记有丝分裂比率法 (PLM 法)

右侧粗黑线代表 PLM 的变化；左侧图表示标记的细胞队列及细胞转运的过程

掺入时起，到开始出现有丝分裂细胞时，就是 S 期细胞经过 G_2 期到达 M 期的时间，即为 T_{G_2} 时间 [图 13-13 (b)]。此后，原处于 S 期其他阶段的细胞陆续进入 M 期，标记有丝分裂百分数逐渐上升，达到最高点时，说明原处于 S 期开始阶段的细胞已进入有丝分裂期，故从开始出现标记的 M 期细胞，到标记有丝分裂百分数达到峰值之间所经历的时间为 T_M [图 13-13 (c)]。由于 S 期的持续时间长于 M 期，所以标记有丝分裂比率的高峰大约要维持一定时间，直到最后一个 S 期细胞达到 M 期为止。当标记有丝分裂细胞比率开始下降，表明紧跟 S 期细胞后面的 G_1 期细胞开始进入 M 期，故从开始出现标记有丝分裂细胞，到标记有丝分裂比率开始下降的时间间隔为 T_s 时间 [图 13-13 (d)]，当 S 期细胞群体中最后一个细胞完全离开 M 期时，标记有丝分裂比率降为 0。当 S 期标记细胞经过一个细胞周期再次进入下一个细胞周期的 M 期时，又重复前一个循环的过程。第一次出现标记细胞和第二次出现标记细胞之间所持续的时间间隔为细胞周期时间 (T_C)。 G_1 期的时间 (T_{G_1}) 可由 $T_C - (T_s + T_{G_2} + T_M)$ 算出。

用 $^3\text{H-TdR}$ 标记法测定细胞周期时间长短是一种经典方法。其优点是不仅可以测定细胞周期总时间，而且可以同时测出各个时期所持续的时间。其缺点是应用放射性核素要求专门设备，实验操作也需要格外小心谨慎，以免造成放射性物质对操作者的伤害和对周围环境的污染。放射性核素本身对细胞周期也有一定干扰。

用 $^3\text{H-TdR}$ 进行标记的方法主要适用于细胞种类构成相对简单、细胞周期时间相对较

短、周期运转相对均匀的细胞群体。当细胞群体组成复杂，细胞周期时间长短不一致时，很难得到规则的工作曲线，更难以得到正确的细胞周期时间。

（二）流式细胞技术测定细胞周期

近年来，流式细胞仪在细胞周期中应用广泛。它可以在短时间内测定大量细胞内的 DNA 含量，不但大大加快了细胞周期的测定速度，而且提高了准确性，成为目前测定细胞周期最常用的方法。流式细胞技术的基本原理是细胞经 DNA 荧光染色后，被分离的单个细胞逐个通过流式细胞仪的荧光探测装置，记录每个细胞的荧光强度。记录的细胞荧光强度与 DNA 含量成正比，其中， G_2 期细胞和 M 期细胞的 DNA 含量为 G_1 期细胞的 2 倍。S 期细胞的 DNA 含量则介于两者之间。可以通过观察细胞 DNA 含量在不同时间内的变化，从而确定细胞周期时间长短，也可以通过直接标记 DNA 复制，如同应用上述放射性核素标记技术，经过统计细胞数量和被标记的分裂期细胞百分比，对细胞周期进行综合分析。如果应用流式细胞仪技术并结合细胞周期同步化，综合分析细胞周期时间，将会使实验结果分析更加简便可靠。例如，应用某些药物处理，将细胞抑制在细胞周期中某个特定时期。然后，将细胞从抑制中释放出来，所有细胞将会同步运转。应用流式细胞仪测定这些细胞的周期时间，实验既简单可靠，同时又可以通过改变某些因素，来研究这些因素对细胞周期的影响。这种方法的优点是快捷、准确，使用样本量少；缺点是仪器比较昂贵。由于其突出的优点，目前已得到普遍应用。

二、细胞同步化方法

细胞同步化 (synchronization of cell) 是指在自然过程中发生或人为处理造成的使细胞处于同一细胞周期时相的过程。前者称为自然同步化，后者称为人工同步化。经同步化后的细胞具有形态和生化上的相似特点，对于细胞周期各时相中发生的变化以及细胞周期调控等方面的研究十分有利。处于同一细胞周期时相的细胞群体称为细胞周期同步化群体。在自然条件下，绝大多数增殖的细胞群体是非同步的，称为随机细胞群体。为了深入研究细胞周期各时相中发生的变化，常常需要分别对这些时相细胞进行分子和细胞水平上的分析。用单个细胞进行研究不仅技术困难而且数量太少，难以反映细胞群体的情况，自然同步的细胞群体数量又很有限。因此，近年来关于人工细胞同步化方法的研究有了很大进展，有力地推动了细胞周期研究的深入发展。

目前，人工同步化方法普遍使用体外培养细胞，可分为选择同步化、诱导同步化或两者的结合。选择同步化：是利用细胞在细胞周期不同时相中物理特性的差别，选择某一时相的细胞；诱导同步化：是通过化学药物阻断细胞的某一代谢过程，将细胞阻断在细胞周期的某一时相，然后释放，获得同步化细胞群体。前者的优点是操作过程对细胞的生理过程无严重干扰，同步化细胞接近自然情况；缺点是同步化细胞的收获率比较低。后者的优点是细胞同步化程度高，收获率高；缺点是诱导物可能干扰细胞周期正常的进程及调节，可能造成细胞的结构和功能的异常，甚至发生变异，给实验结果的解释造成一定困难。

（一）选择同步化

1. 有丝分裂选择法

此方法仅适用于贴壁培养细胞。在体外培养的条件下，进入 M 期的细胞，其胞体变圆，从培养瓶 (皿) 壁上隆起，与附着底物之间接触面积减少，对底物的贴附性降低，定时震荡培养瓶 (皿)，处于 M 期的细胞即会脱落，并悬浮在培养液中，收集培养液中的细胞，即可

获得一定数量的 M 期同步化细胞。此法的优点是同步化率高, 可达 95% 以上, 细胞未经任何药物处理, 能够真实反应细胞周期状况。缺点是同步化细胞数量少, 如果要获得大量的同步化细胞, 要进行多次收集。如进行多次震荡, 将震动后的细胞集中在 4℃ 的冰箱内, 停止在 M 期, 可以提高 M 期细胞的收获率。

2. 细胞沉降分离法

此法是利用细胞在细胞周期中体积逐渐增大, 所以处于不同时期的细胞在体积和重量上不同, 可以采用密度梯度离心方法对细胞进行离心沉降。将细胞悬液置于事先制备好的蔗糖密度梯度上, 然后离心沉降。由于大小不同的细胞沉降速率不同, 因而在蔗糖密度梯度中分层分布, 体积大的细胞在底部, 体积小的细胞在顶部。分层收集即可获得不同周期阶段的细胞。这种方法简单省时, 效率高。但缺点是对大多数种类的细胞并不适用。另有一种根据细胞体积分离周期不同时相细胞的方法——离心淘洗法。但需要专门的离心淘洗转子, 装于高速冷冻离心机上。细胞通过离心淘洗转子, 被分成体积不同的各部分, 可使各时相的细胞分层界限较清楚, 提高分离效果, 并可在短时间内从一个细胞群体中同时获得各期同步化细胞, 是一种较好的同步化方法。

(二) 诱导同步化

1. DNA 合成阻断法

选用 DNA 合成抑制剂可逆性地抑制 DNA 的合成, 并将细胞阻断在 S 期或 G_1/S 期交界处, 但不影响处于其他时相的细胞进行周期运转。5-氟脱氧尿嘧啶、羟基脲、阿糖胞苷、氨甲蝶呤、5-氨基尿嘧啶、高浓度的腺嘌呤核苷 (AdR)、鸟嘌呤核苷 (GdR) 和胸腺嘧啶核苷 (TdR), 均可抑制 DNA 合成, 而使细胞同步化。其中过量 TdR 的阻断效果最好, 对 S 期细胞的毒副作用也较小, 成为使用较多的 S 期阻断剂。

为了进一步提高过量 TdR 细胞同步化的效果, 通常使用双阻断方法。该方法首先将过量的 TdR 加入到生长期的细胞中, 细胞在过量 TdR 的作用下, 处于 S 期的细胞 DNA 合成受到抑制, 停止在 S 期。其他时相的细胞沿细胞周期照常运转, 培养一定时间 ($T_{G_2} + T_M + T_{G_1}$) 后, 这些细胞均到达并阻断在 G_1 期和 S 期交界处。此为第一次阻断。将过量的 TdR 洗脱, 去除 TdR 的阻断, 再加入新鲜培养液, 阻断于 S 期的细胞继续在周期中运行, 当超过 S 期时间后, 阻断在 G_1/S 期交界处的细胞以及停止在 S 期的细胞均脱离 S 期。此时再进行第二次 TdR 阻断, 细胞群体再经过 $T_{G_2} + T_M + T_{G_1}$ 的时间, 使细胞再一次阻断在 G_1/S 期交界处 (图 13-14), 将 TdR 洗脱, 更换新鲜培养液, 可获得较高同步率的同步化细胞。该法的优点是同步化程度较高, 应用范围广, 适用于所有体外培养的细胞体系; 缺点是在药物诱导细胞同步化的过程中, 仅影响细胞 DNA 的合成, 而不影响蛋白质和 RNA 的合成, 因此细胞体积仍然增大, 因而造成细胞非均衡性生长, 所得到的同步化细胞与该时相的正常细胞相比有一定的差异, 有时会出现有丝分裂和染色体的异常。

2. 分裂中期阻断法

有丝分裂抑制剂可抑制细胞中微管的聚合和纺锤体的形成, 使细胞阻断在 M 中期, 可将细胞同步化在 M 中期。该方法与 DNA 合成阻断法相比, 由于细胞在 M 期时, 细胞内的大分子合成活动基本停止, 细胞非平衡生长问题不明显, 但阻断的可逆性较差, 所以阻断时间不能过长。

秋水仙素、长春花碱等均为有效的中期阻断抑制剂, 前者因作用较强, 毒性较小, 故更为常用。用该药阻断, 在一定时间范围内具有一定的可逆性, 去除药物的阻断作用后, 大部

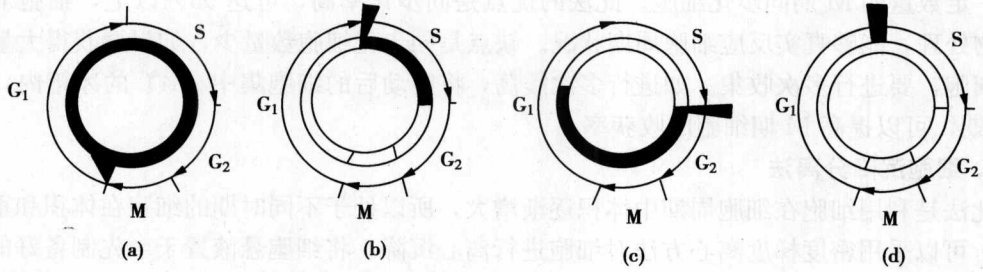


图 13-14 运用过量的 TdR 阻断法进行细胞周期同步化

(a) 处于对数生长期的细胞；(b) 第一次加入 TdR，所有处于 S 期的细胞立即被抑制，其他细胞运行到 G₁/S 期交界处被抑制；(c) 将 TdR 洗脱，解除抑制，被抑制的细胞沿细胞周期运行；(d) 在解除抑制的细胞到达 G₁ 期终点前，第二次加入 TdR 并继续培养，所有的细胞被抑制在 G₁/S 期交界处

分细胞可恢复运行。但是，由于阻断时间不能过长，M 期细胞的收获率不高。多种气体如丙烷、一氧化二氮、甲烷、氩和氢等对有丝分裂具有更强的抑制作用，且可逆性好。Rao (1968) 首次用一氧化二氮处理 HeLa 细胞，获得大量纯的 M 期细胞。其方法是首先用过量 TdR 处理 HeLa 细胞，阻断时间为 $T_S + T_{G2} + T_M$ ，然后洗脱 TdR，解除阻断数小时。再充以含 3% 一氧化二氮的二氧化碳气体，37℃ 温度条件下培养 10 余小时后放气，可见大量的细胞聚集在 M 期。再用震荡法即可获得大量的 M 期细胞。

3. 必须营养成分饥饿法

采用血清饥饿、某些氨基酸以及其他必须营养成分的饥饿方法，可将细胞阻断在 G₁ 期的限制点处。利用此原理进行饥饿阻断，可获得晚 G₁ 期的同步化细胞。

综上所述，细胞同步化的方法很多，在实际工作中应该根据研究目的以及细胞本身的特点，选择、设计合理的同步化方案和方法。有的研究要求同步化程度高，收获率高；有的研究要求所获同步化细胞能在细胞周期中连续正常运转。如早熟染色体凝集试验要求提供大量的 M 期同步化细胞，这些 M 期同步化细胞主要是提供 MPF 的作用，其能否在细胞周期内继续运转并不重要，因此可采用长时间中期阻断法。如果 M 期同步化的目的是为了进一步获得 G₁ 期同步化细胞，采用有丝分裂选择法或一氧化二氮中期阻断法更合适，这些方法所得到的 M 期同步化细胞受到的干扰小，能顺利进入 G₁ 期。

第四节 细胞增殖的调控

细胞周期是细胞通过一系列的生物化学及形态结构的变化，完成细胞生长和增殖的过程，这是通过细胞周期的调控来完成的。细胞周期的调控机制涉及多种因子和多个层次，是一个精细复杂的过程。细胞周期调控的研究主要包括：①寻找与细胞周期调控密切相关的基因及其表达蛋白。②调控基因和蛋白在细胞周期中的动态变化及相互作用的规律：它们是如何启动和影响细胞周期各时相发生的分子事件，进而影响细胞周期的进程的？③内外因素是怎样通过细胞内信号转导系统影响细胞周期的？

2001 年诺贝尔生理学 and 医学奖授予美国科学家 Hartwell、英国科学家 Hunt 和 Nurse，以表彰他们发现了细胞周期的关键分子调节机制。Hartwell 的主要贡献是发现了控制细胞周期的基因，其中的“START”基因对控制细胞周期的起始具有决定性的作用；Nurse 的

主要贡献是发现了调节细胞周期的关键物质——细胞周期蛋白依赖激酶 (CDK), CDK 是通过对其他蛋白质的化学作用来驱动细胞周期的; Hunt 的主要贡献是首次发现了调节 CDK 功能的物质——细胞周期蛋白 (cyclin)。

一、细胞周期中的基因调控

细胞周期中的各种生化事件及各阶段的规律性活动都受到基因的调控, 现在已经确定和细胞增殖相关的基因有: 细胞分裂周期基因 (cell division cycle gene, *cdc* gene)、癌基因 (oncogene) 和抑癌基因 (antioncogene)。

细胞分裂周期基因是指细胞中参与调节细胞增殖的基因。如处于细胞周期调控中心地位的 cyclin、CDK 及 CKI 等基因。此外, 与 DNA 复制密切相关的 DNA 聚合酶基因、DNA 连接酶基因均属于 *cdc* 基因。癌基因及抑癌基因可促进或抑制细胞增殖, 它们的正常表达为细胞周期运行所必需, 当其发生突变或失活时, 将导致细胞的异常增殖及癌变。癌基因和抑癌基因详见第十六章, 本章只介绍细胞分裂周期基因。

cdc 基因是在研究多种酵母细胞的温度敏感突变株中陆续发现的。以 L. Hartwell 为代表的科学家在不同温度条件下培养芽殖酵母, 分离获得了数十个温度敏感突变体 [temperature sensitive(*ts*) mutants]。对芽殖酵母来说, 允许温度位于 20°C~23°C, 限定温度通常为 35°C~37°C。突变体最基本的特点是, 在允许温度条件下, 可以正常分裂繁殖, 而在限定温度条件下, 则不能正常分裂繁殖。这种在限定温度下失去正常分裂繁殖能力的现象, 是由于其基因发生突变而引起的。不同的突变体, 发生突变的基因不同; 在限定温度下, 细胞在细胞周期中所停留的时期以及细胞所表现出的形态结构也常常是不同的。因而可以对不同突变体的基因变化和基因表达进行综合分析, 通过筛选得到专门调节细胞分裂周期的基因突变细胞。如芽殖酵母细胞有控制细胞周期开始的基因 *cdc28*, 如果 *cdc28* 突变, 细胞不能越过增殖活动的起始点。细胞周期将被阻断于 G₁/S 期。*cdc28* 的产物是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 分子质量为 34ku, 称为 p34^{*cdc28*}。*cdc8*、*cdc9* 基因均为芽殖酵母中与 DNA 合成相关的基因, *cdc8* 产物在与单链 DNA 结合后, 可促进 DNA 聚合酶的活性。由于芽殖酵母 *cdc9* 基因突变体中, 出现了 DNA 连接酶的缺乏, *cdc9* 基因因此被认为参与了对 DNA 合成的调节。此外, 还有一些 *cdc* 基因与芽殖酵母 M 期调节相关, 如控制纺锤体极体复制的基因是 *cdc31*; 引起细胞出芽的基因是 *cdc24*, 控制核分裂的基因是 *cdc20*, 胞质分裂的基因是 *cdc3*, 如果这些基因发生突变, 会使细胞停留在分裂中期或末期 (图 13-15)。

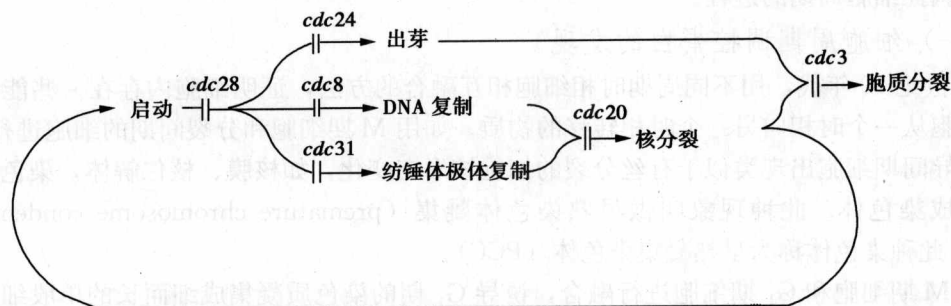


图 13-15 芽殖酵母细胞分裂周期基因

实验证明, 裂殖酵母的 *cdc2* 基因和芽殖酵母的 *cdc28* 基因具有同源性, *cdc2* 基因是裂

殖酵母细胞中最重要的基因之一。*cdc2* 基因突变导致细胞停留在 G_2/M 期交界处。*cdc2* 基因也是第一个被分离出来的 *cdc* 基因。它的表达产物也是一种分子质量为 34ku 的蛋白, 被称为 $p34^{cdc2}$ 。进一步研究发现, $p34^{cdc2}$ 具有蛋白激酶活性, 可以使多种蛋白底物磷酸化。因而被称为 $p34^{cdc2}$ 激酶。 $p34^{cdc2}$ 激酶在裂殖酵母细胞周期调控过程中, 起着关键性调节作用。更进一步研究发现, $p34^{cdc2}$ 和 $p34^{cdc28}$ 本身都并不具有激酶活性, 只有当其与相关蛋白结合后, 其激酶活性才能够表现出来。例如, $p34^{cdc2}$ 必须和另一种 $p56^{cdc13}$ 结合, 才具有激酶活性。

人的 *cdc2* 基因在 1987 年首次从人 cDNA 文库中分离得到。经鉴定该基因不仅组成与芽殖酵母 *cdc28* 基因间有较高的同源性, 在功能上也极为相似, 其产物 $p34^{cdc2}$ 也为一种蛋白激酶, 与 M 期的启动密切相关, 是组成 MPF 的亚基 CDK1。现已证实, 从酵母到人类所有的真核细胞中, *cdc2* 基因的产物在组成上均有一段相似的氨基酸序列, 在细胞周期中均能与周期蛋白结合, 这种在进化上的高度保守性, 表明在真核细胞的细胞周期进程中, 各类生物之间存在某些共同机制, 来控制周期进程中重要事件的发生。一些重要的 *cdc* 基因的产物及其在细胞周期中的作用列于表 13-2。

表 13-2 细胞周期中重要的 *cdc* 基因的产物及其作用

cdc 基因名称	cdc 基因产物	细胞周期中的作用
<i>cdc2</i>	cyclin 依赖性激酶	MPF 的组成之一, 促进 G_2 向 M 期的转换
<i>cdc6</i>	蛋白激酶	介导 S 期启动中预复制复合体的形成, 参与 S 期启动
<i>cdc7</i>	蛋白激酶	磷酸化 S 期启动因子 Mcm 蛋白, 参与 S 期启动
<i>cdc13</i>	cyclinB 类似蛋白	MPF 的组成之一, 促进 G_2 向 M 期的转换
<i>cdc14</i>	磷酸酶	介导 cyclinB 经多聚泛素化途径降解, 促进后期向末期转换
<i>cdc25A</i>	磷酸酶	使磷酸化 CDK2 去磷酸化, 促进 G_1/S 期的转换
<i>cdc25C</i>	磷酸酶	使磷酸化 CDK1 去磷酸化, 促进 G_2/M 期的转换
<i>cdc28</i>	cyclin 依赖性激酶	促进 G_1/S 期的转换

二、细胞周期调控系统

细胞周期的调控系统是由一套相互作用的调控蛋白所组成, 正是这些蛋白质之间的相互作用, 调控细胞周期的进程。

(一) 细胞周期调控蛋白的发现

20 世纪 70 年代, 用不同周期时相细胞相互融合的方法, 证明细胞内存在一些能诱导或促进细胞从一个时相向另一个时相转移的物质。如用 M 期细胞和分裂间期的细胞进行融合, 可以诱导间期细胞出现类似于有丝分裂的细胞核形态变化, 如核膜、核仁解体, 染色质高度螺旋化成染色体。此种现象叫做早熟染色体凝集 (premature chromosome condensation, PCC)。此种染色体称为早熟凝集染色体 (PCC)。

用 M 期细胞和 G_1 期细胞进行融合, 诱导 G_1 期的染色质凝集成细而长的单股细丝状染色体。而染色体的粗细和长短与细胞在 G_1 期的位置有关: 早 G_1 期的 PCC 较粗而短, 晚 G_1 期的 PCC 较细而长。当 M 期细胞和 S 期细胞进行融合后, 则诱导 S 期细胞的染色质呈现出颗粒状, 称为粉末化。电子显微镜观察证实, 颗粒结构是螺旋化程度高的异染色质部分, 在

颗粒之间有螺旋化程度低、具有较高转录活性的常染色质丝相连接，并且可以根据颗粒的单股或双股区分出是复制前还是复制后的染色质。当 M 期和 G₂ 期细胞融合，诱导 G₂ 期染色质凝集成和 M 期染色体近似的结构，只是姐妹染色单体之间彼此靠得更加紧密，染色体较为细长（图 13-16）。

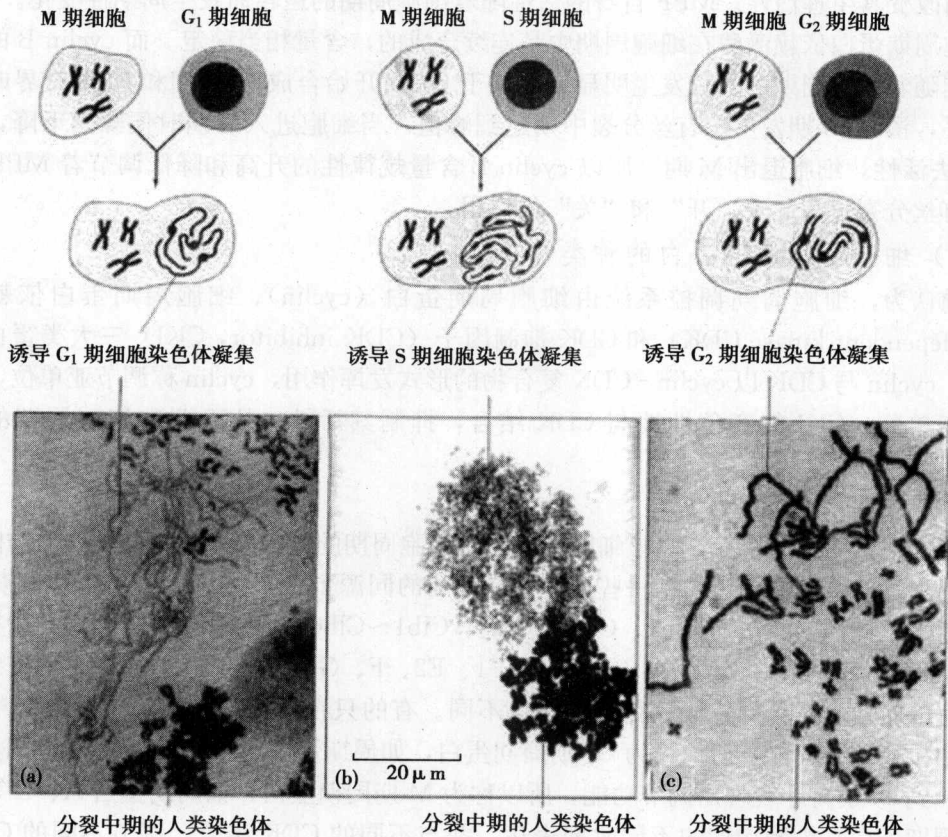


图 13-16 细胞融合早熟凝集染色体示意图

这一实验结果说明，在 M 期细胞的胞质内，有促使间期细胞核提前进入 M 期的物质，这种作用因子称为有丝分裂因子（mitotic factor）。但是，对于这种有丝分裂因子的本质当时并不清楚。

20 世纪 80 年代，用两栖类的卵和早期胚胎细胞作实验材料，对这种促有丝分裂的作用因子进行研究，取得突破性进展。用非洲爪蟾卵细胞作材料，用微注射方法将处于第二次减数分裂中期的卵细胞胞质，注入到处于第二次减数分裂 G₂ 期的卵细胞内，该卵细胞可提前进入第二次减数分裂中期，并停止于该期。这一结果提示，处于减数分裂中期的卵细胞胞质内含有能促进卵细胞成熟的因子，称为促卵细胞成熟因子（maturation promoting factor, MPF）。进一步将含有 MPF 的第二次减数分裂中期的卵细胞胞质提取物注入到处于间期的体细胞内，也可以促使间期体细胞提前进入 M 期。相反，将 M 期体细胞的胞质提取物注入 G₂ 期卵细胞内，同样可以促使 G₂ 期卵细胞提前进入第二次减数分裂中期。这一结果进一步提示，前述的有丝分裂因子与 MPF 可能是同一种物质，它既具有促进卵细胞成熟的作用，又具有促进体细胞进入 M 期的作用，故而促卵细胞成熟因子又称为促有丝分裂因子（mito-

sis-promoting factor, MPF)。

研究证明: MPF 是由两种蛋白质组成的复合体, 其中一种是细胞周期蛋白依赖激酶 1 (CDK1), 为催化亚单位; 另一种是细胞周期蛋白 B (cyclin B), 是调节亚单位。MPF 是调节细胞进、出 M 期所必需的蛋白质激酶, 具有广泛的生物功能, 可以催化许多蛋白质发生磷酸化而改变其生理活性。MPF 自身的活性随着细胞周期的运转而发生周期性变化。

细胞周期蛋白依赖激酶在细胞周期中是连续合成的, 含量相当稳定。而 cyclin B 的合成和降解则随着细胞周期的进程发生明显变化。于 G_1 期开始合成, G_2 期和 M 期交界时达到很高水平, 诱导 M 期发生。有丝分裂中期达到峰值, 当细胞进入后期时便骤然下降, 导致 MPF 失去活性, 细胞退出 M 期。所以 cyclin B 含量规律性的升高和降低调节着 MPF 的活性, 对有丝分裂过程起着“开”和“关”的作用。

(二) 细胞周期调控蛋白的种类

目前认为, 细胞周期调控系统由细胞周期蛋白 (cyclin)、细胞周期蛋白依赖激酶 (cyclin-dependent kinase CDK) 和 CDK 抑制因子 (CDK inhibitor, CKI) 三大类蛋白家族所组成。cyclin 与 CDK 以 cyclin-CDK 复合物的形式发挥作用, cyclin 称调节亚单位, CDK 称催化亚单位。CKI 能竞争性地与 CDK 结合, 抑制其活性, 从而调整细胞周期的进展速度。

1. 细胞周期蛋白

细胞周期蛋白普遍存在于真核细胞中, 随着细胞周期的进程发生周期性地合成与降解。

真核生物的细胞周期蛋白是一些具有相似功能的同源蛋白, 由一个相关基因家族编码, 种类多达数十种, 如酵母的 Cln1、Cln2、Cln3、Clb1~Clb6、Cig 等; 高等动物的周期蛋白 A1、A2、B1、B2、B3、C、D1、D2、D3、E1、E2、F、G、H 等。这些周期蛋白在细胞周期内表达的时期有所不同, 所执行的功能也不同。有的只在 G_1 期表达, 并只在 G_1/S 期转化过程中执行调节功能, 所以称为 G_1 期周期蛋白, 如周期蛋白 C、D、E; 有的在间期表达和积累, 到 M 期时才表现出调节功能, 所以称为 M 期周期蛋白, 如周期蛋白 A、B 等。

各周期蛋白在细胞周期的不同时期表达, 并与不同的 CDK 结合, 调节不同的 CDK 激酶活性, 因此具有细胞周期的时相特异性 (图 13-17)。

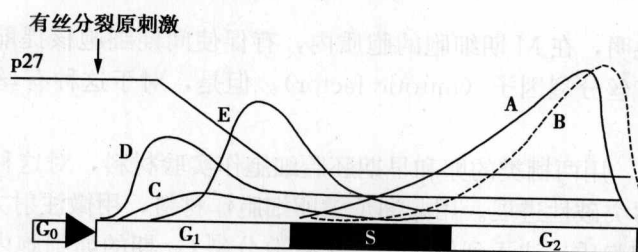


图 13-17 细胞周期中细胞周期蛋白的表达

cyclin A 在 G_1 期初即开始合成, 至 G_1/S 期交界处达到高峰, 诱导细胞 DNA 复制, 推动 S 期起始与进行; cyclin A 与 CDK1 结合成复合物, 则参与 G_2/M 期转换, 在 M 期初降解。

cyclin B 包括 B₁、B₂ 和 B₃ 三种, B₃ 仅发现于鸡细胞, 其他细胞主要是 B₁ 和 B₂。cyclin B 从 G_1 期晚期开始表达并逐渐积累, 到 G_2 期晚期达到最大值并一直维持到 M 期的中期,

然后迅速降解。B₁ 和 B₂ 与 CDK1 (cdc2) 结合成复合体, 构成 MPF, 磷酸化多种蛋白, 如组蛋白 H₁, 核纤层蛋白, 微管蛋白等, 诱导细胞通过 G₂/M 期及完成 M 期过程。

cyclin C 在 G₁ 中期合成达高峰, 与 CDK2 结合, 参与 G₁/S 期转换。

cyclin D 可促使细胞从 G₁ 期进入 S 期, 在哺乳动物中, cyclin D₁~D₃ 具有组织及细胞特异性, 分裂旺盛的细胞通常含有一种以上的 cyclin D。

cyclin E 在 cyclin D 高峰后开始表达增加, 于 G₁/S 期转折点处达峰值, cyclin E 与 CDK2 结合, 是 G₁/S 期过渡必需的调节者, 推动细胞通过 G₁/S 期过渡, 并启动 S 期 DNA 复制。

cyclin H 与 CDK7 结合成复合体, 称 CAK (CDK activating kinase)。CAK 能磷酸化 cyclin-CDK 复合物中的多个位点, 调节细胞周期各个过渡相的 cyclin-CDK 的活性。

不同的周期蛋白有着共同的分子结构特点, 即: 它们均含有一段保守的氨基酸序列, 称为周期蛋白框 (cyclin box) (如图 13-18)。该保守序列由 100 个左右的氨基酸残基组成。可介导周期蛋白与 CDK 结合。不同的周期蛋白框识别不同的 CDK, 组成不同的周期蛋白-CDK 复合体, 表现出不同的 CDK 激酶活性。不同的周期蛋白除有共同的结构特点外, 也各有其特性。如 M 期周期蛋白的分子结构的近 N 端含有一段由 9 个氨基酸组成的特殊序列, 称为破坏框 (destruction box)。破坏框之后, 为一段约 40 个氨基酸组成的赖氨酸富集区。破坏框主要参与由泛素 (ubiquitin) 介导的周期蛋白 A 和 B 的降解。G₁ 期周期蛋白分子中不含破坏框, 但其 C 端含有一段特殊的 PEST 序列。PEST 序列与 G₁ 期周期蛋白的更新有关。

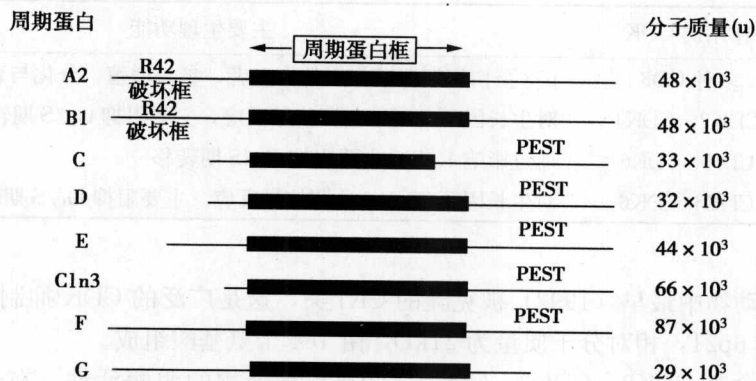


图 13-18 部分周期蛋白分子结构特征

图中显示的, 除了 Cln3 外均为人类的周期蛋白分子。所有这些分子均含有一个周期蛋白框。M 期周期蛋白 (A2, B1) 分子的 N 端含有一个破坏框。G₁ 期周期蛋白分子的 C 端含有一个 PEST 序列

2. 细胞周期蛋白依赖激酶

细胞周期蛋白依赖激酶为一类必须与细胞周期蛋白结合, 才具激酶活性的蛋白激酶。现已被鉴定的 CDK 有多种, 按被发现的先后顺序分别命名为 CDK1~8。在不同的 CDK 分子结构中, 均存在一段相似的氨基酸序列, 是介导激酶与周期蛋白结合的区域。由于 cdc2 第一个被发现, 而其他几个 CDK 激酶则是通过与其相比较而得来, 因而 cdc2 激酶被命名为 CDK1 (表 13-3)。

3. CDK 抑制因子

CDK 的活性受到 CDK 抑制因子 (CKI) 的负性调节, CKI 能结合和钝化 cyclin-CDK 复合物, 从而调节细胞周期过程。在哺乳动物中目前所知的 CKI 按结构分为 CIP/KIP 和 INK4 两大家族, 前者的主要成员有 p21^{Cip/Waf1}、p27^{Kip1}, 后者主要有 p16^{Ink4}、p15^{Ink4} (表 13-4)。

表 13-3 CDK 与 cyclin 的结合关系及作用特点

CDK 类型	结合的 cyclin	作用时间	作用特点
CDK1	cyclin A	G ₂	促进 G ₂ 期向 M 期转换
	cyclin B	G ₂ 、M	磷酸化多种与有丝分裂有关的蛋白, 促进 G ₂ 期向 M 期转换, 完成 M 期进程
CDK2	cyclin A	S	能启动 S 期 DNA 复制, 并阻止已复制的 DNA 发生再复制
	cyclin C	G ₁ /S	协助细胞 G ₁ /S 期过渡
	cyclin D ₁ , D ₂ , D ₃	G ₁	协助细胞通过 G ₁ 期
	cyclin E	G ₁ 晚期	使 G ₁ 晚期细胞跨越限制点向 S 期发生转换
CDK3	—	—	—
CDK4	cyclin D ₁ , D ₂ , D ₃	G ₁ 中、晚期	使 G ₁ 晚期细胞跨越限制点向 S 期发生转换
CDK5	—	G ₀	—
CDK6	cyclin D ₁ , D ₂ , D ₃	G ₁ 中、晚期	使 G ₁ 晚期细胞跨越限制点向 S 期发生转换
CDK7	cyclin H	—	参与各过渡相 cyclin-CDK 活性的调节
CDK8	—	—	—

表 13-4 哺乳动物中主要的 CDK 抑制因子

抑制因子	作用的 CDK	主要生理功能
p21	多种 CDK	p53 蛋白周期调节作用的中介者, 参与增殖、分化与衰老的调节
p27	CDK2, CDK4	对生长因子 TGFβ 负调信号反应, 主要阻抑 G ₁ /S 期转移
p16	CDK4/CDK6	通过影响 R 点, 主要阻抑 G ₁ /S 期转移
p15	CDK4/CDK6	对生长因子 TGF-β 负调信号反应, 主要阻抑 G ₁ /S 期转移

(1) p21

p21 是脊椎动物中最早 (1992) 被克隆的 CKI 类, 这是广泛的 CDK 抑制因子。基因定位在人类染色体 6p21, 相对分子质量为 21kD, 由 164 个氨基酸组成。

p21 能抑制含有 CDK2、CDK3、CDK4、CDK6 复合物的激酶活性。在未转化的细胞中, p21 蛋白以 p21-CDK-cyclin-PCNA (proliferating cell nuclear antigen, 增殖细胞核抗原) 四元复合体的形式发挥作用。PCNA 是 DNA 复制聚合酶 δ 的辅助因子, 为 DNA 复制所必需。当 S 期 DNA 受损伤时, p53 表达增加, 导致细胞周期静止。观察中发现, 在 p53 增加的同时伴随 p21 蛋白的增加, 表明 p21 参与细胞周期的控制。后来的研究证明, p21 通过与 PCNA 结合而抑制 DNA 聚合酶 δ 的功能, 从而抑制 DNA 的复制。因此人们设想 p21 的作用为: 在 G₁ 期 DNA 受损伤时, p21 可通过干扰 CDK 的活性而阻碍细胞进入 S 期, 如 DNA 损伤在 S 期, p21 通过使 PCNA 失活, 而停止 DNA 合成, 从而让细胞修复。应注意的是 DNA 修复也需要 PCNA, 但 p21 不抑制这种功能 (图 13-19)。

研究发现几乎所有正常细胞的 cyclin-CDK 复合物均可以和 p21 结合, 而在转化细胞, 则缺乏这种结合。

(2) p27

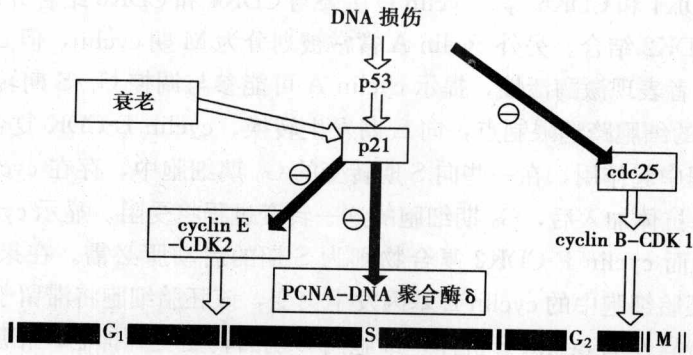


图 13-19 CK1 类 p21 蛋白主要功能示意图

G₁ 期 DNA 损伤，导致 p53 水平升高，增强了 p21 蛋白的表达。通过抑制 cyclin E-CDK2 的活性，阻抑了 G₁ 期细胞进入 S 期。当 S 期的 DNA 损伤时，通过与 PCNA 结合，抑制了 DNA 聚合酶 δ 的活性。阻抑了 DNA 复制。DNA 损伤也可通过影响磷酸酶 p80^{cdc25} 的活性，抑制 cyclin B-CDK1 的活性，导致细胞不能从 G₂ 期向 M 期推进。p21 与衰老细胞老化表型等方面也密切相关

人类 p27 由 198 个氨基酸组成，与 p21 有较高的同源性。基因定位在 12p13。p27 是高度保守的蛋白分子，在人、鼠、貂中 p27 的氨基酸顺序是非常相似的，有 90% 的同源性。

体外试验证明，p27 主要是与 cyclin 结合而发挥对 cyclin-CDK 的抑制作用。如纯化的 p27 能抑制 cyclin A-CDK2、cyclin E-CDK2、cyclin B1-CDK1、cyclin D-CDK4 的活性。

p27 是一个非特异性 CKI，但主要作用于 G₁ 期 cyclin-CDK 复合物，使细胞不能通过 G₁ 期。许多因素可影响其表达，如 TGF- β 、cAMP 等处理细胞，均可使 p27 表达增加。当 TGF- β 等抗有丝分裂原刺激细胞时，降低了 cyclin D-CDK4 的浓度，使游离的 p27 量因脱离复合物而上升，足够浓度的 p27 从而抑制 cyclin E-CDK2 和 cyclin A-CDK2 活性，使细胞停滞在 G₁ 期。近年的一些研究提示 p27 可能还参与多种细胞的增殖和启动细胞的分化。

(3) p16

p16 又名 ink4A，基因定位于 9p21。p16 蛋白包含 148 个氨基酸，p16 的主要作用在于能够抑制 CDK4/CDK6 介导的 Rb 基因的磷酸化，阻止细胞从 G₁ 期进入 S 期。正常情况下，G₁ 期 CDK 活性的增加使 Rb 磷酸化而失活，进而导致 E₂F 的过度表达；而后者反过来抑制 CDK 的活性，并诱导 p16 相关的转录活动。因此 p16、CDK、cyclin、Rb 形成一个反馈调节环路。p16 的失活将导致细胞的过度增殖。

(4) p15

p15 又名 ink4B。其基因与 p16 基因仅相隔 25kb。它的前 52 个氨基酸序列与 p16 有 50% 同源，紧接着有 70 个同源氨基酸，其 C 端 16 个氨基酸残基有 69% 同源。同 p16 一样，p15 结合 CDK4、CDK6，抑制其激酶活性。因此 p15 的作用可能与 p16 相同。

(三) 细胞周期调控蛋白在周期运转中的作用

细胞周期调控蛋白组成了一套完整的细胞周期调控系统，为细胞周期各种事件的发生和终止提供了严格有序的时间表。引发了细胞周期进程中特定事件的出现。

1. 在 G₁/S 期转换中的作用

目前一般认为，细胞由 G₁ 期向 S 期转化主要受 G₁ 期周期蛋白及 CDK 激酶所控制。在哺乳动物细胞中，G₁ 期周期蛋白主要包括 cyclin D、E，与 G₁ 期 cyclin 结合的 CDK 激酶主

要包括 CDK2、CDK4 和 CDK6 等。cyclin D 主要与 CDK4 和 CDK6 结合并调节后者的活性，而 cyclin E 则与 CDK2 结合。另外 cyclin A 常常被划分为 M 期 cyclin，但 cyclin A 也可以与 CDK2 结合而使后者表现激酶活性，提示 cyclin A 可能参与调控 G₁/S 期转化过程。这些复合物能使晚 G₁ 期的细胞跨越限制点，向 S 期发生转换。cyclin D-CDK 复合物主要在 G₁ 期向 S 期转变的过程中起作用，在一些向 S 期转变的 G₀ 期细胞中，存在 cyclin D 的转录及表达，而当 cyclin D 抗体加入后，G₀ 期细胞的这一转变过程将受阻。显示 cyclin D 为细胞 G₁/S 期转化所必需。而 cyclin E-CDK2 复合物则为 S 期的启动所必需。在果蝇胚胎发育过程中，如果让果蝇胚胎细胞中的 cyclin E 基因发生突变，该胚胎细胞将滞留于 G₁ 期。向 G₁ 期细胞中显微注射特异性的 cyclin E 抗体，细胞向 S 期的转变受到抑制。相反，若用某些方法促进 cyclin E 在细胞中的高表达，则 G₁ 期细胞将迅速转入 S 期。

G₁ 期 cyclin-CDK 复合物对 G₁/S 期转化的调节过程是：cyclin D 首先在细胞中大量合成，CDK4、6 与其结合，通过激酶活性活化细胞中的某些转录因子。G₁ 期的晚期 cyclin E 逐渐合成、积累并与 CDK2 结合，在 G₁/S 期交界处，cyclin E 与 CDK2 复合物活性达到最高，细胞中的其他一些转录因子随之被活化，由此启动了与 DNA 复制相关基因的表达，产生一系列 DNA 合成所需的酶与蛋白质，为细胞进入 S 期作准备。

磷酸化 S 期 cyclin-CDK 复合物抑制蛋白，使其经多聚泛素化途径被降解，是 G₁ 期 cyclin-CDK 复合物控制 G₁ 期向 S 期转变的另一种方式。S 期 cyclin-CDK 抑制蛋白是一种表达于 G₁ 期早期，特异性抑制 S 期 cyclin-CDK 的因子，S 期 cyclin-CDK 在 G₁ 期一经合成，即被该抑制蛋白结合，活性丧失。在 G₁ 期晚期，S 期 cyclin-CDK 抑制蛋白在 G₁ 期 cyclin-CDK 复合物作用下发生磷酸化，经泛素结合酶及泛素连接酶识别后，被多聚泛素化，最终降解，S 期 cyclin-CDK 活性得以恢复，重新具有对 DNA 合成的诱导能力，G₁ 期进一步向 S 期转换。

当细胞进入 S 期后，cyclin-CDK 复合物主要的变化包括：cyclin D/E-CDK 复合物中的 cyclin 发生降解、cyclin A-CDK 复合物形成。因 cyclin D/E 的降解是不可逆的，使得已进入 S 期的细胞将无法向 G₁ 期逆转。cyclin A-CDK 复合物是 S 期中最主要的 cyclin-CDK 复合物，能启动 DNA 的复制，并阻止已经复制的 DNA 再发生复制。

关于 cyclin A-CDK 复合物启动 DNA 复制的机制，目前认为与真核细胞 DNA 分子复制起始点及复制前蛋白复合体结构有关。复制前蛋白复合体（pre-replication complex, pre-RC）是 DNA 序列上一个由多种蛋白构成的复合体。cyclin A-CDK 复合物利用其激酶活性可使该蛋白复合体某些位点发生磷酸化，复合体由此被激活，DNA 合成开始启动。此外，cyclin A-CDK 复合物还可通过磷酸化作用，使 pre-RC 的某些蛋白具有解旋酶的功能，在 DNA 复制起始点处将 DNA 双链打开，当其他与 DNA 合成相关的酶，如 DNA 聚合酶等在此汇集后，开始进行 DNA 复制。

在 DNA 复制启动后，pre-RC 中的蛋白质可在 cyclin A-CDK 复合物作用下发生分离，pre-RC 解体，在原复制起始点上 DNA 将不能再次进行复制。cyclin A-CDK 复合物还可进一步对组成 pre-RC 的蛋白质进行磷酸化，导致其降解或向核外转运，阻止了 pre-RC 在其他复制起始点的重新聚合装配，使 DNA 复制不会再启动。cyclin A-CDK 复合物通过上述机制，保证了 S 期细胞 DNA 只复制一次，cyclin A-CDK 复合物的这一作用能维持到 G₂ 期及 M 期，保证在整个细胞周期中，DNA 只复制一次。

2. 在 G₂/M 期转换中的作用

G₂ 期晚期形成的 MPF 复合物，在促进 G₂ 期向 M 期转换的过程中起着关键作用。

在 MPF 中，CDK1 必须与 cyclin B 结合才有激酶活性，同时还受磷酸化和去磷酸化的调节。CDK1 为一种 Ser/Thr（丝氨酸/苏氨酸）激酶，可催化蛋白质 Ser 与 Thr 残基磷酸化，是 MPF 的活性单位。CDK1 本身为一种磷蛋白，只有当其发生去磷酸化时，才可以表现出蛋白激酶活性。CDK1 在整个细胞周期进程中的表达均较为恒定。cyclin B 具有激活 CDK1 及选择激酶底物的功能，其表达随细胞周期进程发生变化，为 MPF 的调节单位。

当 CDK1 没有与 cyclin B 结合时，其激酶活性位点被部分覆盖。细胞进入 G₂ 期后，cyclin B 的合成及活性逐渐升高并与 CDK 结合，暴露活性位点。此时，CAK 进一步活化 CDK 活性位点附近的氨基酸。但是，由于 CDK 分子内尚有 14 位苏氨酸（Thr14）和 15 位酪氨酸（Tyr15）两个抑制性位点被蛋白激酶 Wee1 磷酸化，使整个 CDK 的激酶活性仍处于抑制状态。

在 G₂ 期晚期 cyclin B 表达达到峰值，CDK1 与其结合后，在 *cdc25* 基因产物的作用下，原处于磷酸化的 Thr-14 和 Tyr-15 位点，发生去磷酸化，而 Thr161 位点则保持其磷酸化状态（图 13-20），CDK1 活性由此被激活。MPF 活性增高，促进了 G₂ 期向 M 期的转换。定位突变证明，如 Thr161 突变，CDK 仍能与 cyclin 结合，但没有激酶活性。*cdc25* 基因产物是 p80 蛋白，主要在 M 期发挥作用。若 cyclin B 与 CDK1 分离并解体，CDK1 的 Thr-14 和 Tyr-15 氨基酸残基又发生磷酸化，将致使 MPF 激酶活性失活，因此可促进细胞从 M 期向 G₁ 期转化。

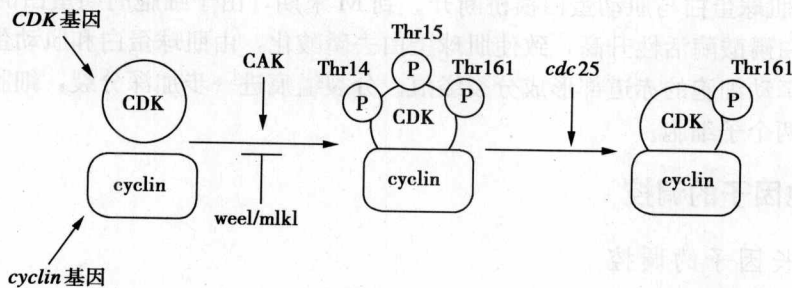


图 13-20 cyclin-CDK 复合物的形成步骤和活化

3. 在 M 期中的作用

M 期细胞在形态结构上所发生的众多事件以及中期向后期、M 期向下一个 G₁ 期的转换均与 MPF 相关。

细胞由 G₂ 期进入 M 期后，MPF 可对 M 期早期细胞形态结构变化产生作用。MPF 与染色体的凝集直接相关。在细胞分裂的早、中期，MPF 可通过磷酸化组蛋白 H₁ 上与有丝分裂有关的特殊位点，诱导染色质凝集，启动有丝分裂。MPF 也可直接作用于染色体凝集蛋白，散在的 DNA 分子结合于磷酸化的凝集蛋白上后，沿其表面发生缠绕、聚集，染色质经多级螺旋，形成超螺旋化结构，进而凝集成染色体。

核纤层蛋白也是 MPF 的催化底物之一，核纤层蛋白经 MPF 作用后，其特定的丝氨酸残基可发生高度磷酸化，由此引起核纤层结构解体，磷酸化的核纤层蛋白 A 和核纤层蛋白 C 组成的二聚体以溶解的方式分散到细胞质内，磷酸化的核纤层蛋白 B 组成的二聚体仍保持与核膜相连。核膜失去核纤层的支持，形成很多与核纤层蛋白 B 结合的核膜小泡。MPF 也

能对微管结合蛋白进行磷酸化，进而调节细胞周期中微管的动态变化，促进纺锤体的形成(图 13-21)。

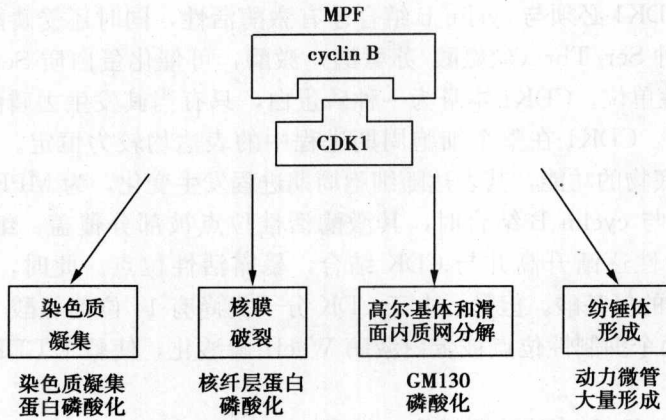


图 13-21 MPF 与 M 期底物作用诱导细胞进入 M 期

在有丝分裂后期末，MPF 解聚、失活，促使细胞转向末期，此时细胞中因失去了 MPF 的活性作用，磷酸化的组蛋白、核纤层蛋白等可在磷酸酶作用下发生去磷酸化，染色体解旋成染色质，核膜也再次组装，子细胞核逐渐形成。胞质分裂是 M 期的最后一步，同样依赖于磷酸酶活性。当 MPF 活性在 M 早期达高峰时，使肌球蛋白磷酸化，继而抑制肌球蛋白 ATP 酶活性，肌球蛋白与肌动蛋白横桥断开。到 M 末期，由于细胞周期蛋白的降解，MPF 活性下降，蛋白磷酸酶活性升高，致使肌球蛋白去磷酸化，由肌球蛋白和肌动蛋白组成的收缩装置收缩，牵动细胞的赤道部形成分裂缢痕。分裂缢痕进一步加深分裂，细胞质相连部完全断开，形成两个子细胞。

三、其他因子的调控

(一) 生长因子的调控

1. 生长因子的特性和类型

生长因子 (growth factor, GF) 是一类由细胞分泌产生的多肽类物质，能与细胞膜上特异性受体结合，经信号传递，激活细胞内多种蛋白激酶，促进或抑制细胞周期进程相关的蛋白质表达，参与对细胞周期的调节。生长因子的作用为细胞周期正常进程所必需。如处于 G₁ 期早期的细胞，若缺乏生长因子的刺激，将不能向 S 期转换，进而脱离细胞周期，进入静止状态，称为 G₀ 期细胞。目前已分离纯化的生长因子有：表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF)、血小板源生长因子 (platelet-derived growth factor, PDGF)、神经生长因子 (nerve growth factor, NGF)、成纤维细胞生长因子 (fibroblast growth factor, FGF) 及胰岛素样生长因子 (Insulin-like growth factor, IGF) 等，见表 13-5。生长因子没有种属特异性，但表现出一定的组织特异性，不同的细胞需要不同的生长因子。

2. 生长因子的作用

生长因子对细胞增殖的调节是通过与生长因子受体结合，激活细胞内一系列信号通路，刺激或抑制细胞增殖的反应。

不同种类的细胞具有不同的生长因子受体，很多生长因子受体具有激酶活性。生长因子

受体多数是跨膜糖蛋白，可分为细胞外结构域、中间跨膜区和胞质区结构域三个部分。胞外结构域有配体结合位点，胞内结构域是具有酪氨酸蛋白激酶活性的部位。

EGF 受体是目前了解最详细的生长因子受体，它是一个分子质量为 175ku 的跨膜糖蛋白（图 13-22）。

表 13-5 常见生长因子及其作用

名称	相关家族成员	主要作用
血小板源生长因子 (PDGF)	有三种亚型	刺激成纤维细胞、平滑肌细胞、神经胶质细胞等多种细胞生长，从 G ₀ 期向 G ₁ 期转变
表皮生长因子 (EGF)	转化生长因子- α (TGF- α)	刺激上皮型和间质起源细胞生长增殖，是胚胎发育的诱导信号，推动 G ₁ 期细胞进入 S 期
成纤维细胞生长因子 (FGF)	多种亚型	刺激中胚层起源的细胞、血管内皮细胞生长增殖，胚胎发育的诱导信号
胰岛素生长因子 (IGF)	包括 I 和 II 两种	调节细胞代谢，维持细胞生存，与其他生长因子协同作用，刺激细胞生长增殖
转化生长因子- β (TGF- β)	有多种亚型	多来源，多功能，刺激或抑制细胞增殖效应（取决于细胞类型）
神经生长因子 (NGF)		维持神经细胞生存，促进神经突起的生长
白细胞介素-2 (IL-2)		刺激活化 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞的增殖

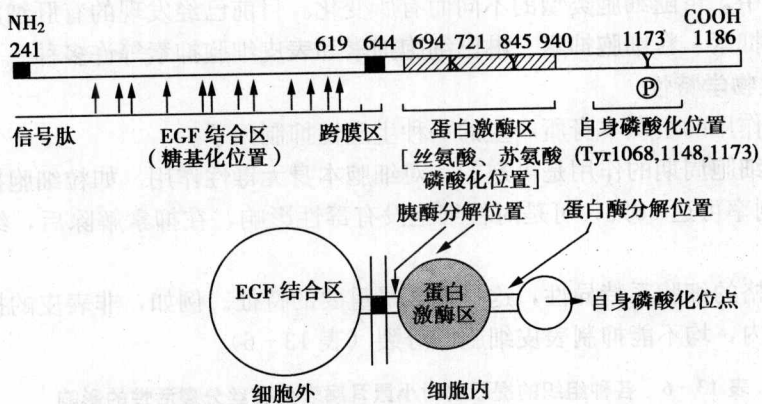


图 13-22 表皮生长因子受体结构图解

从图可见，在受体氨基端有一个由 24 个氨基酸组成的信号肽，当除去信号肽后就形成成熟的 EGF 受体蛋白。受体蛋白结构由 3 部分组成：伸出膜外的与 EGF 结合的氨基端区域（含 621 个氨基酸）；锚定在细胞膜上的中间跨膜区域（含 23 个疏水氨基酸）；具有蛋白激酶结构域的细胞质内羧基端区域（含 542 个氨基酸），该区域内含自身磷酸化位点。当 EGF 与其受体结合后，受体 C 末端的 3 个酪氨酸残基（Tyr1068, 1148, 1173）快速发生自身磷酸化，这是受体酪氨酸激酶被活化的可能机制之一。

EGF 通过与受体结合，激活受体酪氨酸蛋白激酶活性，使 S6 激酶活化，催化核糖体 40S 亚基中的 S6 蛋白的磷酸化，S6 蛋白的磷酸化可能具有促进 40S 亚基与 mRNA 的结合作用，从而参与在翻译水平上对蛋白质合成的调节作用。

正常细胞增殖活动需多种生长因子的共同调节，不同的生长因子在细胞周期的不同阶段

发挥作用,如 G_0 期的3T3细胞必须经过PDGF的激活作用才能进入 G_1 期,从 G_1 期进入S期又要依次经EGF(R点之前)和IGF(R点之后)的顺序激活,三者协同,不可缺少,也不可颠倒,说明生长因子之间存在着协同作用。

一种细胞的细胞周期可受到多种生长因子的调节,而同一种生长因子又可作用于多种类型细胞的增殖过程,细胞类型不同,其作用的效应也存在差异。如TGF- β 对细胞增殖是促进还是抑制,取决于所作用的细胞类型,就大多数类型细胞而言,TGF- β 可在 G_1 期向S期转换中起负调节作用。细胞在TGF- β 存在的情况下,cyclin E表达降低,cyclin E-CDK2复合物形成受阻,细胞被迫滞留于 G_1/S 期,而不能向S期转换。而对少数间质来源的细胞,如成骨细胞,TGF- β 则表现为促进细胞分裂。

生长因子对细胞周期的调节效应还与生长因子浓度及其与受体的亲和性相关,当生长因子浓度升高或与受体亲和性增强,将促进对细胞周期的调节作用。

(二) 抑素的调控

机体在幼年时细胞增殖超过细胞的丢失,不断长大,到了成年机体不再长大了,但是细胞仍然有增殖,不过增殖和丢失保持平衡状态。还比如肝部分切除以后,剩余的肝组织迅速再生,可是当它恢复到原来的重量以后,即自行停止生长。这是因为机体细胞中存在着负调节因子——抑素(chalone)。

抑素是一类由细胞自身产生、分泌的,能抑制细胞增殖的糖蛋白。通常分布于其发挥作用的特异性组织中,可随细胞类型的不同而有所变化。目前已经发现的有肝细胞抑素、肾细胞抑素、红细胞抑素、粒细胞抑素、淋巴细胞抑素和表皮细胞抑素等许多种。

1. 抑素的生物学特性

(1) 是抑素作用的组织本身所产生的一种生理性抑制因子。

(2) 抑素对细胞周期的作用是可逆的,对细胞本身无毒性作用。如粒细胞抑素对粒细胞DNA合成的抑制率可达66%,可是对粒细胞没有毒性影响,在抑素解除后,细胞的增殖即可恢复正常。

(3) 具有严格的细胞系特异性,这是抑素最重要的特征。例如,非表皮的提取物,不论在体外还是在体内,均不能抑制表皮细胞的分裂(表13-6)。

表13-6 各种组织的提取物对小鼠耳廓表皮有丝分裂活性的影响

	组 织 提 取 物				
	表皮	肝	肾	肺	脑
有无抑制	+	-	-	-	-

注:有抑制作用标“+”,无抑制作用标“-”。

(4) 无种属特异性,一种动物的抑素对另一种动物的同类组织有效。用表皮的提取物,不论种系的差别都能对表皮细胞分裂产生抑制作用(表13-7)。

表13-7 四种动物的表皮提取物对小鼠表皮有丝分裂的影响

	表 皮 提 取 物			
	小鼠	大鼠	豚鼠	兔
有无抑制	+	+	+	+

注:有抑制作用标“+”,无抑制作用标“-”。

2. 抑素的作用

抑素可通过与细胞膜上特异性受体结合,引起信号的转换及向胞内的传递,进而对细胞周期相关蛋白的表达产生影响,这种调节方式与生长因子的作用类似。抑素在细胞周期的作用点主要在 G_1 期末及 G_2 期,有的专一性地作用于 G_1 期,阻碍细胞进入S期,或者作用于 G_2 期,阻止细胞进入M期。把作用于 G_1 期的称为 G_1 期抑素(或S因子),作用于 G_2 期的称为 G_2 期抑素(或M因子)。有些组织细胞,如表皮细胞、淋巴细胞、肝细胞、粒细胞等都有两种抑素。两种抑素无交叉作用,它们分别阻止细胞进入S期或M期。

抑素和起正调节作用的生长因子相互拮抗,又相互协调。这种相互制约的关系一旦受到破坏,细胞增殖活动就发生异常。研究表明,肿瘤细胞不但自身产生抑素的能力低,而且对抑素的敏感性也大大下降。这是肿瘤细胞失去增殖控制的重要原因。例如,抑制白血病淋巴细胞的抑素要比抑制正常淋巴细胞的用量高3~4倍。而髓性粒细胞的抑素含量却只有正常粒细胞的1/10~1/40。

(三) cAMP 与 cGMP 的调控

cAMP与cGMP均为细胞信号转导过程中的胞内信使,不仅广泛参与细胞内的生理活动,而且对细胞的分裂和分化也有调控作用。例如,在迅速生长的细胞中,cAMP含量低。当动物细胞培养成单层时,细胞分裂减慢,cAMP浓度明显提高。细胞癌变后,cAMP含量也明显下降。在细胞周期的不同阶段,cAMP含量也不同,M期含量最低。一些研究工作证明,在细胞内,当cAMP含量增高时,细胞增殖率下降,反之,当cAMP含量降低时,细胞增殖率上升,可见cAMP对细胞的增殖起负控制的作用。

因此凡能提高cAMP的因素或药物,都能抑制细胞分裂增殖;凡能降低cAMP的因素或药物,都能促进细胞分裂增殖。

cGMP的作用与cAMP相反,主要是促进细胞内核酸和组蛋白的合成,加速细胞分裂,抑制细胞分化,对细胞增殖起正调控作用。由此可见,cAMP和cGMP的调节作用是相互拮抗的。细胞中cAMP与cGMP两者的平衡,是维持正常细胞周期进程的重要因素。

(四) Ca^{2+} 和钙调素的调控

1. Ca^{2+} 的作用

细胞内 Ca^{2+} 主要贮存在内质网。实验表明,三磷酸肌醇(IP_3)能诱导内质网释放出 Ca^{2+} ,使细胞质中的 Ca^{2+} 浓度升高。 Ca^{2+} 作为细胞内的三级信使,参与细胞内各种生理活动。体内多种激酶与蛋白磷酸酶的活性都表现对 Ca^{2+} 的依赖性。细胞内DNA合成和有丝分裂都与 Ca^{2+} 有关。 Ca^{2+} 水平的提高可直接或通过钙调素(calmodulin, CaM)间接地激活一些蛋白酶或磷酸酶,发挥其对细胞增殖和分化的调节作用。

2. 钙调素的作用

CaM广泛存在于各种真核生物中,是一种多功能的钙受体蛋白,参与动植物细胞中多种生理过程的调节。

CaM的分布因细胞类型的不同而有所变化,细胞质基质、线粒体、溶酶体、内质网、细胞核等均有CaM分布。

在细胞周期的不同时期, CaM分布也不同。用免疫荧光法观察一些动物培养细胞中CaM分布时发现:在间期细胞中CaM主要分布在细胞质的纤维性结构上,而在分裂前期的细胞质中CaM则变为弥散状分布,中期及后期CaM转移到染色体与纺锤体极之间,而末期

则只在细胞的两极有 CaM 分布。这些结果揭示 CaM 可能参与了细胞有丝分裂过程微管的组装及染色体运动的调节。

Chafouleas 等 (1982) 发现中国仓鼠细胞在由 G₁ 期转变为 S 期时, CaM 水平剧增, 到 S 期的早期 CaM 达到最高水平, CaM 拮抗剂则可使细胞阻断在 G₁ 期至 S 期之间。细胞进入 DNA 合成时期需有足够量 CaM, 表示 CaM 可能影响 DNA 的合成。Boynton 等 (1980) 曾指出 CaM 拮抗剂可抑制大鼠肝细胞中 DNA 合成的启动, 而外加 CaM 便可恢复启动。Rasmussen 等报道了将鸡 CaM 基因导入小鼠细胞中, 在使细胞中 CaM 增加 2~4 倍的同时, 细胞周期缩短而增殖速度加快。这些实验结果证实了 CaM 参与 DNA 合成和细胞增殖的调控。在一些动物细胞中还发现 CaM 拮抗剂可抑制 DNA 的修复, 提示 CaM 在 DNA 修复过程中也起着某种调节作用。

(五) SR 蛋白及 SR 蛋白特异激酶的调控

在真核细胞中, 控制蛋白质的基因, 在其表达前, 需经历一个 RNA 剪接的过程。在 RNA 剪接中, 有两种影响 RNA 剪接的因子, 即剪接因子 SR 蛋白与 SR 蛋白特异激酶 (SR protein-specific kinase, SRPK1), 已被证实与细胞周期调控相关。

SR 蛋白是一组含有大量 SR (S-丝氨酸, R-精氨酸) 二肽重复序列的蛋白质, 其 N 端具有 RNA 结合域, 在 RNA 剪接过程中, SR 蛋白通过磷酸化或去磷酸化的方式在剪接的起始与剪接位点的选择及识别等方面起作用。磷酸化的 SR 对于 RNA 剪接的起始是必需的, 而在剪接的过程中, SR 则处于去磷酸化状态。伴随着细胞周期的进程, SR 蛋白可发生有规律地磷酸化与去磷酸化。间期中 SR 蛋白磷酸化程度低, SR 蛋白在细胞核内聚集成核斑。细胞进入 M 期后, SR 蛋白磷酸化程度逐渐增高, 核斑将发生去组装, 逐渐分散, 到中期则完全消失。

SR 蛋白磷酸化水平受 SRPK1 的调节, SRPK1 在细胞周期的不同阶段, 呈现出不同的活性, 用离子交换柱纯化细胞周期各阶段的细胞提取液中的 SRPK1, 以 SR 蛋白作为底物, 可在体外检测其激酶活性, 结果测得 SRPK1 的活性在分裂中期的细胞中最高, 为间期细胞的 3~5 倍, 这与细胞周期中 SR 蛋白磷酸化变化情况一致。现已证实, 分裂中期细胞中 SR 蛋白的高度磷酸化, 是由高活性的 SRPK1 直接作用于 SR 蛋白引起的, 而 SRPK1 则可能通过其对 SR 的特异性作用, 参与细胞周期的调控。

第五节 细胞增殖与医学

细胞增殖是人体的基本生命活动之一, 人体内任何一种细胞出现增殖异常, 都会引起其功能障碍, 产生疾病, 给人体的健康带来影响, 所以细胞周期与医学有着极为密切的关系。

人类细胞增殖异常性疾病大致可分为两类。①细胞增殖抑制性疾病。这类疾病的主要发病过程、临床症状以及预后是由于机体内某种细胞的增殖受到抑制, 引起该细胞的功能障碍所致。如不同原因引起造血细胞增殖障碍所致的贫血; 生殖细胞增殖障碍引起的不育; T 淋巴细胞增殖异常引起的全身免疫缺陷所致的艾滋病等。②细胞增殖失控性疾病。如肿瘤细胞的失控性生长, 不但使这些细胞本身出现功能障碍, 而且由于肿瘤细胞本身的失控性增殖和转移, 机体其他器官组织的功能也受影响, 从而给整个有机体的健康带来严重危害。

一、细胞增殖是组织再生的基础

机体不断产生新细胞,以补充因生理或病理原因死亡的细胞,这一过程即为组织再生,可分为生理性再生及补偿性再生两类。细胞增殖是组织再生的基础。

在有机体的发育过程中,一部分细胞经过分化而衰老死亡,需要有新生的细胞不断地进行补充、更新(如血细胞、消化道粘膜细胞、子宫内膜及体表上皮细胞等)。这种维持正常生理功能的补充过程称为生理性再生。而由于各种外因造成的有机体损伤,也需要有不断增殖的细胞去填充和修复,这种过程叫做补偿性再生。

组织再生按照群体细胞的增殖状况,可以分为三种类型:

(一) 更新型

正常人体细胞的更新率平均约为1%~2%,每天需有新的细胞产生,以补充衰老、死亡的细胞。在自我更新组织特定部位,如骨髓、表皮基底层、皮肤毛囊隆突部、小肠上皮隐窝底部等,均存在一类未分化的干细胞,这些细胞一部分保留了原细胞继续分裂的能力,另一部分则可向多个方向分化,干细胞这种既能自我更新,同时又具多向分化潜能的特点,在细胞数量及种类上为组织更新提供了保证,如造血干细胞经分裂、分化后,可形成多种结构和功能不同的血细胞。皮肤通过上皮基底细胞的不断分裂和分化,使正常的表皮细胞或损伤的皮肤得到补充和修复。所以,造血干细胞和皮肤基底细胞总是处于不断的增殖状态,进行规律性的增殖周期活动。

(二) 稳定型

肝、肾、骨骼等都是高度分化的组织。在正常情况下,一般是没有细胞增殖活动的。但是,当组织受到损伤时又可以恢复增殖能力,这种补偿性再生的能力是稳定型组织的特性。如正常大鼠的肝细胞分裂指数只0.02%。若切除部分肝脏后,存留的肝组织在26h后,其分裂指数可达3.6%,较正常组织提高近200倍。与此同时,其细胞周期时间由原来的47.5h减少至15h。补偿性再生形成的机制可能是损伤刺激了G₀期的细胞,使其重新进入了细胞周期进程、恢复细胞分裂,同时细胞周期的进程也加快,所需时间显著缩短,于是在短时期内可产生大量的新生细胞,以促进创伤后组织的修复。对两栖动物蝾螈肢体再生的研究进一步发现,高度分化的细胞重新进入细胞周期与Rb蛋白的作用密切相关。在外界损伤发生后,胞外的信号可经过信号转导系统传递到胞内,活化cyclin-CDK激酶活性,引起Rb蛋白的磷酸化,与Rb蛋白结合的转录因子被释放,活性恢复,细胞分裂相关的基因转录被激活,其产物促进细胞进入细胞周期。

(三) 恒定型

高度分化的神经细胞和肌肉细胞没有增殖能力,称为恒定型。当有机体受到损伤时,这类组织的修复是靠后备细胞(未分化的间质细胞)的分裂来完成的。近年发现肌肉组织中有一种“成肌细胞”(myoblast),具有增殖能力,甚至可以使70岁以上的老年人足跟部骨骼肌细胞得到增殖,特称之为“待分化细胞”。对恒定型组织再生起重要作用。

二、细胞增殖与肿瘤

(一) 肿瘤细胞的增殖周期

肿瘤是生物体细胞正常生长失去控制的结果。肿瘤细胞增长速度的快慢与细胞增殖比率

的大小，增殖周期的长短，以及细胞死亡丢失的数量多少有关。过去认为，肿瘤的生长是由于肿瘤细胞的迅速增殖所形成，而增殖较快是由于肿瘤细胞的周期时间较短。但是通过细胞增殖周期的研究，发现绝大多数肿瘤细胞的增殖周期和它相应的正常细胞是相同的，甚至还更长（表 13-8）。如正常骨髓细胞的增殖周期为 1~2 天，而急性白血病的细胞却需 2~4 天。肿瘤生长的一个原因是肿瘤细胞中处于 G₀ 期的细胞很少，它比正常组织有较多的细胞参加增殖周期；另一原因是肿瘤细胞增殖的无极限性。

表 13-8 人正常细胞与肿瘤细胞增殖周期的比较（转自张适等，1980）

h

细胞种类	周 期	细胞种类	周 期
食道上皮	144	食管癌	250.8
胃上皮	66	胃癌	80.8
结肠上皮	24~48	结肠癌	22~125
骨髓细胞	24~40	急性白血病	48~96

肿瘤组织与正常组织一样具有 3 种类型的细胞群体：

1. 增殖细胞群 (A)

细胞群体处于连续增殖状态，可使肿瘤迅速增长，与肿瘤生长直接相关，并决定肿瘤的恶性程度。但增殖细胞对环境因素和药物高度敏感，是化疗最易攻击的部分，有利于肿瘤的药物治疗。

2. 暂不增殖细胞群 (B)

细胞群体处于 G₀ 期，其代谢不活跃，不会直接造成肿瘤的生长，但在某些因素的刺激下，细胞可重新进入增殖状态，这类细胞是肿瘤复发的根源。

3. 不增殖细胞群 (C)

细胞群体已丧失增殖能力，不再进入细胞周期，经分化、衰老直至死亡。

肿瘤增长的情况取决于上述三种细胞群之间的比例，以细胞群体增殖比值 (growth fraction, GF) 来表示，其计算公式为：

$$GF = \frac{A}{A+B+C}$$

一般来说，A 群细胞越多，B、C 两群细胞越少，GF 值就越大，肿瘤生长越快，恶性程度高。如白血病、何杰金氏病和绒癌等 GF > 0.6，为快速增长的肿瘤。GF 在 0.5 以下的肿瘤，大多生长缓慢，如肺癌、乳腺癌、子宫癌等。

(二) 细胞增殖与肿瘤治疗

随着对细胞增殖机制的深入研究。新的理论对肿瘤的成因、病理过程、治疗等奠定了坚实的科学基础。例如，根据细胞周期不同阶段的生物化学活动，选用针对性的治疗方法或药物，阻断肿瘤细胞的增殖，以提高治疗效果。

1. 细胞周期与抗肿瘤药物分类

化疗是肿瘤治疗中常用的方法。通过选择一定的化学药物，可有效地干扰肿瘤细胞代谢过程，阻止肿瘤细胞增殖。根据抗肿瘤药对细胞周期的影响，可分为三类：

(1) 非周期特异性药

非周期特异性药的特点是对任何状态的细胞都有作用。如氮芥类、丝裂霉素等，对

DNA 有很强的结合能力,能改变或破坏 DNA 结构,导致细胞死亡。这类药物对增殖性和非增殖性细胞都有相似的杀伤作用,对正常组织细胞也产生明显的毒副作用。

(2) 周期特异性药

周期特异性药只作用于增殖状态的细胞,对静止细胞(G_0 期)不发生作用。如放线菌素 D、环磷酰胺等药物,抑制 RNA 及 DNA 聚合酶的合成,阻止细胞增殖过程中所需的酶和蛋白质合成,阻断肿瘤细胞增殖。

(3) 时相特异性药

时相特异性药对细胞周期中某一时相的细胞有特异性杀伤作用,对未进入这一阶段的细胞无影响。如阿糖胞苷、羟基脲、甲氨蝶呤等只作用于 S 期细胞,抑制 DNA 的合成;秋水仙碱、长春新碱等主要破坏纺锤体微管的形成,阻断细胞于有丝分裂期。

2. 细胞周期理论与肿瘤治疗

抗肿瘤药物很多,为了合理使用、提高疗效、降低毒副作用,临床上常常针对不同种类肿瘤和肿瘤的不同发病阶段,设计不同的化疗方案。这些方案的主要选药原则是根据肿瘤组织中细胞增殖的情况来确定。

(1) 对增殖型细胞为主的肿瘤治疗

对增殖型细胞为主的肿瘤,若肿瘤细胞处于 S 期,治疗手段则以化疗为主,选择能作用于 DNA 合成的药物,抑制 DNA 合成,阻止肿瘤细胞进入到 M 期,限制其进一步的生长。若肿瘤细胞处于 G_2 期,因该期细胞对放射线较为敏感,放疗是主要治疗方法。若在放疗前,用人工方法使 G_2 期肿瘤细胞发生同步化,放疗效果将更好。对于 M 期的肿瘤细胞,利用秋水仙碱、长春碱等药物使纺锤体微管解聚,由此破坏纺锤体的结构,肿瘤细胞被迫停滞于中期、细胞增殖受阻,因此,对于 M 期肿瘤细胞,选用化疗的方法较为适合。

(2) 诱杀 G_0 期细胞,降低肿瘤的复发

对于生长缓慢的肿瘤,其 G_0 期细胞的比例较大。而 G_0 期细胞对化疗药物不敏感,又是复发的根源。为了达到尽量杀灭 G_0 期细胞的目的,可针对这些细胞代谢不活跃的特点,先用血小板生长因子激活 G_0 期细胞,促使其进入细胞周期,然后再使用周期特异性药物。或先使用细胞周期非特异性药物杀灭增殖期细胞和部分 G_0 期细胞,诱导 G_0 期细胞进入细胞周期,再使用细胞周期特异性药物。这样,既可杀灭周期内的细胞,又可尽量多地诱杀 G_0 期细胞,降低肿瘤的复发。

(3) 根据细胞周期时间差选用抗肿瘤药物

根据肿瘤细胞周期和正常细胞的细胞周期时间有较大差异的特点,设计合理用药的时间。例如食管癌细胞的细胞周期时间为 250h,而正常食管上皮的细胞周期时间为 144h,在制定化疗方案时,选择用药的时间间隔为 200h。这一时间间隔既可阻断癌细胞的增殖,又能使正常细胞有较充足的时间恢复生长,在杀灭肿瘤细胞的同时尽量保护正常细胞。

第六节 生殖细胞的发生与减数分裂

一、生殖细胞的发生

生殖细胞的发生,是指精子(sperm)和卵子(ovum)的形成过程。都要经过增殖期、生长期和成熟期;在成熟期内,都要经过减数分裂,使染色体数目减半(图 13-23)。

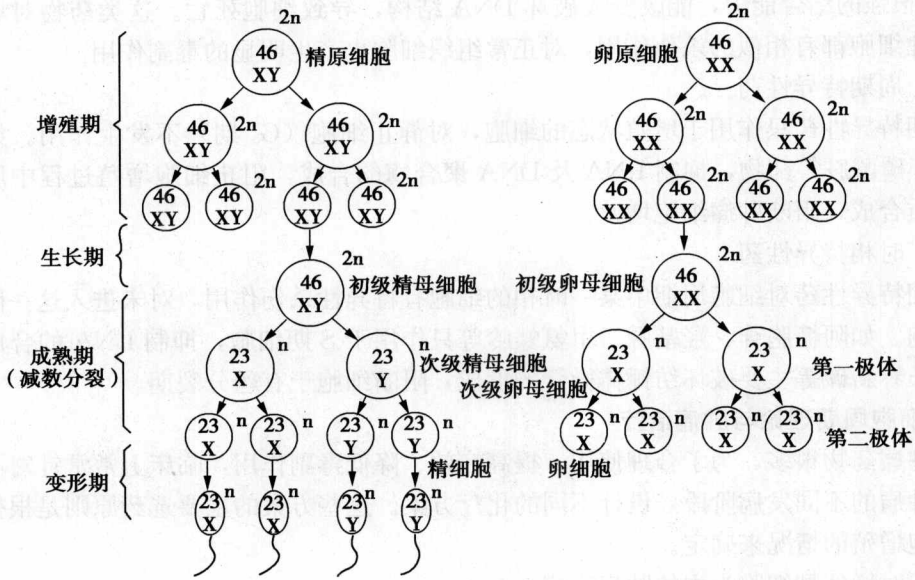


图 13-23 人类精子和卵细胞（卵子）发生图解

(一) 精子发生

从精原细胞 (spermatogonium) 发育为精子的过程称为精子发生。精子是由男性睾丸曲细精管中的精原细胞发育而成。发生过程经过四个时期。

1. 增殖期 (multiplication period)

男性睾丸的曲细精管上皮细胞有很强的增殖能力，通过有丝分裂的方式，产生大量的精原细胞。精原细胞染色体数目和其他体细胞一样，为 46 条 (23 对)，是二倍体 (2n)。

2. 生长期 (growing period)

精原细胞经多次增殖后，其中一部分精原细胞进入生长期，细胞体积增大，形成初级精母细胞，其染色体数仍为二倍体。

3. 成熟期 (maturation period)

此期进行两次连续的成熟分裂即减数分裂。每个初级精母细胞经第一次成熟分裂 (减数分裂 I) 形成两个次级精母细胞，此时细胞内染色数目减半，成为单倍体 (n)，具 23 条染色体。每个次级精母细胞再经第 2 次成熟分裂 (减数分裂 II) 形成两个精细胞，其染色体数目为单倍体。结果，每一个初级精母细胞 (2n) 经过两次连续分裂后，形成 4 个精细胞 (n)。

4. 变形期 (transformation period)

由精细胞经过形态变化形成精子。男性在性成熟后，直到老年期精子仍在继续发生。然而，老年人 DNA 稳定性降低，故老年男性产生的精子有较高的突变率。

(二) 卵子的发生

从卵原细胞 (oogonium) 发育为卵子的过程称为卵子发生。

人类卵子是由女性卵巢中的卵原细胞发育而成，其发生过程及染色体的变化与精子发生基本相似，但没有变形期，故卵细胞发生主要经过三个时期。

1. 增殖期

卵原细胞也经有丝分裂而增殖，形成很多个卵原细胞，细胞内染色体数为二倍体。

2. 生长期

卵原细胞经多次增殖后，少部分卵原细胞体积增大成为初级卵母细胞。

3. 成熟期

初级卵母细胞也经过两次连续的成熟分裂。经减数分裂 I，初级卵母细胞形成一个体积较大的次级卵母细胞和一个小的第一极体，细胞内染色体数目减半，成为单倍体；再经减数分裂 II，次级卵母细胞形成一个体积较大的卵细胞与一个体积较小的第二极体，第一极体也分裂为 2 个第二极体，仍为单倍体。结果，一个初级卵母细胞经两次连续的分裂后，形成一个卵细胞和 3 个极体，极体不能继续发育而退化。

在人类的卵细胞发生过程中，卵原细胞增殖是在胚胎发育早期的卵巢中进行的；胚胎发育晚期（约 6 个月时），卵原细胞已生长形成初级卵母细胞。初级卵母细胞进一步进行减数分裂的过程是不连续的，至减数分裂完成可长达十几至几十年之久。出生后，大部分初级卵母细胞退化，只有约 400 个得到继续发育。它们停留在第一次成熟分裂前期的双线期。待青春性成熟时，每月只有一个初级卵母细胞完成减数分裂 I，形成一个次级卵母细胞和一个极体，次级卵母细胞继续发育，并停留在减数分裂 II 的中期。当受精时，精子入卵后才能完成第二次减数分裂，形成一个成熟的卵细胞和第二极体。如未受精，次级卵母细胞则不再继续分裂而退化死亡。

二、减数分裂

由上已知，减数分裂发生在生殖细胞形成过程，即由初级精母细胞或初级卵母细胞经过两次连续的成熟分裂形成精细胞或卵细胞，其细胞内的染色体数目减半，由二倍体变成单倍体（图 13-24）。

（一）减数分裂的过程

1. 减数分裂前间期

原始生殖细胞在进行减数分裂之前要经过一次或几次区别于一般间期的较长细胞间期，称为减数分裂前间期（pre-meiosis interphase）。减数分裂前间期也分为 G_1 期、S 期、 G_2 期，只是 DNA 合成速度明显减慢，S 期特别长。例如，蝾螈细胞有丝分裂时的 S 期是 12h，减数分裂的 S 期是 10 天。此种现象在其他动物也很普遍，这是由于 DNA 复制单位的启动数量减少所致。从普通有丝分裂转变为减数分裂的关键在减数分裂前间期的 G_2 期。减数分裂前 S 期只合成全部染色体 DNA 的 99.7%，其余的 0.3%，如果在 G_2 期完成，就是有丝分裂；如果 G_2 期不能完成其余部分 DNA 的复制，细胞就进行减数分裂。其余的 0.3% DNA 到第一次减数分裂时完成，这一特点可能是细胞从有丝分裂转变为减数分裂的关键。什么原因决定有丝分裂向减数分裂的转变，其机制至今不是十分清楚。

2. 减数分裂 I

由初级精母细胞或初级卵母细胞形成次级精母细胞或次级卵母细胞。这时细胞内染色体数目减半。

（1）前期 I

根据染色体形态变化的特点，前期 I 又可分为 5 个时期：细线期（leptotene）、偶线期（zygotene）、粗线期（pachytene）、双线期（diplotene）和终变期（diakinesis）。减数分裂的复杂变化主要表现为前期 I 的复杂变化。

①细线期：为前期 I 的开始阶段，染色质纤维逐渐螺旋化，形成细线状。由于 DNA 复

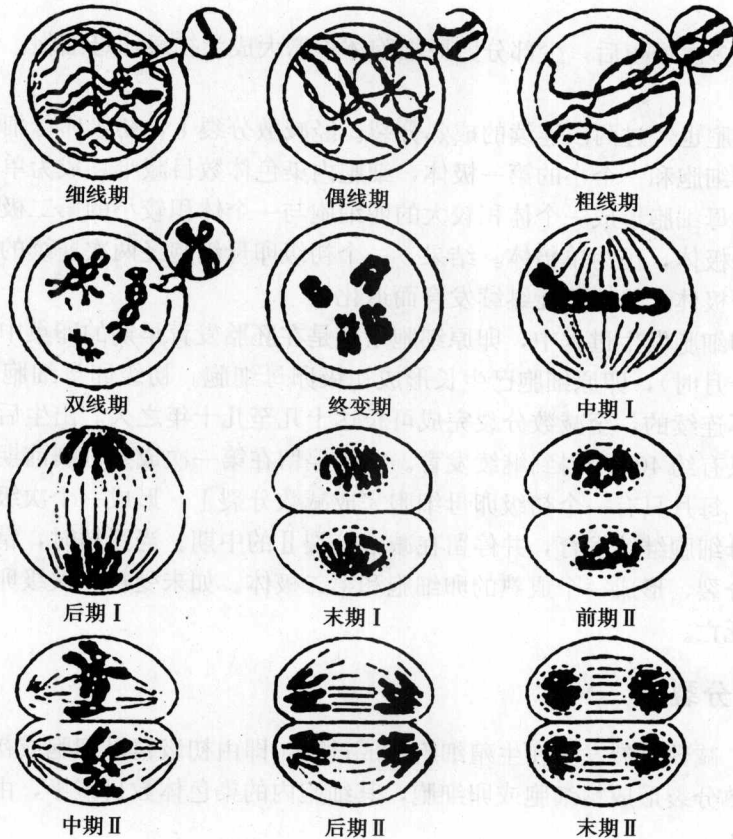


图 13-24 减数分裂图解

制尚未完成，两条染色单体不能完全形成，因而，染色单体的臂就不能分离。

②偶线期：同源染色体互相靠拢，在各相同的位点上准确地配对，称为联会（synapsis）。联会时一般从靠近核膜的一端开始，或者在染色体全长的若干位点上同时进行，并在同源染色体之间沿其长轴形成联会复合体（synaptonemal complex, SC）。在电镜下可见每个联会复合体具有两侧的侧体和两侧体之间的中央区。宽度约为 150~200nm。侧体电子密度很高，主要化学成分为蛋白质和 DNA；中央区是明亮区，区中可见与染色体交换有关的重组节，呈圆形或椭圆形。在中央区的正中有一色暗的纵线，是由蛋白质构成的中央成分。侧体和中央成分之间有由蛋白质组成的横行纤维相连接，呈梯形排列。同源染色体之间借联会复合体连接在一起（图 13-25）。联会的结果，每对联会在一起的同源染色体形成一个二价体（bivalent）。有几对染色体的细胞，就形成几个二价体。人体细胞 23 对染色体形成 23 个二价体。联会是减数分裂特有的现象，它是同源染色体单体（即非姐妹染色单体）之间发生交换的必要条件。

在偶线期发生的另一个重要事件是合成在 S 期末合成的约 0.3% 的 DNA（偶线期 DNA，即 zygDNA）。若用 DNA 合成抑制剂抑制 zygDNA 合成，联会复合体的形成将受到抑制。zygDNA 在偶线期转录活跃。转录的 RNA 被称为 zygRNA。zygDNA 转录也被认为与同源染色体配对有关。

③粗线期：二价体螺旋化缩短变粗，在光镜下可见每条染色体由两条姐妹染色单体构

成，因此，每个二价体具有一对同源染色体，包括四条染色单体，称为四分体 (tetrad)。在四分体中同源染色体的染色单体之间互称为非姐妹染色单体 (non-sister chromatid)。此期，非姐妹染色单体之间有时可看到交叉 (chiasma) 现象，表明在它们之间已发生了相对应片段的交换 (crossing over)。这是遗传物质互换或重组的基础。交叉是同源染色体非姐妹染色单体之间发生交换的一种表现。在联会复合体中央区的重组节中，含有大量与基因重组有关的酶，一般认为重组节是与交换有关的结构。

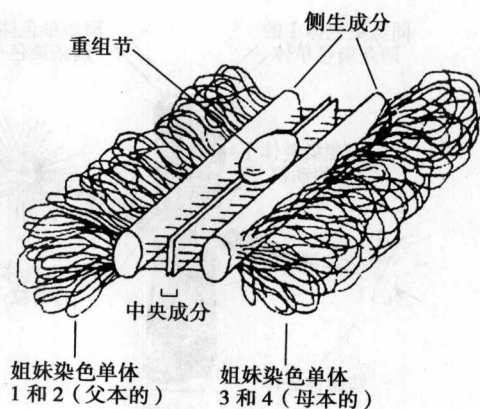


图 13-25 联会复合体模式图

④双线期：二价体进一步螺旋化而缩短增粗，同源染色体的四分体变得清晰可见。联会复合体解体，联会的同源染色体互相排斥而开始分离，交叉点逐渐向染色体的末端移动。这种移动的现象称为交叉端化 (terminalization)。由此可知，交叉点的位置并不意味着是交换的位置。交叉的数量在不同的细胞之间并不相同 (图 13-26)。



图 13-26 双线期的染色体交叉

双线期持续时间一般比较长，其长短变化很大。两栖类卵母细胞的双线期可持续将近一年，而人类的卵母细胞双线期从胚胎期的第 5 个月开始，短者可持续十几年，到性成熟期开始；长者可达四五十年，到生育期结束。

⑤终变期：染色体继续螺旋化而变得更粗、更短。交叉继续端化而数目减少，往往只在二价体的端部保留交叉。核仁、核膜消失，纺锤体开始形成，随之进入中期 I。

(2) 中期 I

四分体排列在细胞中央赤道面上，形成赤道板。和有丝分裂不同的是，每个四分体含有 4 个动粒。其中一条同源染色体的两个动粒位于一侧，另一条同源染色体的两个动粒位于另一侧。从纺锤体一极发出的 I 微管只与一个同源染色体的两个动粒相连，从另一极发出的微管也只与另一个同源染色体的两个动粒相连 [图 13-27 (a)]。

(3) 后期 I

随纺锤丝的牵引，两条同源染色体彼此分离，分别移向细胞的两极。此时，细胞的每一极只得到同源染色体中的一条染色体，而每条染色体含有两条姐妹染色单体，称为二分体 (diad)。当同源染色体分离并移向两极的同时，非同源染色体 (即不同对染色体) 之间互相独立，即可随机组合 (自由组合)，移向细胞两极。

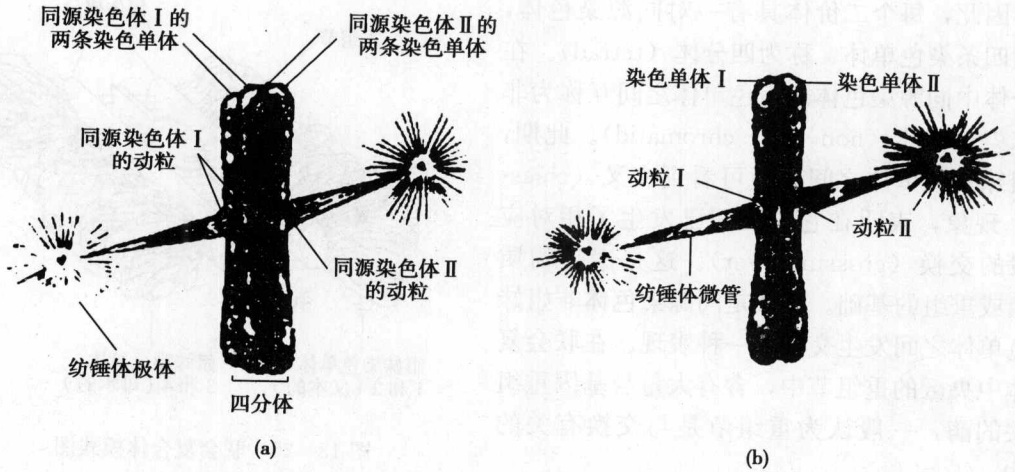


图 13-27 减数分裂中期 I 和 II 动粒与纺锤体的联系示意图
 (a) 减数分裂中期 I；(b) 减数分裂中期 II

(4) 末期 I

各二分体移至两极后，染色体逐渐解旋、伸展，核膜、核仁重新出现，随着细胞质的分裂形成两个子细胞，即次级精母细胞或次级卵母细胞和第一极体。每个子细胞中染色体数目已减半，为单倍体。细胞中具有 n 个二分体。

在第一次减数分裂结束时，次级精母细胞或次级卵母细胞和极体中的每个染色体已由两条姐妹染色单体构成，均为二分体。这与有丝分裂间期是很不相同的。于第一次减数分裂结束后。即进入减数分裂间期，此期很短，不进行 DNA 复制。细胞经过短暂的间期即进入减数分裂 II。有些生物不存在末期 I 和间期。在后期 I 结束后直接进入前期 II，染色体仍保持原来的浓缩状态。

3. 减数分裂 II

由次级精母细胞或次级卵母细胞形成精细胞或卵细胞，细胞内染色体都是单倍体。

(1) 前期 II

此期时间较短，二分体凝缩，核膜消失。

(2) 中期 II

各二分体排列在细胞中央赤道面上，形成赤道板，纺锤体微管与动粒相连 [图 13-27 (b)]。

(3) 后期 II

各二分体的着丝粒分裂，每条二分体形成两条单分体 (monad)，即两条染色体，并随纺锤丝的牵引分别移向两极。

(4) 末期 II

各单分体移至两极后，解旋、伸展，又形成染色质。核膜、核仁重新出现，分别形成两个子细胞核。然后，细胞质分裂，形成两个子细胞，即精细胞或卵细胞和第二极体。细胞内只含 23 条染色体，为单倍体。至此，减数分裂过程结束。一个初级精母细胞形成 4 个精细胞，精细胞经变态发育成为精子。一个初级卵母细胞形成 1 个卵细胞和 3 个极体。

(二) 减数分裂的生物学意义

1. 保持生物物种染色体数目的相对稳定

在减数分裂过程中, 染色体只复制一次, 而细胞连续分裂两次, 结果所形成的精子和卵细胞中染色体数目减半, 即都为单倍体。在受精过程中, 精子和卵细胞结合成受精卵, 又恢复为二倍体。从而使子代获得了亲代双方的遗传物质, 保证了生物物种染色体数目的相对稳定, 保证了亲子代之间遗传物质和遗传性状的相对稳定。

2. 为遗传规律提供了细胞学基础

在减数分裂 I 过程中, 因为同源染色体分离, 分别进入不同的子细胞, 故在子细胞中只具有每对同源染色体中的一条染色体。减数分裂中同源染色体的分离, 正是基因分离律的细胞学基础。

同源染色体联会时, 非姐妹染色单体之间对称的位置上可能发生片段交换, 也就是父源和母源染色体之间发生遗传物质的交换。这种交换可使染色体上连锁在一起的基因发生重组, 这就是染色体上基因连锁和互换的细胞学基础。

在同源染色体分离的同时, 非同源染色体即不同对染色体之间可以随机组合进入子细胞(生殖细胞), 因此不同对染色体上的不同对基因可以自由组合进入子细胞, 故减数分裂中不同对染色体的随机组合进入生殖细胞, 也正是基因自由组合律的细胞学基础。

3. 为生物的多样性提供了源泉

非同源染色体的随机组合增加了生殖细胞的种类。如 2 对染色体可能形成 $2^2=4$ 种不同染色体组成的生殖细胞, 3 对染色体可能形成 $2^3=8$ 种, 以此类推, 人可形成 $2^{23}=8388608$ 种。如果各对染色体之间还发生各种交换, 又会增加生殖细胞中染色体组成的差异。这样, 就染色体组成而言, 最后所形成的生殖细胞种类繁多。增加了生物的多样性。

综上所述, 通过减数分裂, 保证了亲代与子代之间染色体数目的相对稳定, 即亲代和子代之间遗传物质的相对稳定, 又可形成多种多样不同遗传类型的后代, 因而使亲子之间以及子代各个体之间的遗传性状相似而又有差异。

(三) 减数分裂与有丝分裂的比较

减数分裂与有丝分裂比较如下:

- 有丝分裂是真核细胞的主要分裂方式, 而减数分裂只发生在生殖细胞的成熟期。
- 有丝分裂是一次完成的, DNA 复制一次, 细胞就分裂一次, 产生的两个子细胞, 都是二倍体, 子细胞所含 DNA 与母细胞相同; 减数分裂则是两次连续的细胞分裂, 但 DNA 只复制一次, 最终产生 4 个子细胞, 都是单倍体, 子细胞所含 DNA 只有母细胞的一半。
- 有丝分裂中每条染色体都是独立的, 无同源染色体联会, 非姐妹染色单体也不发生交换; 减数分裂过程比较复杂, 有同源染色体联会和分离, 非同源染色体自由组合, 非姐妹染色单体之间片段交换。
- 有丝分裂使子细胞与子细胞, 子细胞与母细胞之间在遗传组成的数量和质量上保持一致; 减数分裂保证了有性生殖的物种上下代遗传物质和性状的相对稳定性, 又为生物的多样性提供了源泉。

提 要

细胞增殖是细胞通过细胞周期完成细胞分裂,使细胞数量不断增加,机体增长的生命现象。细胞通过增殖以维持生物的生长、发育、繁衍后代。即使机体发育成熟以后,也要通过细胞增殖补充机体细胞的损耗及生理活动需要。

细胞增殖方式有无丝分裂、有丝分裂和减数分裂三种。

细胞周期是细胞从前一次分裂结束开始,到下一次分裂结束为止所经历的连续过程。细胞周期可分为G₁期、S期、G₂期和M期。

细胞周期所经历的时间为细胞周期时间,细胞周期时间随细胞种类、生理条件、营养状况不同而有差异。

细胞周期包含细胞核周期、细胞质周期和中心体周期,三者之间是紧密配合、互相协调的。根据DNA/RNA、RNA/染色质代谢在细胞周期中的关系,提出了细胞周期室概念。

细胞周期各时相都有各自的特点和生化活动。G₁期主要进行RNA和蛋白质的合成,为S期DNA的复制作准备。G₁期时间长度变化大,由于R点的限制作用,G₁期细胞群体存在着三种不同增殖活性的细胞。S期主要是DNA复制,组蛋白合成、核小体组装,S期结束,细胞中DNA含量增加一倍。G₂期主要合成与细胞有丝分裂有关的特殊蛋白质,为M期进行物质和能量准备。有丝分裂包括核分裂和胞质分裂两个过程。根据细胞中染色体、核仁、核膜等结构的变化将M期分为前期、中期、后期和末期。

用³H-TdR标记法测定细胞周期时间长短是一种经典方法。其优点是不仅可以测定细胞周期总时间,而且可以同时测出各个时期所持续的时间。流式细胞仪可以在短时间内测定大量细胞内的DNA含量,不但大大加快了细胞周期的测定速度,而且提高了准确性,成为目前测定细胞周期最常用的方法。

细胞同步化是指在自然过程中发生或人为处理造成的使细胞处于同一细胞周期时相的过程。选择同步化是利用细胞在细胞周期不同时相中物理特性的差别,选择某一时相的细胞;诱导同步化是通过化学药物阻断细胞的某一代谢过程,将细胞阻断在细胞周期的某一时相,然后释放,获得同步化细胞群体。

细胞周期中的各种生化事件及各阶段的规律性活动都受到基因的调控,现在已经确定和细胞增殖相关的基因有细胞分裂周期基因、癌基因和抗癌基因。

细胞周期调控系统由细胞周期蛋白、细胞周期蛋白依赖激酶和CDK抑制因子三大类蛋白家族所组成。细胞周期蛋白随着细胞周期的进程发生周期性的合成与降解。周期蛋白在细胞周期内表达的时期有所不同,所执行的功能也不同,有的属于G₁期周期蛋白,如周期蛋白C、D、E;有的在间期表达和积累,到M期时才表现出调节功能,所以称为M期周期蛋白,如周期蛋白A、B等。细胞周期蛋白依赖激酶为一类必须与细胞周期蛋白结合,才具有激酶活性的蛋白激酶。现已被鉴定的CDK有多种,按被发现的先后顺序分别命名为CDK1~8。CDK抑制因子能结合和钝化cyclin-CDK复合物,从而调节细胞周期过程。在哺乳动物中目前所知的CKI按结构分为CIP/KIP和INK4两大家族,前者的主要成员有p21^{Cip/Waf1}、p27^{Kip1},后者主要有p16^{Ink4}、p15^{Ink4}。

细胞增殖调控机制涉及多个层次、多种因子,如生长因子、抑素、环核苷酸、Ca²⁺和钙调素、SR蛋白及SR蛋白特异激酶的调控等。

细胞增殖是组织再生的基础。

细胞增殖的调节失控将引起细胞癌变。

减数分裂是一种特殊的有丝分裂，发生在生殖细胞的形成过程中。精原细胞或卵原细胞，经一次 DNA 合成，两次连续的细胞分裂，最后形成 4 个精子或 1 个卵子，染色体数目减少一半。通过精卵结合，形成受精卵，染色体数目又恢复到二倍体，保证了生物物种染色体数目的恒定性。

在减数分裂过程中，由于同源染色体配对分离，非同源染色体自由组合，非姐妹染色单体间片段交换、重组，构成了生物遗传变异的细胞学基础。

复习思考题 13

(一) 名词解释：

细胞增殖	无丝分裂	有丝分裂	减数分裂	细胞周期	细胞质周期	细胞周期室
限制点	G ₀ 期细胞	中心体周期	cdc 基因	有丝分裂器	胞质分裂	生长因子
抑素	联会复合体	CDK	cyclin	CKI	EGF	PDGF
MPF	二价体	二分体	早熟染色体凝集		组织再生	细胞同步化
选择同步化	诱导同步化					

(二) 问答题：

1. 试述细胞增殖的生物学意义。
2. 细胞增殖的方式有几种？比较其特点及过程。
3. 何谓细胞同步化？简述细胞同步化的方法及原理。
4. 细胞周期如何划分？各阶段的主要特点有哪些？
5. 从细胞增殖角度看，细胞可分几类？各类细胞有何特点？
6. 早熟染色体凝集现象说明什么问题？
7. 试述 MPF 的组成及其在细胞周期调控中的作用。
8. 试述有丝分裂的过程。
9. 细胞增殖的调控因素有哪些？简述各调控因素在细胞周期中的作用。
10. 简述细胞周期的基因调控。
11. 试述细胞周期调控蛋白的种类及其在周期调控中的作用。
12. 肿瘤细胞的增殖有何特点？细胞增殖与肿瘤治疗有何关系？
13. 试述减数分裂的过程和意义？
14. 人类精子和卵子发生过程有何不同？
15. 比较有丝分裂和减数分裂的异同，并说明其意义。
16. 简述联会复合体的结构和功能。

(刘艳平)

第十四章

细胞分化

多细胞动物有几十种至几百种不同类型的细胞，每一种类型的细胞在形态、结构、功能以及生化特性方面都各不相同。多细胞动物的所有不同类型的细胞都有同一来源，即都是从受精卵发育而成的。受精卵通过细胞分裂产生的子细胞，为了适应特殊化的功能，合成了特异的蛋白质，并且在形态结构方面也相应地发生了改变，因此出现了各种不同类型的细胞(图 14-1)。例如哺乳动物成熟的红细胞呈圆碟状，无细胞核，含有珠蛋白，能运输氧和二氧化碳；平滑肌细胞呈长梭形，含有收缩蛋白，具有收缩功能；神经细胞有长的突起，具有传导神经冲动和贮存信息的功能。在个体发育中，同源细胞通过分裂，后代细胞的形态结构、生理功能和生物化学特性等发生稳定性差异的过程称为细胞分化 (cell differentiation)。

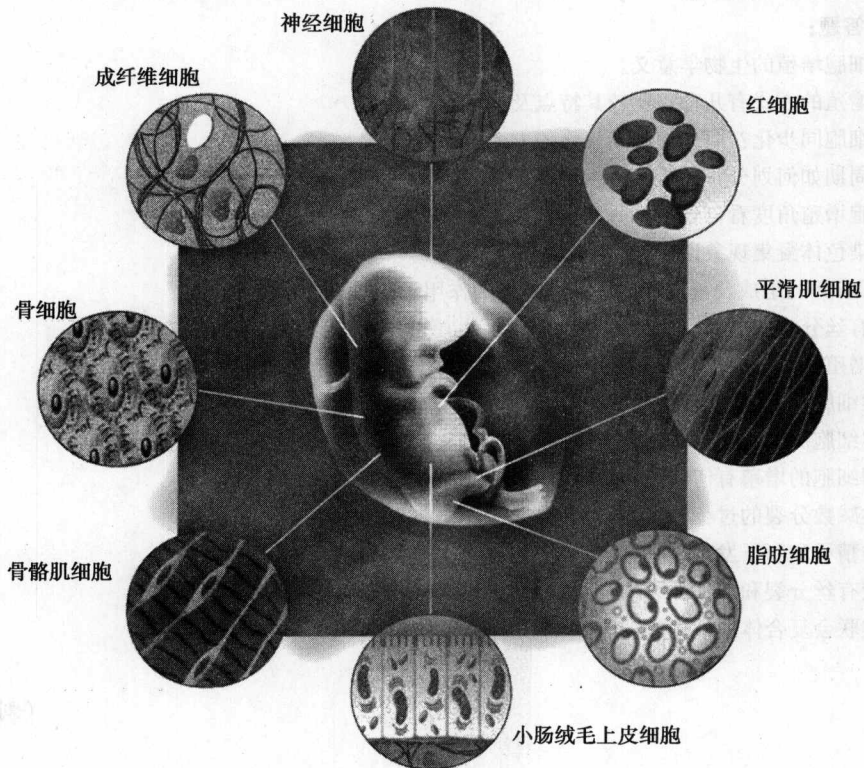


图 14-1 各种不同类型的细胞

细胞分化的显著特点：

1. 分化状态的稳定性

分化一旦确立，其分化状态将是十分稳定的，并能遗传给其子代细胞。如黑色素细胞在

体外培养 30 多代后, 仍然能合成黑色素颗粒。

2. 分化细胞具有全能性 (totipotency)

分化的子代细胞的细胞核仍保留着亲本细胞全套基因组, 具有生物个体生长、发育所需要的全部遗传信息, 能表达本身基因库中的任何一种基因, 也就是说, 具有发育为完整个体的潜能, 即全能性。在一定条件下亲本的全部遗传信息可以表达出来。把分化细胞的细胞核移入到未受精的卵母细胞或受精卵细胞质环境中去, 经过精心培育, 仍有可能发育成为完整个体。植物细胞通常都具有全能性, 单个体细胞可以培养成为具有繁殖能力的完整植株。

3. 分化的细胞中可产生去分化 (dedifferentiation) 现象

去分化就是指分化细胞失去其特有的结构和功能重新具有未分化细胞特征的过程。因此, 细胞分化状态在一定条件下是可逆性的, 组织中已分化的细胞在一定条件下可以逆转到胚胎状态。

4. 分化的细胞能够转分化 (transdifferentiation)

即一种类型的分化细胞在一定条件下可以转变成为另一种类型的分化细胞。如水母横纹肌细胞经转分化可形成神经细胞、平滑肌细胞和上皮细胞等。转分化往往经历去分化和再分化 (redifferentiation) 的过程。动物界普遍存在的再生 (regeneration) 现象, 是转分化的一个典型例子, 如幼体蟾蜍肢体切除后, 伤口处部分细胞死亡, 多数细胞经去分化形成间充质或纤维细胞样的细胞群——再生芽基 (regeneration blastema), 芽基细胞再分化形成以有序方式排列的从肱骨直至指骨的完整肢体。

细胞分化不仅发生在胚胎发育中, 而且在生物的一生都进行着, 以补充衰老和死亡的细胞, 如: 多能造血干细胞分化为不同血细胞的细胞分化过程。细胞分化是多细胞生物发育的基础与核心, 是生物学领域一个极为重要的课题。弄清楚细胞分化的机制对于了解个体发育、基因的表达与调控以及癌的发生和防治都有极为重要的意义。

第一节 细胞分化的基本概念

一、细胞分化是基因选择性表达的结果

分化的细胞虽然都是来自于同一受精卵, 但在形态结构、生化特性、生理功能上却有显著差异。从分子水平上来看, 细胞分化实质上是基因选择性表达的结果。

早期人们推测细胞分化是由于细胞在发育过程中遗传物质的选择性丢失所致。现代分子生物学的证据表明, 细胞分化是由于基因选择性的表达各自特有的专一性蛋白质而导致细胞形态、结构与功能的差异。如鸡的输卵管细胞合成卵清蛋白, 成红细胞合成 β -珠蛋白, 胰岛细胞合成胰岛素, 这些细胞都是在个体发育中逐渐产生的。用上述三种蛋白的基因分别作探针, 对三种细胞中提取的总 DNA 的限制性酶切片段进行 Southern 杂交实验。结果显示, 上述三种细胞的基因组 DNA 中均存在卵清蛋白基因、 β -珠蛋白基因和胰岛素基因; 然而用同样的三种基因片段为探针, 对上述三种细胞中提取的总 RNA 进行 Northern 杂交实验, 结果表明, 仅在输卵管细胞中表达卵清蛋白 mRNA, 而在成红细胞中表达 β -珠蛋白 mRNA, 在胰岛细胞中表达胰岛素 mRNA (表 14-1)。

表 14-1 分子杂交技术检测基因及其表达

细胞类别	细胞总 DNA			细胞总 RNA		
	输卵管	成红	胰岛	输卵管	成红	胰岛
卵清蛋白基因	+	+	+	+	-	-
β-珠蛋白基因	+	+	+	-	+	-
胰岛素基因	+	+	+	-	-	+
实验方法	Southern 杂交			Northern 杂交		

注：+ 阳性结果；- 阴性结果

从上述分子杂交的结果可以知道，个体的不同类型或不同发育阶段的细胞都含有相同的 DNA，即相同的基因组。当细胞分化时，细胞内并非所有的基因都表达，在某一时间内，有的基因有活性，有的基因无活性而处于沉默状态，而在另一个时期，原来有活性的基因可能继续表现出活性，也可能关闭，原来沉默的无活性基因可能被激活。不同类型的细胞在发育过程中表达一套特异的基因，其产物不仅决定细胞的形态结构，而且执行各自的生理功能，因此细胞分化是基因选择性表达的结果。

二、管家基因和奢侈基因

细胞内与分化有关的基因按其功能可分为两类。一类是对维持细胞生存所必需的，在各种细胞中都处于活动状态的基因，称为管家基因 (house-keeping gene)，编码各类细胞普遍共有的蛋白质，称为管家蛋白 (house-keeping protein)，如核糖体蛋白、膜蛋白、线粒体蛋白、糖酵解酶等。另一类是在各种组织中有不同的选择性表达的基因，其产物赋予各种类型细胞特异的形态结构特征与特异的功能，但丧失这些基因对细胞的生存并无直接影响，称为奢侈基因 (luxury gene) 或组织特异性基因 (tissue-specific gene)，编码的蛋白称为奢侈蛋白 (luxury protein)，如表皮细胞的角蛋白，眼晶状体的晶体蛋白，肌细胞的肌动蛋白，肌球蛋白，红细胞的珠蛋白 (hemoglobin, Hb) 等。实际上，细胞分化的实质就是组织特异性基因在时间与空间上的差异表达 (differential expression)。

三、已分化细胞的全能性

细胞全能性是指细胞经分裂和分化后仍具有产生完整有机体的潜能或特性。受精卵及早期的胚胎细胞都是具有全能性的细胞。植物的体细胞在适宜的条件下可培育成正常的植株，证明植物细胞普遍具有细胞的全能性。然而动物细胞特别是高等动物细胞随着胚胎的发育，丧失了发育成个体的能力，仅具有分化成多种细胞类型及构建组织的潜能，这种潜能称为多能性 (pluripotency)。随着进一步发育，细胞分化形成某一种类型的细胞，最后终末分化 (terminal differentiation)，形成特化细胞。

一般情况下，在整个发育过程中，细胞分化潜能逐渐受到限制而变窄。但是对于细胞核而言，却始终保持其分化的全能性。研究发现，绝大多数分化的子代细胞中的基因组与亲本细胞的相同，因此具有发育为完整个体的潜能，即全能性。

核移植实验是最常用的证实细胞核全能性的方法。用显微操作仪在放大数十倍条件下，将特制的极细的玻璃管刺入卵 (或受精卵) 内，将卵细胞核吸出，使其成为只有细胞质而无细胞核的细胞质体 (cytoplasm)。然后，用显微注射针将供体细胞核导入去核卵中。核

移植实验首先在两栖类卵中获得成功。

如 Gurdon 将蝌蚪的肠上皮细胞核注入破坏核的爪蟾未受精卵中，结果发现其中一部分卵细胞能发育成蝌蚪甚至成蛙（图 14-2）。

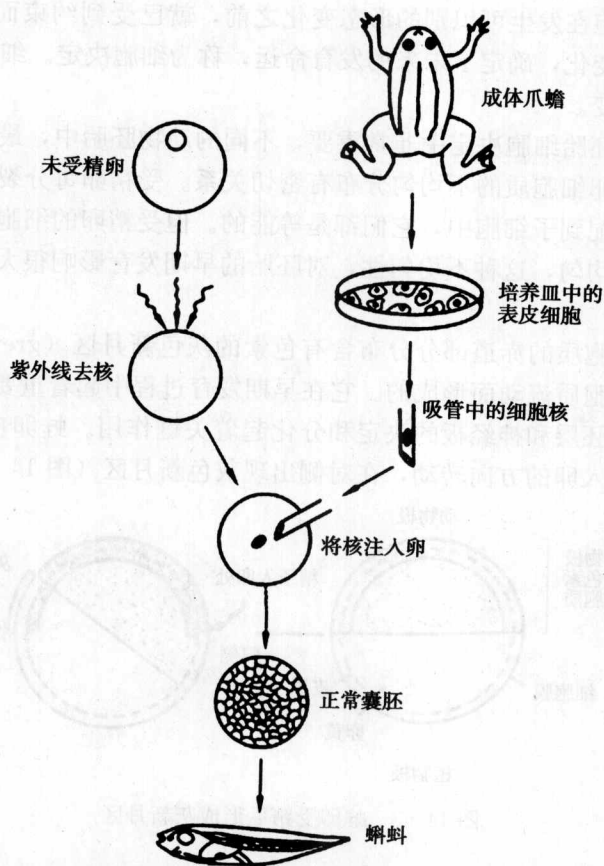


图 14-2 将成体爪蟾已分化细胞的核移植入去核卵的实验图解（引自 B. Alberts 等）

核移植实验在哺乳类中也获得成功。1997 年将羊乳腺细胞的细胞核植入去核的羊卵子中，成功地克隆了“多莉”羊，进一步证实了终末分化细胞的细胞核也具有全能性。然而与植物细胞不同，高等动物的体细胞至今仍不能形成一个完整的个体，它不仅显示高等动物细胞分化的复杂性，而且也说明卵细胞的细胞质对细胞分化的重要作用。

第二节 细胞分化的机制

细胞分化的实质是组织特异性基因的选择性表达，这一过程是受到精密调控的。细胞的分化命运主要取决于两个方面：一是细胞的内部因素，二是细胞的外部因素。细胞的内部因素包括细胞决定（cell determination）、细胞记忆及核质的相互作用等。细胞的不对称分裂使细胞内部得到不同的基因调控成分，表现出不同于其他细胞的核质关系和应答信号的能力，在很多物种中影响细胞分化的内部因素可以追溯到单细胞受精卵中细胞质的作用。细胞的外部因素表现为细胞外信号系统、细胞微环境及细胞位置等，通常这些因素共同起作用，对细胞分化产生重要影响。此外，外部的环境对某些物种细胞分化乃至个体发育也会产生很

大的影响。

一、细胞决定和细胞记忆

许多情况下，细胞在发生可识别的形态变化之前，就已受到约束而向着特定方向分化，这时细胞内部已发生变化，确定了未来的发育命运，称为细胞决定。细胞决定之后，分化的方向一般不会中途改变。

卵细胞质在早期胚胎细胞决定中非常重要，不同的动物胚胎中，最早出现细胞决定的时间是不一样的，这与卵细胞质的不均匀分布有密切关系。受精卵每分裂一次，细胞核物质包括基因组都均匀地分配到子细胞中，它们都是等能的。但受精卵的细胞质物质分布及其在子细胞的分配并不十分均匀，这种不均匀性，对胚胎的早期发育影响很大，在一定程度上决定细胞的早期分化。

例如蛙受精卵细胞质的赤道部分分布含有色素的灰色新月区 (grey crescent) 是精子进入卵细胞引起表层细胞质流动而形成的。它在早期发育过程中起着重要作用，能控制胚孔背唇的形成，对脊索中胚层和神经板的决定和分化起着关键作用。蛙卵皮层含黑褐色的色素，受精引起皮层向精子入卵的方向转动，在对侧出现灰色新月区 (图 14-3)。

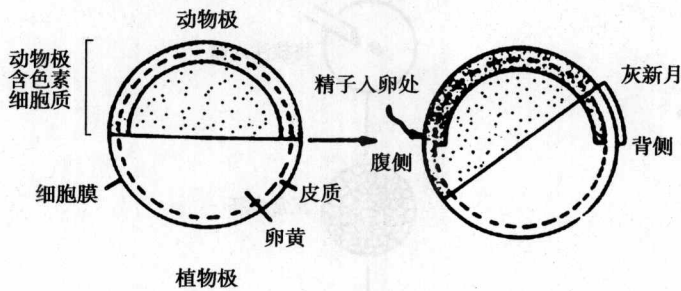


图 14-3 蛙卵受精后形成灰新月区

第一次卵裂时，卵裂面垂直于灰色新月区，2个卵裂球都含有一部分灰色新月区，每个卵裂球都能发育成正常的胚胎。若使第一次卵裂方向与灰色新月区平行，则仅仅含有灰色新月区的一半能正常发育 (图 14-4)。

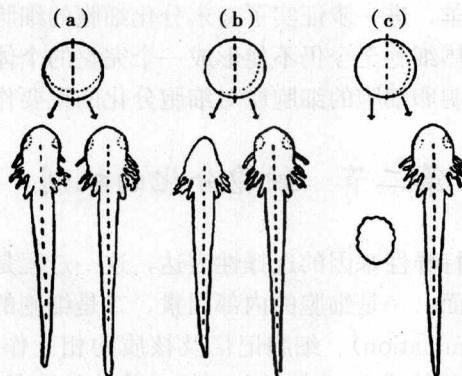


图 14-4 未分裂卵与中轴面形成不同角度的缚扎后，形成不同类型的胚胎

(a) 在中轴面上缚扎，把未来的灰色新月平均分开，形成两个胚胎幼虫；(b) 偏在一侧缚扎，把灰色新月区不均匀分配，形成一个完整的胚胎和另一个不完整的胚胎；(c) 缚扎落在前后平面上，仅背部形成完整的胚胎

由上述实验可知，在卵裂过程中不同的细胞质分配到不同的子细胞中，将决定未来细胞分化的命运，产生分化方向的差异，据此人们提出了决定子（determinant）的概念，即指影响卵裂细胞向不同方向分化的细胞质成分。研究发现，在果蝇卵细胞后端存在决定生殖细胞分化的细胞质成分即生殖质（germ plasm），是一种性细胞决定子。果蝇受精卵的卵裂只有核分裂，由此使一个卵细胞的细胞质中含有很多细胞核，这时的胚胎称为合胞体胚盘，当细胞核达到 256 个时，核开始向细胞边缘移动，达到 512 个核时，在细胞后端由膜分割核形成第一批细胞——极细胞，极细胞聚集区域称为极质（pole plasm）。极质中含有一些特殊的颗粒——极粒（含有蛋白质和 RNA）。极质对生殖细胞的决定具有直接的影响。在极质区形成的大体积细胞称为极细胞，它是生殖细胞的原基细胞，在发育过程中，极细胞迁移到生殖腺，并发育成卵细胞和精细胞。如果用紫外线照射，破坏极质，受精卵将发育成无生殖细胞的不育个体；如果把极质注入卵的前端，则前端细胞也可分化为生殖细胞（图 14-5）。

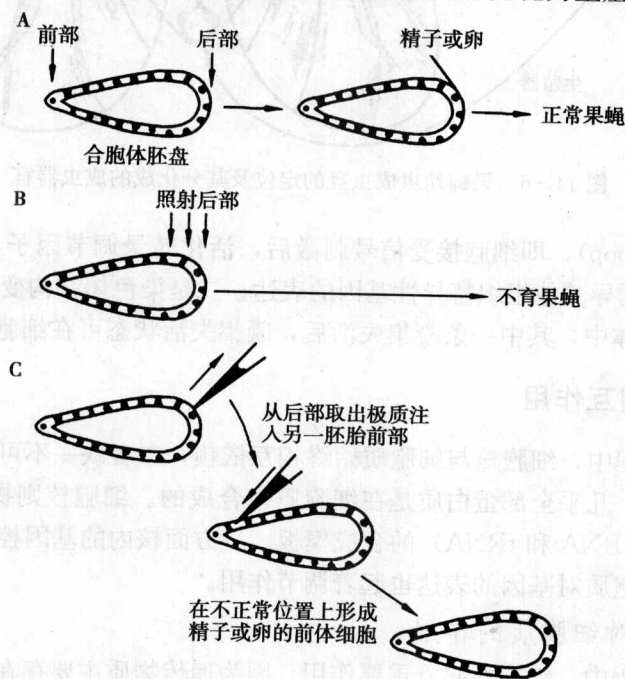


图 14-5 极质在果蝇生殖细胞形成中的作用（引自 M. Okada 等）

决定细胞向某一方向分化的初始信息储存于卵细胞中，在很多物种中，卵裂后的细胞所携带的信息已开始有所不同，这种区别又通过信号分子影响其他细胞产生级联效应。这样最初储存的信息不断被修饰并逐渐形成更为精细更为复杂的指令，最终产生分化各异的细胞类型。

信号分子的有效作用时间是短暂的，然而细胞可以将这种短暂的作用储存起来并形成长时间的细胞记忆，逐渐向特定方向分化。果蝇的成虫盘（imaginal disc）是一些处于未分化状态的细胞群，在幼虫变态过程中，不同的成虫盘发育为成虫不同的器官，如腿、翅和触角等（图 14-6）。人们曾把果蝇变态前幼虫的成虫盘细胞植入成虫体内，连续移植 9 年，然后将这种成虫盘细胞再移植回幼虫体内依然没有失去记忆，仍旧发育成为相应的器官。

细胞的决定与细胞记忆有关，而细胞记忆可能通过两种方式实现：一是正反馈途径

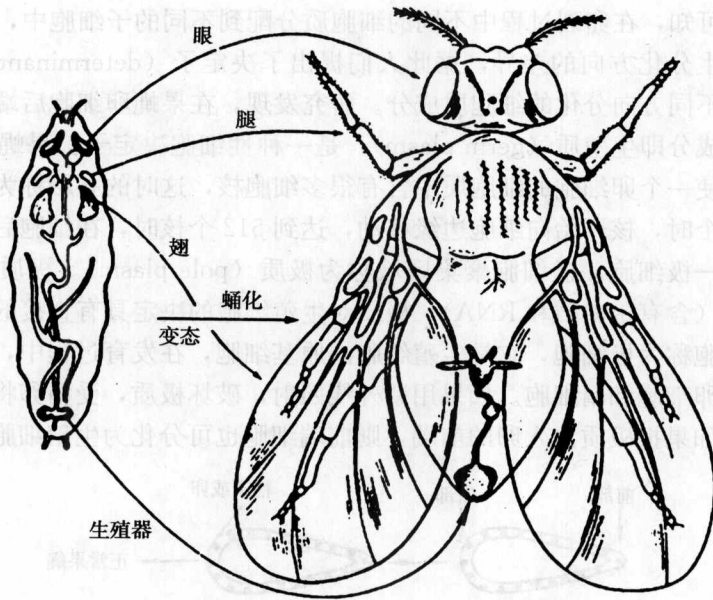


图 14-6 果蝇幼虫成虫盘的定位及其分化成的成虫器官

(positive feedback loop), 即细胞接受信号刺激后, 活化转录调节因子, 该因子不仅诱导自身基因的表达, 还诱导其他组织特异性基因的表达; 二是染色体结构变化的信息传到子代细胞, 如两条 X 染色体中, 其中一条凝集失活后, 凝集失活状态可在细胞世代间稳定遗传。

二、核质的相互作用

细胞的分化过程中, 细胞核与细胞质始终相互依赖, 二者缺一不可。细胞质提供了细胞所需的大部分能量, 几乎全部蛋白质是在细胞质中合成的。细胞核则提供特异的 mRNA 及其他核酸分子 (如 rRNA 和 tRNA) 的合成模板。一方面核内的基因控制着细胞质中的代谢活动, 另一方面细胞质对基因的表达也起着调节作用。

(一) 细胞核对细胞质的作用

在细胞分化过程中, 细胞核起着重要作用, 因为遗传物质主要存在于细胞核内, 生物的任何性状的出现均是由遗传物质决定的。分化细胞之所以能合成特异的蛋白质, 就是由于核内基因组的选择性表达, 这是细胞分化的基础 (详见细胞分化的基因表达及调控)。

(二) 细胞质对细胞核的作用

已分化的不同类型细胞, 其细胞核基因组都是相同的, 在不同的细胞质环境中, 表现出不同的分化特征。显然细胞质对细胞核活性有一定的控制作用, 进而控制细胞分化的过程。

细胞分化中, 细胞质对细胞核的作用可表现为以下几个方面:

1. 细胞质对细胞核基因的表达具有控制作用

如前面所述的卵细胞质分布的不均匀性对早期胚胎细胞决定有重要作用。另外, 一些核移植实验, 也证明了细胞质的变化控制基因的活性, 导致细胞分化。

如把培养的爪蟾肾细胞核注入蝾螈的卵母细胞内, 结果显示原来在肾细胞中表达的基因不再表达, 而原来不表达的基因, 这时却被激活。这说明卵母细胞的细胞质中的某些成分控制了基因表达的开关, 对某些基因能激活, 而对另一些基因则起抑制作用。

2. 细胞质内的各种细胞器在细胞分化中发挥重要作用

如线粒体参与细胞分化的作用方式,可能存在3种情况:①机体中可能存在着不同的线粒体群,它们在发育过程中不均等地分配到正在分化的细胞内;②发育过程中出现了一种线粒体分化,导致细胞发生改变;③由于细胞分裂时,线粒体不均等分配的结果,线粒体多的细胞或线粒体少的细胞出现了区别。第三种情况有实验证实:如栉水母的爪水母(beree)第一次卵裂时,线粒体出现不等分配,结果含线粒体多的那些细胞最后能产生纤毛,表明细胞内含线粒体的多少,与细胞分化有一定关系。

在细胞分化过程中,由于核内基因产物不断产生,并加入到原来的细胞质成分中,改变细胞质成分,使细胞的基因表达环境不断改变,从而使核内基因表达状态不断受到调整,使胚胎细胞不断分化。在个体发育中,核质间的这种相互作用不断引导细胞分化进行。

三、胞外信号分子对细胞分化的影响

在研究早期胚胎发育过程中发现,一部分细胞对其邻近的另一部分细胞产生影响,并决定其分化方向,这种作用称近端组织的相互作用(proximate tissue interaction),也称为胚胎诱导(embryonic induction)。其中产生影响的一部分细胞或组织称为诱导者(inductor),接受影响而进行分化的组织或细胞称为反应组织或细胞(reacting tissues or cells)。脊椎动物器官的形成是一系列多级胚胎诱导的结果。眼的发生是胚胎诱导的典型例证。原肠胚的外胚层接受脊索中胚层的诱导形成神经板的过程为初级诱导,初级诱导奠定了胚体的中枢神经结构。神经板形成神经管后,神经管前端发育成前脑,前脑两侧长出视杯,视杯诱导其表面的外胚层分化成晶状体,这是次级诱导。视杯本身形成视网膜和虹膜,晶状体和视网膜又诱导其表面的外胚层形成角膜,这是三级诱导。这样通过多级诱导,最终形成眼球(图14-7)。如果把早期的视泡移植在头部的其他部位,也可诱导与之接触的外胚层发育成晶状体。

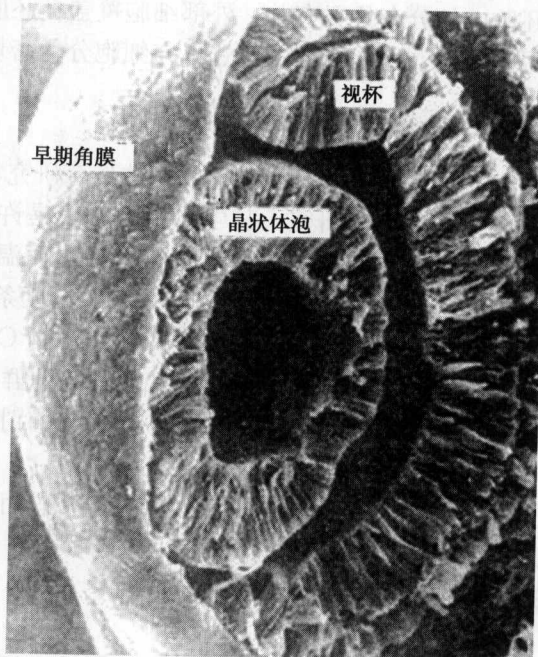


图14-7 5~6天胚龄鸡胚眼部结构扫描电镜图

近端组织的相互作用是通过细胞旁分泌产生的信号分子来实现的。已知它包括成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)、转化生长因子(transforming growth factor, TGF)以及hedgehog家族、Wnt家族和Juxtacrine等五大家族因子,它们都是影响细胞分化的重要的信号分子。

另一种胞外信号分子对细胞分化的影响主要是通过激素来调节的。如无尾两栖类的蝌蚪变态过程中,尾部退化及前后肢形成等变化必须要有甲状腺素的参与。昆虫变态过程中蜕皮素也是必不可少的,昆虫由幼虫变化为蛹,由蛹变化为成虫都需蜕皮,蜕皮需要蜕皮素参与。蜕皮素存在于幼虫的前部,如果将它切除,剩下的部分就不能发育;如果注射蜕皮素,

能在一天内再使之变化为蛹。

四、细胞的微环境与细胞位置效应

(一) 细胞的微环境

细胞外基质是细胞所处的微环境，对细胞的增殖与分化非常重要。细胞可以通过表面的整合素蛋白接受来自细胞外基质中的增殖信号，激活粘着斑激酶 (FAK)，FAK 可以通过接头蛋白 Grb2 (growth receptor bound protein 2) 启动 Ras 信号途径，引起细胞增殖。在发育与创伤组织中，透明质酸合成旺盛，能促进细胞的增殖和迁移，阻止细胞的分化，一旦细胞增殖够数则透明质酸被水解，取而代之的是硫酸皮肤素、硫酸软骨素等其他形式的氨基聚糖。

(二) 细胞位置效应

哺乳动物胚胎 8 个细胞的卵裂球在发育潜能上是全能的，它们发育的命运与其在早期胚胎个体中的相关位置有关。在哺乳动物中，早期胚胎细胞可分化为滋养层和内细胞团，滋养层细胞将来发育为胚胎的附属结构，内细胞团发育成胎儿。滋养层和内细胞团的形成与细胞在胚胎内的分布位置有关，外部细胞覆盖在胚胎表面形成滋养层，内部细胞则发育成为内细胞团。因此，细胞所处的位置也与细胞分化密切相关。

五、环境对性别决定的影响

性别决定是细胞分化和生物个体发育研究领域的重要课题之一。环境对性别决定的影响早已被人们发现和研究，其中典型的例子是许多爬行动物，如飞龙科蜥蜴 *A. agama*，在较低温度条件下 (24℃) 全部发育为雌性，而温度提高 (32℃) 则全部发育为雄性。红海龟 *C. caretta* 又出现相反的情况，即在较低温度条件下全部发育为雄性，而温度提高则全部发育为雌性。另外，有一种蜗牛类的软体动物 *Crepidula*，它们的性别决定取决于个体间的相互位置关系，在它们形成的上下相互叠压的群体中，位于下方的个体发育为雌性，而位于上方的个体发育为雄性。人们对于环境影响性别的机制还不清楚，但是这无疑表明，生物的个体发育和细胞的分化具有对环境的容纳性。

环境因素对细胞分化可产生影响，并进而影响到生物的个体发育。但是，这些影响因素又都是通过细胞自身的遗传机制发挥作用的。因此总的来说，个体发育中的细胞分化的基础在细胞的内部，而环境因素只是条件。

第三节 真核细胞基因表达的调控

真核生物特别是高等生物存在着复杂的个体发育和细胞分化过程，细胞分化是组织特异性基因在时间与空间上的差异表达的结果，研究这些特异性基因表达调控的分子机制是当今生命科学研究中最重要的前沿领域之一，它对于深入探讨重要生命现象的内在本质、揭示发育过程中的细胞行为规律和疾病发生的分子机理，均具有重要的意义。

真核生物细胞中由核膜将核和细胞质分隔开，转录和翻译并不同时发生，而是分别在核和细胞质中进行，基因组不再是环状或裸露的 DNA，而是由多条染色体组成，染色体本身结构也是以核小体为单位形成的多级结构。这样，真核生物基因的表达调控可以是多层次的，涉及染色体水平、转录水平、转录后水平和翻译水平等几个层次。

一、染色体水平的调控

(一) 染色体丢失

有的生物在个体发育的早期体细胞中要丢失部分染色体，而在生殖细胞中保持全部的基因组，被丢失染色体上的遗传信息可能对体细胞来说并不重要，而对生殖细胞的发育也许是不可缺少的。如马蛔虫 (*Parascaris equorum*) 受精卵细胞内只有一对染色体 ($2n=2$) (另一亚种 $2n=4$)，但染色体上有多个着丝粒，在发育最早期仅有一个着丝粒发挥作用，而后在纵裂的细胞中染色体分成很多小片段，不含着丝粒的片段在分裂中丢失。第一次卵裂是横裂，产生上下两个子细胞，由于受精卵中含有的各种物质不均匀分布，从上面的动物极到下面的植物极呈现一种梯度分布，它影响到分裂的方向和染色体的丢失。第二次卵裂时下面的子细胞仍进行横裂，保持着原有的基因组，而上面的子细胞却进行纵裂，丢失了部分染色体 (图 14-8)。长此下去最下面的子细胞总是保持全套的基因组，将发育成生殖细胞，其余丢失了部分染色体片段的细胞分化为体细胞。

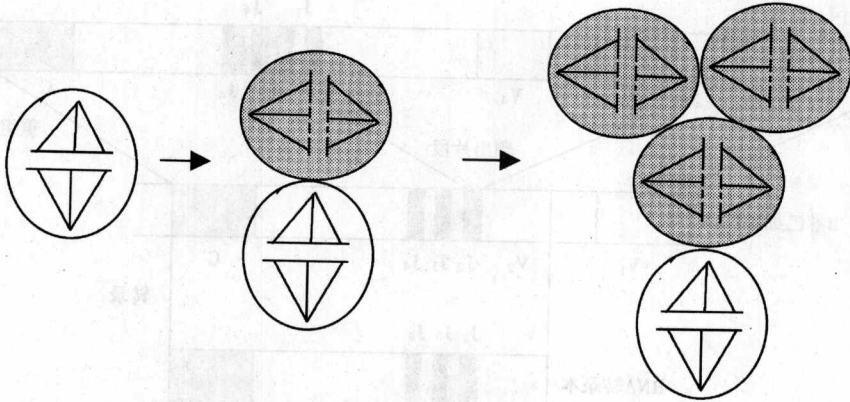


图 14-8 马蛔虫受精卵早期分裂示意图

(二) 染色体的扩增

染色体的扩增其本质是指细胞内特定基因拷贝数量显著增加。最为人们熟知的例子是两栖类和昆虫卵母细胞 rRNA 基因的扩增。如非洲爪蟾的编码 18S、5.8S 和 28S rRNA 的串联重复单位约有 450 个拷贝，它们成簇存在，形成核仁组织区。可是在卵母细胞中 rDNA 串联重复单位被剪切下来后环化，以滚环复制的形式进行扩增，使拷贝数扩大 1000 倍以上，为胚胎的发育提供大量的所需物质，直到发育成蝌蚪。

(三) 染色体的重排

真核生物的染色体重排现象非常复杂，最为典型的例子是 B 淋巴细胞的分化中免疫球蛋白成熟过程中的重排。

免疫球蛋白有两条重链 (heavy chain) 和两条轻链 (light chain)，由二硫键连接构成 Y 型的对称结构。每条蛋白质链由两部分组成：N-端的可变区 (variable region, V) 和 C-端的恒定区 (constant region, C)。重链有 3 个恒定区 (CH1, CH2 和 CH3)，在 CH1 和 CH2 区之间有一铰链区，当抗体和抗原结合时此区可变换角度，以适应不同大小的抗原决

定簇 (图 14-9)。

免疫球蛋白分子的恒定区和可变区分别由 C 基因 (constant gene) 和 V 基因 (variable gene) 编码。在胚胎发育过程中未分化的 B 淋巴细胞中, V 基因和 C 基因之间存在一些分隔的 DNA 片段, 而在分化时, 由一些酶将部分 V 基因片段、非编码的内含子及部分 J 片段 (连接片段) 切除, 再由酶连接起来, 组成产生抗体 mRNA 的 DNA 序列。组成抗体分子的重链和轻链都有几百个 V 基因片段, 因此, 可根据选择不同的 V 基因片段与 C 基因片段组合成多种 DNA 序列, 从而产生多种多样的抗体分子 (图 14-10)。

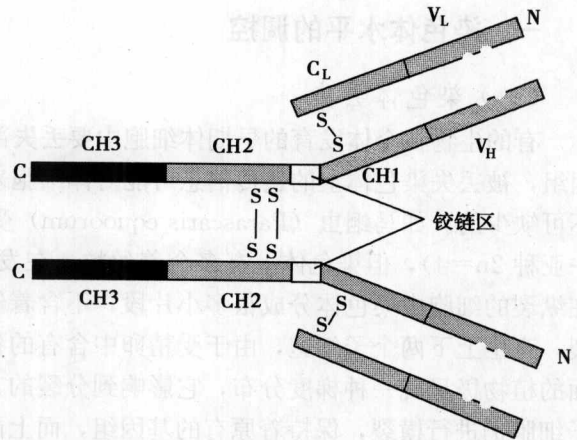


图 14-9 免疫球蛋白结构示意图

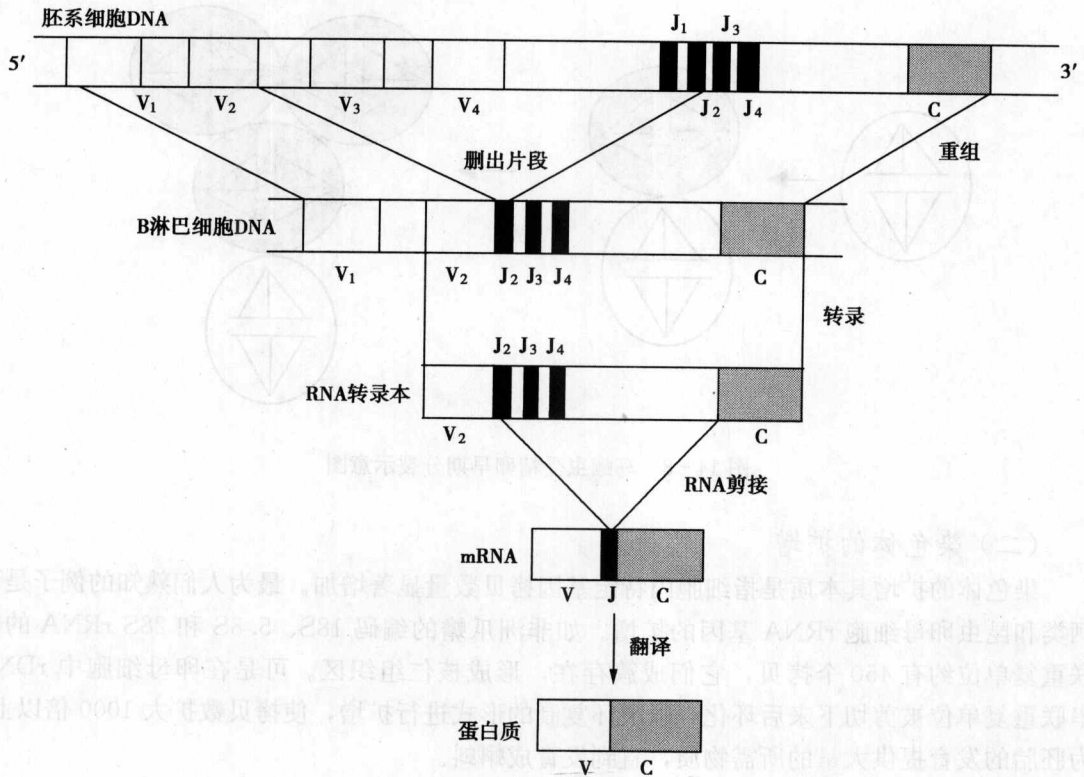


图 14-10 小鼠 B 淋巴细胞分化过程中抗体分子轻链基因 DNA 重排

二、转录水平的调控

大量的实验表明, 细胞分化过程中, 特异性基因的差异表达主要是在转录水平上进行调节的。珠蛋白基因就是最有代表性的一个例子。血红蛋白是由 4 条珠蛋白肽链组成的四聚体, 包含两类珠蛋白肽链, 分别称为 α 类珠蛋白链和 β 类珠蛋白链。前者包括 α 和 ζ, 后者

包括 β 、 γ 、 δ 和 ϵ ，分别由相应的基因编码。这两类珠蛋白基因分别位于人类的不同染色体上， α 和 ζ 基因位于 16 号染色体 (16p13.3)， ϵ 、 γ 、 δ 和 β 基因位于 11 号染色体 (11p15.5)，在不同的发育阶段，它们互相配合，有秩序地开放或关闭 (图 14-11)，因而便装配成由不同亚基组成的血红蛋白。人胚血红蛋白为 $\zeta_2\epsilon_2$ ，自第二个月 ζ 和 ϵ 基因逐渐关闭，这两种珠蛋白合成逐渐减少到停止，而 α 和 γ 珠蛋白合成增加，从而组成了 $\alpha_2\gamma_2$ 胎儿血红蛋白。到妊娠 3 个月时， β 和 δ 基因开始开放表达产物增加，而 γ 珠蛋白逐渐下降。在出生后这一转变加快，胎儿血红蛋白 HbF ($\alpha_2\gamma_2$) 被成体血红蛋白 HbA ($\alpha_2\beta_2$) 所代替 (图 14-12)。因此，珠蛋白基因表达具有时空秩序性的特点。

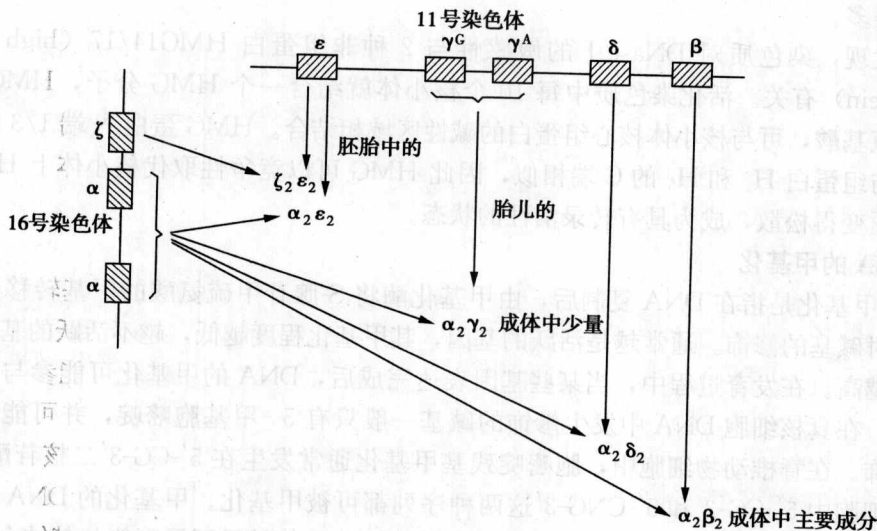


图 14-11 人体发育过程中珠蛋白基因激活的顺序

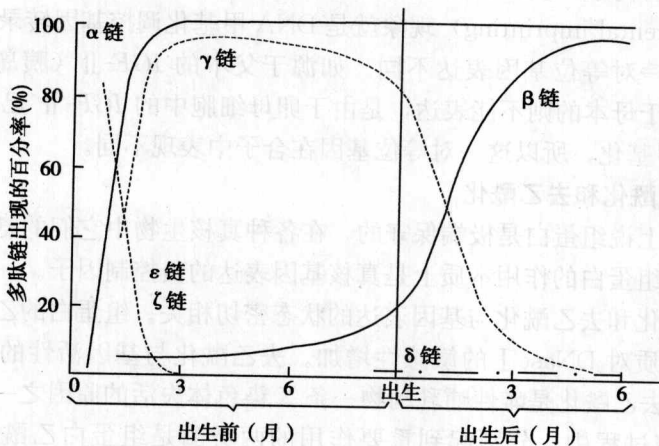


图 14-12 人体不同发育时期血红蛋白各种多肽链图

目前，研究转录水平上真核生物基因表达调控的机制主要包括染色质的结构、顺式作用元件种类、反式作用因子调控及转录起始的选择等。

(一) 染色质的结构对基因转录的影响

1. DNase I 的敏感性

当一个基因处于转录活性状态时,含有这个基因的染色质区域对 DNase I (DNA 内切酶 I) 降解的敏感性要比无转录活性区域高得多。这是由于此区域染色质的 DNA 蛋白质结构变得松散, DNase I 易于接触到 DNA 之故。例如在鸡胚红细胞的核中,珠蛋白基因具有转录活性,该基因对 DNase I 的降解是敏感的,而编码卵清蛋白的基因是不表达的,它对 DNase I 的降解是不敏感的,而在母鸡输卵管细胞的核中,卵清蛋白的基因是具有转录活性的,而珠蛋白基因是没有活性的。卵清蛋白基因的序列对 DNase I 的降解要比珠蛋白基因的序列敏感得多。

研究发现,染色质对 DNase I 的敏感性与 2 种非组蛋白 HMG14/17 (high mobility group protein) 有关。活化染色质中每 10 个核小体就结合一个 HMG 分子, HMG 蛋白 C 端含活性氨基酸,可与核小体核心组蛋白的碱性区域相结合。HMG 蛋白 N 端 1/3 的区域氨基酸序列与组蛋白 H₁ 和 H₅ 的 C 端相似,因此 HMG 可以竞争性取代核小体上 H₁ 或 H₅, 将使染色质变得松散,成为具有转录活性的状态。

2. DNA 的甲基化

DNA 甲基化是指在 DNA 复制后,由甲基化酶将 S-腺苷甲硫氨酸的甲基转移到胞嘧啶上,完成对碱基的修饰。通常越是活跃的基因,其甲基化程度越低,越不活跃的基因,甲基化程度则越高。在发育过程中,当某些基因表达完成后, DNA 的甲基化可能参与了基因的关闭过程。在真核细胞 DNA 中发生修饰的碱基一般只有 5-甲基胞嘧啶,并可能是仅有的程序化修饰。在脊椎动物细胞中,胞嘧啶残基甲基化通常发生在 5'-CG-3' 二核苷酸序列中,而在植物细胞中 5'-CG-3' 和 5'-CNG-3' 这两种序列都可被甲基化。甲基化的 DNA 能够通过多种方式影响转录: ①由于识别位点中的胞嘧啶被甲基化,使转录因子不能与其结合; ②特异性识别甲基化 DNA 的蛋白结合竞争性地抑制了转录因子的结合,从而阻断了转录; ③它能够通过影响核小体的构象,或影响核小体与其他染色质蛋白相互作用而改变染色质的结构。

亲本印记 (parental imprinting) 现象就是 DNA 甲基化调控基因转录的结果。亲本印记是指来源于亲本的一对等位基因表达不同。如源于父本的 *IGF-II* (胰岛素样生长因子 II) 基因可表达,而源于母本的则不能表达,是由于卵母细胞中的 *IGF-II* 已被甲基化,而精子中的 *IGF-II* 未被甲基化,所以这一对等位基因在合子中表现不同。

3. 组蛋白的乙酰化和去乙酰化

从进化的意义上说组蛋白是极端保守的,在各种真核生物中它们的氨基酸顺序、结构和功能都十分相似,组蛋白的作用本质上是真核基因表达的负控制因子。

组蛋白的乙酰化和去乙酰化与基因表达的状态密切相关。组蛋白的乙酰化扩大了活性基因的功能区,染色质对 DNase I 的敏感性增加。去乙酰化与基因活性的阻遏有关,研究发现,组蛋白 H₄ 的去乙酰化是雌性哺乳动物一条 X 染色体失活的原因之一。在组蛋白乙酰化和去乙酰化的调控过程中,分别起到重要作用的两类酶是组蛋白乙酰基转移酶 (histone acetyltransferases, HATs) 和组蛋白去乙酰基酶 (histone deacetylases, HDACs), 它们主要通过改变染色质结构达到调节基因转录活性的目的。

4. 染色质环

真核基因组 DNA 序列与核基质紧密结合的区域称为核基质结合区 (matrix-associated regions, MARs), 核基质蛋白通过与 MAR 位点结合,使染色质形成许多有功能的环状结

构,通常这些区域位于活跃转录的基因两侧,可能对调节基因表达的因子有定位作用。另外,染色质也可能通过形成环状结构,使基因远侧调控序列得以靠近基因转录起始位点,从而达到调控转录的目的。在研究 β -珠蛋白基因转录调控的分子机制过程中发现,基因远侧的基因座控制区(locus control region, LCR)可能就是通过与核基质结合,使染色质形成环化结构,进而靠近该基因转录起始位点。

(二) 顺式作用元件和反式作用因子

顺式作用元件(cis-acting element)是在同一条DNA中具有转录调节功能的特异核酸序列,常不编码蛋白质。按功能特性,真核基因顺式作用元件包括:①核心启动子(promoter)成分,如TATA框;②上游启动子成分,如CAAT框,GC框等;③增强子(enhancer)和沉默子(silencer)等。反式作用因子(trans-acting factor)是指对DNA链上的基因表达起到调控作用的蛋白。根据靶位点的特点,反式作用因子可以分为:①通用反式作用因子,如TBP(TATA-box binding protein)、SP1等;②基因特异性调控的反式作用因子,如GATA-1、PIT-1(pituitary transcription factor)等;③与反应元件(response elements)相结合的反式作用因子。反应元件是启动子或增强子的上游元件,它们含有短的保守序列。在不同的基因中反应元件的序列密切相关,但并不一定相同,离转录起始点的距离并不固定,也可以位于启动子或增强子中,包括糖皮质激素反应元件(glucocorticoid response element, GRE)、热休克反应元件(heat shock response element, HSE)等。

反式作用因子可以通过与顺式作用元件结合调控目的基因表达,也可以通过蛋白质与配体结合、蛋白质之间的相互作用以及蛋白质的修饰等途径进行基因表达调控。

1. 反式作用因子与顺式作用元件结合

与顺式作用元件结合的反式作用因子通常具有特定的结构,包括①螺旋-转角-螺旋(helix-turn-helix),包含有两个 α 螺旋,螺旋之间间隔有一个短的 β 转角,使两个螺旋可通过疏水作用装配起来,如Oct-1和Oct-2属于此类型;②锌指结构(zinc finger),是由一小组保守的氨基酸和锌离子结合,在蛋白质中形成了相对独立的功能域,典型的锌指蛋白有一组锌指,组成锌指的氨基酸序列比较保守,如糖皮质激素受体和雌激素受体等;③亮氨酸拉链(leucine zipper),亮氨酸拉链蛋白通过疏水界面上的亮氨酸形成二聚体,可以识别特殊的DNA序列,例如*c-jun*和*c-fos*基因都编码亮氨酸拉链蛋白;④螺旋-环-螺旋(helix-loop-helix),蛋白复合物通常是二聚体,其中一条链中含有两个亲水的 α -螺旋结构,两个 α -螺旋由很长的连接区(环)相连,螺旋的一侧有疏水氨基酸,两条链依赖疏水氨基酸的相互作用形成同二聚体或异二聚体,如哺乳动物的E12/E47和MyoD等;⑤同源异形结构域(homeodomains),同源异形盒(homeobox)是一种编码60个氨基酸的序列,长180bp,几乎存在于所有真核生物中。

2. 蛋白质与配体结合

有的调节蛋白并不直接与DNA接触,而是先和配体结合被活化,如甾类受体蛋白等,当甾类激素配体进入细胞后,在细胞质中与受体结合,结合后受体构象发生改变,形成二聚体,成为活化状态,然后进入细胞核。受体识别并结合特殊的保守GRE,从而活化了其下游基因的启动子(图14-13)。

3. 蛋白质之间的相互作用

反式作用因子的另一种调控形式是蛋白质与蛋白质之间的相互作用,酵母半乳糖代谢中GAL80和GAL4的相互作用就是很好的例子,GAL80不直接和DNA结合,而是通过与转

录激活因子 GAL4 蛋白结合，占据其功能结构域来阻遏转录。

4. 蛋白质的修饰

蛋白质的磷酸化和去磷酸化是其转录活性调节的一种普遍形式，例如在细胞周期调节中，MPF 作为一种蛋白激酶，激活后可以进一步激活转录因子，使有关蛋白磷酸化，促使 M 期的染色体凝聚等一系列周期变化。

(三) 转录起始的选择

即使是同一个基因，由于 5' 端的不同选择，转录的 mRNA 不同，结果编码了功能不同的蛋白。有的基因具有两个启动子区，每一区都有它自己的组织调控元件，那么两个长度不同的转录本将会产生组织特异性 mRNA 和蛋白产物。

如小鼠的唾腺、肝脏和胰脏都能合成 α -淀粉酶，但在 3 个组织中 α -淀粉酶的浓度不同。小鼠的第 3 号染色体上的 α -淀粉酶基因可以转录两种不同的 mRNA (amy-1 和 amy-2)，在唾腺中产生的 α -淀粉酶的浓度是肝中的 100 倍。这是由于在不同的组织中使用了 amy 基因 5' 端的 2 个不同启动子 (图 14-14)。

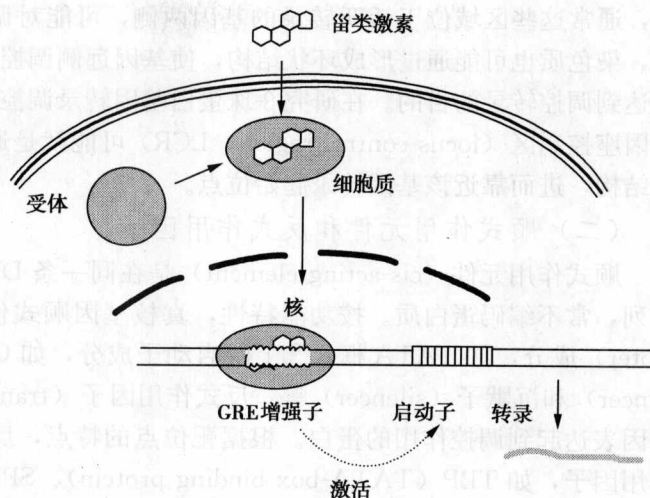


图 14-13 甾类激素活化基因启动子的过程

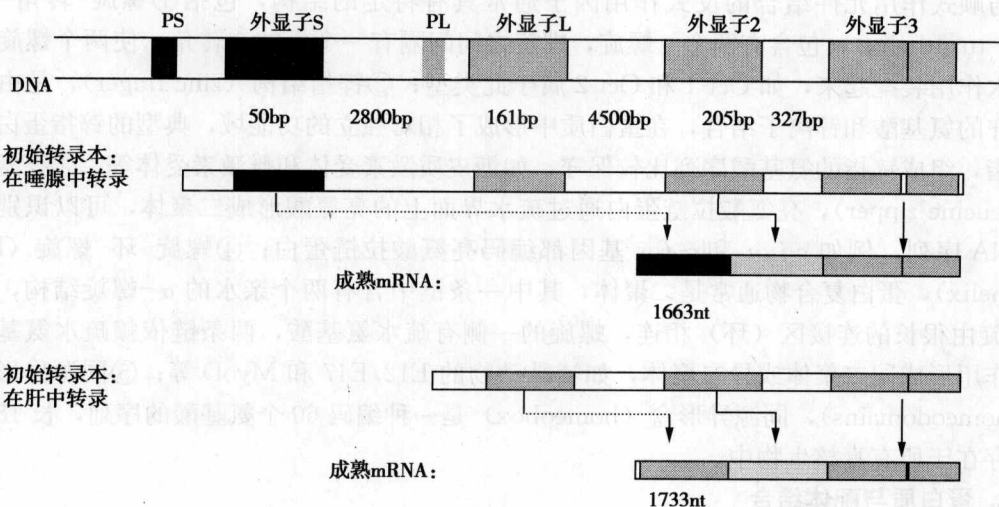


图 14-14 α -淀粉酶形成两种不同转录 mRNA 的过程

三、转录后水平的调控

转录后的初级转录产物，经过加工才能成为成熟的 RNA。RNA 的选择性加工是基因调控的一种重要因素。如从大鼠甲状腺和脑下垂体细胞分离得到的同一初级转录物，通过不同的拼接与加工，则产生 2 种不同的 mRNA。在甲状腺细胞中编码降钙素 (calcitonin, Cal)，

而在脑下垂体和多种神经细胞中则编码降钙素基因相关蛋白 (calcitonin-gene-related peptide, CGRP, 一种神经肽) (图 14-15)。

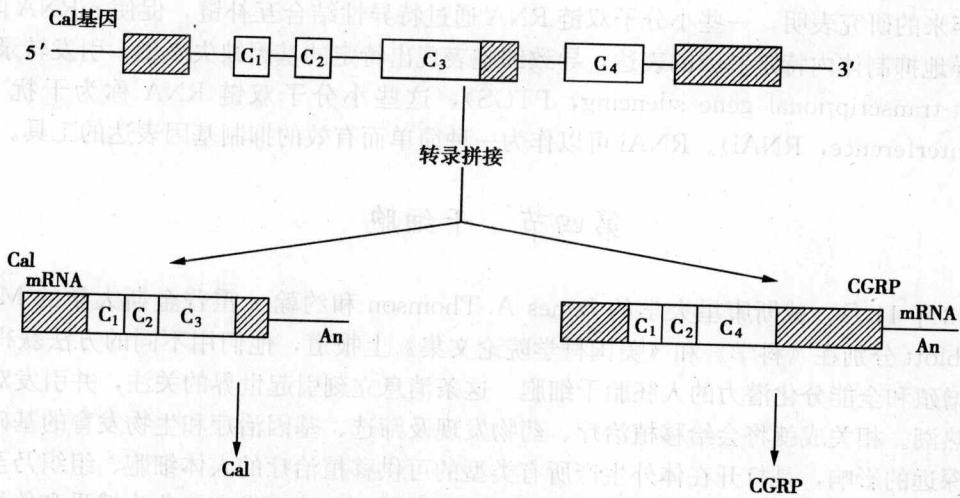


图 14-15 降钙素基因 mRNA 组织特异性拼接和转录过程

四、翻译水平的调控

真核生物由于 RNA 较为稳定, 所以除了存在转录水平的调控以外, 在翻译水平上也进行各种形式的调控。

(一) mRNA 翻译的控制

在细胞质中所有的 RNA 都要受到降解控制 (degradation control)。通常核糖体中的 rRNA 和 tRNA 是很稳定的, 而 mRNA 分子的稳定性很不一致, 有的 mRNA 的寿命可延续好几个月, 有的只有几分钟。mRNA 降解速率与 mRNA 结构的特点有关, 特别是 mRNA 的选择性降解在很大程度上是由于核酸酶和 mRNA 内部结构相互作用的结果。

(二) mRNA 的结构和翻译的效率

5' m7G 帽结构对翻译效率有着明显的影响, 起始密码子 AUG 的位置和其侧翼的序列对翻译的效率也有影响, 这些因素主要是通过与调控蛋白、核糖体、RNA 等的亲和性改变影响到起始复合物的形成, 以致影响到翻译的效率。另外, 5' 端非翻译区的长度和二级结构也会对翻译起始产生重要影响。

mRNA 3' 端的 poly (A) 不仅与 mRNA 穿越核膜的能力有关, 而且影响到 mRNA 的稳定性和翻译效率。有 poly (A) 的 mRNA 其翻译效率明显高于无 poly (A) 的 mRNA。有人将 poly (A) 比作翻译的计数器, 随着翻译次数的增加, poly (A) 在逐步缩短, 也就是说 poly (A) 越长, mRNA 作为模板使用的半衰期越长。

(三) 小分子 RNA 的调控

1. 反义 RNA 调控

1984 年, Adelman 等发现大鼠的促性腺激素释放激素 (gonadotropin releasing hormone, GnRH) 的基因两条链都能转录, 首次在真核细胞中发现了反义 RNA。研究发现, 反义 RNA 对翻译模板功能有一定的抑制作用。人们已将反义 RNA 技术应用在动、植物病

毒的抑制, 果蔬的保鲜, 甚至基因治疗等许多领域。

2. 干扰 RNA (RNAi) 的调控

近年来的研究表明, 一些小分子双链 RNA 通过特异性结合互补链, 促使 mRNA 降解, 从而特异地抑制体内特定基因的表达, 导致细胞表现出特定的基因缺失表型, 引发转录后沉默 (post-transcriptional gene silencing, PTGS), 这些小分子双链 RNA 称为干扰 RNA (RNA interference, RNAi)。RNAi 可以作为一种简单而有效的抑制基因表达的工具。

第四节 干细胞

1998年11月, 威斯康星大学的 James A. Thomson 和约翰·霍普金斯大学的 Michael J. Shamblott 分别在《科学》和《美国科学院论文集》上报道, 他们用不同的方法获得了具有无限增殖和全能分化潜力的人胚胎干细胞。这条消息立刻引起世界的关注, 并引发对干细胞研究热潮。相关成就将会给移植治疗、药物发现及筛选、基因治疗和生物发育的基础研究等带来深远的影响, 是打开在体外生产所有类型的可供移植治疗的人体细胞、组织乃至器官的大门。从理论上讲, 人胚胎干细胞在一定的诱导条件下, 既可发育分化为感受和传导生物电信号的神经组织, 也可分化为携带氧的血细胞, 还可分化为提供血液循环动力的心肌细胞等。干细胞具有非凡的再生能力, 可以培养出各种特定的细胞组织, 干细胞研究具有不可估量的医学价值, 将促使科学家们重新认识细胞生长、分化的基本生命原理。

一、干细胞概念

干细胞 (stem cell) 是一类具有自我更新和分化潜能的细胞, 在一定条件下, 可以分化为多种功能细胞。干细胞是一类原始的没有终末分化的细胞, 可按照发育途径通过分裂而产生分化细胞, 是个体发育中组织器官形成的基础和机体生命活动维持的保证。

干细胞具有以下生物学特点:

- 保持未分化或低分化特征, 其本身不是处于分化途径的终端。
- 具有自我更新能力, 能够无限制的分裂增殖, 但增殖的速度较慢。
- 具有多向分化潜能, 能分化成为不同类型的组织细胞, 如造血干细胞、神经干细胞等, 成体干细胞具有一定的跨系甚至跨胚层分化的潜能。
- 干细胞可连续分裂几代, 也可在较长时间内处于静止状态。
- 通过两种方式分裂, 对称分裂和不对称分裂。前者形成两个相同的干细胞; 后者由于细胞质中的调节分化蛋白不均匀地分配, 使得一个子细胞不可逆地走向分化的终端成为功能专一的分化细胞, 另一个保持亲代的特征, 仍作为干细胞保留下来。

可以说, 干细胞是具多潜能和自我更新特点的增殖速度较缓慢的细胞。

二、干细胞分类

(一) 根据个体发育阶段分类

根据个体发育阶段, 干细胞可分为胚胎干细胞 (embryonic stem cell, ESC) 和成体干细胞 (somatic stem cell)。

胚胎干细胞是一类具有自我更新和发育全能性并产生分化后代能力的早期胚胎细胞, 是存在人胚胎发育早期——囊胚 (受精后 5~7 天) 中未分化的细胞。囊胚含有约 140 个细胞,

外表是一层扁平细胞，称滋养层，可发育成胚胎的支持组织如胎盘等。中心的腔称囊胚腔，腔内一侧的内细胞群，是一类未分化的细胞，可进一步分裂、分化，发育成个体，具有全能性，称为胚胎干细胞。内细胞群能够分化为属于内、中、外胚层范畴的各种分化细胞，每个胚层将分别分化形成人体的各种组织和器官。如外胚层最终分化为中枢神经系统，表皮及附属物和感觉器官等，中胚层分化为真皮、肌肉、骨骼系统、循环系统等，而内胚层则分化为消化腺、消化道及附属器官等（图 14-16）。

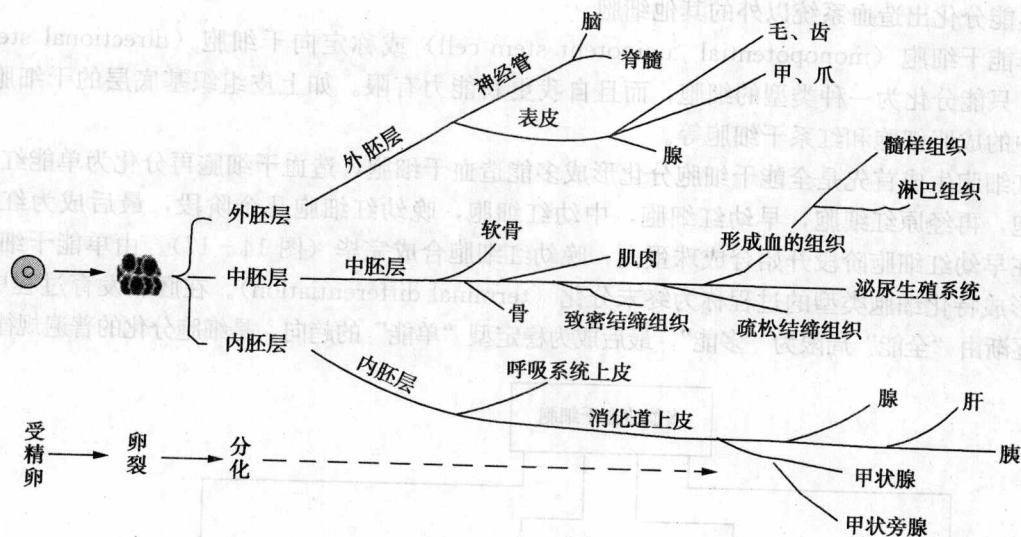


图 14-16 三个胚层分别分化成不同的组织和器官示意图

当前，已经成功分离包括人类在内的各种哺乳类胚胎干细胞并建成细胞系，如果结合体外基因操作和细胞分化诱导选择等综合途径，就有可能控制胚胎干细胞定向产生单一类型的功能性分化细胞。胚胎干细胞生物学技术已成为一项新崛起的细胞工程技术，广泛应用于研制克隆动物和转基因动物，而人工诱导胚胎干细胞定向分化，培育出特定的组织和器官，可以用于医学治疗目的。相关研究将对分子细胞生物学、发育生物学和人体胚胎学等学科及相关的细胞治疗和组织工程等有着重要影响和推动作用。

成体干细胞是胚胎干细胞继续进行分化，形成具有特定功能的干细胞。成年动物的许多组织和器官，比如表皮和造血系统，具有修复和再生的能力，成体干细胞在其中起着关键的作用。在特定条件下，成体干细胞或者产生新的干细胞，或者按一定的程序分化，形成新的功能细胞，从而使组织和器官保持生长和衰退的动态平衡。过去认为成体干细胞主要包括上皮干细胞和造血干细胞。最近研究表明，以往认为不能再生的神经组织仍然包含神经干细胞，说明成体干细胞普遍存在。成体干细胞经常位于特定的微环境中，微环境中的间质细胞能够产生一系列生长因子或配体，与干细胞相互作用，控制干细胞的更新和分化。最新研究发现，成体干细胞可以横向分化为其他类型的细胞和组织，为干细胞的广泛应用提供了基础。

(二) 根据干细胞的分化能力分类

根据干细胞的分化能力，干细胞可分为全能干细胞、多能干细胞和单能干细胞。

全能干细胞 (totipotent stem cell, TSC) 可以分化为机体内的任何一种细胞，直至形成一个复杂的有机体。人类的全能干细胞可以分化成人体的各种细胞，这些分化出的细胞构

成人体的各种组织和器官，最终发育成一个完整的人。多细胞个体起源于一个单细胞的受精卵，从受精卵衍生出有机体的各种组织和器官，因此，在发育潜能上受精卵属于全能干细胞。胚胎干细胞也是一种全能干细胞，可以无限增殖并分化成为全身 200 多种细胞类型，进一步形成机体的所有组织、器官。

多能干细胞 (pluripotent stem cell) 具有分化为多种类型细胞的潜能，但却失去了发育成完整个体的能力，发育潜能受到一定的限制。如造血多能干细胞可以分化为各种血细胞，但却不能分化出造血系统以外的其他细胞。

单能干细胞 (monopotential / unipotent stem cell) 或称定向干细胞 (directional stem cell)，只能分化为一种类型的细胞，而且自我更新能力有限。如上皮组织基底层的干细胞、肌肉中的成肌细胞和红细胞干细胞等。

红细胞生成首先是全能干细胞分化形成多能造血干细胞，造血干细胞再分化为单能红系干细胞，再经原红细胞，早幼红细胞，中幼红细胞，晚幼红细胞几个阶段，最后成为红细胞，在早幼红细胞阶段开始合成珠蛋白，晚幼红细胞合成完毕 (图 14 - 17)。由单能干细胞最终形成特化细胞类型的过程称为终末分化 (terminal differentiation)。在胚胎发育过程中，这种逐渐由“全能”局限为“多能”，最后成为稳定型“单能”的趋向，是细胞分化的普遍规律。

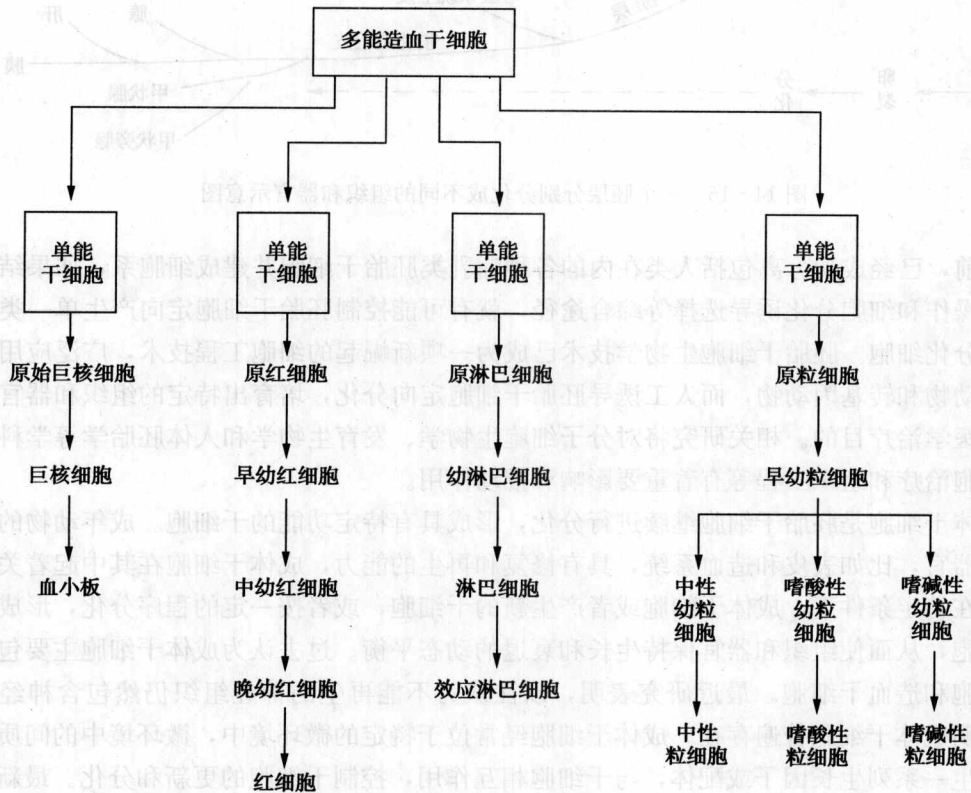


图 14 - 17 多能造血干细胞分化程序示意图

三、干细胞的应用前景

在临床上干细胞可以用于细胞、组织和器官的替代治疗。组织器官的损伤以及功能障碍

是危害人类健康的主要因素之一，很多人类疾病与特定器官、组织、细胞的病变或受损有关，如心血管疾病、恶性肿瘤、严重烧伤、脊髓损伤、肝硬化等。替代治疗是治疗这类疾病的理想方法，即移植功能正常的细胞、组织和器官来替代受损的部位。目前临床上进行的替代治疗多来自于供体捐献，然而，供体来源匮乏是当前替代治疗面临的最大困境。寻找新的移植来源成为当务之急。干细胞，由于其具有多向分化潜能，可以分化为多种细胞类型用于细胞替代治疗，将其与组织工程技术结合，甚至能在实验室中培育出可用于移植的各种组织和器官。

在基础研究领域，干细胞是研究人类发育的最佳模型。由于对人类在子宫内的各个发育阶段的观察和实验难以进行，并且容易引起人类伦理方面的问题，有关人类早期发育的研究一直难以开展。以往只能通过对果蝇、斑马鱼和小鼠等模式生物的研究来获取人类发育的相关信息，而物种间的差异使研究结果尚不足以完全反映人类发育的情况。干细胞具有多向分化潜能，以干细胞作为模型，可在体外再现从内细胞团分化至各个组织器官发育的过程，为研究人类早期发育的机制提供了平台，比较胚胎干细胞以及不同发育阶段的干细胞和分化细胞的基因转录和表达，可以确定胚胎发育及细胞分化的分子机制。

干细胞也是很好的基因操作和药理研究工具。干细胞具有很强的自我扩增能力，一旦外源基因整合到细胞内基因组中，干细胞就能无限扩增成为稳定的转基因细胞系用于研究，从而避免了体细胞增殖能力有限的问题。以干细胞体外分化作为正常人类发育的模型，可用于检测药物对发育的影响，检测药物对细胞的药理作用，反映药物与正常人类细胞的相互作用情况，相关技术的发展有可能为药物作用机制研究带来革命性的进步。

干细胞研究的发展为生命科学研究注入了新的生机，用干细胞造福人类是科学家们的梦想。目前干细胞距离真正临床应用还有一段漫长的征途，许多悬而未决的难题有待解决，如胚胎干细胞维持不分化的分子机制及其定向诱导分化的机制尚不明确；如何分离、鉴定成体干细胞仍是其应用于临床的巨大障碍；干细胞在体外长期培养的安全性也是亟待解决的问题。

第五节 细胞分化与癌症

细胞分化异常与癌症的发病有着密切关系。癌症也称为恶性肿瘤，是目前危害人类健康最严重的一类疾病，是一种分化障碍性疾病。某些细胞的生长和分裂失控，脱离了衰老和死亡的正常途径，将成为癌细胞，癌细胞不论在形态、功能、代谢、行为诸方面都类似未分化的胚胎细胞，深入认识细胞分化及其异常的发生机制，对癌症的治疗和预防有着非常重要的意义。

血液系统癌症，如白血病就是细胞分化异常引起细胞癌变的最典型例子，患者骨髓及其他造血组织中有大量癌变细胞无限制地增生，并进入外周血液，而正常血细胞的制造被明显抑制。从前面所知，血细胞的生成是多能造血干细胞按一定方向分化结果。越来越多的证据表明，白血病的发生就是多能造血干细胞在发育分化的某一阶段受阻造成的，通常细胞内的细胞遗传学特征异常，如发生染色体缺失、易位、倒位等现象，癌变细胞不能终末分化为正常的血细胞。

正常细胞可以发生恶性转化而成为癌细胞，那么癌细胞是否也有可能转归为正常细胞呢？这是人们所普遍渴望的。已有临床上报道发现肿瘤自愈的现象，而在实验条件下有目的

地使癌细胞逆转为正常细胞的例子也有报道,如畸胎瘤(teratoma)细胞的转变就是典型一例。畸胎瘤是由哺乳动物和人类生殖细胞癌变产生的,它可恶性增殖,也具有分化成各种组织的潜能。有人将处于囊胚阶段的小鼠胚胎植入雄性小鼠的睾丸囊下面,胚胎组织生长紊乱,再把其转移到肾淋巴结处,便形成了畸胎瘤。然后将实体畸胎瘤细胞取出,注入小鼠正常胚泡中,这种注入的细胞可与宿主内细胞团合并,然后将囊胚移入假孕母鼠子宫中,可发育成正常有生育能力的小鼠。在这个实验里,癌细胞的恶性表型消失,参与了正常组织分化。

畸胎瘤细胞成功地转化为正常细胞的实验为人们对于肿瘤的治疗开创了一个新的重要途径。在20世纪70年代后期,Sachs发现在某些能够抑制增殖和诱导分化的物质作用下,鼠白血病细胞系的分化受阻有时是可逆的,他最早提出了分化治疗(differentiation therapy)的概念。随后,许多学者致力于诱导分化的研究,并且所涉及的领域已从血液系统肿瘤扩展到许多实体瘤,如神经母细胞瘤、黑色素细胞瘤、乳腺癌、结肠癌、鳞状细胞癌等。我国科学家在分化疗法治疗急性早幼粒细胞白血病方面取得了举世瞩目的成就,早在20世纪80年代中期,上海血液研究所就开展了用全反式维甲酸(ATRA)治疗白血病的临床实践工作。目前,ATRA诱导分化治疗已成为临床治疗白血病的首选手段。

细胞分化及其与肿瘤的关系方面,还有许多问题等待人们去研究,去解决。相信随着人们对细胞分化认识的不断深入,彻底地治疗恶性肿瘤的时间也为期不远了。

提 要

在个体发育中,同源细胞通过分裂,后代细胞的形态结构、生理功能和生物化学特性等方面发生稳定性差异的过程称为细胞分化。细胞分化具有分化状态的稳定性、分化细胞全能性等特点,并且具有去分化和转分化现象。

细胞分化是基因选择性表达的结果,细胞分化的实质就是组织特异性基因在时间与空间上的差异表达。细胞内与分化有关的基因按其功能可分为两类,管家基因和奢侈基因。细胞全能性是指细胞经分裂和分化后仍具有产生完整有机体的潜能或特性。核移植实验是最常用的证实细胞核全能性的方法。细胞的分化命运主要取决于两个方面:一是细胞的内部因素,二是细胞的外部因素。细胞的内部因素包括细胞决定、细胞记忆及核质的相互作用等,细胞的外部因素表现为细胞外信号系统、细胞微环境及细胞位置等,通常这些因素共同起作用,对细胞分化产生重要影响。此外,外部的环境对某些物种细胞分化乃至个体发育也会产生很大的影响。

研究特异性基因表达调控的分子机制是当今生命科学研究中最重要的前沿领域之一,真核生物基因的表达调控是多层次的,涉及染色体水平、转录水平、转录后水平和翻译水平等几个层次,其中主要是在转录水平上进行调控的。在染色体水平上,包括染色体丢失、扩增和重排等;在转录水平上包括染色质结构、顺式作用元件与反式作用因子相互作用、转录起始的选择等;在翻译水平上包括mRNA结构和小mRNA调节等。

干细胞是一类具有自我更新和分化潜能的细胞,在一定条件下,可以分化为多种功能细胞,是个体发育中组织器官形成的基础和机体生命活动维持的保证。根据个体发育阶段,干细胞可分为胚胎干细胞和成体干细胞。根据干细胞的分化能力,可以分为全能干细胞、多能干细胞和单能干细胞。在临床上干细胞可以用于细胞、组织和器官的替代治疗。在基础研究

领域，干细胞是研究人类发育的最佳模型。干细胞也是很好的基因操作和药理研究工具。

细胞分化异常与癌症的发病有着密切关系。癌症是一种分化障碍性疾病。某些细胞的生长和分裂失控，脱离了衰老和死亡的正常途径，将成为癌细胞。分化治疗是攻克癌症难题的一个新的途径，我国在相关领域获得了重要的研究成果。

复习思考题 14

(一) 名词解释：

细胞分化 细胞决定 干细胞 胚胎干细胞
 胚胎诱导 转分化 去分化 管家基因 奢侈基因

(二) 问答题：

1. 举例说明卵细胞质在早期胚胎细胞分化中的作用。
2. 细胞分化的特点有哪些？
3. 胚胎诱导对细胞分化有什么影响？有何重要意义？
4. 为什么说细胞分化的本质是差别基因表达的结果？
5. 干细胞的种类和特点有哪些？
6. 细胞癌变与细胞分化有什么联系？
7. 论述真核基因表达调控机制。
8. 影响细胞分化的因素有哪些？

(张树冰)

第十五章

细胞的衰老与死亡

细胞衰老和死亡是一种不可抗拒的生理现象。在生命活动过程中，细胞的新老交替是生命的基本规律。人体内总是有细胞在不断地衰老死亡，同时又有新的细胞取代它们。有机体经过发生、成长，最后会走向衰老、死亡。组成有机体的细胞经历分裂、分化，成为有功能的细胞后，其最终的命运也是衰老、死亡，这是生命活动的必然规律。

第一节 细胞的衰老

人类个体随着年龄的增长，出现头发变白、牙齿脱落、肌肉萎缩、血管硬化、感觉迟钝、记忆力衰退、代谢功能下降等变化。通常，我们将这种机体在形态、结构和生理功能方面逐渐衰退的总现象称为衰老 (aging)。机体的衰老是以总体细胞的衰老为基础的。细胞衰老 (cellular aging, cell senescence) 是指细胞的形态结构、化学成分和生理功能逐渐衰退的现象。对多细胞生物来说，机体的衰老死亡与细胞的衰老死亡是两个不同概念，但是它们之间有着密切的联系。个别细胞，甚至机体的局部很多细胞死亡并不影响机体的寿命，而机体衰老并不代表所有细胞衰老，如 70 岁男人的生精细胞仍可以活跃地发生。细胞衰老是机体衰老和老年病发病的基础。研究细胞衰老的规律及其发生机制是细胞生物学的重要领域。现在，对于衰老的研究已发展成为一门新型的科学——老年学 (gerontology)，但其依托的还是细胞生物学、分子生物学、遗传学、免疫学等学科的研究成果。

细胞衰老是客观存在的，不仅体外培养的细胞存在衰老现象，体内细胞更是有一定的寿命；不分裂的细胞会衰老、死亡，分裂旺盛的细胞，甚至是肿瘤细胞，也存在着衰老的潜能。研究细胞衰老的规律与机理必然为生物寿命的研究提供依据并找出防止衰老的途径。

一、细胞的寿命

细胞的寿命，在不同的细胞是不一样的，相差很大。如小鼠各类细胞寿命的研究发现，神经元、脂肪细胞、肌细胞等一类细胞，在机体出生后，便不再分裂增生，随着机体的衰老，其数量逐渐减少，体积逐渐缩小，它们的寿命比机体寿命短。另一类如肝细胞、胃壁细胞等缓慢更新的细胞，寿命比机体寿命也短。第三类快速更新的细胞，如表皮细胞、红细胞、毛囊细胞等，则寿命更短。这也可以理解为什么有些细胞的大量死亡不会造成机体的死亡，而当与个体生命休戚相关的神经细胞、心肌细胞大量死亡时，才会造成对生命的威胁。

1961 年，Hayflick 和 Moorhead 报道体外培养的人二倍体细胞表现出明显的衰老、退化和死亡的过程。Hayflick 等人因此提出：体外培养的二倍体细胞的增殖能力和寿命不是无限的，而是有一定的限度，这就是有名的 Hayflick 界限 (Hayflick limitation)。动物体细胞在体外培养可传代的次数，与物种的寿命有密切关系，如寿命为 3 年的小鼠，其培养细胞可传

12代；鸡的最长寿命为30年，细胞可传25代；龟的寿命200年，其细胞可传140代。体外培养细胞可传代次数与细胞来源的年龄成负相关。如将正常人胚成纤维细胞培养时，细胞能传代40~60次才死亡；从新生儿及青少年取得的细胞，可以传代20~40代；从成年人身上取下的成纤维细胞进行培养时，只能传10~30代就死亡，而患有早老病的儿童（通常在20岁前死亡）的成纤维细胞，在体外培养不超过10代。这种在体外培养的细胞的增殖传代能力，反映了细胞在体内的衰老状况。

体内条件下细胞的衰老与增殖能力和分化程度有关。一般情况下，能保持继续分裂能力的细胞不容易衰老，而分化程度高又不分裂的细胞寿命较短，容易衰老和死亡。多细胞有机体细胞根据分化程度和增殖潜能，大体上可分为两类：一类为干细胞：处于相对未分化状态，在正常情况下终生保持分裂的细胞，它们通过不断地增殖产生大量细胞来补充死亡细胞，如骨髓造血细胞、小肠陷窝上皮细胞、表皮生发层细胞等，此类细胞衰老缓慢。另一类为功能细胞：指那些不能继续分裂、高度分化的细胞，在执行一段时间功能后即被清除，如成熟的红细胞、小肠绒毛上皮细胞。当机体需要时，有的细胞在一定条件下可以恢复增殖能力，如肝、肾、软骨细胞。功能细胞容易出现衰老征象。

二、细胞衰老的表现

细胞衰老首先表现在代谢活动降低（蛋白质、脂肪和糖代谢迟缓，分解代谢超过合成代谢），生理功能减退（生长速度变慢或停止，细胞分裂指数降低，神经传导速度减慢等），稳定内、外环境能力（适应能力、再生、修复及抗病能力等）下降等方面。衰老细胞的形态改变出现较晚，而且是逐步发生的。具体可以从以下几个方面来了解细胞的衰老变化：

（一）细胞水分含量变化

衰老细胞内水分减少，细胞收缩、体积缩小，失去正常形态。一般认为，细胞水分减少的原因是由于构成蛋白质亲水胶体受到时间或其他因素影响，逐渐失去电荷而相互聚集，胶体的分散度降低，不溶性蛋白质增多，导致细胞硬度增加，代谢速度减慢而趋于老化。

（二）细胞膜及内膜系统的变化

细胞膜的改变与衰老之间有着密切的关系。年轻的功能健全的细胞膜是典型的液晶状态，其脂类分子具有流动性的特点，镶嵌于脂类分子中的蛋白质分子也在不停地做着侧向运动，表现出极大的生物学活性。衰老的或有缺陷的膜通常处于凝胶相或固相，脂类分子移动很慢或完全不能自由移动，因此其中的蛋白质也不能运动，在机械刺激或压迫等条件下，膜就会出现裂隙，其选择通透性及其他功能均受到损害。另外，膜的信号转导功能也受到影响，同时细胞膜表面的蛋白多糖组成也发生明显变化：硫酸软骨素增加，细胞连接明显减少，使细胞间的代谢协作能力降低。细胞衰老时，膜的渗漏会引起外界钙的大量涌入，钙离子与钙调素结合产生一系列生物学效应，最终会引起磷脂的降解，细胞膜崩解。

在衰老细胞中，粗面内质网数量减少，排列变得无序，膜膨胀扩大甚至崩解，膜表面上的核糖体数量减少，因而细胞的物质合成能力下降。衰老细胞中滑面内质网呈现空泡状。

衰老细胞的高尔基复合体的特征性酶——硫胺素焦磷酸酶（thiamine pyrophosphatase）活性减弱，囊泡出现肿胀并出现扁平囊泡断裂崩解，致使高尔基复合体分泌功能降低，细胞内囊泡运输功能衰退。

衰老细胞的溶酶体膜损伤使细胞内消化功能减退。在衰老细胞中，常出现一种称为脂褐质（lipofuscin）的小体，呈棕黄色，主要成分是不溶性的脂蛋白颗粒，由单位膜包裹形成。

在衰老的神经细胞和肌肉细胞中数量最多。脂褐质在细胞质中的蓄积随着年龄增长而增多，是细胞衰老的明显特征，老年皮肤色素斑的增多与之有关。许多学者认为脂褐质小体来源于溶酶体，是由于衰老细胞溶酶体的功能降低，不能将摄入的大分子全部分解为可溶性成分，也不能及时将其排出而形成的，因此也称为残余小体。

(三) 细胞骨架系统的变化

细胞骨架是细胞代谢功能的重要调节者，特别是微丝与细胞增殖、细胞分化调节直接相关。因此，细胞骨架的改变是细胞衰老的重要变化。在淋巴细胞的研究中发现，在某些大鼠脾 T 淋巴细胞中，除了微丝系统本身的结构、成分发生变化外，微丝相关的信号传导通路也发生了改变。

另外，细胞衰老中骨架系统的改变也反映在核骨架方面。实验表明，衰老细胞中染色质的固缩与核骨架蛋白中二硫键的增加有关。与正常细胞相比，在衰老细胞中出现一个含量很大的新核骨架蛋白，该蛋白在腺病毒感染的细胞中也出现，因此推测它可能在关闭正常细胞的核内代谢活动方面起重要作用。

(四) 细胞核的变化

核膜内折 (invagination) 是衰老过程中细胞核结构最明显的变化特征，内折的程度随着时间增长而增加，最终可能导致核膜崩解。另外，染色质固缩也是衰老细胞的一个重要变化，直接影响到 DNA 的转录活性。有资料表明，12 月龄鼠脑的神经元染色质约 71% 有转录活性，而 30 月龄鼠脑只有 13% 有转录活性。

实验证实在细胞衰老过程中端粒发生削减，这与端粒酶的活性有直接关系。

(五) 蛋白质合成的变化

除了结构与形态改变之外，细胞的衰老过程中还发生一系列化学组成与生化反应的改变。首先就是氨基酸与蛋白质合成速率下降，这是核糖体的效率和准确性降低以及蛋白质合成延伸因子的数量和活性降低所造成的。另外，在衰老过程中，与控制细胞衰老直接有关的一些蛋白质的合成却增加。如纤粘连蛋白是一种主要的细胞外基质成分，在衰老的组织和细胞中，它的表达量增加，结构也发生改变，这与纤粘蛋白可以调节或协助细胞衰老变化有关。此外，衰老细胞中，胶原酶也过量表达，它可能在改变细胞外基质方面起作用。

三、细胞衰老的学说

细胞衰老是一个复杂的生理过程，受到多种因素包括环境因素和体内因素的影响。为了阐明细胞衰老的机制，科学家们从不同的角度提出了许多有关衰老起因的设想和学说。但由于引起细胞衰老的原因可能有多种，至今也没有一种学说能完全解释它。下面介绍几种具有代表性的学说。

(一) DNA 损伤修复学说

持这一学说的人认为，细胞的 DNA 在自然界会受到各种因素的影响而损伤，细胞具有一定的 DNA 损伤修复能力。如果修复能力下降，基因因受损而表达异常，细胞失去正常功能，衰老会逐渐出现。细胞的这种修复能力是生物体长期进化的结果，由遗传因素决定。DNA 自我修复能力因机体所属物种平均寿命、个体的年龄不同而异。

(二) 衰老基因学说

这种学说认为，衰老是由体内的衰老基因决定的。生物成年后，基因组内衰老基因开

放, 其表达产物可特异地决定生物的生命。近年来, 有关衰老基因的研究随着人类基因组计划的实施也在进行。许多研究者已从多个物种中找到与衰老有关的基因, 如在中华田鼠 X 染色体中发现含有一个或几个衰老基因, 衰老基因的丢失或失活可引起细胞永生性。

在细胞的体外培养中, 人们发现细胞的分裂次数与供体的年龄有关, 供体年龄越小, 其培养细胞的分裂次数越多。若将培养的细胞迅速冷冻保存于 -196°C 条件下, 数年后将其复苏并继续进行培养时, 其冷冻前后所分裂的总代数, 与未经冷冻处理基本相同, 不会因为超低温保存时间的长短而改变。

这个实验说明细胞内似乎存在一个生物钟在计数分裂次数。而许多原来不活化的基因, 在生命后期开始活化的事实提供了细胞内存在衰老钟 (cellular aging clock) 的证据。这表明, 与衰老有关的条件早已编入遗传信息, 但在生命早期并不表达, 而是在个体发育时间表 (包括胚胎发育、成熟和衰老) 的后期开始表现 (表 15-1)。

表 15-1 人类某些疾病致病基因表达年龄

岁

基因	平均表达年龄	基因	平均表达年龄
1. 腓骨萎缩 (显性) [peroneal atrophy (dominant)]	24	5. 遗传性青光眼 (hereditary glaucoma)	42
2. 显性肌营养不良 (dominant muscular dystrophy)	27	6. 多毛耳 (hairy rims of ears)	40~50
3. 营养障碍性肌强直 (dystrophia myotonica)	39	7. 成年性多囊肾病 [polycystic kidneys (adult onset)]	40~50
4. 亨廷顿舞蹈病 (Huntington's chorea)	40	8. 成年性糖尿病 [diabetes mellitus (adult type)]	60

注: 引自 Ham 等, 1980, 仿 stern, 1973。

近年来有人运用细胞杂交实验, 发现衰老细胞与年轻细胞杂交时, 所形成的异质双核细胞中, 年轻细胞核 DNA 的合成受到抑制。实验证明衰老细胞产生 DNA 合成抑制剂, 这种抑制剂是蛋白质。在此基础上提出细胞衰老的可能机制: 正常细胞中含有阻断 DNA 合成的遗传信息, 但细胞在到达其增殖限度前这种信息并不表达, 即编码抑制剂的基因受到阻遏。阻遏抑制基因表达的物质称为阻遏物, 编码阻遏物的基因有多份拷贝, 细胞每分裂一次阻遏基因就丧失一份或几份拷贝。随着细胞分裂次数的增加, 阻遏基因的拷贝数越来越少, 产生的阻遏物浓度递减, 阻遏效率下降, 最后当阻遏物的浓度不足以阻遏抑制基因表达时, 细胞的 DNA 和蛋白质合成受阻, 最终导致细胞分裂停止, 衰老而死亡。

(三) 端粒-端粒酶学说

越来越多的实验发现端粒与细胞的生命有密切关系。如对人类体细胞端粒长度的研究发现, 体细胞的端粒较生殖细胞的端粒短, 且与年龄呈负相关。Kruh 等分别对出生 2 天、9 岁、75 岁及患早老性痴呆, Werner 综合征者所提供的成纤维细胞的端粒进行分析, 发现年龄越大, 端粒越短, 患早老性痴呆、Werner 综合征者的端粒最短。不同类型细胞在分化过程中, 端粒也有不同程度的缩短。如皮肤、淋巴细胞每年丢失 15~40 bp 的端粒 DNA, 而成纤维细胞、胚胎肾细胞, 哺乳动物的上皮细胞, 卵巢细胞在培养过程中每传代一次丢失 50~200 bp 的端粒 DNA。由此可见, 端粒 DNA 似乎是一个“分裂时钟” (mitotic clock),

计数并限制细胞分裂的次数。端粒酶具有补充端粒 DNA 的作用，其活性对于维持端粒长度及细胞生存有重要意义。

鉴于端粒及端粒酶在细胞寿命控制中的作用，Harley 提出了“端粒-端粒酶”假说：在细胞有丝分裂过程中，伴随着部分端粒序列的丢失，端粒长度缩短。当端粒缩短到一定程度，可能触发某种信号，使细胞进入危机点 M_1 期，此时细胞不再分裂并出现老化。如果细胞被病毒转化（如 SV40T 抗原），或者某些抑癌基因如 p53, Rb 等的突变，细胞越过 M_1 期，继续分裂，端粒继续缩短，最终达到一个关键阈值，细胞进入另一危机点 M_2 期。这时染色体可能出现异常形态，某些细胞因端粒太短丧失功能而导致细胞死亡，但极少数细胞在此阶段激活了端粒酶，端粒功能得以恢复，染色体稳定，从而逃避 M_2 危机，获得永生（immortal）（图 15-1）。

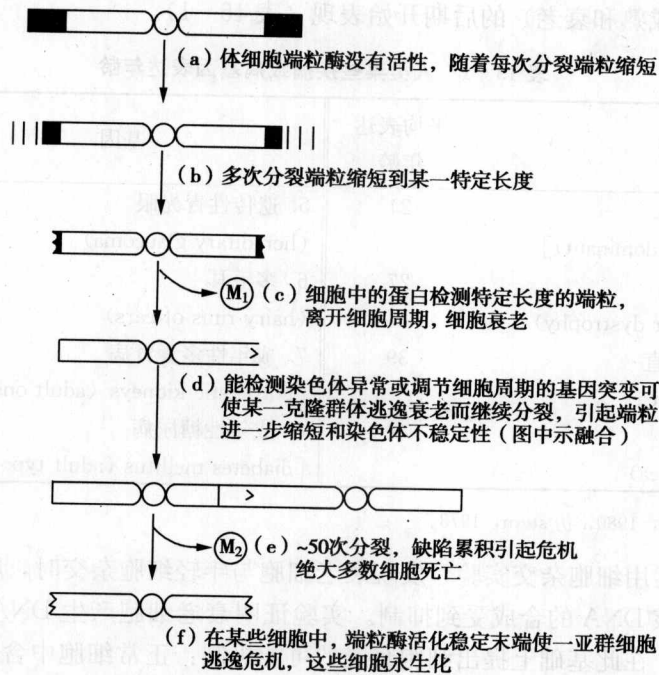


图 15-1 端粒酶在衰老和永生中的作用模型

“端粒-端粒酶”假说已被越来越多的研究结果所证实。Counter 等观察被 SV40 或腺病毒 DNA 转化的人胚肾细胞的端粒长度和端粒酶活力，发现 M_2 期到来以前，端粒持续缩短，并有染色体融合等异常现象出现，在细胞永生后，端粒长度得到稳定，同时伴有端粒酶的激活。

(四) 自由基学说

细胞代谢过程离不开氧的存在，生物氧化过程是细胞获得能量的过程，然而生物氧化过程会产生一些高活性的化合物，这些副产物或中间产物与细胞衰老直接相关，它们能导致细胞结构和功能的改变，这就是细胞衰老的自由基说。这个学说最初由 Harman 在 1956 年提出，此后的一系列实验也证实了它的可信性。然而，自由基是不是细胞衰老的真正原因至今不能十分肯定。

自由基是指在外层轨道上具有不成对价电子的原子或原子团，如“H”、“OH”等。自

由氧化能力很强,极易自行结合成为稳定的分子,或与其他物质发生反应产生新的自由基,因此自由基反应一般是连锁反应。自由基在体内除有解毒功能外,对细胞更多的是有害作用:可使生物膜的不饱和脂肪酸发生过氧化,形成过氧化脂质,从而使膜流动性降低,脆性增加,以至脂质双层断裂,各种膜性细胞器受损;过氧化脂质又可与蛋白质结合成脂褐质,沉积在神经细胞和心肌细胞等处,影响细胞正常功能;自由基还会使DNA发生氧化破坏或交联、核酸变性,扰乱DNA的正常复制与转录;自由基也使蛋白质发生交联变性,形成无定性沉淀物,降低各种酶活性,并导致因某些特异性蛋白质出现,而引起的机体自身免疫现象等。以上这些都加速细胞衰老。

总而言之,引起细胞衰老的原因有很多,它可能是细胞内、外因素共同作用的结果。要真正揭示出细胞衰老的根本原因,人们还需要进行不懈的努力。

第二节 细胞的死亡

细胞的衰老,最终将引向细胞死亡(cell death)。细胞死亡即细胞生命现象不可逆的停止。单细胞动物的细胞死亡即个体死亡。多细胞动物个体死亡时,并不是机体的所有细胞都立即停止活动。如人的心脏停止跳动后,气管上皮的纤毛仍可继续摆动;白细胞仍能作变形运动;死后10小时的皮肤仍可作植皮用。活体内的细胞也并非全部活着,无论青年或老年机体中,均存在着大量衰老、死亡细胞,如人的表皮角化细胞、退化的卵泡细胞、衰老的血细胞等。

一、细胞死亡的形式与特征

在多细胞生物中,细胞死亡有两种形式:坏死(necrosis)和凋亡(apoptosis)。

(一) 细胞坏死

由于某些外界因素,如局部缺血、高热以及物理化学损伤和微生物的侵袭造成细胞急速死亡,又称为意外性死亡(accidental cell death)或病理性死亡。

主要特征表现为:膜通透性增高,细胞水肿,内质网膨胀,线粒体膨胀破裂,酶被释放,细胞溶解,胞质内容物释放,导致炎症反应(图15-2)。坏死的细胞常常是成群的细胞一起丢失。

(二) 细胞凋亡

与细胞坏死不同,细胞凋亡是细胞在一定的生理或病理条件下,遵循自身的程序结束其生命的过程。由于这种死亡过程是主动性的、由基因控制的自杀程序活化引起的死亡,又称为程序性细胞死亡(programmed cell death, PCD)。

通常认为细胞凋亡与程序性细胞死亡是同一名词,随着对细胞凋亡的深入研究和理解,从严格意义来讲两者是有区别的。一般而言,细胞凋亡是一个形态学概念,而PCD则是功能上的概念,它包含了细胞在特定时间范围内,按照基因程序控制下的细胞死亡过程,具有严格的基因时控性和细胞选择性。

(三) 细胞坏死与细胞凋亡的主要区别

细胞坏死与细胞凋亡在形态学、生化代谢、分子机制以及细胞的形态、结构变化等方面都有着明显的区别,主要区别包括以下三个方面:

从细胞死亡原因看，细胞坏死是由细胞受到急性强力伤害所引起，如局部缺血、高热、物理、化学或生物因素等作用，使细胞出现被动性死亡，因此细胞坏死多没有潜伏期。而细胞凋亡是细胞在生理或病理条件下由基因控制的死亡过程，是一种主动性死亡，往往有数小时的潜伏期。

从细胞死亡过程看，坏死细胞的膜通透性增高，细胞水肿，线粒体肿胀，内质网扩张，溶酶体膜破裂，内部的酶释放导致细胞溶解，内容物外溢，早期细胞核无明显的形态学变化。而细胞凋亡时，质膜始终保持良好的完整性，细胞体积缩小，细胞核染色质高度凝集、周边化，内质网扩张并与细胞膜融合，发生内陷将细胞分割成许多有完整膜结构的凋亡小体 (apoptotic body)。

从细胞死亡结局看，坏死细胞膜破裂，释放出大量内容物，常引起严重的炎症反应。坏死细胞常常是成群细胞死亡，在愈合过程中常伴随组织器官的纤维化，形成斑痕。而细胞凋亡过程中，细胞膜及其凋亡小体的膜整合性良好，因此没有内容物的外溢，不发生炎症反应。凋亡小体可迅速被邻近的细胞或巨噬细胞识别吞噬，细胞被清除的过程亦不伴有炎症反应。细胞凋亡是单个细胞的丢失，不形成斑痕 (图 15-2)。

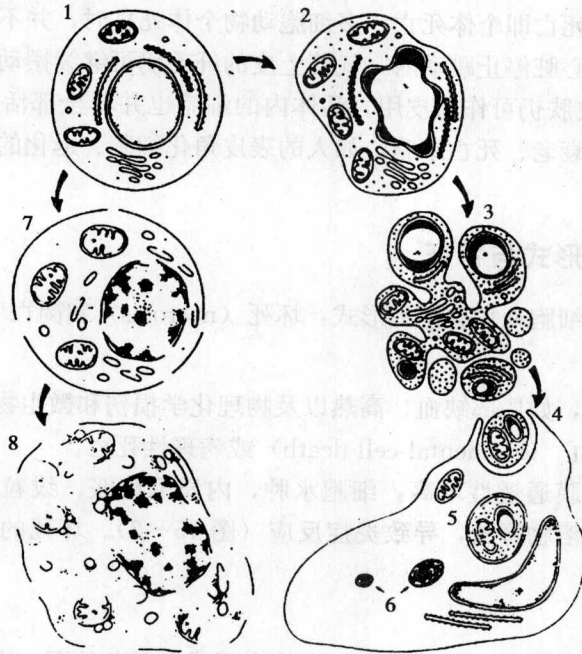


图 15-2 细胞凋亡过程形态变化示意图

1—正常细胞有稀疏的胞浆和异核染色质；2—细胞体积变小，细胞核聚集，染色质凝集成月牙状、周边化；3—细胞呈现沸腾运动，核裂解为小球，细胞凋亡小体发泡；4—细胞裂解为凋亡小体，被巨噬细胞吞噬；5—在溶酶体空泡内降解；6—进一步形成致密残体；7—细胞坏死开始；8—核及其他细胞器裂解

从形态学上可将凋亡细胞的进程大致分为三个阶段：①凋亡的起始：细胞表面的特化结构，如微绒毛、细胞间接触消失；内质网腔膨胀，并与质膜融合；染色质固缩形成新月形等边集现象。②凋亡小体的形成：染色质断裂为长度不等的片段，与一些细胞器一起被内陷的细胞膜包裹，以出泡的方式形成芽状突起，与细胞分离形成凋亡小体。③凋亡小体被邻近的细胞吞噬清除。

细胞凋亡除了在形态特征上与坏死有明显的差异外，在生化特性上两者也有显著不同。凋亡主要是细胞核内的 DNA 被核酸内切酶特异地在核小体连接段间降解，产生若干长度为 180~200 bp 及其不同倍数的 DNA 片段。这些 DNA 片段在琼脂糖凝胶电泳时呈现 DNA 梯状带图谱 (DNA ladder)，这是最典型的凋亡指标 (图 15-3)。而坏死细胞内的 DNA 则被核酸内切酶无规则的切断，在电泳胶上呈弥散的涂抹状 (smear)。

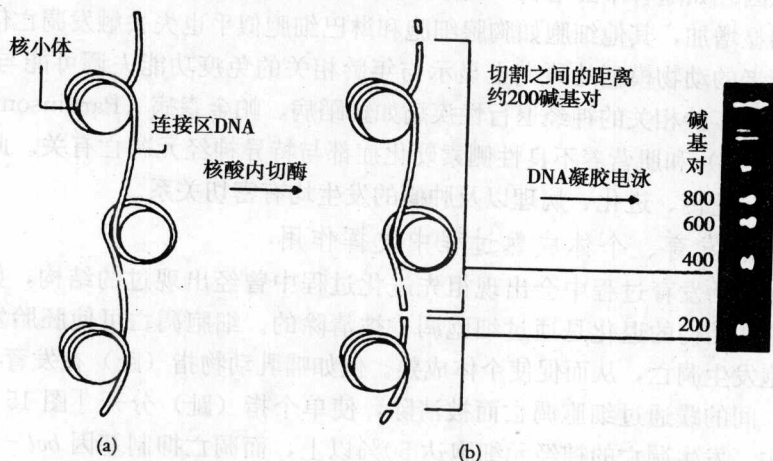


图 15-3 核小体及凋亡时的断裂

(a) 细胞凋亡中 DNA 内切酶的活化；(b) 细胞凋亡中形成的 180~200 bp 整倍性 DNA 片段

在凋亡中发挥作用的核酶内切酶 (endonuclease) 是依赖 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的酶类，但受 Zn^{2+} 的抑制。这种依赖 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的核酶内切酶平常可能以非活性形式存在于细胞内，当诱导凋亡的因子刺激时，细胞内 Ca^{2+} 升高活化此酶而发挥 DNA 的切割作用。参与凋亡的核酶内切酶有 DNase I 和 DNase II，以 DNase I 为多见。

二、细胞凋亡的生物学意义

在生物有机体发生、发育、成熟、衰老、死亡的整个生命过程中，为保证特定组织器官的细胞类型、数量上的相对恒定和维持正常的生理活动，细胞分化、细胞增殖和细胞凋亡三者是必不可少，密不可分的，是生命活动中三个同等重要的事件。个体通过细胞分裂增加细胞的数量；经过细胞分化增加组织细胞的种类；通过细胞凋亡维持组织细胞数量上的动态平衡以发育成为一个完善的个体。图 15-4 显示了细胞增殖、细胞分化和细胞死亡的关系。

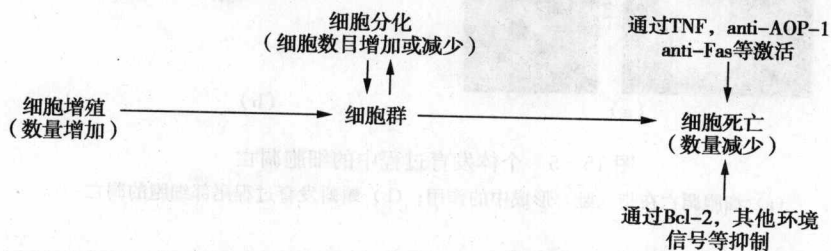


图 15-4 细胞增殖、细胞分化和细胞死亡的关系

(一) 清除损伤、衰老、无功能、病理细胞

有机体内部不断产生的衰老、磨损、畸变、过剩或已经完成功能或变为有害的细胞，一般通过细胞凋亡加以清除，以维持机体的稳定性。如人的红细胞经过 120 天即衰老死亡。

随着年龄的增长，许多细胞类型都会失去其凋亡能力，这可能是导致衰老和器官功能普遍下降的重要原因。如随着年龄的增长，B 淋巴细胞中导致凋亡抑制基因 *bcl-2* 高表达的染色体易位发生率明显增加，其他细胞如胸腺细胞和淋巴细胞似乎也失去触发凋亡信号途径的能力。最近有关衰老的动物模型的研究也显示与年龄相关的免疫功能失调可能与 T 细胞凋亡缺陷有关。许多与年龄相关的神经退行性疾病如舞蹈病、帕金森病 (Parkinson 病)、早发性痴呆 (Alzheimer 病) 和肌营养不良性侧索硬化症都与特异神经元凋亡有关。此外，细胞凋亡与生物的发育、遗传、进化、病理以及肿瘤的发生均有密切关系。

(二) 在胚胎发育、个体成熟过程中发挥作用

哺乳动物在胚胎发育过程中会出现祖先进化过程中曾经出现过的结构，如鳃、尾、前肾、中肾等，这些结构的退化是通过细胞凋亡被清除的。细胞凋亡可使胚胎发育过程中多余、无用的细胞发生凋亡，从而促使个体成熟。例如哺乳动物指 (趾) 在发育早期是连在一起的，指 (趾) 间的蹼通过细胞凋亡而被清除，使单个指 (趾) 分开 [图 15-5 (a)]。在神经发育过程中，发生凋亡的神经元细胞达 50% 以上，而凋亡抑制基因 *bcl-2* 的表达水平可能是造成左右心室壁厚度存在明显差异的重要原因。最近，有人提出形成生殖器官的男性穆勒氏 (Mullerian) 管和女性沃夫氏 (Wolffian) 管在异性个体的清除也是通过细胞凋亡实现的。而妊娠期接触某些影响细胞凋亡的药物或感染病毒可能是造成胚胎发育疾病的重要原因之一。

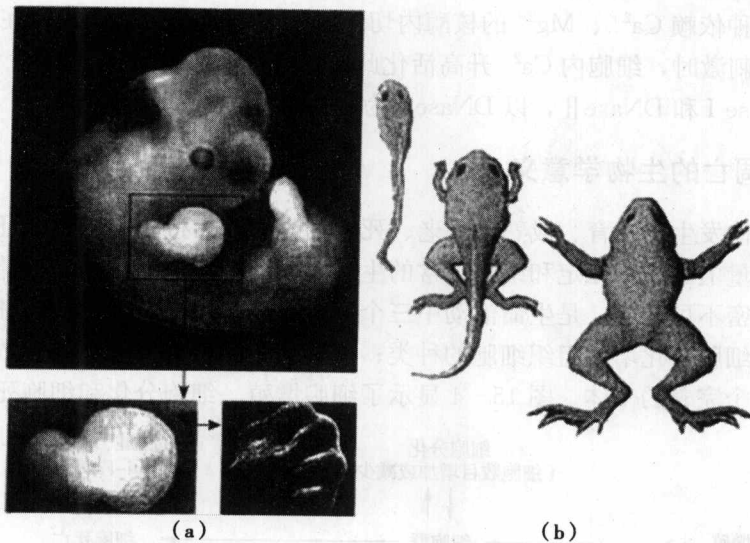


图 15-5 个体发育过程中的细胞凋亡

(a) 细胞凋亡在指 (趾) 形成中的作用; (b) 蝌蚪发育过程尾部细胞的凋亡

细胞凋亡还可清除已经完成功能的细胞，如某些昆虫从卵到成虫，中间要经过几个蜕变期，每个时期组织结构以及外部形态都要发生改变，在这些过程中均有赖于新旧细胞的生死交替，细胞自然凋亡的作用是必不可少的。在两栖类的变态过程中，蝌蚪尾巴的消失就是在

甲状腺素的作用下细胞自然凋亡的结果 [图 15-5 (b)]。乳腺泌乳细胞在婴儿断乳后很快凋亡, 被脂肪细胞取代。

(三) 在免疫系统中的作用

免疫系统是机体防御系统的重要组成部分, 这个系统中细胞自然凋亡明显而且数量相当多, 具有代表性。如 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞在分化发育过程中, 由于免疫系统选择作用, 95% 的前 T 和前 B 细胞均要死亡, 否则就会发生自身免疫疾病。成熟的白细胞每天均大量更新, 如果细胞因故不发生凋亡, 则会引起白细胞数目增加。

免疫系统对机体自身突变细胞和肿瘤细胞的监测及清除, 是通过其调节控制这些细胞增殖和凋亡实现的。杀死某些有害细胞, 其机制也是通过诱导靶细胞的程序死亡来实现的, 这是一种清除受病毒感染细胞和肿瘤细胞的机制。

(四) 在皮肤的防御中起作用

动物的鳞、皮、爪是机体的保护防御和取食的结构, 在生存竞争中有重要作用。表皮和指(趾)甲都是细胞从有生命向无生命的转化, 也是细胞自然凋亡的过程, 否则动物就无皮、鳞和爪这些保护防御结构, 就不能在不良的环境中生存竞争。

有人发现蟾蜍表皮有丝分裂率极高, 而过剩的细胞通过凋亡过程被清除, 以维持表皮结构的稳定, 并且通过垂体激素来控制这一过程的快慢。这种两栖类动物皮肤细胞的凋亡是平衡表皮细胞生存或通过脱屑失去细胞的一个主要方式。正常人表皮细胞似乎也通过这种方式保持稳定。

三、细胞凋亡的调控

细胞凋亡是细胞受到一定程序的控制而自杀的现象。从细胞接受凋亡信号, 通过一系列的信号传递途径, 到与凋亡有关的正负调节基因开始表达、 Ca^{2+} 的变化、酶的激活等, 最终导致细胞凋亡整个过程中都受到严格的调控。由于细胞凋亡具有重要的生理意义, 而且又是高度保守的, 因此从低等无脊椎动物到高等脊椎动物乃至人类本身, 科学家们都在进行凋亡的基因调控研究, 越来越多相关基因和调控基因被鉴定和克隆出来。这也是近年来研究的最热门的领域之一。目前发现与细胞凋亡相关的基因有三类, 即促进细胞凋亡的基因、抑制细胞凋亡的基因和在细胞凋亡过程中表达的基因。

(一) 线虫的 *ced* 基因与细胞凋亡

线虫 (*Caenorhabditis elegans*) 是一种蠕虫, 成体长约 1mm, 透明, 体细胞有 1090 个, 成虫只有 959 个细胞, 在发育过程中有 131 个细胞发生凋亡, 是研究细胞凋亡的典型材料。在线虫中发现了 14 个与细胞凋亡相关的基因, 其中 *ced-3*, *ced-4* 和 *ced-9* (*ced* 代表 cell death defective) 这三个基因研究得比较深入。*ced-3* 蛋白有 530 个氨基酸, 其中含有约 100 个氨基酸长度的丝氨酸富含区。*ced-4* 主要在胚胎发生时期表达, 并依赖于 *ced-3* 的表达, 它的 DNA 碱基序列编码和 Ca^{2+} 结合有关的蛋白质, 因此推测 Ca^{2+} 和蛋白磷酸化参与介导细胞凋亡过程。*ced-3* 和 *ced-4* 的促凋亡作用可被 *ced-9* 控制, *ced-9* 在 *ced-3* 及 *ced-4* 的上游起作用。

对线虫的研究得知, 其程序细胞死亡可分为 4 个独特步骤, 包括细胞死亡决定、细胞死亡、巨噬细胞吞噬死亡细胞以及被吞噬细胞的降解 (图 15-6)。

在研究报道中认为 *ced-3*, *ced-4* 和 *ced-9* 三者诱导和调控细胞凋亡的基本机制是: *ced-3*

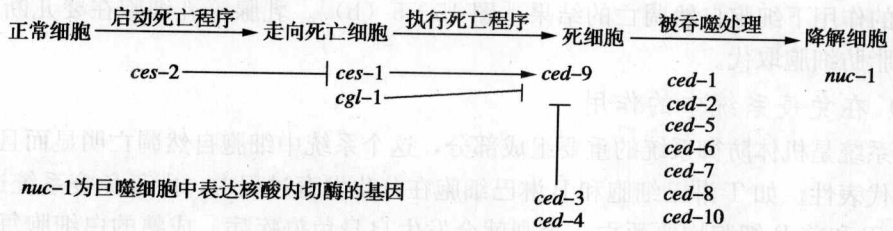


图 15-6 线虫细胞凋亡相关基因作用示意图

是具有严格底物特异性的半胱氨酸蛋白酶，它通常以酶原（前体）的形式存在于细胞内。细胞凋亡时，活化的 *ced-3* 特异地降解蛋白质底物，诱导凋亡细胞的特征性形态学和生物化学变化。*ced-4* 既能结合 *ced-3*，也能结合 *ced-9*。在非凋亡细胞中，*ced-9* 以 *ced-4* 为中介和 *ced-3* 结合成三体复合物，使 *ced-3* 以无活性的酶原形式存在于细胞内。在凋亡诱导信号的作用下，*ced-9* 从复合物中解离，*ced-3* 在 *ced-4* 的作用下活化，促使细胞凋亡。

在线虫中还发现了另一类基因，即 *ced-1*、2、5、6、7、8、10 等 7 个基因，其中任一基因发生突变时，细胞虽然发生凋亡，但凋亡小体却不能被吞噬细胞所吞噬，提示这 7 个基因与吞噬凋亡细胞的功能调节有关。此外，在线虫的皮下细胞中，还发现了一个有核酸内切酶作用的 *nuc-1* 基因。*nuc-1* 基因与细胞凋亡时染色质 DNA 断裂有关。*nuc-1* 基因突变时，虽可见到凋亡细胞并被吞噬，但无 DNA 降解现象。

(二) 果蝇细胞凋亡基因的调控

在果蝇胚胎发育中，使用活性染料吖啶橙 (acidine orange) 染色的方法，可以很容易确定将要凋亡的细胞。而通过筛选果蝇大片段缺失的纯合子可以确定缺失细胞凋亡的胚胎。根据这一原理，发现称为死亡者 (reaper) 的果蝇凋亡基因 (*rpr*)，如果缺失这一基因，果蝇的胚胎不再出现细胞凋亡。*rpr* 基因编码一个含 65 个氨基酸的小多肽，与其他已知蛋白没有明显相似性，但这个多肽与 Fas 和 TNFR 等基因的死亡功能区同源。研究表明，许多不同的细胞凋亡信号可诱导 *rpr* 基因的表达，它的缺失则抑制了所有这些凋亡信号引起的细胞凋亡，提示此基因编码了一种细胞凋亡的调节分子，而不是细胞凋亡的效应物。在这种情况下，各种内外信号通过传导汇集于 *rpr*，经过它的整合，调节其下游基因的活动，如激活促凋亡基因或抑制抑凋亡基因，从而诱导凋亡 (图 15-7)。

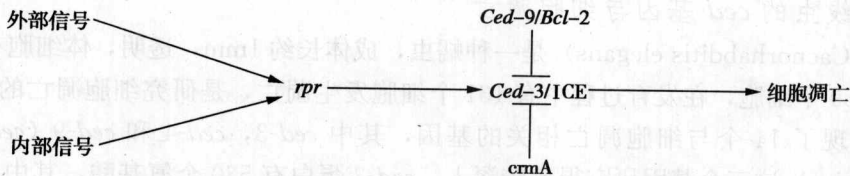


图 15-7 *rpr* 对细胞凋亡的调节示意图

(三) 人和哺乳类细胞凋亡的基因调控

1. p53 基因与细胞凋亡

p53 基因是抑癌基因，该基因是肿瘤中突变频率最高的抑癌基因，人类肿瘤中有 50% 以上是由于该基因缺失造成，由此受到广泛关注。该基因位于人第 17 号染色体上，其基因产物是一种位于细胞核内的分子质量为 53ku 的磷酸化蛋白，人类的 P53 蛋白存在两种形

式：野生型 (wt P53) 和突变型 (mt P53)，前者对细胞增殖、转化有抑制作用，能促进细胞凋亡，后者可灭活前者的功能，抑制凋亡并导致细胞转化和过度增殖而产生肿瘤行为。当 DNA 损伤时，P53 蛋白含量升高并活化。活化的 P53 蛋白刺激编码 CDK 抑制蛋白 P21 的基因的转录，P21 再与 S 期蛋白-CDK 复合物结合，使之失活，将细胞阻止在 G_1 期，直到 DNA 损伤得到修复；如果 DNA 损伤不能被修复，P53 持续增高引起细胞凋亡，避免细胞演变成癌细胞。当 *p53* 基因突变或 P53 蛋白被抑制时，DNA 受损的细胞得以存活，发展成为生长失控的癌细胞前体。因此，*p53* 是从 DNA 损伤到细胞凋亡途径上的一种分子感受器 (molecular sensor)，它以“分子警察”的身份监视细胞 DNA 状态，是细胞的防护机制之一。

2. *bcl-2* 蛋白家族与细胞凋亡

bcl-2 基因是 B 细胞淋巴瘤/白血病-2 (B-cell lymphoma / leukemia-2, *bcl-2*) 的缩写，是细胞凋亡研究中最受重视的癌基因之一。*bcl-2* 基因与线虫 *ced-9* 基因在结构上有同源性，在功能上与 *ced-9* 相似，属于细胞凋亡抑制基因。通常它定位于人的第 18 号染色体上，在淋巴瘤中极易发生染色体易位 $t(14; 18)$ ，使 *bcl-2* 与 14 号染色体上 *lg H* 基因拼接导致过度表达。*bcl-2* 含 3 个外显子，经剪接产生两个开放阅读框，分别编码 *bcl-2 α* 及 *bcl-2 β* 蛋白。*bcl-2* 的功能是通过阻断细胞凋亡而促进细胞存活。由于 *bcl-2* 能抑制许多因素介导的细胞凋亡，如 γ 射线、甾体激素、抗 TCR/CD3 单克隆抗体、多种化疗药物和癌基因等，故 *bcl-2* 基因也被称为“存活基因” (survival gene)。

目前已发现哺乳动物细胞中 *bcl-2* 基因家族至少有 15 个成员。按其凋亡的调节功能可分为抑制凋亡基因 (如 *bcl-2*、*bcl-x*、*bcl-w*、*Mcl-1*、*AL/Bfl-1* 等) 和促进凋亡基因 (如 *bax*、*bcl-XS*、*bad*、*bak*、*bid* 等)。它们是一类跨膜蛋白，在结构上包括两大结构域，即位于 C 端疏水跨膜结构域 (transmembrane region, TM) 和 1~4 个数目不等的 *bcl-2* 同源结构域 (*bcl-2* homology, BH)。C 端的跨膜结构域是由 19 个氨基酸组成的疏水跨膜区，主要功能是作为信号锚定序列插入到线粒体膜上，维护线粒体膜的通透性。缺乏信号锚定序列的 *bcl-2* 只能部分抑制凋亡。*bcl-2* 基因家族既能抑制又能促进细胞凋亡，其生物学效应取决于该家族成员之间的相互作用，而 BH 结构域是它们相互作用的分子基础。有人提出 *Bcl-2/Bax* 或 *Bcl-XL/Bax* 的比例可能是决定细胞对凋亡刺激信号敏感性的重要因素之一。当 *Bcl-2* 或 *Bcl-XL* 过量时，细胞免遭凋亡。反之，当 *Bax* 同源二聚体占优势时，细胞易于在诱导剂的作用下发生凋亡。图 15-8 显示了 *Bcl-2* 家族成员的二聚体对细胞凋亡的调控。

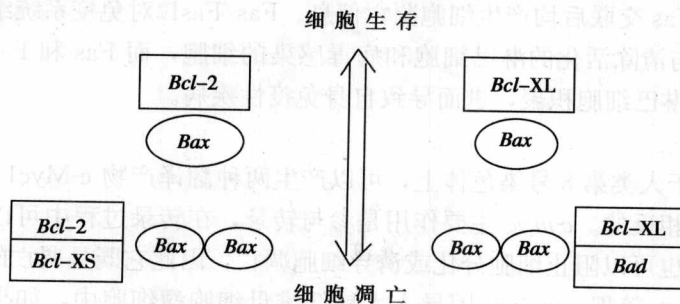


图 15-8 *Bcl-2* 家族蛋白的二聚体对凋亡的调控

3. Caspase 和细胞凋亡

近年来发现在哺乳动物中也存在与线虫主要死亡基因 *ced-3* 的相对应的同源物，是一类半胱氨酸蛋白水解酶 (cysteine aspartic acid specific protease)，简称 Caspase 家族。在人的细胞中已发现至少 11 种 Caspase，是细胞凋亡过程中最重要的影响因素之一。由于存在多种 Caspase，因此 Caspase 活性的调控在凋亡过程中是最复杂的。

Caspase 家族的共同特点是都富含半胱氨酸，它们被激活后能切割靶蛋白的特异天冬氨酸残基后的肽键。在正常细胞中，每一种 Caspase 都是以非活性状态的酶原形式存在，由 N 端的前结构域、大亚基区域、小亚基区域，以及大小亚基区域间的连接区构成。酶原的活化涉及其结构间的蛋白水解和大小亚基整合形成异二聚体。

每种 Caspase 作用底物不同，其水解蛋白底物的位点是 Asp-X，即将天冬氨酸残基后的肽键断开。Caspase 底物特异性决定于断裂位点天冬氨酸一侧的 4 个氨基酸序列，例如，Caspase 3 识别 Asp-Glu-Val-Asp，Caspase 6 识别 Val-Glu-Ile-Asp 等。Caspase 严格的作用底物特异性和高度有效性确保了细胞凋亡过程中发生专一性的蛋白消化，即以一種和谐的方式选择性地剪切一组蛋白质，导致其功能的丧失或结构变化。

根据 Caspase 在级联活化中的位置，可将哺乳动物的 Caspase 家族分为两类，即位于上游的起始 Caspase 和位于下游的效应 Caspase。如 Caspase 2、8、9、10 在上游参与凋亡起始调节；Caspase 3、6、7 在下游导致 DNA 修复抑制，并启动 DNA 降解，导致核纤层和细胞骨架的断裂崩解等；Caspase 1、4、11 主要参与白细胞介素前体活化，并不直接参与凋亡的信号转导。总之，Caspase 家族通过切断与周围细胞的联络，重组细胞骨架，关闭 DNA 复制和修复，破坏 DNA 和核结构，诱导凋亡小体形成，在程序性细胞死亡过程中起重要作用。

4. Fas 和 FasL 与细胞凋亡

Fas 也称为自杀相关因子 (factor associated suicide)，是一类凋亡信号受体，也是肿瘤坏死因子受体 (tumor necrosis factor receptor, TNFR) 及神经生长因子受体 (neuron growth factor receptor, NGFR) 家族成员，广泛存在于人和哺乳动物正常细胞和肿瘤细胞膜表面，在其胞质段含有死亡域 (death domain, DD) 和抑制域 (suppressive domain, SD)。人的 Fas 的基因位于 10 号染色体长臂上，FasL 的基因定位于 1 号染色体，其在结构上与 TNF- α 的基因相似。Fas 配体 (Fas ligand, FasL) 主要表达于活化的 T 淋巴细胞，是 TNF 家族的细胞表面 II 型受体。

FasL 与其受体 Fas 结合将导致携带 Fas 的细胞凋亡，抗 Fas 抗体、表达 FasL 的细胞以及可溶性 FasL 与 Fas 交联后均产生细胞凋亡信息。Fas/FasL 对免疫系统细胞的死亡起重要作用，Fas 系统参与清除活化的淋巴细胞和病毒感染的细胞，而 Fas 和 FasL 可因基因突变而丧失功能，导致淋巴细胞积聚，进而导致自身免疫性疾病。

5. *c-myc* 基因

c-myc 基因位于人类第 8 号染色体上，可以产生两种翻译产物 *c-Myc1* 和 *c-Myc2*，两者作用不同，甚至是相反的。*c-myc* 主要作用是参与转录，在转录过程中可以激活并诱导细胞周期进程和分化，也可以阻止细胞分化或诱导细胞凋亡，因此它既是凋亡的激活因子又是凋亡的抑制因素。Evan 等把 *c-myc* 基因导入大鼠纤维母细胞瘤细胞中，如果 *c-myc* 低水平表达，细胞生长停滞；*c-myc* 表达增高，如果培养体系中有足够的血清生长因子维持，细胞则进入增殖状态，否则细胞便进入程序性细胞死亡机制；而且 *c-myc* 水平越高，细胞对生长因子的依赖性越强，出现血清饥饿时细胞凋亡也越明显。研究发现，*c-myc* 所致的细胞凋亡可

受 *bcl-2* 抑制, 但 *c-myc* 促细胞增殖的作用不受其影响。

(四) 哺乳动物细胞中诱导细胞凋亡的两条主要信号转导途径

细胞凋亡的发生可受细胞内外的许多信号刺激诱导。诱导细胞凋亡的因素大致可分为: ①物理因素, 如放射线、高温等; ②化学因素, 如细胞因子、激素、抗癌药、活性氧等; ③病原体, 如 HIV、EB 病毒; ④细胞的缺血、缺氧、缺乏生长必需的生长因子或激素、营养耗尽或炎症反应等也可导致细胞凋亡。上述诱导因素或信号如何触发凋亡转导信号, 启动细胞中凋亡执行器, 导致细胞自杀死亡等, 尚不完全清楚。目前在哺乳动物细胞中阐述较清楚的凋亡信号转导基本通路有两条: 一条是膜死亡受体介导的细胞凋亡信号通路, 另一条是以线粒体为核心的细胞凋亡信号通路(图 15-9)。

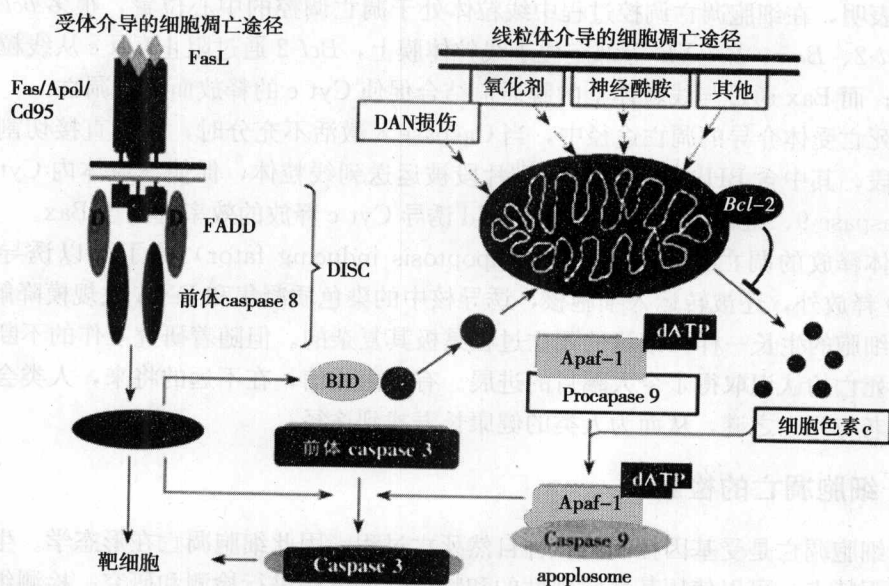


图 15-9 哺乳动物细胞凋亡的主要信号通路

1. 膜死亡受体介导的凋亡信号转导通路

细胞外的许多信号分子通过与细胞膜表面相应的死亡受体结合, 激活细胞凋亡信号转导通路, 导致细胞凋亡。哺乳动物膜死亡受体是一类属于肿瘤坏死因子/神经生长因子跨膜蛋白家族。跨膜受体蛋白在序列上具有同源性, 都有相似的、富含半胱氨酸的细胞外结构域。死亡受体胞内区有一个同源的, 约含 60~80 个氨基酸的死亡结构域。

2. 线粒体介导的凋亡信号转导通路

许多细胞内源性信号分子也可激发细胞凋亡, 包括 DNA 损伤、细胞质中 Ca^{2+} 浓度过高、大量的自由基、毒素、缺血缺氧等病理因素以及细胞内一些促凋亡蛋白, 如 Bax 等都能通过损伤线粒体而导致细胞凋亡。

线粒体是多种促细胞凋亡信号转导分子的靶点, 同时也是细胞死亡通路的整合元件。在线粒体的膜间腔内存有许多凋亡分子, 在正常情况下线粒体外膜的通透性一般只允许分子质量小于 5ku 的小分子和离子进出。当各种促细胞凋亡信号到达线粒体后, 首先引起线粒体膜通透性改变, 线粒体通透性转变孔不可逆过度开放, 导致线粒体跨膜电位崩解, 并释放凋亡相关蛋白, 如细胞色素 C (Cyt c)、凋亡诱导因子 (AIF)、第 2 个 Caspase 的线粒体激活

因子 (SMAC)、Procaspase 1、3、7、9 和 HSP-1、HSP-60 等, 立即启动细胞的凋亡反应。其中 Cyt c 的释放是线粒体凋亡通路的主要步骤, 在 ATP/dATP 存在的情况下, 释放的 Cyt c 与细胞质中 *ced-4* 同源物 Apaf-1 (凋亡蛋白酶活化因子 apoptosis protease activating factor) 结合, Apaf-1/Cyt c 复合物与 ATP/dATP 的结合激发其多聚化从而形成凋亡体 (apoptosome)。在凋亡体上, Apaf-1 的 CARD 结构域向外暴露, 以吸引同样具有 CARD 结构域的 Caspase 9 前体到凋亡体上来, 结合在凋亡体上的 Procaspase 9 通过自活化有效切割和活化下游的效应 Caspase, 如 Caspase 3。这些效应 Caspase 的活化可以导致细胞凋亡过程中的一系列形态和生化特征的发生, 如染色质凝集、DNA 片段化、核膜崩解、磷脂酰丝氨酸的外翻等。

研究表明, 在细胞凋亡调控过程中线粒体处于凋亡调控的中心位置, 很多 *bcl-2* 家族的蛋白如 *Bcl-2*、*Bax*、*Bcl-XL* 等都定位于线粒体膜上, *Bcl-2* 通过阻止 Cyt c 从线粒体释放来抑制凋亡; 而 *Bax* 通过与线粒体上的膜通道结合促使 Cyt c 的释放而促进凋亡。

在膜死亡受体介导的凋亡途径中, 当 Caspase 8 激活不充分时, 它可直接切割 Bid 裂解成 2 个片段, 其中含 BH3 结构域的 C-端片段被运送到线粒体, 促使线粒体内 Cyt c 的释放而激活 Caspase 9、继而激活 Caspase 3。Bid 诱导 Cyt c 释放的效率远高于 *Bax*。

线粒体释放的凋亡诱导因子 AIF (apoptosis inducing factor) 除了可以诱导 Cyt c 和 Caspase 9 释放外, 还被转运入细胞核, 诱导核中的染色质凝集和 DNA 大规模降解。

如同细胞的生长一样, 细胞的死亡过程是极其复杂的。但随着研究工作的不断深入, 我们对细胞死亡的认识取得了令人瞩目的进展。有理由相信, 在不远的将来, 人类会彻底揭开细胞的衰老与死亡之谜, 从而为人类的健康长寿找到途径。

四、细胞凋亡的检测

由于细胞凋亡是受基因控制的一种自然死亡过程, 因此细胞凋亡在形态学、生物化学等方面有若干特点, 可以使用某些常规性的和特征性的方法进行检测和研究。检测细胞凋亡的方法有很多, 这些方法归纳起来可分为三方面: 形态学检测 (光镜、电镜、荧光显微镜、倒置相差显微镜)、生化特征检测、流式细胞仪检测。

(一) 形态学检测

1. 光学显微镜检测细胞凋亡

形态学检测是鉴定细胞凋亡的可靠方法之一。主要是通过光学显微镜、荧光显微镜和电子显微镜对活细胞以及经过化学、荧光或电子染色处理的细胞和组织切片进行形态学观察, 根据细胞凋亡时发生的形态学变化特征鉴定和区别坏死细胞。

(1) 倒置相差显微镜观察活体

主要用来观察体外培养细胞活体状态下的内部结构, 可以从显微水平动态观察凋亡细胞的形态学变化, 清晰地看到凋亡小体 [图 15-10 (a)]。

(2) 台盼蓝染色排除法

台盼蓝 (trypan blue) 染料不能通透性穿过活细胞膜, 因此可被正常活细胞拒染; 凋亡细胞膜功能完好也不被着色, 故凋亡小体呈现无色 [图 15-10 (b)]; 坏死细胞膜通透性增高或破裂, 因此染料容易进入细胞而着色, 根据此特点可以区别凋亡细胞与坏死细胞。

(3) 苏木精-伊红 (HE) 染色法

HE 染色是经典的显示细胞核和细胞质的染色方法, 胞核被染成紫蓝色, 胞质被染成淡

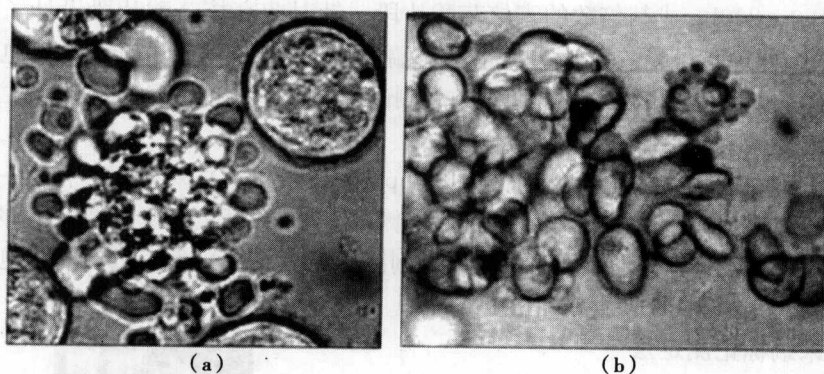


图 15-10 光镜下的凋亡小体

(a) 相差显微镜下的凋亡小体；(b) 台盼蓝染色显示拒染的凋亡小体

红色，是观察凋亡细胞核形态学变化的常用方法。

(4) Giemsa 染色法

Giemsa 染色主要用于染色体（质）染色，操作方法简便。染色质被染成紫红色，细胞质为淡蓝色，是观察凋亡细胞核形态学变化的常用方法。

(5) 吖啶橙荧光染色法

吖啶橙荧光染料可以与 DNA 和 RNA 结合，由于结合物的 pH 不同，在紫蓝光激发下，DNA 显示黄色或黄绿色荧光，RNA 显示橘红色荧光。在荧光显微镜下，凋亡细胞体积明显缩小，在细胞核和细胞质内可见致密的黄绿色荧光团块或含有 DNA 碎片的凋亡小体。

(6) 细胞骨架染色法

用 Triton X-100 处理细胞，考马斯亮蓝 R250 染色，可以显示细胞骨架（微丝束）的分布情况，由于细胞核内骨架也被很好地保留，因此可以显示凋亡细胞的骨架变化和核裂解情况。

2. 电子显微镜检测细胞凋亡

(1) 扫描电镜观察表面结构

扫描电镜由于采用临界点干燥方法处理标本，很好地保存了生物样品表面结构，所以常用来观察细胞表面的变化。正常细胞表面有大量的微绒毛，细胞发生凋亡时，细胞体积缩小，表面微绒毛消失，凋亡后期形成许多泡状凋亡小体，扫描电镜可以很好地观察到凋亡细胞表面的形态变化。

(2) 透射电镜观察超微结构

透射电镜主要用来观察细胞内部的超微结构，是从形态学角度鉴定凋亡细胞的最可靠的方法。细胞凋亡时，DNA 断裂并向核膜边缘或中央聚集形成浓缩的染色质块，电镜下呈高电子密度，边聚的染色质块可呈新月形、八字形、花瓣状或环状等，有的细胞染色质聚成球状。线粒体可变大，嵴增多。内质网扩张与质膜融合，包裹着裂解的核碎片或内质网、线粒体、高尔基体等其他细胞结构，通过发芽、起泡方式形成凋亡小体。整个过程中细胞膜、溶酶体膜保持完整。凋亡细胞内部发生的这一系列特征性形态变化均可在透射电镜下观察到。电镜下坏死细胞由于膜通透性增高致使细胞与细胞器变形肿胀，溶酶体酶泄漏，细胞结构溶解破裂，胞内容物外溢。

(二) 依据凋亡的生化特征检测细胞凋亡

细胞凋亡过程中最突出的生化特征是由于核酸内切酶的激活，特异地在核小体间连接处

断裂, 形成 180~200bp 或其倍数的寡核苷酸片段。针对此寡核苷酸片段设计了多种检测细胞凋亡的方法, 如琼脂糖凝胶电泳法、原位末端标记法和 ELISA 法以及彗星电泳法等, 这些方法具有很高的特异性和敏感性, 细胞凋亡检测试剂盒的商品化使得检测细胞凋亡更加便捷。

1. DNA 琼脂糖凝胶电泳法

凋亡细胞 DNA 发生断裂, 产生 180~200bp 及其倍数的 DNA 片段, 依据一定的方法将凋亡细胞中的 DNA 片段提取出来, 进行琼脂糖凝胶电泳, 可呈现出特征性的 DNA 梯状 (ladder) 条带。坏死细胞由于其 DNA 的不规则降解, 其 DNA 经琼脂糖凝胶电泳后显示为一条连续的涂抹状 (smear) 条带 (图 15-11)。

2. 原位末端标记测定法

原位末端标记 (in situ end-labeling, ISEL) 是在凋亡细胞中的外源性核苷酸酶 [末端脱氧核苷酸转移酶 (terminal deoxynucleotidyl transferase, TdT) 和 DNA 聚合酶 I 或 Klenow 大片段] 的催化下, 凋亡细胞内产生的大量 180~200bp 整倍数的寡核苷酸片段的单股或双股断链, 再通过一定的显示系统使之显示出来。通常有两种方法。

①DNA 聚合酶 I 或 Klenow 大片段介导的原位缺口平移 (in situ nick translation), 简称 ISNT; ②末端脱氧核苷酸转移酶介导的 dUTP 缺口末端标记

(terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick endlabeling), 简称 TUNEL。

(1) DNA 聚合酶 I 或 Klenow 大片段介导的原位缺口平移 (ISNT)

由于细胞凋亡时产生 DNA 断链, 断链有一粘性末端, 一条含有游离的 3' 羟基末端, 另一条有伸出的 5' 末端。利用 Klenow 大片段的 5'-3' 聚合酶活性, 可将外源掺入的带有生物素标记的游离核苷酸从 3' 羟基末端起始经 5'-3' 方向连接在断端上, 通过带有辣根过氧化物酶的卵白素与之结合, 经 DAB 显色, 便可观察到细胞是否存在有核苷酸掺入的 DNA 断端。该方法主要用于组织切片的原位检测, 也可用于细胞涂片的检测。

(2) TdT 介导的 dUTP 缺口末端标记技术 (TUNEL)

脱氧核糖核酸衍生物地高辛 (Dig-11-dUTP) 在 TdT 酶的作用下, 可以掺入到凋亡细胞双链或单链 DNA 断链的 3'-OH 末端与 dATP 形成异多聚体。①与连接了过氧化物或碱性磷酸酶的抗地高辛抗体结合, 在适合底物存在下, 过氧化物酶可产生很强的颜色反应, 特异准确的定位出正在凋亡的细胞, 可在普通光学显微镜下观察。②与荧光连接的抗地高辛抗体也可与反应部位结合, 在特定的激发光下, 荧光素产生发射光, 从而可在荧光显微镜下观察计数凋亡细胞。

3. 流式细胞仪检测

利用流式细胞仪 (flow cytometer) 测定细胞光散射特征可对凋亡细胞进行分析。细胞穿过流式细胞仪的激光束集点时使激光发生散射, 分析散射光可以提供细胞大小及结构的信息。散射光包括前向散射光和左向角散射光两种, 前向散射光的强度与细胞大小、体积相



图 15-11 DNA 琼脂糖凝胶电泳图

A—正常细胞的 DNA 电泳图; B—Marker; C—凋亡细胞的 DNA 梯状条带 (ladder); D—坏死细胞的 DNA 涂抹状条带 (smear)

关，左向角散射光的强度与细胞结构的折射性、颗粒性有关。细胞凋亡过程中出现的形态改变如细胞皱缩、细胞膜起泡、核浓缩和碎裂等可以使光散射特征发生改变。用流式细胞仪可以检测出凋亡的亚二倍体细胞，即凋亡细胞在 DNA 直方图上正常二倍体细胞的 G_0/G_1 峰前出现一个亚二倍体峰（AP 峰，apoptotic peak）（图 15-12），根据亚二倍体峰面积值可以计算凋亡细胞的百分率。

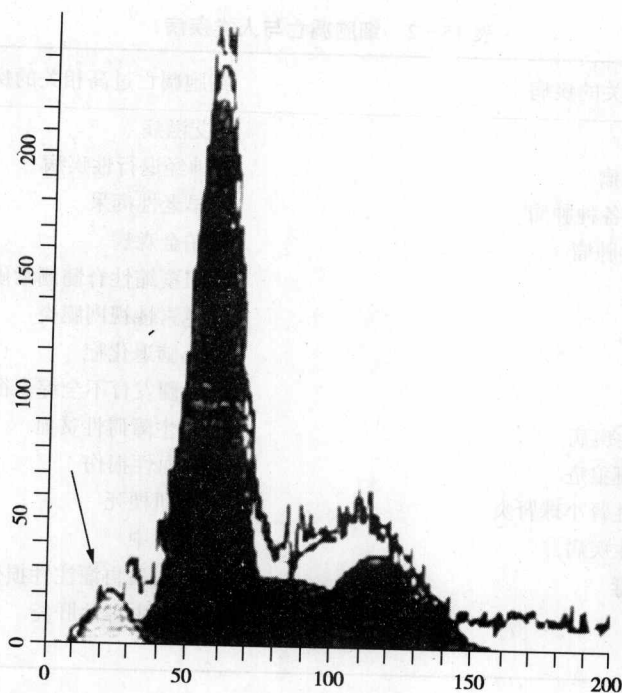


图 15-12 流式细胞仪检测显示凋亡峰

此外，流式细胞仪还可以通过测定线粒体膜电位、溶酶体质子泵的活性及细胞 DNA/总蛋白比例等方法识别凋亡细胞、定量检测凋亡细胞内凋亡相关蛋白、酶以及 Ca^{2+} 变化等。该技术方法简单、快速、敏感性高，是研究细胞凋亡最常用的方法之一。

五、细胞凋亡与医学

细胞凋亡参与了人类生长、发育等各个过程，在清除机体损伤、无用、衰老、被病毒感染以及癌变细胞中发挥着重要作用。某些致病因子可导致调控细胞凋亡的基因失常，致使细胞凋亡减弱或增强，从而破坏机体细胞的自稳态，最终导致各种疾病的发生（表 15-2）。

（一）细胞凋亡过低导致相关的疾病发生

1. 细胞凋亡与肿瘤

细胞凋亡在肿瘤的发病机制中占有重要地位。大量资料显示，细胞凋亡在大多数恶性肿瘤的发病学上占有重要地位。证据表明，癌前病灶中细胞凋亡率比周围正常组织高出约 8 倍，细胞癌变前对细胞凋亡作用异常敏感，容易经细胞凋亡途径被清除，提示癌变前的细胞凋亡作用是机体发挥正常调节机制，清除“叛徒”的自我保护功能的体现。从另一角度看，由于肿瘤细胞分裂旺盛，因而在超速增殖传代过程中，必然会累积产生一些老化细胞和非肿瘤细胞，为了维持肿瘤细胞群的形态和表型统一，细胞凋亡也是肿瘤细胞清除已丧失功能的

自己或异己的最佳途径。在恶性肿瘤的发病过程中，常可见到凋亡抑制基因和凋亡活化基因的异常，如在人的肿瘤细胞中常常检测到 *p53* 基因的突变或缺失，使细胞对 DNA 损伤敏感性大大降低，细胞凋亡发生障碍，进入无序、失控的生长状态。一般肿瘤细胞高表达 FasL，借以凋亡淋巴细胞，低表达 Fas 而降低凋亡，这就形成肿瘤细胞有逃逸免疫及凋亡耐受的特性。

表 15-2 细胞凋亡与人类疾病

细胞凋亡过低相关的疾病	细胞凋亡过高相关的疾病
<ol style="list-style-type: none"> 恶性肿瘤 <ul style="list-style-type: none"> 滤泡性淋巴瘤 <i>p53</i> 突变的各种肿瘤 激素依赖性肿瘤 乳腺癌 前列腺癌 卵巢癌 白血病 自身免疫性疾病 <ul style="list-style-type: none"> 系统性红斑狼疮 免疫介导性肾小球肾炎 病毒感染性疾病 <ul style="list-style-type: none"> 疱疹性病毒 痘病毒 腺病毒 	<ol style="list-style-type: none"> 艾滋病 神经退行性疾病 <ul style="list-style-type: none"> 早老性痴呆 帕金森病 肌萎缩性脊髓侧索硬化症 色素性视网膜炎 小脑退化症 骨髓发育不全综合征 <ul style="list-style-type: none"> 再生障碍性贫血 缺血性损伤 <ul style="list-style-type: none"> 心肌梗死 脑卒中 缺血后再灌注性损伤 酒精中毒性肝炎

在肿瘤的治疗方面，以选择性的诱导肿瘤细胞凋亡为目标的凋亡干预技术可能成为治疗肿瘤的基本手段之一。事实上，目前大多数化疗药物都是通过诱导细胞凋亡清除肿瘤细胞的。如在造血系统恶性肿瘤的治疗上，常采用的化疗药物如烷化剂、蒽环类、抗代谢类等都能引起肿瘤细胞凋亡，这可能与活化 Caspase 和 Ca^{2+} 依赖性核酸酶有关。在肿瘤细胞中导入凋亡活化基因或灭活凋亡抑制基因已经成为肿瘤的基因治疗中最有前途的策略之一。如 *p53* 基因，*bcl-2* 基因就成为最为人们重视的候选基因。

2. 细胞凋亡与系统性红斑狼疮

系统性红斑狼疮 (systemic lupus erythematosus, SLE) 是典型的自身免疫性疾病。由于 Fas 表达缺陷，引起自身反应性 T 细胞阴性选择的凋亡功能丧失，导致 T 淋巴细胞凋亡障碍，因此在外周淋巴器官出现大量 CD_4^+ 、 CD_8^+ 的 T 淋巴细胞，这些细胞具有自身反应性，从而引起 SLE 自身免疫性疾病。

(二) 细胞凋亡过度导致相关的疾病发生

1. 细胞凋亡与神经退行性疾病

中枢神经系统不同部位特殊类型神经元的丧失是各种神经退行性疾病的病理特点，细胞凋亡与神经元的丢失密切相关。现在发现，Caspase 3 在神经退行性疾病的病理过程中担任重要的角色，它不仅是起着凋亡的效应器作用，还能直接与阿尔茨海默病 (AD)、帕金森病 (PD)、亨廷顿舞蹈病、脊椎小脑失调等疾病的致病蛋白质分子相互作用，参与致病过程。AD 伴随 β -淀粉样蛋白在病灶中央进行性堆积，研究结果显示， β -淀粉样蛋白能诱导神经元

凋亡,但能被抗氧化剂阻断。已经在肌萎缩患者体内发现有与神经元凋亡抑制蛋白有关的基因突变,使神经元凋亡抑制蛋白缺乏,导致脊髓前角运动神经元凋亡,肌肉出现废用性萎缩。

2. 细胞凋亡与艾滋病

人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)感染,可导致艾滋病(AIDS)。HIV感染的宿主细胞膜表面,可表达 gp120,其受体存在于主持免疫的 CD4⁺ T 淋巴细胞膜上,因此,当 gp120 与 CD4⁺ T 淋巴细胞结合后,可诱导 CD4⁺ T 淋巴细胞凋亡,导致免疫系统崩溃。另外, HIV 感染的外周血 T 淋巴细胞对 TRAIL 和 FasL 诱导凋亡特别敏感。

3. 细胞凋亡与心血管疾病

人类的血管内皮细胞、平滑肌细胞和心肌细胞的凋亡是多种心血管疾病发生与演变的病理学基础。在动脉粥样硬化、心肌病、急性心肌梗死,以及心力衰竭中均伴随着细胞凋亡。近年来对动脉粥样硬化的研究发现,细胞凋亡主要以血管平滑肌细胞和巨噬细胞凋亡为主。窦房结、房室结和希氏束细胞发生过多凋亡,引起心脏传导系统障碍而致心功能不全。

提 要

细胞的衰老与死亡是细胞生命活动的基本规律之一。体外培养细胞和机体内细胞都有一定的寿命,都表现出明显的衰老、退化、死亡的过程。在细胞衰老过程中,细胞膜及内膜系统、细胞骨架、细胞核及细胞内蛋白质的合成方面都会发生明显的变化。有关细胞衰老原因的假说有很多种,如 DNA 损伤修复学说、衰老基因学说、端粒-端粒酶学说、自由基学说,但是至今没有任何一种假说能解释所有细胞衰老现象乃至揭示细胞衰老的真正原因。细胞衰老与死亡可能是多种因素共同作用的结果。细胞死亡有生理性的细胞程序性死亡即细胞凋亡和细胞病理性死亡即细胞坏死两种形式。它们在形态学特征和生化特征上都有明显差异。细胞凋亡具有重要的生物学意义,它参与了有机体发生、发展、成熟、衰老、死亡的整个过程。对于细胞凋亡相关基因及其调控的研究是了解细胞凋亡过程的重要方面,已经发现了一些细胞凋亡的相关基因,其中线虫的 *ced-3*、*ced-4* 死亡基因与人的 caspase 家族同源,线虫的 *ced-9* 基因是死亡抑制基因,与人的 *bcl-2* 同源。细胞凋亡是一个极其复杂的生命活动过程,在哺乳动物中了解比较清楚的凋亡信号通路有两条,即膜表面死亡受体介导的细胞凋亡信号通路和线粒体介导的细胞凋亡信号通路。检测细胞凋亡的方法主要有形态学检测、生化特征检测、流式细胞仪检测三大类。细胞凋亡调控失常与许多疾病有关。

复习思考题 15

(一) 名词解释:

衰老 脂褐质 自由基 细胞坏死 细胞凋亡 凋亡小体

(二) 问答题:

1. 细胞的衰老表现在哪些方面?
2. 细胞的衰老是如何引起的? 有哪些可能的机制?
3. 细胞死亡有哪几种形式? 它们有何不同?

4. 为什么说细胞凋亡有重要的生物学意义?
5. 举例说明细胞凋亡相关基因及其调控机制。
6. 简述细胞凋亡的两条主要信号转导途径。
7. 检测细胞凋亡的基本方法有哪些?
8. 你如何认识细胞凋亡与医学的关系?

(刘静)

参 考 文 献

1. 细胞凋亡的分子生物学. 北京: 科学出版社, 2002.

2. 细胞凋亡的分子生物学. 北京: 科学出版社, 2002.

3. 细胞凋亡的分子生物学. 北京: 科学出版社, 2002.

4. 细胞凋亡的分子生物学. 北京: 科学出版社, 2002.

5. 细胞凋亡的分子生物学. 北京: 科学出版社, 2002.

6. 细胞凋亡的分子生物学. 北京: 科学出版社, 2002.

7. 细胞凋亡的分子生物学. 北京: 科学出版社, 2002.

8. 细胞凋亡的分子生物学. 北京: 科学出版社, 2002.

9. 细胞凋亡的分子生物学. 北京: 科学出版社, 2002.

10. 细胞凋亡的分子生物学. 北京: 科学出版社, 2002.

11. 细胞凋亡的分子生物学. 北京: 科学出版社, 2002.

12. 细胞凋亡的分子生物学. 北京: 科学出版社, 2002.

13. 细胞凋亡的分子生物学. 北京: 科学出版社, 2002.

14. 细胞凋亡的分子生物学. 北京: 科学出版社, 2002.

15. 细胞凋亡的分子生物学. 北京: 科学出版社, 2002.

16. 细胞凋亡的分子生物学. 北京: 科学出版社, 2002.

17. 细胞凋亡的分子生物学. 北京: 科学出版社, 2002.

18. 细胞凋亡的分子生物学. 北京: 科学出版社, 2002.

19. 细胞凋亡的分子生物学. 北京: 科学出版社, 2002.

20. 细胞凋亡的分子生物学. 北京: 科学出版社, 2002.

21 复习思考题

- 一、名词解释 (10分)
1. 细胞凋亡
2. 细胞坏死
3. 细胞自噬
4. 细胞周期
5. 细胞分化
6. 细胞衰老
7. 细胞癌变
8. 细胞凋亡
9. 细胞凋亡
10. 细胞凋亡

二、简答题 (10分)

1. 简述细胞凋亡的生物学意义。

2. 简述细胞凋亡的分子生物学机制。

肿瘤 (tumor, neoplasm) 是在致瘤因素作用下, 由于细胞生长调控紊乱, 导致机体某部位组织异常增生而形成的一种新生物, 通常成肿块状, 故名肿瘤。肿瘤的组织增生脱离了一般组织正常生长的规律, 可分为良性和恶性肿瘤两大类。前者生长缓慢, 与周围组织界限清楚, 不发生转移, 对人体健康危害不大。后者生长迅速, 可转移到身体其他部位, 还会产生有害物质, 破坏正常器官结构, 使机体功能失调, 威胁生命。

恶性肿瘤也叫癌症 (cancer), 是目前危害人类健康最严重的一类疾病。肿瘤是一种分化障碍性疾病, 肿瘤细胞不论在形态、功能、代谢、行为诸方面都类似未分化的胚胎细胞。在我国最为常见和危害性严重的肿瘤为肺癌、鼻咽癌、食管癌、胃癌、大肠癌、肝癌、乳腺癌、宫颈癌、白血病及淋巴瘤等。探索肿瘤发生、发展和转移等过程的机制, 长期以来一直是细胞生物学研究的重要组成部分, 肿瘤学与细胞生物学已融合成一个不可分割的整体, 肿瘤细胞生物学理论和技术的完善将为人类最终攻克肿瘤做出巨大贡献。

第一节 癌细胞的基本特征

生物体生长发育的过程也是细胞生长分化的过程。如果某些分化细胞的生长和分裂失控, 脱离了衰老和死亡的正常途径, 将成为癌细胞 (cancer cell)。这些由正常细胞转化而来的癌细胞除了仍具有来源细胞的某些特性 (如上皮癌仍可合成角质蛋白) 外, 还表现出癌细胞独具的特征。

一、癌细胞具有的三个显著特征

1. 无限增殖

在适宜条件下, 癌细胞能无限增殖, 成为“不死”的永生细胞。正常细胞都具有一定的最高分裂次数, 如人的细胞一生只能分裂 50~60 次。然而癌细胞却不受限制, 如在 1951 年由一位黑人妇女 (名叫 Henrietta Lacks) 的宫颈癌细胞分离建立的 HeLa 细胞系, 至今仍在世界许多实验室中广泛传代使用。

2. 接触抑制现象丧失

正常细胞生长相互接触后, 其运动和分裂活动都要停顿下来。在体外培养条件下则表现为细胞贴壁生长汇合成单层后即停止生长。癌细胞则不同, 其分裂和增殖并不因细胞相互接触而终止, 在体外培养时细胞可堆垒成立体细胞群, 故癌细胞接触对癌细胞的增殖无抑制作用 (图 16-1)。

3. 迁移性

癌细胞与其同源正常组织相比, 细胞间的粘着性降低, 故癌细胞在体内容易分散和转

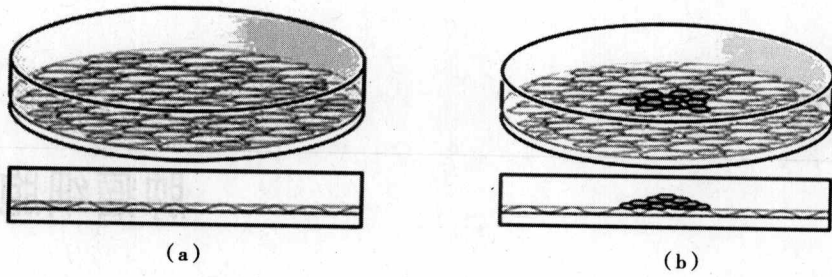


图 16-1 肿瘤细胞失去接触抑制现象

(a) 正常细胞单层生长；(b) 肿瘤细胞生长可堆垒成立体细胞群

移。在正常细胞外基质中的纤粘连蛋白是一种细胞外粘着糖蛋白，它增强了细胞与细胞外基质间的粘着。肿瘤细胞外基质中的纤粘连蛋白显著减少或缺失，从而破坏了细胞与外基质之间的粘着，因此癌细胞易于浸润组织和转移，具有迁移性。

二、癌细胞的形态特征

1. 细胞大小形态不一

通常癌细胞比它的源细胞体积要大，核质比显著高于正常细胞，可达 1 : 1，正常的分化细胞核质比仅为 1 : 4~1 : 6。

2. 核形态不一，并可出现巨核、双核或多核现象

核内染色体呈非整倍态 (aneuploidy)，某些染色体缺失，而有些染色体数目增加。在肿瘤细胞染色体中，常常由于癌基因如 *myc* 的扩增而出现双微体 (double minute chromosomes, DMs) 和均染区 (homogenously stained region, HSR) (图 16-2)。双微体是指无着丝粒，成对分布于细胞中的微小染色体；均染区染色体是显带染色时在正常区带之外的一段均匀染色区域。

正常细胞染色体的不正常变化，会启动细胞凋亡过程，但是癌细胞中，细胞凋亡相关的信号通路产生一定障碍。

3. 线粒体表现为不同的多型性、肿胀、增生

如嗜酸性细胞腺瘤中肥大的线粒体紧挤在细胞内，肝癌细胞中出现巨线粒体。

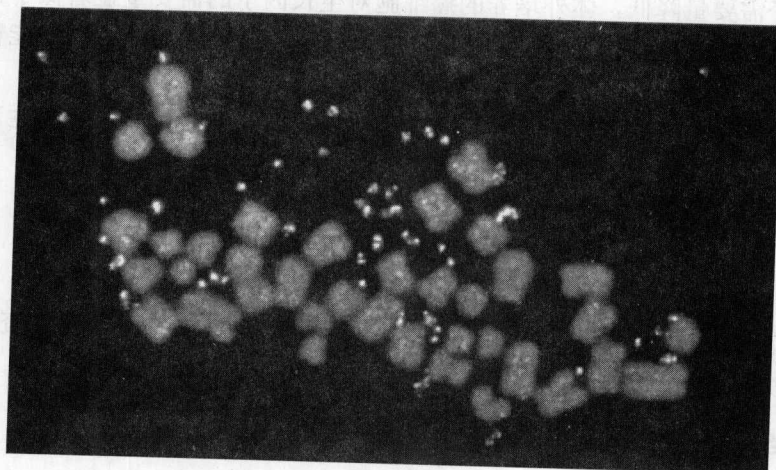
4. 细胞骨架紊乱，某些成分减少，骨架组装不正常

癌细胞中微管变短，排列紊乱，微丝亦发生结构异常。肌动蛋白丝的量减少，引起质膜流动性增强，细胞属性发生改变。细胞骨架结构紊乱，导致细胞外形也发生改变，例如培养中的正常成纤维细胞呈扁平梭形，但被鸟类肉瘤病毒转化后，则变成球形，表面出现小泡，此即由于细胞骨架成分紊乱所致。

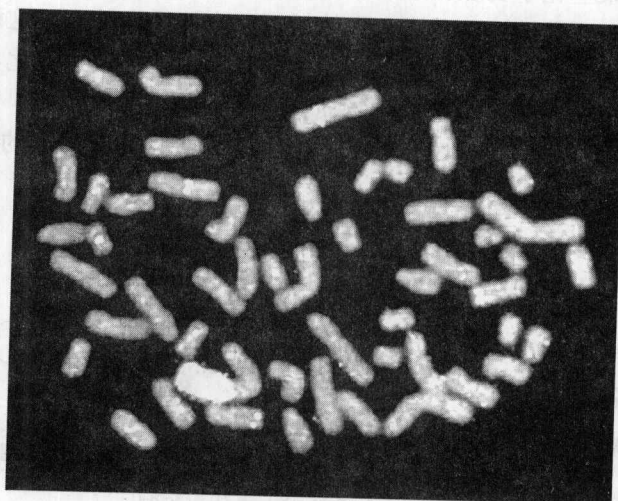
三、癌细胞的生理、生化特征

1. 蛋白表达谱系或蛋白活性改变

癌细胞具有去分化现象，往往有胚胎细胞蛋白表达，如癌细胞中端粒酶活性升高。胎儿甲种球蛋白 (甲胎蛋白) 是胎儿所特有的，但是也在成人肝癌细胞中表达，因此可做肝癌早期检定的标志特征。



(a)



(b)

图 16-2 *myc* 基因扩增形成的异常染色体

(a) *myc* 基因扩增形成双微体 (明亮处) 的核型; (b) *myc* 基因扩增形成均染区 (明亮处) 的核型 (引自 Molecular Biology of the Cell, 4th ed. 2002 年)

蛋白质合成及分解代谢都增强, 但合成代谢超过分解代谢, 甚至可夺取正常组织的蛋白质分解产物, 结果可使机体处于严重消耗的恶病质状态。

2. 粘壁性下降

体外培养的细胞贴壁生长, 这与细胞分泌氨基聚糖粘性物质有关。氨基聚糖是构成细胞外基质的主要成分, 可形成水合凝胶。癌细胞合成氨基聚糖减少, 导致细胞粘壁性能下降。

3. 产生新的膜抗原, 细胞表面特征改变, 细胞间的识别改变

癌细胞丢失了质膜上的主要组织相容性抗原, 出现了一些新的膜抗原。这些新的膜抗原是由正常细胞表面的糖蛋白修饰而成。而表面蛋白质运动增强, 使表面蛋白更易被相应抗体所凝集。

4. 对生长因子依赖性降低

对生长因子需要量降低，体外培养的癌细胞对生长因子的需要量显著低于正常细胞，是因为自分泌或其细胞增殖的信号途径不依赖于生长因子。某些固体瘤细胞还能释放血管生成因子，促进血管向肿瘤生长，获取大量繁殖所需的营养物质。

此外，癌细胞还有许多不同于正常细胞的属性，如葡萄糖运输增加，产生新的细胞分泌物等。

第二节 肿瘤发生机制

对肿瘤是怎样发生的问题，虽然进行了大量的研究工作，积累了丰富的资料，但很多根本问题还没解决，一般认为肿瘤（主要是癌症）的发生主要与下列因素有关：

一、化学致癌因素

机体与一定量的某些化学物质长期或反复接触后，可引起肿瘤。化学致癌物引起人体肿瘤的作用机制很复杂。少数致癌物质进入人体后可以直接诱发肿瘤，这种物质称为直接致癌物。大多数化学致癌物进入人体后，需要经过体内代谢活化或生物转化，成为具有致癌活性的最终致癌物，才能引起肿瘤发生，这种物质称为间接致癌物。例如，黄曲霉毒素是由黄曲霉菌产生的，进入体内后，经过细胞色素氧化酶 P-450 氧化，所生成的物质可以与 DNA 分子中的鸟嘌呤结合，导致癌症的发生（图 16-3）。

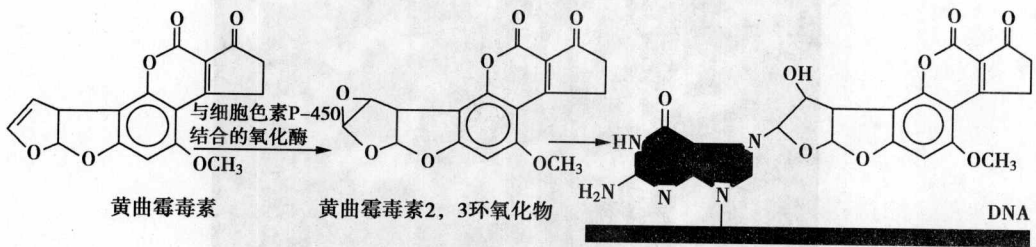


图 16-3 黄曲霉毒素致癌机制

致癌物的分子中常带有一个未配对的外层电子，极易与生物大分子特别是 DNA 分子中的富含电子的分子基团发生共价结合形成化合物或交联损伤，引起基因突变或染色体重排、缺失等。常见的有烷化剂类、芳香族胺类、碱基类似物、亚硝胺类及偶氮染料等。

化学致癌因素的致癌作用有一定的时间性和剂量效应，因此随着时间的推移会发现越来越多的此类致癌剂。

二、物理致癌因素

物理致癌因素包括热、电离辐射、紫外线等，如多次烫伤及创伤引起的组织增生，有时可形成癌。电离辐射的射线在生物靶分子内产生电离，形成性质非常活泼的自由基破坏正常靶分子结构。电离辐射可以引起人体各部位发生肿瘤，日本原子弹爆炸后白血病的发病率增高，就是电离辐射造成的。紫外线照射可引起细胞 DNA 断裂、交联和染色体畸变，紫外线还可抑制皮肤的免疫功能，使突变细胞容易逃脱机体的免疫监视，这些都有利于皮肤癌和基底细胞癌的发生。粒子也可以诱发癌症，如石棉导致癌症与纤维的长度和粗糙程度有关。空气污染时粒子的危险程度则与它们的大小和沉积在肺的亲合力有关。近年来由于环境恶化，

大气层的臭氧减少,出现地球臭氧空洞,地表紫外线的辐照强度急剧增高,其诱发人体皮肤癌的潜在危险性大为增加。据估计,大气臭氧减少1%,皮肤癌发病率就要增加2%~6%。

三、生物致癌因素

生物致癌因素主要是各种病毒。与人类肿瘤发生关系密切的有四类病毒:①逆转录病毒(如T细胞淋巴瘤病毒,HTLV-I)、②乙型肝炎病毒(HBV)、③乳头状瘤病毒(HPV)和④Epstein-Bars病毒(EBV),后三类都是DNA病毒。

逆转录病毒:引起人类T淋巴细胞白血病的人T淋巴细胞白血病病毒(HTLV)、成人T细胞白血病病毒(ATLV)和艾滋病病毒(HIV)等病毒都属于逆转录病毒。逆转录病毒感染机体后,病毒的遗传信息整合到宿主细胞的染色体中,成为细胞的组成部分,一般情况下受到正常细胞的调节控制,病毒处于静止状态,但受到化学致癌物、射线辐射等因素的作用后可能被激活,病毒表达特定蛋白从而在体内诱发肿瘤。

乙型肝炎病毒:人肝癌细胞DNA中发现有HBV病毒的碱基序列。体外培养的人肝癌细胞中,见到HBV病毒DNA整合到细胞DNA中。HBV整合到细胞DNA中,能使细胞DNA发生缺失、插入、转位、突变或易位等改变。

乳头状瘤病毒:人乳头瘤状病毒(human papilloma virus, HPV)有50余种亚型,与生殖道肿瘤的发生有密切关系,并与口腔、咽、喉、气管等处的乳头状瘤和皮肤疣等良性病变有关。在宫颈癌细胞中病毒DNA序列已经整合到宿主细胞的基因组中,宫颈癌的发生与原癌基因*c-ras*和*c-myc*的变异有关。

EB病毒:EB病毒(Epstein-Barr virus, EBV)是一种疱疹病毒,与儿童的Burkitt淋巴瘤和成人的鼻咽癌发生有关。

四、肿瘤发生的遗传机制

1. 肿瘤遗传易感性

在人们生活的环境中存在着不少物理的、化学的和生物的致癌因子,它们在一定条件下可以诱发肿瘤。但是尽管人们都接触各种致癌因子,却远非人人都发生肿瘤,这表明还存在个体的易感性。个体在相同条件下具有更易发生肿瘤的倾向性称为肿瘤遗传易感性(tumor genetic susceptibility)。

肿瘤遗传易感性通常是由于个体具有某些遗传缺陷或携带某种多态性突变基因型基因,这些个体与普通人群相比更易发生肿瘤。肿瘤可称为一种体细胞遗传病,因为遗传物质在肿瘤发生过程中起着极其重要的作用。一些肿瘤是按照孟德尔方式遗传的,而在另一些肿瘤中遗传的“易感基因”和环境因素共同发挥作用,还有一些肿瘤是由特定基因发生体细胞突变引起的,这种突变虽然不是遗传得来的,但却发生在遗传物质中。

个体的肿瘤遗传易感性是由特定的基因决定的。在个体易感状态下如再发生体细胞突变,突变细胞就容易转化为肿瘤细胞。肿瘤的发生是突变逐渐累积的结果。DNA的点突变、插入、缺失、基因扩增和重排等都可能增加肿瘤易感性,多个突变作用的累积导致肿瘤发生。由于年长者体内细胞分裂次数多,与外界环境接触时间长,因此肿瘤患者多为年长者。

肿瘤发生与染色体不稳定密切相关。染色体不稳定患者全身染色体容易断裂,并且对紫外线特别敏感,因此发生肿瘤的几率与正常人相比明显偏高。如先天性血细胞减少症患者的染色体自发断裂率明显增高,单体断裂和裂隙等染色单体畸变很多,双着丝粒体、断片与核

内复制也很常见，这些患者中约 10% 转变为白血病，且死于白血病者比正常人群高约 20 倍。

肿瘤发生具有家族聚集现象，与遗传基因密切相关。癌家族 (cancer family) 具有恶性肿瘤的发病率高 (约 20%)，发病年龄较早，通常按常染色体显性方式遗传，以及某些肿瘤 (如腺癌) 发病率较高等特点。如肾母细胞瘤 (nephroblastoma)，是一种婴幼儿肾的恶性胚胎性肿瘤，约占全部肾肿瘤的 6%，呈常染色体显性遗传，有明显的家族聚集现象。

2. 二次突变学说

1971 年，Knudson 提出二次突变学说 (two hits theory)，认为恶性肿瘤的发生需经两次以上的突变，对有遗传倾向的病人来说，由于体细胞中已经存在一种突变，在此基础上，另一个等位基因如果发生一次突变就可以生成肿瘤细胞 (图 16-4)。以视网膜母细胞瘤为例，正常视网膜细胞要变成瘤细胞必须经过一对具有肿瘤抑制作用的等位基因 (*Rb*) 的连续 2 次突变事件。遗传性肿瘤是由于第一次突变发生于生殖细胞或由父母遗传而来，而视网膜体细胞中只要再发生一次突变，即导致该肿瘤抑制蛋白的完全消失，完成肿瘤转化。非遗传性肿瘤则是由于同一个体细胞内连续发生二次独立的体细胞突变，相比之下，可能性要小得多。因此，遗传性肿瘤有家族性、双侧性、早发性的特点，而非遗传性肿瘤则发病迟，具散发性和单侧性的特点。

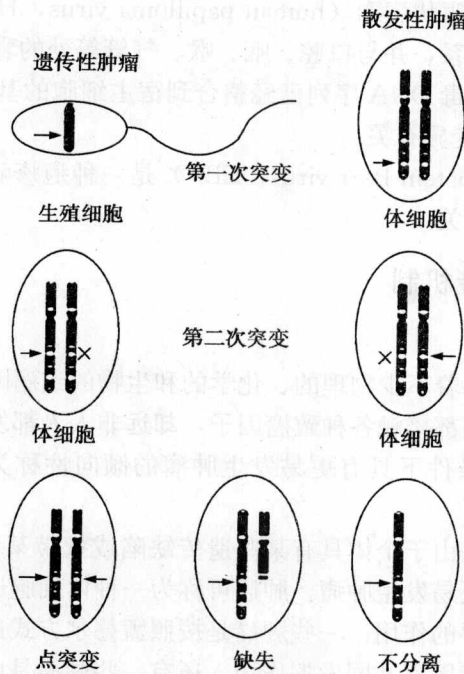


图 16-4 二次突变过程示意图

二次突变学说的提出，可以用来解释肿瘤发生中遗传因素的作用方式，与此同时也强调了外界环境因素在肿瘤发生过程中的重要性。肿瘤的发生是生物体自身遗传因素和外界环境共同影响的结果。

外界致癌因素和遗传因素对肿瘤发生的影响非常重要，但机体本身的状态如神经、内分泌系统状态及机体对肿瘤的免疫反应等因素，也直接影响着肿瘤生成过程。促进细胞免疫和体液免疫过程，提高机体免疫力有利于肿瘤的防治，很多中药治疗肿瘤就是通过调理，提高

机体免疫功能实现的。

五、肿瘤干细胞

肿瘤干细胞 (cancer stem cell) 是指肿瘤组织中少数具有无限增殖潜能的细胞, 能驱动肿瘤的形成和生长。

20 世纪中叶, 科学家发现白血病患者体内的造血干细胞的基因突变, 会导致癌症的发生。随着干细胞生物学研究领域的日趋成熟和肿瘤细胞生物学的深入探索, 发现干细胞和癌细胞之间有许多惊人的相似之处, 推测肿瘤可能起源于正常干细胞的转化。正常情况下, 成体干细胞与机体组织的更新有着密切关系, 一个成体干细胞可以分化为一种过渡性自我更新细胞, 它能以不对称的方式分裂, 形成一个新的过渡性自我更新细胞和一个可以继续分化且具有组织特异性的细胞。人体组织内都含有一定数量的过渡性自我更新细胞, 这些细胞每时每刻都在对机体的损伤和衰老进行更新和修复。但是组织内的成体干细胞在一般情况下都处于静息状态, 不会进行分裂。只有当体内的平衡被打破, 即自我更新细胞大量减少, 或机体对过渡性自我更新细胞的需求迅猛增加时, 成体干细胞才会从静息状态重新进入细胞周期, 开始以极快的速度进行分裂。而当这些成体干细胞的基因突变, 干细胞不能正常的增殖和分化就可以导致癌症的发生, 相似的信号转导通路可能既调节干细胞也调节癌细胞的自我更新。

最新研究发现, 肿瘤中的大部分细胞注入到老鼠乳腺中, 都不能引起肿瘤发生, 而仅有少量细胞可以引起肿瘤发生, 这些少量细胞的某些特性与干细胞非常类似, 推测可能就是肿瘤干细胞。

对肿瘤干细胞的研究是对肿瘤防治研究的一个重要课题, 以致肿瘤干细胞成为近年来非常热门的一个概念。

第三节 原癌基因和抑癌基因

一、原癌基因

早在 20 世纪初, Rockefeller 研究所的 Rous 医生将鸡肉瘤组织匀浆后的无细胞滤液皮下注射于正常鸡, 发现可以引起肿瘤, 可惜当时对病毒还缺乏认识, 直到 20 世纪 50 年代才重新发现原来致瘤的因素是病毒, 并以 Rous 医生的名字命名为罗氏肉瘤病毒 (Rous Sarcoma Virus, RSV)。1975 年, Bishop 等从 RSV 中分离到第一个病毒癌基因 *src*。后来的实验证明正常鸡成纤维细胞基因组中存在有与病毒癌基因 *src* 的同源序列。*src* 基因产物是一种分子质量为 60ku 的蛋白酪氨酸激酶, 称 pp60src。pp60src 过度地、长期地磷酸化将导致细胞的恶性转化, 刺激细胞无限增殖而形成肿瘤。其他病毒的一系列研究也发现类似的现象, 病毒所含的致癌基因被称为病毒癌基因 (viral oncogene, v-onc)。在各种正常未感染病毒的细胞 (包括人体细胞) 中发现有与 v-onc 类似的 DNA 序列, 这些存在于细胞中的同源基因称为细胞癌基因 (cellular oncogene, c-onc)。

控制细胞生长、发育和分化的正常细胞癌基因称为原癌基因 (protooncogene)。原癌基因在正常细胞中不仅对细胞无害, 而且在细胞生长、增殖、分化等方面具有重要作用。原癌基因一旦发生突变而成癌基因 (oncogene), 基因结构发生变化, 被异常激活, 表达过度或

产生异常的基因产物等，会干扰破坏细胞正常的代谢活动，使细胞转化为异常增殖状态（图 16-5）。

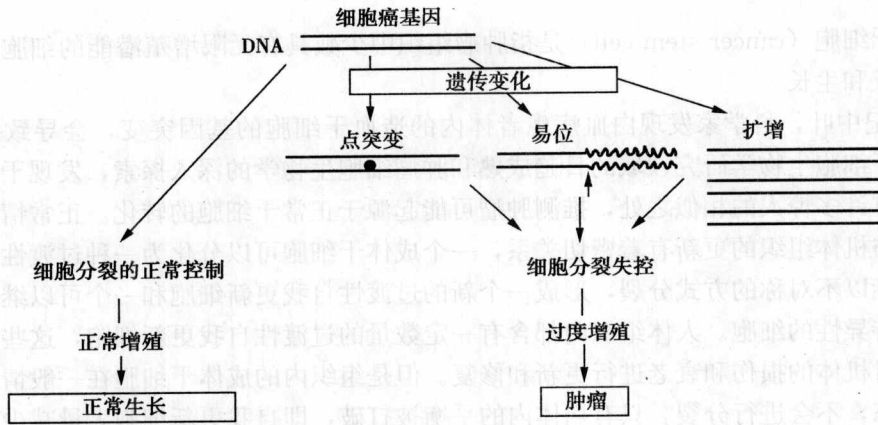


图 16-5 癌基因的激活机制

许多生长因子、生长因子受体、信号转导蛋白、蛋白激酶、转录因子等都是原癌基因的产物，它们促进某些组织细胞或机体不同发育阶段细胞的生长增殖，与许多肿瘤的发生密切相关（表 16-1）。

表 16-1 一些原癌基因的功能和相关肿瘤

原癌基因	功能	相关肿瘤
<i>sis</i>	生长因子	Erwing 网瘤
<i>erb-B</i>	受体酪氨酸激酶，EGF 受体	星形细胞瘤、乳腺癌、卵巢癌、肺癌、胃癌
<i>ras</i>	G-蛋白	肺癌、结肠癌、膀胱癌、直肠癌
<i>src</i>	非受体酪氨酸激酶	鲁斯氏肉瘤
<i>Abl-1</i>	非受体酪氨酸激酶	慢性髓性白血病
<i>raf</i>	MAPKKK，丝氨酸/苏氨酸激酶	腮腺肿瘤
<i>myc</i>	转录因子	Burkitt 淋巴瘤、肺癌、早幼粒白血病
<i>fos</i>	转录因子	骨肉瘤
<i>erb-A</i>	转录因子	急性非淋巴细胞白血病

实验表明，原癌基因产物在细胞增殖调控中是相互联系，互为补充的。

1. 生长因子类

某些原癌基因的产物是生长因子类，如 *sis* 基因的表达产物是 28ku 的蛋白质，称 p28sis，与 PDGF 的 β 链有 92% 的同源性，可模拟 PDGF 的作用，与 PDGF 受体结合，使细胞产生增殖效应。

2. 生长因子受体类

一些原癌基因可通过编码生长因子受体参与细胞增殖调控。如 *erb-B* 编码的蛋白是一个截顶的 EGF 受体，失去了受体的 EGF 结合区，保留了 EGF 的跨膜部位和激酶区域，可模拟已结合配体的生长因子受体，在没有 EGF 作用的条件下，不断提供生长信号导致增殖失控。

3. 酪氨酸蛋白激酶类

src、*abl*、*ros*、*met* 等原癌基因编码的产物具有酪氨酸蛋白激酶活性，是信息传递的传感器。如 *src* 基因编码的蛋白 PP60src 位于质膜的内表面，是多功能的蛋白质，可使细胞骨架蛋白磷酸化，影响细胞表型变化。此外，*mos*、*raf* 等基因编码的产物具有丝氨酸/苏氨酸激酶活性，也参与增殖调节过程。

4. GTP 结合蛋白类

另一类与细胞增殖密切有关的是 *ras* 基因家族，*ras* 基因产物是分子质量 21ku 的蛋白质。P21 蛋白有类似 G 蛋白的作用，它对鸟苷酸有高亲和性，有两种结合形式，一是与 GTP 结合的活性形式，直接作用于靶蛋白进行信号转导，二是与 GDP 结合的非活性形式。两种结合形式可转换。当 *ras* 基因突变时，这些突变的 P21 蛋白，可长时间与 GTP 结合，保持 P21 - GTP 结合的活性形式，连续刺激增殖的信号，导致细胞生长失控和癌变。

5. 核内转录因子

myc、*fos*、*jun* 等原癌基因编码的产物在细胞核中为核内转录因子。外来的生长调控信号通过细胞内信号转导系统到达核内，促进或抑制有关基因开放调节细胞增殖。如用 PDGF 和 EGF 等刺激静止的 3T3 成纤维细胞，可诱导 *myc* 基因开始转录 mRNA，其表达产物为一种调节蛋白，在 1~3h 内表达至高峰期，比未被处理的细胞含量增加 10~40 倍。*myc* 基因表达增加以 G₁ 后期及 S 期最为明显。近年来实验表明，*jun* 和 *fos* 基因产物能与特定的增强子结合，从而刺激与增殖有关的基因表达，参与增殖调控过程。

二、抑癌基因

抑癌基因 (antioncogene) 在细胞增殖中起抑制和负调控作用，并能潜在抑制细胞恶变 (表 16-2)，如视网膜母细胞瘤 (retinoblastoma, Rb) 基因和 *p53* 基因。

表 16-2 一些抑癌基因的功能和相关肿瘤

抑癌基因	功能	相关肿瘤
<i>Rb</i>	转录调节因子	神经母细胞瘤、成骨肉瘤、胃癌、乳癌、结肠癌
<i>p53</i>	转录调节因子	星状细胞瘤、胶质母细胞瘤、结肠癌、乳癌、成骨肉瘤、胃癌、磷状细胞肺癌
<i>NF-1</i>	GTP 酶激活因子	神经纤维瘤、嗜铬细胞瘤、神经纤维瘤
<i>p21</i>	CDK 抑制因子	前列腺癌
<i>BRCA1</i>	DNA 修复因子，与 RAD51 作用	乳腺癌、卵巢癌
<i>BRCA2</i>	DNA 修复因子，与 RAD51 作用	乳腺癌、胰腺癌
<i>PTEN</i>	磷酸酶	成胶质细胞瘤

Rb 基因是第一个被克隆并完成序列测定的抗癌基因。*Rb* 基因编码一个分子质量为 105ku 的蛋白质 (p105Rb)，有 125 个氨基酸。该基因定位在人类染色体 13q14 上，当 *Rb* 两个等位基因丢失或失活时，则导致细胞癌变。p105Rb 有两种形式，磷酸化和去磷酸化。*Rb* 的表达和磷酸化的水平与细胞周期有关。当细胞由 G₁ 期进入 S 期时，表达增加，磷酸化水平最高。在 M 晚期，p105Rb 则去磷酸化。非磷酸化的 p105Rb 可阻止细胞从 G₁ 期进入 S 期，抑制细胞的增殖，一旦磷酸化后，则处于失活状态，使细胞进入增殖周期。p105Rb 抑制细胞增殖的机制，可能是抑制 *myc* 和 *fos* 的表达，因为在 G₀ 期细胞，p105Rb

处于低磷酸化状态，细胞中 *myc* 和 *fos* 基因表达也被抑制。

野生型 *p53* 基因是另一种重要的抑癌基因，分子质量 53ku，定位于染色体 17p13.1。编码的正常 P53 蛋白（野生型）存在于核内，是一种核内转录因子。正常的 P53 蛋白在 DNA 损伤或缺氧时活化，可以促进依赖 P53 的 CDK 抑制者 *p21* 和 DNA 修复基因转录，细胞在 G₁ 期出现生长停滞，进行 DNA 修复。如修复成功，细胞进入 S 期；如修复失败，则通过活化 *bax* 基因使细胞进入凋亡，以保证基因组的遗传稳定（图 16-6）。因此，正常的 P53 蛋白又称为“分子警察”。而在 *p53* 基因缺失或发生突变的细胞，DNA 的损伤后不再出现 G₁ 期停滞现象，因此遗传信息受损的细胞可以增殖，最终可以发展成恶性肿瘤。

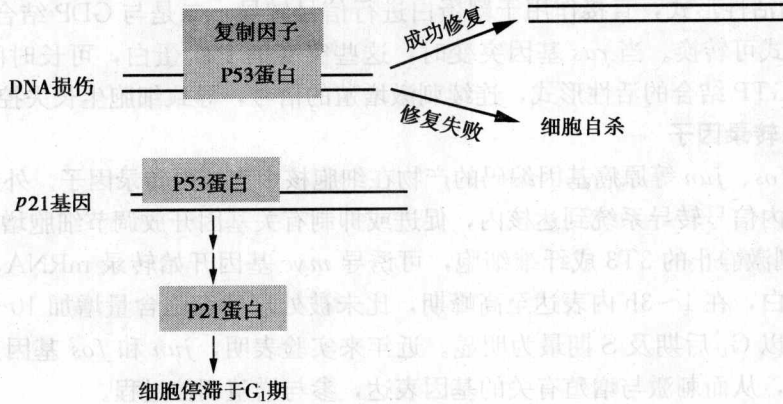


图 16-6 P53 蛋白作用机制示意图

第四节 肿瘤标志物

在研究和临床实践中发现，肿瘤的早期诊断非常关键。常规的身体检查包括 X 线检查、超声检查、组织学活检和血液检查等，它们是最基本的诊断手段。随着细胞生物学、分子生物学和免疫学等相关领域的发展，肿瘤标志物 (tumor marker, TM) 检测项目不断地应用于临床，已成为肿瘤患者的一个重要检查指标，在肿瘤普查、诊断、判断预后和评价治疗疗效等方面都具有较大的实用价值。

肿瘤标志物主要是指肿瘤细胞分泌或脱落到体液或组织中的物质，或是宿主对体内新生物反应而产生并进入到体液或组织中的物质，是肿瘤组织产生的反映肿瘤自身存在的化学物质。主要有以下几类：癌胚蛋白 (oncofetal proteins)，酶类，激素类，肿瘤相关抗原 (tumor-associated antigens)，血浆蛋白 (special serum proteins)，原癌基因、抑癌基因及其产物等。

一、癌胚蛋白

在个体发育中，一些蛋白质只在胎儿期表达，但成年动物细胞发生癌变时，出现去分化现象，一些关闭的基因被激活，重新分泌胚胎时期特有的蛋白，称为癌胚蛋白。

甲胎蛋白 (alpha-fetoprotein, AFP)：正常成人血清中含量为 5.8μg/L 以下，男性略高于女性。AFP 由卵黄囊及胚胎肝脏产生，在妊娠 5 个月时达高峰，出生时下降。胎儿出生后 1 年，血清 AFP 降至正常成人水平。AFP 是原发性肝癌的最灵敏的特异性肿瘤标志物，

血清 AFP 测定结果大于 $500\mu\text{g/L}$ ，或含量有不断增高者，更应高度警惕。

癌胚抗原 (carcinoembryonic antigen, CEA)：为存在于结肠癌及胚胎结肠粘膜上皮细胞的一种糖蛋白。CEA 由胎儿胃肠道上皮组织、胰脏和肝脏的细胞所合成，通常在胎儿前 6 个月内 CEA 含量增高，出生后血清中含量已很低，一般健康成年人血清中 CEA 浓度小于 $2.5\mu\text{g/L}$ 。CEA 测定主要用于结肠直肠癌、胃癌、胰癌、肝细胞癌、肺癌、乳癌以及甲状腺髓质癌的临床监测，也见于绒毛膜癌、骨癌、前列腺癌等。

胰胚胎抗原 (pancreatic oncofetal antigen, POA)：是一种糖蛋白，分子质量为 40ku，在血清中以分子质量为 900ku 的复合形式存在，但可降解为 40ku。胰腺癌的 POA 的阳性率为 95%，当肝癌、大肠癌、胃癌等恶性肿瘤发生时也会使 POA 升高，但阳性率较低。

二、酶类标志物

肿瘤状态时，机体的某些酶活力或同工酶谱将发生改变，因此检测血清中某些酶的活性是否异常或同工酶谱是否发生改变，也是肿瘤诊断的重要途径之一。

乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH)：LDH 总活性在肿瘤患者血清中升高，在恶性淋巴瘤、白血病、卵巢癌患者血清中异常增高。经治疗病情好转时 LDH 下降，复发时又上升。

碱性磷酸酶 (Alkaline phosphatase, ALP)：为糖蛋白，在肝、骨和胎盘组织中合成，是检测肿瘤向肝或骨迁移的标志物。

端粒酶 (telomerase)：是一种反转录酶，可修补端粒序列。在正常机体中除少数干细胞和生殖细胞外，体细胞中端粒酶均处于失活状态，但是几乎在所有肿瘤细胞中均可检测到此酶的活性，因此可作为肿瘤标志物。

三、激素

非内分泌癌组织中出现激素样物质，称为异位激素。内分泌腺癌使分泌的激素增加，称为原位激素异常。这两种情况均可作为肿瘤诊断的依据。

降钙素 (calcitonin, CT)：是 32 个氨基酸组成的多肽激素，甲状腺髓样癌、肺腺癌及小细胞肺癌的病人，血清中 CT 明显升高。乳腺癌、肝癌、肾癌、前列腺癌、胰腺癌、上颌窦癌、膀胱癌等也可见 CT 升高。某些良性疾病如甲状腺机能亢进、变形性胃炎和肺部疾患也发现 CT 升高。

人绒毛膜促性腺激素 (human chorionic gonadotropin, hCG)：是由胎盘滋养层细胞所分泌的一类糖蛋白类激素，在妊娠和患绒毛膜上皮癌时，hCG 明显增高。hCG 还会在乳腺癌、睾丸癌、卵巢癌增高。当子宫内膜异位症、卵巢囊肿等非肿瘤状态出现时，hCG 也会增高。

四、肿瘤抗原

肿瘤抗原 (tumor antigen) 泛指在肿瘤发生、发展过程中新出现或过度表达的抗原物质。这类抗原是用单克隆抗体技术从肿瘤细胞系 (株) 中鉴定出来的，所以在特定肿瘤的诊断方面具有较高的准确性。

CA15-3：由分泌性上皮细胞分泌，是一种乳腺癌相关抗原。其浓度升高与转移的乳腺癌有明显的相关性，常用于转移乳腺癌病人的治疗监测和预后判断。

CA125: 从细胞表面分泌到血液中的一种蛋白质, 它的水平在多数卵巢癌细胞中比在正常的细胞中要高, 是上皮性卵巢癌和子宫内膜癌的标志物。此外, 胰腺癌、肝癌、乳腺癌和子宫内膜炎, 急性胰腺炎、腹膜炎、肝炎、肝硬化腹水也可使 CA125 升高, CA125 升高还与肿瘤复发有关。

PSA: 前列腺特异性抗原 (prostate specific antigen), 是一种丝氨酸蛋白酶, 为糖蛋白, 发现于前列腺和精浆提取物, 是前列腺癌的特异性标志物。

五、血浆蛋白

血浆蛋白是最早发现的肿瘤标志物, 如 β_2 微球蛋白、免疫球蛋白。一般来讲这类标志物特异性稍差, 但由于检测方法相对比较容易, 通常作为常规检测项目。

β_2 -微球蛋白 (β_2 -microglobulin, β_2m): 表达在大多数有核细胞表面, 是人类白细胞抗原 (HLA) 的轻链部分。临床上多用于证实淋巴系统肿瘤, 如白血病、淋巴瘤、多发性骨髓瘤。其水平与肿瘤细胞数量、生长速率、预后及疾病活动性有关。

铁蛋白 (ferritin, Fer): 是一种铁结合蛋白, 存在于各组织, 病理状态下释放入血液中, 不是肿瘤特异的标志, 在多种癌症患者血液中, 均有不同程度的阳性率, 肝癌患者的阳性率在 70% 以上, 所以可辅助诊断肝癌。

本周蛋白 (Bence-Jones protein, BJP): 1845 年由一位内科医生兼化学病理学家 Henry Bence Jones 首次描述了这种蛋白, 为单克隆游离免疫球蛋白轻链 (病理状态下, 轻链合成过多, 则游离于血清中), 本周蛋白是多发性骨髓瘤的典型标志物。

第五节 肿瘤的治疗

由于近代医学和现代医学的深入研究和经验的积累, 目前对恶性肿瘤形成了一整套的治疗模式, 包括手术治疗、放射治疗、化学治疗、细胞分化治疗、基因治疗和生物反应调节剂治疗等方法。

一、手术治疗

手术治疗恶性肿瘤是最古老的方法之一, 目前仍是对某些肿瘤治疗的最有效方法, 许多癌症可用手术切除治疗治愈或延长生命。手术切除肿瘤不受生物学特性的限制, 对大部分尚未扩散的肿瘤可手术治疗, 同时术后还可以了解肿瘤的正确部位, 得到正确的分期。但手术并非适应于所有恶性肿瘤的治疗, 尚存在有明显的局限性, 并且手术切除肿瘤的同时常需切除一部分正常组织, 造成术后一定的后遗症和功能障碍。另外, 手术也有一定的危险性。肿瘤如超越局部区域或已经扩散则很难通过手术治愈。

二、放射治疗

放射治疗是用治疗机或核素产生的射线治疗肿瘤。它是一种局部治疗方法, 在肿瘤的治疗中占有极重要的地位。所有细胞 (癌细胞和正常细胞) 都要生长和分裂。但是癌细胞的生长和分裂比他们周围许多的正常细胞都要快。放射疗法采用高剂量射线照射癌变的肿瘤, 杀死或破坏癌细胞, 抑制它们的生长、繁殖和扩散。虽然一些正常细胞也会受到破坏, 但是大多数都会恢复。放疗只会影响肿瘤及其周围部位, 不会影响全身。因此, 放疗可以预防肿瘤

复发，根治肿瘤，同时可以保留器官的正常功能。高的放射剂量可以治疗肿瘤，但同时也损害正常细胞，导致副作用。副作用因人而异，它主要取决于治疗剂量和治疗部位。病人的健康状况也会影响身体对放疗的反应以及是否产生副作用。

三、化学治疗

肿瘤化学治疗是指运用药物治疗疾病的方法。手术和放疗杀伤特定部位的癌细胞，而化疗对人体全身起作用。化疗可以消灭已扩散到全身各部位的癌细胞。主要用于扩散趋向明显，仅凭手术和放疗等局部治疗不能防止其复发和转移的肿瘤。其中根据病情需要又分为根治性化疗、辅助化疗、姑息性化疗和局部化疗。在使用化学疗法治疗癌症过程中，通常为了增强疗效，联合使用几种药物，可以杀死更多的癌细胞，以及降低人体对某种特定药物产生耐药性的可能。化疗药物主要包括烷化剂、抗代谢药、抗肿瘤抗生素、植物类抗癌药、激素和免疫制剂等。免疫制剂可以刺激癌症病人的免疫系统更有效地识别和攻击癌细胞。它们属于特殊的化疗范畴。由于化疗的副作用通常较强，因此需要根据癌症的类型、部位、癌变程度以及病人的健康情况等，设计合理的化疗方案，决定最适合病人的药物种类、剂量和操作方式，以及治疗周期。

四、细胞分化治疗

治疗肿瘤的细胞放射疗法和化学疗法，主要针对肿瘤细胞的增殖失控而设计的。由于这些疗法没有特异性，因此在杀伤肿瘤细胞的同时，也会对正常细胞（尤其是处于增殖状态的细胞，如正常骨髓、消化道、上皮组织等）产生杀伤效应，因而导致诸如骨髓抑制、消化道反应、脱发、肝肾损害等严重的毒副反应，而且在机体可能承受的条件下，难以从根本上彻底消除患者体内的肿瘤细胞。因此，在进一步改善化疗、放疗以期提高疗效、减少毒性的同时，肿瘤治疗需要全新的方法。

肿瘤的细胞分化治疗是肿瘤治疗学研究的新领域，是在分化诱导剂的作用下，诱导肿瘤细胞趋向终末分化，恢复细胞的正常或接近正常的表型与功能。分化诱导剂的具体作用机制包括：

- 细胞分化基因群重新启动和表达，同时恶性基因受抑制或失活，二者的结果均导致细胞结构或功能上的正常化。

- 通过影响肿瘤细胞表面膜使肿瘤细胞恶性表型发生逆转，主要是封闭或抑制肿瘤细胞中增高表达的增殖性受体。

- 在启动细胞分化机制的同时启动了细胞死亡程序，有些表现为先分化后凋亡，有些表现为分化与凋亡同时发生，代表此类分化诱导剂的是维甲酸和砷剂。维甲酸和砷剂能诱发白血病细胞向正常成熟细胞方向发展，甚至成为终末分化的细胞，并能诱发白血病细胞凋亡，抑制肿瘤增长。

分化诱导剂的疗效是肯定的，但目前尚存在容易复发和产生耐药性的问题。

五、基因治疗

肿瘤的基因治疗就是应用基因工程技术直接纠正肿瘤细胞基因的结构及功能缺陷，或者间接通过增强宿主对肿瘤的杀伤能力和机体的防御能力来治疗肿瘤。肿瘤的基因治疗是肿瘤生物治疗的一个崭新领域，这方面的研究方兴未艾，思路日新月异，模式越来越多，有的已

经在体外或动物体内显示了肯定的抗肿瘤作用,有的已获准进入临床试验,初步取得了良好的疗效。

肿瘤基因治疗的基本策略包括基因修饰与基因转移两种。基因修饰是指原位修复肿瘤细胞的基因缺陷和纠正其功能的异常,包括对突变的癌基因及抗癌基因进行基因切除、同源重组,或用反义核酸等阻断癌基因表达,抑制肿瘤细胞的增殖,设法恢复抗癌基因的功能及促使细胞凋亡,以及相关基因的诱导与激活等来治疗肿瘤。目前,肿瘤的基因治疗大多集中于基因转移,是应用物理、化学和生物学方法,将目的基因转移入受体细胞内,进行基因替代治疗或基因添加治疗。

用于肿瘤基因治疗的目的基因一般具有如下效应:①逆转肿瘤细胞表型,如抗癌基因等;②增加具有抗癌效应的细胞因子的数量和活性,如TNF、INF、IL-2等;③增加肿瘤细胞对化疗的敏感性;④增加造血系统再生能力使之抵抗放疗损伤或耐受化疗药物治疗。

尽管近年对肿瘤基因治疗的探索已取得了一定的进展,但也有一些问题有待解决,如外源性基因插入到靶细胞基因组是随机的,因而可能阻断靶细胞内正常功能基因表达,外源性基因表达不稳定和表达水平低,作为基因转移载体逆转录病毒可能与体内内源性病毒重组而损害机体等。随着基因工程技术和肿瘤细胞生物学理论的深入发展,肿瘤的基因疗法将成为攻克肿瘤的一种新型治疗措施。

六、生物反应调节剂治疗

生物反应调节剂可调动患者自身的抗癌能力,通过增强机体固有的抗癌机制来抑制、杀灭癌细胞,从而达到治疗肿瘤的目的。生物反应调节剂中有些可以提高人体抗肿瘤增生或肿瘤转移的能力,有些可以诱导肿瘤细胞分化和阻碍恶性转化,有些可以增强机体具有抗肿瘤的免疫效应,发挥特异或非特异的抗肿瘤作用。如中医药治疗肿瘤主要是提高全身机体抗病能力。中医治疗的特点:能够提高患者的体质和多方面提高肌体免疫功能;增强抵抗力;能改善机体的新陈代谢,促进蛋白质合成和废物排除,发挥扶正祛邪之功效;辨证施治、治疗个体化、调整机体生理功能和减轻放、化疗的毒副反应,提高生活质量。

提 要

恶性肿瘤也叫癌症,是目前危害人类健康最严重的一类疾病。分化细胞的生长和分裂失控,脱离了衰老和死亡的正常途径,将成为癌细胞。癌细胞具有三个显著特征:无限增殖、接触抑制现象丧失和迁移性。癌细胞的形态特征、生理生化特征与正常细胞相比也发生了显著变化。

化学、物理和生物致癌因素是诱导肿瘤产生的主要环境因素,个体在相同条件下具有更易发生肿瘤的倾向性称为肿瘤遗传易感性。二次突变学说,认为恶性肿瘤的发生需经两次以上的突变,可以解释肿瘤的发生是生物体自身遗传因素和外界环境共同影响的结果。肿瘤干细胞是指肿瘤组织中少数具有无限增殖潜能的细胞,能驱动肿瘤的形成和生长。原癌基因和抑癌基因是细胞正常生长和分化过程中的重要基因,一旦发生变化,细胞非常容易癌变。

肿瘤标志物主要是指肿瘤细胞分泌或脱落到体液或组织中的物质,或是宿主对体内新生物反应而产生并进入到体液或组织中的物质,是肿瘤组织产生的反映肿瘤自身存在的化学物质。主要有以下几类:癌胚蛋白,酶类,激素类,肿瘤相关抗原,血浆蛋白,原癌基因、抑

癌基因及其产物等。

肿瘤的治疗包括手术治疗、放射治疗、化学治疗、细胞分化治疗、基因治疗和生物反应调节剂治疗等方法。其中手术治疗、放射治疗和化学治疗为临床上的常规疗法；细胞分化治疗和基因治疗发展迅速，是肿瘤生物治疗的一个崭新领域，初步取得了良好的疗效；生物反应调节剂治疗主要是增强机体固有的抗癌机制来抑制、杀灭癌细胞，从而达到治疗肿瘤的目的，该治疗方案应用前景广阔，与中国传统中医理论结合紧密，但相关的研究尚处于起步阶段。

复习思考题 17

(一) 名词解释:

肿瘤遗传易感性 癌细胞 肿瘤标志物 二次突变学说 生物反应调节剂 原癌基因
抑癌基因

(二) 问答题:

1. 癌细胞的基本特征有哪些?
2. 什么叫肿瘤标志物? 包括哪些种类?
3. 治疗肿瘤的方法有哪些?
4. 肿瘤的发生机制是什么?
5. 什么是肿瘤干细胞?
6. 为何处在同一环境, 有的人更容易患肿瘤疾病?

(张树冰)

第十七章

细胞的进化

今天的地球是一个瑰丽多彩的生物世界，而各种生物都是由细胞组成的。构成生物体的所有细胞都是由一个共同的祖先细胞进化来的。最初的细胞经过了漫长的进化过程，由无机小分子生成简单的有机分子，简单有机分子聚合成蛋白质和核酸等生物大分子，之后又进一步演变成具有外膜的原始细胞，然后细胞质分化形成具有原始染色质体的原核细胞；再由原核细胞进化成具有细胞核和丰富细胞器的真核细胞。最后由单细胞生物演化成多细胞生物。多数学者把细胞生命看作是真正的生命。细胞生命出现之前的进化是化学进化，细胞生命出现之后的进化是生物学进化。前者是受化学规律支配的化学过程，后者是受生物学规律支配的生物学过程。本章主要讨论细胞的进化过程。

第一节 细胞的起源

细胞起源的过程，实际上就是生命发生的过程。从某种意义上说，细胞是由分子进化到高等生物之间的中间阶段。细胞的进化是通过化学的进化而实现的。地球的年龄约为 46 亿年。早期地球没有生命的任何踪迹。细胞进化的过程应该在 35 亿年前开始的。经历了如下几个阶段：

一、生物小分子的形成

原始地球主要由甲烷、氨、氢、水蒸气和少量其他气体组成。这些物质溶于倾盆大雨中，被带到新形成的海洋中。在雷雨放电、太阳的紫外线和火山放出的热等能源的条件下，化学反应慢慢进行着，便形成了生物小分子（小分子有机物），如氨基酸、核苷酸、糖和脂肪等。

（一）氨基酸的形成

氨基酸是实验室模拟地球条件鉴定的第一种具有生物学意义的有机化合物。1953 年，米勒（美国）设置了模拟原始大气环境的容器，并用此容器通过火花放电成功地从无机物（如氨、甲烷、氢等）中制造出多种类型的有机分子，其中有 11 种氨基酸（表 17-1）。这些氨基酸有 4 种（甘氨酸、丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸）是生物体内蛋白质所具有的。1957 年在地球生命起源研究的国际会议上，米勒发表了这项研究结果，引起各方面的极大重视，并认为他的模拟实验工作开创了生命起源研究的新途径。1959 年，我国科学工作者利用火花放电的方法，也从无机物混合物中合成了好几种氨基酸，如胱氨酸、半胱氨酸和蛋氨酸等。

表 17-1 对 CH_4 , NH_3 , H_2O 和 H_2 的混合物进行火花放电所形成的产物的产量

化合物	产量 (μmol)	产量 (%)	化合物	产量 (μmol)	产量 (%)
甘氨酸	630	2.1	琥珀酸	40	0.27
羧基乙酸	560	1.9	天冬氨酸	4	0.024
肌氨酸	50	0.25	谷氨酸	6	0.051
丙氨酸	340	1.7	亚氨基二乙酸	55	0.37
乳酸	310	1.6	亚氨基乙酰丙酸	15	0.13
N-甲基丙氨酸	10	0.07	甲酸	2330	4.0
α -氨基-n-丁酸	50	0.34	乙酸	150	0.51
α -氨基异丁酸	1	0.007	丙酸	130	0.66
α -羟基丁酸	50	0.34	脲	20	0.034
β -丙氨酸	150	0.76	N-甲基脲	15	0.051

注：加入的碳（由 CH_4 提供）是 59mmol (710mg)。产量的百分比以碳为基础计算。

(二) 核苷酸的形成

关于核苷酸的形成，目前也积累了不少合成糖、磷酸、嘌呤和嘧啶的资料。早在 19 世纪末，布特列洛夫 (1828~1886) 将甲醛与石灰一起摇动，结果得到大量的化学产物——核糖。1960 年，欧罗将氨和氰化物的溶液在烧瓶里回流几天，得到大量的腺嘌呤。据报道，利用磷酸二氢胺的稀溶液与腺嘌呤、核糖在紫外线照射下得到类似腺苷的产物。用磷酸二氢钠核苷加热到 160°C ，可产生各种磷酸盐，HCN 用丙炔腈溶液在一起混合能合成嘧啶，而丙炔腈则能在大气中由氮和甲烷生成。这些糖类、磷酸盐和碱基等有机物在早期地球大气环境中继续演化，就可形成核苷酸类的有机物。

氨基酸、核苷酸等生物小分子的形成，为蛋白质、核酸等生物大分子的形成奠定了物质基础。

二、生物大分子的形成及在进化中的作用

生物大分子如核酸和蛋白质的起源是令人注目的一个重大问题。在原始地球的大气中，如何合成像核酸和蛋白质这样的大分子，到目前还没有总结出科学的结论，只是推测。主要有两种学派：一是陆相起源派。认为由生物小分子物质聚合成大分子的反应，是在火山附近局部地区的高温条件下发生的，生成的大分子再经雨水冲刷到海洋中。因此这一学派的模拟实验主要是将氨基酸或核苷酸的混合物在无氧的干燥条件下，加热到一定的温度使其发生热聚合。二是海相起源派。认为在原始海洋中，氨基酸和核苷酸可附着在黏土等物的活性表面上，在有适当的缩合剂（如当时可能有羟胺类化合物）的条件下，可发生聚合反应。

关于生物大分子的起源问题，不管哪种学派，其生物大分子的形成遵循的化学规律是相同的。生物大分子是在一定能源作用下由小分子聚合而成。

(一) 多核苷酸的形成

两个核苷酸能通过磷酸二酯键互相连接起来，许多核苷酸以此种方式聚合形成多核苷酸的聚合体。

在生命起源的过程中，多核苷酸的碱基配对可能起着关键的作用。例如，RNA 由 4 种核苷酸构成，其中含有 4 种碱基：腺嘌呤 (A)，鸟嘌呤 (G)，胞嘧啶 (C)，尿嘧啶 (U)。

由于碱基之间总是 A 与 U, C 与 G 以氢键相连互补配对,所以在具备聚合的条件下,当 RNA 溶液内加进活化的上述四种核苷酸时,便会生成新的 RNA 分子。新生的分子很像原来分子的模板压制品,新生分子中的每一个碱基都与原分子中的一个相应碱基配对。这样, RNA 分子便能通过碱基的互补配对而进行复制。

(二) 多肽的形成

在能源及其他适宜条件下,一个氨基酸与另一个氨基酸能经脱水形成肽键相互连接。以此方式形成多肽。多肽由多种氨基酸组成,具有多种多样的三维结构和许多表面反应部位,使它们很适合于去完成细胞的形态构筑和代谢反应功能。

在生命演化的进程中,随机产生的某些氨基酸多聚体,即原始蛋白质可能已具备了酶的特性,它们充当催化剂,催化了 RNA 分子的复制。核苷酸多聚体和氨基酸多聚体在当时是相互依存,互相作用的(图 17-1)。氨基酸多聚体在核苷酸多聚体(RNA 分子)的复制上起到了催化作用, RNA 对蛋白质合成的指导,是通过 RNA 分子中的核苷酸排列顺序来决定蛋白质分子中氨基酸的排列顺序而实现的。也就是说蛋白质的合成是通过 RNA 三联体密码来确定氨基酸的排列顺序的。

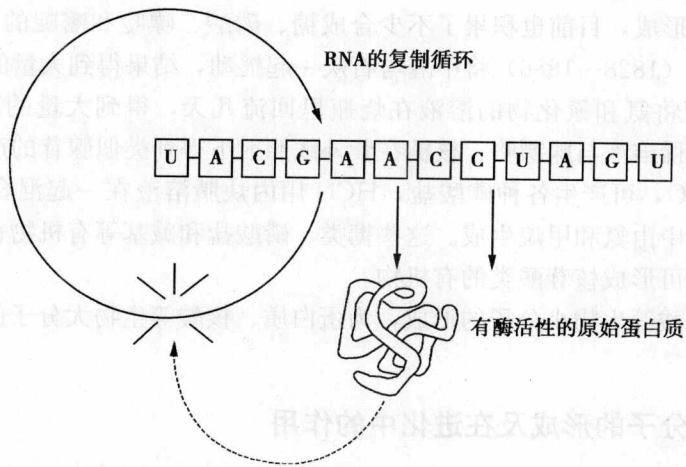


图 17-1 有酶活性的原始蛋白质充当化学反应催化剂,催化 RNA 分子的合成

但 Cech 与 Altman 研究发现 RNA 具有催化功能,这是很大的突破。Cech 提出,原始的 RNA 具有信息传递(遗传密码)与催化作用,并由原始 RNA 衍生出不同的核酸和蛋白质。后来 Noller 等证明核糖体 RNA 在纯化后(即去除核糖体的蛋白质存留的 rRNA)依然具有催化肽链合成的作用。这些研究认为原始核酸是原始生命的基础。

由于 RNA 酶的出现,有学者提出从多核苷酸到多肽,在进化上是一个 RNA 分子自我复制系统的 3 个相继的阶段(图 17-2):

- 在原始有机物中,某些具有活性的 RNA 分子和核苷酸连接在一起,复制其自身的核苷酸顺序,使遗传信息得以延续。
- 在一定环境条件下,复制产生的 RNA 分子类型相互依存,相互影响,相互支持。其中某一类 RNA 催化其他一些类群的核酸产生,使核酸的类型得到扩展。
- RNA 类型不断分化,一些新催化的 RNA 进化为能与活性氨基酸结合的 RNA 转换器,并以某些 RNA 分子的碱基对顺序作为模板,来合成氨基酸多聚体,可能这就是出现的

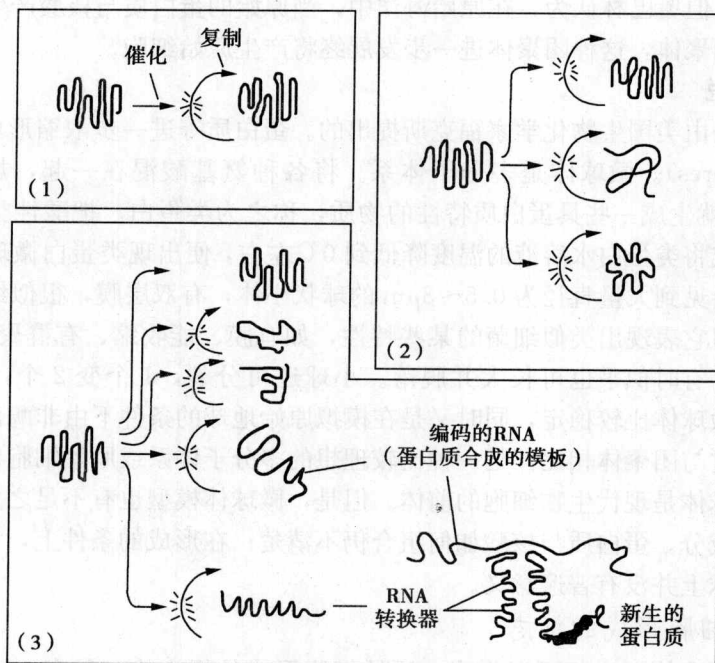


图 17-2 指导蛋白质合成的 RNA 自我复制系统在进化中的三个相继阶段
(引自 B. Alberts 等, 1989 年)

第一个由遗传决定的蛋白质。

那么地球上是有先有蛋白质还是先有核酸？一派认为蛋白质的合成必须以核酸为模板，所以核酸必在蛋白质之前出现；一派认为，核酸复制时，必须有酶参与才能够完成，所以蛋白质应出现在核酸之前。这是一个悬而未解决的问题。

三、原始细胞的产生

生物大分子的形成和发展，如多核苷酸的自我复制和多核苷酸指导蛋白质的合成，对原始细胞的产生起着关键作用。但另一个不可忽视的条件是细胞膜的形成。现存生物细胞的细胞膜均由脂类（包括磷脂、糖脂和胆固醇）和蛋白质构成。有人设想，在生命出现前的原始液体表面，磷酸分子能自发装配成膜结构，并把能自我复制的 RNA 和蛋白质分子包被于膜结构内。于是这种初级形式的形态实体，经过自然选择便形成了原始细胞。

(一) 原始细胞形成的两种学说

1. 团聚体学说

苏联学者奥巴林对生物大分子的胶体凝集现象进行了研究。他认为原始海洋中蛋白质和核酸等生物大分子浓缩成为多分子体系，进而生成团聚体 (coacervate)。团聚体小滴直径在 1~500nm，团聚体外围部分增厚形成一种膜与周围环境介质隔开。奥巴林认为团聚体是非生命物质向生命物质过渡的一种重要形式。奥巴林等用多种生物大分子如明胶、阿拉伯胶等和各种蛋白质以及核酸、多糖等形成各种类型的团聚体。他们的实验表明，团聚体具有吸收、合成、分解、生长和生殖等类似的生命现象。但是，奥巴林等所研究的团聚体是由天然胶体物质和组蛋白等现有生物大分子混合而成，它与原始的生命物质相比毕竟不一样，而且

结构也很不稳定。但奥巴林认为,在原始海洋中,当原始的蛋白质与核酸产生以后,它们可以相互结合形成团聚体,这种团聚体进一步发展终将产生原始细胞。

2. 微球体学说

微球体学说是由美国生物化学家福克斯提出的。蛋白质等进一步浓缩形成微球体 (proteinoid micro-spheres)。微球体是多分子体系。将各种氨基酸混在一起,加热到 $140^{\circ}\text{C} \sim 180^{\circ}\text{C}$,数小时后就生成一些具蛋白质特性的物质,称之为类蛋白。把酸性类蛋白放到稀的盐溶液中冷却,或将类蛋白水溶液的温度降低到 0°C 左右,便出现类蛋白微球体。在显微镜下观察微球体,会见到大量直径为 $0.5 \sim 3\mu\text{m}$ 的球状小体,有双层膜,很似细菌。微球体小球并没有生命,但它表现出类似细菌的某些特性,如有膜、能收缩、有群聚倾向、可染色、能分裂和出芽,芽有时似乎也可长大并脱落。小球还可分裂,1个变2个,或彼此连成一串。由于类蛋白微球体比较稳定,同时又是在模拟原始地球的条件下由非酶促合成的类蛋白所产生,因此,它与团聚体相比,是一种比较理想的多分子体系或原始细胞模型。福克斯坚信这些类蛋白微球体是现代生物细胞的前体。但是,微球体模型也有不足之处,例如在组成上它没有核酸的成分。蛋白质与核酸如何组合仍不清楚;在形成的条件上,它需要高温和干燥,在早期的地球上并没有普遍意义。

(二) 原始细胞形成的标志

从微球体和团聚体学说都可以看出,原始细胞形成的标志为:①有一定的物理化学结构。有了这个结构,才能够吸引物质和进行一定方式的化学反应。有了这个特性,多分子体系才能有条件脱离周围环境的影响而独立存在。②必须具备蛋白质和核酸。蛋白质与核酸协调,形成完整的调节系统,这二者结合意味着原始生命开始。③原始细胞膜的形成。膜在多分子体系演化成具有细胞形态的生命过程中是非常重要的,膜能使多分子体系与原始海洋隔开,形成独立体系。通过原始细胞膜的控制,与周围环境发生物质交换,调节着环境对于生命系统的作用。

(三) 推测

关于生命最初形式(原始细胞)的形成,根据科学家推测可能有三种类型。

第一,只建立在蛋白质基础上的生命类型。这种观点也称“原细胞学说”,因为它所指的原始细胞的主要成分是蛋白质。这种观点认为,蛋白质由多肽发展而来,而多肽的自发形成似乎更有可能在核酸生物合成之前。

第二,建立在核酸基础上但没有蛋白质密码的生命类型,也称原基因说。这种观点主张作为化学进化产物的原始核酸是原始生命的基础。

第三,建立在核酸和蛋白质基础上的生命类型。这种观点认为,对原始细胞的化学起源来说,原始核酸和原始蛋白质两者同时需要,没有核酸的生物就会缺乏完成遗传连续性的工具;生物若没有蛋白质,就会严重限制它们利用环境中化学物质的能力。

上述三种推测,都有一定的依据,但是观点很不一致,需进一步研究才能得出比较正确的结论。不管怎样,核酸和蛋白质对原始细胞有着极为重要的作用。而原始细胞的形成是生命发展过程中的一个重要阶段。

第二节 从原核细胞到真核细胞

现在地球的所有生物均源于 35 亿年前产生的原始细胞。原始细胞有较强的增殖能力,

在进化过程中取得优势，最终覆盖了地球表面。原始细胞在结构和功能方面进一步复杂化和完善化，演化成更高级的细胞。

一、从原始细胞到原核细胞

这阶段的主要标志是细胞质的分化。主要是原始染色质体 (primitive chromosome) 的形成。

原始细胞体内没有任何组织上的分化，细胞内所含的核酸 (RNA)、蛋白质和一些酶系等互相混杂。遗传信息量少，细胞内酶系混杂使细胞的调节机制不完善。这就促使原始细胞的进一步分化。原始细胞进一步分化的里程碑是 DNA 的出现，DNA 取代了 RNA 成为遗传信息的载体。由于 DNA 双螺旋结构的特点，DNA 的结构更稳定，遗传信息量更为丰富，原始细胞便演化成了原核细胞。

(一) 原核细胞形成需要具备的基本条件

- 包围细胞的细胞膜；
- 贮存遗传信息的遗传物质 (DNA)；
- 指导蛋白质合成的 RNA；
- 装配蛋白质的细胞器，即核糖体。

病毒是由一个核酸分子 (DNA 或 RNA) 与蛋白质构成的核酸-蛋白质复合体，是一种非细胞有机体。它只有在宿主细胞内才能进行新陈代谢和自我复制。病毒与细胞在起源上的关系，为学者所关注，提出了几种观点。目前较易接受的是：病毒可看作是与细胞内的核蛋白分子相似的，由 DNA 与蛋白质或 RNA 与蛋白质形成的复合大分子。认为病毒很可能是细胞在特定条件下，被“抛出”的一个基因组，或者是具有复制和转录能力的 mRNA。这些游离的基因组，只有回到它们原来的细胞内环境中，才能进行复制和转录。

(二) 最小、最简单的原核细胞——支原体

支原体是目前发现的最小和最简单的原核细胞 (图 17-3)，其直径一般为 $0.1 \sim 0.3 \mu\text{m}$ ，无细胞壁，最外层是细胞膜。其大小和形态与推测的原始细胞很相似，但有不同，支原体除含有 RNA 外，还有一个环状双链 DNA，遗传信息贮存于 DNA 中，DNA 由互补的多核苷酸组成，以双链形式存在。这种形式使贮存的遗传信息更稳定，并提供了复制的机会。支原体的单链 RNA 是由 DNA 指导合成的，RNA 又指导合成蛋白质。支原体约含有 400 种蛋白质。支原体内有唯一的细胞器——核糖体。核糖体由 RNA 和蛋白质构成。支原体除核酸和蛋白质之外，还有许多酶类。经生物化学分析，它与较大的细胞有类似的代谢活动，因此，将其归入细胞，很多支原体能寄生在细胞内繁殖。最早发现的支原体是类胸膜肺炎病原体 (pleuropneumonia-like organism, PPLO)，然后又从动物、人体污染的环境中分离出很多支原体，发现它们中不少是致病的病原体。

(三) 原核细胞的典型代表——细菌

细菌是现存原核细胞的典型代表 (见第三章)。形态为球状或棒状。通常直径为 $0.5 \sim 5 \mu\text{m}$ ，有细胞膜和细胞壁，没有真正的细胞核 (无核膜)，只有核区，称拟核 (nucleoid) 或核质 (nuclear material)。电镜显示：细菌的拟核是由一条连续的 DNA 分子反复回旋卷曲盘绕而成的松散网状结构，也称为细菌染色体。拟核是原核细胞的主要特征。细胞质内有許多直径为 25nm 大小的颗粒，为核糖体。核糖体由两个亚单位 (30S 和 50S) 组成沉降系数

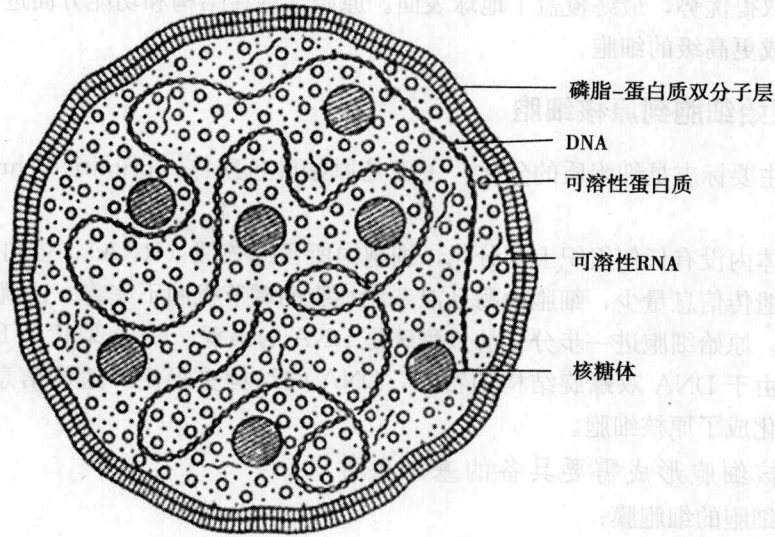


图 17-3 支原体结构的示意图

为 70S 的结构，是蛋白质合成的场所。细胞质内还散在着指导蛋白质合成的 RNA。细菌还具有运动器官——鞭毛。由原核细胞构成的生物称为原核生物，包括细菌和蓝藻菌等。

(四) 原核细胞的代谢和营养方式的进化

古代的原核细胞很可能靠地球上现成的有机物质生存，当某种代谢上有用的物质 D 被耗尽时，细胞内合成的新酶把另一种代谢上有用的物质 C 转化为 D。细胞便产生了由酶催化的代谢途径。还有一种可能，即古代的原核细胞从外界环境中获得代谢物质 A 通过合成的新酶使之转化为 B，再由一种新酶将 B 转变为 C。此类代谢反应的进化路线建立了细胞物质代谢反应链。所以代谢反应的进化也可看成是在细胞进化中一系列酶的相继出现而构成的很长和复杂的反应链。

古代原核细胞依靠原始地球上现成的有机物为营养物质进行生长繁殖，它们为异养生物 (heterotrophs)。随着细胞数目增多，原始地球现成的有机物供不应求。原始生命必须进一步改变营养方式，逐步发展成为能利用周围水环境和大气中的简单有机小分子和气体合成自身有机物的生物，即成为自养生物 (autotrophs)。自养生物有两种：一种是化能自养型生物，从无机化合物的氧化作用获得能量以进行生物合成。例如，硝化菌从氨氧化为亚硝酸盐，或亚硝酸盐氧化为硝酸盐的反应中获得能量合成有机物。另一种类型是光合自养生物，能利用太阳能将二氧化碳和水合成有机物。在营养方式分化过程中，细胞色素 C (卟啉) 的产生起着极其重要的作用。我们知道，细胞色素 c 可以利用日光进行光合作用。光合作用不但合成了有机物，同时产生大量的氧分子释放到地球的大气中。

原始的地球大气中不存在氧，所以古代原核生物的最古老代谢途径不得不在无氧条件下进行，例如，细胞内的葡萄糖经过无氧分解 (糖酵解) 而降解为乳酸，合成 ATP。ATP 是细胞进行各种生命活动的能量来源。现存的绝大多数生物仍然保存着糖的无氧分解途径。糖的无氧分解在细胞代谢功能上有着重要意义。

在生命演化过程中，生物能进行光合作用后，地球开始出现了氧，这就为好氧细胞的产生提供了有氧环境，出现了有氧氧化。氧是极其活泼的化学元素，它能和细胞质的许多组分

发生反应,所以对许多早期生物有毒害作用,正像对现有的厌氧菌是有毒的一样。但是,氧的这种活性在生命的进化过程中也被生物体作为化学能源加以开发和利用。生物能利用氧更充分地氧化体内的有机分子产生更多的能量。例如,1分子葡萄糖经无氧酵解生成乳酸或乙醇,最终产生2分子ATP。而1分子葡萄糖经过有氧氧化完全分解为 CO_2 和 H_2O 时却产生36或38分子ATP。有氧分解过程通常称为呼吸作用。呼吸作用产生更多的能量,大大促进细胞其他生命活动的发展。

二、从原核细胞到真核细胞

约35亿年之前,由原始细胞的分裂和进化形成了原核细胞,然后又经过漫长的年代,约在15亿年前,原核细胞发展到一个更高级的阶段,即真核细胞。由真核细胞构成的生物叫真核生物。真核细胞的产生是生命进化发展的又一次飞跃。

(一) 真核细胞起源的两种学说

真核细胞形成的主要标志是细胞器的形成。关于真核细胞起源的研究主要有两种学说,即内共生学说和经典学说。

1. 内共生学说

内共生学说(endosymbiosis theory)是美国波士顿大学的生物学家马古利斯(Margulis)提出的。这一学说认为,大约在十几亿年前,一些大型和具备吞噬能力的细胞,先后吞并几种原核细胞(细菌和蓝藻)。由于后者没有被吞噬细胞所分解消化,反而从寄生(parasitism)过渡到共生(symbiose),并演化成宿主细胞的细胞器,如认为叶绿体是内共生体,它起源于胞内共生的蓝藻;线粒体也是内共生体,它起源于胞内共生的好氧细菌;运动器(鞭毛和胞内微管系统)来自共生的螺旋菌(图17-4)等。内共生学说的依据是:①叶绿体和线粒体等从大小、结构(如膜结构)与原核细胞(蓝藻和细菌)相似;②线粒体、叶绿体和原核细胞中的DNA所含的双股分子与真核细胞染色体中的DNA不同,它不和蛋白质相结合,而是附着在线粒体、叶绿体内膜的内侧和原核细胞膜的内侧。线粒体、叶绿体和原核细胞的DNA是环状的,而真核细胞的DNA呈线状;③从生理功能上说,线粒体、叶绿体都具有半自主性,除了细胞核所含DNA的作用外,细胞器所含的DNA可指导合成自己的所需的蛋白质等。

内共生学说也存在着一些难点和证据不足之处。例如对细胞核起源难以解释,虽然对细胞核的来源问题,近期研究有重要的进展,但尚需继续研究的证实。

2. 经典学说

这种学说认为,真核细胞的起源和经典的进化论学说相一致,主张真核细胞是原核细胞通过自然选择和突变逐渐地进化而来的。

根据经典学说,尤泽尔(Uzzell, 1974年)等人提出了一个模型。认为细胞内细胞器和细胞核是由原始的原核细胞,通过一系列DNA的复制和质膜的内陷,形成双层膜结构,再经过结构分化和复制功能的消失(失去了许多重复基因所致),就形成了现代的真核细胞(图17-5)。

经典学说有它的合理性,它所提示的进化途径有一定的可能性。但其证据不足,对支持内共生说的事实根据又无法予以否定。因而多数学者倾向于内共生说。

(二) 真核细胞的特点

真核细胞具有更复杂的结构和完善的功能,与原核细胞比较,真核细胞有如下特点。

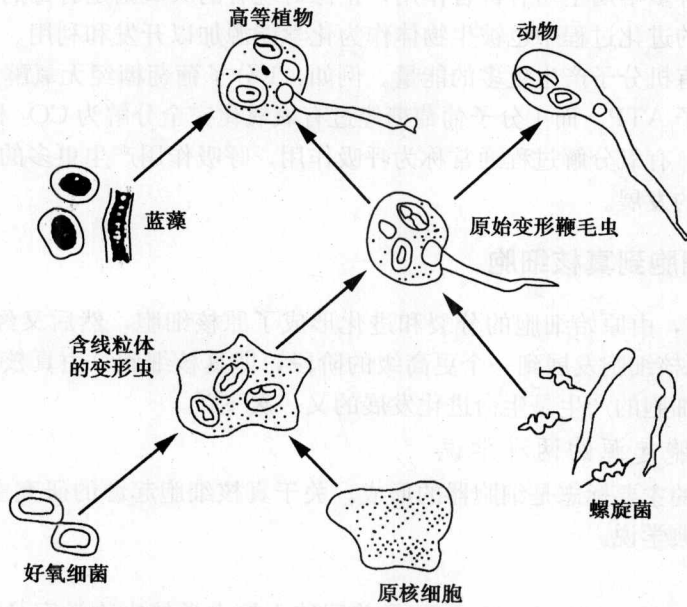


图 17-4 细胞起源“内共生学说”示意图

- 真核细胞的体积通常比原核细胞大 1000 多倍，细胞所含的物质也要按比例增加。

例如，人体细胞所含 DNA 量比典型细菌高 800 多倍，与此相适应就需要更大细胞膜界面及细胞内分区域，因此，真核细胞的胞质内有丰富的胞内膜系，除核膜、线粒体膜外，还有内质网、高尔基复合体、溶酶体及过氧化物酶体等。这些膜系在结构和功能上均高度特化，分别承担分泌、吸收、运输及生物合成等功能。真核细胞有内吞外吐现象，将胞内膜与质膜相联系。

- 真核细胞内的 DNA 集中于核内，核与细胞质之间以双层核膜为界，细胞内有各种复杂的细胞器。

- 真核细胞依靠线粒体进行代谢。

在细胞进化过程中，当大气中的氧成分越来越多时，一部分原核细胞不能生存而死亡，一部分原核细胞就迁移到缺氧的环境中以酵解产生有限的能量，也有一部分原核细胞适应周围环境进行氧化代谢。而真核细胞能利用线粒体氧化分解物质产生能量的优势，为细胞进行各种生理活动提供足够的能量。

- 真核细胞有细胞骨架。

细胞越大就越需要将细胞内结构安排有序，并能控制细胞本身或细胞内的运动。所有真核细胞内均存在细胞骨架，即肌动蛋白细丝及微管系统。

- 真核细胞中 DNA 的含量大大超过真核细胞蛋白质密码所需要的量。

真核细胞的基因表达调控机制与原核细胞不同。真核细胞中 DNA 量极多，大约只有 1% 的 DNA 用于蛋白质合成所需的基因表达，其余 99% 的 DNA 中有些起“结构”作用，有些起“调节”作用。这些起调节作用的 DNA 控制基因的开启与关闭，在真核细胞的基因表达机制中起着重要作用。

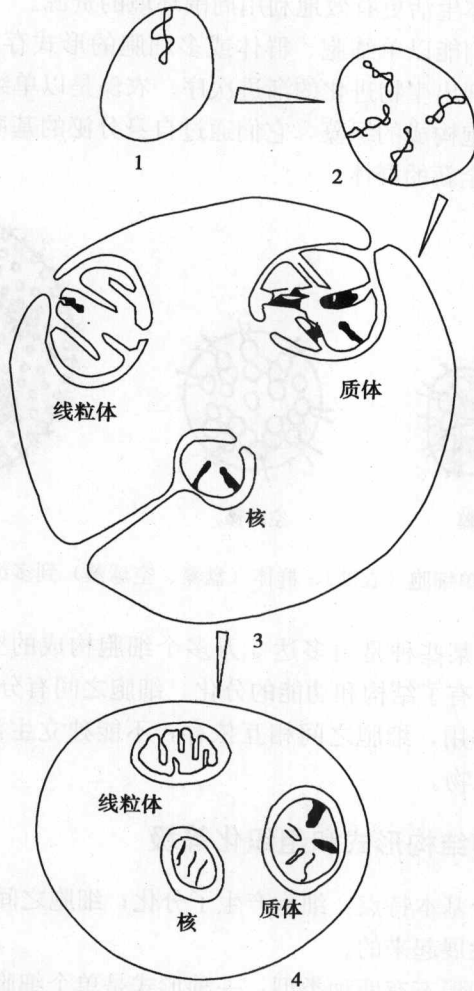


图 17-5 细胞起源“经典学说”示意图

第三节 从单细胞生物到多细胞生物

单细胞生物能利用简单的营养物质合成自身所需的有机物质，繁殖速度快，成功地适应了各种不同的生活环境。但是，多细胞生物则能很好利用单细胞不能利用的资源。受自然选择的作用导致单细胞向多细胞进化。多细胞生物的出现，可能在真核细胞形成几亿年后。单细胞生物向多细胞生物进化的方式可能是，先形成细胞群体再演化成具有各种特化细胞和一定结构形式、组织形式的多细胞生物。

一、由单细胞聚集成群体

多细胞生物进化早期可能由于某些细胞分裂后不散开而聚集在一起等原因形成群体。现存有些原核细胞，例如粘菌仍以原始形式的群体生活。粘菌生活在土壤中。它们以分泌的降解酶来分解有机分子作为食物。群体生活时，每个粘菌分泌的消化酶汇集在一起，提高了摄

取食物的效率。所以，群体生活更有效地利用周围环境的资源。

绿藻是真核生物，它们能以单细胞、群体或多细胞的形式存在（图 17-6）。根据不同种的绿藻的复杂程度，排列出生物进化的渐进次序。衣藻是以单细胞形式存在的绿藻。盘藻是由 4、8、16 或 32 个细胞构成的绿藻，它们通过自身分泌的基质分子群生在一起。每个细胞都相同，都能分裂产生全新的群体。

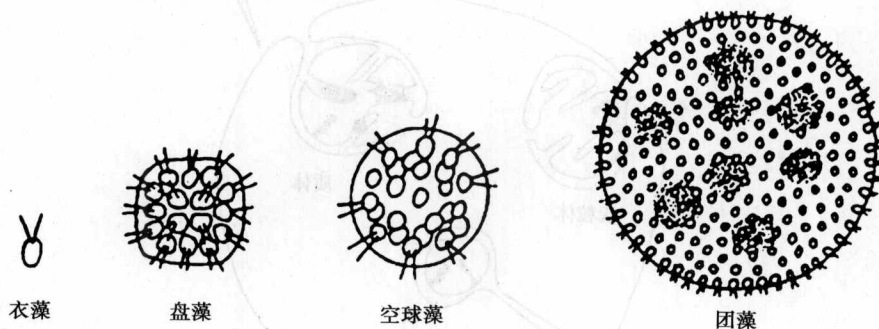


图 17-6 从单细胞（衣藻）、群体（盘藻、空球藻）到多细胞生物（团藻）

团藻也属绿藻，其中某些种是由多达 5 万多个细胞构成的空心球。团藻不像简单的群体，而更像多细胞生物，有了结构和功能分化，细胞之间有分工，少数细胞专司生殖，外围细胞有鞭毛，起运动作用，细胞之间相互依存，不能独立生活，如果解体生物体便会死亡。团藻是原始多细胞生物。

二、多细胞生物的结构形式和组织化等级

多细胞生物具有两个基本特点：细胞产生了分化；细胞之间又能协同合作。多细胞生物是在细胞群体的基础上发展起来的。

元古代的蓝菌化石的形态有两种类型：一种形式是单个细胞的形式，分散或者无规则地随机聚集，另一种形式是单个细胞大致有规律地排列或者聚集成有一定程度的形态、功能分化的细胞群体。真核生物的结构和功能有了高度分化，其结构形式主要有：①单细胞（如原生动物）。②多核体（coenocyte）。多核体又称多核细胞或合胞体，由一个细胞壁将多核细胞质团连结组成一种植物体构造。如某些水藻和真菌，由于发生细胞质生长和细胞核分裂，但无细胞壁形成而出现的一种情况，整个生物体可以是单个多核体。③细胞群体。由一定数目或不定数目的细胞构成的具一定形态或不定形态，有一定分化的细胞群体。④具有组织、器官、系统的有机体。

在许多多细胞生物中，细胞向不同方向分化，形成具有不同功能的细胞，在人体中约有几百种不同分化类型的细胞。结构和功能相似的细胞可相互联合形成组织（tissue），一种或几种组织可以协作形成器官（organ），一组器官相互配合形成系统（system）。各系统之间相互依赖，共同协作完成生物体的整个生命活动。在高等动物中，免疫细胞系统和神经系统是多细胞生物高度复杂性的两个顶峰，从这两个系统的作用，可以看到不同细胞之间的协同作用。

免疫细胞系统具有化学识别能力。当病毒和细菌等侵入动物体内时，免疫系统细胞能分泌特殊的蛋白质分子即抗体，抗体是具有免疫活性的成熟 B 细胞反复接受抗原的刺激，并

在 T 细胞和巨噬细胞的参与下转化为浆细胞之后分泌出来的。神经系统的功能是传递兴奋。在动物的反射活动中，它能迅速地将感受器接受的兴奋传到中枢，又把中枢的兴奋传到反应器。这种快速传递兴奋的装置不仅能使多细胞动物对周围变化做出迅速反应，而且还能使多细胞动物的各部分协调一致地动作。

提 要

生命起源于 35 亿年前，在生命出现前进行了漫长的化学进化过程。由无机小分子逐步进化成生物大分子多分子体系。然后通过生物进化过程由原始细胞转变成原核细胞，再演化成真核细胞，由单细胞生物发展成多细胞生物。在细胞进化过程中发生了许多变化，其中细胞膜的出现，染色质的形成，细胞核和细胞器的形成和复杂化等变化，在细胞进化史上有着极为重要的意义。单细胞生物再经过细胞分裂、细胞分化以及组织器官的形成等变化，历尽无数危机和难关发展成现有的高等生物。

关于细胞的进化，不同学派从不同角度，选择不同内容，采用不同方法进行研究，提出各自的观点和不同的学说。如：关于生物大分子形成的陆相起源学派和海相起源学派；原始细胞形成的团聚体学说和微球体学说；真核细胞形成的内共生学说和经典学说等。它们主要是根据模拟实验、生物化石和现存生物的特点等资料，推导出来的细胞发生和发展的规律。由于关于细胞进化的历史，谁都没有见过，而又不可能重演，提供直接证据的化石资料又相当有限，因此许多问题还不十分清楚，还有待于运用现代生物学理论和技术继续研究。

复习思考题 17

(一) 名词解释：

团聚体 微球体 原核细胞 真核细胞 多核体

(二) 问答题：

1. 细胞进化过程主要经过哪些阶段？
2. 生命分子的合成按照化学进化的观点大体上分成哪几个主要阶段？
3. 米勒的模拟实验在生命起源上的意义何在？
4. 真核细胞具备哪些在进化上更有生物学意义的特点？
5. 光合作用产生后对自然界有哪些重要影响？

(罗桐秀)

英汉细胞生物学词汇

A

- acceptor site 受体结合位
accidental cell death 意外性细胞死亡
acetyl-CoA 乙酰辅酶 A
acidic keratin 酸性角蛋白
acidine orange 吖啶橙
acrocentric chromosome 近端着丝粒染色体
acrosome 顶体
across membrane transport 跨膜运输
actin 肌动蛋白
actinomycin D 放线菌素 D
active transport 主动运输
acyl transferase 酰基转移酶
adaptin, AP 衔接蛋白
adaptor molecule 接头分子
adenine riboside, AdR 腺嘌呤核糖核苷
adenine, A 腺嘌呤
adhesion belt 粘着带
aging 衰老
agranular endoplasmic reticulum, ARE 无颗粒内质网
albumin 白蛋白
alkaline phosphatase, ALP 碱性磷酸酶
alpha-fetoprotein, AFP 甲胎蛋白
amblysome 混合性溶酶体
aminoacyl site, A 位 氨酰基部位
aminoacyl-tRNA synthetase 氨酰 tRNA 合成酶
aminoacyl-tRNA-protein transferase 氨酰 tRNA 蛋白转移酶
aminotransferase 转氨酶
amitosis 无丝分裂
anaphase 后期
anchoring junction 锚定连接
aneuploidy 非整倍态
annealing 退火
annular granule 孔环颗粒
antenna pigment 天线色素
anterograde transport 顺行转运
anticodon 反密码子
antioncogene 抑癌基因
antiport 对向运输
apoptosis 凋亡
apoptosis inducing factor, AIF 凋亡诱导因子
apoptosis protease activating factor 凋亡蛋白酶活化因子
apoptosome 凋亡体
apoptotic body 凋亡小体
adrenocorticotrophic hormone, ACTH 促肾上腺皮质激素
arm 外臂
asbestosis 石棉沉着病
assembly promoting domain 微管促进装配区
assembly reaction factor, ARF 装配反应因子
astral microtubule 星体微管
autolysis 自溶作用
autonomously replicating sequence, ARS 自主复制序列
autophago lysosome 自噬性溶酶体
autophagosome 自噬小体

autophagy 自噬作用
 autoradiography 放射自显影术
 autosome 常染色体
 autotrophs 自养生物
 axonema 轴丝

B

bacteria 细菌
 band III 斑带 III
 basal body 基体
 basal feet 基底足
 basic keratin 碱性角蛋白
 bence-Jones protein, BJP 本周蛋白
 binding protein 结合蛋白
 bioblast 生命小体
 biological membrane 生物膜
 biosynthetic pathway 生化合成途径
 biphasic beating 双相搏动
 blotting 印迹

C

C4 pathway C4 途径
 coacervate 团聚体
 cadherin 粘连素
 calcitonin, CT 降钙素
 calcitonin-gene-related peptide, CGRP
 降钙素基因相关蛋白
 calmodulin, CaM 钙调素也称钙调蛋白
 Calvin cycle 卡尔文循环
 cap-binding protein, CBP 帽结合蛋白
 capping protein 封端蛋白
 carcinoembryonic antigen, CEA 癌胚抗原
 carrier protein 载体蛋白
 catalase 过氧化氢酶
 catalytic receptor 催化受体
 cdk activating kinase, CAK cdk 激活酶
 cdk inhibitor, CKI CDK 抑制因子
 cell biology 细胞生物学
 cell coat 细胞外被
 cell culture 细胞培养

cell cycle compartments 细胞周期室
 cell cycle time, Tc 细胞周期时间
 cell cycle 细胞周期
 cell death 细胞死亡
 cell determination 细胞决定
 cell differentiation 细胞分化
 cell division 细胞分裂
 cell division cycle gene, CDC gene 细胞分裂周期基因
 cell engineering 细胞工程
 cell fusion 细胞融合
 cell junction 细胞连接
 cell line 细胞系
 cell membrane 细胞膜
 cell plate 细胞板
 cell proliferation 细胞增殖
 cell senescence 细胞衰老
 cell sociology 细胞社会学
 cell surface antigen 细胞表面抗原
 cell theory 细胞学说
 cell wall 细胞壁
 cellular aging 细胞衰老
 cellular aging clock 细胞衰老钟
 cellular oncogene, c-onc 细胞癌基因
 cellular oxidation 细胞氧化
 cellular respiration 细胞呼吸
 central dogma 中心法则
 central granule 中央颗粒
 central plug 中央栓
 central sheath 中央鞘
 centriolar satellite 中心粒随体
 centriole 中心粒
 centriole pinwheel 中心小轮
 centromere 着丝粒
 centromeric sequence, CEN sequence 着丝粒序列
 centrosome 中心体
 centrospheres 中心球
 chalone 抑素
 channel protein 通道蛋白

- chemical synapse 化学突触
- chiasma 交叉
- chlorophyll-protein complex 叶绿素-蛋白质复合物
- chloroplast 叶绿体
- chloroplast membrane 叶绿体膜
- choline phosph otransferase 胆碱磷酸转移酶
- chromatid 染色单体
- chromatin 染色质
- chromidial substance 核外染色质
- chromoprotein 色蛋白
- chromosomal microtubule 染色体微管
- chromosome 染色体
- ciliary rootlet 纤毛小根
- cilium 纤毛
- cis Golgi network, CGN 顺面高尔基网状结构
- cis-acting element 顺式作用元件
- cistern 扁平囊
- clathrin 网格蛋白
- clathrin coat 网格蛋白被
- clathrin-coated vesicle 网格蛋白有被囊泡
- CO₂ assimilation 二氧化碳同化
- coated pit 有被小窝
- coated vesicle 有被小泡
- coatmer-protein subunits I, COP I 有被蛋白亚单位 I
- codon 密码子
- coenocytes 多核体
- collagen 胶原
- collagen fiber 胶原纤维
- collagen fibril 胶原原纤维
- collagen molecule 胶原分子
- collagenase 胶原酶
- communication junction 通讯连接
- complex oligosaccharide 复合寡糖
- condensing vacuole 浓缩泡
- conjugated protein 结合蛋白质
- connexon 连接器
- constant region 恒定区
- constitutive heterochromatin 结构异染色质
- constitutive pathway of secretion 组成性分泌途径
- continuous secretion 连续分泌
- contractile ring 收缩环
- copy 拷贝
- core complex 核心复合物
- core protein 核心蛋白质
- cortisone 肾上腺皮质激素
- co-translation insertion 协同翻译插入
- co-translational translocation 协同翻译转移
- coupled transport 协同运输
- Crassulaceae 景天科
- crassulaceae acid metabolism, CAM 景天科酸代谢
- cristae 嵴
- crossing over (姐妹染色单体遗传物质) 交换
- cyclic photophosphorylation 循环式光合磷酸化
- cyclin 细胞周期蛋白
- cyclin box 细胞周期蛋白框
- cyclin-dependent kinase, CDK 细胞周期蛋白依赖激酶
- cycloheximide 放线菌酮
- cysteine aspartic acid specific protease 半胱氨酸蛋白水解酶
- Cytb_f 细胞色素 bf
- cytochalasin B 细胞松弛素 B
- cytochrome, Cyt 细胞色素
- cytokinesis 胞质分裂
- cytoplasm 细胞质
- cytoplasmic matrix or cytomatrix 细胞质基质
- cytoplasmic plaque 胞质斑
- cytoplasmic ring 胞质环
- cytoplast 细胞质体
- cytosine, C 胞嘧啶
- cytoskeleton 细胞骨架

cytosol 胞质溶液

D

dark field microscope 暗视野显微镜
 dark reaction 暗反应
 death domain, DD 死亡域
 dedifferentiation 去分化
 degeneracy 简并
 degradation control 降解控制
 degranulation 脱落
 denaturation 变性
 density gradient centrifugation 密度梯度离心
 deoxyribonucleic acid, DNA 脱氧核糖核酸
 desmin 结蛋白
 destruction box 破坏框
 determinant 决定子
 diacylglycerol, DG 甘油二酯
 diad 二分体
 differential centrifugation 差速离心
 differentiation subphase 分化状态
 differentiation therapy 分化治疗
 dihydrofolat reductase, DHFR 二氢叶酸还原酶
 dihydrouracil 二氢尿嘧啶
 diplosome 双心体
 diplotene 双线期
 direct division 直接分裂
 directional stem cell 定向干细胞
 disaggregation 解聚
 discontinuous secretion 非连续分泌
 discriminator 识别部
 DNA ladder DNA 梯状带图谱
 DNA probe DNA 探针
 DNA replication complex DNA 复制复合体
 docking protein 停泊蛋白
 docking receptor 停泊受体
 dolicol 多萜醇
 double minute chromosomes, DMs 双微体
 doublet 二联管

dynamamin 发动蛋白

dynein 动力蛋白

E

early endosome 早期内体
 effector 效应部
 elastin 弹性蛋白
 electric coupling 电偶联
 electron microscope 电子显微镜
 electron probe 电子探针
 electron-transfer chain 电子传递链
 elementary particle 基粒
 elongation factor, EF 延伸因子
 embryonic induction 胚胎诱导
 embryonic stem cell, ESC 干细胞
 endocytosis 胞吞作用
 endocytosis pathway 内吞途径
 endolysosome 内体性溶酶体
 endomembrane system 内膜系统
 endonuclease 核酶内切酶
 endoplasmic reticulum, ER 内质网
 endoplasmin 内质网素
 endosome 胞内体
 endosymbiosis hypothesis 内共生假说
 endosymbiosis theory 内共生学说
 enhancer 增强子
 enzyme 酶
 epidermal growth factor, EGF 表皮生长因子
 equatorial plate 赤道板
 ergastoplasm 动质
 ER-to-Golgi intermediate compartment 内质网-高尔基体中间体
 euchromatin 常染色质
 eukaryote 真核生物
 eukaryotic cell 真核细胞
 exit site 出口部位
 extension 延伸
 extracellular matrix, ECM 细胞外基质
 extrinsic protein 周边蛋白也称外在蛋白

F

facilitated diffusion 协助扩散
 factor associated suicide, Fas 自杀相关因子
 facultative heterochromatin 兼性异染色质
 Fas ligand, FasL Fas 配体
 fascin 束捆蛋白
 fatty acyl coA 脂酰辅酶 A
 ferredoxin, Fd 铁氧还蛋白
 ferritin, Fer 铁蛋白
 fibrillar component 纤维成分
 fibroblast growth factor, FGF 成纤维细胞生长因子
 fibronectin, FN 纤黏连蛋白
 fibrous actin, F-actin 聚合型的纤维多聚体
 filamin 细丝蛋白
 Fimbrin 丝束蛋白
 fish-trap 捕鱼笼式
 flagellum 鞭毛
 flexion 弯曲运动
 flip-flop 翻转运动
 flippase 翻转酶
 flow cytometer 流式细胞仪
 fluid mosaic model 液态镶嵌模型
 fluorescence microscope 荧光显微镜
 focal contact 黏着斑
 forming face 形成面
 fractionation 分离
 freeze-etching 冰冻蚀刻法

G

ganglioside 神经节苷脂
 gap1 (G₁ 期) DNA 合成前期
 gap2 (G₂ 期) DNA 合成后期
 gelsolin 凝溶胶蛋白
 genetic code 遗传密码
 genome 基因组
 germ plasm 生殖质
 gerontology 老年学

glial fibrillary acidic protein 胶质纤维酸性蛋白
 globular actin, G-actin 球形单体
 globulin 球蛋白
 glucocorticoid response element, GRE 糖皮质激素反应元件
 glutelin 谷蛋白
 glycogen storage disease type II II 型糖原储积病
 glycoporphin 血型糖蛋白
 glycoprotein 糖蛋白
 glycosaminoglycan, GAG 氨基葡聚糖
 glycosyl transferase 糖基转移酶
 glycosylation 糖基化
 Golgi apparatus 高尔基器
 Golgi body 高尔基体
 Golgi complex 高尔基复合体
 Golgi stack 高尔基体堆
 gonadotropin releasing hormone, GnRH 促性腺激素释放激素
 G-protein-linked receptor 偶联 G 蛋白受体
 grana lamella 基粒片层
 granular component 颗粒成分
 granular endoplasmic reticulum, GER 颗粒内质网
 granum thylakoid 基粒类囊体
 green fluorescent protein, GFP 绿色荧光蛋白
 grey crescent 灰色新月区
 growing period 生长期
 growth factor, GF 生长因子
 growth fraction, GF 细胞群体增殖比值
 growth receptor bound protein 2, Grb2 接头蛋白
 GTP-binding regulatory protein G 调节蛋白或 G 蛋白
 guanine riboside, GdR 鸟嘌呤核糖核苷
 Guanine, G 鸟嘌呤
 guanylate cyclase, GC 鸟苷酸环化酶

H

half life 半寿期
 half-nucleosome 半核体
 Hayflick limitation Hayflick 界限
 heat shock protein, Hsp 热休克蛋白
 heat shock response element, HSE 热休克反应元件
 heavy chain 重链
 helix-loop-helix 螺旋-环-螺旋
 helix-turn-helix 螺旋-转角-螺旋
 hemoglobin, Hb 血红蛋白
 heterochromatin 异染色质
 heterodimers 异二聚体
 heterokaryon 异核体
 heterophago lysosome 异噬性溶酶体
 heterophagy 异噬作用
 heterotrophs 异养生物
 highly repetitive sequence 高度重复序列
 high-mannose oligosaccharide 高甘露糖寡聚糖
 histone 组蛋白
 histone transacetylases, HATs 组蛋白乙酰基转移酶
 histone deacetylases, HDACs 组蛋白去乙酰基酶
 homeobox 同源异形盒
 homeodomains 同源异形结构域
 homogenously stained region, HSR 均染区
 homocaryon 同核体
 homologous chromosome 同源染色体
 homology 同源结构域
 house-keeping gene 管家基因
 house-keeping protein 管家蛋白
 human chorionic gonadotropin, hCG 人绒毛膜促性腺激素
 human embryonic stem cell, hESC 人类胚胎干细胞
 Human Genome Project, HGP 人类基因组计划

human leucocytic antigen, HLA 人白细胞抗原
 human papilloma virus, HPV 人乳头瘤状病毒
 hyaluronic acid, HA 透明质酸
 hyaluronidase 透明质酸酶
 hybrid cell 杂种细胞
 hybrid protein 杂合蛋白
 hybridoma cell 杂交瘤细胞
 hydroxylation 羟基化

I

light reaction 光反应
 imaginal disc 成虫盘
 immortal 永生化
 immunoelectron microscopy 免疫电镜技术
 immunofluorescence microscopy 免疫荧光显微镜技术
 immunohistochemistry 免疫组织化学法
 importin 输入蛋白
 in situ end-labeling, ISEL 原位末端标记
 in situ hybridization 原位杂交
 inborn lysosomal disease 先天性溶酶体病
 indirect division 间接分裂
 inhibitory receptor, Ri 抑制型受体
 initiation factor, IF 起始因子
 inner and outer nuclear membrane 内、外(层)核膜
 inner chamber 内室
 inner membrane 内膜
 inositol 1, 4, 5-trisphosphate, IP3 三磷酸肌醇
 inositol-1, 3, 4-trisphosphate 肌醇-1, 3, 4-三磷酸
 inositol-1, 3, 4, 5-tetraphosphate, IP4 肌醇-1, 3, 4, 5-四磷酸
 Insulin-like growth factor, IGF 胰岛素样生长因子
 integral protein 整合蛋白
 inter cristal 嵴间腔

- intracrystal space 峰内腔
intermediate filament, IF 中间纤维
intermembrane space 膜间腔
internal reticular apparatus 内网器
internal signal peptide 内信号肽
interphase 间期
intra-nucleolar chromatin 核仁内染色质
intrinsic protein 内在蛋白
invagination 核膜内陷
inverted repeat, IR 反向重复序列
ion channel receptor 离子通道受体
ion gated channel 离子闸门通道
ionic coupling 离子偶联
IP3 三磷酸肌醇
isoacceptor-tRNA 同工受体 tRNA 或同工 tRNA

J

- janus green 詹纳斯绿
junctional complex 连接复合体

K

- karyomitosis 核分裂
karyoplasms 核质
karyotype 核型
keratin 角蛋白
kinetochore 动粒

L

- lactate dehydrogenase, LDH 乳酸脱氢酶
lamella structure model 结构模型
lamin 核纤层蛋白
laminin, LN 层黏连蛋白
large single copy region, LSC 大单拷贝区
laser confocal scanning microscope 激光共聚焦扫描显微镜
lateral diffusion 侧向扩散
leader sequence 导肽
leptotene 细线期
leucine zipper 亮氨酸拉链

- ligand 配体
light chain 轻链
light harvesting complex, LHC 捕光复合物
light harvesting pigment 捕光色素
light microscope 光学显微镜
limit resolution 分辨率
ligand gated channel 配体闸门通道
lipid droplet 脂滴
lipofuscin 脂褐质
lipoprotein 脂蛋白
liposomes 脂质体
locus control region, LCR 基因座控制区
long arm 长臂
loop model 袢环模型
low density lipoprotein, LDL 低密度脂蛋白
luxury gene 奢侈基因
luxury protein 奢侈蛋白
lysosome 溶酶体

M

- mannose-6-phosphate, M6P 甘露糖-6-磷酸
matrix 基质
matrix-attached region, MAR 核基质结合序列
maturation division 成熟分裂
maturation period 成熟期
maturation promoting factor, MPF 促卵细胞成熟因子
mature face 成熟面
medial Golgi stack, MGS 高尔基中间膜囊
meiosis 减数分裂
membrane antigen 膜抗原
membrane flow 膜流
membrane transport protein 膜转运蛋白
membranous structure 膜相结构
mesosome 中间体
messenger RNA, mRNA 信使 RNA
metabolic coupling 代谢偶联

- metacentric chromosome 中央着丝粒染色
 色体
- metal binding protein 金属结合蛋白
- metaphase 中期
- MGDG 单半乳糖甘油二酯
- microtubule organizing center, MTOC
 微管组织中心
- microinjection 显微注射
- microbody 微体
- microfilament, MF 微丝
- micromanipulation 显微操作
- micromanipulator 显微操作器
- microperoxisome 微过氧化物酶体
- microRNA, miRNA 微RNA
- microscopic structure 显微结构
- microsomes 微粒体
- microtubule, MT 微管
- microtubule-associated proteins, MAP
 微管结合蛋白
- middle repetitive sequence 中度重复序列
- microstrip 微带
- mitochondrion 线粒体
- mitosis 有丝分裂
- mitosis-promoting factor, MPF 促有丝分
 裂因子
- mitotic apparatus 有丝分裂器
- mitotic clock 有丝分裂时钟
- mitotic factor 有丝分裂因子
- mitotic phase, M期 有丝分裂期
- mixed function oxidases 混合功能氧化酶
- molecular chaperone 分子伴侣
- molecular sensor 分子感受器
- monad 单分体
- monoclonal antibody 单克隆抗体
- monooxygenases 单加氧酶
- monopotent / unipotent stem cell 单能干
 细胞
- M-phase promoting factor, MPF M期促进
 因子
- multipass transmembrane protein 多次跨膜
 protein
- multiplication period 增殖期
- multivesicular 多泡体
- myelin figure 髓样结构
- myoblast 成肌细胞
- myofibril 肌原纤维
- myosin 肌球蛋白
- myosin I 肌球蛋白 I
- myosin II 肌球蛋白 II
- N**
- N-acetyl-glu-cosamine N-乙酰葡萄糖胺
 分子
- necrosis 坏死
- nephroblastoma 肾母细胞瘤
- nerve growth factor, NGF 神经生长因子
- nestin 巢蛋白
- neurofilament protein 神经纤维蛋白
- neuron growth factor receptor, NGFR
 神经生长因子受体
- nexin 连接蛋白
- nitric oxide synthase, NOS 一氧化氮合酶
- N-linked glycosylation N-连接糖基化
- N-linked oligosaccharides N-连接寡糖
- noncyclic photophosphorylation 非循环式
 光合磷酸化
- non-histone 非组蛋白
- non-homologous chromosome 非同源染
 色体
- non-membranous structure 非膜相结构
- Northern blot Northern 印迹法
- nuclear basket 核篮
- nuclear envelope 核被膜
- nuclear lamina 核纤层
- nuclear localization signal, NLS 核定位
 信号
- nuclear material 核质
- nuclear matrix associated protein, NMAP
 核基质结合蛋白
- nuclear matrix protein, NMP 核基质蛋白

- nuclear pore 核孔
nuclear pore complex 核孔复合体
nuclear ring 核质环
nuclear skeleton 核骨架
nucleic acid 核酸
nucleic acid hybridization 核酸分子杂交
nucleoid 类核体或拟核
nucleolar associated chromatin 核仁相随染色质
nucleolus organizing region, NOR 核仁形成区
nucleoplasmin 核质蛋白
nucleoprotein 核蛋白
nucleosome 核小体
nucleus 细胞核
numeric aperture 镜口率
- O**
- occluding junction 封闭连接
O-linked glycosylation O-连接的糖基化
oncofetal proteins 癌胚蛋白
oncogene 癌基因
oogonium 卵原细胞
organ 器官
osmiophilic droplet 嗜锇滴
outer membrane 外膜
ovum 卵子
owl 枭
oxidase 氧化酶
oxidative phosphorylation 氧化磷酸化
- P**
- pachytene 粗线期
pancreatic oncofetal antigen, POA 胰胚胎抗原
paranemin 平行蛋白
parasitism 寄生
parental imprinting 亲本印记
passive transport 被动运输
PC 磷脂酰胆碱
percentage labeled mitoses, PLM 标记有丝分裂比率
pericentriolar material, PCM 中心粒周围物质
perinuclear space 核周间隙
perinucleolar chromatin 核仁周围染色质
periphera protein 周边蛋白
peripheral granule 周边颗粒
peripherin 外周蛋白
peroxisome 过氧化物酶体
PG 磷脂中有磷脂酰甘油
phagocytosis 吞噬作用
phagolysosome 吞噬性溶酶体
phagosome 吞噬小体
phalloidin 鬼笔环肽
phase contrast microscope 相差显微镜
phase separation 相分离
phase transition 相变
phenobarbital 苯巴比妥
phosphatidic acid 磷脂酸
phosphatidylinositol-4-monophosphate, PIP 磷脂酰肌醇-4-磷酸
phosphatidylinositol, PI 磷脂酰肌醇
phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate, PIP₂ 磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸
phospholipid exchange protein, PEP 磷脂转换蛋白
phospholipid transfer protein, PTP 磷脂转移蛋白
phospholipid translocator 磷脂转移器
phosphoprotein 磷蛋白
photophosphorylation 光合磷酸化
photosynthetic chain 光合链
photosynthetic unit 光合作用单位
photosystem I, PSI 光系统 I
photosystem II, PSII 光系统 II
phragmoplast 成膜体
phygosome 吞噬体
phytoferritin 植物铁蛋白
pinocytic vesicle 胞饮小泡

- pinocytosis 吞饮作用
 pinosome 胞饮体
 plasma membrane 质膜
 Plastid 质体
 plastocyanin, PC 质体蓝素
 plastoquinone, PQ 质体醌
 platelet-derived growth factor, PDGF 血小板源生长因子
 pleuropneumonia-like organism, PPLO 类胸膜肺炎病原体
 pluripotency 细胞多能性
 pluripotent stem cell 多能干细胞
 polar microtubule 极微管
 pole plasm 极质
 polymerase chain reaction 聚合酶链式反应
 porin 孔蛋白
 positive feedback loop 正反馈途径
 post-transcriptional gene silencing, PTGS 转录后沉默
 premature chromosome condensation, PCC 早熟染色体凝集
 pre-meiosis interphase 减数分裂前间期
 prepeptide 前肽
 preproinsulin 前胰岛素原
 primary constriction 初级缢痕
 primary culture 原代培养
 primary lysosome 初级溶酶体
 primary reaction 原初反应
 primer 引物
 primer glycogen 引物糖原
 primitive chromosome 原始染色体
 procollagen molecule 前胶原分子
 profilament 原纤维
 profiling 前纤维蛋白
 programmed cell death, PCD 程序性细胞死亡
 proinsulin 胰岛素原
 prokaryote 原核生物
 prokaryotic cell 原核细胞
 proliferating cell nuclear antigen, PCNA 增殖细胞核抗原
 promoter 启动子
 prophase 前期
 proplastid 前质体
 prostate specific antigen, PSA 前列腺特异性抗原
 proteasome 蛋白酶体
 protein disulfide isomerase, PDI 蛋白二硫键异构酶
 protein kinase A, PKA 蛋白激酶 A
 proteinoid microspheres 类蛋白微球体
 proteoglycan, PG 蛋白聚糖
 protooncogene 原癌基因
 protoplasm 原生质
 proximate tissue interaction 近端组织的相互作用
- ## Q
- quiescence subphase 静止期或休眠期
- ## R
- random repeat 随机重复
 reacting tissues or cells 反应组织或细胞
 reaction centre pigment 中心色素
 reading site 阅读部位
 receptor 受体
 receptor disease 受体病
 receptor mediated endocytosis 胞吞作用
 redifferentiation 再分化
 regeneration 再生
 regeneration blastema 再生芽基
 regulated pathway of secretion 调节性分泌途径
 relieving factor, RF 释放因子又称终止因子
 replication origin 复制起点
 replicon 复制子
 residual body 残余小体
 resolution 分辨率
 respiratory chain 呼吸链

- response elements 反应元件
 restriction point 限制点
 retention protein 驻留蛋白
 retention signal peptide 滞留信号肽
 retinoblastoma, Rb 视网膜母细胞瘤
 retrograde transport 逆向运输
 rheumatoid arthritis 类风湿性关节炎
 ribonucleic acid, RNA 核糖核酸
 ribophorin 核糖体结合蛋白
 ribosome 核糖核蛋白体, 简称核糖体或核蛋白体
 ribulose-1, 5-biphosphate carboxylase, RuB-Pase or Rubisco 核酮糖-1, 5-二磷酸羧化酶
 RNA interference, RNAi RNA 干扰
 RNA ribosomal, rRNA rRNA 核糖体
 rotation 旋转运动
 rough endoplasmic reticulum, RER 粗面内质网
 rough microsomes 粗面微粒体
 Rous Sarcoma Virus, RSV 罗氏肉瘤病毒
- ### S
- saccharomyces cerevisiae 芽殖酵母
 salvage receptor 救援受体
 sarcoplasmic reticulum 肌质网
 satellite 随体
 scanning electron microscope 扫描电子显微镜
 secondary constriction 次级缢痕
 secondary culture 传代培养
 secondary lysosome 次级溶酶体
 secreting vacuole 分泌泡
 secretory pathway 分泌途径
 sedimentation coefficient 沉降系数
 seleroprotein 硬蛋白
 semiautonomous organelle 半自主性细胞器
 sex chromosome 性染色体
 shaft 纤毛本体
 short arm 短臂
 shuttling receptor 穿梭受体
 siderosome 含铁小体
 signal codon 信号密码
 signal hypothesis 信号假说
 signal peptidase 信号肽酶
 signal peptide 信号肽
 signal recognition particle, SRP 信号识别颗粒
 signal recognition peptide receptor, SRP receptor 信号识别肽受体
 signaling cells 信号细胞
 silencer 沉默子
 silicosis 硅肺
 simple diffusion 简单扩散
 simple protein 单纯蛋白质
 single-pass transmembrane protein 单次跨膜蛋白
 singlet 单管
 SiO₂ 二氧化硅
 sister chromatid 姐妹染色单体
 sliding microtubule hypothesis 微管滑动假说
 small interfering RNA, siRNA 小干扰RNA
 small nuclear RNA molecule, snRNA 核内小分子RNA
 smooth endoplasmic reticulum, SER 滑面内质网
 smooth microsomes 滑面微粒体
 solenoid 螺线管
 somatic stem cell 成体干细胞
 Southern blot Southern 印迹法
 special serum proteins 特殊血浆蛋白
 spectrin 血影蛋白
 sperm 精子
 spermatin 精蛋白
 spermatogonium 精原细胞
 S-phase promoting factor, SPF S 期激活因子
 split protein 裂解蛋白质

- spoke 辐
 SQDG 磷脂
 SR protein-specific kinase SR 蛋白特异激酶
 stack of saccule 扁平膜囊堆
 starch grain 淀粉粒
 start-transfer signal 起始转移信号
 stem cell 干细胞
 stimulatory receptor, Rs 刺激型受体
 stop-transfer signal 停止转移信号
 storage disease 储积病
 stress fiber 应力纤维
 stroma 基质
 stroma lamella 基质片层
 stroma thylakoid 基质类囊体
 submetacentric chromosome 亚中着丝粒染色体
 submicroscopic structure 亚显微结构
 submicrotubule A 亚微管 A
 supersolenoid 超螺线管
 suppressive domain, SD 抑制域
 suppressor tRNA 校正 tRNA
 symbiose 共生
 symport 共运输
 synapsis 联会
 synaptonemal complex, SC 联会复合体
 synchronization of cell 细胞同步化
 synemin 联丝蛋白
 synonymous codon 同义密码子
 synthetic phase, S 期 DNA 合成期
 system 系统
- ### T
- talin 踝蛋白
 target cells 靶细胞
 Tay-Sachs disease 泰-萨氏病
 telocentric chromosome 端着丝粒染色体
 telomerase 端粒酶
 telomere 端粒
 telomeric sequence, TEL sequence 端粒序列
 telophase 末期
 temperature sensitive (ts) mutants 温度敏感突变体
 teratoma 畸胎瘤
 terminal deoxynucleotidyl transferase, TdT 末端脱氧核苷酸转移酶
 terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick endlabelling, TUNEL 末端脱氧核苷酸转移酶介导的 dUTP 缺口末端标记
 terminal differentiation 终末分化
 terminalization 端化
 tetrad 四分体
 Tetrahymena thermophila 喜热四膜虫
 thiamine pyrophosphatase 硫胺素焦磷酸酶
 three-legged protein complex 三脚蛋白复合体
 thylakoid 类囊体
 Thymidine riboside, TdR 胸腺嘧啶核糖核苷
 thymine, T 胸腺嘧啶
 Thymosin 胸腺素
 tight junction 紧密连接
 tissue 组织
 tissue-specific genes 组织特异性基因
 totipotency 全能性
 totipotent stem cell, TSC 全能干细胞
 trans Golgi network, TGN 反面高尔基网状结构
 trans-acting factor 反式作用因子
 transdifferentiation 转分化
 transducer 转换部
 transfer RNA, tRNA 转运 RNA
 transfer vesicle 运输小泡
 transformation period 变形期
 transforming growth factor, TGF 转化生长因子
 transitional subphase 过渡状态
 translocator 转移器
 transmembrane protein 跨膜蛋白

transmembrane region 跨膜结构域
 transmission electron microscope 透射电子显微镜
 transport through nuclear pore 核孔运输
 treadmilling 踏车行为
 tricarboxylic acid cycle 三羧酸循环
 triplet 三联管
 tropomodulin 原调蛋白
 tropomyosin 原肌球蛋白
 troponin 肌钙蛋白
 trypsin 胰蛋白酶
 tubulin 微管蛋白
 tumor antigen 肿瘤抗原
 tumor genetic susceptibility 肿瘤遗传易感性
 tumor marker, TM 肿瘤标志物
 tumor necrosis factor receptor, TNFR 肿瘤坏死因子受体
 tumor-associated antigens 肿瘤相关抗原
 two hits theory 二次突变学说
 tyrosine-specific protein kinase, TPK 酪氨酸蛋白激酶

U

ubiquitin 泛素
 ubiquitin-dependent pathway 依赖于泛素的降解途径
 UDPG-glycogen transferase 尿苷二磷酸葡萄糖-糖原转移酶
 ultrastructure 超微结构
 uniport 单向运输
 unique sequence 单一序列

unit membrane 单位膜
 unit membrane model 单位膜模型
 unit structure 单位结构
 uracil, U 尿嘧啶
 urate oxidase 尿酸氧化酶

V

vacuolar system 液泡系统
 vacuoles 大囊泡
 variable region 可变区
 vesicles 小泡
 vesicular transport 囊泡运输
 vesiculation 囊泡化
 vimentin 波形蛋白
 vinculin 粘着斑连接蛋白
 viral oncogene, v-onc 病毒癌基因
 voltage gated channel 电压

W

Western blot 蛋白质印迹法

Z

zinc finger 锌指结构
 zygote 偶线期
 α -actinin α -辅肌动蛋白
 α -amanitin α -鹅膏蕈碱
 α -helix structured 螺旋结构
 β -pleated sheet β 片层
 5-Bromine deoxy-Uridine, 5-BrdU 5-溴脱氧尿嘧啶核苷

参考文献

1. 刘艳平, 沈韫芳, 韩凤霞. 医学细胞生物学. 长沙: 中南大学出版社, 2001
2. 宋今丹, 杨恬, 李丰. 医学细胞生物学 (第三版). 北京: 人民卫生出版社, 2005
3. 宋今丹, 章静波, 陈誉华. 医学细胞分子生物学. 北京: 人民卫生出版社, 2003
4. 宋今丹. 医学细胞生物学. 北京: 人民卫生出版社, 1997
5. 汤雪名. 医学细胞生物学. 北京: 科技出版社, 2003
6. 杨恬, 左伋. 细胞生物学. 北京: 人民卫生出版社, 2005
7. 胡维新. 医学分子生物学, 北京: 科学出版社, 2007
8. 杨建一. 医学细胞生物学 (第二版). 北京: 科学出版社, 2006
9. 夏家辉, 刘德培. 医学遗传学. 北京: 人民卫生出版社, 2004
10. 王金发. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2003
11. 杨抚华, 等. 医学细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002.
12. 韩贻仁. 分子细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002
13. 汪堃仁, 薛绍白, 柳惠图. 细胞生物学. 北京: 北京师范大学出版社, 2002
14. 翟中和, 王喜中, 丁明孝. 细胞生物学. 北京: 高等教育出版社, 2000
15. 余从年等. 医学细胞生物学导论. 北京: 科学出版社, 2000
16. 傅松滨, 王培林. 医学遗传学 (第二版). 北京: 人民卫生出版社, 2007
17. 来茂德. 医学分子生物学. 北京: 人民卫生出版社, 1999
18. 柳家英. 医学遗传学. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1998
19. 陈诗书, 等. 医学细胞与分子生物学. 上海: 上海医科大学出版社, 1995
20. 李难. 进化论教程. 北京: 高等教育出版社, 2000
21. Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. Molecular Biology of cell. 4th ed. New York. Landon: Garland Publishing Inc, 2002
22. Alberts B, Bray D, Hopkin K, et al. Essential Cell Biology. 2th ed. New York, London: Garland Science. 2003Londishi H, Berk A, Zipurshy S L, Molecular Cell Biology. 4th ed. New York: AM in print of W. H. Freeman and Con, 2002
23. Hengartner MO. The biochemistry of apoptosis. Nature. 2000, 407 (6805): 770~776.
24. Londishi H, Berk A, Matsudaira P. et al. Molecular Cell Biology. 5th ed. New York: W. H. Freeman and Company, 2003
25. Li P, Nijhawan D, Budihardjo I, Srinivasula SM, Ahmad M, Alnemri ES, Wang X. Cytochrome c and dATP-dependent formation of Apaf-1/caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade, Cell. 1997, 91 (4): 479~489.

26. Acehan D, Jiang X, Morgan DG, Heuser JE, Wang X, Akey CW. Three-dimensional structure of the apoptosome: implications for assembly, procaspase-9 binding, and activation. *Mol Cell*. 2002, 9 (2): 423~432.

27. Mehmet H. Caspases find a new place to hide. *Nature*. 2000, 403 (6765):

28. Thomas D. Pollard, William C. Earnshaw. *Cell biology*. Philadelphia: WC Saunders, 2002

29. Darnell J, et al. *Molecularr Cell Biology*. 3th ed. New York: Scientific American Books Inc, 1995

30. John H Postle thwait, et al. *Biology Bringing Science to Life*. New York: Megraw - Hiu Inc, 1991

31. Karp Gerald. *Cell and Molecularr Biology: Concepts and Experiments*. 3th ed. New York: John Wiley Sons Inc, 2002

32. Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. *Molecular Biology of cell*. 4th ed. New York: Garland Publishing Inc. 2002

33. Alberts B, Bray D, Hopkin K, et al. *Essential Cell Biology*. 2nd ed. New York: Garland Science, 2001

34. Landish H, Bork A, Matsubara B, et al. *Molecular Cell Biology*. 5th ed. New York: W. H. Freeman and Company, 2003

35. Li R, Nighawan D, Budaricko I, Srinivasulu SM, Ahmad M, Alencan ES, Wang X. Cytochrome c and BAX-dependent formation of Apaf-1-caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade. *Cell*. 1997, 91 (1): 479~489

36. 李金发. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

37. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

38. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

39. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

40. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

41. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

42. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

43. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

44. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

45. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

46. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

47. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

48. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

49. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

50. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

51. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

52. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

53. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

54. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

55. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

56. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

57. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

58. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

59. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

60. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

61. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

62. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

63. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

64. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

65. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

66. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

67. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

68. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

69. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

70. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

71. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

72. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

73. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

74. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

75. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

76. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

77. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

78. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

79. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

80. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

81. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

82. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

83. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

84. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

85. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

86. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

87. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

88. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

89. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

90. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

91. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

92. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

93. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

94. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

95. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

96. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

97. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

98. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

99. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002

100. 细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2002