一条线

生物化学和细胞生物学，只写一章：一环扣一环，从一个水分子一直推到一个细胞的生与死。

163 环 · 1624 道华农真题 · 66 道思路题 · 约 121 千字 ·

读法：每一环的标题连着读就是整条推理链。标题右边的圆点是华农考过的年份数：实心黑＝五年以上，灰＝三到四年，空心＝一到两年。总览里加粗、带灰底线的是近五年反复考的环（题库缺几块：生化 2021–2023 只有名词和大题；细胞 2021、2024 没有选择题，2023 只有 2 道）。加粗是关键词，后面的小字是英文，浅灰底是要背的原句。

整条线一屏看完（点关键词跳到那一环）

一、谁干活 水、蛋白质、酶

起点 1 细胞学说 → 2 细胞的共性 → 3 原核与真核 → 4 病毒 → 5 水与弱键 → 6 pH与pKa → 7 四类分子

蛋白质 8 二十种侧链 → 9 等电点 → 10 紫外与显色 → 11 肽键 → 12 一级结构 → 13 二级结构 → 14 三级结构 → **15 序列决定折叠** → 16 四级结构 → 17 肌红蛋白与血红蛋白 → 18 别构与协同 → 19 Bohr效应与BPG → 20 CO与镰状细胞 → 21 看见与改造结构

酶 22 酶的本质 → 23 活化能与过渡态 → 24 活性中心 → 25 催化机制 → 26 最适pH与温度 → **27 米氏方程** → **28 酶的抑制** → 29 别构酶 → 30 共价修饰与酶原 → **31 辅酶** → 32 脂溶性维生素

二、劲从哪来 膜、能量、代谢

膜与运输 **33 脂质** → **34 脂双层** → **35 流动镶嵌模型** → 36 膜蛋白 → 37 被动运输 → **38 泵** → 39 协同运输 → **40 胞吞与胞吐**

糖与糖的氧化 41 自由能与ATP → 42 单糖 → **43 二糖与多糖** → **44 糖缀合物** → 45 糖酵解 → 46 糖酵解的调节 → 47 丙酮酸的去路 → 48 丙酮酸脱氢酶 → 49 三羧酸循环 → **50 代谢的枢纽**

氧化磷酸化与光合作用 51 氧化还原电位 → 52 呼吸链 → **53 化学渗透** → 54 ATP合酶 → 55 解偶联与呼吸控制 → 56 ATP的总账 → **57 线粒体** → 58 光反应 → 59 卡尔文循环

糖与脂的存取 60 糖原 → **61 糖异生** → **62 戊糖磷酸途径** → 63 区室与穿梭 → **64 β氧化** → **65 酮体** → 66 脂肪酸合成 → 67 脂的合成与运输 → 68 胆固醇

氮与代谢的整合 69 脱氨基 → **70 尿素循环** → 71 碳骨架 → 72 固氮与氨基酸合成 → 73 核苷酸代谢 → 74 物质代谢的联系 → 75 代谢的调节

三、图纸在哪 DNA、RNA、蛋白质的合成与投递

DNA 76 核苷酸与核酸 → 77 双螺旋 → 78 基因组 → **79 染色质** → 80 细胞核 → 81 复制的规则 → 82 复制叉 → 83 端粒 → 84 复制的忠实性 → 85 DNA修复 → 86 突变 → 87 DNA重组

表达 88 转录的规则 → 89 原核转录 → 90 真核转录 → 91 mRNA加工 → **92 选择性剪接与RNA编辑** → 93 rRNA与核糖体 → 94 逆转录 → 95 遗传密码 → 96 tRNA与氨基酸活化 → 97 翻译 → 98 翻译后加工

分选与降解 99 分选信号 → 100 信号假说 → 101 内膜系统 → **102 内质网** → **103 糖基化** → 104 高尔基体 → **105 膜泡运输** → 106 溶酶体 → 107 过氧化物酶体 → 108 线粒体蛋白的输入 → **109 核孔运输** → 110 泛素与蛋白酶体 → **111 自噬**

四、听谁指挥 基因表达的调节、细胞信号

基因表达的调节 112 调控的层次 → 113 乳糖操纵子 → 114 色氨酸操纵子 → 115 DNA结合蛋白 → 116 真核基因的激活 → **117 表观遗传** → **118 RNA干扰** → 119 细菌耐药

细胞信号 **120 细胞通讯** → 121 核受体 → 122 G蛋白偶联受体 → **123 cAMP与PKA** → **124 IP3与钙** → **125 NO与cGMP** → 126 受体酪氨酸激酶 → **127 信号通路的共同规律**

五、命运如何 骨架、周期、细胞社会、死亡与癌

细胞骨架与运动 128 三种骨架 → **129 微丝** → 130 微管 → 131 中间丝 → 132 马达蛋白 → 133 肌肉收缩

细胞周期与分裂 134 细胞周期 → 135 细胞周期的引擎 → **136 有丝分裂** → 137 检查点 → 138 减数分裂

细胞社会 139 细胞连接 → 140 细胞黏着 → 141 细胞外基质 → 142 植物细胞的特殊结构 → **143 细胞分化** → **144 干细胞**

衰老、死亡与癌 **145 细胞衰老** → **146 凋亡的特征** → **147** 凋亡的执行 → **148** 程序性坏死与焦亡 → **149** 植物程序性死亡 → **150** 癌基因与抑癌基因

六、凭什么知道 研究方法

研究方法 **151** 显微镜 → **152 荧光技术** → **153** 离心与盐析 → **154 层析** → **155** 电泳 → **156** 抗体技术 → **157** 核酸探针与印迹 → **158 PCR与测序** → **159** 基因工程 → **160** 示踪 → **161** 细胞培养 → **162** 研究蛋白质功能 → **163 学以致用**

第一问　1–32 环

谁干活

水、蛋白质、酶

一个细胞要活着，里面每时每刻有几千种反应在同时进行。第一个问题：这些活是谁干的？答案是蛋白质。先看它是什么做的、怎样有了形状，再看其中最要紧的一类——酶——怎样让反应又快又准、收放自如。

起点

细胞是一小团被膜圈住的水溶液：同一套材料、同一种膜、同一套遗传装置；分子靠弱键认出彼此，带不带电看 pH

1　一切生物都由细胞构成，细胞只能来自细胞：这是整门课的起点，叫细胞学说

- **施莱登**（1838，《植物发生论》，M. J. Schleiden）和**施万**（1839，T. Schwann）提出**细胞学说**（cell theory）：一切植物、动物都由细胞组成，细胞是生物体的**基本结构单位**。
- **魏尔肖**（R. Virchow）补充：细胞只能来自细胞；机体的一切病理表现都基于细胞的损伤。
- 意义：给出了生物**同一性**的细胞学基础（进化论解释多样性）。恩格斯把细胞学说、能量守恒定律、进化论并列为 19 世纪自然科学三大发现。
- 细胞生物学从**显微、亚显微、分子**三个水平研究细胞的结构与功能，增殖、分化、衰老、死亡，信号转导与基因表达调控，起源与进化。

易错　“原生动物是只含一个细胞的动物”“个体发育是细胞不断繁殖和分化的过程”是后人的补充，不是细胞学说提出时的内容。

真题 4 道　细胞 12 15 16 24

2　所有细胞有四条共性，这四条正好就是后面要走的路

共性	内容	展开在
相似的化学组成	只用 20 多种元素（C、H、O、N、P、S 为主），拼成氨基酸、核苷酸、脂质、糖类四类构件	第一问、第二问
脂-蛋白体系的质膜	磷脂双分子层加蛋白质，隔出相对稳定的内环境，又负责物质交换和信号传递	第二问开头
相同的遗传装置	都以**双链 DNA** 为遗传信息载体，RNA 为转录物，在**核糖体**（ribosome）上合成蛋白质，用几乎同一套遗传密码	第三问
一分为二的分裂方式	遗传物质均匀分给两个子细胞	第五问

- 四条共性说明所有细胞起源于共同的祖先；细胞是**生命活动的基本单位**（basic unit of life）。
- 真核细胞在亚显微水平上分成三大结构系统：**生物膜系统**（biomembrane system）、**遗传信息传递与表达系统**（genetic information expression system）、**细胞骨架系统**（cytoskeleton system）；三者的基本尺度都在 5～20 nm。
- 大分子组装成细胞结构有三种方式：自我装配（信息在亚基自身，如中间丝）、协助装配（要别的组分帮忙但不进入成品，如核糖体）、直接装配（加到已有结构上，如质膜扩展）。

真题 1 道　细胞 16

3　细胞有简有繁：最简单的是支原体；原核与真核的分界是有没有膜围成的核和细胞器

- **支原体**（mycoplasma）是最小、最简单的细胞：直径 0.1～0.3 μm，有质膜、**无细胞壁**，环状 DNA 散布在胞内、没有核区，有核糖体，一分为二地繁殖；已接近细胞体积的最小极限（直径 140～200 nm）。维持一个自由生活的细胞至少要约 400 个基因。
- 体积：原生动物 > 动植物细胞 > 细菌 > 支原体 > 病毒。

	原核细胞	真核细胞
核	拟核，无核膜、核仁	有核膜、核仁
DNA	环状、单倍，不与组蛋白结合；常另有质粒	线状、多条，与组蛋白结合成染色质；线粒体、叶绿体另有核外 DNA
膜性细胞器	无	线粒体、内质网、高尔基体、溶酶体等
核糖体	70S（50S + 30S）	80S（60S + 40S）
转录与翻译	同时同地进行	核内转录并加工，出核后在胞质翻译
细胞骨架	没有典型的微丝、微管系统	微丝、微管、中间丝

	原核细胞	真核细胞
分裂	二分裂	有丝分裂、减数分裂
细胞壁	肽聚糖（支原体无壁）	植物为纤维素，真菌为几丁质，动物无

- **古核细胞（古细菌）**（archaea）是第三类：形态和 DNA（环状、有操纵子、多数基因无内含子）像细菌；遗传装置像真核（DNA 与组蛋白结合成类似核小体的结构，RNA 聚合酶是复杂多聚体，翻译起始用 **Met** 而不是 fMet）。细胞壁没有胞壁酸和肽聚糖，所以**溶菌酶和青霉素对它无效**；膜脂以**醚键**（ether bond）连甘油。
- 植物细胞比动物细胞多出：细胞壁、大液泡、质体（叶绿体）、胞间连丝；动物细胞有中心粒。

易错 酵母、霉菌、衣藻是真核生物；蓝藻、支原体、衣原体、立克次氏体、放线菌是原核生物。

外校热点 为什么把古核生物单列为一个类群（2026 安徽师范大学）——比较 rRNA 序列发现，古核与细菌的差别比它与真核的差别还大；它的遗传装置（组蛋白、复杂的 RNA 聚合酶、起始用 Met、有内含子）更像真核，细胞壁和膜脂（醚键）又是自己独有的，所以既不能归入细菌，也不是真核。〔660〕

真题 2 道 细胞 16 17

4 病毒不是细胞：只有一种核酸加蛋白质外壳，离开细胞什么也做不了

- 病毒是最小、最简单的有机体，只是一种**生物大分子复合体**（绝大多数 20～200 nm，要用电镜看，macromolecular complex），本身不表现任何生命特征，必须在细胞内繁殖才表现出来；它没有细胞结构，所以叫**非细胞形态的生命体**（non-cellular life form），细胞仍然是生命活动的基本单位。
- 四个特点：① 没有核糖体等任何细胞结构，不能独自进行代谢；② 遗传物质是 **DNA 或 RNA 一种**（细胞两种都有，但只以 DNA 作遗传物质）；③ 以**复制和装配**的方式增殖（细胞是一分为二）；④ **彻底寄生**（obligate parasitism），用宿主的结构、原料、能量和酶系统。
- 增殖过程：吸附（识别细胞表面受体）→ 侵入（与受体结合后，细胞以胞饮作用把病毒拉进去，即**受体介导的胞吞**（receptor-mediated endocytosis）；包膜病毒也可膜融合）→ 脱壳 → 合成病毒核酸和蛋白质 → 装配与释放。
- 与细胞的联系：增殖离不开细胞；起源上有三种观点。病毒彻底寄生，起源不可能早于细胞，所以后两种观点比较容易接受；又因为没有发现病毒化石，人们更倾向于“病毒由细胞或细胞组分演化而来”，这一观点也有很多实验结果支持。
- 更简单的两类：**类病毒**（viroid）只有一条裸露的环状 RNA；**朊病毒**（prion）只有蛋白质，它的成分是**朊病毒蛋白**（PrP，prion protein）：正常的 PrP 以 α-螺旋为主，致病型 β-折叠增多，并能使正常分子跟着变构。

近五年考了 2 卷 细22 细23 **真题 3 道** 生化 15 · 细胞 22 23

5 细胞里七成是水；水分子有极性、彼此成氢键，其余分子只能顺着水的脾气摆放自己

- 水是偶极分子，一个水分子最多与 4 个水分子成氢键 → 比热大、汽化热高，是极性和带电分子的好溶剂。
- 非极性基团进不了水的氢键网，被水挤到一起，这就是**疏水作用**（hydrophobic interaction）；它的本质是水的**熵增**（entropy increase），不是基团之间有多大的吸引力。
- 四种非共价作用：**氢键、离子键（盐键）、范德华力、疏水作用**（hydrogen bond, ionic bond (salt bridge), van der Waals force, hydrophobic interaction）。单个很弱（几到几十 kJ/mol，共价键是几百），所以随时能松开；数量多、要求形状和电荷处处吻合，所以合起来又稳又专一。
- 它们管三件事：① 维持大分子的形状（双螺旋的碱基配对与堆积、蛋白质的二～四级结构）；② 分子之间的专一识别（酶与底物、抗原与抗体、激素与受体、密码子与反密码子）；③ 膜和大复合体的自组装。
- 其中氢键有方向、有饱和性，所以特别适合做“识别”：α-螺旋和 β-折叠靠主链氢键，A=T 两个、G≡C 三个氢键。

近五年考了 2 卷 生24 生26 **真题 4 道** 生化 08 20 24 26

6 水还会解离出 H^+：一个基团带不带电，只看 pH 和它的 pKa 差多少；细胞用缓冲对把 pH 稳住

- $pH = pKa + \lg([\text{去质子形式}]/[\text{质子化形式}])$。pH = pKa 时两种形式各一半；差 1 个单位是 10∶1（约九成），差 2 个单位是 100∶1（约 99%）。pH 低于 pKa 以质子化为主，高于 pKa 以去质子为主。
- 缓冲对在 **pKa ± 1** 内有效，选 pKa 最接近目标 pH 的。细胞内主要是磷酸盐（$H_2PO_4^-/HPO_4^{2-}$，pKa 6.86）和蛋白质（组氨酸侧链），血液主要是**碳酸氢盐**（pKa 6.1，bicarbonate）。
- 碳酸氢盐的 pKa 离 7.4 有一个多单位，照样管用，因为它是**开放体系**（open system）：CO_2 能由肺呼出，HCO_3^- 由肾调节。
- 这一条算法后面反复用：**9 等电点**、**26 最适pH与温度**、**19 Bohr效应与BPG**、**154 层析**和**155 电泳**。

真题 1 道 生化 24

7　生命用四类小分子拼出一切：三类连成有头有尾的长链，一类靠疏水作用自己聚成膜

单体	连接键	聚合物	方向	主要用处	展开在
氨基酸（20 种）	肽键	蛋白质	N 端 → C 端	干活：催化、结合、运输、支撑	第一问
核苷酸（4 种）	3′,5′-磷酸二酯键	核酸	5′ → 3′	存信息、传信息	第三问
单糖	糖苷键	多糖	非还原端 → 还原端	储能、结构、细胞表面的标记	第二问
脂肪酸等	酯键（不成长链）	膜脂、脂肪	—	成膜、储能、信号	第二问

- 聚合都是**脱水缩合**（dehydration condensation），本身不能自发进行，所以单体都要先“活化”成高能形式（氨酰-tRNA、核苷三磷酸、UDP-葡萄糖）；拆开都是**水解**（hydrolysis），能自发进行，只是没有酶时很慢。
- 蛋白质和核酸的顺序有信息，要照模板合成；多糖多是重复单位，不用模板，由酶的专一性决定连法。

> 四类分子里，谁在干活？细胞里几乎每一件事——催化、运输、支撑、传信号——都由蛋白质来做。它凭什么？

蛋白质

侧链各有脾气 → 肽键连成有方向的链 → 主链氢键排出螺旋和折叠 → 疏水作用收成一团 → 几条链再拼起来；形状决定它结合谁，结合又反过来改变形状

零件：氨基酸

8　蛋白质只用 20 种 L-α-氨基酸，区别全在侧链：侧链的极性和电荷决定它待在分子里面还是外面、能干什么

- α-碳上连着氨基、羧基、氢和**侧链 R**（side chain (R group)）；除**甘氨酸**（glycine）外都有手性（甘氨酸无旋光性），蛋白质里都是 **L 型**（细菌细胞壁肽聚糖和某些抗生素小肽里有 D 型氨基酸）。

类别	成员	要点
非极性脂肪族	Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Met、Pro	疏水，埋在分子内部；Pro 是亚氨基酸
芳香族	Phe、Tyr、Trp	吸收紫外光（Trp、Tyr 在 280 nm 处吸收强，用来测蛋白质浓度）；Tyr 带羟基，有极性
极性不带电	Ser、Thr、Cys、Asn、Gln	能成氢键；Cys 含巯基
带正电（碱性）	Lys、Arg、His	pH 7 时 Lys、Arg 带正电
带负电（酸性）	Asp、Glu	pH 7 时带负电

- 几个有特殊身份的侧链：
  - **Gly** 侧链只有一个 H，最小、最灵活，常在 β-转角和胶原里。
  - **Pro** 的氮在环里，没有多余的 N—H，卡住主链，是 α-螺旋的破坏者。
  - **Cys** 的巯基两两氧化成**二硫键**（disulfide bond）；也是谷胱甘肽还原能力的来源。
  - **His** 咪唑基 pKa 约 **6.0**，是唯一接近生理 pH 的侧链，能在给出和接受质子之间来回切换，酶的活性中心常用它做酸碱催化。
  - **Ser、Thr、Tyr** 的羟基是**磷酸化位点**（但不是每个 Ser 都能被磷酸化，要看周围序列是否被激酶识别，phosphorylation site）；Ser 的羟基还是丝氨酸蛋白酶的亲核基团、O-糖链的连接点；Thr 的羟基既能给出氢、又能接受氢成氢键。
  - **Asn** 连 N-糖链；**Met** 含硫，是翻译的起始氨基酸。
- 球状蛋白在水里：**疏水侧链（Phe、Leu、Val、Ile、Trp）在内核，带电和极性侧链（Asp、Glu、Lys、Arg）在表面**。
- **必需氨基酸**（人体不能合成或合成不够，必须从食物得到，essential amino acid）成人 8 种：Met、Val、Lys、Ile、Phe、Leu、Trp、Thr；蛋白质的营养价值取决于必需氨基酸的种类、数量和比例。

口诀　甲携来一本亮色书——甲硫（Met）、缬（Val）、赖（Lys）、异亮（Ile）、苯丙（Phe）、亮（Leu）、色（Trp）、苏（Thr）。

- 不是直接翻译出来的氨基酸：**羟脯氨酸、羟赖氨酸**（胶原，翻译后羟化，要维生素 C，hydroxyproline, hydroxylysine）、γ-羧基谷氨酸（凝血因子，要维生素 K）；鸟氨酸、瓜氨酸根本不进蛋白质。Asn、Gln 有自己的密码子，是直接翻译的。
- **非必需氨基酸**（nonessential amino acid）：人体能自己合成（多由糖代谢中间物经转氨基生成）、不必由食物供给的氨基酸，如 Glu、Ala、Gly、Asp。“非必需”指不必从食物得到，不是说蛋白质合成不需要它。

易错　选择题问“必需氨基酸”时 His 不选（成人 8 种里没有它；它对婴幼儿必需）；Tyr 由 Phe 转变而来，也不是。课本自己有两种写法：上册说 9 种（加 His），下册说人和大白鼠 10 种（再加幼年需要的 Arg）；选择题按 8 种答，名解、问答里写上 His 对婴幼儿必需。

近五年考了 2 卷　生25 生26　　**真题 21 道**　生化 07 08 09 10 12 13 14 15 16 17 19 25 26

9　氨基酸既有酸性基团又有碱性基团：各基团按自己的 pKa 带电，净电荷正好为零的 pH 就是等电点

- 在等电点（pI）氨基酸主要以**兼性离子（两性离子）**（zwitterion）存在。pH < pI 带正电、向负极走；pH > pI 带负电、向正极走；在 pI 处净电荷为零，分子间没有静电排斥，**溶解度最小**。
- pI 的算法只有一条：写出净电荷为零的那种形式，取它**两侧两个 pKa 的平均值**。

类型	取哪两个 pKa	例
中性氨基酸	α-羧基与 α-氨基	Gly（2.34 + 9.60）/2 = 5.97
酸性氨基酸	α-羧基与侧链羧基（两个小的）	Glu（2.19 + 4.25）/2 = 3.22；Asp（1.88 + 3.65）/2 = 2.77
碱性氨基酸	α-氨基与侧链基团（两个大的）	Lys（8.95 + 10.53）/2 = 9.74；His（6.00 + 9.17）/2 = 7.59

- 中性氨基酸的 pI 在 6 左右而不是 7：羧基的解离程度比氨基大，要稍偏酸才能压住。
- 肽和蛋白质照同一条规则把所有可解离基团的电荷加起来。肽链两端相隔远，末端 α-羧基的 pKa 比游离氨基酸的高，末端 α-氨基的 pKa 比游离氨基酸的低。
- 一个活性中心若要 His（pKa 6.0）质子化、同时要另一个羧基（pKa 约 4.3）去质子，两个比例一升一降，同时满足得最好的 pH 在两个 pKa 的**中点**；酶的最适 pH 就是这样来的。

外校热点　氨基酸与蛋白质等电点的异同——蛋白质的 pI 由表面可解离侧链的种类和数目决定，碱性残基多则 pI 高（组蛋白、鱼精蛋白），酸性残基多则 pI 低（胃蛋白酶约 1.0）；只能实测（等电聚焦），不能像氨基酸那样用两个 pKa 算出来。〔880 专题 2〕

真题 12 道　生化 07 10 11 12 15 24

10　侧链和氨基还给了它可测的性质：芳香环吸收紫外光，氨基能显色，末端能被专门的试剂标记

- **紫外吸收**（ultraviolet absorption）：蛋白质在 **280 nm** 有最大吸收，来自 Trp、Tyr、Phe；摩尔吸光系数 **Trp 最大**，Tyr 次之，Phe 在 280 nm 几乎不吸收。（核酸是 260 nm。）

反应或试剂	作用对象	结果	用途
茚三酮	游离 α-氨基	蓝紫色（570 nm）；Pro、Hyp 呈黄色（440 nm）	氨基酸定性定量
双缩脲反应	**两个以上肽键**	紫红色	测蛋白质含量；游离氨基酸没有这个反应
DNFB（2,4-二硝基氟苯，Sanger 试剂（Sanger's reagent (FDNB)））	N 端氨基	黄色的 DNP-氨基酸	N 端鉴定
丹磺酰氯（DNS-Cl）	N 端氨基	强荧光	N 端鉴定，更灵敏
PITC（苯异硫氰酸酯，Edman 试剂（Edman's reagent (PITC)））	N 端氨基	PTH-氨基酸，剩下的肽链完整	从 N 端逐个测序
羧肽酶、肼解法	C 端	游离出 C 端氨基酸	C 端鉴定

- 测蛋白质含量的几种方法各认各的基团：凯氏定氮（含氮 16%，氮量 × 6.25）、紫外吸收（芳香环）、**双缩脲法（要完整的肽键）**（biuret method）、Folin-酚法（Tyr、Trp 的还原性）、考马斯亮蓝法。
- 水解成氨基酸：**酸水解**（6 mol/L HCl，acid hydrolysis）不消旋，但 **Trp 完全破坏**，Asn、Gln 变成 Asp、Glu；**碱水解**（alkaline hydrolysis）多数氨基酸被破坏并消旋，Trp 反而稳定；酶水解不破坏也不消旋，但水解不完全。

易错　Sanger 反应是 DNFB，不是 PITC；DNFB 也会标记 Lys 的 ε-氨基。

真题 15 道　生化 07 09 10 11 12 13 14 15 16 17 18 24

从一条链到一个形状

11　氨基酸靠肽键连成有头有尾的链；肽键带部分双键性质、转不动，主链每个残基只剩两个角可以转

- 肽键由前一个氨基酸的 α-羧基和后一个的 α-氨基脱水形成；链从 **N 端**（N-terminus）写到 **C 端**（C-terminus），合成也是这个方向。
- 肽键有**部分双键性质**（共振，partial double-bond character），C—N 不能自由旋转，所以肽键的 4 个原子和两侧的 2 个 α-碳共 **6 个原子处在同一个刚性平面**（肽平面），绝大多数为**反式**（X-Pro 较易出现顺式，trans）。
- 主链上能转的只有 **φ**（N—Cα）和 **ψ**（Cα—C）；哪些组合不撞车，画出来就是**拉氏构象图**（Ramachandran plot）：把肽链原子看成硬球，根据非共价键合原子之间的最小接触距离，判断 Cα 的哪些成对二面角（φ，ψ）所规定的相邻肽平面构象是允许

的、哪些不允许，在以 φ 为横坐标、ψ 为纵坐标的图上标出。Gly 允许的范围最大，Pro 最受限；它简化了构象研究，也用来判断结构模型的正误。

- 构型与构象：**构型**（configuration）改变必须断开并重新形成共价键（L/D、顺/反）；**构象**（conformation）改变只是绕单键旋转，不断共价键。
- 肽键水解在热力学上自发，在动力学上极慢，所以蛋白质稳定；消化道的蛋白酶把它大大加快，所以**蛋白质药物不能口服**——胰岛素是蛋白质，口服会被水解，只能注射；甲状腺激素是氨基酸衍生物，不被蛋白酶水解，可以口服。口服胰岛素的思路相应是：包起来躲过胃酸和蛋白酶（肠溶包衣、纳米载体）、加蛋白酶抑制剂、加促吸收剂或改造分子本身。
- **生物活性肽**（bioactive peptide (active peptide)）：以游离状态存在、分子量较小、具有特殊生理功能的多肽。形成有两条途径：一条经核糖体，由蛋白质前体翻译后加工而成（许多激素）；另一条不经核糖体、由酶促合成（多是细菌和低等真菌产生的肽类抗生素，常含 D 型氨基酸）。例：**谷胱甘肽 GSH**（γ-谷氨酰-半胱氨酰-甘氨酸，glutathione）第一个肽键用的是 Glu 的 **γ-羧基**；巯基是它的功能基团，保护巯基酶、清除过氧化物，氧化后成 GSSG。还有催产素、加压素（九肽）、脑啡肽（五肽）、胰高血糖素。
- **胰岛素**（insulin）51 个残基，A 链 21、B 链 30，两条链间二硫键、一条 A 链内二硫键；它不是两条链分别合成再连起来，而是先合成一条**前胰岛素原**（preproinsulin），切掉信号肽成胰岛素原，折叠并配好二硫键，再切掉中间的 C 肽。

真题 12 道 生化 08 10 13 14 15 16 17 20 25

12 一级结构就是氨基酸顺序加二硫键的位置，由共价键写死；测序的办法是切成小段、逐个读、靠重叠拼回去 ●

- **一级结构**（primary structure）：多肽链的氨基酸序列（含二硫键位置），靠**肽键和二硫键**这两种共价键维持；二级以上的结构靠非共价作用。
- 测序步骤：① 测末端，定有几条链 → ② 拆开亚基、**断二硫键**（过甲酸氧化，或巯基乙醇还原后用碘乙酸封住）→ ③ 测氨基酸组成 → ④ 用两种以上切点不同的方法切成肽段 → ⑤ 各肽段做 **Edman 降解**（每次只切下 N 端一个，一次能读几十个残基，Edman degradation）→ ⑥ 靠**重叠肽**（overlapping peptides）拼出全序列 → ⑦ 定二硫键位置。

切法	切点
胰蛋白酶	**Lys、Arg** 的羧基一侧
胰凝乳蛋白酶	**Phe、Tyr、Trp** 等的羧基一侧
溴化氰（CNBr）	**Met** 的羧基一侧
胃蛋白酶、嗜热菌蛋白酶	疏水残基附近，专一性差

- 二硫键的位置用**对角线电泳**（diagonal electrophoresis）定：第一向电泳后用过甲酸蒸气把二硫键打断，转 90° 再跑第二向，偏离对角线的两个肽段原来由二硫键连着。
- 现在更常用质谱，或者由基因序列推出蛋白质序列。由基因的编码序列能推出氨基酸序列；反过来由氨基酸序列推不出确切的 DNA 序列，因为密码子有简并性。基因序列也推不出二硫键、翻译后修饰和被切掉的片段，所以化学测序不能完全被取代。
- **同源蛋白质**（homologous protein）：由序列明显相似（同源）的基因编码的蛋白质，往往具有相同或相似的功能和三维结构。来自不同物种的叫直向同源蛋白质（如各物种的细胞色素 c），同一物种内由基因重复后分化而来的叫共生同源蛋白质。各物种都不变的残基是功能必需的；可变残基的差异数与亲缘关系远近成正比，可以画进化树。

外校热点 证明胰岛素有链间和链内二硫键——不加还原剂跑 SDS-PAGE 是一条约 5.8 kD 的带，加巯基乙醇后分成 A、B 两条小带，说明有链间二硫键；再用对角线电泳找出同在 A 链上的那一对。〔880 专题 2〕

真题 11 道 生化 08 10 11 12 13 16 17 18 20 23

13 主链上的 C═O 和 N─H 彼此成氢键，把局部排成规则的样子：α-螺旋、β-折叠、β-转角 ●

- **二级结构**（secondary structure）只说主链局部的规则构象，不管侧链；稳定它的是**主链氢键**（backbone hydrogen bond）。

	α-螺旋	β-折叠
形状	右手螺旋，**每圈 3.6 个残基**，螺距 0.54 nm，每个残基上升 0.15 nm	肽链几乎完全伸展，呈锯齿状
氢键	**链内**：第 n 个残基的 C═O 与第 n + 4 个的 N─H，与螺旋轴大致平行；记作 3.6_{13}	**相邻肽段之间**，与链的走向大致垂直
侧链	伸向螺旋外侧	交替伸向片层上下
类型	另有 3_{10} 螺旋、π 螺旋（每圈残基数不同）	**平行**（parallel）和**反平行**（antiparallel）；反平行的氢键更直、更稳定

- 螺旋的破坏者：**Pro**（没有 N—H、环卡住主链）；Gly 太灵活也不利；连续的同种电荷相互排斥（多聚谷氨酸在 pH 7 时成不了螺旋）；相邻的大侧链相互拥挤。
- **β-转角**（β-turn）：4 个残基，第 1 个的 C═O 与第 4 个的 N—H 成氢键，使链掉头 180°；常含 Gly、Pro，多在分子表面。无规卷曲是不重复但确定的构象，常是功能部位。
- 三种纤维状蛋白各用一种二级结构：α-角蛋白（α-螺旋拧成卷曲螺旋，靠二硫键交联）；丝心蛋白（反平行 β-折叠）；**胶原**（collagen）——序列是（Gly-X-Y）$_n$，X 常为 Pro、Y 常为羟脯氨酸，Pro 太多、形不成 α-螺旋，于是每条链自己是左手螺旋，三条再缠成**右手三股螺旋**（right-handed triple helix），每三个残基一个的 Gly 正好挤在中心，靠**链间氢键**稳定。
- 所以 α-螺旋与 β-折叠在稳定性上的本质区别是：前者靠链内、近程的氢键，一段序列自己就能成；后者靠链间或远程肽段之间的氢键，要几股凑在一起。
- 膜蛋白的跨膜段大多是 **α-螺旋**（约 20 个疏水残基正好穿过双层，α-helix）；β-桶只见于细菌外膜、线粒体和叶绿体外膜的孔蛋白。

易错 “各种 α-螺旋每圈都是 3.6 个残基”是错的，只有典型 α-螺旋是 3.6；“球状蛋白质中没有 β-折叠”也是错的。

真题 14 道 生化 07 10 11 12 14 15 16 17 18 26

14 螺旋和折叠先搭成固定的小组合，再靠疏水作用把整条链收成一团：超二级结构、结构域、三级结构

- **超二级结构**（模体，supersecondary structure (motif)）：相邻的几个二级结构单元彼此靠近，形成有规则的组合体，如 αα（卷曲螺旋）、βαβ、ββ（β-发夹、β-曲折）。它是二级结构与三级结构之间的一个层次。
- **结构域**（domain）：一条长肽链在超二级结构的基础上折成的几个相对独立、紧密的球状区域；常各自承担一种功能（如一个结合底物、一个结合辅酶），活性中心常在两个结构域之间的裂缝里。
- **三级结构**（tertiary structure）：一条肽链上所有原子（主链加侧链）的空间排布。球状蛋白的共同特点：致密；**疏水残基在内、亲水残基在外**；表面有凹穴，常是活性部位。
- 折叠的主要驱动力是疏水作用（本质是水的熵增）；氢键、离子键、范德华力一起稳定，有的再加二硫键这种共价键加固。各种力加起来，天然态只比变性态稳定几十 kJ/mol，只是勉强稳定，所以容易变性，也便于改变构象。

层次	内容	主要靠什么维持
一级	氨基酸序列、二硫键位置	肽键（二硫键）
二级	主链局部规则构象	主链间的氢键
超二级、结构域	二级结构单元的组合；独立的折叠区域	同三级
三级	整条链的空间排布	**疏水作用为主**，氢键、离子键、范德华力，二硫键
四级	亚基的排布与相互作用	亚基间的非共价作用

易错 二级结构主要由**短程**顺序决定，三级结构主要由**长程**顺序决定；说反了就是错的。

真题 12 道 生化 07 08 09 12 14 15 17 18 20 23

15 折成什么样，序列里已经写好了：一级结构决定高级结构；细胞里另有分子伴侣防止它在半路上折错、粘在一起

- **Anfinsen 实验**（Anfinsen's experiment）：核糖核酸酶（124 个残基、4 个二硫键）用尿素加巯基乙醇处理后伸展、失活；除去两种试剂，它自己折回去，活性恢复。8 个巯基有 105 种配法，它只取对的那一种，说明折叠所需的全部信息都在氨基酸序列里。
- 折叠不是把所有构象试一遍，而是沿着能量越来越低的“折叠漏斗”很快下行。
- **分子伴侣**（molecular chaperone）：结合在未折叠或半折叠肽链暴露的疏水区上，防止不恰当的聚集，协助新生肽链正确折叠、亚基组装和跨膜转运；本身不进入终产物，不携带折叠信息，不改变折叠的终点；多数要耗 ATP。代表是 **Hsp70**（heat shock protein 70）和伴侣蛋白 Hsp60（GroEL/GroES）。另有两种真正催化折叠限速步骤的酶：**蛋白质二硫键异构酶（PDI）**（protein disulfide isomerase）和**肽基脯氨酰顺反异构酶（PPI）**（peptidyl prolyl cis-trans isomerase）。
- **变性**（denaturation）：天然构象被破坏、次级键断开，**一级结构不变（共价键不断）**。后果：生物活性丧失；疏水基团外露，溶解度降低、易沉淀；易被蛋白酶水解；紫外吸收等光谱性质改变（狂背把“变性后摩尔吸光系数增大”判为对）。变性因素：热、强酸强碱、有机溶剂、尿素和盐酸胍、SDS、重金属盐。除去变性因素后恢复天然构象叫复性。我国的**吴宪**最早提出蛋白质变性理论。
- 沉淀不等于变性：盐析沉淀下来的蛋白质没有变性；变性的蛋白质也不一定沉淀。
- 换一个氨基酸要不要紧，看换在哪、换成什么：
  - 性质相近的互换（Lys 与 Arg、Ile 与 Leu、Asp 与 Glu）一般不影响功能。

- **Ser** 的替换最不容易出事：侧链小（—CH_2OH）、极性不带电，多在表面，Thr、Ala、Asn 等相近残基能顶替它。
- **Trp** 的替换最容易出事：侧链是庞大的吲哚环、疏水，常埋在内核，没有别的残基能填满它留下的空间。
- 换在活性中心或疏水核里的关键位置，一个残基就足以致病（镰状细胞贫血）。

- 折错了同样致病（构象病）：朊病毒病是 PrP 从 α-螺旋为主变成 β-折叠为主并聚集。

易错 分子伴侣不是“帮助蛋白质在胞内定位的分子”；变性时共价键没有被破坏；“任何一个氨基酸改变一定引起功能改变”是错的。

近五年考了 5 卷 生23 生24 生25 生26 细22　**真题 22 道** 生化 07 08 10 11 14 17 18 23 24 25 26 · 细胞 16 21 22

16 几条各自折好的链再靠非共价作用拼在一起，就是四级结构；最大的好处是亚基之间能互相传话

- **四级结构**（quaternary structure）：寡聚蛋白质中各**亚基**（subunit）的种类、数目、空间排布，以及亚基之间的相互作用和接触部位的结构。亚基之间一般没有共价键。
- 多亚基的好处：① 结构更稳定；② 遗传上经济——用一个小基因重复装配，出了错的亚基可以剔除；③ 活性部位可以由几个亚基共同凑成；④ 亚基之间能互相影响，产生协同效应和别构调节（最重要）。
- 举例说明各级结构与功能的关系：一级——镰状细胞贫血一个残基之差、胰岛素原切掉 C 肽才有活性；二级——角蛋白、丝心蛋白、胶原各用一种二级结构做成不同的纤维；三级——肌红蛋白的疏水口袋保护 Fe^{2+}，变性就失活；四级——血红蛋白的协同效应。

真题 4 道 生化 12 15 19

形状决定功能：以结合氧为例

17 蛋白质的第一种本事是“结合”：肌红蛋白一条链只管存氧，血红蛋白四条链才运得了氧

- 两者都靠**血红素**（原卟啉加 Fe^{2+}，heme）结合氧：Fe^{2+} 的 6 个配位键，4 个连卟啉环的氮，第 5 个连**近端组氨酸（F8）**（proximal histidine），第 6 个结合 O_2。只有 Fe^{2+} 能结合氧，氧化成 Fe^{3+} 的高铁血红蛋白不能；珠蛋白的疏水口袋保护 Fe^{2+} 不被氧化。

	肌红蛋白（Mb）	**血红蛋白（Hb）**
亚基	1 条链	$\alpha_2\beta_2$ 四聚体
氧合曲线	双曲线	**S 形**
P_{50}	约 2 mmHg，亲和力高	约 26 mmHg
任务	在肌肉里**存氧**	从肺到组织**运氧**
别构效应	没有	有

- S 形的好处：曲线最陡的一段正落在组织的氧分压范围，所以在肺里装得满，到组织卸得多；双曲线的肌红蛋白在组织的氧分压下几乎不放氧。
- 氧从肺到肌肉：肺里氧分压高，Hb 接近饱和 → 到组织，氧分压低，加上 H^+、CO_2 多，Hb 放氧 → Mb 亲和力更高，接过氧存起来 → 剧烈运动、氧分压极低时 Mb 才把氧交给线粒体。

真题 3 道 生化 07 10 25

18 结合又能改变形状：一个亚基结合了氧，四个亚基一起从紧张态转向松弛态，这就是别构和协同

- 血红蛋白有两种构象：**T 态**（紧张态，脱氧，亲和力低，亚基间盐桥多，T (tense) state）和 **R 态**（松弛态，氧合，亲和力高，R (relaxed) state）。
- 传话的路线：O_2 结合 → Fe^{2+} 移入卟啉平面 → 拉动近端组氨酸和它所在的 F 螺旋 → $\alpha_1\beta_2$ 接触面滑动、盐桥断开 → 整个分子转向 R 态 → 剩下的亚基更容易结合氧。先来的帮后来的，叫**正协同**（positive cooperativity）。
- **别构效应**（allosteric effect (allostery)）：配体结合在蛋白质的一个部位，引起构象变化，从而影响另一个部位的结合能力或活性。O_2 促进 O_2 是同促效应；H^+、CO_2、BPG 影响 O_2 的结合是异促效应。

模型	**说法**	**能否解释负协同**
协同模型（齐变，MWC）	所有亚基同时在 T、R 之间转换，保持对称	不能
序变模型（KNF）	结合一个、变一个，再影响邻居	能

- **Hill 系数**（Hill coefficient）：n = 1 无协同；**n > 1 正协同**（血红蛋白约 2.8，上限是结合位点数 4）；n < 1 负协同。
- 同一招搬到酶上就是**别构酶**（allosteric enzyme）：一般是寡聚酶，常催化代谢途径的第一步，速度曲线呈 S 形（**29 别构酶**）。

近五年考了 2 卷 生24 生26　**真题 7 道** 生化 10 11 12 18 24 26

19 身体用三种别构调节物让血红蛋白在该放氧的地方多放氧：H^+、CO_2 和 BPG，三者都稳定 T 态 ○

- **Bohr 效应**（Bohr effect）：H^+ 增多（pH 下降）或 CO_2 增多，使氧亲和力下降、曲线**右移**，代谢旺盛的组织因此多得到氧；到肺里反过来。机制：T 态里 β 链 His146 等基团的 pKa 升高，更容易结合 H^+；CO_2 与四条链的 N 端氨基结合成**氨甲酸**（carbamate），带上负电、多形成盐桥，也稳定 T 态。
- CO_2 的运输：约 70% 在红细胞里由碳酸酐酶变成 **HCO_3^-**（经带 3 蛋白与 Cl^- 交换出细胞），约 20% 是氨甲酸血红蛋白，约 10% 溶解。
- **2,3-二磷酸甘油酸（BPG）**（2,3-bisphosphoglycerate）：红细胞糖酵解支路的产物，一个四聚体结合一个，嵌在两条 β 链之间带正电的**中央空腔**里，只结合 T 态，所以降低氧亲和力。上高原、贫血时 BPG 增多，多放氧。
- **胎儿血红蛋白 HbF**（$\alpha_2\gamma_2$，fetal hemoglobin）：γ 链第 143 位是 Ser 而不是 His，空腔里少了两个正电荷，结合 BPG 弱，氧亲和力比成人的高，才能从母体取氧。
- 使曲线右移（多放氧）的四个因素：H^+ 多、CO_2 多、BPG 多、温度高。

外校热点 高海拔动物的血红蛋白怎样适应——多是 BPG 结合腔里带正电的残基被替换，结合减弱，T 态得不到稳定，氧亲和力升高，在稀薄的空气里也装得满。〔880 专题 4〕

真题 1 道 生化 17

20 两个出毛病的例子：一氧化碳抢了位置还锁住氧；一个氨基酸换错，血红蛋白就聚成纤维 ○

- **CO 中毒**：CO 与血红蛋白的亲和力约为 O_2 的 **200 倍**（朱圣庚；Lehninger 写约 250 倍），占掉一部分血红素；更要命的是它像 O_2 一样把其余亚基推向 R 态，使它们对氧的亲和力升高、曲线左移，在组织里不放氧，所以比同等程度的贫血危险得多。

易错 2025 年判断题“CO 与血红蛋白的结合有助于其余血红素结合氧”：Lehninger 的说法是 CO 确实使其余亚基亲和力升高（按此为对），狂背的参考答案判错。答题时两层都写：亲和力升高是事实，后果是氧放不下来。

- **镰状细胞贫血**（sickle-cell anemia）：β 链第 6 位 **Glu → Val**。表面多出一个疏水斑，脱氧时与另一分子上的疏水口袋互补，HbS 聚成长纤维，红细胞变镰刀形、易破、堵塞血管。这是基因突变造成的**分子病**（molecular disease），不是代谢障碍；它是“一级结构决定功能”的经典例子。

真题 2 道 生化 15 25

21 既然形状这么要紧，就要能看见它、预测它、改造它 ●

方法	长处	短处
X 射线晶体衍射（X-ray crystallography）	分辨率最高，不限分子大小	必须先结晶；得到的是静态结构；膜蛋白难结晶
核磁共振（NMR）	在溶液里测，能看动态	只适合较小的蛋白质
冷冻电镜（cryo-electron microscopy）	不用结晶、样品量少，接近天然状态，适合大复合体和膜蛋白	小蛋白较难；设备贵
结构预测（AlphaFold 一类）	只要序列，又快又准，覆盖面极大	多给出单一静态构象；动态变化、无序区、突变和配体的影响、复合体、没有先例的折叠仍预测不好

- 预测工具改变了做法：从“先解结构、再提假说”变成“先拿到预测结构、带着假说去设计实验”；它的局限要靠冷冻电镜等实验方法和分子动力学模拟来补。
- **蛋白质工程**（protein engineering）：以结构与功能的关系为基础，用基因定点突变等手段改造蛋白质或设计新的蛋白质，使它符合人的需要。两条路：理性设计（知道结构，改指定的残基）和定向进化（随机突变加筛选）。

近五年考了 2 卷 生25 生26　**真题 9 道** 生化 12 16 18 20 21 25 26 · 细胞 18

> 血红蛋白只是把氧抓住再放开，氧还是氧。细胞更需要把一种分子变成另一种分子，而且要比自发反应快上亿倍。同样是“口袋里抓住一个分子”，怎样就变成了催化？

酶

把过渡态稳住所以快，口袋的形状决定它只认谁；Km 和 Vmax 量它的本事，抑制剂堵它，别构、共价修饰、酶原、同工酶调它，侧链干不了的活交给辅酶

酶为什么快、为什么准

22 酶是生物催化剂：只让反应变快，不改变反应的方向和平衡点；绝大多数是蛋白质

- 与一般催化剂相比，酶的两个主要特点是**高效性**（high catalytic efficiency）和**专一性**（specificity）；另外条件温和、活性可以调节、容易失活。课本的例子：脲酶使尿素水解比不加催化剂时快 10^{14} 倍。
- 酶对正、逆两个方向同样加速，所以平衡点不变。在水很少的条件下，**蛋白酶**也能反过来催化肽键的合成，实验室里用酶法合成多肽靠的就是它。
- 化学本质：绝大多数是蛋白质；**核酶**（ribozyme）是有催化活性的 RNA；**抗体酶**（abzyme (catalytic antibody)）是有催化功能的免疫球蛋白，酶的特性在它的可变区，用过渡态类似物作抗原就能诱导出来。

说法	含义
单纯酶 / 结合酶	只有蛋白质 / **全酶 = 酶蛋白 + 辅因子**（holoenzyme = apoenzyme + cofactor）
酶蛋白与辅因子的分工	酶蛋白决定专一性，辅因子决定反应的类型和性质
辅酶 / 辅基	与酶蛋白结合松、透析能除去 / 结合紧、除不去
单体酶、寡聚酶	一条肽链 / 多个亚基
多酶复合体（multienzyme complex）	几种酶靠非共价作用聚在一起，依次催化连续的几步（丙酮酸脱氢酶复合体）
多酶融合体（multifunctional enzyme (polyenzyme conjugate)）	几种酶活性长在同一条肽链上（哺乳动物的脂肪酸合酶）。注意：朱圣庚只讲“多酶复合物”，并把脂肪酸合酶复合物作为它的例子；《狂背》2015 年“多酶融合体”一题也按多酶复合体作答。答题时先写这里的定义，再补一句它和靠非共价键结合的多酶复合体的区别

- 按反应类型分六大类：**氧化还原酶、转移酶、水解酶、裂合酶、异构酶、连接酶**（oxidoreductase, transferase, hydrolase, lyase, isomerase, ligase）。
- **固定化酶**（immobilized enzyme）：把水溶性的酶处理成不溶于水、仍有活性的状态；优点是稳定性提高、可以反复使用、容易与产物分开（便于连续化生产）。

易错 “酶都是蛋白质”是错的。核酶本身只是 RNA，不是核酸与蛋白质的复合物（核糖体、病毒、端粒酶才是）。

真题 24 道 生化 07 08 09 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 25

23 反应慢，是因为要先翻过活化能这道坎；酶不改变坎两边的高度差，只把坎削低，办法是把过渡态稳住

- 反应能不能发生、平衡在哪，看反应物与产物的自由能之差 **ΔG**；反应多快，看从反应物到**过渡态**（transition state）要爬多高，即**活化能 ΔG‡**（activation energy）。酶降低 ΔG‡，不改变 ΔG。活化能和速率是指数关系，降一点就快很多。
- 酶的口袋不是和底物最吻合，而是和过渡态最吻合（Pauling）：底物一旦被扭成过渡态的样子，就能和酶形成最多的弱键，放出的**结合能**（binding energy）正好抵掉一部分活化能。
- 所以**过渡态类似物**（transition-state analog）是极强的抑制剂，大多属于**竞争性**抑制剂；抗体酶也是照这个道理做出来的。
- 酶与底物怎样对上：锁钥学说认为形状事先就互补；**诱导契合学说**（Koshland，induced-fit hypothesis）认为底物结合时诱导酶的构象发生变化，催化基团才摆到位（己糖激酶结合葡萄糖后两个结构域合拢）。

真题 3 道 生化 11 12 18

24 削坎的地方叫活性中心：几个在序列上相隔很远的残基，靠肽链折叠凑成一个口袋；口袋的形状就是酶的专一性

- **活性中心**（active center (active site)）：酶分子中直接结合底物并催化反应的部位，由**结合部位**（决定专一性，binding site）和**催化部位**（决定催化能力，catalytic site）组成。
- 共同特点：只占酶分子很小一部分；是一个三维的裂缝或凹穴，内部多为疏水的微环境；组成它的残基在一级结构上可能相距很远，靠折叠才靠到一起；与底物靠弱键结合；有柔性。
- 常出现的基团：His 的咪唑基、Ser 的羟基、Cys 的巯基、Asp 和 Glu 的羧基、Lys 的氨基。活性中心以外、维持构象所必需的基团也算**必需基团**（essential group）。
- **酶的专一性**（enzyme specificity）：一种酶只作用于一种或一类底物、一种化学键或一种立体构型。分为绝对专一性（脲酶只认尿素）、相对专一性（认一类化学键或基团）、立体异构专一性（只认 L 型，或只认反式）。
- 丝氨酸蛋白酶是专一性的好例子：催化的机器完全一样，口袋不同就切不同的地方——胰蛋白酶口袋底有 Asp，专认带正电的 Lys、Arg；胰凝乳蛋白酶口袋大而疏水，认芳香族残基；弹性蛋白酶口袋被两个带支链的残基堵小了，只认小侧链。

外校热点 活性中心只有几个残基，酶分子为什么那么大——其余部分要把这几个残基精确地撑在位置上，提供与底物结合的更多接触点（结合能），还要留出调节部位、与别的蛋白质或膜结合的部位。〔880 专题 6〕

真题 5 道 生化 07 12 17 21 23

25 具体怎么削坎，手法就那么几招：拉近摆正、扭一下、酸碱催化、共价催化、金属离子催化，几招同时用 ●

因素	做了什么
邻近效应与定向效应（proximity and orientation effects）	**邻近效应**（proximity effect）：双分子酶促反应中，两个底物分子被束缚在酶分子表面、彼此接近，底物在活性部位的“有效浓度”远高于溶液中，反应加快。**定向效应**（orientation effect）：两个底物的反应基团之间、底物反应基团与酶催化基团之间取得正确的定位取向。两者都相当于把分子间反应变成类似分子内的反应
底物形变与诱导契合	酶把底物的敏感键扭得接近过渡态，更容易断
酸碱催化（acid-base catalysis）	侧链给出或接受质子，稳住过渡态上出现的电荷；His 最合适（pKa 接近 7，给、收都快）
共价催化（covalent catalysis）	又称亲核催化或亲电子催化：酶的亲核（或亲电子）基团放出（或汲取）电子，作用于底物的缺电子中心（或负电中心），迅速形成不稳定的**共价中间物**（covalent intermediate），降低活化能，使反应加速。最常见的亲核基团是 Ser 羟基、Cys 巯基、His 咪唑基；这类酶多数是乒乓机制
金属离子催化	结合并定向底物、稳住负电荷、参与电子转移
多元催化与微环境	几种手法协同；活性中心是低介电的疏水环境，使基团之间的作用加强

- **胰凝乳蛋白酶**（chymotrypsin）把这几招用全了：**催化三联体 Asp102–His57–Ser195**（catalytic triad）。His 先当碱，拔走 Ser 羟基上的质子，Ser 的氧攻击肽键的羰基碳，形成四面体中间物（负电荷由**氧负离子洞**（oxyanion hole）稳住）→ 肽键断开，前半段留在酶上成**酰基-酶中间物**（酰化，acyl-enzyme intermediate）→ 水进来，照同样的方式把酰基水解下来（脱酰）。用酯底物做的“突发”实验显示酰化快、脱酰慢，脱酰是胰凝乳蛋白酶水解酯的限速步骤（朱圣庚）；补充（推断，课本没有这句）：以肽为底物时，酰胺键难断，酰化一步要慢得多。
- 找出这几个残基的办法：DIPF（一种有机磷）只标记活性中心的 Ser195，说明这个丝氨酸特别活泼。

近五年考了 2 卷 生24 生26 **真题 5 道** 生化 10 13 15 24 26

26 活性中心的基团带不带电看 pH，蛋白质的形状又怕热，所以每种酶各有一个最适 pH 和最适温度 ●

- **pH** 影响三样东西：酶的必需基团的解离状态、底物的解离状态、酶构象的稳定性（极端 pH 使酶变性，但**不破坏一级结构**）。多数酶最适 pH 在 6～8，胃蛋白酶约 2。
- **温度**有两个相反的作用：升温使反应加快，又使酶逐渐变性；两者相抵速率最大的那个温度是最适温度。低温只是抑制、不使酶变性，回温后活性恢复。
- 最适 pH 和最适温度都不是酶的特征常数：最适 pH 随底物种类、缓冲液而变，不只取决于酶蛋白的结构；最适温度随反应时间长短而变。
- 干燥的固体酶比溶液里的酶耐热。
- 激活剂多是金属离子或简单的阴离子：激酶要 Mg^{2+}，唾液淀粉酶要 Cl^-。许多核酸酶要 Mg^{2+}，所以螯合剂 **EDTA**（ethylenediaminetetraacetic acid）能抑制它们。

真题 7 道 生化 07 08 23

怎样量一个酶

27 酶有多快、对底物有多“馋”，用米氏方程里的两个数来量：Vmax 和 Km ●

- 动力学只测**初速度**（initial velocity）：反应刚开始、底物消耗不到 5% 时的速度；这时底物浓度基本不变，逆反应和产物抑制都可以忽略。反应速度用单位时间、单位体积内底物的减少量或产物的增加量表示。
- 速度对底物浓度作图是一条双曲线，有**饱和现象**（saturation）：底物很少时速度与底物浓度成正比（一级反应），底物很多时速度不再增加（零级反应）。原因是酶先与底物结合成**中间复合物 ES**（enzyme-substrate complex），酶的数目有限。
- $v = Vmax[S] / (Km + [S])$。推导（$E + S \rightleftharpoons ES \rightarrow E + P$，速率常数 k_1、k_{-1}、k_2）：
  - 前提：测的是初速度（产物极少，不计逆反应）；底物远多于酶；ES 的浓度处于**稳态**（steady state），生成速度等于分解速度。
  - 稳态：$k_1[E][S] = (k_{-1} + k_2)[ES]$，其中 $[E] = [E]_t - [ES]$。
  - 令 $\mathbf{Km = (k_{-1} + k_2) / k_1}$，解出 $[ES] = [E]_t[S] / (Km + [S])$。
  - $v = k_2[ES]$，酶全部成为 ES 时速度最大，$Vmax = k_2[E]_t$，代入即得。

常数	含义	要点
Km（米氏常数，Michaelis constant**）**	速度达到 Vmax 一半时的底物浓度，单位是浓度	是酶的**特征常数**（characteristic constant），只与酶的性质、底物、pH、温度有关，与酶浓度无关；k_2 远小于 k_{-1} 时近似反映亲和力，**Km 越小亲和力越大**；一种酶有几种底物时，Km 最小的是**最适底物（天然底物）**（optimal substrate）
Vmax（maximum velocity）	酶被底物饱和时的速度	不是特征常数，与酶浓度成正比；所以底物远多于 Km 时，加酶就能加快反应，初速度与酶浓度成正比
kcat（转换数，turnover number**）**	酶被饱和时，每个酶分子（每个活性中心）每秒转化的底物分子数；kcat = Vmax / $[E]_t$	量的是“干得多快”
kcat / Km	催化效率（专一性常数）	上限是酶与底物靠扩散相遇的速度，10^8～10^9 L・mol^{-1}・s^{-1}

- **双倒数作图**（double-reciprocal (Lineweaver-Burk) plot）把曲线拉直：1/v =（Km/Vmax）・（1/[S]）+ 1/Vmax。斜率 Km/Vmax，**纵轴截距 1/Vmax，横轴截距 −1/Km**。
- 常考的算术：速度要到 Vmax 的 90%，底物浓度得是 9 Km；到 10% 只要 Km/9；两者之比 Rs = **81**（服从米氏方程的酶都是 81；正协同的别构酶小于 81，负协同的大于 81）。
- 酶量的表示：**酶活力单位**（enzyme activity unit）（国际单位 IU：最适条件下每分钟转化 1 μmol 底物的酶量；Kat：每秒转化 1 mol）；**比活力**（specific activity）是每毫克蛋白质所含的酶活力单位数，代表酶的纯度。
- 两个底物的酶：**序列机制**（两个底物都结合上去才出产物；分有序、随机两种，sequential mechanism）和**乒乓机制**（ping-pong mechanism）——第一个底物结合、放出第一个产物，酶自己被改了样，再结合第二个底物、放出第二个产物；典型是**转氨酶**（谷丙转氨酶，transaminase (aminotransferase)），辅酶在磷酸吡哆醛和磷酸吡哆胺之间来回变。

易错 不是所有的酶都服从米氏方程（别构酶不服从）；也不是所有的酶在底物浓度不断加大时都表现出饱和现象。

近五年考了 4 卷 生22 生24 生25 生26　**真题 29 道** 生化 07 10 11 12 13 14 15 17 18 20 22 24 25 26

28 能装下底物的口袋，也就能被别的分子占住或带歪：可逆抑制三种，看 Km 和 Vmax 怎么变就能分清；不可逆抑制是共价封死

	竞争性抑制（competitive inhibition）	**非竞争性抑制**（noncompetitive inhibition）	**反竞争性抑制**（uncompetitive inhibition）
抑制剂结合在	游离的酶，占的就是活性中心	活性中心以外；游离的酶和 ES 都结合	只结合 ES
表观 Km	**增大**	不变	**减小**
表观 Vmax	**不变**	**减小**	**减小**（与 Km 同比例）
双倒数图	交于纵轴	交于横轴	一组平行线
加大底物浓度	可以解除	不能	不能

- 竞争性抑制的方程：v = Vmax[S] /（Km（1 + [I]/Ki）+ [S]）。推导和米氏方程一样，只是酶多了一个去处 EI：$[E]_t$ = [E] + [ES] + [EI]，[EI] = [E][I]/Ki，代入稳态式即得；Vmax 不变，Km 被放大（1 + [I]/Ki）倍。
- 竞争性抑制剂在结构上与底物相似，药物里最多：

抑制剂	冒充谁	抑制的酶	用处
丙二酸	琥珀酸	琥珀酸脱氢酶	经典例子
磺胺类（sulfonamides）	对氨基苯甲酸	细菌的二氢叶酸合成酶	抑菌；人不自己合成叶酸，所以不受害
甲氨蝶呤、氨基蝶呤	二氢叶酸	二氢叶酸还原酶	抗肿瘤；拮抗的是**叶酸**（folic acid）
别嘌呤醇（allopurinol）	次黄嘌呤	黄嘌呤氧化酶	治痛风（先像次黄嘌呤一样竞争活性中心，被氧化成别黄嘌呤后牢牢结合酶，课本称“自杀作用物”）
乙醇	甲醇	醇脱氢酶	抢救甲醇中毒

- **不可逆抑制**（irreversible inhibition）：抑制剂与酶的必需基团**共价结合**，透析除不去；抑制剂加够了，酶活性可以被完全抑制。
  - **有机磷**（农药、DIPF、神经毒气，organophosphates）封住丝氨酸酶活性中心的 Ser 羟基，乙酰胆碱酯酶失活；用**解磷定**（pralidoxime）把磷酰基夺下来。
  - **重金属离子**（Hg^{2+}、Pb^{2+}、Ag^{+}）和**砷化合物**（如路易士气）结合酶的**巯基**（sulfhydryl group）。误服后的补救：尽快催吐，喝大量牛奶或蛋清，让其中的蛋白质先把重金属结合掉；到医院用二巯基丙醇等巯基化合物解毒。
  - **青霉素**（penicillin）是自杀性底物：被细菌合成细胞壁的转肽酶当成底物，反把酶共价封死；所以它只抑制新细胞壁的形成，不能破坏已经形成的细胞壁。

- **双硫仑**（戒酒药，disulfiram）与乙醛脱氢酶活性中心的半胱氨酸共价结合，使酶失活：服药后一喝酒，乙醛堆积，脸红、头痛、恶心。头孢哌酮等侧链带甲硫四氮唑基团的头孢菌素也抑制乙醛脱氢酶，用药期间喝酒出现同样的症状，叫双硫仑样反应。

- 抗生素的作用机制归为五类：抑制细胞壁合成（青霉素、头孢菌素）；破坏细胞膜（多黏菌素）；抑制蛋白质合成（链霉素、四环素、氯霉素、红霉素）；抑制核酸合成（利福平抑制 RNA 聚合酶、喹诺酮抑制 DNA 旋转酶）；抗代谢（磺胺）。

近五年考了 4 卷 生22 生24 生25 生26　**真题 20 道** 生化 07 08 09 10 11 12 13 14 16 17 18 22 24 25 26

怎样管住一个酶

29 细胞不让酶一直全速。第一种管法是别构：调节物结合在活性中心以外，改变构象来改变活性，而且曲线是 S 形，反应特别灵敏

- 酶对代谢的调节分两大方式：**调节酶的活性**（快，几秒到几分钟：别构调节、共价修饰、酶原激活）和**调节酶的含量**（慢，几小时：基因表达的诱导与阻遏、酶蛋白的降解）。此外还有同工酶、区室化、亚基的聚合与解聚。
- **别构酶**（allosteric enzyme）：一般是**寡聚酶**（oligomeric enzyme），除活性中心外还有调节部位；常催化代谢途径的**第一步**或分支点后的第一步。速度对底物浓度的曲线是 **S 形**，不服从米氏方程，用 $K_{0.5}$ 代替 Km。
- **别构调节**（allosteric regulation）：小分子调节物以非共价键结合在调节部位，引起构象变化，使酶活性升高（别构激活剂，曲线左移）或降低（别构抑制剂，曲线右移）。道理与 **18 别构与协同** 里的血红蛋白完全一样。别构效应分两种：同种配体（如底物与底物）结合部位之间的影响叫**同促效应**（S 形曲线的来源），不同种配体（如底物与调节物）之间的影响叫**异促效应**。
- S 形的好处：底物浓度在 $K_{0.5}$ 附近稍有变化，速度就大起大落，相当于一个灵敏的开关。
- **反馈抑制**（feedback inhibition）：代谢途径的终产物抑制途径起始处的关键酶，多数通过别构实现；终产物够了，整条途径自动慢下来，既不浪费原料也不积累中间物。
- **负反馈调节**（negative feedback regulation）：代谢或生理过程中，产物积累到一定浓度时，反过来抑制上游的关键酶或反应步骤，使途径减慢、产物减少的调控方式；它避免过度合成和能量浪费，维持稳态。反馈抑制是它在代谢途径里最常见的形式，激素分泌的调节也属于这一类。
- **限速酶**（rate-limiting enzyme）：途径里活性最低、催化最慢一步的酶（通常是第一步或分支点后的第一步，反应不可逆），整条途径的流量由它决定；多数是别构酶。
- 例一，天冬氨酸转氨甲酰酶（ATCase）：嘧啶合成的第一步，终产物 CTP 反馈抑制，ATP 激活。
- 例二，**磷酸果糖激酶-1**（phosphofructokinase-1）：ATP 既是它的底物，又是它的**别构抑制剂**（allosteric inhibitor）。活性中心对 ATP 亲和力高，调节部位亲和力低；ATP 多到占上调节部位时，酶对果糖-6-磷酸的亲和力下降——能量够了就不必再分解糖。AMP、果糖-2,6-二磷酸是激活剂。

易错 果糖-1,6-二磷酸是这个酶的产物，但它不反馈抑制本酶，而是往下游**前馈激活（feedforward activation）** 丙酮酸激酶。胰蛋白酶不是别构酶。“相对活性最高的酶是限速酶”说反了。

真题 30 道 生化 07 08 11 12 13 14 16 17 18 19 21 22

30 第二种管法是在酶上动共价键：可逆的是加上或拿掉一个磷酸，不可逆的是切掉一段肽链把酶原变成酶

- **可逆共价修饰**（reversible covalent modification）：另一种酶给它共价地加上一个基团，再由第三种酶拿掉，活性随之切换。最常见的是**磷酸化**（phosphorylation）——**蛋白激酶**（protein kinase）用 ATP 把磷酸加在 **Ser、Thr、Tyr** 的羟基上，**蛋白磷酸酶**（protein phosphatase）把它水解下来。加和去是两个不同的酶催化的两个反应，不是一个可逆反应。
- 特点：酶促进行，一个激酶分子能修饰许多底物分子，可以一级级**级联放大**（cascade amplification）；耗能很少；几秒到几分钟见效；受激素等信号控制。
- 经典的一对：糖原磷酸化酶磷酸化后**活化**（b 型变 a 型），糖原合酶磷酸化后**失活**；一个信号同时开分解、关合成。
- 其他修饰：腺苷酰化（细菌谷氨酰胺合成酶）、乙酰化、甲基化、ADP-核糖基化。
- **酶原激活**（zymogen activation）：酶先合成为无活性的前体（酶原），在特定部位切断一个或几个肽键，构象改变，活性中心才形成或露出来；这是**不可逆**的。
  - 胰蛋白酶原进了小肠，由**肠激酶**（enteropeptidase (enterokinase)）切掉 N 端的六肽变成胰蛋白酶；胰蛋白酶再去激活胰凝乳蛋白酶原、弹性蛋白酶原、羧肽酶原，也激活自己。胃蛋白酶原靠胃酸和自身催化。
  - 意义：保护合成它的细胞和组织不被自己消化；又是随时可用的储备，需要时迅速激活、逐级放大（消化、凝血、**147 凋亡的执行**里的 caspase 都是这样）。
- **同工酶**（isozyme）：催化同一个反应，但分子结构、理化性质和免疫学性质不同的一组酶。乳酸脱氢酶由 H、M 两种亚基组成四聚体，共 5 种：心肌以 H_4 为主，偏向把乳酸氧化成丙酮酸；骨骼肌以 M_4 为主，偏向把丙酮酸还原成乳酸。同工酶让同一步反应在不同组织里按不同的需要进行，也用于诊断（心肌梗死时血中 H_4 型升高）。

- 用实验判断一个双功能酶的两种反应是否在同一个催化部位：① 对关键残基做定点突变，看两种活性是同时丧失还是只丢一种；② 用专一的化学修饰试剂封住某种基团，看是否同时抑制两种反应；③ 用两种底物的类似物，看一种反应的底物类似物能不能竞争性抑制另一种反应。

易错 “共价调节”不是指酶与底物形成共价中间物（那是共价催化）；同工酶不是“一种酶有几种功能”，也不是“化学性质和功能都相同的一组酶”。

真题 8 道 生化 07 08 09 10 13 17 · 细胞 26

酶的帮手

31 氨基酸侧链干不了的化学活——搬电子、搬酰基、搬一个碳——交给辅酶；辅酶大多是 B 族维生素变来的，一种辅酶专搬一种东西

- **维生素**（vitamin）：机体不能合成或合成不够、必须由食物供给的小分子有机物，需要量极少，不供能、不作结构材料。分**水溶性**（B 族、C，water-soluble）和**脂溶性**（A、D、E、K，fat-soluble）。B 族都是辅酶的前体；但并非所有维生素都做辅酶。

维生素	活性形式	搬什么	代表酶	缺乏
B_1 硫胺素	**TPP**（焦磷酸硫胺素，thiamine pyrophosphate）	α-酮酸**氧化脱羧**（oxidative decarboxylation）时的醛基；转酮反应的二碳单位	丙酮酸脱氢酶、α-酮戊二酸脱氢酶、转酮酶	脚气病
B_2 核黄素	**FMN、FAD**	氢（一次可传 1 个或 2 个电子）	琥珀酸脱氢酶（FAD）、脂酰 CoA 脱氢酶	口角炎
PP 烟酰胺	**NAD^+、$NADP^+$**（烟酰胺腺嘌呤二核苷酸，又称尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸、辅酶 I；它的磷酸酯，辅酶 II）	氢负离子（2 个电子加 1 个质子）	各种脱氢酶	糙皮病
泛酸	**CoA**（coenzyme A）、ACP 的辅基	**酰基**（acyl group）	酰基转移	—
B_6	**磷酸吡哆醛（PLP）**（pyridoxal phosphate）	氨基：转氨、脱羧、消旋	转氨酶、氨基酸脱羧酶；也是糖原磷酸化酶的辅因子	—
生物素	连在酶的 Lys 上	**CO_2**（羧化）	丙酮酸羧化酶、乙酰 CoA 羧化酶、丙酰 CoA 羧化酶	生蛋清里的抗生物素蛋白可致缺乏
叶酸	**四氢叶酸（FH_4）**（tetrahydrofolate）	**一碳单位**（one-carbon unit）	嘌呤、dTMP 的合成	巨幼红细胞贫血
B_{12} 钴胺素	甲钴胺素、5′-脱氧腺苷钴胺素（含**钴**（cobalt））	甲基；分子内重排	甲硫氨酸合酶、甲基丙二酰 CoA 变位酶	恶性贫血（缺内因子时吸收不了）
硫辛酸	连在酶的 Lys 上	酰基和电子	丙酮酸脱氢酶复合体	—
C 抗坏血酸	—	还原剂；羟化酶的辅因子	胶原里 Pro、Lys 的羟化	坏血病

- NAD^+、$NADP^+$、FAD、CoA 分子里都含**腺苷酸**（adenylate (AMP)）；FMN 不含。NAD^+ 多用于分解代谢（收集电子去产能），**NADPH** 多用于合成代谢（脂肪酸从头合成的供氢体），它不是呼吸链的成员。
- **丙酮酸脱氢酶复合体**（pyruvate dehydrogenase complex）一口气用五种辅因子：TPP、硫辛酸、CoA、FAD、NAD^+；脱下的氢最终交给 NAD^+ 生成 NADH，FAD 只是中转。α-酮戊二酸脱氢酶复合体同理，所以缺 B_1 时三羧酸循环里受影响的正是它。
- **一碳单位**（甲基、亚甲基、次甲基、甲酰基、亚氨甲基；CO_2 不算）由**四氢叶酸**（tetrahydrofolate）携带，来自 **Ser、Gly、His、Trp**，用来合成嘌呤和 dTMP。生物体内**直接的甲基供体**（direct methyl donor）是 **S-腺苷甲硫氨酸（SAM）**（S-adenosylmethionine），由 Met 加 ATP 生成；Met 因此是重要的甲基供体。
- 把甲基 ^{14}C 标记的 Met 喂给分裂旺盛的细菌，几分钟后 DNA 就带上标记：Met 活化成 SAM，甲基转移酶把甲基加到 DNA 的碱基上。意义：新链暂时没有甲基，细胞据此分辨新、旧链做错配修复（**84 复制的忠实性**）；甲基化还保护自身 DNA 不被限制性内切酶切，并参与基因表达的调节。
- 缺硫胺素和生物素，脂肪酸从头合成变慢：缺 B_1，丙酮酸脱氢酶不工作，乙酰 CoA 来源减少；缺生物素，乙酰 CoA 羧化酶做不出丙二酰 CoA，丙酮酸羧化酶补不上草酰乙酸、乙酰 CoA 就不能以柠檬酸的形式运出线粒体。这两条是参考答案的主干。补充一层：转酮酶也要 TPP，缺 B_1 时戊糖磷酸途径的非氧化阶段不畅，五碳糖回不到六碳糖再进氧化阶段，NADPH 的持续供应可能受影响（产 NADPH 的两步脱氢本身不用 TPP）。

外校热点 列举五种维生素及其辅酶的作用、叶酸的活性形式与功能，是各校最常见的问法，答上面这张表即可。〔880 专题 13〕

近五年考了 4 卷 生22 生24 生25 生26　**真题 35 道** 生化 07 08 09 10 11 12 13 14 15 16 17 18 22 24 25 26

32　四种脂溶性维生素不做辅酶，各管一件事：A 管看，D 管钙，E 抗氧化，K 管凝血 ●

- **脂溶性维生素**（lipid-soluble vitamin）：维生素 A、D、E、K 不溶于水，而溶于脂肪及脂溶剂（苯、乙醚、氯仿等），故称脂溶性维生素；在肠道随脂质一起吸收，吸收后可在体内、尤其肝内储存，过量会蓄积中毒。

维生素	来源与活性形式	做什么	缺乏
A	β-胡萝卜素在体内切成维生素 A；视黄醛、视黄酸	11-顺视黄醛与视蛋白组成**视紫红质**（rhodopsin），感弱光；视黄酸经核受体调节基因表达，维持上皮	夜盲症、干眼病
D	皮肤里的 **7-脱氢胆固醇**（7-dehydrocholesterol）经紫外线变成 D_3；再经肝 25-羟化、肾 1-羟化成 **1,25-二羟维生素 D_3**（1,25-dihydroxyvitamin D_3）	像类固醇激素一样进核调基因，促进小肠吸收钙和磷	佝偻病、骨软化症
E	生育酚	脂溶性抗氧化剂，保护膜上的不饱和脂肪酸	少见
K	绿叶菜、肠道细菌	凝血因子上谷氨酸 **γ-羧化**（γ-carboxylation）的辅因子，羧化后才能结合 Ca^{2+}	凝血障碍；华法林是它的拮抗剂

- 脂溶性维生素随脂肪一起吸收，要胆汁酸帮忙，能在肝和脂肪里储存，吃多了会中毒；水溶性维生素一般不储存，多了随尿排出。
- 夜盲的道理：光把 11-顺视黄醛打成全反式，视紫红质分解并发出信号；全反式要再变回 11-顺式才能重新合成视紫红质，途中有损耗，要靠血里的维生素 A 补充。缺了它，暗处视紫红质合成不足。

外校热点　一分子 β-胡萝卜素理论上生成两分子维生素 A；胡萝卜要和油或肉一起炒，因为它脂溶性，有脂肪和胆汁酸才吸收得好。〔880 专题 13〕

易错　β-胡萝卜素是维生素 **A** 的前体，不是 D 的；晒太阳能预防佝偻病和骨软化症。

真题 7 道　生化 08 12 15 18 24

> 酶把坎削低了，坎两边的高度差它却改不了。细胞里的合成、运输、运动全是往高处走的反应，光有酶推不动。

第二问　33–75 环

劲从哪来

膜、能量、代谢

酶只能让本来就会发生的反应变快，不能让上坡的反应自己发生；而细胞里的合成、运输、运动全是上坡。于是有了第二个问题：能量从哪来、怎样存、怎样花。要回答它，先得有一层膜把里外隔开。

膜与运输

两亲的脂在水里自己排成双层 → 双层流动、两面不同、蛋白镶在里面 → 小分子顺梯度走通道和载体，逆梯度靠泵烧 ATP → 泵出的离子梯度又能带别的分子 → 大分子整个吞进吐出

膜是什么做的

33　酶和底物要凑得够浓才碰得上，得有一道边界把它们圈住；做边界的材料是脂质，其中一头亲水、一头疏水的那几类才能成膜 ●

- **脂质**（lipid）是按溶解性归的一类：不溶于水、溶于有机溶剂。不一定都含甘油和脂肪酸（胆固醇就没有）。
- **脂肪酸**（fatty acid）：多为偶数碳的直链，16 碳、18 碳最多。饱和的有软脂酸（16:0）、硬脂酸（18:0）；不饱和的有油酸（18:1）、亚油酸（18:2）、α-亚麻酸（18:3）、花生四烯酸（20:4）。天然双键多是**顺式**（cis），使链拐一个弯。链越短、双键越多，熔点越低。
- **必需脂肪酸**（essential fatty acid）：人体需要、自己又不能合成、必须从食物得到的多不饱和脂肪酸，主要是**亚油酸**（linoleic acid）和 **α-亚麻酸**（人的去饱和酶不能在第 9 位碳以远引入双键，α-linolenic acid）。
- **三酰甘油**（甘油三酯，triacylglycerol）：1 分子甘油加 3 分子脂肪酸，不带电、不亲水，是储能的形式（不带水，单位质量储能远多于糖原）。加碱水解叫**皂化**（saponification），产物是甘油和脂肪酸盐（肥皂）。

膜脂	骨架	成员与要点
甘油磷脂（磷酸甘油酯，glycerophospholipid**）**	甘油	最简单的是磷脂酸（甘油 + 2 脂肪酸 + 磷酸）；磷脂酰胆碱（卵磷脂，动物细胞膜中最多）＝甘油 + 2 脂肪酸 + 磷酸 + 胆碱；还有磷脂酰乙醇胺（脑磷脂）、磷脂酰丝氨酸、**磷脂酰肌醇**（信号分子的前体，phosphatidylinositol）、心磷脂（线粒体内膜）、缩醛磷脂
鞘脂（sphingolipid）	鞘氨醇，**不含甘油**	鞘磷脂（神经酰胺 + 磷酸胆碱）；鞘糖脂：脑苷脂（一个单糖）、神经节苷脂（含唾液酸的寡糖链）
固醇（sterol）	四个稠合的环	动物是**胆固醇**（cholesterol）；植物是谷固醇、豆固醇，真菌是麦角固醇；原核生物一般不含固醇（支原体例外）

- 三类膜脂都是**两亲（两性）分子**（amphipathic molecule）：一个亲水的头、一条或两条疏水的尾。磷脂分为甘油磷脂和鞘磷脂两大类。
- 课本版本不同，填空有两种口径：细胞学第 5 版说膜脂是“甘油磷脂、鞘脂、固醇”三类；生化的参考答案把生物膜的膜脂写作“磷脂和糖脂”。
- 胆固醇还是胆汁酸、类固醇激素、**维生素 D_3**（vitamin D_3 (cholecalciferol)）的前体。类固醇激素是多环的疏水分子，能直接穿过细胞膜进到胞内。
- **前列腺素**（prostaglandin）是二十碳的环状羟基脂肪酸（环羟脂酸），由花生四烯酸变来，是局部起作用的信号分子。
- 膜脂（磷脂、胆固醇）主要在**光面内质网**（smooth endoplasmic reticulum）合成。

易错　甘油磷脂彻底水解的产物除了甘油、脂肪酸、磷酸，还有胆碱、乙醇胺一类含氮的醇；神经节苷脂、鞘磷脂都不是甘油磷脂。

近五年考了 4 卷　生23 生24 生26 细22　　**真题 23 道**　生化 07 08 11 12 13 15 16 17 23 24 26 · 细胞 07 09 16 17 22

34　两亲的脂在水里自己排成双层并闭合成泡；这层膜只放小的、不带电的分子自由通过，离子一个也过不去 ●

- 驱动力是**5 水与弱键**里的**疏水作用**（hydrophobic interaction）：尾巴躲开水，头朝着水。单尾的（脂肪酸、去污剂）形状像楔子，聚成**微团**（micelle）；双尾的磷脂近似圆柱，排成**双层**（bilayer）；双层的边缘不能暴露在水里，于是自动闭合成小泡。
- **脂质体**（liposome）：人工制备的、由连续脂双层围成的球形小囊。用途：把纯化的膜蛋白装进去单独研究它的功能；包裹药物或核酸送进细胞。
- 通透性（疏水核心约 3 nm 厚）：O_2、CO_2、类固醇等疏水分子最快；水、尿素、甘油、乙醇等不带电的小极性分子能过；葡萄糖等大的极性分子很慢；**离子不论大小都过不去**。
- 水过得比溶质快，所以水跟着溶质走，这就是**渗透**（osmosis）：

介质	动物细胞（红细胞）	植物细胞
低渗	吸水膨胀直至破裂（溶血，剩下的空壳叫**血影**（erythrocyte ghost））	吸水，有细胞壁撑着不破，产生膨压
等渗	形状不变	不变
高渗	失水皱缩	质壁分离

- **生物膜**（biomembrane）是质膜和细胞内各种膜的总称，都以脂双层为骨架，电镜下是“暗—明—暗”的单位膜。由生物膜围成的细胞结构叫**膜相结构**（质膜、内质网、高尔基体、溶酶体、线粒体、叶绿体、核被膜，membranous structure）；核糖体、中心体、细胞骨架、染色质属于非膜相结构。

外校热点 红细胞（胞内盐浓度相当于 0.7%）放进 0.5% 的盐溶液——外面是低渗的，盐过不去、水能过，水进细胞，细胞胀大甚至破裂（2026 年华农选择题也这样考）。〔660〕

近五年考了 4 卷 生23 生25 细22 细26　**真题 7 道** 生化 23 25 · 细胞 09 10 13 22 26

35　这层膜不是一堵死墙：脂和蛋白都在里面游动，两面又各不相同——流动镶嵌模型

- 认识的过程：“蛋白质—脂质—蛋白质”三明治模型 → 单位膜模型 → **流动镶嵌模型**（1972，fluid mosaic model）→ 脂筏模型。流动镶嵌模型的要点：脂双层是骨架，蛋白质以不同方式镶嵌其中；膜有**流动性**（fluidity (membrane fluidity)）；膜有**不对称性**（asymmetry）。
- 膜脂的四种运动：**侧向扩散**（最快、最主要，lateral diffusion）、绕长轴**旋转**（rotation）、脂肪酸链尾部**摆动**、两层之间**翻转**（flip-flop）（自发的极少发生，频率不到侧向交换的百亿分之一；内质网膜上靠**翻转酶**（flippase）帮忙，快 10 万倍）。膜蛋白能侧向扩散和旋转。侧向扩散、旋转、摆动都是热运动，**不消耗能量**，所以抑制能量代谢不影响膜蛋白的流动，降温才会降低它。

因素	对流动性的影响
温度	升高则流动性增大；降到**相变温度**（phase transition temperature）以下，膜脂由液晶态变成凝胶态（晶态），这个转变叫膜的相变
脂肪酸链的长短	链越短，流动性越大
不饱和度（degree of unsaturation）	双键越多（顺式双键使链弯折、排不紧），流动性越大
胆固醇（cholesterol）	双向调节：相变温度以上限制脂肪酸链的摆动，降低流动性；相变温度以下插在链之间、不让它们排紧，维持流动性
卵磷脂与鞘磷脂之比	比值高，流动性大
膜蛋白	嵌入越多，流动性越小

- 低温下细菌增加不饱和脂肪酸（并缩短链长）的比例来压低相变温度，使膜在冷的时候还流得动；植物抗寒也是这个道理。
- 证明流动性的实验：
  - **细胞融合**（cell fusion）：人、鼠细胞的膜蛋白分别用两种颜色的荧光抗体标记，融合后起初各占一半，37 °C 约 40 分钟混匀，低温下混得很慢。
  - **荧光漂白恢复**（FRAP/FPR，fluorescence recovery after photobleaching）：荧光标记膜蛋白或膜脂 → 用激光把一小块漂白 → 周围带荧光的分子扩散进来，暗斑逐渐恢复。恢复的速度反映侧向扩散的快慢，恢复不了的部分是被固定住的分子。
- 流动不是无限制的：膜骨架、细胞连接、胞外基质都会把膜蛋白拴住。
- **不对称性**：
  - 膜脂：外层多磷脂酰胆碱、鞘磷脂，内层多磷脂酰丝氨酸（PS）、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰肌醇；糖脂只在外层。
  - 膜蛋白：每种蛋白在膜上的方向固定，不翻转。
  - 糖：糖脂和糖蛋白的糖链**全部朝向细胞外**（在细胞器里朝向腔内）。
  - 怎么形成、怎么维持：可能与合成部位有关——甘油磷脂在内质网膜的胞质面合成，鞘脂在高尔基体的腔面合成；膜蛋白的方向在合成时就定了，之后不变；自发翻转极少，质膜上还有消耗 ATP 的转位酶把 PS、PE 翻回内层。
  - 意义：膜的功能因此有方向（物质单向运输、受体在外侧接信号）；细胞濒临死亡时维持不住，PS 翻到外层，成为“来吃我”的记号（**146 凋亡的特征**）。
- **脂筏**（lipid raft）：膜上富含**鞘磷脂和胆固醇**（sphingomyelin and cholesterol）的微区，分子排得较紧、较有序、流动性较低，直径 10～200 nm，高度动态；鞘磷脂尾巴长，脂筏处的脂双层比别处厚；用非离子去垢剂可以把它从质膜上分离出来；上面富集 GPI 锚定蛋白和脂酰化的信号蛋白。质膜内陷的**胞膜窖**（caveola）与脂筏相关。作用：信号转导的平台，参与膜泡运输与蛋白质分选、胞吞，也是某些病毒和毒素进入细胞的入口。

近五年考了 3 卷 生26 细22 细26　**真题 13 道** 生化 26 · 细胞 09 11 12 13 14 15 18 20 22 26

36 脂双层只是底子，膜上真正干活的是膜蛋白：按它怎样挂在膜上分三类，膜下面还有一张骨架网托着 ●

类型	怎样结合	怎样取下来
整合蛋白（内在蛋白、跨膜蛋白，integral protein**）**	以疏水的 **α-螺旋**（约 20 个疏水残基，α-helix）一次或多次穿过脂双层，少数用 β-桶	必须用**去污剂**（detergent）把膜溶掉（SDS 作用强、会使蛋白变性；Triton X-100 温和）
外周蛋白（peripheral protein）	靠离子键、氢键附在膜表面或整合蛋白上	改变离子强度或 pH 就能洗下来
脂锚定蛋白（lipid-anchored membrane protein）	蛋白质上共价连着一个脂分子，脂插在膜里：胞外侧用 GPI 锚，胞质侧用脂肪酸或异戊二烯基	介于两者之间

- 怎样定一个跨膜蛋白哪段在膜内、哪段在膜外：
  - 预测：疏水性分析，约 20 个残基连续疏水的一段可能是跨膜螺旋；跨膜段两侧带正电残基多的一侧朝胞质。
  - 实验：给各段接上表位标签，完整细胞能被抗体染上的在膜外，打孔后才染上的在膜内；只在膜外加蛋白酶，膜外的部分被切掉；带 N-糖链的部分在膜外；用不能过膜的试剂标记。
  - G 蛋白偶联受体 7 段螺旋围成一个口袋：膜外侧结合配体，构象变化经螺旋传到膜内的环上去激活 G 蛋白，配体不用进细胞（**122 G蛋白偶联受体**）。
- **膜骨架**（以红细胞为例，membrane skeleton）：质膜胞质面的一张网。**血影蛋白**（spectrin）四聚体的长纤维与短的**肌动蛋白**（actin）丝在带 4.1 蛋白协助下连成网格；**锚蛋白**（ankyrin）把血影蛋白拴在跨膜的**带 3 蛋白**（band 3 protein）上，带 4.1 蛋白又把网连到血型糖蛋白上。功能：维持红细胞双凹圆盘的形状，给膜弹性，限制膜蛋白的侧向扩散。
- 细胞表面朝外的糖链合起来叫糖萼（细胞外被），起保护和识别作用；ABO 血型的差别就在糖链末端的一个糖基。

易错 膜蛋白的肽链可以多次穿膜；跨膜段大多是 α-螺旋，不是 β-折叠。

近五年考了 2 卷 生26 细22　**真题 6 道** 生化 15 26 · 细胞 14 21 22

东西怎样过膜

37 顺着浓度梯度过膜不花能量：能溶进脂双层的自己扩散过去，不能溶的走通道或者搭载体 ●

- **被动运输**（passive transport）：物质顺着浓度梯度跨膜、不需要细胞提供能量的运输方式（课本按是否需要细胞供能，把跨膜运输分成被动运输和主动运输）；按要不要膜转运蛋白，又分简单扩散和协助扩散。
- **简单扩散**（simple diffusion）：不要蛋白质帮忙，速度只看脂溶性和浓度差，不会饱和。
- **协助扩散**（facilitated diffusion）：靠膜转运蛋白，仍然是顺梯度、不耗能，但有专一性，比简单扩散快得多。转运蛋白有两种：
- **通道蛋白**（channel protein）：普遍存在于真核细胞质膜和细胞内膜上的一类膜转运蛋白，形成亲水性通道让特异的溶质跨膜；分三种类型——离子通道、孔蛋白、水孔蛋白，多数是离子通道。它不与溶质结合，只介导协助扩散（被动运输），有选择性。

	载体蛋白（carrier protein）	**通道蛋白**
方式	结合溶质 → 自己变构 → 在另一侧放开	围成一条亲水的孔道，溶质直接流过
速度	慢	极快，接近自由扩散
饱和	**会饱和**，像酶一样有 Km 和 Vmax	不饱和
能干的活	被动运输和主动运输都行	**只能被动运输**
例	葡萄糖转运蛋白 GLUT	离子通道、水孔蛋白

- 血糖高于肌细胞内的葡萄糖浓度，葡萄糖就经 GLUT 以**协助扩散**进肌细胞。
- **离子通道**（ion channel）的三个特点：选择性高、速度快、有**门**。按开门的信号分三种：**电压门控通道**（膜电位变化，如神经上的 Na^+、K^+ 通道，voltage-gated channel）、**配体门控通道**（结合了胞外的神经递质或胞内的 cGMP、IP_3 等才开，ligand-gated channel）、**应力激活通道**（机械牵拉，如内耳毛细胞，stress-activated channel）。
- **水孔蛋白**（aquaporin）：通道蛋白的一种，是水分子的跨膜通道；四聚体，每个亚基由 6 个跨膜 α 螺旋组成、自成一个孔；对水高度特异，不允许离子（包括 H^+）和其他小分子通过。在渗透调节和水的重吸收中起关键作用（肾小管和集合管重吸收水、唾液和泪液的形成）。
  - 发现：把水孔蛋白的 mRNA 注进**非洲爪蟾卵母细胞**（Xenopus oocyte），放到低渗液里，表达了水孔蛋白的卵迅速膨胀破裂，没表达的几乎不变。选这种卵是因为它大、好注射、能高效翻译外来的 mRNA，而且自身对水的通透性很低。
  - 区分水是走水孔蛋白还是走脂双层：加 Hg^{2+}（封住孔里的半胱氨酸）能抑制前者；走通道的过水量大、几乎不受温度影响，走脂双层的慢、对温度敏感。

- H^+ 过不去：孔中央的两个天冬酰胺把水分子的方向扭转，打断了一个接一个传递质子的水链，孔口的正电荷也排斥它。

- 抗生素里的**离子载体**（ionophore）：缬氨霉素包着 K^+ 在膜里来回穿梭，是可动的载体，顺梯度，属被动运输；短杆菌肽 A 则在膜上形成通道。

外校热点 怎样快速检测膜上有没有水通道、它分布在哪里（2025 华中科技大学）——照 Agre 的办法：把候选蛋白的 mRNA 注进非洲爪蟾卵母细胞，放进低渗溶液，表达了水通道的卵母细胞几分钟内胀破，对照几乎不胀，加汞离子能阻断；分布用荧光抗体做免疫荧光（或免疫电镜），或把它接上 GFP 看。〔660〕

近五年考了 2 卷 细23 细26　**真题 11 道** 细胞 09 10 12 13 15 16 17 21 23 26

38 逆着梯度运就得花能量；直接烧 ATP 的叫泵，最要紧的是钠钾泵：每个 ATP 泵出 3 个 Na^+、泵入 2 个 K^+ ●

- **主动运输**（active transport）：由载体蛋白介导、逆浓度梯度（或电化学梯度）、消耗能量的跨膜运输。能量有三种来源：**ATP 驱动泵**（水解 ATP，ATP-driven pump）、**协同转运蛋白**（借离子梯度，cotransporter）、光驱动泵（细菌视紫红质）。

泵	特征	例子
P 型（P-type）	运输时泵自己被**磷酸化**（磷酸加在一个 Asp 上，phosphorylation）	Na^+-K^+ 泵、Ca^{2+} 泵、胃的 H^+-K^+ 泵、植物和真菌质膜的 H^+ 泵
V 型（V-type）	不磷酸化，只运 H^+	溶酶体、内体、植物液泡膜上的质子泵，把腔里变酸
F 型（F-type）	结构像 V 型，但通常反过来用：H^+ 顺梯度流过时合成 ATP	线粒体内膜、类囊体膜、细菌质膜上的 ATP 合酶
ABC 超家族（ABC superfamily）	两个跨膜结构域加两个 ATP 结合域；运的东西五花八门	细菌摄取营养；多药抗性蛋白把药物泵出肿瘤细胞；囊性纤维化的 CFTR

- **Na^+-K^+ 泵**（Na^+-K^+-ATP 酶，Na^+-K^+ pump）一圈六步：胞内侧结合 3 个 Na^+ → ATP 把泵磷酸化 → 构象翻转，Na^+ 放到胞外 → 胞外侧结合 2 个 K^+ → 去磷酸化 → 构象翻回，K^+ 放到胞内。磷酸化和去磷酸化驱动构象来回变，轮流改变离子结合部位的朝向和亲和力。
- 钠钾泵的三个用处：① 维持胞内低 Na^+ 高 K^+，建立 Na^+ 梯度，供协同运输用；② 每圈净移出一个正电荷，参与形成膜电位；③ 调节渗透压、保持细胞体积——泵被抑制，Na^+ 在胞内堆积，水跟进来，**细胞肿胀破裂**。
- 乌本苷（哇巴因）、地高辛等强心苷抑制钠钾泵：胞内 Na^+ 升高 → Na^+/Ca^{2+} 交换变慢 → 胞内 Ca^{2+} 增多 → 心肌收缩加强。
- **Ca^{2+} 泵**（Ca^{2+} pump (Ca^{2+}-ATPase)）：P 型泵，每个 ATP 运 2 个 Ca^{2+}，在质膜上把 Ca^{2+} 泵出细胞，在内质网（肌质网）膜上把 Ca^{2+} 泵进腔里，使胞质游离 Ca^{2+} 保持在约 0.1 μmol/L。胞质 Ca^{2+} 平时极低，Ca^{2+} 才能当信号用：通道一开，从内质网、肌质网这些**钙库**（calcium store）涌出，触发肌肉收缩、分泌等。

近五年考了 3 卷 细22 细23 细26　**真题 9 道** 细胞 09 13 15 16 18 21 22 23 26

39 泵出去的 Na^+ 想流回来，这份梯度本身就是存下的能量：让 Na^+ 顺梯度进来，可以顺手把别的分子逆梯度带进来 ○

- **协同运输**（cotransport）：一种离子顺电化学梯度流动，带动另一种物质逆梯度跨膜；不直接水解 ATP，花的是泵事先存下的离子梯度，所以又叫继发性主动运输。

方向	例子
同向（symport）	小肠上皮、肾小管的 Na^+-葡萄糖同向转运蛋白（SGLT1，2 个 Na^+ 带 1 个葡萄糖）、Na^+-氨基酸同向转运；细菌的 H^+-乳糖通透酶
反向（antiport）	Na^+/H^+ 交换（调胞内 pH）、Na^+/Ca^{2+} 交换（把 Ca^{2+} 排出去）

- 动物细胞用 Na^+ 梯度，植物、真菌和细菌用 H^+ 梯度。
- 小肠上皮吸收葡萄糖要三种膜蛋白配合：朝肠腔的一面用 **SGLT1** 借 Na^+ 把葡萄糖逆梯度拉进细胞 → 朝血液的一面用 **GLUT2** 让葡萄糖顺梯度出去 → 同一面的**钠钾泵**（sodium-potassium pump）把进来的 Na^+ 再泵出去。两面的膜蛋白不会混，靠的是细胞之间的紧密连接（**139 细胞连接**）。
- 口服补液盐里既放盐又放糖：Na^+ 和葡萄糖要一起才吸收得快，水跟着它们进去。
- 同一份 Na^+ 梯度在神经和肌肉上还有一种用法：电压门控 Na^+ 通道打开，Na^+ 涌入，产生动作电位。

真题 2 道 细胞 09 24

40 蛋白质、脂蛋白颗粒这样的大家伙穿不过膜，只能被膜整个包进来或送出去：胞吞与胞吐 ●

胞吞	吞什么	特点
吞噬作用（phagocytosis）	细菌、细胞碎片等大颗粒	只有少数特化的细胞（巨噬细胞、中性粒细胞）会；先由受体识别，靠微丝推动伪足包上去，形成吞噬体

胞吞	吞什么	特点
胞饮作用（pinocytosis）	液体和溶在里面的分子	几乎所有细胞都在连续进行；小泡小

- **受体介导的胞吞**（receptor-mediated endocytosis）是有选择的胞吞：特异、高效，能把很稀的特定大分子浓缩上千倍。以细胞摄取**低密度脂蛋白（LDL）**（low-density lipoprotein）为例：
  - ① LDL 颗粒上的载脂蛋白 B-100 与质膜上的 **LDL 受体**（LDL receptor）结合；
  - ② 受体集中到**有被小窝**（coated pit），小窝的胞质面有**衔接蛋白**（adaptor protein）和**网格蛋白**（clathrin）——衔接蛋白一头认受体的尾巴、一头拉住网格蛋白，网格蛋白拼成笼子使膜内陷；
  - ③ **发动蛋白**（dynamin）在颈部水解 GTP 把它掐断，成为**有被小泡**（coated vesicle）；
  - ④ 小泡很快脱去外被（网格蛋白回收再用），与早期内体融合；
  - ⑤ 内体里偏酸，LDL 与受体分开——**受体回到质膜重复使用**，LDL 进溶酶体，胆固醇酯水解成游离胆固醇供细胞用。
  - 有被小窝的作用是富集受体和货物；有被小泡的作用是把它们带进细胞。LDL 受体有缺陷的人，血里的 LDL 进不了细胞，得家族性高胆固醇血症。
- 胞吞后受体的三种去路：大部分**返回质膜再利用**（LDL 受体、转铁蛋白受体）；有的随配体进溶酶体被降解（表皮生长因子受体，信号因此减弱）；有的被运到细胞另一面（转胞吞）。
- 包被从外到内的顺序：**网格蛋白 → 衔接蛋白 → 小泡的膜**。许多病毒也是借受体介导的胞吞进细胞的。
- **胞吐作用**（exocytosis）：细胞内的膜泡与质膜融合，把内容物排到细胞外。两条途径：**组成型胞吐**（所有细胞都有，连续进行，补充质膜的脂和蛋白、分泌胞外基质，constitutive exocytosis）和**调节型胞吐**（regulated exocytosis）（特化的分泌细胞先把产物存在分泌泡里，收到信号、胞质 Ca^{2+} 升高才释放，如胰岛素、神经递质、消化酶）。
- 胞吞减少的膜和胞吐添上的膜大致相抵，质膜的面积才保持稳定。

近五年考了 5 卷 细22 细23 细24 细25 细26　**真题 14 道** 细胞 13 16 17 18 20 21 22 23 24 25 26

> 膜存得住梯度，泵却一刻不停地在烧 ATP；合成、运动也都伸手要 ATP。ATP 是什么，它又从哪里来？

糖与糖的氧化

ATP 是能量的现金 → 最主要的燃料是糖 → 糖酵解在胞质里把葡萄糖劈成两个丙酮酸 → 没有氧就还原成乳酸，有氧就进线粒体变成乙酰 CoA → 三羧酸循环把乙酰基烧成 CO_2，电子全交给 NADH 和 $FADH_2$

能量的账怎么记

41　上坡的反应自己不会发生，只能搭在一个下坡更陡的反应上一起走；细胞里到处搭的那个下坡反应就是 ATP 水解

- 反应的方向看 **ΔG**：小于零能自发进行，大于零不能。ΔG > 0 的反应与一个放能反应**偶联**（由同一个酶催化、共用一个中间物，coupling），总的 ΔG 小于零，就被带着走了。细胞里的实际 ΔG 还取决于反应物和产物的浓度，不只看标准值。
- **新陈代谢**（metabolism）分两半：**分解代谢**（catabolism）把大分子拆小，放能，产生 ATP 和还原力，途径逐渐汇合；**合成代谢**（anabolism）把小分子拼大，耗能，花 ATP 和 NADPH，途径逐渐分散。两半之间来回倒手的就是 ATP 和 NAD(P)H。
- **ATP**（adenosine triphosphate）有两个磷酸酐键，水解放出约 30.5 kJ/mol。它的磷酸基团转移势能**居中**：比它高的（磷酸烯醇式丙酮酸、**1,3-二磷酸甘油酸**（1,3-bisphosphoglycerate）、磷酸肌酸）能把磷酸交给 ADP 生成 ATP；比它低的（葡萄糖-6-磷酸）由 ATP 来磷酸化。所以它适合当中间人。
- ATP 是能量的**直接供体，不是储存形式**，随用随造。肌肉里储存高能磷酸的是**磷酸肌酸**（phosphocreatine）。
- **激酶**（kinase）：催化把 ATP 末端的磷酸基转移到底物上的酶，需要 Mg^{2+}。
- **能荷**（energy charge）=（[ATP] + ½[ADP]）/（[ATP] + [ADP] + [AMP]），细胞内一般在 0.8～0.95。能荷高，产 ATP 的途径被抑制、用 ATP 的途径被激活；能荷低则相反。
- ATP 的三种来路：**底物水平磷酸化**（高能底物直接把磷酸交给 ADP，不经过呼吸链，substrate-level phosphorylation）、**氧化磷酸化**（电子经呼吸链传给氧，放出的能量用来合成 ATP，oxidative phosphorylation）、**光合磷酸化**（photophosphorylation）。
- 糖酵解和三羧酸循环的酶任何时候都要用，它们的合成是组成型的，不必诱导。
- 研究一条代谢途径怎么走的办法：同位素示踪、用抑制剂把某一步卡住看什么堆积、营养缺陷型突变体、离体器官和无细胞体系；现在还可以把一个细胞里所有的小分子代谢物一起测出来。
- **代谢组学**（metabonomics (metabolomics)）：研究生物体内全部代谢物的总体组分，以及它们在不同生理、病理条件下的变化的学科（1999 年 Nicholson 提出）。基因组学、蛋白质组学说明机体的代谢能力，代谢组学揭示代谢的现状。主要技术是气相色谱-质谱联用、高效液相色谱-质谱联用和核磁共振波谱。

近五年考了 2 卷 生22 生23　**真题 15 道** 生化 07 08 11 12 18 19 20 21 22 23

42 最主要的燃料是糖。单糖是多羟基的醛或酮，在水里自己关成环；环上新出现的那个羟基决定了它的 α、β 和还原性

- **糖**（carbohydrate）：多羟基醛、多羟基酮及其衍生物和缩聚物。“碳水化合物、H：O = 2：1”不是判断标准。
- **D、L** 看离羰基最远的那个手性碳，与旋光方向无关；天然的糖多是 D 型。只差一个手性碳的互为**差向异构体**（epimer）：葡萄糖与半乳糖差在 C4，与甘露糖差在 C2。
- **对映体**（enantiomer）：互为镜像、不能重叠的一对立体异构体，所有手性碳的构型都相反，如 D-葡萄糖与 L-葡萄糖。
- 成环：醛基与 C5 的羟基在分子内成半缩醛，六元环叫吡喃糖（葡萄糖），五元环叫呋喃糖（果糖、核糖）。原来的羰基碳成了新的手性碳，叫**异头碳**（anomeric carbon），上面的半缩醛羟基朝下是 α、朝上是 β（D 型糖的 Haworth 式）。
- **变旋**（mutarotation）：α、β 两种异头物在水里经开链式互变，直到平衡（葡萄糖 α 约 36%、β 约 64%），旋光度随之变化。
- **还原糖**（reducing sugar）：有游离半缩醛羟基的糖。环状和链状不停互变，所以环状的糖一样表现还原性，能还原 Fehling 试剂、Benedict 试剂。
- 鉴别反应：Molisch 反应（α-萘酚 + 浓硫酸）所有糖都在两液面交界处出现紫色环；Seliwanoff 反应（间苯二酚 + 盐酸）酮糖很快变鲜红，醛糖很慢、很浅；Bial 反应（地衣酚 + 盐酸 + Fe^{3+}）戊糖呈蓝绿色；Fehling、Benedict 试剂测还原糖，出现砖红色 Cu_2O 沉淀。
- **糖苷**（glycoside）：半缩醛羟基与醇或另一个糖的羟基脱水，成了缩醛，连起来的键叫**糖苷键**（glycosidic bond）；这个糖从此打不开环，没有还原性，也不变旋。
- 单糖的衍生物：糖醇、糖酸（葡糖醛酸）、氨基糖（葡糖胺、N-乙酰葡糖胺）、脱氧糖（脱氧核糖）、唾液酸、糖的磷酸酯。

易错 “只有链状结构才有氧化还原反应”是错的。

近五年考了 2 卷 生24 生25 **真题 4 道** 生化 17 24 25

43 单糖靠糖苷键连起来：同样是葡萄糖，α 键连成能消化的淀粉和糖原，β 键连成消化不了的纤维素

二糖	组成与糖苷键	还原性
麦芽糖	葡萄糖 α(1→4) 葡萄糖	有
乳糖（lactose）	半乳糖 **β(1→4)** 葡萄糖	有
蔗糖（sucrose）	葡萄糖 α1↔β2 果糖（两个异头碳相连）	**无**
纤维二糖	葡萄糖 β(1→4) 葡萄糖	有

多糖	结构	要点
直链淀粉	葡萄糖 α(1→4)，卷成螺旋	遇碘呈**深蓝色**
支链淀粉	α(1→4) 主链，**α(1→6)** 分支	遇碘呈**红紫色**（紫色到红紫色）
糖原（glycogen）	与支链淀粉相同，分支更密	遇碘紫红色至红褐色；存在肝和肌肉，是餐间和剧烈运动时最先动用的葡萄糖储库
纤维素（cellulose）	葡萄糖 **β(1→4)**，伸直的长链，链间氢键并成微纤丝	植物细胞壁；人没有水解 β(1→4) 键的酶
几丁质	N-乙酰葡糖胺 β(1→4)	昆虫外骨骼、真菌细胞壁

- 为什么存成多糖而不直接存葡萄糖：同样多的葡萄糖连成一个大分子，渗透压小得多。
- 为什么分支多：一个糖原分子只有一个还原端，却有很多**非还原端**（non-reducing end）；合成和分解都在非还原端进行，分支越多，同时下手的地方越多，动员越快。
- 细菌细胞壁的肽聚糖是 N-乙酰葡糖胺和 N-乙酰胞壁酸交替连成的糖链，再由短肽交联；溶菌酶切它的糖苷键，青霉素阻止短肽交联。
- **乳糖不耐受**（lactose intolerance）：小肠乳糖酶活性不足，乳糖不能被水解吸收，留在肠腔里提高渗透压，并在结肠被细菌发酵产气，饮奶后出现腹胀、腹泻。

近五年考了 3 卷 生24 生25 生26 **真题 10 道** 生化 08 09 11 12 15 17 24 25 26

44 糖不只是燃料：挂在蛋白质和脂质上的糖链是细胞表面的标记和填料

- **结合糖（复合糖、糖缀合物）**（glycoconjugate）：糖与蛋白质或脂质共价结合成的复合物，包括糖蛋白、蛋白聚糖、糖脂、脂多糖、肽聚糖。

- **复合多糖**（complex polysaccharide）：课本没有这个词。按朱圣庚的“糖复合物”理解，就是上面说的糖缀合物；也有资料（《狂背》2024 年答案）理解为由两种或两种以上单糖组成、结构复杂、高度分支、分子量大的杂多糖（原文写作“混合物”，不准确——它是化合物）。答题时两层都写。
- **糖胺聚糖**（glycosaminoglycan (GAG)）：由重复的二糖单位（一个氨基糖加一个糖醛酸）连成的不分支长链，多带硫酸基，负电荷密集，能吸住大量的水。成员有透明质酸、硫酸软骨素、硫酸皮肤素、硫酸角质素、硫酸乙酰肝素、肝素（抗凝血）。

	糖蛋白（glycoprotein）	**蛋白聚糖**（proteoglycan）
谁为主	**蛋白质**为主，糖链短而分支	**糖**（carbohydrate）为主（可占 95%），糖胺聚糖长链不分支
组成	寡糖链共价连在蛋白质上	**糖胺聚糖**与**核心蛋白**（core protein）共价结合
在哪	膜蛋白、分泌蛋白（免疫球蛋白就是糖蛋白）	细胞外基质、软骨

- 糖链与蛋白质的两种连法：**N-连接**（N-linked）连在 **Asn** 的酰胺氮上；**O-连接**（O-linked）连在 **Ser 或 Thr** 的羟基上。怎样一步步加上去见**103 糖基化**。
- 细胞表面的糖蛋白、糖脂朝外伸出的糖链合起来叫**细胞外被（糖萼）**（cell coat (glycocalyx)），保护细胞并参与识别。
- 糖也是信息分子：单糖之间连接的位置、α 或 β、有无分支都能变，几个糖就能排出极多的花样。**凝集素**（lectin）：动物细胞和植物细胞都能合成和分泌的、能专一结合特定糖基的蛋白质（不是抗体也不是酶）；分子上有一个以上的糖结合位点，能把带相应糖链的不同细胞连在一起（凝集），因而在细胞识别和黏着中起重要作用，病毒的吸附也常靠它。ABO 血型抗原的差别只在寡糖链末端的一个糖基。
- 糖类的生物学功能四条：**供能与储能**；**结构成分**（纤维素、几丁质、肽聚糖、细胞外基质）；为合成氨基酸、核苷酸、脂质提供**碳骨架**；作为**信息分子**参与细胞识别。

近五年考了 4 卷 生23 生24 生25 生26　**真题 15 道** 生化 07 08 17 19 21 23 24 25 26 · 细胞 07 10 14

把糖烧掉，第一段：胞质里的糖酵解

45 葡萄糖进了细胞先被磷酸化锁住，再在胞质里经十步劈成两个丙酮酸：先花 2 个 ATP，后赚 4 个，另得 2 个 NADH ●

- **糖酵解**（EMP 途径，glycolysis）：葡萄糖在无氧条件下（即不需要氧）转变为丙酮酸所经历的一系列反应，共十步，在**细胞质**里进行；1 分子葡萄糖变成 2 分子丙酮酸，净生成 2 分子 ATP 和 2 分子 NADH。它是各种生物共有的葡萄糖分解的前一段，供氧不足时靠它供能。（这段反应本身不用氧，所以有氧时照样进行。）

步	反应	酶	要点
1	葡萄糖 → 葡萄糖-6-磷酸	**己糖激酶**（hexokinase）	耗 1 ATP，**不可逆**
2	→ 果糖-6-磷酸	磷酸己糖异构酶	
3	→ 果糖-1,6-二磷酸	**磷酸果糖激酶-1**（phosphofructokinase-1）	耗 1 ATP，**不可逆**，限速步骤
4	→ 磷酸二羟丙酮 + 3-磷酸甘油醛	醛缩酶	六碳劈成两个三碳
5	磷酸二羟丙酮 ⇌ 3-磷酸甘油醛	磷酸丙糖异构酶	以下各步都乘 2
6	→ 1,3-二磷酸甘油酸 + NADH	**3-磷酸甘油醛脱氢酶**（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase）	全程唯一的一次脱氢；加上去的是无机磷酸（砷酸能顶替它，使第 7 步不产 ATP）；活性中心有巯基，被碘乙酸抑制
7	→ 3-磷酸甘油酸 + ATP	磷酸甘油酸激酶	第一次底物水平磷酸化
8	→ 2-磷酸甘油酸	磷酸甘油酸变位酶	
9	→ 磷酸烯醇式丙酮酸（PEP）	烯醇化酶	脱水，造出高能键；需 Mg^{2+}，被氟化物抑制
10	→ 丙酮酸 + ATP	**丙酮酸激酶**（pyruvate kinase）	第二次底物水平磷酸化，**不可逆**

- 总账：葡萄糖 + 2 NAD^+ + 2 ADP + 2 Pi → 2 丙酮酸 + 2 NADH + 2 H^+ + 2 ATP + 2 H_2O。从糖原的葡萄糖残基算起，磷酸解直接得到葡萄糖-1-磷酸，省掉己糖激酶那一步，净得 3 ATP。
- 为什么一进门就磷酸化：葡萄糖-6-磷酸带负电、膜上又没有它的转运蛋白，出不去了；胞内游离葡萄糖浓度因此总是很低，葡萄糖能不断顺梯度流进来。
- 为什么前半段要先花 2 个 ATP：第一个把糖锁在细胞里；第二个在另一头也挂上磷酸，劈开后两个三碳各带一个磷酸，谁也跑不掉，而且可以互变。

- 意义：缺氧时迅速供能（成熟红细胞没有线粒体，全靠它）；是有氧氧化的前一段；中间物是合成原料——**磷酸二羟丙酮**（dihydroxyacetone phosphate）还原成甘油-3-磷酸，是甘油的前体。
- 同一途径里的 3-磷酸甘油醛脱氢酶等七个可逆反应的酶，糖异生倒着用；三个不可逆步骤要另找酶绕过去（**61 糖异生**）。

易错 产生 ATP 的两步是底物水平磷酸化，不是氧化还原反应。糖酵解的产出不只有 ATP，还有 NADH。

近五年考了 2 卷 生24 生26 **真题 21 道** 生化 09 10 11 12 13 14 15 16 17 18 21 24 26

46 三个不可逆的步骤就是三道闸，最要紧的是磷酸果糖激酶-1：细胞缺能量它就开，能量够了它就关 ●

酶	激活	抑制
己糖激酶		产物葡萄糖-6-磷酸
磷酸果糖激酶-1（限速酶，phosphofructokinase-1）	AMP、ADP、**果糖-2,6-二磷酸（最强的别构激活剂）**（fructose-2,6-bisphosphate）	ATP、柠檬酸、H^+
丙酮酸激酶	果糖-1,6-二磷酸（前馈激活）	ATP、丙氨酸、乙酰 CoA；肝里的被 PKA 磷酸化后失活

- ATP 既是磷酸果糖激酶-1 的底物又是它的抑制剂，道理见**29 别构酶**。柠檬酸多说明三羧酸循环的原料有富余，也不必再分解糖。
- **果糖-2,6-二磷酸**（fructose-2,6-bisphosphate）不是代谢中间物，只是一个信号。它由一个**双功能酶**（磷酸果糖激酶-2 和果糖二磷酸酶-2 长在一条肽链上，bifunctional enzyme）合成和水解：胰高血糖素经 cAMP、PKA 使这个酶磷酸化，激酶活性关、磷酸酶活性开，果糖-2,6-二磷酸减少，肝里的糖酵解减慢、糖异生加快；胰岛素相反。
- **巴斯德效应**（Pasteur effect）：酵母等由无氧转到有氧时，葡萄糖消耗大大减慢、乙醇或乳酸不再积累。有氧时 ATP 产额高，ATP/AMP 经磷酸果糖激酶-1 等调节点把糖酵解放慢。

	己糖激酶	葡糖激酶（己糖激酶IV）
分布	各种组织	**肝和胰岛 β 细胞**
对葡萄糖的 Km	很低（亲和力高）	很高（亲和力低），血糖高时才明显工作
产物抑制	被葡萄糖-6-磷酸抑制	不被抑制
意义	血糖低时各组织也能用糖	饭后血糖高，肝才大量摄糖合成糖原；β 细胞靠它感知血糖

- 别的单糖怎样进入糖酵解：
  - **果糖**（fructose）：在肌肉由己糖激酶变成果糖-6-磷酸；在肝由果糖激酶变成果糖-1-磷酸，再被醛缩酶 B 劈成磷酸二羟丙酮和甘油醛（甘油醛再磷酸化），**绕过了磷酸果糖激酶-1**。
  - **半乳糖**（galactose）：半乳糖激酶 → 半乳糖-1-磷酸 → 与 UDP-葡萄糖交换成 UDP-半乳糖和葡萄糖-1-磷酸 → 差向异构酶把 UDP-半乳糖变回 UDP-葡萄糖；葡萄糖-1-磷酸变位成葡萄糖-6-磷酸。
  - **半乳糖血症**（galactosemia）：1-磷酸半乳糖尿苷酰转移酶先天缺乏，半乳糖-1-磷酸换不成 UDP-半乳糖，半乳糖和半乳糖-1-磷酸堆积；半乳糖在晶状体里被还原成半乳糖醇，造成白内障。停用含乳糖的食物可缓解。
  - **甘露糖**（mannose）：己糖激酶 → 甘露糖-6-磷酸 → 异构成果糖-6-磷酸。
  - 甘油：甘油激酶 → 甘油-3-磷酸 → 脱氢成磷酸二羟丙酮。

易错 磷酸化后的葡萄糖**不能**自由通过细胞膜。

近五年考了 2 卷 生24 生25 **真题 10 道** 生化 08 09 11 12 15 18 24 25

47 糖酵解要一直走下去，NADH 必须变回 NAD^+：没有氧就把电子塞还给丙酮酸变成乳酸，有氧就送进线粒体 ●

- 3-磷酸甘油醛脱氢要用 NAD^+，胞质里的 NAD^+ 就那么多，NADH 不再生，糖酵解就停。

条件	丙酮酸的去路	NADH 的去路
缺氧的肌肉、红细胞	**乳酸脱氢酶**（lactate dehydrogenase）把它还原成**乳酸**（lactate）	用掉，再生 NAD^+
酵母（无氧）	丙酮酸脱羧酶（辅酶 TPP）脱羧成乙醛，再还原成**乙醇**（ethanol）	用掉，再生 NAD^+
有氧	进线粒体，氧化成乙酰 CoA	经穿梭把电子送进线粒体（**56 ATP的总账**）

- 所以缺氧时丙酮酸还原成乳酸的意义是使 NAD^+ 再生，无氧时 1 个葡萄糖只净得 2 个 ATP。
- **乳酸循环（Cori 循环）**（Cori cycle）：肌肉糖酵解产生的乳酸经血液运到肝，在肝里经糖异生重新变成葡萄糖，再经血液回到肌肉。意义：回收乳酸里的碳、避免乳酸堆积引起酸中毒；代价是肝造 1 个葡萄糖花 6 个高能键，肌肉酵解只得回 2 个。
- 乳酸脱氢酶的同工酶分工见**30 共价修饰与酶原**。

真题 10 道 生化 07 10 11 12 13 16 17 18 25

第二段：线粒体里的三羧酸循环

48 有氧时丙酮酸进线粒体，被丙酮酸脱氢酶复合体氧化脱羧成乙酰 CoA；这一步不可逆，是糖通向彻底氧化的关口 ○

- 位置：**线粒体基质**（mitochondrial matrix）。反应：丙酮酸 + CoA + NAD^+ → **乙酰 CoA**（acetyl-CoA） + CO_2 + NADH。这是葡萄糖有氧氧化途径中**第一个放出 CO_2** 的反应（戊糖磷酸途径另有一步脱羧）。
- 复合体由三种酶、五种辅因子组成（见**31 辅酶**）：E_1 用 TPP 脱羧，E_2 用硫辛酰胺接过乙酰基再交给 CoA，E_3 用 FAD 把硫辛酰胺重新氧化、电子最后给 NAD^+。三种酶凑在一起，中间物不离开复合体，快而不漏。
- 不可逆：动物体内乙酰 CoA 变不回丙酮酸，所以脂肪酸（分解成乙酰 CoA）不能净变成糖。

调节方式	内容
产物抑制	乙酰 CoA、NADH 多了就抑制
共价修饰	丙酮酸脱氢酶激酶使它**磷酸化而失活**（ATP、NADH、乙酰 CoA 促进这个激酶）；磷酸酶使它去磷酸化而恢复活性（Ca^{2+}、胰岛素促进）

- 意思都一样：能量和乙酰 CoA 够了就关，不够就开。脂肪酸大量氧化时乙酰 CoA、NADH 都多，丙酮酸脱氢酶被关掉，糖就省下来了。

真题 1 道 生化 12

49 三羧酸循环把乙酰基的两个碳烧成两个 CO_2：自己只直接给出 1 个 GTP，却把四对电子交给了 3 个 NADH 和 1 个 $FADH_2$ ●

- **三羧酸循环**（又叫柠檬酸循环、Krebs 循环，tricarboxylic acid cycle (TCA cycle, TCA pathway; citric acid cycle)）在线粒体基质里进行，一圈八步：

步	反应	酶	得到
1	乙酰 CoA + 草酰乙酸 → 柠檬酸	**柠檬酸合酶**（citrate synthase）	不可逆
2	柠檬酸 → 异柠檬酸	顺乌头酸酶	
3	异柠檬酸 → α-酮戊二酸	**异柠檬酸脱氢酶**（isocitrate dehydrogenase）	NADH、CO_2；不可逆
4	α-酮戊二酸 → 琥珀酰 CoA	**α-酮戊二酸脱氢酶复合体**（辅因子同丙酮酸脱氢酶复合体：TPP、硫辛酸、CoA、FAD、NAD^+，α-ketoglutarate dehydrogenase complex）	NADH、CO_2；不可逆
5	琥珀酰 CoA → 琥珀酸	琥珀酰 CoA 合成酶（又称琥珀酸硫激酶）	**GTP**（植物、细菌直接生成 ATP；底物水平磷酸化）
6	琥珀酸 → 延胡索酸	琥珀酸脱氢酶	$FADH_2$；酶在线粒体内膜上，就是呼吸链的复合体 II；丙二酸抑制它
7	延胡索酸 → 苹果酸	延胡索酸酶	加水
8	苹果酸 → 草酰乙酸	苹果酸脱氢酶	NADH

口诀 宁异勿同，虎虎延平；异同平虎，两虎一能——柠檬酸、异柠檬酸、α-酮戊二酸、琥珀酰 CoA、琥珀酸、延胡索酸、苹果酸；“异、同、平”三处往下一步各出 NADH，“虎”（琥珀酸）往下一步出 $FADH_2$；两个“琥”之间出一个 GTP。

- 一圈的账：**4 次脱氢、2 次脱羧、1 次底物水平磷酸化**；得 3 NADH、1 $FADH_2$、1 GTP，折合 10 个 ATP。草酰乙酸进去又出来，只是载体，不被消耗；但中间物被抽去合成别的物质时就得补，主要靠**丙酮酸羧化酶**（pyruvate carboxylase）把丙酮酸羧化成草酰乙酸（回补反应，见下一环）。
- 调节点是三个不可逆步骤的酶：被 ATP、NADH（以及柠檬酸、琥珀酰 CoA）抑制，被 ADP、Ca^{2+} 激活。
- 1 分子葡萄糖彻底氧化共有 **6 次底物水平磷酸化**：糖酵解 4 次（两步各 2 次），三羧酸循环 2 次。按 ATP 算，三羧酸循环这一段得到的远多于糖酵解。

近五年考了 2 卷 生22 生24 **真题 14 道** 生化 07 08 10 11 12 13 14 16 18 22 24

50 三羧酸循环不只烧糖：糖、脂肪、氨基酸最后都从这里烧，合成原料又从这里取；取走的要补，植物还能借乙醛酸循环把脂肪变成糖

- **三大物质的共同通路**：糖经丙酮酸、脂肪酸经 β-氧化、许多氨基酸的碳骨架，都变成乙酰 CoA 或循环的中间物，在这里彻底氧化。
- **又是合成的原料库**（所以叫两用途径）：草酰乙酸、α-酮戊二酸转氨成天冬氨酸、谷氨酸；草酰乙酸去糖异生；柠檬酸运到胞质，供出乙酰 CoA 合成脂肪酸和胆固醇；琥珀酰 CoA 合成血红素。
- **回补反应**（anaplerotic reaction）：补充被抽走的循环中间物的反应。最重要的是**丙酮酸羧化酶**（pyruvate carboxylase）（丙酮酸 + CO_2 + ATP → 草酰乙酸，辅基生物素，被**乙酰 CoA**（acetyl-CoA）别构激活——乙酰 CoA 堆积正说明草酰乙酸不够）；植物和细菌还用 PEP 羧化酶；苹果酸酶、氨基酸转氨也能补。
- **乙酰 CoA** 是连接糖、脂肪、氨基酸代谢的中心化合物：
  - 来源：丙酮酸氧化脱羧、脂肪酸 β-氧化、生酮氨基酸分解、酮体的利用。
  - 去路：进三羧酸循环氧化供能；合成脂肪酸；合成胆固醇；在肝里合成酮体；提供乙酰基（如组蛋白乙酰化）。
  - 肝线粒体里的乙酰 CoA 往哪走，取决于**草酰乙酸**（oxaloacetate）够不够：够就进循环；饥饿时草酰乙酸被糖异生抽走，乙酰 CoA 就转去生成酮体。
- **乙醛酸循环**（glyoxylate cycle）：植物（在乙醛酸循环体里）和微生物的一条捷径。多出两个酶——**异柠檬酸裂解酶**（isocitrate lyase）把异柠檬酸劈成琥珀酸和乙醛酸，**苹果酸合酶**（malate synthase）让乙醛酸再接一个乙酰 CoA 成苹果酸——绕过了两步脱羧，2 个乙酰 CoA 净得 1 个四碳的琥珀酸。意义：油料种子萌发时，把脂肪酸分解出的乙酰 CoA 经乙醛酸循环和**糖异生**（gluconeogenesis）变成糖；微生物能靠乙酸生长。
- 动物没有这两个酶，丙酮酸脱氢酶又不可逆，所以动物体内乙酰 CoA 不能净生成葡萄糖。

近五年考了 5 卷 生22 生23 生24 生25 生26　**真题 24 道** 生化 07 08 09 10 11 12 13 15 18 19 22 23 24 25 26

> 烧到这里，葡萄糖的碳全成了 CO_2，直接到手的 ATP 却只有 4 个；绝大部分能量还在 NADH 和 $FADH_2$ 带着的电子里。电子怎样变成 ATP?

氧化磷酸化与光合作用

电子顺着电位往下流 → 放出的能量先把质子泵到膜的一侧存成梯度 → 质子流回来推着 ATP 合酶转；光合作用是同一套办法倒着用：光把水的电子抬上去，造出 ATP 和 NADPH，再拿去把 CO_2 还原成糖

电子怎样变成 ATP

51 NADH 手里的电子要交给氧；电子总是从电位低的载体流向电位高的载体，落差越大放能越多

- **生物氧化**（biological oxidation）与体外燃烧的不同：在体温和近中性的条件下由酶催化；能量分步、小量、逐渐地放出，相当一部分存进 ATP；CO_2 来自有机酸**脱羧**（decarboxylation），水是脱下的氢经呼吸链交给氧生成的。
- **标准氧化还原电位 E°′**（standard redox potential）越低，越容易交出电子；越高，越容易接受电子。电子自发地从 E°′ 低的一对流向 E°′ 高的一对，放出的自由能 $\Delta G^{\circ\prime} = -nF\Delta E^{\circ\prime}$。
- 呼吸链上的次序正是电位由低到高：$NAD^+/NADH$（−0.32 V）→ 黄素 → 泛醌 → 细胞色素 b → c_1 → c → a → a_3 → O_2/H_2O（+0.82 V）。延胡索酸/琥珀酸约 +0.03 V，所以琥珀酸的电子只能从泛醌处插进来。
- 一对电子从 NADH 落到 O_2 放出约 220 kJ/mol，够合成好几个 ATP；但不能一步放完，所以要有一条链分几级放。
- 电子受体不一定非是氧：只要它的电位比供体高就行（细菌的无氧呼吸用硝酸盐、硫酸盐）。

易错 “电子从高标准氧化还原电位流向低标准氧化还原电位”说反了，连考了五年。

真题 12 道 生化 11 12 13 14 15 16 17 18 · 细胞 09

52 这条分级放能的链叫呼吸链，嵌在线粒体内膜上：四个复合体，中间靠泛醌和细胞色素 c 两个小载体传递

- **呼吸链（电子传递链）**（respiratory chain (electron transport chain)）：线粒体内膜上按电位高低排列的一系列递氢体和递电子体，把代谢物脱下的氢（电子）逐级传给氧生成水，同时放出能量。真核细胞在**线粒体内膜**（inner mitochondrial membrane），原核细胞在**质膜**（plasma membrane）。

成员	名称	辅基	泵出 H^+	抑制剂
复合体 I	NADH-泛醌还原酶	FMN、铁硫中心	4	**鱼藤酮、安密妥**（rotenone, amytal）
复合体 II	琥珀酸-泛醌还原酶（就是琥珀酸脱氢酶）	FAD、铁硫中心	**不泵**	丙二酸

成员	名称	辅基	泵出 H^+	抑制剂
泛醌（辅酶 Q）（ubiquinone (coenzyme Q)）	脂溶性的小分子，在膜里游动	链上唯一不是蛋白质的成员		
复合体III	泛醌-细胞色素 c 还原酶	细胞色素 b、c_1，铁硫中心	2（Lehninger 写 4）	**抗霉素 A**（antimycin A）
细胞色素 c（cytochrome c）	水溶性的小蛋白，贴在内膜的膜间隙一侧	血红素，一次传 1 个电子		
复合体IV	细胞色素 c 氧化酶	细胞色素 a、a_3，铜	4（Lehninger 写 2）	**氰化物、叠氮化物、CO、H_2S**（cyanide, azide）

- 泵出的质子数按朱圣庚：一对电子经复合体 I 、III、IV 依次泵出 **4、2、4** 个；Lehninger 写 4、4、2。两种合计都是 10，P/O 比不受影响，但问“复合体IV每传一对电子泵几个质子”时按课本答 4。（课本讲 Q 循环那一节又写复合体III转运 4 个，前后不一，以汇总处为准。）
- 呼吸链有两条：**NADH 呼吸链**（I → Q → III → c → IV → O_2）和 **$FADH_2$（琥珀酸）呼吸链**（II → Q → III → c → IV → O_2），两条在**泛醌**（ubiquinone）汇合。最终的电子受体是 **O_2**。
- 琥珀酸、脂酰 CoA、甘油-3-磷酸脱下的氢都经 FAD 交给泛醌，绕过了复合体 I ，少泵 4 个质子。
- 抑制剂的规律：堵点之前的载体全是还原态，之后的全是氧化态。
  - 加氰化物（堵IV）：从 NADH 到细胞色素 a_3 全部还原。
  - 加抗霉素 A（堵III）：NADH、FMN、泛醌、细胞色素 b 还原；c_1、c、a、a_3 氧化。
  - 没有氧时，各电子载体都处于**还原**状态。

易错 复合体IV不含铁硫蛋白；NADPH 不是呼吸链的成员；CO 抑制的是细胞色素 c 氧化酶。

近五年考了 2 卷 生24 细25 **真题 11 道** 生化 07 10 12 14 17 18 24 · 细胞 25

53 电子放出的能量没有直接变成 ATP，而是先把质子从基质泵到膜间隙，存成一道跨膜的质子梯度——化学渗透学说 ●

- **氧化磷酸化**（oxidative phosphorylation）：代谢物脱下的氢经呼吸链传给氧生成水，放出的能量驱动 ADP 磷酸化生成 ATP；电子传递（氧化）和 ATP 合成（磷酸化）偶联在一起。
- **化学渗透学说**（Mitchell，chemiosmotic theory）四条：
  - ① 呼吸链的成员在内膜上有固定的排布；
  - ② 电子传递时，复合体 I 、III、IV把 **H^+ 从基质泵到膜间隙**；
  - ③ 内膜对 H^+ 没有通透性，泵出去的 H^+ 回不来，于是膜两侧有了 **H^+ 浓度差和电位差**（合称质子动力势）；
  - ④ H^+ 只能经 **ATP 合酶**（ATP synthase）流回基质，流回时放出的能量用来合成 ATP。
- 所以氧化磷酸化的前提是一层**完整、封闭、不漏质子**的内膜。把线粒体用超声波打成亚线粒体小泡，只要小泡封闭，照样能电子传递、能合成 ATP；一旦把膜弄漏，质子梯度存不住，电子传递还在，ATP 却合成不出来。
- 其他证据：没有电子传递、只人为造一个 pH 梯度，也能合成 ATP；把细菌视紫红质（光驱动的质子泵）和 ATP 合酶一起装进脂质体，照光就产 ATP。

近五年考了 3 卷 生23 生26 细26 **真题 11 道** 生化 07 08 13 14 15 17 19 23 26 · 细胞 26

54 质子顺着梯度流回来，推着 ATP 合酶像水轮一样转；每转一圈，三个催化部位各放出一个 ATP ●

部分	位置	组成	功能
F_1（头部）	伸向基质	$\alpha_3\beta_3\gamma\delta\varepsilon$	催化 ATP 合成，催化部位在三个 β 亚基上
F_o（基部）	嵌在内膜里	a、b、c 亚基，c 亚基围成一圈	**质子通道**（proton channel）；**寡霉素**（oligomycin）专一地堵住它

- **结合变化机制**（结合变构模型，Boyer，binding change mechanism）：
  - 三个 β 亚基任何时刻分别处于三种构象：**开放态**（空着，open state (O)）、**松弛态**（松松地结合 ADP 和 Pi，loose state (L)）、**紧密态**（把 ADP 和 Pi 压成 ATP，tight state (T)）。
  - 质子流过 F_o 推动 c 环转动，带着中间的 γ 亚基一起转；γ 每转 120°，三个 β 亚基的构象依次轮换一次。
  - 能量主要不是花在形成 ATP 的化学键上，而是花在把结合得很紧的 ATP **放出来**。
  - 转一圈生成 **3 个 ATP**。
- 合成 1 个 ATP 并把它运出线粒体，总共约需 4 个质子。于是 **P/O 比**（每消耗 1 个氧原子、也就是每一对电子传到氧所生成的 ATP 数，P/O ratio）：NADH 泵 10 个质子，P/O = **2.5**；$FADH_2$ 泵 6 个，P/O = **1.5**（旧值 3 和 2）。

- F 型质子泵与**38 泵**里的 V 型泵构造相似，只是方向相反：一个让质子流回来造 ATP，一个烧 ATP 把质子泵出去。

易错 解释 ATP 合酶催化机理的是结合变化学说，不是诱导契合学说。

真题 6 道 生化 11 14 17 24 · 细胞 10 15

55 电子传递和 ATP 合成只靠质子梯度拴在一起：把梯度放掉，两头就脱钩，能量变成热；ADP 不够，两头一起停

类型	代表	电子传递（耗氧）	ATP 合成
电子传递抑制剂	鱼藤酮、抗霉素 A、氰化物	停	停
氧化磷酸化抑制剂	**寡霉素**（oligomycin）	质子回不来，梯度越积越高，随后也停	停
解偶联剂（uncoupler）	2,4-二硝基苯酚（DNP）；棕色脂肪里的解偶联蛋白	**照常甚至加快**	**停，能量变成热**

- **解偶联剂**的原理：DNP 是脂溶性的弱酸，带着质子直接穿过内膜，质子不经 ATP 合酶就回了基质，梯度被放掉。结果：电子传递不受抑制（没有梯度顶着，反而加快）、耗氧增加、P/O 比下降，氧化放出的能量以热的形式散失。
- 摄入解偶联剂会大量出汗、体温升高，就是因为能量都成了热。DNP 曾被当减肥药：燃料烧得快却不产 ATP，身体只能多烧脂肪；后来禁用，因为有效剂量和致死剂量太近，会过热、ATP 不足而死。
- 新生儿和冬眠动物的**棕色脂肪**（brown adipose tissue）线粒体内膜上有解偶联蛋白，专门用这个办法产热。
- **呼吸控制**（respiratory control）：正常情况下氧化磷酸化的快慢主要由 **ADP** 的浓度决定。ATP 用得多，ADP 多，质子流回得快，电子传递跟着加快；ATP 没人用，ADP 少，整条链慢下来。

易错 解偶联剂不抑制电子传递；它只会让电子传递加快，不会“可加快或减慢”。

近五年考了 2 卷 生24 生26 **真题 6 道** 生化 07 09 11 14 24 26

56 现在可以算总账：胞质里的 NADH 要先靠穿梭把电子送进线粒体，1 分子葡萄糖彻底氧化得 30 或 32 个 ATP

- 线粒体内膜不让 NADH 通过，胞质里糖酵解产生的 NADH 只能把电子“托运”进去：

穿梭	主要在	怎么搬	进去后成为	每个 NADH 得
苹果酸-天冬氨酸穿梭（malate-aspartate shuttle）	肝、心肌	草酰乙酸接了电子成苹果酸进去，在基质再脱氢；草酰乙酸出不来，转氨成天冬氨酸出来	NADH	**2.5 ATP**
甘油-3-磷酸穿梭（α-磷酸甘油穿梭，glycerol-3-phosphate shuttle**）**	骨骼肌、脑	磷酸二羟丙酮接了电子成甘油-3-磷酸，由内膜外侧的脱氢酶（辅基 FAD）交给泛醌	$FADH_2$	**1.5 ATP**

阶段	直接得到	折合 ATP
糖酵解（胞质）	2 ATP、2 NADH	2 + 5（或 3）
2 丙酮酸 → 2 乙酰 CoA	2 NADH	5
三羧酸循环 2 圈	6 NADH、2 $FADH_2$、2 GTP	15 + 3 + 2 = 20
合计		**32**（苹果酸-天冬氨酸穿梭）或 **30**（甘油-3-磷酸穿梭）；旧算法 38 或 36

- 1 分子乙酸：先活化成乙酰 CoA，ATP 变成 AMP 和焦磷酸，相当于花 2 个 ATP；进三羧酸循环得 10 个；净得 **8**。
- 1 分子甘油：甘油激酶花 1 个 ATP → 甘油-3-磷酸脱氢得 1 NADH（2.5）→ 磷酸二羟丙酮走糖酵解后半段得 2 ATP、1 NADH（2.5）→ 丙酮酸脱氢 2.5 → 三羧酸循环 10；净得 **18.5**。

易错 NADH 可以在胞质生成、也可以在线粒体生成，但只能在线粒体里氧化并产生 ATP。

近五年考了 2 卷 生24 生26 **真题 8 道** 生化 07 08 10 13 18 21 24 26

57 干这件事的细胞器是线粒体：两层膜隔出四个区，自己带着一小套基因和核糖体，但大多数零件还得靠细胞核供应

部位	特点	标志酶
外膜	有孔蛋白，小分子随便过	单胺氧化酶
膜间隙	成分近似胞质；质子泵到这里	腺苷酸激酶
内膜	向内折成嵴；富含心磷脂，通透性极低；呼吸链和 ATP 合酶都在上面	细胞色素氧化酶
基质	三羧酸循环、脂肪酸 β-氧化的酶；线粒体 DNA 和核糖体	苹果酸脱氢酶

- **半自主性**（semiautonomous）：线粒体有自己的 DNA（**mtDNA**（mitochondrial DNA），环状、裸露、多拷贝；人的约 16.5 kb，基因排列紧凑、几乎没有内含子，编码 13 种呼吸链和 ATP 合酶的亚基、22 种 tRNA、2 种 rRNA，遗传密码与通用密码略有不同，如 UGA 编码色氨酸）和自己的核糖体，能独立地复制、转录、翻译；但它一千多种蛋白质绝大多数由**核基因**（nuclear gene）编码，在胞质合成后再运进来（**108 线粒体蛋白的输入**），连复制和转录 mtDNA 的酶也是核编码的。所以它的自主是有限的，受核基因组控制。
- 两套基因组的关系：呼吸链的复合体由两边编码的亚基拼成，要协调表达；核基因控制线粒体的增殖和功能，线粒体的状态又反过来影响核基因的表达；线粒体基因突变是母系遗传。
- 一方突变、两边的协作出了问题，细胞或个体就出现异常，叫**核质冲突**（nucleo-cytoplasmic conflict）；人的**线粒体病**（mitochondrial disease）、植物的**细胞质雄性不育**（如水稻线粒体 DNA 重组产生的有毒多肽在花粉线粒体中积累）都是例子。线粒体病：线粒体功能障碍引起的疾病，可来自 mtDNA 突变，也可来自编码线粒体蛋白的核基因突变，常先累及最依赖氧化磷酸化的脑、视神经、心肌和骨骼肌，如 Leber 遗传性视神经病。
- **RNA 编辑**（RNA editing）：线粒体和叶绿体的基因表达中，有些转录物要在 RNA 水平上修饰个别碱基，才能翻译出正确的蛋白质；参与编辑的蛋白因子大多由核基因编码，所以这也是两套基因组的协作，编辑出了障碍，也会出现类似核质冲突的异常表型（课本举的是拟南芥叶绿体基因 PetL）。
- mtDNA 的复制主要在细胞周期的 **S 期和 G_2 期**。线粒体靠分裂增殖，课本讲的是发动蛋白类蛋白在分裂处绕成一圈把它勒断；“间壁分离、收缩分离、出芽三种方式”是 2007 年填空题参考答案的说法。
- **线粒体融合与分裂**（mitochondrial fusion and fission）：线粒体不是一粒一粒固定不动的，它们频繁地融合、分裂，把细胞里所有的线粒体连成一个不连续的动态整体（课本）。
  - 融合：大分子 GTP 酶**线粒体融合素**（mitofusin，基因最早在果蝇里发现，叫 Fzo“模糊的葱头”，mitofusin）分布在外膜上；融合基因突变，线粒体只分不合，变成许多碎小的颗粒。
  - 分裂：**发动蛋白**（dynamin）类的 GTP 酶（Drp1 等）本身是可溶的，由外膜上的 Fis1 等蛋白招到分裂处，在外膜表面绕成环，和内膜下的内环一起缢缩，把线粒体一分为二（线粒体分裂环）。
  - 两者的平衡决定线粒体的数目和大小：融合多则成长条、片层，分裂多则成小颗粒。
  - 意义（课本：频繁的融合与分裂把细胞中所有线粒体联系成一个不连续的动态整体，意义可能在于线粒体之间共享遗传信息；植物细胞里多数线粒体不带 DNA，遗传信息分布很不均匀，要靠融合与分裂来共享）：线粒体基质里自由基多，DNA 容易受损，不断融合、分裂可以互相补，使部分遗传物质受损的线粒体仍能工作；植物细胞的线粒体之间遗传信息分布很不均匀，要靠频繁的融合、分裂来共享；它也是调控线粒体大小、数目和分布的基础——小颗粒便于沿骨架运到需要能量的地方。另外，分裂能把受损的部分切出来交给自噬清除，凋亡时线粒体大量碎裂（补充）。

外校热点 线粒体融合与分裂的生物学意义（2025 东北林业大学、南京师范大学），判断“线粒体融合与分裂是线粒体大小、数目及分布调控的基础”（2025 东南大学，对）。〔660〕

- **内共生学说**（endosymbiotic theory）：线粒体来自被原始真核细胞吞进去的好氧细菌。证据：环状 DNA、细菌样的核糖体、对抗生素的敏感性像细菌、靠分裂增殖；外膜的性质接近真核细胞的内膜系统，内膜接近细菌的质膜。
- 线粒体还管细胞的生死：凋亡信号使膜间隙里的**细胞色素 c**（cytochrome c）漏到胞质，与 Apaf-1 聚成凋亡复合体，激活 caspase（**147 凋亡的执行**）。有一种植物毒素多肽能在线粒体膜上打出通道，膜间隙的蛋白质漏进胞质，细胞就此凋亡。
- 不是所有的氧化都产 ATP：过氧化物酶体里的氧化酶、光面内质网上的细胞色素 P450 都用氧，却不与磷酸化偶联（**107 过氧化物酶体**）。

近五年考了 3 卷 细22 细24 细25　**真题 14 道** 生化 12 14 16 17 · 细胞 07 09 16 17 22 24 25

把过程倒过来：光合作用

58 糖和氧最初从哪来？叶绿体用光把水的电子抬到高处，一路往下流时照样泵质子、造 ATP，最后把电子交给 $NADP^+$ ●

- 光合作用分两段：**光反应**（light reaction）在**类囊体膜**（thylakoid membrane）上，把光能变成 ATP 和 NADPH，并放出 O_2；**碳同化（暗反应）**（carbon assimilation (dark reaction)）在**叶绿体基质**（stroma）里，用 ATP 和 NADPH 把 CO_2 还原成糖。
- **叶绿体**（chloroplast）有三套膜（外膜、内膜、类囊体膜）、三个腔（膜间隙、基质、类囊体腔）。它是**质体**（plastid）的一种：质体是植物细胞特有的、由双层膜包着的一类细胞器，都由前质体发育而来，包括叶绿体、有色体、白色体（如造粉体），彼此可以转变。叶绿体也是半自主的细胞器，起源于被吞进来的蓝细菌。
- 光反应三步：
  - ① **原初反应**（primary reaction）：天线色素吸收光能，传给反应中心的一对特殊叶绿素（P680、P700），发生电荷分离，把一个电子打出去。

- ② **电子传递**（electron transport）：H_2O → **光系统 II**（P680，水在这里裂解，放出 O_2 和 H^+，photosystem II (PSII)）→ 质体醌 → **细胞色素 b_6f**（泵质子，cytochrome b_6f complex）→ 质体蓝素 → **光系统 I**（P700，再被光抬高一次，photosystem I (PSI)）→ 铁氧还蛋白 → **$NADP^+$**，生成 NADPH。
- ③ **光合磷酸化**（photophosphorylation）：质子积在类囊体腔里，经 ATP 合酶流回基质，合成 ATP。

	非循环式光合磷酸化	循环式光合磷酸化
电子的路	从水经两个光系统到 $NADP^+$，一去不回	从光系统 I 出来经铁氧还蛋白回到细胞色素 b_6f，再回光系统 I
光系统	II 和 I 都用	只用 I
产物	**ATP、NADPH、O_2**	**只有 ATP**

	氧化磷酸化	光合磷酸化
相同	都靠膜上的电子传递链泵质子，建立跨膜质子梯度，质子经 ATP 合酶回流合成 ATP；都有醌和细胞色素复合体	同左
部位	线粒体内膜	类囊体膜
能量来源	有机物氧化	光
电子从哪来、到哪去	NADH、$FADH_2$ → O_2，生成水	H_2O → $NADP^+$，放出 O_2
质子泵向	基质 → 膜间隙	基质 → 类囊体腔
ATP 生成在	线粒体基质一侧	叶绿体基质一侧

- 线粒体和叶绿体因此都叫**能量转换细胞器**（energy-converting organelle）：一个把有机物里的化学能转成 ATP，一个把光能转成 ATP 和 NADPH 再存进糖里；两者都有封闭的膜、电子传递链和 ATP 合酶，都是半自主的。植物细胞里蛋白质合成的全过程能在三个地方进行：细胞质、线粒体、叶绿体。

近五年考了 2 卷 生25 细25　**真题 8 道** 生化 16 25 · 细胞 07 11 13 15 25

59 有了 ATP 和 NADPH，卡尔文循环在基质里把 CO_2 一个个接到五碳糖上还原成糖；固定 CO_2 的那个酶分不清 CO_2 和 O_2，于是有了光呼吸和 C_4 植物

- **卡尔文循环**（C_3 途径，Calvin cycle）三个阶段：
  - ① **羧化**（carboxylation）：CO_2 加到核酮糖-1,5-二磷酸（RuBP，五碳）上，生成 2 分子 3-磷酸甘油酸（三碳）；催化的酶是 **Rubisco**（核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶，ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase）。
  - ② **还原**：3-磷酸甘油酸用 ATP 磷酸化、再用 **NADPH** 还原成 3-磷酸甘油醛（就是糖酵解那两步倒过来）。
  - ③ **再生**（regeneration）：6 个 3-磷酸甘油醛里拿 5 个，经一串碳的重排再生出 3 个 RuBP（又花 ATP），剩下的 1 个才是净赚。
- 账：每固定 1 个 CO_2 花 3 ATP、2 NADPH；合成 1 个己糖花 **18 ATP、12 NADPH**。循环的几个关键酶要光照才有活性，天黑自动停。
- **光呼吸**（photorespiration）：Rubisco 还有加氧酶活性。O_2 多、CO_2 少时，它把 O_2 加到 RuBP 上，产生 1 个 3-磷酸甘油酸和 1 个二碳的磷酸乙醇酸；后者要经**叶绿体、过氧化物酶体、线粒体**三个细胞器才回收成 3-磷酸甘油酸，途中放出 CO_2。整个过程吸 O_2、放 CO_2、耗 ATP 和还原力，不产 ATP，白白丢掉一部分已固定的碳。

	C_3 植物	C_4 植物（玉米、甘蔗）	CAM 植物（仙人掌、菠萝）
最初固定 CO_2 的酶	Rubisco	**PEP 羧化酶**（不认 O_2，对 CO_2 亲和力高，PEP carboxylase）	PEP 羧化酶
最初产物	三碳的 3-磷酸甘油酸	四碳的草酰乙酸，再变苹果酸	苹果酸，存在液泡里
怎样避开光呼吸	避不开	**空间上分开**：叶肉细胞固定，苹果酸运到维管束鞘细胞脱羧，把 CO_2 浓缩了交给 Rubisco	**时间上分开**：夜里开气孔固定，白天关气孔脱羧
代价	—	每个 CO_2 多花 2 个 ATP	生长慢，但省水

真题 1 道 生化 24

> 糖能烧成 ATP 了。可人不是每时每刻都在吃：吃饱时多出来的糖往哪存，饿的时候血糖靠什么撑着，脂肪又是怎样存进去、取出来的？

糖与脂的存取

糖：存起来、取出来、另造、换别的用

60 吃饱了，多出来的葡萄糖先接成糖原存在肝和肌肉里；合成和分解不是同一个反应倒过来，而是两条路 ●

	糖原合成	糖原分解
关键酶	**糖原合酶**（glycogen synthase）	**糖原磷酸化酶**（glycogen phosphorylase）
葡萄糖以什么形式进出	先活化成 **UDP-葡萄糖（UDPG）**（UDP-glucose），是多糖、寡糖合成中葡萄糖的活性形式	**磷酸解**（phosphorolysis）下来，直接产物是**葡萄糖-1-磷酸**（不花 ATP，glucose-1-phosphate）
在哪一端	非还原端，接 α(1→4) 键；要有引物	非还原端，切 α(1→4) 键，到离分支点 4 个残基处停下
分支	**分支酶**（branching enzyme）把一小段链挪过去，接成 α(1→6)	**脱支酶**（debranching enzyme）先把 3 个残基挪走，再把分支点上那个水解成游离葡萄糖
能量	每接一个葡萄糖花 2 个高能键（ATP、UTP 各一）	—

- 引物从哪来：**生糖原蛋白**（glycogenin）用自身一个 Tyr 的羟基接上第一个葡萄糖，再延长成一小段寡糖链，交给糖原合酶继续延长；细胞里糖原颗粒的数目由它的分子数决定。
- 取出来以后：葡萄糖-1-磷酸变位成葡萄糖-6-磷酸。**肝**有**葡萄糖-6-磷酸酶**（在内质网膜上，glucose-6-phosphatase），把磷酸水解掉，葡萄糖放进血里；**肌肉没有这个酶**，只能自己走糖酵解用掉。所以肝糖原补血糖，肌糖原只供肌肉自己。
- 调节：两个酶被同一个信号往相反的方向拨。
  - 饥饿或紧张：胰高血糖素（肝）、肾上腺素（肝和肌肉）→ cAMP → PKA → 磷酸化酶激酶 → **磷酸化酶磷酸化成 a 型，活化**；同时**糖原合酶被磷酸化，失活**。级联的细节见**123 cAMP与PKA**。
  - 吃饱：胰岛素激活蛋白磷酸酶-1，把两者的磷酸都拿掉，合酶活化、磷酸化酶失活。
  - 肌肉收缩时放出的 Ca^{2+} 结合磷酸化酶激酶上的钙调蛋白亚基，也能激活它；AMP 是肌肉磷酸化酶的别构激活剂。
- 肝细胞的光面内质网因此参与糖原代谢：上面的葡萄糖-6-磷酸酶完成放出葡萄糖的最后一步。

近五年考了 2 卷 生25 生26　**真题 11 道** 生化 10 11 13 14 15 16 18 25 26 · 细胞 14

61 糖原只够撑半天；再饿下去，肝用乳酸、甘油、氨基酸另造葡萄糖。它不是糖酵解倒着走，三个不可逆的步骤要换酶绕过去 ●

- **糖异生**（gluconeogenesis）：由非糖物质（**乳酸、丙酮酸、甘油、生糖氨基酸**）合成葡萄糖的过程，主要在肝，其次在肾。意义：空腹和饥饿时维持血糖，供脑和红细胞用；回收乳酸；利用甘油和氨基酸的碳。

糖酵解的不可逆步骤	糖异生怎样绕	酶在哪
丙酮酸激酶	丙酮酸 → 草酰乙酸（**丙酮酸羧化酶**（pyruvate carboxylase），生物素、ATP）→ 磷酸烯醇式丙酮酸（**PEP 羧激酶**（PEP carboxykinase），GTP）	丙酮酸羧化酶只在**线粒体**
磷酸果糖激酶-1	**果糖-1,6-二磷酸酶**（fructose-1,6-bisphosphatase）水解掉一个磷酸	胞质
己糖激酶	**葡萄糖-6-磷酸酶**（glucose-6-phosphatase）水解掉磷酸	**内质网**（肝、肾有，肌肉和脑没有，endoplasmic reticulum (ER)）

- 其余七步用的是糖酵解的同一批酶（如 3-磷酸甘油醛脱氢酶），反应可逆。
- 所以糖异生跨了三个区室：线粒体、胞质、内质网。草酰乙酸不能直接出线粒体，要先还原成**苹果酸**（顺手把 NADH 带到胞质，正好给后面用，malate）或转氨成天冬氨酸再出来。
- 账：2 个丙酮酸造 1 个葡萄糖花 **4 ATP + 2 GTP**（6 个高能键）和 2 个 NADH；糖酵解只得 2 个 ATP。差的 4 个就是让两个方向都能自发进行的代价。
- 调节与糖酵解正好相反，免得一边拆一边造：果糖-2,6-二磷酸和 AMP 激活磷酸果糖激酶-1、抑制果糖-1,6-二磷酸酶（**46 糖酵解的调节**）；乙酰 CoA 激活丙酮酸羧化酶；胰高血糖素还诱导 PEP 羧激酶的合成。
- 两个方向要是同时开着，就是**底物循环**（又叫**无效循环**（futile cycle），substrate cycle）：一对方向相反、由不同的酶催化的不可逆反应同时进行，净结果只是 ATP 水解、放出热量，如磷酸果糖激酶-1 与果糖-1,6-二磷酸酶、己糖激酶与葡萄糖-6-磷酸酶。细胞用同一组信号对两个方向的酶起相反作用来避免它；少量的循环也使通量对调节信号更灵敏。
- 饥饿时糖异生离不开脂肪酸氧化：后者提供 ATP、NADH，以及激活丙酮酸羧化酶的乙酰 CoA。但脂肪酸的碳进不了葡萄糖（见**50 代谢的枢纽**）；脂肪里只有**甘油**（glycerol）能生糖。

易错 “沿糖酵解途径简单逆行可从丙酮酸合成葡萄糖”是错的；“糖异生发生在胞质中”狂背判错，因为还有线粒体和内质网。

近五年考了 4 卷 生23 生24 生25 生26　**真题 13 道** 生化 11 12 13 14 15 16 18 23 24 25 26

62 葡萄糖还有一条不为 ATP 的去路：戊糖磷酸途径，换来合成用的还原力 NADPH 和造核苷酸用的核糖

- **戊糖磷酸途径**（又叫磷酸戊糖途径、己糖单磷酸支路，pentose phosphate pathway (PPP)）的部位：**胞质**。分两个阶段：

阶段	反应	要点
氧化阶段（不可逆，oxidative phase**）**	葡萄糖-6-磷酸经两次脱氢、一次脱羧，变成 5-磷酸核酮糖	生成 **2 NADPH** 和 1 CO_2；脱氢酶的辅酶是 **$NADP^+$**；第一个酶**葡萄糖-6-磷酸脱氢酶**（glucose-6-phosphate dehydrogenase）是限速酶
非氧化阶段（可逆，non-oxidative phase**）**	基团转移：转酮酶（辅酶 TPP）搬 2 个碳，转醛酶搬 3 个碳	三碳、四碳、五碳、六碳、七碳糖互相转变，最后回到果糖-6-磷酸和 3-磷酸甘油醛，与糖酵解接上

- 意义：
  - ① 提供 **NADPH**：脂肪酸、胆固醇合成的供氢体；使谷胱甘肽（GSH）保持还原状态，保护红细胞膜和巯基酶；供细胞色素 P450 做羟化解毒。
  - ② 提供 **5-磷酸核糖**（ribose-5-phosphate），合成核苷酸和核酸。
  - ③ 沟通三碳到七碳各种糖的代谢。
  - 它不以产生 ATP 为目的。
- 按需要切换：只缺核糖就只走非氧化阶段倒着来；只缺 NADPH 就让五碳糖转回六碳糖反复氧化。主要看 $NADP^+$ 与 NADPH 的比值：NADPH 用得多，$NADP^+$ 多，途径就快。
- **蚕豆病**（favism）：葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏的人，红细胞里 NADPH 不够，谷胱甘肽还原不回来，遇到蚕豆、伯氨喹这类氧化剂，红细胞膜被氧化而溶血。

易错 还原力全在氧化阶段产生；产物是 NADPH，不是 NADH。

近五年考了 3 卷 生24 生25 生26　**真题 19 道** 生化 07 10 13 14 15 16 17 18 24 25 26

63 到这里要看一眼地图：相反的途径被膜隔在不同的房间里，中间物过不了膜，就只搬它身上要紧的那一部分

途径	部位	限速酶
糖酵解	胞质	磷酸果糖激酶-1
戊糖磷酸途径	胞质	葡萄糖-6-磷酸脱氢酶
糖原合成与分解	胞质	糖原合酶、糖原磷酸化酶
脂肪酸从头合成	胞质	乙酰 CoA 羧化酶
三羧酸循环	线粒体基质	异柠檬酸脱氢酶等三个
氧化磷酸化	线粒体内膜	—
脂肪酸 β-氧化	线粒体基质	肉碱脂酰转移酶 I
酮体合成	肝线粒体	HMG-CoA 合酶
糖异生	线粒体 + 胞质 + 内质网	四个绕行的酶
尿素循环	线粒体 + 胞质	氨甲酰磷酸合成酶 I
胆固醇合成	胞质 + 内质网	HMG-CoA 还原酶
磷脂、三酰甘油合成	内质网	—

- 分房间的好处：合成和分解互不干扰；各房间保持不同的辅酶比值；膜上的转运体又多了一道调节（控制代谢物、辅酶和离子的浓度）。
- 代价是要搬运。线粒体外膜几乎不设防，内膜只放有专门载体的分子通过。**穿梭的通则**：不搬分子本身，只把要紧的那部分（电子、乙酰基、脂酰基）交给一个有载体的分子带过去，到另一侧再卸下。

要搬的东西	方向	怎么搬
胞质 NADH 的电子	进线粒体	苹果酸-天冬氨酸穿梭、甘油-3-磷酸穿梭（**56 ATP的总账**）
长链脂酰基	进线粒体	肉碱穿梭（**64 β氧化**）
乙酰基	出线粒体	柠檬酸-丙酮酸循环（**66 脂肪酸合成**）
草酰乙酸的碳	出线粒体	变成苹果酸或天冬氨酸（**61 糖异生**）
氨基甲酰基	出线粒体	瓜氨酸出、鸟氨酸回（**70 尿素循环**）

近五年考了 2 卷 生24 生26　**真题 9 道** 生化 08 10 11 13 17 18 24 26

64 饿了，脂肪细胞把三酰甘油水解，脂肪酸搭着清蛋白运给各组织；脂肪酸进线粒体要先活化、再换乘肉碱，然后两个碳两个碳地切下来

- **脂肪动员**（fat mobilization）：脂肪细胞里的三酰甘油被脂肪酶逐步水解成脂肪酸和甘油，释放入血。关键酶是**激素敏感脂肪酶**（hormone-sensitive lipase）：胰高血糖素、肾上腺素经 cAMP、PKA 使它磷酸化而活化；胰岛素抑制它。
- 脂肪酸不溶于水，在血里与**清蛋白**（albumin）结合运输。甘油运到肝，经甘油激酶变成甘油-3-磷酸、再脱氢成磷酸二羟丙酮，去糖异生或糖酵解。脂肪细胞没有甘油激酶，它合成脂肪用的甘油骨架来自糖酵解的**磷酸二羟丙酮**（dihydroxyacetone phosphate）。
- 进线粒体三步：
  - ① **活化**：在胞质一侧，脂酰 CoA 合成酶把脂肪酸接到 CoA 上，ATP 变成 AMP 和焦磷酸，相当于花 2 个 ATP。
  - ② **肉碱穿梭**（carnitine shuttle）：长链脂酰 CoA 过不了内膜。线粒体内膜外侧的**肉碱脂酰转移酶 I**（朱圣庚的说法；Lehninger 说它在外膜上，carnitine acyltransferase I）把脂酰基转给肉碱 → 转位酶把脂酰肉碱运过内膜 → 内膜内侧的肉碱脂酰转移酶 II 把脂酰基交还给基质里的 CoA。肉碱脂酰转移酶 I 是脂肪酸 β-氧化的限速酶，被丙二酸单酰 CoA 抑制——正在合成脂肪酸时，就不让脂肪酸进去烧。
  - ③ **β-氧化**（线粒体基质，β-oxidation）：每一轮四步——**脱氢**（辅基 FAD，dehydrogenation）→ **加水**（hydration）→ **再脱氢**（NAD^+）→ **硫解**（CoA，thiolysis），在 β-碳上切断，放出 1 个乙酰 CoA，剩下少两个碳的脂酰 CoA 再来一轮。
- 账：每轮 1 $FADH_2$ + 1 NADH = 4 ATP；每个乙酰 CoA 进三羧酸循环 10 ATP；活化花掉 2 个。

脂肪酸	轮数	乙酰 CoA	净得 ATP
豆蔻酸（14 碳）	6	7	$6\times4+7\times10-2=$ **92**
软脂酸（16 碳）	7	8	$7\times4+8\times10-2=$ **106**
硬脂酸（18 碳）	8	9	$8\times4+9\times10-2=$ **120**

- 按旧算法（NADH 3、$FADH_2$ 2）：软脂酸 129，豆蔻酸 112。题目给了折算值就照题目的算。
- 特殊情况：
  - 不饱和脂肪酸：多一个异构酶把顺式双键挪成 β-氧化认得的反式，少产 $FADH_2$。
  - **奇数碳**脂肪酸：前面照样一轮轮产乙酰 CoA，最后剩一个**丙酰 CoA**（propionyl-CoA），经羧化（生物素）、变位（维生素 B_{12}）变成琥珀酰 CoA，能生糖。
  - 另有 **α-氧化**（α-oxidation）和 **ω-氧化**（ω-oxidation）两种次要方式。
  - 极长链脂肪酸先在过氧化物酶体里缩短：那里第一步脱下的电子直接给 O_2 生成 H_2O_2，不产 ATP。
- 骆驼驼峰里的脂肪变成水：脂肪酸 β-氧化和三羧酸循环脱下的氢，经呼吸链交给氧生成水。脂肪含氢多，同样重量氧化出的水比糖多。

易错 奇数碳脂肪酸氧化也产生乙酰 CoA，不是只有偶数碳的才产。

近五年考了 4 卷 生22 生24 生25 生26　**真题 25 道** 生化 07 08 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 22 24 25 26

65 饿久了，肝里的乙酰 CoA 多得三羧酸循环烧不完，就两两接成酮体送出去：肝只管造、自己不用，脑和肌肉拿去当燃料

- **酮体**（ketone bodies）：**乙酰乙酸、β-羟丁酸、丙酮**（acetoacetate, β-hydroxybutyrate, acetone）三种物质的总称，是脂肪酸在肝里氧化不完全的产物。
- 为什么会多出来：饥饿或糖尿病时，脂肪大量动员，β-氧化产生很多乙酰 CoA；而草酰乙酸被糖异生抽走，乙酰 CoA 进不了三羧酸循环。
- 合成（**肝线粒体**）：2 乙酰 CoA → 乙酰乙酰 CoA → 再加 1 个乙酰 CoA 成 **HMG-CoA**（**HMG-CoA 合酶**（HMG-CoA synthase），限速）→ 裂解成乙酰乙酸 → 还原成 β-羟丁酸，或脱羧成丙酮。
- 利用（**肝外组织**的线粒体：脑、心、肾、骨骼肌）：β-羟丁酸 → 乙酰乙酸 → 从琥珀酰 CoA 接过 CoA 成乙酰乙酰 CoA → 硫解成 2 个乙酰 CoA，进三羧酸循环。催化转 CoA 的那个酶**肝里没有**，所以酮体肝内生成、肝外利用。
- 意义：酮体分子小、溶于水，不用载体就能运输，能通过血脑屏障，是肝向肝外输出脂肪酸能量的形式。长期饥饿时脑的能量主要来自酮体，这样就省下了葡萄糖，也就少分解肌肉蛋白去造糖。
- 生成超过利用，血里酮体堆积（两种是酸）→ 酮症酸中毒，见于严重的糖尿病和长期饥饿。
- 同一个 HMG-CoA 在两个房间里有两种命运：在线粒体里裂解成酮体，在胞质里还原成甲羟戊酸去合成**68 胆固醇**。

易错 “酮体在肝中产生和利用”是错的。2024 年判断题“酮体是 β 氧化的产物”，狂背判对（它的原料是 β-氧化产生的乙酰 CoA）。

近五年考了 3 卷 生24 生25 生26 **真题 9 道** 生化 08 11 15 16 24 25 26

脂：存进去

66 糖吃多了变成脂肪：乙酰 CoA 以柠檬酸的形式搬到胞质，先羧化成丙二酸单酰 CoA，再由脂肪酸合酶两个碳两个碳地接上去 ●

- 原料：**乙酰 CoA**（主要来自糖，acetyl-CoA）、**NADPH**（主要来自戊糖磷酸途径）、ATP、CO_2。部位：**胞质**。
- **柠檬酸-丙酮酸循环**（citrate-pyruvate cycle）：乙酰 CoA 在线粒体里生成、自己出不来。它与草酰乙酸合成**柠檬酸**（citrate），柠檬酸出到胞质，被裂解酶（花 1 个 ATP）切回乙酰 CoA 和草酰乙酸；草酰乙酸还原成苹果酸，再由苹果酸酶氧化脱羧成丙酮酸（顺手产 1 个 NADPH），丙酮酸回线粒体。
- **乙酰 CoA 羧化酶**（acetyl-CoA carboxylase）：乙酰 CoA + CO_2 + ATP → **丙二酸单酰 CoA**（malonyl-CoA），辅基**生物素**（biotin）；是脂肪酸合成的限速酶。

调节	内容
别构	**柠檬酸激活**（原料到了）；软脂酰 CoA 抑制（产品多了）
共价修饰	磷酸化失活（胰高血糖素、肾上腺素，以及感受能量不足的 AMPK）；胰岛素使它去磷酸化而活化

- **脂肪酸合酶**（fatty acid synthase）：动物的是一条肽链上长着七种酶活性的多功能酶，另有酰基载体蛋白 **ACP**（辅基磷酸泛酰巯基乙胺像一条长臂，把中间物在各个活性中心之间递来递去，acyl carrier protein）。每轮四步：**缩合**（丙二酸单酰基脱羧，放出的能量推动缩合，condensation）→ **还原**（NADPH）→ **脱水**（dehydration）→ **再还原**（NADPH）。七轮得**软脂酸**（16 碳，palmitic acid）。共耗 7 ATP、14 NADPH。

	脂肪酸合成	β-氧化
部位	胞质	线粒体
酰基载体	**ACP**	**CoA**（coenzyme A）
二碳单位	丙二酸单酰 CoA（加上去）	乙酰 CoA（切下来）
氧化还原辅酶	NADPH	FAD、NAD^+
β-羟中间物的构型	D 型	L 型
酶	多功能酶	各自分开的酶
过膜的办法	柠檬酸-丙酮酸循环（乙酰基出）	肉碱穿梭（脂酰基进）
限速酶	乙酰 CoA 羧化酶	肉碱脂酰转移酶 I
促进的激素	胰岛素	胰高血糖素、肾上腺素

- 软脂酸之后：延长在内质网（用丙二酸单酰 CoA）和线粒体（用乙酰 CoA）；去饱和酶在第 9 位引入顺式双键。动物不能在第 9 位以远再加双键，所以亚油酸、α-亚麻酸是**33 脂质**里说的必需脂肪酸。

易错 狂背把“多酶复合体的每一种酶都具有独立的功能”判错：复合体里各酶依次衔接、中间物不离开复合体，单独拿出来就失去这种协同和效率。（有的组分拆出来仍有活性，所以理由别写死。）

真题 14 道 生化 07 08 10 13 14 15 17 24

67 脂肪酸再和甘油接成三酰甘油、磷脂；它们不溶于水，在血里要包成脂蛋白才运得动，肝运不出去就成了脂肪肝 ●

- **三酰甘油**（triacylglycerol）：甘油-3-磷酸 + 2 脂酰 CoA → 磷脂酸 → 去掉磷酸成二酰甘油 → 再加 1 个脂酰 CoA。
- **甘油磷脂**（glycerophospholipid）：要用 **CTP** 活化——或者活化二酰甘油（CDP-二酰甘油，去合成磷脂酰肌醇、心磷脂），或者活化头基（CDP-胆碱、CDP-乙醇胺，去合成磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺）。磷脂酰乙醇胺接受 SAM 的三个甲基也能变成磷脂酰胆碱。
- **脂肪肝**（fatty liver）：肝合成的三酰甘油要装进 VLDL 才运得出去。装 VLDL 需要磷脂，合成磷脂酰胆碱需要胆碱或甲硫氨酸（供甲基），缺了它们脂肪就堆在肝里；所以胆碱、甲硫氨酸叫抗脂肪肝因子。
- **血浆脂蛋白**（plasma lipoprotein）：球形颗粒，核心是疏水的三酰甘油和胆固醇酯，外面是一层磷脂、游离胆固醇和**载脂蛋白**（apolipoprotein），靠**非共价**作用结合。

脂蛋白	哪里合成	主要功能
乳糜微粒（CM）（chylomicron）	小肠	运输**外源性**三酰甘油（吃进来的）
极低密度脂蛋白（VLDL）（very-low-density lipoprotein）	肝	运输**内源性**三酰甘油（肝合成的）
低密度脂蛋白（LDL）（low-density lipoprotein）	血里由 VLDL 变来	把胆固醇运到肝外组织；经受体介导的胞吞进细胞（**40 胞吞与胞吐**）
高密度脂蛋白（HDL）（high-density lipoprotein）	肝、小肠	把肝外的胆固醇运回肝（逆向转运）

- 规律：从 CM 到 HDL，密度越来越大，蛋白质越来越多，颗粒越来越小，三酰甘油越来越少。
- 载脂蛋白的三个作用：做颗粒的骨架；做受体认的标记（LDL 受体认载脂蛋白 B-100）；调节酶（载脂蛋白 C- II 激活毛细血管壁上的脂蛋白脂肪酶，把 CM、VLDL 里的三酰甘油水解出来）。

近五年考了 2 卷 生24 生26　**真题 5 道** 生化 08 17 20 24 26

68 乙酰 CoA 还能造胆固醇：限速酶是 HMG-CoA 还原酶，细胞里胆固醇够了就把它关掉，他汀类药物堵的也是它 ○

- 全部碳原子来自**乙酰 CoA**（acetyl-CoA），还原力是 NADPH；在胞质和内质网进行，肝最多。
- 路线：乙酰 CoA → HMG-CoA → **甲羟戊酸**（**HMG-CoA 还原酶**（HMG-CoA reductase），限速酶，在内质网膜上，mevalonate）→ 五碳的异戊二烯单位 → 三十碳的鲨烯 → 环化成羊毛固醇 → 胆固醇（27 碳）。

调节	内容
反馈	细胞内胆固醇多 → 抑制 HMG-CoA 还原酶基因的转录、加快这个酶的降解，同时减少 LDL 受体的合成
共价修饰	磷酸化失活（胰高血糖素、AMPK）；胰岛素使它活化
药物	**他汀类**（statins）是 HMG-CoA 还原酶的竞争性抑制剂；肝细胞内胆固醇下降，LDL 受体增多，从血里多吞 LDL，血胆固醇下降

- 反馈靠 **SREBP**（固醇调节元件结合蛋白，sterol regulatory element-binding protein）：它是内质网膜上的转录因子前体。细胞内固醇缺乏时，由 SCAP 护送到高尔基体，经两次蛋白酶切割，放出的转录因子部分进入细胞核，激活 HMG-CoA 还原酶、LDL 受体等基因的转录。
- 去路：做膜的成分；在肝变成**胆汁酸**（主要的排出途径，bile acid）；变成**类固醇激素**（steroid hormone）；在皮肤变成 7-脱氢胆固醇，再变维生素 D_3。胆固醇的环不能被分解成 CO_2。
- LDL 受体有缺陷的人，细胞吞不进 LDL，自己还在不停地合成，血胆固醇极高，叫家族性高胆固醇血症。

真题 2 道 生化 08 26

> 糖和脂肪只含碳、氢、氧。蛋白质和核酸里的氮从哪来，用不完的氮往哪去？这么多条途径同时在转，又靠什么不乱套？

氮与代谢的整合

氨基酸先把氨基卸给谷氨酸，氨有毒，运到肝做成尿素排掉，剩下的碳骨架并入糖和脂的路；氮最初靠固氮进入生物界，又用来造核苷酸；所有途径在三个交叉点相通，由激素统一调度

氮往哪去

69 糖和脂肪没有氮，氨基酸有。氨基酸要当燃料或改造成别的东西，先得把氨基卸下来：转氨把氨基集中到谷氨酸，谷氨酸再脱氢放出氨 ●

- 体内的蛋白质不断更新，吃进的蛋白质也消化成氨基酸才吸收（人不能直接吸收蛋白质和核酸大分子），合起来是一个“氨基酸代谢库”。**氮平衡**（nitrogen balance）：摄入的氮等于排出的氮，反映正常成人的蛋白质代谢状况；生长期、孕期是正氮平衡，饥饿和消耗性疾病是负氮平衡。
- **转氨基作用**（transamination）：**转氨酶**（transaminase (aminotransferase)）把氨基酸的 α-氨基转给 α-酮酸，生成新的 α-酮酸和新的氨基酸；辅酶是**磷酸吡哆醛**（pyridoxal phosphate），乒乓机制，反应可逆。绝大多数氨基酸的氨基都先转给 **α-酮戊二酸**（α-ketoglutarate），生成**谷氨酸**（glutamate）。转氨只是把氨基换了个地方，没有真脱下来。
- **氧化脱氨基**（oxidative deamination）：**L-谷氨酸脱氢酶**（肝线粒体基质，辅酶 NAD^+ 或 $NADP^+$，L-glutamate dehydrogenase）把谷氨酸氧化成 α-酮戊二酸，放出 NH_4^+。它是生物体内主要的氨基酸脱氢酶。
- **联合脱氨基作用**（transdeamination）：转氨基作用和脱氨基作用偶联起来脱去氨基，是体内主要的脱氨方式。有两个内容（朱圣庚）：
  - ① 以谷氨酸脱氢酶为中心：联合脱氨基 = 转氨 + 谷氨酸氧化脱氨——氨基先转给 α-酮戊二酸生成谷氨酸，谷氨酸再由 L-谷氨酸脱氢酶氧化脱氨；体内广泛存在，倒过来走就是合成非必需氨基酸的路。
  - ② 嘌呤核苷酸的联合脱氨（**嘌呤核苷酸循环**（purine nucleotide cycle））：骨骼肌和心肌里谷氨酸脱氢酶活性低，氨基经天冬氨酸交给 IMP 变成 AMP，AMP 脱氨酶再把氨放出来；骨骼肌、心肌、肝和脑可能以它为主。

- 氨基酸**脱羧**（也要磷酸吡哆醛，decarboxylation）生成有活性的胺：组氨酸 → 组胺，谷氨酸 → γ-氨基丁酸，色氨酸 → 5-羟色胺；鸟氨酸脱羧先生成**腐胺**，再合成**多胺（亚精胺、精胺）**，调节细胞生长。

易错 必需氨基酸不是“蛋白质代谢中不可缺少的氨基酸”，而是自己不能合成、必须由食物供给的氨基酸。

近五年考了 2 卷 生23 生24 **真题 18 道** 生化 07 08 10 13 14 16 18 19 20 23 24

70 卸下来的氨有毒，尤其伤脑：各组织把它装进谷氨酰胺或丙氨酸运到肝，肝用尿素循环把它做成无毒的尿素排出去 ●

- 氨的来源：氨基酸脱氨（主要）、胺类和嘌呤嘧啶的分解、肠道细菌产氨、肾小管里谷氨酰胺分解。去路：在肝合成**尿素**（主要，urea）、合成谷氨酰胺、重新用于合成非必需氨基酸等含氮物、在肾以 NH_4^+ 随尿排出。
- 运输靠两种无毒的形式：
  - **谷氨酰胺**（glutamine）：脑、肌肉里谷氨酰胺合成酶（耗 ATP）把氨接到谷氨酸上；既解毒又运输，到肝、肾再放出来。
  - **葡萄糖-丙氨酸循环**（glucose-alanine cycle (Glucose-Ala cycle, Glc-Ala cycle)）：肌肉把氨基转给丙酮酸成丙氨酸 → 经血到肝 → 肝里转氨，氨去合成尿素，丙酮酸经糖异生成葡萄糖 → 葡萄糖回到肌肉。一趟下来既运了氨，又给肌肉送了糖。

步	反应	酶	部位
1	$NH_4^+ + HCO_3^- + 2$ ATP → 氨甲酰磷酸	**氨甲酰磷酸合成酶 I**（限速；N-乙酰谷氨酸是必需的激活剂，carbamoyl phosphate synthetase Ⅰ（CPS-Ⅰ））	线粒体
2	+ 鸟氨酸 → **瓜氨酸**（citrulline）	鸟氨酸转氨甲酰酶	线粒体；瓜氨酸出到胞质
3	瓜氨酸 + **天冬氨酸**（aspartate） + ATP → 精氨琥珀酸	精氨琥珀酸合成酶	胞质
4	→ 精氨酸 + 延胡索酸	精氨琥珀酸裂解酶	胞质
5	精氨酸 + H_2O → **尿素** + 鸟氨酸	精氨酸酶	胞质；鸟氨酸回线粒体

- 尿素的两个氮，一个来自氨，一个来自天冬氨酸；碳来自 CO_2。尿素经血液由肾排出。每合成 1 分子尿素耗 3 个 ATP、4 个高能磷酸键。
- **尿素循环**（鸟氨酸循环，urea cycle (ornithine cycle)）的意义：把有毒的氨转变为无毒的尿素。肝功能障碍是血氨升高的主要原因；氨进了脑，把 α-酮戊二酸和谷氨酸耗掉、谷氨酰胺堆积，引起昏迷。
- 与三羧酸循环相连：放出的延胡索酸经苹果酸变成草酰乙酸，再转氨成天冬氨酸回到循环里。

	氨甲酰磷酸合成酶 I	**氨甲酰磷酸合成酶 II**（carbamoyl phosphate synthetase Ⅱ（CPS-Ⅱ））
部位	肝线粒体	胞质
氮源	游离的氨	谷氨酰胺
产物去向	**尿素**	**嘧啶**（pyrimidine）核苷酸
调节	N-乙酰谷氨酸激活	UTP 抑制、PRPP 激活

- 肝里 1 分子天冬氨酸彻底氧化：转氨成草酰乙酸（氨基给了谷氨酸，谷氨酸脱氢得 1 NADH）→ 草酰乙酸经 PEP 变丙酮酸 → 乙酰 CoA → 三羧酸循环；扣掉把氨做成尿素的花费，净得 13 个 ATP。

易错 氨甲酰磷酸能合成尿素和嘧啶核苷酸，不能合成嘌呤核苷酸；精氨酸、瓜氨酸、鸟氨酸是循环的中间物，瓜氨酸、鸟氨酸不出现在天然蛋白质里。

近五年考了 3 卷 生24 生25 生26 **真题 30 道** 生化 07 08 09 10 11 13 14 15 16 17 18 24 25 26

71 脱了氨，剩下的碳骨架从七个入口并进糖和脂的路：能补三羧酸循环中间物的可以生糖，只出乙酰 CoA 的只能生酮 ●

类别	碳骨架变成	成员
生糖氨基酸（glucogenic amino acid）	丙酮酸、α-酮戊二酸、琥珀酰 CoA、延胡索酸、草酰乙酸	多数氨基酸
生酮氨基酸（ketogenic amino acid）	乙酰 CoA 或乙酰乙酰 CoA，在肝里能变酮体	只生酮的是 **Leu、Lys**
生糖兼生酮	两种都有	Ile、Phe、Tyr、Trp、Thr

- 几个酶缺了就是病：缺**苯丙氨酸羟化酶**（phenylalanine hydroxylase），苯丙氨酸变不成酪氨酸，改走旁路生成苯丙酮酸，是苯丙酮尿症；缺酪氨酸酶是白化病；缺尿黑酸氧化的酶是尿黑酸症。

- 氨基酸还是许多含氮小分子的原料：
  - 酪氨酸羟化成多巴，再变成多巴胺、去甲肾上腺素、肾上腺素；也是甲状腺激素和黑色素的原料。
  - 丝氨酸交出一个碳给四氢叶酸，自己变成甘氨酸，是一碳单位的主要来源（**31 辅酶**）。
  - 甘氨酸、精氨酸、甲硫氨酸合成肌酸；谷氨酸、半胱氨酸、甘氨酸合成谷胱甘肽；甘氨酸和琥珀酰 CoA 合成血红素；精氨酸放出 NO。
  - 植物光呼吸里，乙醛酸转氨成甘氨酸，两个甘氨酸再变成一个丝氨酸。

真题 6 道 生化 09 10 13 17 24

氮从哪来、还造了什么

72 氮最初是靠固氮和硝酸还原进入生物界的：先变成氨，氨接到 α-酮戊二酸上成谷氨酸，再靠转氨分给各种碳骨架

- **生物固氮**（biological nitrogen fixation）：固氮微生物（根瘤菌、蓝细菌等）在常温常压下把大气里的 N_2 还原成 NH_3。催化的**固氮酶复合体**（nitrogenase complex）由**铁蛋白（固氮酶还原酶）**（Fe protein (dinitrogenase reductase)）和**钼铁蛋白（固氮酶）**（MoFe protein (dinitrogenase)）组成；还原 1 分子 N_2 要 8 个电子、16 个 ATP，同时放出 1 分子 H_2；酶极怕氧（豆科根瘤里靠豆血红蛋白把氧结合住）。
- 植物吸收的多是硝酸盐：**硝酸还原酶**（胞质，nitrate reductase）把 NO_3^- 还原成 NO_2^-，**亚硝酸还原酶**（叶绿体，nitrite reductase）再还原成 NH_4^+。
- 氨的同化：**谷氨酰胺合成酶**（glutamine synthetase）把氨接到谷氨酸上成谷氨酰胺，**谷氨酸合酶**（glutamate synthase）再把这个氨基转给 α-酮戊二酸，净得一个谷氨酸；谷氨酸再经转氨把氨基分给别的 α-酮酸。
- 所以水稻把光、水、CO_2、硝酸盐变成氨基酸是四件事接起来：光反应出 ATP、NADPH 和还原型铁氧还蛋白 → 卡尔文循环和糖代谢出碳骨架 → 硝酸盐被还原成氨 → 氨同化成谷氨酸，再转氨。

族	碳骨架来自	成员
谷氨酸族	α-酮戊二酸	Glu、Gln、Pro、Arg
天冬氨酸族	草酰乙酸	Asp、Asn、Lys、Thr、Met、Ile
丙酮酸族	丙酮酸	Ala、Val、Leu
丝氨酸族	3-磷酸甘油酸	Ser、Gly、Cys
芳香族	PEP 和 4-磷酸赤藓糖	Phe、Tyr、Trp
组氨酸	PRPP	His

- **非必需氨基酸**（nonessential amino acid）：人体能自己合成、不必由食物供给的氨基酸；碳骨架多是糖代谢的中间物，氨基靠转氨得到。合成途径普遍受终产物的反馈抑制。

真题 4 道 生化 08 20 24

73 氨基酸的氮还用来造核苷酸：嘌呤是在核糖上一步步搭出环来，嘧啶是先搭好环再接到核糖上；多余的嘌呤分解成尿酸

- 两条合成的路都离不开 **PRPP**（5-磷酸核糖-1-焦磷酸，由戊糖磷酸途径的 5-磷酸核糖加 ATP 生成，5-phosphoribosyl-1-pyrophosphate）：它是活化的核糖，从头合成、补救合成都用它。

	嘌呤核苷酸从头合成	嘧啶核苷酸从头合成
方式	**在 PRPP 上逐步搭环**	**先合成环（乳清酸），再接 PRPP**
原料	甘氨酸、天冬氨酸、谷氨酰胺、一碳单位（甲酰四氢叶酸）、CO_2	天冬氨酸、谷氨酰胺、CO_2
先得到的核苷酸	**IMP**（次黄嘌呤核苷酸，inosine monophosphate），再分头变成 AMP 和 GMP	UMP，再到 UTP；**UTP 加氨成 CTP**
调节	终产物反馈抑制头两个酶；IMP 变 AMP 要 GTP、变 GMP 要 ATP，两边互相扶持	动物调氨甲酰磷酸合成酶 II，细菌调天冬氨酸转氨甲酰酶

- 天冬氨酸直接参与两种环的合成。
- 脱氧核苷酸：**核糖核苷酸还原酶**（ribonucleotide reductase）在二磷酸水平上把核糖还原成脱氧核糖（NDP → dNDP）。dTMP 由 dUMP 甲基化而来（**胸苷酸合酶**（thymidylate synthase），甲基来自亚甲基四氢叶酸）；用掉的四氢叶酸要靠二氢叶酸还原酶再生。
- **补救合成**（salvage pathway）：直接把现成的碱基接到 PRPP 上，省能；脑和骨髓主要靠它。

- **Lesch-Nyhan 综合征**（Lesch-Nyhan syndrome）：补救合成里的次黄嘌呤-鸟嘌呤磷酸核糖转移酶遗传缺陷，几乎只见于男孩；补救合成受阻使 PRPP 堆积、嘌呤从头合成加快、尿酸过多，表现为痛风样损伤、智力缺陷和自残行为。
- 分解：嘌呤 → 次黄嘌呤 → 黄嘌呤 → **尿酸**（**黄嘌呤氧化酶**（xanthine oxidase），uric acid）。尿酸溶解度低，多了结晶沉在关节里就是痛风；**别嘌呤醇**（allopurinol）与次黄嘌呤结构相似，抑制黄嘌呤氧化酶。黄嘌呤是通常既不在 DNA 里也不在 RNA 里的碱基。嘧啶分解成 β-氨基酸、NH_3 和 CO_2，都溶于水。
- 核苷酸代谢是药物的靶子（都是抗代谢物，冒充正常底物）：

药	冒充	堵哪里	用途
6-巯基嘌呤	次黄嘌呤	IMP 的转变	抗肿瘤
5-氟尿嘧啶	尿嘧啶	胸苷酸合酶	抗肿瘤
甲氨蝶呤	叶酸	二氢叶酸还原酶	抗肿瘤
别嘌呤醇	次黄嘌呤	黄嘌呤氧化酶	痛风
磺胺	对氨基苯甲酸	细菌的叶酸合成	抗菌
叠氮胸苷（AZT）	胸苷	逆转录酶	抗艾滋病病毒

易错 CTP 是在三磷酸水平（UTP）上加氨生成的，不是“UDP 先接受氨基再磷酸化”。

近五年考了 2 卷 生24 生26　**真题 11 道** 生化 09 12 13 15 16 17 18 24 26

合在一起看

74 到这里几条路全通了：糖、脂、氨基酸、核苷酸在葡萄糖-6-磷酸、丙酮酸、乙酰 CoA 三个交叉点相通，但不是每个方向都走得通

从 → 到	能不能	怎么走
糖 → 脂肪	能，而且容易	糖 → 乙酰 CoA → 脂肪酸；磷酸二羟丙酮 → 甘油
脂肪 → 糖	**只有甘油能**；脂肪酸不能	乙酰 CoA 变不回丙酮酸（**50 代谢的枢纽**）；植物、微生物靠乙醛酸循环可以
糖 → 氨基酸	能合成**非必需氨基酸**（nonessential amino acid）	糖代谢的 α-酮酸经转氨得到氨基
氨基酸 → 糖	生糖氨基酸能	碳骨架经糖异生
氨基酸 → 脂肪	能	都可经乙酰 CoA
脂肪 → 氨基酸	脂肪酸不能；甘油可以提供非必需氨基酸的碳骨架	同脂肪不能变糖的道理
糖、氨基酸 → 核苷酸	能	糖出核糖（PRPP），氨基酸出氮和碳，一碳单位出两个碳

- 三个交叉点：**葡萄糖-6-磷酸**（糖酵解、糖原、戊糖磷酸途径、糖异生的分岔口，glucose-6-phosphate）、**丙酮酸**（通向乳酸、丙氨酸、草酰乙酸、乙酰 CoA，pyruvate）、**乙酰 CoA**（糖、脂、氨基酸分解的汇合点，脂肪酸、胆固醇、酮体合成的起点，acetyl-CoA）。三羧酸循环是它们共同的终点，也是互变的渠道。
- 肝是代谢的中枢，有三条途径基本上只在肝里进行：**糖异生**（饥饿时维持血糖，gluconeogenesis）、**酮体生成**（把脂肪酸的能量换成水溶性的形式送给肝外组织，ketogenesis）、**尿素循环**（解氨毒，urea cycle (ornithine cycle)）。

真题 3 道 生化 14 16 25

75 这么多条路不打架，靠的是三级调度：酶自己看底物和产物，激素按全身的需要开关酶，吃饱和饿着是两套相反的配置

- 三个水平：**细胞水平**（调酶的活性和酶的含量，加上区室隔离，见**29 别构酶**、**30 共价修饰与酶原**）→ **激素水平** → **整体水平**（神经系统通过激素协调各器官）。
- 被调的都是关键酶：催化单向的、离平衡很远的反应，多是别构酶，又能被磷酸化，其合成还受激素诱导或阻遏。

	吃饱（胰岛素高）	饥饿（胰高血糖素高）
肝	合成糖原、把多余的糖变成脂肪酸，装进 VLDL 运出	分解糖原、糖异生；氧化脂肪酸、生成酮体
肌肉	GLUT4 上膜，摄取葡萄糖合成糖原	改烧脂肪酸和酮体；分解蛋白质，把丙氨酸、谷氨酰胺送给肝
脂肪组织	摄取葡萄糖和脂肪酸，合成三酰甘油	脂肪动员
脑	烧葡萄糖	起初仍烧葡萄糖，饿久了大量改用酮体

- 在肝和脂肪组织里有一条省事的规律：饥饿时该开的酶磷酸化后开，该关的酶磷酸化后关，所以一个 PKA 就能把整套配置切过去；胰岛素则激活磷酸酶，统统翻回来。
- **血糖**（blood glucose）的来源：食物消化吸收、肝糖原分解、糖异生。去路：氧化供能、合成糖原、转变成脂肪和非必需氨基酸等；超过肾糖阈时随尿排出。
- 调血糖的激素：**胰岛素是唯一降血糖的激素**；**胰高血糖素**（主要管肝，glucagon）、**肾上腺素**（应急，管肝和肌肉，epinephrine (adrenaline)）、糖皮质激素、生长激素都升血糖。
- **胰岛素抵抗**（insulin resistance）：靶组织（肝、肌肉、脂肪）对胰岛素的反应降低，需要比正常更高的胰岛素浓度才能产生同样的效应，是 2 型糖尿病的标志；早期由胰岛 β 细胞多分泌胰岛素代偿，后期 β 细胞衰竭而出现高血糖。发展为 2 型糖尿病之前常见的一组表现叫**代谢综合征**（metabolic syndrome）：腹部肥胖、高血压、血脂异常（三酰甘油和低密度脂蛋白高、高密度脂蛋白低）、空腹血糖略高和葡萄糖耐量下降。
- **瘦素**（leptin）：主要由白色脂肪组织分泌的肽类激素，分泌量随脂肪量增加；作用于下丘脑，减少进食，并经交感神经促进棕色脂肪产热。多数肥胖者血中瘦素反而升高，存在瘦素抵抗。
- 不吃饭的时间线：几小时内靠肝糖原 → 约一天后以糖异生为主（原料是氨基酸、甘油、乳酸）→ 几天后酮体大增 → 长期饥饿时脑主要用酮体，肌肉蛋白的分解因此减少。
- 用力时肌肉的能量依次来自：现成的 ATP 和磷酸肌酸（几秒）→ 肌糖原酵解成乳酸（几十秒到一两分钟）→ 糖和脂肪酸的有氧氧化（长时间）。
- 细胞内还有两个总开关：**AMPK**（AMP-activated protein kinase） 在 AMP 多、能量不足时被激活，关合成、开分解；mTOR 在营养和生长因子充足时促进合成。

真题 6 道 生化 11 18 19 23

> 代谢这张网靠几千种酶撑着，每一种酶的氨基酸顺序一个都不能错。

第三问　76–111 环

图纸在哪

DNA、RNA、蛋白质的合成与投递

代谢靠几千种酶，每一种的氨基酸顺序一个都不能错。于是有了第三个问题：这些顺序记在哪里，怎样一代代抄下去，怎样读出来变成蛋白质，造好的蛋白质又怎样送到该去的地方。

DNA

氨基酸的顺序记在 DNA 的碱基顺序里：两条链互补，所以能照着抄、能照着修；DNA 缠在组蛋白上一级级压进细胞核；复制只朝一个方向、半保留、半不连续，抄错了有三道关把守，坏了有五种修法

图纸是什么做的

76　酶的氨基酸顺序记在核酸里。核酸的单体是核苷酸：碱基、戊糖、磷酸三个部件，靠磷酸二酯键连成有头有尾的链 ●

- **核苷酸**（nucleotide）= 碱基 + 戊糖 + 磷酸，连接顺序是**碱基**—**戊糖**—**磷酸**。碱基以 N-糖苷键连在戊糖的 C1′ 上（嘌呤用 N9，嘧啶用 N1），磷酸连在 C5′ 上。
- 核苷酸之间以 **3′,5′-磷酸二酯键**（3′,5′-phosphodiester bond）相连，链有方向：一端是 5′-磷酸，另一端是 3′-羟基；书写和合成都是 **5′ → 3′**。**核酸的一级结构**（primary structure of nucleic acid）就是核苷酸的排列顺序。

	DNA	RNA
戊糖	2′-脱氧核糖	核糖（多一个 2′-羟基）
碱基	A、G、C、**T**	A、G、C、**U**
结构	双链，反向平行的双螺旋	多为单链，可回折成局部双螺旋（发夹、茎环）
稳定性	稳定	2′-羟基使它容易被碱水解
功能	储存和传递遗传信息	传递信息（mRNA）、搬运氨基酸（tRNA）、构成核糖体（rRNA）、催化、调节；某些病毒的遗传物质

- 两者彻底水解后，戊糖不同，碱基部分不同（A、G、C 相同，T 与 U 不同）。T 并非 DNA 专有：**tRNA**（transfer RNA）里常有胸腺嘧啶。
- **Chargaff 规则**（Chargaff's rules）：双链 DNA 里 A = T、G = C，嘌呤总数等于嘧啶总数。碱基组成有物种特异性，没有组织特异性——同一个体的脑细胞和肌细胞 DNA 组成相同，Tm 也相同。单链的 RNA 通常 A ≠ U、G ≠ C。
- **碱基互补规律**（base complementarity）：核酸配对时 A 与 T（RNA 中为 U）以两个氢键配对、G 与 C 以三个氢键配对的严格对应关系；它是 Chargaff 规则的结构基础，保证复制、转录、逆转录中遗传信息准确传递。
- 常考的算术：一条链上（A + G）/（T + C）= 0.7，互补链上是它的倒数 1.43，整个双链是 1；一条链上（A + T）/（G + C）= 0.7，互补链和整个双链都还是 0.7。

易错　写互补链要注意方向：5′-CTGGAC-3′ 的互补链是 5′-GTCCAG-3′。“DNA 是遗传物质而 RNA 不是”是错的（RNA 病毒）。

近五年考了 2 卷　生25 生26　　**真题 23 道**　生化 08 10 11 12 13 14 15 16 17 18 25 26

77　两条链靠碱基配对拧成双螺旋：一条链的顺序完全决定另一条，这就是它能当图纸的原因；加热能把两条链分开，冷下来又能配回去 ●

- **B 型 DNA**（Watson-Crick 模型，B-DNA）：两条链**反向平行**（antiparallel），绕成**右手**双螺旋；磷酸和脱氧核糖在外侧作骨架，碱基在内侧；A 与 T 配对（2 个氢键），G 与 C 配对（3 个氢键）；直径 2 nm，相邻碱基对相距 0.34 nm，每圈约 10 个碱基对；表面有**大沟**（major groove）和**小沟**（minor groove），蛋白质主要从大沟里辨认碱基。
- 维持双螺旋的力主要是碱基堆积力和氢键：氢键决定谁和谁配，堆积力（上下碱基之间的疏水作用和范德华力）是主要的稳定力；介质里的阳离子再中和磷酸的负电。
- 另有 A 型（右手、粗短，RNA 双链和 DNA-RNA 杂交链取这种）和 Z 型（左手）。
- **超螺旋**（supercoil）：双螺旋自身再扭。细胞里的 DNA 多是**负超螺旋**（稍微拧松，negative supercoil），便于解链。**拓扑异构酶**（topoisomerase）改变超螺旋数：Ⅰ型切一条链，每次变 1，不用 ATP；Ⅱ型切两条链，每次变 2，要 ATP（细菌的旋转酶属于这一类，能引入负超螺旋）。
- **紫外吸收**（ultraviolet absorption）：核酸在 **260 nm** 有最大吸收，来自嘌呤环和嘧啶环的共轭双键；吸收值随 pH 而变。
- **变性**（denaturation）：加热、酸、碱等使碱基对之间的氢键断开，双链分成单链；只破坏次级键，磷酸二酯键不断。变性后 260 nm 吸收升高，叫**增色效应**（hyperchromic effect）；复性时吸收降低，叫**减色效应**（hypochromic effect）。

- **Tm（解链温度）**（melting temperature）：增色达到最大值一半时的温度。**G-C 含量越高，Tm 越高**；溶液离子强度越高，Tm 也越高；所以它不只取决于 G-C 含量。熔解时总是 A-T 丰富的区域先分开。
- **复性**（renaturation (annealing)）：热变性的 DNA 缓慢冷却，互补的单链重新配成双链（退火）；骤冷则不能复性。来源不同但序列互补的两条单链（DNA 与 DNA、DNA 与 RNA）也能配成双链，叫**分子杂交**（molecular hybridization），是**157 核酸探针与印迹**的基础。

易错 “Tm 高的 DNA，A + T 含量也高”“变性时总是 G-C 丰富区先熔解”都是错的。

近五年考了 2 卷 生22 生24 **真题 31 道** 生化 07 08 10 11 12 13 14 15 16 17 18 22 24

78 一个细胞的全部 DNA 叫基因组。细菌的基因组小而紧凑，真核的又大又松，编码蛋白质的只占一点点 ●

	原核（大肠杆菌）	真核（人）
大小	约 4.6 Mb，一个环状分子	约 3 Gb，分在多条线状染色体上
基因	约 4300 个，几乎全是编码和调控序列	朱圣庚写约 3 万个基因、编码序列约 1.2%（Lehninger 写约 2 万个蛋白质编码基因、编码序列不到 1.5%）
基因结构	连续；功能相关的基因排成**操纵子**（operon），转录成一条**多顺反子**（polycistron） mRNA	被内含子隔开（断裂基因）；单顺反子
重复序列	很少	大量：转座子来源的散在重复约占一半，还有成串的卫星 DNA
染色体外 DNA	**质粒**（能自主复制的小环状 DNA，plasmid）	线粒体、叶绿体 DNA

- **C 值**（C value）是一种生物单倍体基因组的 DNA 总量。C 值的大小与生物的复杂程度并不成比例（有的两栖类、植物比人大几十倍），叫 **C 值悖论**（C-value paradox）；多出来的主要是非编码的重复序列。
- 按重复程度分：单拷贝序列（多数蛋白质基因）、中度重复序列（rRNA、tRNA、组蛋白基因和转座子）、高度重复序列（卫星 DNA，多在着丝粒和端粒）。
- **基因家族**（gene family）：由一个祖先基因重复、变异而来的一组序列相似、功能相关的基因（珠蛋白基因家族）；其中失去了功能的成员叫**假基因**（pseudogene）。
- 并不是所有基因的最终产物都是蛋白质：rRNA、tRNA 等基因的产物就是 RNA。
- **基因组测序**（genome sequencing）：把一种生物全部 DNA 的碱基顺序测出来；基因有多少、编码序列占多大比例，这些数都是测序以后才知道的（方法见**158 PCR与测序**）。

真题 8 道 生化 07 10 11 17 18

79 人的一个细胞里有两米长的 DNA，要装进几微米的核：先缠在组蛋白上成核小体，再一级级折叠成染色质和染色体 ●

- **染色质**（chromatin）的成分：**DNA 和组蛋白**（质量大致相等），加上非组蛋白和少量 RNA。染色质和染色体是同一种物质在间期和分裂期的两种形态。
- **核小体**（nucleosome）是染色质的基本结构单位：**H2A、H2B、H3、H4 各两个**组成**八聚体**（histone octamer），约 146 bp 的 DNA 在外面缠 1.75 圈，成为核心颗粒；**H1** 不在核心颗粒里，它压在 DNA 进出的地方把它锁住；相邻核小体之间是连接 DNA。一个核小体连同连接 DNA 约 200 bp。
- 证据：用微球菌核酸酶轻度消化染色质，再除去蛋白质电泳，得到约 200 bp 整倍数的梯状条带（酶先切裸露的连接 DNA）；电镜下看到 10 nm 的“串珠”。海胆精子切出来是 240 bp 的整倍数，说明它也有核小体，只是连接 DNA 更长。

级	结构	直径	压缩
一级	核小体串珠	10 nm	7 倍
二级	**螺线管**（每圈 6 个核小体，要 H1，solenoid）	30 nm	6 倍
三级	超螺线管	约 400 nm	40 倍
四级	染色单体	—	5 倍

- 上表是**多级螺旋模型**（multiple coiling model），总共压缩约 8400 倍。另一种是**骨架-放射环模型**（scaffold-radial loop model）：30 nm 纤维折成一个个袢环，根部锚定在由非组蛋白构成的**染色体骨架**（chromosomal scaffold (chromosome scaffold)）上，袢环呈放射状排列。

	组蛋白	非组蛋白
电荷	碱性，富含 Lys、Arg	多为酸性

	组蛋白	非组蛋白
种类	5 种	很多
保守性	**进化上高度保守**（H3、H4 最保守），没有组织特异性	有种属和组织特异性
与 DNA 结合	靠静电，不挑序列	识别特定序列
功能	把 DNA 包装成核小体；尾巴上的修饰调节基因表达	帮助 DNA 折叠（骨架），参与复制、调控转录

- 用稀酸或高盐能把组蛋白从 DNA 上解下来：两者靠正负电荷相吸，高盐里的离子把电荷屏蔽了，酸使 DNA 磷酸基团上的负电荷被中和，离子键就散了。
- **常染色质**（euchromatin）：间期细胞核内染色质纤维折叠压缩程度低、相对伸展、用碱性染料染色时着色浅的那些染色质；其 DNA 主要是单一序列和中度重复序列。处于常染色质状态是基因转录的必要条件，而不是充分条件。

	常染色质	异染色质（heterochromatin）
压缩程度	低，染色浅	高，染色深
转录	有活性的基因都在这里（但不是这里的基因都在转录）	没有或很少
复制	S 期早复制	晚复制
类型	—	**组成型**（着丝粒、端粒附近，高度重复序列，始终凝集，constitutive heterochromatin）；**兼性**（在某些细胞或某个时期才凝集，如失活的 X 染色体形成的巴氏小体，facultative heterochromatin）

- 一条染色体要稳定地传下去，必须有三种**关键序列**：**自主复制 DNA 序列**（复制起点，autonomously replicating sequence (ARS)）、**着丝粒 DNA 序列**（centromere DNA sequence (CEN)）、**端粒 DNA 序列**（telomere DNA sequence (TEL)）。
- 中期染色体的形态：着丝粒所在的主缢痕（外侧是与纺锤体微管相连的**动粒**（kinetochore））、次缢痕（**核仁组织区**（nucleolar organizing region）所在，上面是 rRNA 基因）、随体、端粒。**核型**（karyotype）：染色体组在有丝分裂中期的表型，是染色体数目、大小、形态特征的总和。对染色体测量后分组、排队、配对并作形态分析叫核型分析；按特征排列成的图叫核型模式图。
- 两种巨大染色体：**多线染色体**（果蝇唾腺，DNA 多次复制而不分开；胀泡是正在转录的地方，polytene chromosome）和**灯刷染色体**（卵母细胞减数分裂双线期，侧环上 RNA 合成活跃，lampbrush chromosome）。多线染色体上的一条带并不恰好代表一个基因。

易错 原核细胞的 DNA 不与组蛋白结合成染色体。

近五年考了 5 卷 生24 细22 细23 细25 细26　**真题 23 道** 生化 07 12 24 · 细胞 07 09 10 11 12 15 16 17 18 19 22 23 25 26

80 装 DNA 的房间是细胞核：两层膜把复制和转录关在里面，核孔管进出，核纤层从里面撑住核膜

- **核被膜**（nuclear envelope）：内外两层膜。外核膜与粗面内质网相连，表面附着核糖体；内核膜内侧贴着核纤层。它最特殊的作用是把遗传物质集中在细胞内一个特定的区域，使转录和翻译在空间和时间上分开，RNA 可以先加工再出核。
- **核孔复合体**（nuclear pore complex (NPC)）：嵌在内外核膜融合处的大型蛋白质复合体，呈八重对称；结构包括胞质环、核质环（向核内伸出核篮）、辐和中央栓。它是核质之间的双向通道：小分子自由扩散；大分子靠信号和受体主动运输，耗能（**109 核孔运输**）。
- **核纤层**（nuclear lamina）：贴在内核膜内侧的一层纤维网，由**核纤层蛋白**（属于中间丝，lamin）组成。功能：支撑核膜，维持核的形状和大小；给染色质提供锚定位点；分裂时它被**磷酸化**（phosphorylation）而解聚，核膜崩解，末期去磷酸化又重新装配。
- **核仁**（nucleolus）：没有膜包着，是合成 rRNA、加工 rRNA、装配核糖体亚基的地方（**93 rRNA与核糖体**）。
- 核基质（核骨架）：除去核膜、染色质和核仁后剩下的蛋白质纤维网，为复制、转录提供支架。
- 核仁周期：分裂前期，rRNA 基因停止转录，核仁解体、消失；末期在核仁组织区周围重新出现，到间期恢复。核仁的维持和重建都需要 rRNA 基因有转录活性——用抗体抑制 RNA 聚合酶 Ⅰ，核仁很快解体（课本）。

外校热点 名解“核仁周期”（2025 东北林业大学）；核仁的超微结构，为什么代谢旺盛的细胞核仁大（2025 山东大学，见思路题）。〔660〕

真题 5 道 细胞 09 17 18 25

81 细胞分裂前要把图纸抄一份。两条链分开各作模板，所以是半保留的；聚合酶只会朝 5′→3′ 一个方向加，所以一条链连续抄，另一条只能一段一段抄 ●

- **半保留复制**（semiconservative replication）：子代 DNA 的两条链里，一条是亲代的旧链，一条是新合成的。证明：Meselson 和 Stahl（1958）先用 ^{15}N 把大肠杆菌的 DNA 标成“重”的，再转到 ^{14}N 里培养；氯化铯密度梯度离心，第一代全是中间密度，第二代中间和轻的各一半。
- DNA 聚合酶的三条规矩：要**模板**（template）；要**引物**（primer），只能在已有的 **3′-OH** 上接着加，自己不能起头；只能 **5′ → 3′** 合成，底物是四种 dNTP，每加一个放出一个焦磷酸。
- 模板是反向读的：模板 5′-TAGA-3′，合成出 5′-TCTA-3′。给一条模板 5′-ACCACGTAACGGA-3′ 和引物 5′-GTTAC-3′，引物贴在模板的 GTAAC 上，往模板的 5′ 端延伸，新加上去的是 G、T、G、G、T，即 3G：2T。
- **半不连续复制**（semidiscontinuous replication）：复制叉往前开，两条模板链方向相反。
  - **前导链**（leading strand）：合成方向与复制叉移动的方向**相同**，**连续**合成。
  - **后随链**（lagging strand）：方向相反，只能等模板露出一段、倒着合成一段，这些不连续的短片段叫**冈崎片段**（细菌 1000～2000 个核苷酸，真核 100～200 个，Okazaki fragment），每一段都要先有一小段 **RNA 引物**（RNA primer），最后去掉引物、补上 DNA、由连接酶连起来。
- 复制从固定的**复制起点**（origin of replication）开始，多数**双向**（bidirectional）进行。一个起点所管的一段 DNA 叫一个**复制子**（replicon）：细菌的染色体是一个复制子，真核的每条染色体有许多个。

真题 23 道 生化 07 08 10 11 12 13 14 15 16 17 18 24

82 复制叉上是一条流水线：解开、护住、松弛、起头、延伸、换掉引物、封口，各有专门的酶 ●

顺序	蛋白质（大肠杆菌）	干什么
1	DnaA	认出复制起点 oriC，把双链撑开一小段
2	**解旋酶**（DnaB，helicase）	耗 ATP 把双链解开
3	**单链结合蛋白（SSB）**（single-strand binding protein）	护住单链，不让它重新配对或被降解
4	拓扑异构酶 II （旋转酶）	消除解链时前方积累的正超螺旋
5	**引发酶**（DnaG，primase）	合成 RNA 引物
6	**DNA 聚合酶III**（DNA polymerase III）	主要的复制酶，延伸前导链和冈崎片段；自带 3′→5′ 外切校对
7	**DNA 聚合酶 I**（DNA polymerase I）	用 5′→3′ 外切活性切掉 RNA 引物，同时补上 DNA
8	**DNA 连接酶**（DNA ligase）	把相邻片段之间的切口封上（大肠杆菌的用 NAD^+ 供能）

- 所以作用的顺序是：解链蛋白 → 引发酶（一种依赖 DNA 的 RNA 聚合酶）→ DNA 聚合酶III → DNA 聚合酶 I → 连接酶。**DNA 聚合酶 I 或连接酶缺了，冈崎片段就连不起来而堆积。**

大肠杆菌的 DNA 聚合酶	外切活性	主要任务
I	3′→5′ 和 **5′→3′** 都有	**切除引物并填补缺口、DNA 修复**，不是主要的复制酶
II	3′→5′	修复
III	3′→5′	**复制**

- 聚合酶缺失的后果：III 缺失细胞不能复制、活不成； I 缺失还能复制，但冈崎片段堆积、修复能力差、对紫外线敏感（当年正是这样的突变株说明 I 不是真正的复制酶）。
- 真核的不同：起点多，每个起点每个周期只许用一次；**聚合酶 α**（DNA polymerase α） 带引发酶，负责起头；**δ** 和 **ε** 负责延伸并有 3′→5′ 校对，δ 是核 DNA 复制的关键酶——朱圣庚：两个 δ 分别合成前导链和后随链，引物切除后的空缺由 ε 填补；Lehninger：ε 合成前导链、δ 合成后随链（答题按课本）；γ 复制线粒体 DNA；PCNA 是套在 DNA 上的滑动夹子；冈崎片段短，组蛋白要同步合成。
- 既抑制复制又抑制转录的是**放线菌素 D**（actinomycin D）：它插在 DNA 的碱基对之间，模板用不了。
- 逆转录不需要 DNA 连接酶；复制、切除修复、体外重组都需要。

易错 真核的 DNA 聚合酶并非都没有外切酶活性。

真题 18 道 生化 07 10 11 13 14 15 16 17 18 22

83 线状染色体每抄一次，末端就短一截；补这个缺的是端粒酶——一个自己带着 RNA 模板的逆转录酶

- 问题出在后随链：最末端那个 RNA 引物切掉以后，没有 3′-OH 可以接着补，新链就比模板短一段。
- **端粒**（telomere）：真核线状染色体末端由简单重复序列（人是 TTAGGG）和蛋白质组成的结构。功能：保护染色体末端不被降解、不互相融合；给末端复制留出余量。
- **端粒酶**（telomerase）：由 RNA 和蛋白质组成的核糖核蛋白，是一种逆转录酶；它以**自身的 RNA** 为模板，在染色体 3′ 端一段段接上端粒重复序列，对面的链再照常规办法补上。
- 与衰老和癌：多数体细胞端粒酶活性很低，每分裂一次端粒短一点，短到一定程度细胞就停止分裂、衰老，相当于一只计数的钟；生殖细胞、干细胞有端粒酶；**绝大多数癌细胞重新激活了端粒酶**，所以能无限增殖。
- 端粒酶活性由低到高大致是：衰老细胞、正常体细胞 → 干细胞 → 晚期癌细胞。一种与端粒酶 RNA 互补的小核酸能占住模板，使端粒酶接不上新的重复序列，可用来抑制肿瘤。
- 体细胞核移植得到的克隆动物早衰，一个可能的原因是供体细胞的端粒已经磨短了。

易错 端粒酶的模板是它自己的 RNA，不是端粒 DNA。

近五年考了 2 卷 生22 细26　**真题 14 道** 生化 07 09 10 15 16 17 21 22 · 细胞 10 16 17 21 26

抄错了、弄坏了怎么办

84 十亿个碱基才错一个，靠三道关：聚合酶先挑对的，加错了当场退回去重加，漏网的再由错配修复按新旧链来改

- 三道关：
  - ① **碱基选择**（base selection）：聚合酶的活性部位只容得下正确配对的形状。
  - ② **校对**（proofreading）：聚合酶自带的 **3′→5′ 外切酶**（3′→5′ exonuclease）活性把刚加错的核苷酸切掉重来。
  - ③ **错配修复**（mismatch repair）：复制之后检查。大肠杆菌里旧链的 GATC 上有甲基、新链暂时没有，修复系统据此认出新链，把含错的一段切掉重合成。
- 用 RNA 引物也有道理：起头的几个核苷酸最容易错，用 RNA 做以后整段切掉换成 DNA。
- 三者相乘，总错误率 10^{-9}～10^{-10}。

过程	靠什么保证不出错	错误率
复制	碱基选择、3′→5′ 校对、错配修复	极低；错了会遗传下去，所以把关最严
转录	主要靠碱基配对；RNA 聚合酶没有 3′→5′ 外切校对（有限的回退切除）	较高；一个基因转录很多份，错一份影响小
翻译	氨酰-tRNA 合成酶两次识别并校对；密码子与反密码子配对，核糖体借 GTP 水解再核一次	约万分之一

- **Taq DNA 聚合酶**（Taq DNA polymerase）没有 3′→5′ 校对功能，所以 PCR 产物的错误率比较高。

真题 9 道 生化 08 09 10 13 14 15 16 17 25

85 DNA 平时也会被紫外线、化学物质弄坏；因为有两条互补的链，坏了一条可以照另一条修，办法有五种

修法	修什么	怎么修
错配修复（mismatch repair）	复制留下的错配	认出新链，切掉一段重新合成
直接修复（direct repair）	嘧啶二聚体；烷基化的碱基	**光复活酶**（photolyase）借可见光把二聚体直接打开；甲基转移酶把甲基搬到自己身上
切除修复（excision repair）	碱基损伤、嘧啶二聚体等	切掉坏的 → 聚合酶照互补链补上 → 连接酶封口。分**碱基切除修复**（糖苷酶先切掉坏碱基，base excision repair (BER)）和**核苷酸切除修复**（切掉含损伤的一小段寡核苷酸，nucleotide excision repair (NER)）
重组修复（recombination repair）	复制时损伤处留下的缺口、双链断裂	从另一条完好的同源 DNA 上借一段来补；损伤本身并没去掉，留待以后修
易错修复（SOS）（error-prone repair）	损伤太多、来不及正常修	启用不挑模板的聚合酶硬越过损伤，保命但带来突变

- **紫外线**（ultraviolet）使同一条链上相邻的两个嘧啶（主要是 T-T）连成**嘧啶二聚体**（pyrimidine dimer），挡住复制和转录。除了高等哺乳动物以外，生物普遍能用光复活直接修；人只能靠核苷酸切除修复，这套系统有先天缺陷就是**着色性干皮病**（xeroderma pigmentosum），病人不能晒太阳，极易得皮肤癌。

- **SOS 反应**（SOS response）：细菌 DNA 严重受损、复制受阻时的应急反应。RecA 被单链 DNA 激活，促使阻遏蛋白 LexA 自己切断，几十个原来被它压着的修复基因一起表达。
- 双链断裂的两种修法：非同源末端连接（直接把两头接上，会丢几个碱基）和同源重组（准确）。
- 修复系统是防癌的第一道防线：修复基因有缺陷的人容易得癌。

真题 5 道 生化 09 14 15 16 17

86 没修好而留下来的改变就是突变：换一个碱基可能毫无影响，也可能毁掉一个蛋白质；它是疾病和癌的来源，也是进化的原料

- **基因突变**（gene mutation）：DNA 的碱基序列发生可遗传的改变。

类型	改变	对蛋白质的影响
碱基替换（点突变，base substitution**）**	**转换**（嘌呤换嘌呤、嘧啶换嘧啶，transition）；**颠换**（嘌呤与嘧啶互换，transversion）	**同义突变**（synonymous (silent) mutation）：密码子变了、氨基酸没变，无影响；**错义突变**（missense mutation）：换了一个氨基酸，后果看换在哪、换成什么；**无义突变**（nonsense mutation）：变成终止密码子，肽链提前终止，多半失去功能
移码突变（frameshift mutation）	插入或缺失的碱基数不是 3 的倍数	之后的读码框全部错位，后果严重
整码的插入、缺失	是 3 的倍数	多或少几个氨基酸

- 突变了却没有表现出异常，可能的原因：是同义突变（密码子有简并性）；换成了性质相近的氨基酸，或换在不要紧的位置；发生在内含子或基因之间；二倍体里是隐性的，另一个等位基因正常；有别的基因或途径可以顶替。
- 诱变剂：碱基类似物（5-溴尿嘧啶）、烷化剂、亚硝酸（使碱基脱氨）、嵌入染料（溴化乙锭、吖啶类，引起移码）、紫外线、电离辐射。
- 意义：是遗传病和癌的分子基础——原癌基因被激活、抑癌基因失活的突变一步步积累，细胞就癌变（**150 癌基因与抑癌基因**）；也是生物进化和育种的原料（诱变育种）。

近五年考了 2 卷 生24 生25 **真题 3 道** 生化 14 24 25

87 两个 DNA 分子之间还能交换片段，这就是重组：减数分裂靠它重新洗牌，双链断了靠它修

- **同源重组**（homologous recombination）：发生在两段序列相同或相近的 DNA 之间的交换。大致过程：一个分子出现双链断口 → 断口被削出 3′ 单链尾巴 → 单链在 **RecA**（真核是 Rad51）的帮助下找到另一个分子上的同源序列并**侵入**，与互补链配对 → 两个分子交叉相连，形成 **Holliday 连接体**（Holliday junction） → 交叉点移动（分支迁移）→ 切开、连接，得到重组或不重组的产物。
- RecA 的作用：促进 DNA 分子的同源联会和链交换。
- 意义：减数分裂时同源染色体之间交换，产生新的基因组合；修复双链断裂和停下来的复制叉；基因打靶（敲除）利用的也是它。
- 另两类重组：**位点特异性重组**（site-specific recombination）（发生在特定的短序列之间，由专一的重组酶催化，如 λ 噬菌体整合进细菌染色体、抗体基因的重排）和**转座**（转座子从一处跳到另一处，不需要同源序列，transposition）。

真题 3 道 生化 07 21 23

> 图纸能存、能抄、能修了。可它只是一串碱基，怎样变成一个有顺序的蛋白质？

表达

DNA 先抄成 RNA（转录），真核的 RNA 还要戴帽、加尾、剪掉内含子才能出核；再由 tRNA 按三个碱基对一个氨基酸的密码，在核糖体上把 RNA 译成肽链；肽链还要修整才成为能干活的蛋白质

第一步：把图纸抄成 RNA

88 图纸不直接拿去用，而是先抄一份 RNA 副本。抄法和复制同理，但只抄一条链上的一段，而且不用引物

- **转录**（transcription）：以 DNA 的一条链为模板，在 RNA 聚合酶催化下，按碱基互补配对原则沿 5′→3′ 方向合成 RNA 的过程，产物有 mRNA、rRNA、tRNA 和各种非编码 RNA；它是基因表达的第一步。
- **中心法则**（central dogma）：遗传信息从 DNA 传到 DNA（复制），从 DNA 传到 RNA（**转录**），再从 RNA 传到蛋白质（**翻译**（translation））；后来补充了 RNA 到 DNA（**逆转录**（reverse transcription））和 RNA 到 RNA（RNA 复制）。信息不能从蛋白质倒流回核酸。

	复制	转录
模板	两条链全部	一个基因只用一条链，只抄一段（**不对称转录**（asymmetric transcription））
酶	DNA 聚合酶	RNA 聚合酶
原料	dNTP	NTP
引物	需要	**不需要**
配对	A-T、G-C	A-U、T-A、G-C
产物	与模板一样长的双链 DNA	单链 RNA，合成完就离开模板
校对	有 3′→5′ 外切校对	基本没有，错误率高得多
共同点	都以 DNA 为模板，按碱基配对，5′ → 3′ 合成，形成 3′,5′-磷酸二酯键	同左

- 两条链的名字：被转录的那条叫**模板链**（反义链、负链，template strand）；不被转录的叫**编码链**（有义链、正链，coding strand），它的序列和 RNA 一样（只是 T 换成 U）。哪条链作模板因基因而异，所以 DNA 的两条链在体内都可能被转录。
- RNA 聚合酶是在链的 **3′ 端**加核苷酸，底物是核苷三磷酸。
- 一个**转录单位**（transcription unit）包括**启动子**（promoter）、被转录的序列和**终止子**（terminator）。**启动子**是 RNA 聚合酶识别、结合并开始转录的一段 DNA 序列；**终止子**是给出转录终止信号的序列。

近五年考了 2 卷 生23 生26　**真题 15 道** 生化 13 14 15 16 17 18 20 23 26

89 从哪里开始抄，看启动子；细菌的 RNA 聚合酶靠 σ 因子认启动子，认到了才开抄，抄到终止子停下

- 大肠杆菌只有一种 RNA 聚合酶：**核心酶 $\alpha_2\beta\beta'\omega$**（core enzyme） 负责合成；加上 **σ 因子**（σ factor）才是**全酶**（holoenzyme）。σ 因子负责识别启动子，所以全酶能直接认出启动子；起始以后 σ 脱落，核心酶继续延伸。
- 细菌启动子的两个保守区：**−35 区**（TTGACA，σ 的识别位点，−35 region）和 **−10 区**（TATAAT，Pribnow 盒，富含 A-T，容易解链，−10 region (Pribnow box)）。越接近这两个共有序列，启动子越强。
- 过程：全酶结合启动子（闭合复合物）→ 解开约十几个碱基对（开放复合物）→ 合成最初几个核苷酸 → σ 脱落、离开启动子 → 延伸 → 终止。

终止方式	靠什么
不依赖 ρ 因子	终止子转录出一段富含 G-C 的**发夹**（hairpin），后面跟着**一串 U**；发夹使聚合酶停顿，U 与模板的 A 配对弱，RNA 脱落
依赖 ρ 因子（ρ factor）	ρ 是耗 ATP 的解旋酶，沿 RNA 追上停顿的聚合酶，把 RNA 从模板上解下来

- 细菌没有核膜，转录还没完，核糖体就已经上去翻译了。

抑制剂	作用
利福平（rifampicin）	结合细菌 RNA 聚合酶的 β 亚基，抑制转录起始；抗结核
放线菌素 D	插入 DNA，复制和转录都抑制
α-鹅膏蕈碱（α-amanitin）	抑制真核 RNA 聚合酶 II

真题 4 道 生化 08 13 14 16

90 真核细胞有三种 RNA 聚合酶，自己都不认启动子，要一批转录因子先在启动子上搭好台子，再把聚合酶请上去

聚合酶	位置	转录什么	对 α-鹅膏蕈碱
I	核仁	45S rRNA 前体（加工成 18S、5.8S、28S）	不敏感
II	核质	**mRNA 前体（hnRNA）**（heterogeneous nuclear RNA）、多数 snRNA	**最敏感**
III	核质	**tRNA、5S rRNA**、U6 snRNA	中等敏感

- **hnRNA**（核内不均一 RNA，heterogeneous nuclear RNA）是真核 mRNA 的前体。
- 聚合酶 II 的启动子常有 **TATA 盒**（−25 附近，TATA box）。**通用转录因子**（TF II D 先结合 TATA 盒，随后其他因子和聚合酶 II 依次就位，general transcription factor）组装成前起始复合物；TF II H 解开双链，并把聚合酶尾巴（CTD）磷酸化，聚合酶才离开启动子开始延伸。
- **顺式作用元件**（cis-acting element (cis element)）：与被调控的基因在同一条 DNA 上、本身不编码蛋白质的调控序列，包括启动子、**增强子**（提高转录效率，可以离得很远、放在上游下游都行、正反方向都起作用，enhancer）、**沉默子**（降低转录，

silencer）。

- **转录因子**（transcription factor）：RNA 聚合酶在特异启动子上起始转录所需要的蛋白质因子，通过影响转录起始来调节转录效率；分通用转录因子（如 TF II D）和特异的调节因子，多数含 DNA 结合结构域和转录激活结构域。它们由别处的基因编码、结合顺式作用元件起作用，所以又叫**反式作用因子**（trans-acting factor）。
- 所以“转录从哪里开始”由启动子和认它的蛋白质（σ 因子或通用转录因子）决定；“转录多少”由启动子的强弱、增强子和沉默子、激活蛋白和阻遏蛋白、染色质的松紧决定（**116 真核基因的激活**）。

真题 14 道 生化 09 10 13 15 16 17 21 22

91 真核的 mRNA 前体要在核里加工三样才能用：5′ 端戴帽，3′ 端加尾，中间把内含子剪掉、外显子接起来 ●

- **5′ 帽子**（5′ cap）：一个 7-甲基鸟苷（m^7G）以 5′-5′ 三磷酸键倒扣在第一个核苷酸上。作用：保护 mRNA 不被 5′ 外切酶降解；翻译起始时被帽结合蛋白识别；帮助出核和剪接。因为 m^7G 是倒着接的，真核 mRNA 的两端都露出 3′-羟基。
- **3′ poly(A) 尾**（3′ poly(A) tail）：前体在加尾信号 AAUAAA 的下游被切开，由 poly(A) 聚合酶不用模板加上 20～200 个 A（朱圣庚）。作用：增加稳定性，帮助出核和翻译。
- **剪接**（splicing）：真核编码蛋白质的基因多是**断裂基因**（split gene）。**内含子**（intron）是基因中被转录、但在加工时被切除的序列；**外显子**（exon）是保留在成熟 RNA 里的序列。
  - 内含子两端是 **GU……AG**，中间有一个分支点 A。
  - 两次转酯反应：分支点 A 的 2′-OH 攻击 5′ 剪接点，内含子弯成**套索**（lariat）；上游外显子的 3′-OH 再攻击 3′ 剪接点，两个外显子接上，套索被丢弃。
  - 干这件事的是**剪接体**（spliceosome）：由 U1、U2、U4、U5、U6 五种 **snRNA**（small nuclear RNA）各与蛋白质组成的小核核糖核蛋白（snRNP）在前体上组装成的大复合体。U1 认 5′ 剪接点，U2 认分支点，靠的还是 RNA 与 RNA 之间的碱基配对。

	原核 mRNA	真核 mRNA
帽和尾	无帽，一般无 poly(A)	有 5′ 帽、3′ poly(A)
顺反子	**多顺反子**（polycistron）：一条 mRNA 编码几条肽链	**单顺反子**（monocistron）
内含子	无，不用剪接	前体有，要剪接
转录与翻译	同时进行	先在核里加工，出核后才翻译
寿命	短，几分钟	长
起始信号	SD 序列	帽子

- 内含子共四类：Ⅰ类、Ⅱ类能**自我剪接**（self-splicing），不用蛋白质，RNA 自己就是酶（**核酶**（ribozyme），Cech 发现）；mRNA 前体的内含子靠剪接体；tRNA 前体的内含子由蛋白质酶切开再连上。

易错 poly(A) 在 3′ 端，不在 5′ 端。

真题 16 道 生化 08 09 10 11 12 15 16 17 19

92 加工不只是修边：同一个前体换一种剪法、改几个碱基，就得到不同的蛋白质——一个基因可以有多种产物 ●

- **选择性剪接**（可变剪接，alternative splicing）：同一个 mRNA 前体用不同的剪接位点组合，接出不同的成熟 mRNA，译出不同的蛋白质。意义：用有限的基因造出多得多的蛋白质种类；不同组织、不同发育阶段用不同的剪法，是一层基因表达的调节。
- **RNA 编辑**（RNA editing）：转录以后，在 RNA 的编码区里**插入、删除或替换**核苷酸，使 RNA 的序列与基因模板不一样。
  - 例：载脂蛋白 B 的 mRNA 在小肠里有一个 C 被脱氨成 U，原来的谷氨酰胺密码子成了终止密码子，于是肝里是全长的 B-100，小肠里是只有一半长的 B-48。
  - 锥虫线粒体的 mRNA 靠 **gRNA（指导 RNA）**（guide RNA）作模板成批地插入或删去 U。
  - 意义：一个基因得到多种蛋白质，扩充了遗传信息；能造出或消去起始、终止密码子，校正读码框，使原本读不通的转录物变得有意义；是基因表达调节的一种方式；也是对中心法则的补充。
- 一个基因产生不同产物的全部可能办法：
  - 转录时：用不同的启动子（转录起点不同）。
  - 加工时：选择性剪接；选用不同的 poly(A) 位点；RNA 编辑。
  - 翻译时：用不同的起始密码子；程序性移码、通读终止密码子、跳跃翻译。
  - **跳跃翻译**（translational hopping）：翻译时核糖体在特定的起飞位点跳过 mRNA 上一段连续的核苷酸（可达约 50 个），在下游匹配的着陆位点重新配对，进入正确的读码框继续合成同一条肽链（如 T4 噬菌体基因 60）；由 mRNA 的特殊序列或二

级结构（假结、颈环）引起，多见于病毒和噬菌体。它和程序性移码同属 RNA 的再编码，让一条 mRNA 产生不同的蛋白质。
  - 翻译后：一条多肽前体切成不同的成品；加上不同的修饰。
  - DNA 水平：基因重排（抗体基因）。
- 一道推理题：某 RNA 病毒同一个基因区出一长一短两种 mRNA，两条多肽 N 端相同、C 端不同，较长的多肽反倒由较短的 mRNA 编码。解释：长 mRNA 里留着一段没剪掉的内含子，其中有终止密码子，翻译提前停下，得到短肽；短 mRNA 是剪掉内含子的，读码框一直通到下游，得到长肽。
- 所以拿到一个开放阅读框，并不能保证准确推出最终的蛋白质序列；由蛋白质序列更推不回确切的核苷酸序列。同理，一条成熟的 mRNA 也可能译出几种多肽（细菌的多顺反子 mRNA；移码和通读）。

近五年考了 3 卷 生22 生23 生25　**真题 23 道** 生化 07 09 10 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 25

93 不是所有的 RNA 都拿去翻译：rRNA 和 tRNA 自己就是成品，是翻译的机器和搬运工；RNA 能干的事远不止传话 ●

- 细胞里的三种主要 RNA：**rRNA 含量最多**（约 80%），**mRNA 种类最多**（含量只占百分之几），**tRNA 稀有碱基最多**、分子最小。
- rRNA 的来历：rRNA 基因成串地排在几条染色体的**核仁组织区**（NOR，nucleolar organizing region）上，核仁就围绕它形成。RNA 聚合酶 I 转录出一条 45S 的大前体，在核仁里经甲基化、切割成 18S、5.8S、28S；5S rRNA 由聚合酶III在核仁外转录后运进来。它们与从胞质运进核的核糖体蛋白在**核仁里装配成大、小亚基**，分别经核孔出核，到了胞质才合成完整的核糖体。
- tRNA 前体：切掉 5′ 端多余的一段（RNase P，它的 RNA 部分是核酶）和 3′ 端多余的一段，**3′ 端加上 CCA**，剪掉内含子，修饰碱基。

核糖体	小亚基	大亚基
原核 70S	30S（16S rRNA）	50S（23S、5S rRNA）
真核 80S	**40S**（18S rRNA）	**60S**（28S、5.8S、5S rRNA）

- 核糖体是 rRNA 和蛋白质组成的颗粒，没有膜，属于非膜相结构。催化肽键形成的**肽酰转移酶**（peptidyl transferase）活性在大亚基的 rRNA 上，蛋白质只起支撑作用，所以核糖体本身是一个核酶。核糖体的“亚基”是由 RNA 和几十种蛋白质组成的颗粒，与酶复合体里指一条肽链的“亚基”不是一个意思。
- **RNA 功能的多样性**：
  - 传递遗传信息（mRNA）；做某些病毒的遗传物质。
  - 参与蛋白质合成（rRNA、tRNA）。
  - 催化（核酶：自我剪接的内含子、RNase P、核糖体的肽酰转移酶）。
  - 参与 RNA 的加工（snRNA 管剪接，snoRNA 管 rRNA 修饰，gRNA 管编辑）。
  - 调节基因表达（miRNA、siRNA、长链非编码 RNA、核糖开关，见**118 RNA干扰**）。
  - 做引物和模板（复制的 RNA 引物、端粒酶的 RNA、逆转录时的 tRNA 引物）；7SL RNA 是信号识别颗粒的成分。

易错 真核 rRNA 是在核仁里与核糖体蛋白装配成亚基的，不是运到细胞质再装配。tRNA 不只在蛋白质合成中起作用。

真题 22 道 生化 07 09 11 12 13 14 15 16 17 18 · 细胞 09 11 17

94 RNA 也能反过来当模板造 DNA：逆转录病毒就是这样把自己写进宿主的染色体，实验室借这个酶把 mRNA 抄成 cDNA ●

- **逆转录**（reverse transcription）：以 RNA 为模板合成 DNA。**逆转录酶**（reverse transcriptase）有三种活性：依赖 RNA 的 DNA 聚合酶（照 RNA 合成 DNA）、RNase H（降解杂交链里的 RNA）、依赖 DNA 的 DNA 聚合酶（合成第二条 DNA 链）。它也需要引物，用的是宿主的一种 tRNA；没有校对功能，错误率高，所以病毒变异快。
- 逆转录病毒（如艾滋病病毒）的生活史：RNA 基因组 → 逆转录成双链 DNA（两端带**长末端重复 LTR**（long terminal repeat））→ **整合**（integration）进宿主染色体成为原病毒 → 随宿主转录出病毒 RNA。不整合就完成不了生活周期。
- 另一类 RNA 病毒不经过 DNA，由 **RNA 复制酶**（依赖 RNA 的 RNA 聚合酶，RNA replicase）直接照 RNA 复制 RNA。
- **cDNA**（complementary DNA）：在体外用逆转录酶以 mRNA 为模板合成的互补 DNA；它没有内含子，可以直接放进细菌里表达。
- 意义：补充了中心法则；解释了 RNA 病毒致癌；逆转录酶是基因工程的工具；端粒酶也是一种逆转录酶（**83 端粒**）。

真题 8 道 生化 07 08 10 14 15 17

95 四种碱基要对应二十种氨基酸，只能三个碱基一组：64 个密码子里 61 个编码氨基酸、3 个叫停 ●

- **遗传密码**（genetic code）：核苷酸序列与氨基酸序列之间的对应关系（朱圣庚）；它以 mRNA 上三个相邻的核苷酸为一组来编码。
- **密码子**（codon）：mRNA 上相邻的三个核苷酸，决定一个氨基酸（或终止）。

特点	含义
方向性	从 mRNA 的 5′ 端读向 3′ 端
连续性	从起始密码子开始，三个一组挨着读，不重叠、无间隔；所以插入或缺失一个碱基就移码
简并性（degeneracy (degenerate codon)）	一种氨基酸有几个密码子（只有 Met、Trp 各一个）；编码同一氨基酸的几个密码子叫简并密码子（同义密码子），多数只差第三位
摆动性（wobble）	密码子第三位与反密码子第一位的配对不严格（反密码子第一位的 I 能配 U、C、A），所以一种 tRNA 能读几个密码子
通用性	从细菌到人基本通用；线粒体有少数例外

- **起始密码子 AUG**（同时编码甲硫氨酸，start codon）；**终止密码子 UAA、UAG、UGA**（stop codon），没有对应的 tRNA。
- 简并性的好处：第三位碱基突变常常不改变氨基酸，减轻突变的危害。
- 反密码子与密码子反向配对：反密码子 5′-CUA-3′ 认的密码子是 5′-UAG-3′。

真题 7 道 生化 08 13 16 17 26

96 密码子和氨基酸之间并没有化学上的亲缘，中间靠 tRNA 当转接头：一头用反密码子认密码子，一头挂着对应的氨基酸 ●

- **tRNA**（transfer RNA）的结构：二级结构是**三叶草形**（cloverleaf）——**氨基酸臂**（3′ 端是 **CCA**，氨基酸就接在末端的 A 上，amino acid arm）、二氢尿嘧啶环（D 环）、**反密码环**（中间三个碱基是**反密码子**（anticodon），识别 mRNA 上的密码子，anticodon loop）、额外环、TψC 环；三级结构是**倒 L 形**。含稀有碱基最多。
- 氨基酸以**酯键**（ester bond）连在 tRNA 3′ 端腺苷的羟基上。催化的酶是**氨酰-tRNA 合成酶**（aminoacyl-tRNA synthetase），分两步：氨基酸 + ATP → 氨酰-AMP；氨酰基再转到 tRNA 上。每活化一个氨基酸花 **2 个高能键**（ATP → AMP）。
- 翻译的准确性第一关在这里：每种氨基酸有一种专门的合成酶，它同时认氨基酸和对应的 tRNA，接错了还能水解掉重来。核糖体只核对密码子与反密码子，并不检查 tRNA 上挂的是什么氨基酸。
- 证明：把已经接好的 Cys-tRNA^Cys 用化学方法把半胱氨酸变成丙氨酸，成了 Ala-tRNA^Cys，拿去做体外翻译，丙氨酸出现在本该是半胱氨酸的位置上。说明认密码子的是 tRNA，不是氨基酸。
- 合成蛋白质的氨基酸只有 20 种，tRNA 却不止 20 种：一种氨基酸可以有几种 tRNA（同工 tRNA）。
- tRNA 的作用：把氨基酸带到 mRNA 的特定位置上。

近五年考了 2 卷 生24 生25　**真题 11 道** 生化 08 09 10 13 15 21 24 25

97 翻译在核糖体上分三段：起始时把第一个 tRNA 和起始密码子对准，延伸时进位、成肽、移位一圈接一个氨基酸，遇到终止密码子放手 ●

- 方向：mRNA 从 **5′ 读到 3′**，肽链从 **N 端长到 C 端**。核糖体上有三个位点：**A 位**（氨酰-tRNA 进来的位置，A site）、**P 位**（肽酰-tRNA 所在的位置，P site）、E 位（空载 tRNA 离开的位置）。

	原核	真核
起始 tRNA	fMet-tRNA（甲酰甲硫氨酸）	Met-tRNA（不甲酰化）
怎样找到起始密码子	mRNA 起始密码子上游的 **SD 序列**（Shine-Dalgarno sequence）与小亚基 **16S rRNA** 的 3′ 端互补配对	小亚基认 **5′ 帽子**（5′ cap），沿 mRNA 往下扫描，一般用第一个 AUG
起始因子	IF1、IF2、IF3	eIF 多种
核糖体	70S	80S
与转录的关系	边转录边翻译	分开

- **起始**（initiation）：小亚基、mRNA、起始 tRNA 和起始因子先组成复合物，起始 tRNA 直接进 **P 位**，再合上大亚基，成为**翻译起始复合物**（translation initiation complex）；耗 GTP。
- **延伸**（elongation）一圈三步：

- ① **进位**（entry）：EF-Tu・GTP 护送氨酰-tRNA 进 A 位；密码子与反密码子配对正确，GTP 才水解、EF-Tu 才松手——这是又一次核对。松手后的 EF-Tu・GDP 由 **EF-Ts** 换上新的 GTP，再去接下一个氨酰-tRNA。
- ② **成肽**（peptide bond formation）：P 位上的肽链转到 A 位氨酰-tRNA 的氨基上，由大亚基 rRNA 的肽酰转移酶催化，不另耗能。
- ③ **移位**（translocation）：EF-G・GTP 推动核糖体沿 mRNA 往 3′ 方向挪一个密码子，肽酰-tRNA 到了 P 位，A 位空出来。

- **终止**（termination）：终止密码子进了 A 位，没有 tRNA 认它，**释放因子**（release factor）进来，把肽链从 tRNA 上水解下来，核糖体解体。
- 能量：每加一个氨基酸至少花 **4 个高能键**（活化 2 个、进位 1 个、移位 1 个）。
- **多核糖体**（polyribosome (polysome)）：一条 mRNA 上同时结合着许多核糖体，各自译出一条肽链，提高了 mRNA 的利用率。

抑制剂	作用	对谁
嘌呤霉素（puromycin）	氨酰-tRNA 的结构类似物，进 A 位接上肽链后使肽链提前脱落	原核、真核都抑制
链霉素	结合 30S，引起误读	原核
四环素	阻止氨酰-tRNA 进 A 位	原核
氯霉素	抑制 50S 的肽酰转移酶	原核（线粒体也受影响）
红霉素	抑制移位	原核
放线菌酮	抑制 80S 的肽酰转移酶	真核
白喉毒素	使真核延伸因子 eEF2 被 ADP-核糖基化而失活	真核
蓖麻毒素	切掉 28S rRNA 上一个关键的腺嘌呤，核糖体失活	真核

- 从基因到肽链的全过程：转录 → 加工、出核 → 氨基酸活化 → 起始 → 延伸 → 终止 → 折叠和加工。
- 手里只有一个真核 mRNA，要让它译出蛋白质：放进无细胞翻译体系（兔网织红细胞裂解液或麦胚抽提物，补足氨基酸、ATP、GTP）；或者注射进爪蟾卵母细胞；或者逆转录成 cDNA，接到表达载体上放进细胞里表达。

易错 体内合成蛋白质是 N 端到 C 端；化学合成（固相法）是从 C 端到 N 端。

真题 17 道 生化 07 08 10 11 12 13 14 15 16 17 18 23

98 刚下核糖体的肽链还不是成品：要折叠，还常要切掉一段、加上基团、连上二硫键，才成为有功能的蛋白质 ○

- 多肽链自己的氨基酸序列里就带着折叠、加工、分拣和运输所需的全部信息。

加工	内容	作用
折叠	分子伴侣防止聚集，二硫键异构酶、脯氨酰顺反异构酶催化限速步骤（**15 序列决定折叠**）	得到有功能的构象
切除	去掉 N 端的甲酰基或甲硫氨酸；切掉**信号肽**（signal peptide）；把前体切成成品（胰岛素原切去 C 肽、酶原激活）	定位完成；活化
二硫键	在内质网腔里形成	稳定分泌蛋白和膜蛋白的结构
磷酸化（phosphorylation）	加在 Ser、Thr、Tyr 上	调节活性，传递信号
糖基化（glycosylation）	N-连接、O-连接（**103 糖基化**）	帮助折叠、稳定、识别和分选
羟基化	胶原的 Pro、Lys	稳定三股螺旋
羧化	凝血因子 Glu 的 γ-羧化（维生素 K）	结合 Ca^{2+}
乙酰化、甲基化	组蛋白的 Lys、Arg	调节染色质和基因表达
脂酰化、异戊二烯化、加 GPI 锚	接上脂分子	把蛋白质锚在膜上
泛素化	接上泛素	标记降解（**110 泛素与蛋白酶体**）
加辅基、亚基聚合	血红素、金属离子；多条链组装	成为完整的功能分子

真题 2 道 生化 07 23

> 蛋白质造出来了，可它们几乎都是在胞质的核糖体上造的，上岗的地方却在膜上、细胞器里、细胞外。怎样把每一个送到该去的地方？

分选与降解

蛋白质身上的一小段序列就是地址：带内质网信号肽的边合成边进内质网，再由膜泡经高尔基体送到溶酶体、质膜或细胞外；其余的合成完再凭各自的信号进线粒体、细胞核；用坏了、用完了的，贴上泛素送去蛋白酶体，或包起来交给溶酶体

往哪送，凭什么认

99 蛋白质几乎都从胞质的核糖体上开始合成，去向却有十来处；地址就写在它自己的氨基酸序列里，一段信号序列对一种受体

- **蛋白质分选（蛋白质寻靶）**（protein sorting (protein targeting)）：在胞质里开始合成的蛋白质，靠自身的**分选信号**（sorting signal）和相应的受体、转运装置，被送到细胞内特定的部位或分泌到细胞外。

途径	合成地点	去向
共翻译转运（cotranslational translocation）	起始后被带到粗面内质网，**边合成边转运**	内质网、高尔基体、溶酶体、质膜、细胞外
翻译后转运（post-translational translocation）	在游离核糖体上**合成完毕**再转运	线粒体、叶绿体、过氧化物酶体、细胞核；或留在胞质基质
信号	特点	去哪
信号肽（signal peptide）	N 端，一般 16～26 个残基（细胞课本），中间是 6～12 个疏水残基的核心，进腔后被信号肽酶切除	内质网
KDEL（C 端四肽）	内质网驻留信号	从高尔基体被捡回内质网
甘露糖-6-磷酸（M6P，mannose-6-phosphate**）**	加在糖链上的标记，不是氨基酸序列	溶酶体
导肽	N 端，带正电，成两亲的 α-螺旋，进去后切除	线粒体
转运肽	N 端，进去后切除	叶绿体
SKL（C 端三肽）	不切除	过氧化物酶体
核定位信号（NLS，nuclear localization signal**）**	富含 Lys、Arg 的短序列，位置不限，**不切除**	细胞核

- **信号肽**的定义（生化口径）：需要运输的蛋白质上一段引导它到特定位置的氨基酸序列，通常在 N 端，到达目的地后被信号肽酶切除；进内质网的信号肽被 SRP 识别，把核糖体引到内质网膜上。长度各书不同：细胞课本 16～26 个残基（疏水核心 6～12 个）；朱圣庚 10～40 个（N 端至少一个带正电的残基，中部 10～15 个疏水残基）；生化狂背、Lehninger 13～36 个。细胞题写 16～26，生化题写朱圣庚的数。
- 按转运方式分**四类**：**跨膜转运**（肽链穿过膜上的通道，进内质网、线粒体、叶绿体、过氧化物酶体，transmembrane transport）、**膜泡运输**（内质网 → 高尔基体 → 溶酶体、质膜、细胞外，vesicular transport）、**选择性门控转运**（经核孔进出细胞核，gated transport），以及**细胞质基质中的蛋白质转运**（前三类都要经过它，和细胞骨架关系密切，机制了解还少，protein transport in cytosol）。

真题 5 道 细胞 09 10 12 21 25

100 要进内质网的蛋白质，信号肽一露头就被 SRP 抓住、翻译暂停，连同核糖体一起被拉到内质网膜上，再边合成边穿进去——信号假说

- 信号假说（Blobel 和 Sabatini，1975）的要点：
  - ① 分泌蛋白的 mRNA 先在胞质的游离核糖体上开始翻译，最先合成的是 N 端的**信号肽**（signal peptide）。
  - ② 信号肽一伸出核糖体，就被**信号识别颗粒（SRP）**（signal recognition particle）结合，肽链延伸**暂停**。SRP 是 6 种蛋白质和一条约 300 个核苷酸的 7S RNA（有的书叫 7SL RNA）组成的核糖核蛋白。
  - ③ SRP 带着核糖体和新生肽，结合到内质网膜上的 **SRP 受体**（停泊蛋白，SRP receptor），核糖体对准膜上的**移位子**（translocon）通道。
  - ④ GTP 水解，SRP 脱落、循环使用；翻译恢复，肽链边合成边穿过通道进入内质网腔。
  - ⑤ 腔里的**信号肽酶**（signal peptidase）切掉信号肽；合成结束，核糖体离开内质网。
- 所以信号肽的作用是经 SRP 把**核糖体**（ribosome）引到内质网膜上，并继续进行**蛋白质**合成。只有正在合成带信号肽的蛋白质的核糖体才结合内质网，粗面内质网上的核糖体和游离的核糖体本身并无区别。
- 膜蛋白怎样留在膜上：肽链穿到一半遇到一段疏水的**停止转移序列**（stop-transfer sequence），通道从侧面把它放进脂双层，肽链就卡在膜上了。没有可切信号肽的膜蛋白靠内部的起始转移序列插膜；两种序列交替出现就成了多次跨膜蛋白。在内质网上定下的朝向一路不变：朝内质网腔的一面，到质膜时成了朝细胞外的一面。

- 分泌蛋白一路上要切掉信号肽、加糖链、有的还要切掉前体的一部分，所以从细胞内提取的和分泌到细胞外的，分子量一般不同。

易错 信号肽中间是疏水氨基酸，不是“全是亲水氨基酸”。

真题 15 道 生化 07 10 13 15 19 20 · 细胞 07 09 11 15 17 18 26

内膜系统这条流水线

101 进了内质网，后面是一串由膜围成、靠膜泡相通的房间：内质网、高尔基体、溶酶体、胞内体、分泌泡，合称内膜系统

- **内膜系统**（endomembrane system）：在结构、功能和发生上相互关联、由单层膜围成的细胞器的总称。它是一个动态的统一体：膜和内容物靠膜泡不断地从一个房间流向下一个，各房间的成分和功能却保持稳定。
- 形成内膜系统对细胞的意义：
  - 把细胞分成许多小房间，膜的总面积大大增加，酶可以成套地排在膜上，反应效率提高。
  - 各房间有各自的环境（溶酶体里是酸的、内质网腔里是氧化的），互相干扰的反应可以同时进行。
  - 合成、加工、分选、运输、降解分工明确，又连成一条流水线，物质定向流动。
  - 使细胞核与胞质分开，基因表达多了调节的层次。
- **细胞质基质**（cytosol (cytoplasmic matrix)）是这些房间之外的胞质部分：许多中间代谢（糖酵解、戊糖磷酸途径、脂肪酸合成）在这里进行，蛋白质在这里合成、修饰和选择性降解，细胞骨架也在这里。
- **微粒体**（microsome）：细胞匀浆、离心时，内质网破碎后自己封闭成的小泡，是人为产生的结构；带核糖体的是粗面微粒体。它保留了内质网的基本功能，常用来在体外研究蛋白质的合成和转运。

真题 6 道 细胞 13 16 19 21

102 第一站内质网：粗面的管蛋白质的合成、折叠和初步加糖，光面的管脂质合成和解毒；折不好的不许出门

	粗面内质网	光面内质网
形态	扁平的囊，表面附着核糖体，与外核膜相连	分支的小管，没有核糖体
功能	合成分泌蛋白、膜蛋白、溶酶体酶；新生肽的**折叠与装配**；**N-连接糖基化**（N-linked glycosylation）的开头（预先装在焦磷酸多萜醇上的 14 糖寡糖链整块转到新生肽链 Asn-X-Ser/Thr 的 Asn 上）	**脂质和固醇的合成**；**解毒**（细胞色素 P450 把毒物**羟基化**（hydroxylation），使它易溶于水而排出，detoxification）；肝细胞的**糖原代谢**（葡萄糖-6-磷酸酶把糖原分解来的 6-磷酸葡萄糖水解成葡萄糖；糖原本身的合成与分解在细胞质基质）；储存 Ca^{2+}（肌细胞的肌质网）
发达的细胞	分泌旺盛的细胞（胰腺腺泡细胞、浆细胞）	肝细胞、合成类固醇激素的细胞、肌细胞

- 内质网腔里的帮手：分子伴侣 **BiP**（Hsp70 家族，binding protein）扶住没折好的肽链；**蛋白质二硫键异构酶**（protein disulfide isomerase (PDI)）帮着配对二硫键。
- 磷脂在内质网膜的**胞质侧**合成（底物来自细胞质基质），几分钟后由**磷脂转位蛋白**（转位酶，flippase）翻到腔面。
- **质量控制**（quality control）：折叠不正确、亚基没装齐的蛋白质被留在内质网里；实在折不好的，倒运回胞质，泛素化后由蛋白酶体降解（**内质网相关降解，ERAD**）。
- **内质网应激**（endoplasmic reticulum stress）：未折叠或错误折叠的蛋白质在内质网腔里堆积，或内质网钙稳态失衡时，细胞启动的一系列应答。最主要的是**未折叠蛋白质应答（UPR）**（unfolded protein response），由膜上三个感受器发动：
  - **PERK**：磷酸化翻译起始因子 eIF2α，大多数 mRNA 的翻译起始被抑制，进内质网的新蛋白质减少；只有少数 mRNA（如转录因子 **ATF4**）反而翻译增多，应激持续时 ATF4 诱导 **CHOP**，促进凋亡。
  - **IRE1**：剪接出转录因子 **XBP1** 的 mRNA（酵母里是 Hac1），上调分子伴侣和降解机器的基因。
  - **ATF6**：运到高尔基体被切开，胞质段进核当转录因子。
  - 三条路的总效果：少造蛋白质、多造分子伴侣、加快降解错误的蛋白质；应激久不缓解，就启动凋亡。
  - 诱因：缺氧、缺糖、钙失衡、氧化应激、病毒感染、突变蛋白大量表达。除 UPR 外，还有**内质网超负荷反应**（正确折叠的蛋白质，特别是膜蛋白，没及时运出而在内质网过度堆积，激活 NF-κB，产生促炎性细胞因子）和**固醇调节级联反应**（内质网膜上胆固醇耗竭时，**SREBP**（sterol regulatory element-binding protein）被运到高尔基体切割，入核促进胆固醇合成相关基因表达）。
- 一个分泌蛋白（如抗胰蛋白酶）只突变了一个氨基酸、活性正常，血里却没有它：可能是折叠变慢，被质量控制扣在内质网里并降解；也可能是不能从内质网运往高尔基体。鉴别的办法：用抗体或荧光蛋白融合看它停在哪个细胞器；做脉冲-追踪，看它合成了没有、分泌了没有、多久被降解。

- **内质网-质膜接触点**（ER-plasma membrane contact site）：内质网膜与质膜在纳米尺度上紧密靠近但不融合的特殊区域，是细胞器之间交换物质（脂质、Ca^{2+}）、传递信号的平台（2018 年名解，狂背答案）。内质网与线粒体等细胞器之间也有这样的膜接触位点。

易错 肽类激素的活化不是光面内质网的功能。

近五年考了 4 卷 细22 细24 细25 细26　**真题 12 道** 生化 13 · 细胞 10 18 21 22 24 25 26

103 一路上还要给蛋白质加糖链：N-连接的在内质网整块转上去、到高尔基体再修剪，O-连接的在高尔基体一个一个加

- **蛋白质糖基化**（protein glycosylation）：在糖基转移酶催化下，把糖共价连到蛋白质特定氨基酸残基上的过程。

	N-连接糖基化	O-连接糖基化
连在	**Asn** 的酰胺氮上（序列 Asn-X-Ser/Thr）	**Ser、Thr** 的羟基上（胶原是羟赖氨酸）
第一个糖	N-乙酰葡糖胺	N-乙酰半乳糖胺
在哪	**起始于粗面内质网**，在高尔基体继续修剪加工	主要在**高尔基体**（Golgi apparatus (Golgi body)）
怎么加	先在膜上的**多萜醇**（dolichol）上装好一个 14 糖的寡糖，再**整块转移**到刚进腔的肽链上	**一个糖一个糖**地加
糖链	较长，都有一个相同的五糖核心	较短，一般 1～4 个糖

- 联系：都发生在内膜系统的腔面，所以糖链最终都朝向细胞外或细胞器腔内；N-连接的糖链要在高尔基体各层膜囊里依次修剪、添加，才成为成熟的糖链。
- 糖链的用处：帮助蛋白质折叠并参与质量控制；增加稳定性，抵抗蛋白酶；作分选信号（溶酶体酶的 M6P）；参与细胞识别。
- 溶酶体膜上的蛋白质**高度糖基化**，糖链铺在腔面上，保护膜不被里面的水解酶消化。
- 推理题：从细胞核里分离到的一种蛋白质同时带 N-连接和 O-连接糖链，它最可能是**核孔复合体**（nuclear pore complex (NPC)）的组分（狂背答案）。理由：课本说胞质和核里绝大多数蛋白质没有糖基化，例外只有某些转录因子和核孔复合体上的糖蛋白；两种糖链又同时出现，指向在内质网、高尔基体腔里加糖的膜蛋白——核孔复合体孔膜区的跨膜糖蛋白，糖链伸在与内质网腔相通的核周隙里。

近五年考了 3 卷 细22 细24 细25　**真题 7 道** 细胞 09 13 17 22 24 25

104 第二站高尔基体是加工厂兼分拣中心：一摞有方向的扁囊，货从顺面进、反面出，在出口按标签分成三路

- **顺面网状结构**（CGN，又译顺面高尔基网络，cis-Golgi network (CGN)）：位于高尔基体顺面外侧、与顺面膜囊相连的网状结构，中间多孔而连续分支，膜厚约 6 nm，接近内质网膜。它是高尔基体的入口：接受内质网新合成的物质并分类，大部分转入中间膜囊，带 KDEL（HDEL）信号的内质网驻留蛋白被送回内质网；这里还可能发生 O-连接糖基化、溶酶体酶寡糖的磷酸化等修饰。
- 结构：顺面网状结构是入口，接收内质网来的小泡 → 顺面、中间、反面**膜囊**（cisterna）逐层加工 → **反面网状结构（TGN）**（trans-Golgi network）是出口，负责分选和包装。
- 它是**有极性的细胞器**（polarized organelle）：
  - 形态上，顺面朝着内质网、反面朝着质膜；
  - 成分上，各层有各自的标志酶，膜的厚度从顺面（接近内质网膜）到反面（接近质膜）逐渐增加；
  - 功能上，货物单向流动，糖链的加工按顺序在不同的膜囊里进行。
  - 极性的维持：COP II 小泡不断把货往前送，COP I 小泡把跑错地方的成分往回送；各层的加工酶靠跨膜区留在本层。
- 功能：N-连接糖链的修剪和加工、O-连接糖基化；合成蛋白聚糖的糖胺聚糖链；硫酸化；把蛋白质前体切成成品（胰岛素原切成胰岛素）；**分选**（sorting）；在植物细胞里还合成细胞壁的果胶和半纤维素。它是细胞内大分子运输的交通枢纽。

TGN 的三条出路	标记	去向
溶酶体途径	甘露糖-6-磷酸	胞内体 → 溶酶体
调节型分泌	聚集成团装进分泌泡，等信号	细胞外（激素、消化酶、神经递质）
组成型分泌	没有特别的标记，默认途径	质膜和细胞外，连续进行

- 分泌蛋白的全程：粗面内质网 → 高尔基体 → 分泌泡 → 质膜 → 细胞外。证明这条路线的经典办法是脉冲-追踪加放射自显影（**160 示踪**）。
- 在电镜下区分高尔基体各层：用各层标志酶的细胞化学反应，或用各层特有蛋白质的抗体做免疫电镜。

近五年考了 2 卷 细25 细26　**真题 9 道** 细胞 07 11 12 14 17 25 26

105 房间之间靠膜泡来往：包被蛋白管装什么货、从哪出芽，Rab 和 SNARE 管送到哪、和谁融合

包被小泡	组装的开关	路线	运什么
COP II（COPII）	小 G 蛋白 Sar1	内质网 → 高尔基体（顺向）	新合成的蛋白质
COP I（COPI）	小 G 蛋白 ARF	高尔基体 → 内质网，以及高尔基体内反面 → 顺面（逆向）	捡回带 **KDEL** 的内质网驻留蛋白和跑错地方的酶
网格蛋白（clathrin）	ARF 等；颈部由发动蛋白掐断	高尔基体 TGN → 胞内体、溶酶体；质膜 → 胞内体（胞吞）	带 M6P 的溶酶体酶；受体和配体

- 准确投送靠四步：
  - ① **打包**：小 G 蛋白结合 GTP 后把包被蛋白招到供体膜上；包被蛋白经货物受体把带分选信号的货圈进来，并使膜弯曲、出芽。出芽后 GTP 水解，包被脱落。
  - ② **运输**：小泡沿微管由马达蛋白拉着走（**132 马达蛋白**）。
  - ③ **认门**：小泡上的 **Rab**（也是小 G 蛋白，不同的膜用不同的 Rab）与靶膜上的拴系蛋白相认，把小泡拉近。
  - ④ **融合**（fusion）：小泡上的 **v-SNARE** 与靶膜上的 **t-SNARE** 专一配对，几条螺旋拧成一束，把两层膜拉到一起融合。
- Rab 不是包被蛋白；COP Ⅰ、COP Ⅱ、网格蛋白才是。
- 膜泡运输按方向也可说成三大类：胞吐（组成型、调节型）、胞吞（**40 胞吞与胞吐**）、细胞器之间的运输。

外校热点 举例说明 SNARE 怎样介导膜泡与靶膜的特异融合（2025 华中科技大学、中国科学技术大学）——以神经末梢为例：突触小泡上的 v-SNARE 与质膜上的 t-SNARE 互相缠绕成束，把两层膜拉到一起；Ca^{2+} 进来后两膜融合、递质放出。配对是专一的，所以每种膜泡只和对应的靶膜融合。〔660〕

近五年考了 4 卷 细22 细24 细25 细26　**真题 8 道** 细胞 14 17 18 22 24 25 26

106 带着甘露糖-6-磷酸的那一路去了溶酶体：一袋酸性水解酶，是细胞里的消化车间

- **溶酶体**（lysosome）：单层膜围成的囊泡，含 60 多种**酸性水解酶**（acid hydrolase），最适 pH 约 5；标志酶是**酸性磷酸酶**（acid phosphatase）。膜上有质子泵把腔里变酸，有高度糖基化的膜蛋白保护自己，有转运蛋白把消化产物运回胞质。
- 溶酶体酶的来路：在粗面内质网合成、加上 N-糖链 → 在高尔基体顺面，糖链上的甘露糖被磷酸化成**甘露糖-6-磷酸**（mannose-6-phosphate） → 到 TGN 被 **M6P 受体**（M6P receptor）认出，装进网格蛋白小泡 → 送到晚期**胞内体**（endosome），那里偏酸，酶与受体分开 → 受体回 TGN 再用。质膜上也有 M6P 受体，能把误分泌出去的酶收回来。
- **胞内体**：胞吞进来的物质送往溶酶体途中的膜性细胞器，腔内 pH 5～6；早期胞内体里受体与配体分开、受体被回收，晚期胞内体接收溶酶体酶，逐步成熟为溶酶体。

类型	含义
初级溶酶体	刚形成，只有酶，还没有底物
次级溶酶体	与底物融合后正在消化，里面有活化的酶、底物和消化产物；吞进来的东西叫异噬溶酶体，包的是自身成分叫**自噬溶酶体**（autophagolysosome (autolysosome)）
残体	消化不了的残渣（如脂褐质）

- 功能：消化胞吞进来的物质（营养、防御）；**自噬**（autophagy），清除衰老、受损的细胞器；少数细胞把酶放到细胞外消化（精子的顶体反应）；发育中清除不要的细胞。
- 溶酶体病：缺某一种水解酶，它的底物在溶酶体里越积越多（贮积症）；高尔基体里加 M6P 的酶有缺陷时，溶酶体酶都被分泌到了细胞外。
- 证明一个小泡是溶酶体：测标志酶酸性磷酸酶（细胞化学反应生成的铅沉淀在电镜下落在这个小泡里）；用对酸性环境敏感的荧光探针证明腔内是酸的；用溶酶体膜蛋白的抗体做免疫标记；分级分离后测酶活性。

易错 溶酶体不只消化内吞进来的物质，还消化细胞自身的成分。

外校热点 溶酶体里的 pH 升到 7 时，M6P 受体停在哪里（2025 合肥工业大学）——酶和受体分不开，受体一直被占着，聚在前溶酶体（晚期内体）膜上回不了 TGN；高尔基体缺空受体，新的溶酶体酶被默认分泌到细胞外（课本：溶酶体膜上没有 M6P 受体）。〔660〕

真题 10 道 细胞 07 08 09 10 11 15 17 19 26

107 外形像溶酶体、来历和功能都不同的是过氧化物酶体：里面是用氧的氧化酶和过氧化氢酶，蛋白质是合成完了直接从胞质输入的

	溶酶体	过氧化物酶体
膜	单层	单层
形态	多形，没有结晶状核心	较小、圆，常有尿酸氧化酶的结晶状核心
酶	酸性水解酶	**氧化酶**（oxidase）和**过氧化氢酶**（catalase）
标志酶	酸性磷酸酶	**过氧化氢酶**
腔内 pH	约 5	约 7
要不要氧	不要	要
功能	细胞内消化	氧化
酶从哪来	粗面内质网合成，经高尔基体靠 M6P 分选	**游离核糖体**（free ribosome）上合成完，凭 C 端的 SKL 等信号直接输入

- 过氧化物酶体的功能：
  - 氧化酶用 O_2 氧化底物，生成 H_2O_2；过氧化氢酶再把 H_2O_2 分解，或用它去氧化酚、甲醛、乙醇等毒物（**解毒**（detoxification））。
  - 极长链脂肪酸的 **β-氧化**（缩短以后交给线粒体，β-oxidation）；不产 ATP，能量以热放出。
  - 植物：叶片里参与**光呼吸**（**59 卡尔文循环**，photorespiration）；种子里的**乙醛酸循环体**（glyoxysome）进行**乙醛酸循环**（glyoxylate cycle），把脂肪变成糖。
- 在电镜下区分两者：用细胞化学显示各自的标志酶——酸性磷酸酶反应生成铅沉淀的是溶酶体；过氧化氢酶用 DAB 反应生成电子致密沉淀的是过氧化物酶体。

真题 2 道 细胞 12 15

不走膜泡的两个去处

108 线粒体的一千多种蛋白质绝大多数是在胞质里合成完，再靠 N 端的导肽穿过两层膜拉进去的

- 进线粒体基质的过程（翻译后转运）：
  - ① 在游离核糖体上合成完，由胞质里的 Hsp70 扶着，保持**未折叠**的伸展状态。
  - ② N 端的**导肽**（leader peptide (presequence)）被外膜上 **TOM 复合体**（translocase of the outer membrane）的受体认出，肽链穿过外膜的通道。
  - ③ 在内外膜的**接触点**（contact site），紧接着穿过内膜的 **TIM 复合体**（translocase of the inner membrane），一次过两层膜。
  - ④ 动力有两个：内膜两侧的**膜电位**（基质一侧为负，membrane potential）把带正电的导肽吸进去；基质里的 Hsp70 结合进来的肽链，水解 ATP 一段段往里拉。
  - ⑤ 基质里的肽酶切掉导肽，分子伴侣（Hsp60）帮它折叠。
- 去内膜、膜间隙的蛋白质另有第二段信号。
- 叶绿体的输入类似：N 端是**转运肽**（transit peptide），穿过外、内被膜上的转运复合体进基质，要去类囊体的再靠第二段信号。叶绿体自己的基因组编码的蛋白质不带转运肽。
- 共同特点：翻译后转运、需要信号序列、肽链以未折叠状态过膜、需要分子伴侣和能量。

真题 3 道 细胞 10 15 20

109 进出细胞核走核孔：货物带着核定位信号，由受体领着进去；该在哪里卸货，由核里核外两种状态的 Ran 说了算

- **核孔复合体**（nuclear pore complex (NPC)）的结构见**80 细胞核**。它是双功能、双向的通道：离子、小分子和小蛋白（约 40～60 kDa 以下）自由扩散；大分子靠信号和受体主动运输，耗能，有饱和现象。
- **亲核蛋白**（karyophilic protein）：在胞质里合成、要进核才发挥功能的蛋白质（组蛋白、DNA 和 RNA 聚合酶、转录因子、核糖体蛋白）。它们带有**核定位信号（NLS）**（nuclear localization signal）：一小段富含 Lys、Arg 的序列，可以在蛋白质的任何位置，入核以后不切除——分裂时核膜解体又重建，它们还得再进一次。
- 入核过程：
  - ① 胞质里的入核受体（importin）认出 NLS，结合成复合物。
  - ② 复合物结合核孔的胞质纤维，经中央通道进入核内。
  - ③ 核内的 **Ran-GTP** 结合受体，复合物散开，货物被卸下。

- ④ 受体连同 Ran-GTP 回到胞质，在那里 GTP 水解成 GDP，受体放出来再用。

- 方向由 **Ran** 决定：它是一种小 G 蛋白，核内以 Ran-GTP 为主，胞质里以 Ran-GDP 为主。出核反过来：带**核输出信号**（nuclear export signal (NES)）的货物在核内与出核受体、Ran-GTP 一起装车，到胞质 GTP 水解才卸货。tRNA、核糖体亚基和带核输出信号的蛋白质都这样出核；mRNA 以 RNP 的形式出核，也是需要载体的主动运输。
- 有核定位信号的蛋白质不一定就进核（信号可以被遮住或被修饰，这是一种调节）。没有 NLS 也可能进核：分子很小的自由扩散进去；与带 NLS 的蛋白质结合搭便车；分裂时核膜解体，重建时被包了进去。
- 实验证明：
  - 核质蛋白（五聚体，有头有尾）整个注射进胞质能进核；只注射尾部也能进核，只注射头部进不去——NLS 在尾部。
  - 用胶体金包上尾部再注射，电镜下金颗粒先聚在核孔中央、再进入核内——入核走的是核孔。
  - 把 NLS 接到一个本来不进核的大蛋白上，它也进核了——这段信号就够用。
  - 降温或去掉能量，入核停止——是耗能的主动运输。

易错 核定位信号完成引导后不被切除。

近五年考了 5 卷 细22 细23 细24 细25 细26　**真题 13 道** 细胞 07 09 12 14 17 18 19 22 23 24 25 26

用坏了、用完了怎么拆

110 蛋白质都有寿命。要单独拆掉某一个，就给它接上一串泛素，送进蛋白酶体绞碎

- 细胞里降解蛋白质有两套系统：**溶酶体**（不大挑对象；降解胞吞进来的蛋白质、膜蛋白和自噬包进去的东西，lysosome）和**泛素-蛋白酶体**（有选择，耗 ATP；降解短寿命的调节蛋白、折错的蛋白质，ubiquitin-proteasome pathway）。
- **泛素**（ubiquitin）：76 个氨基酸的小蛋白，高度保守。它的功能是标记要降解的蛋白质。
- 贴标签三步：
  - **E1**（泛素活化酶，ubiquitin-activating enzyme）花 ATP 把泛素活化；
  - 转给 **E2**（泛素结合酶，ubiquitin-conjugating enzyme）；
  - **E3**（泛素连接酶，ubiquitin ligase）认出该降解的底物，把泛素的 C 端接到底物 **Lys 的 ε-氨基**上。认谁、不认谁，由 E3 决定。
  - 泛素上再接泛素，连成**多聚泛素链**（polyubiquitin chain）。
- **26S 蛋白酶体**（26S proteasome）认出多聚泛素链，把泛素解下来回收，把底物拉直、送进桶状的核心切成小肽，过程耗 ATP。
- 哪些蛋白质寿命短：N 端的氨基酸种类决定半寿期（N 端规则）；有的带专门的降解信号（周期蛋白的破坏框）。一个酶在细胞里的半寿期主要取决于它的降解速率。
- 用处：清除折错的蛋白质（**102 内质网**的质量控制）；让调节蛋白及时消失——周期蛋白不降解，细胞周期就走不下去（**135 细胞周期的引擎**）。
- 质膜上的蛋白质被泛素化以后，多是被胞吞进去、送到溶酶体降解。

真题 10 道 生化 07 10 13 14 15 16 18 · 细胞 22

111 要成批地拆——整个线粒体、一大团聚集的蛋白质——就用双层膜把它包起来交给溶酶体，这叫自噬

- **细胞自噬**（autophagy）：细胞用膜把自身的一部分胞质、受损的细胞器或蛋白质聚集体包起来，送进溶酶体降解，小分子回收再用。

类型	做法
巨自噬（通常说的自噬，macroautophagy）	胞质里先长出一片杯状的隔离膜，包住要降解的东西，封口成**双层膜**的**自噬体**（autophagosome）；自噬体与溶酶体融合成**自噬溶酶体**（autophagolysosome (autolysosome)）
微自噬	溶酶体膜自己内陷，直接把胞质成分吞进去
分子伴侣介导的自噬	带特定序列的可溶蛋白由分子伴侣认出，经溶酶体膜上的受体直接穿膜进去

- 调节：营养充足时 mTOR 抑制自噬；饥饿、缺氧、氧化损伤时自噬被激活。
- 自噬怎样维持细胞内环境的稳定：
  - **质量控制**（quality control）：清除受损的线粒体、折错并聚集的蛋白质、多余的细胞器。
  - **营养回收**：饥饿时把自身成分拆成氨基酸、脂肪酸，供能量和合成用，帮细胞熬过去。
  - **防御**：吞掉侵入胞质的细菌和病毒。
  - 参与发育、分化和延缓衰老；自噬过度又会导致自噬性细胞死亡。

- 在抗逆境中：动物饥饿、缺氧时靠它提供原料并清除损伤；植物在缺养分、干旱、盐害、病原侵染时靠它回收养分、清除被氧化损伤的蛋白质和细胞器，叶片衰老时把叶绿体的养分拆下来运走。

近五年考了 3 卷 细24 细25 细26　**真题 5 道** 细胞 12 18 24 25 26

> 图纸会存、会抄、会读，零件会送、会拆了。可每个细胞都揣着同一整套图纸，肝细胞和神经细胞用的却不一样，同一个细胞吃饱和饿着时用的也不一样。

第四问　112–127 环

听谁指挥

基因表达的调节、细胞信号

每个细胞都带着全套图纸，却只用其中一部分，用多少还随时在变。于是有了第四个问题：谁决定用哪张图纸、用多少；细胞又怎样知道外面发生了什么。

基因表达的调节

同一套图纸，用哪张、用多少，主要在转录起始这一步决定：一段 DNA 序列加上一个认它的蛋白质就是一个开关。细菌用操纵子成套地开关，真核还得先把染色质松开；开关的状态能不改序列地传下去，RNA 造出来以后还能再管一道

开关的原理

112 基因不是全都开着：有的时时处处都要用，有的只在特定的细胞、特定的时候才用；管它的开关设在从 DNA 到蛋白质的每一步，最要紧的是转录起始 ●

- **管家基因**（housekeeping gene）：维持细胞基本生命活动所必需、在所有细胞里都表达的基因（糖酵解的酶、核糖体蛋白、微管蛋白）。**奢侈基因**（组织特异性基因，luxury gene (tissue-specific gene)）：只在特定类型的细胞里表达、赋予细胞特殊形态和功能的基因（血红蛋白、胰岛素）。
- 真核基因的表达可以在这些环节上调节：染色质水平（转录前）→ **转录**（transcription）→ **转录后**加工 → mRNA 运输和降解 → **翻译**（translation）→ **翻译后**修饰与降解。其中转录起始是最主要的调控点，因为最省：不需要的东西从头就不造。但它不是决定细胞里 mRNA 种类和数量的唯一方式。
- 开关的两个部件：**顺式作用元件**（DNA 上的一段序列：启动子、操纵基因、增强子、沉默子，cis-acting element (cis element)）和**反式作用因子**（认这段序列的调节蛋白，trans-acting factor）。脂溶性激素的受体进了核直接结合 DNA 调转录，本身就是一种反式作用因子。

	调节蛋白是	调节蛋白结合上去的效果	例
负调控（negative regulation）	阻遏蛋白	关	乳糖操纵子的阻遏蛋白
正调控（positive regulation）	激活蛋白	开	CAP-cAMP；真核的转录激活因子

- 再看小分子信号让调节蛋白结合上去还是离开，就有诱导和阻遏之分：诱导物使阻遏蛋白离开叫负控诱导（乳糖操纵子），辅阻遏物使阻遏蛋白结合上去叫负控阻遏（色氨酸操纵子）。
- 原核细胞常用负调控，真核细胞常用正调控：细菌的基因默认是开的，要关才加阻遏蛋白；真核的 DNA 包在染色质里，默认是关的，要开才去激活。

真题 7 道　生化 11 12 13 16 18 · 细胞 16 17

113 细菌把干同一件事的几个基因排在一起、共用一个开关，叫操纵子。乳糖操纵子有两道闸：有乳糖才撤掉阻遏蛋白，没葡萄糖才请来激活蛋白 ●

- **操纵子**（operon）：细菌里功能相关的几个结构基因串联在一起，连同上游的启动子、**操纵基因**（operator）等调控序列组成的一个转录单位，转录成一条多顺反子 mRNA。操纵子的调节属于**转录水平**（transcriptional level）的调节；这种模式是原核生物特有的。第一个被阐明的是大肠杆菌的乳糖操纵子（Jacob 和 Monod，1961）。
- 乳糖操纵子的部件：调节基因 lacI（编码**阻遏蛋白**（repressor））；启动子 P；操纵基因 O（阻遏蛋白结合的位点，与启动子部分重叠）；结构基因 lacZ（β-半乳糖苷酶）、lacY（透过酶）、lacA（转乙酰酶）；启动子上游的 CAP 结合位点。
- 第一道闸（负调控）：没有乳糖时，阻遏蛋白结合在操纵基因上，挡住 RNA 聚合酶。有乳糖时，细胞里本底的一点酶把乳糖变成**别乳糖**（allolactose），别乳糖结合阻遏蛋白使它变构、离开操纵基因。实验室用 **IPTG**（isopropyl β-D-thiogalactoside）：结构像别乳糖，能诱导却不被分解。
- 第二道闸（正调控）：乳糖操纵子的启动子很弱。没有葡萄糖时，细胞里 **cAMP**（cyclic AMP）升高，与 **CAP**（catabolite activator protein; also called cAMP receptor protein (CRP)）蛋白结合，CAP-cAMP 结合到启动子上游，帮 RNA 聚合酶结合，转录提高几十倍。有葡萄糖时 cAMP 低，CAP 帮不上忙，这叫**分解代谢物阻遏**（葡萄糖效应，catabolite repression）。

葡萄糖	乳糖	阻遏蛋白	CAP-cAMP	表达
有	无	在操纵基因上	不结合	关
有	有	离开	不结合	很低
无	无	在操纵基因上	结合	关
无	**有**	离开	结合	**高**

- 意义：细菌先吃现成好用的葡萄糖，葡萄糖吃完、又确实有乳糖时，才花力气造分解乳糖的酶。

外校热点 阻遏蛋白的两种突变——结合 DNA 的部位坏了，阻遏蛋白结合不上操纵基因，有没有乳糖都表达（组成型）；结合别乳糖的部位坏了，它赖在操纵基因上不走，加诱导物也不表达（不可诱导）。操纵基因自己突变也是组成型，但只影响同一条 DNA 上的结构基因。〔880 专题 34〕

真题 10 道 生化 07 08 10 11 16 18 26

114 色氨酸操纵子反过来：产物多了才关，而且关两次——阻遏蛋白管开关，衰减作用管细调；细菌遇到饥饿和 DNA 损伤还有成套的应急开关

- **阻遏**：色氨酸操纵子编码合成色氨酸的酶。阻遏蛋白单独不结合 DNA；色氨酸多时，色氨酸作为**辅阻遏物**（corepressor）结合上去，阻遏蛋白才能结合操纵基因，把转录关掉。这是终产物对自己合成途径的反馈，只是发生在基因水平。
- **衰减作用**（attenuation）：转录起点和第一个结构基因之间有一段前导序列，能转录出一小段含**两个相邻色氨酸密码子**的前导肽，后面的 RNA 可以折成两种互斥的发夹。
  - 色氨酸多：核糖体顺利译过那两个密码子，后面的 RNA 折成**终止子**（terminator）发夹，转录在前导区就停了。
  - 色氨酸少：核糖体卡在色氨酸密码子上，后面的 RNA 折成另一种发夹，终止子形不成，转录继续进入结构基因。
  - 前提是细菌的**转录和翻译同时进行**，所以衰减作用只有原核才有。
- 其他成套的开关：
  - **严紧反应**（stringent response）：氨基酸饥饿时，没挂氨基酸的 tRNA 进了核糖体，触发合成信号分子 ppGpp，rRNA 和 tRNA 的转录大幅下降。
  - **SOS 反应**（SOS response）：见**85 DNA修复**。
  - 换 σ 因子：换一种 σ 就换一批启动子（热激时换用热激 σ 因子）。
  - λ 噬菌体进了细菌，是潜伏下来（溶原）还是马上繁殖（裂解），由 cI 和 Cro 两个阻遏蛋白谁占上风决定。

115 调节蛋白怎样在几百万个碱基对里找到自己的那几个？不必打开双螺旋，把一段 α-螺旋伸进大沟去“摸”碱基对的边缘 ●

- 典型的**转录因子**（transcription factor）有两到三个结构域：**DNA 结合结构域**（DNA-binding domain）、**转录激活结构域**（activation domain），常常还有**二聚化结构域**（dimerization domain）。
- 识别的原理：
  - 四种碱基对在**大沟**（major groove）里露出的氢键供体、受体的排列各不相同（小沟里分辨不清）。蛋白质的识别螺旋伸进大沟，Asn、Gln、Arg、Lys 的侧链与碱基边缘成专一的氢键；胸腺嘧啶的甲基提供疏水接触。
  - 再加上 Lys、Arg 与磷酸骨架之间不挑序列的静电吸引，把结合加固。
  - 常以**二聚体**（dimer）结合一段**回文序列**（palindromic sequence），两个亚基各认一半，专一性和亲和力都大大提高。

DNA 结合模体	特点	例
螺旋-转角-螺旋（helix-turn-helix）	两段 α-螺旋夹一个转角，其中一段是识别螺旋	乳糖阻遏蛋白、CAP
锌指（zinc finger）	Zn^{2+} 与 Cys、His 配位，撑起一个小指状结构	类固醇激素受体、TFIIIA
同源域	60 个残基，含螺旋-转角-螺旋	管发育的 Hox 蛋白
亮氨酸拉链（bZIP，leucine zipper**）**	两条 α-螺旋靠每隔 7 个残基出现一次的 Leu 咬合成**二聚体**；旁边的碱性区结合 DNA	Fos、Jun、CREB
螺旋-环-螺旋（bHLH）	两段螺旋夹一个环，管二聚化；碱性区结合 DNA	MyoD、Myc

- 测一个蛋白质结合在 DNA 的哪一段，用 **DNase Ⅰ 足印法**（DNase I footprinting）：被蛋白质护住的那段 DNA 不被酶切，电泳图上留下一段空白。

易错 有锌指结构的蛋白质不一定都结合 DNA（有的结合 RNA，有的介导蛋白质之间的相互作用）。

真题 5 道 生化 07 08 16 17 19

真核多出来的几层

116 真核的 DNA 缠在核小体上，默认是关着的：要转录，先得把染色质松开，再靠几种激活蛋白的组合把聚合酶请到启动子上 ○

- 松开染色质的三件事：

办法	做了什么	效果
染色质重塑（chromatin remodeling）	重塑复合物耗 ATP 把核小体推开、挪走或换掉组蛋白	露出启动子
组蛋白修饰（histone modification）	**乙酰化**（组蛋白乙酰转移酶 HAT，acetylation）中和 Lys 的正电荷，组蛋白对 DNA 抓得松了；去乙酰化酶 HDAC 相反。甲基化要看位点：有的位点是“开”的记号，有的（如 H3 第 9 位 Lys）是“关”的记号	乙酰化 → 开；去乙酰化 → 关
DNA 甲基化（DNA methylation）	在 CpG 的胞嘧啶上加甲基成 5-甲基胞嘧啶	启动子区甲基化 → 基因沉默

- 证明染色质会抑制转录的实验：把克隆的基因、RNA 聚合酶、转录因子和四种 NTP 混在一起，能转录；同时加入组蛋白，就不转录了；但如果先让转录因子与 DNA 保温、再加组蛋白，仍然能转录。结论：组蛋白与转录因子抢同一段启动子 DNA——组蛋白先占住就把基因关了，转录因子先占住、搭好了台子，组蛋白就挤不进来。所以激活一个基因要先让转录因子占位。
- 松开以后：激活蛋白结合在**增强子**（enhancer）上（可以离基因很远），DNA 弯成环，激活蛋白经**中介体**（mediator）接触启动子上的通用转录因子和 RNA 聚合酶 II，帮它们组装和起始。
- **组合调控**（课本，combinational control）：细胞分化中，有限的少量调控蛋白以不同组合启动为数众多的特异细胞类型的基因表达；每种细胞的分化由多种调控蛋白共同参与完成，n 种调控蛋白理论上可组合出 2^n 种细胞类型。落到每个基因上，就是它的开关不由一个专用的调节蛋白决定，而由几种调节蛋白的**特定组合**决定。一个关键调控蛋白与别的调控蛋白组合，甚至能诱发整个器官的形成（如眼发育中的 Ey/Pax6）。
- 类固醇激素的作用就是一个例子：激素进核与受体结合，受体（锌指蛋白）结合到激素应答元件上，招来乙酰转移酶和转录机器。

真题 2 道 生化 07 · 细胞 22

117 染色质上的开关状态可以不改 DNA 序列就传给子细胞，这叫表观遗传：X 染色体失活是最大的一个例子 ●

- **表观遗传**（epigenetics）：DNA 序列不变，而基因表达状态发生了可遗传的改变。靠的是 DNA 甲基化、组蛋白修饰、染色质重塑和非编码 RNA；DNA 复制后，维持甲基化酶照着旧链把新链也甲基化，状态就传了下去。
- **X 染色体失活**（X chromosome inactivation）：雌性哺乳动物有两条 X，胚胎早期每个细胞**随机**让其中一条失活——失活的那条转录出 Xist RNA 把自己整条包起来，凝缩成异染色质（**巴氏小体**（Barr body））；哪一条失活一经决定，就传给这个细胞的所有后代。意义是**剂量补偿**（dosage compensation）：雌雄两性 X 上的基因表达量拉平。
- 后果是雌性的身体是两种细胞的嵌合体：
  - 三花猫：控制橘色和黑色的基因在 X 上，杂合的母猫一块皮肤用这条 X、另一块用那条 X，于是橘一块黑一块。
  - 色盲基因在 X 上：男性只有一条 X，突变了就是色盲；杂合的女性视网膜上一部分视锥细胞用正常的 X、一部分用突变的 X，辨色能力下降但不丧失，表现为色弱。女性若是色盲，两条 X 都带突变，她的父亲一定是色盲，母亲至少是携带者。
- **基因组印记**（genomic imprinting）：某些基因只表达来自父方（或只表达来自母方）的那一份，另一份因甲基化而沉默。
- **位置效应**（position effect (positional effect)）：一个基因的表达受它在染色体上位置的影响——挪到异染色质旁边，就可能被蔓延过来的异染色质关掉。这种失活并不在所有后代细胞里都稳定地传下去，有的细胞里关、有的细胞里开，于是出现斑驳的表型（位置花斑效应）。注意：《细胞真题狂背》把 2023 年这道题答成细胞分化里的“位置效应”——改变细胞所处的位置可导致细胞分化方向改变，因为分化方向还受细胞所处微环境（细胞间相互作用、信号分子浓度）的影响（课本第十四章“细胞的位置信息决定细胞分化的命运”）。考场上先写基因的位置效应，再补一句细胞位置对分化的影响。
- 细胞分化以后能“记住”自己是什么细胞，靠的也是这一套（**143 细胞分化**）。

近五年考了 3 卷 细23 细24 细25 **真题 6 道** 细胞 16 17 23 24 25

118 mRNA 造出来以后还能再管一道：让它活得长一点或短一点，让核糖体上得去或上不去；小 RNA 靠碱基配对专门干这个，叫 RNA 干扰 ●

- 转录后的几种管法：选择性剪接（**92 选择性剪接与RNA编辑**）；mRNA 的稳定性（3′ 非翻译区里的序列和 poly(A) 尾的长短决定寿命）；翻译起始（起始因子 eIF2 被磷酸化，整体翻译下降）；小 RNA。
- 细菌靠配对管翻译的是**反义 RNA**（antisense RNA）：它能与特定 mRNA 的某一段互补配对，常结合在核糖体结合位点附近，阻止 30S 小亚基识别 SD 序列和起始密码子，或促使靶 RNA 降解，从而抑制翻译。
- **RNA 干扰**（RNA interference (RNAi)）：双链 RNA 在细胞里被 **Dicer** 酶切成 21～23 个核苷酸的小片段，其中一条链装进 **RISC**（RNA-induced silencing complex）复合体，靠碱基配对找到序列互补的 mRNA，把它切断或者阻止它翻译，使这个基因不表达。发生在转录以后。

	siRNA（小干扰 RNA）	miRNA（微 RNA）
来源	外来的或人工导入的长双链 RNA	细胞自己的基因转录出的发夹状前体

	siRNA（小干扰 RNA）	miRNA（微 RNA）
与靶 mRNA	完全互补	多为不完全互补，结合在 3′ 非翻译区
结果	切断靶 mRNA	主要抑制翻译，也促进降解；一种 miRNA 能管很多基因

- 用途：抵御病毒和转座子；调节发育；在实验室里用来“敲低”一个基因以研究它的功能，也用来做药。
- 2024 年诺贝尔生理学或医学奖授予 **microRNA**（miRNA）的发现及其在转录后基因调控中的作用。2023 年的奖授予核苷碱基修饰方面的发现——把 mRNA 里的尿苷换成修饰过的假尿苷，它就不再引起强烈的炎症反应，mRNA 疫苗因此才做得出来。

近五年考了 3 卷 生23 生24 生25　**真题 6 道** 生化 07 10 16 23 24 25

119 细菌之间还能把现成的基因传来传去，抗生素一压，带耐药基因的就留下来了：细菌耐药的五种办法 ○

办法	例子
产生灭活酶把药毁掉	β-内酰胺酶水解青霉素的 β-内酰胺环；乙酰转移酶修饰氯霉素、氨基糖苷类
改变靶点，药结合不上	青霉素结合蛋白变了；核糖体或 RNA 聚合酶突变
降低通透性，药进不来	外膜孔蛋白减少
主动外排，进来就泵出去	外排泵
走旁路，绕开被堵的那一步	换一个不受磺胺抑制的酶

- 耐药基因从哪来、怎么扩散：自发突变；更主要的是由**质粒**（耐药质粒，plasmid）、转座子带着，经接合、转化、转导在细菌之间水平传递。抗生素并不诱发耐药，它只是把敏感的杀掉、把耐药的选了出来，所以滥用抗生素会加快耐药菌的流行。

真题 1 道 生化 24

> 基因的开关最终听的是细胞外面的消息：血糖高了、该生长了、旁边的细胞说了什么。消息是一个个信号分子，大多进不了细胞。

细胞信号

信号分子进不了细胞，就由膜上的受体接住，换成细胞里的第二信使和一串激酶往下传；每一级都是一个能开能关的分子开关，层层放大，最后落到酶、通道和基因上；脂溶性的信号直接进细胞找基因

信号怎样进来

120 细胞靠化学信号互相通气：信号分子只认带着对应受体的靶细胞；亲水的信号进不了细胞，受体在膜上，疏水的信号直接进去，受体在细胞里 ●

- **细胞通讯**（cell communication）：一个细胞发出的信息经介质传到另一个细胞，与靶细胞的受体作用，再经细胞内的信号转导引起靶细胞的反应。方式：
  - **分泌化学信号**：内分泌（激素经血液运到远处）、旁分泌（**细胞因子**（cytokine）、生长因子作用于邻近细胞）、自分泌、突触传递（**神经递质**（neurotransmitter））。
  - **细胞因子**：由细胞分泌的、影响和调控多种细胞增殖、分化与成熟的一类活性因子，分子量较小，包括白细胞介素、干扰素、集落刺激因子、促红细胞生成素等；受体多连着胞质里的 JAK，经 JAK-STAT 途径起作用。
  - **神经递质**：由神经末梢释放、在突触间隙中把信息从神经元传给靶细胞（神经元、肌细胞、腺细胞）的化学信号分子，如乙酰胆碱、γ-氨基丁酸；它与靶细胞表面的受体（多为离子通道偶联受体）结合，引起膜电位改变等快速应答。
  - **接触依赖**（contact-dependent signaling）：两个细胞膜上的蛋白质直接相认（如 Notch 受体与邻近细胞膜上的配体 Delta 结合）。
  - **间隙连接**（植物是胞间连丝，gap junction）：小分子直接从一个细胞进入相邻细胞。间隙连接少了，细胞间的通讯就出障碍；但细胞通讯远不只这一种。
- **信号转导**（signal transduction）：细胞外的信号经受体转换成细胞内的信号，通过一连串分子的传递和放大，最后引起细胞应答的过程。
- **激素受体**（hormone receptor）：存在于细胞膜上或细胞内、能特异识别并结合激素的蛋白质；具有特异性、高亲和性、饱和性；结合激素后构象改变，膜受体启动信号转导，胞内受体（本身是转录因子）调控基因转录，把激素信号转成细胞的生理效应。
- **配体**（ligand）：能与受体专一结合的分子，激素、神经递质、药物、抗原都可以是。**受体**（receptor）：能专一地识别并结合配体、由此引发细胞反应的蛋白质（多为糖蛋白）。受体的特性：**特异性、高亲和性、饱和性、可逆性**（specificity, high affinity, saturability, reversibility）。
- **激动剂**（agonist）：与受体结合后产生和天然配体一样效应的物质；**拮抗剂**（antagonist）：占住受体却不引起效应，反而挡住天然配体的物质。

信号分子	受体在哪	作用特点
水溶性（肽类和蛋白质激素、肾上腺素、神经递质、生长因子，water-soluble**）**	**细胞膜上**（cell surface receptor (membrane receptor)）	经第二信使，快，主要改变已有蛋白质的活性
脂溶性（类固醇激素、甲状腺激素、维生素 D、视黄酸，fat-soluble**）**	**细胞内**（胞质或核内，intracellular receptor）	受体本身是转录因子，慢而持久，改变基因表达
气体（NO）	直接进细胞，激活胞内的鸟苷酸环化酶，cGMP 升高	快，范围小

- 按化学本质，肾上腺素和甲状腺激素都是酪氨酸的衍生物，但肾上腺素亲水（受体在膜上），甲状腺激素疏水（受体在细胞内）：受体在哪看亲水还是疏水，不看化学类别。
- **细胞表面受体**（膜受体，cell surface receptor (membrane receptor)）：位于细胞质膜上的受体，主要识别和结合亲水性信号分子——分泌型信号分子（神经递质、多肽类激素、生长因子）或膜结合型信号分子（细胞表面抗原、细胞表面黏着分子）；按信号转导机制和受体蛋白类型分三大类：离子通道偶联受体、G 蛋白偶联受体、酶联受体。

膜受体（细胞表面受体）	特点	例
离子通道偶联受体（ion channel-coupled receptor）	受体本身既有配体结合位点、又是离子通道，结合配体就开门，改变膜电位，跨膜信号转导无需中间步骤；又称配体门控通道或递质门控通道，见于可兴奋细胞间的突触信号传导	烟碱型乙酰胆碱受体、GABA 受体、甘氨酸受体
G 蛋白偶联受体（G protein-coupled receptor (GPCR)）	一条肽链七次跨膜，经 G 蛋白去调节效应酶或离子通道	肾上腺素、胰高血糖素的受体；视觉、嗅觉、味觉的受体
酶联受体（enzyme-linked receptor）	多为单次跨膜，胞内段自己有酶活性或直接连着一个酶	受体酪氨酸激酶（胰岛素、生长因子的受体）

- 同一种激素在不同的细胞里效果可以不同甚至相反，因为效果取决于靶细胞上是哪一种受体、受体后面连着什么（肾上腺素经 β 受体升 cAMP，经 α_1 受体升 Ca^{2+}）。
- 受体出了毛病也致病：重症肌无力是自身抗体攻击了骨骼肌上的乙酰胆碱受体。

易错 并非各种激素都要与细胞膜表面的受体结合才起作用。激素不能作为酶或辅酶。

近五年考了 4 卷 生24 生25 细25 细26　**真题 32 道** 生化 07 11 12 14 15 16 17 18 24 25 · 细胞 07 08 09 11 13 14 16 17 18 25 26

121 脂溶性的激素最省事：穿过膜进到细胞里，与受体结合，受体就成了一个转录因子，直接去开关基因

- 这一类信号：类固醇激素（糖皮质激素、性激素）、**甲状腺激素**（酪氨酸的衍生物，是促进神经系统发育最重要的激素，thyroid hormone）、活性维生素 D、视黄酸。
- 过程：激素扩散进细胞 → 与胞内受体结合，受体变构（原来压着它的抑制蛋白脱落）、成二聚体 → 结合到 DNA 上的**激素应答元件**（hormone response element） → 招来辅激活蛋白和转录机器，启动（或关掉）一批基因的转录。
- 受体的结构：C 端结合激素，中间是结合 DNA 的**锌指**（zinc finger）结构域，N 端是转录激活结构域。所以脂溶性激素的受体就是一种**反式作用因子**（**112 调控的层次**，trans-acting factor）。
- 特点：起效慢（要等新蛋白质造出来），作用持久。
- 因为不必经消化道里会被水解的肽键，这类小分子激素可以口服；蛋白质类激素只能注射（**11 肽键**）。

真题 4 道 生化 08 11 18 24

膜受体的第一类打法：经过 G 蛋白

122 七次跨膜的受体自己不干活，把消息交给膜内侧的 G 蛋白：G 蛋白换上 GTP 就是“开”，把 GTP 水解成 GDP 就是“关”

- **G 蛋白偶联受体（GPCR）**（G protein-coupled receptor）：一条肽链 7 次穿膜，N 端在膜外，C 端在膜内；配体结合后构象变化传到膜内侧，去激活 G 蛋白。它是最大的一个受体家族。
- **G 蛋白**（这里指三聚体 GTP 结合调节蛋白，G protein (trimeric GTP-binding regulatory protein)）：由 **α、β、γ** 三个亚基组成，贴在质膜的胞质面；α 亚基能结合 GDP 或 GTP，并有 GTP 酶活性。
- 一轮循环：
  - ① 静息时 α 结合 **GDP**，与 βγ 在一起，无活性。
  - ② 受体结合了配体，促使 α 放掉 GDP、换上 **GTP**。
  - ③ α-GTP 与 βγ 分开，各自去作用于**效应器**（酶或离子通道，effector）——这是“开”。
  - ④ α 把 GTP **水解成 GDP**，重新与 βγ 结合——这是“关”。

- 所以 G 蛋白的活性受 GTP 调节，主要由解离出来的 α 亚基发挥作用。

G 蛋白	效应器	第二信使
Gs	激活腺苷酸环化酶	cAMP 升高
Gi	抑制腺苷酸环化酶	cAMP 降低
Gq	激活磷脂酶 C	IP_3、DAG、Ca^{2+}
Gt（转导蛋白，视觉）	激活 cGMP 磷酸二酯酶	cGMP 降低

- GPCR 的信号途径因此分三类：**cAMP 途径**（cAMP pathway）、**磷脂酰肌醇途径**（phosphatidylinositol pathway）、**调节离子通道**（G 蛋白的亚基直接开关通道，如乙酰胆碱使心肌的 K^+ 通道打开、心率减慢；或经环核苷酸去开关通道，如视觉和嗅觉）。
- **第二信使**（second messenger）：细胞外的信号（第一信使）与膜受体结合后，在细胞内产生的、把信号往下传并加以放大的小分子，如 **cAMP、cGMP、IP_3、DAG、Ca^{2+}**（cAMP 是 3′,5′-环腺苷酸，又叫环磷酸腺苷；cGMP 是 3′,5′-环鸟苷酸，又叫环磷酸鸟苷）。
- **第二信使学说**（Sutherland，second messenger hypothesis）：激素不进细胞，只与膜上的受体结合；受体激活膜上的酶，在胞内生成第二信使；第二信使再去改变细胞内酶的活性。要证明一个小分子是某种激素的第二信使：激素处理后它在胞内的浓度先于生理效应发生变化；直接把它（或能进细胞的类似物）加给细胞，能模拟激素的效应；阻止它生成或加快它降解，激素就失效，抑制它的降解则增强激素的作用；细胞里有它专一的靶蛋白。
- 证明植物细胞里也有 G 蛋白的思路：用动物 G 蛋白的抗体做免疫印迹看有没有交叉反应的条带；用标记的 GTP 类似物看膜蛋白里有没有能结合它的；用霍乱毒素或百日咳毒素加标记的 NAD^+，看有没有蛋白质被 ADP-核糖基化；用保守序列设计引物或探针去找同源基因；用 GTP 类似物或这些毒素处理细胞，看信号反应是否改变。

近五年考了 2 卷 生25 细26　**真题 16 道** 生化 07 16 17 18 19 20 25 · 细胞 08 09 12 14 16 19 20 26

123 第一条路：Gs 打开腺苷酸环化酶，ATP 变成 cAMP；cAMP 放出蛋白激酶 A，一级磷酸化一级，把信号放大上万倍

- 课本：腺苷酸环化酶调控系统由 5 种蛋白质组成——刺激性受体 Rs、抑制性受体 Ri、Gs、Gi、**腺苷酸环化酶**（在细胞膜上，adenylyl cyclase）。刺激性的一支是 Rs → Gs → 腺苷酸环化酶，产生 cAMP，再激活**蛋白激酶 A（PKA）**（protein kinase A）。
- PKA 平时是两个调节亚基压着两个催化亚基；4 个 cAMP 结合到调节亚基上，催化亚基被放出来，去磷酸化靶蛋白的 Ser 或 Thr。
- 经典的例子，**肾上腺素促进肝糖原分解**：
  - 肾上腺素结合 β 受体 → Gs 激活腺苷酸环化酶 → cAMP 升高 → PKA 活化
  - → PKA 磷酸化**磷酸化酶激酶**（phosphorylase kinase），使它活化
  - → 磷酸化酶激酶磷酸化**糖原磷酸化酶**（b 型变 a 型，glycogen phosphorylase），使它活化 → 糖原分解成葡萄糖-1-磷酸，最后以葡萄糖入血。
  - 同时 PKA 使**糖原合酶**（glycogen synthase）磷酸化而失活，合成停下。
  - 每一级都是一个酶分子作用于许多底物分子，几个激素分子能放出上万个葡萄糖，这就是**信号的级联放大**（signal cascade amplification）。
- 慢的一手：PKA 的催化亚基进核，磷酸化转录因子 **CREB**（cAMP response element-binding protein）；CREB 结合 DNA 上的 cAMP 应答元件，开启基因的转录。所以 cAMP 既能在几分钟内改变酶活性，也能在几小时内改变基因表达。
- 终止：G 蛋白水解 GTP；**磷酸二酯酶**（phosphodiesterase）把 cAMP 水解成 5′-AMP；蛋白磷酸酶把磷酸拿掉。咖啡因、茶碱还能**抑制磷酸二酯酶**，cAMP 降解得慢，延长肾上腺素一类信号的作用、促进脂肪分解（补充说法）。咖啡因提神的主要原因，2022 年真题的参考答案写的是**竞争性阻断腺苷受体**（腺苷本来让神经“踩刹车”）；课本还提到它增强雷诺丁受体对 Ca^{2+} 的敏感性。
- 三道推理题：
  - 把肝细胞匀浆分成膜和可溶的胞质两部分，往胞质部分里加肾上腺素，cAMP 不变——受体和腺苷酸环化酶都在膜上。
  - **霍乱毒素**（cholera toxin）使 Gsα 被 ADP-核糖基化，失去 GTP 酶活性，关不上，腺苷酸环化酶一直开着，小肠上皮细胞里 cAMP 持续升高，PKA 打开氯离子通道，Cl^-、Na^+ 和水大量流进肠腔，严重腹泻。口服补液盐仍然有效，是因为 Na^+-葡萄糖同向转运不受影响（**39 协同运输**）。百日咳毒素修饰的是 Gi，使它不能被激活，cAMP 同样升高。
  - 细胞里超量表达蛋白磷酸酶 1：CREB 等被 PKA 磷酸化的蛋白质很快被去磷酸化，cAMP 诱导的基因表达减弱；但它不影响 cAMP 门控的离子通道，因为那种通道是 cAMP 直接结合上去打开的，不靠磷酸化。
- 抗利尿激素也走这条路：结合肾集合管细胞的受体 → Gs → cAMP → PKA，使装着水孔蛋白的小泡与质膜融合（快），并经 CREB 增加水孔蛋白基因的转录（慢），水的重吸收增加，尿量减少。

近五年考了 3 卷 细22 细24 细25　**真题 15 道** 生化 07 10 13 17 20 21 · 细胞 08 16 17 22 24 25

124 第二条路：Gq 打开磷脂酶 C，把膜上的 PIP_2 一刀切成两个信使——IP_3 去内质网放出 Ca^{2+}，DAG 留在膜上和 Ca^{2+} 一起激活蛋白激酶 C

- 六步：
  - ① 信号（如肾上腺素作用于 α_1 受体、加压素）结合 GPCR。
  - ② 受体激活 **Gq**。
  - ③ Gq 激活**磷脂酶 C**（phospholipase C），水解质膜内层的**磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸（PIP_2）**（phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate），生成 **IP_3**（三磷酸肌醇，inositol 1,4,5-trisphosphate）和 **DAG**（二酰甘油，diacylglycerol）。一个反应出两个第二信使，所以叫**双信使系统**（double messenger system）。
  - ④ IP_3 溶于水，扩散到**内质网**（endoplasmic reticulum (ER)），结合膜上的 **IP_3 受体**（一种配体门控的 Ca^{2+} 通道，IP_3 receptor），通道打开，Ca^{2+} 顺着约一万倍的浓度差涌进胞质，胞质 Ca^{2+} 从约 10^{-7} mol/L 迅速升高。
  - ⑤ Ca^{2+} 的作用：与**钙调蛋白（CaM）**（calmodulin）结合。钙调蛋白是真核细胞中普遍存在的 Ca^{2+} 应答蛋白，148 个氨基酸，含 4 个结构域、各结合一个 Ca^{2+}；本身无活性，Ca^{2+} 浓度升高时先与 Ca^{2+} 结合成活化的 Ca^{2+}-CaM 复合体，再去激活靶酶（CaM 激酶、磷酸化酶激酶、NO 合酶等），这是受 Ca^{2+} 浓度控制的可逆反应——这一套叫 **Ca^{2+}-CaM 信号系统**（Ca^{2+}-calmodulin signaling system）；DAG 留在膜上，与 Ca^{2+} 一起激活**蛋白激酶 C（PKC）**（protein kinase C）。结果是肌肉收缩、腺体分泌、糖原分解、受精卵激活等。
  - ⑥ 终止：IP_3 被磷酸酶水解；DAG 被磷酸化或水解；Ca^{2+} 被内质网和质膜上的钙泵泵回钙库或泵出细胞（**38 泵**）。
- Ca^{2+} 能当信号，是因为胞质里平时极低；钙库有内质网（肌质网）、线粒体等。

易错 DAG 激活的是蛋白激酶 C，不是蛋白激酶 A；IP_3 放出的 Ca^{2+} 来自内质网。

近五年考了 5 卷 生26 细22 细24 细25 细26　**真题 13 道** 生化 26 · 细胞 08 11 12 13 14 17 18 20 22 24 25 26

125 Ca^{2+} 升高还能让细胞放出一种气体信号 NO：它不用受体，直接钻进隔壁的平滑肌细胞，经 cGMP 让血管松弛

- NO 这条路：
  - 乙酰胆碱作用于血管**内皮细胞**（endothelial cell）→ Ca^{2+} 升高 → Ca^{2+}-钙调蛋白激活**一氧化氮合酶**（nitric oxide synthase (NOS)），以**精氨酸**（arginine）为底物生成 NO。
  - NO 是脂溶性的小分子气体，直接扩散出去、进入邻近的**平滑肌细胞**（smooth muscle cell）；它只能存在几秒钟，所以只管近处。
  - NO 结合胞质里的**鸟苷酸环化酶**（guanylyl cyclase），使它活化，把 GTP 变成 **cGMP**（cyclic GMP）。
  - cGMP 激活**蛋白激酶 G**（protein kinase G），使平滑肌细胞内 Ca^{2+} 下降，平滑肌舒张，血管扩张。
  - 终止：磷酸二酯酶水解 cGMP。
- **硝酸甘油**（nitroglycerin）缓解心绞痛：它在体内放出 NO，直接走上面后半段，血管平滑肌舒张——静脉扩张使回心血量减少、心脏负担减轻，冠状动脉扩张使心肌供血改善。舌下含服起效快，因为直接经口腔黏膜入血，不经过肝。
- cGMP 也是**视觉**的第二信使：暗处视杆细胞里 cGMP 高，cGMP 门控的阳离子通道开着；光激活视紫红质（一种 GPCR）→ 转导蛋白 → 激活 cGMP 磷酸二酯酶 → cGMP 下降 → 通道关闭 → 细胞超极化，发出信号。**嗅觉**则是气味分子经 GPCR、G 蛋白使 cAMP 升高，打开 cAMP 门控的通道。

近五年考了 3 卷 细23 细25 细26　**真题 6 道** 细胞 10 11 14 23 25 26

膜受体的第二类打法：受体自己就是酶

126 生长因子和胰岛素的受体自己带着酪氨酸激酶：配体把两个受体拉到一起、互相磷酸化，磷酸化的酪氨酸成了挂钩，挂上接头蛋白，把小 G 蛋白 Ras 打开

- **受体酪氨酸激酶（RTK）**（receptor tyrosine kinase）：单次跨膜，胞外段结合配体，胞内段有酪氨酸激酶活性。胰岛素受体和表皮生长因子受体都属于这一类。
- 传到细胞核的一条主路：
  - ① 配体结合，两个受体**二聚化**（dimerization），胞内段互相把对方的酪氨酸磷酸化（**自磷酸化**（autophosphorylation））。
  - ② 磷酸化的酪氨酸被带 SH2 结构域的**接头蛋白**（Grb2，adaptor protein）认出，Grb2 又带着鸟苷酸交换因子 Sos。
  - ③ Sos 使膜内侧的 **Ras** 放掉 GDP、换上 GTP，Ras 打开。
  - ④ Ras-GTP 激活一串激酶：**Raf → MEK → ERK**（MAPK 级联），一级磷酸化一级。
  - ⑤ ERK 进核，磷酸化转录因子，开启与细胞增殖有关的基因。

- 另一条：磷酸化的受体招来 **PI3K**（phosphoinositide 3-kinase），在膜上生成 PIP_3，激活 **Akt（PKB）**（protein kinase B）——促进细胞存活和生长；胰岛素就经这条路让 GLUT4 上膜、激活糖原合成。
- **Ras** 是单体的小 G 蛋白，也是一个分子开关：GEF（如 Sos）帮它换上 GTP 打开，GAP 催它水解 GTP 关上。它自己的 GTP 酶活性很弱。**ras 基因突变**（常见的是第 12 位氨基酸）使它不能水解 GTP、**一直开着**，没有生长因子细胞也不停地收到“分裂”的信号，于是癌变。约三成人类肿瘤里有 ras 突变（**150 癌基因与抑癌基因**）。
- 针对一个在肿瘤里过量表达的受体酪氨酸激酶（如乳腺癌的 HER2）设计药物，可以从受体的两头下手：膜外一头用**单克隆抗体**（monoclonal antibody）结合受体的胞外段，挡住它二聚化和传信号，并招来免疫细胞；膜内一头用能进细胞的**小分子激酶抑制剂**（small-molecule kinase inhibitor），占住激酶结合 ATP 的口袋。
- 有的受体自己没有酶活性，而是连着一个胞质里的酪氨酸激酶：细胞因子受体连着 JAK，JAK 磷酸化转录因子 STAT，STAT 直接进核（JAK-STAT 途径）。

真题 5 道 生化 07 08 · 细胞 14 15 26

127 各条通路的打法其实一样：靠分子开关一级级往下传，层层放大，信号一撤每一级都能马上关掉 ●

- **分子开关**（molecular switch）两类，都是开和关由不同的蛋白质分管：

开关	开	关	例
GTP 结合蛋白（GTP-binding protein）	结合 GTP（鸟苷酸交换因子 GEF 帮它换）	把 GTP 水解成 GDP（GTP 酶激活蛋白 GAP 催它）	三聚体 G 蛋白的 α 亚基；Ras
磷酸化开关	**蛋白激酶**（protein kinase）加上磷酸	**蛋白磷酸酶**（protein phosphatase）去掉磷酸	糖原磷酸化酶；MAPK 级联的各级激酶

- **蛋白激酶**：催化把 ATP 的 γ-磷酸基转移到底物蛋白特定残基的羟基上的酶，分丝氨酸/苏氨酸激酶（PKA、PKC、PKG、MAPK）和酪氨酸激酶（受体酪氨酸激酶、JAK）。磷酸带来两个负电荷，改变蛋白质的构象，从而改变活性，或造出一个供别的蛋白质结合的位点。蛋白激酶和蛋白磷酸酶配合进行的磷酸化、去磷酸化，是真核细胞调节代谢的重要方式。
- 信号转导的共同特点：
  - **专一**：靠配体与受体、蛋白质与蛋白质之间的专一识别。
  - **放大**：酶的级联。
  - **能终止**：每一级都有关的办法；长时间刺激下受体被磷酸化、被胞吞，细胞变得不敏感（脱敏）。
  - **整合**（integration）：不同通路之间互相影响（交叉对话），细胞综合各路信号再作决定。
- 蛋白质的几种修饰在信号转导里各有用处：磷酸化（最常用的可逆开关）；泛素化（把信号蛋白送去降解，或作为招募的记号）；乙酰化和甲基化（组蛋白和转录因子上，调基因表达）；脂酰化、异戊二烯化（把 Ras、G 蛋白拴在膜上）；糖基化（膜受体胞外段的折叠和识别）；ADP-核糖基化（细菌毒素修饰 G 蛋白）。
- 判断两个激酶谁在上游：两个都有活性信号才能传下去，说明它们在同一条通路上、前后相继。让 k1 持续活化、同时让 k2 失活——如果细胞仍有反应，k1 在 k2 的下游；如果没有反应，k1 在 k2 的上游。2021 年这道题出自邹方东《学习指南》，书上答“能产生应答，说明 K2 在 K1 上游”；《真题狂背》答“K1 在上游、无应答”，两份答案相反。考场上先分两种情况，再按学习指南给出倾向。可再做体外磷酸化试验：上游的激酶若直接作用于下游，能看到下游被磷酸化；看不到也不能排除中间还隔着别的分子。
- 植物的信号分子是五大类激素：生长素、赤霉素、细胞分裂素、脱落酸、乙烯。

外校热点 2025–2026 年外校的细胞信号题很多（660 里近 20 道），问法集中在五处：细胞表面三类受体；第二信使和“双信使系统”（IP_3 与 DAG，2025 东南大学）；G 蛋白和小 G 蛋白怎样当分子开关（2025 首都师范大学、湖南师范大学）；RTK-Ras-MAPK 的组分和步骤（2025 东北林业大学、2026 山东师范大学）；NO 通路（2026 安徽师范大学）。都在本段这几环里。〔660〕

近五年考了 3 卷 细23 细24 细26 **真题 12 道** 生化 07 10 11 · 细胞 07 12 13 14 20 21 23 24 26

> 信号一路传下来，到头不过是让细胞做几种决定：动一动、分裂、和邻居结成组织并各司其职、或者去死。

第五问　128–150 环

命运如何

骨架、周期、细胞社会、死亡与癌

信号最后让细胞做出四种决定：动、分、合、死。于是有了第五个问题：细胞靠什么撑起形状和运动，怎样把自己变成两个，怎样和别的细胞结成组织、各司其职，又怎样衰老和死去；这些决定失控了就是癌。

细胞骨架与运动

细胞要有形状、要动、内部的货要有轨道，靠三种蛋白质纤维：微丝和微管有头有尾、时时在长在拆，马达蛋白烧 ATP 沿着它们朝一个方向走；中间丝没有头尾，最结实，专管抗拉

三种纤维

128 细胞不是一袋酶液：里面有三种蛋白质纤维搭成的架子，管形状、管运动、管内部运输；它不是死架子，而是随时在拆装

- **细胞骨架**（cytoskeleton）：真核细胞里由蛋白质纤维组成的网架体系，狭义的指胞质里的**微丝、微管、中间丝（中间纤维）**（microfilament, microtubule, intermediate filament）三种。它撑起细胞的形状，但并非稳定不变，而是不断地组装和去组装。

	微丝	微管	中间丝
亚基	**肌动蛋白**（actin）	**α/β-微管蛋白**（α/β-tubulin）异二聚体	中间丝蛋白（多种，有组织特异性）
直径	约 7 nm	外径 24 nm、内径 15 nm，中空，管壁 **13** 根原纤丝	约 10 nm
极性	**有**（正端、负端）	**有**	**无**
结合的核苷酸	**ATP**（adenosine triphosphate）	**GTP**	不结合
动态	踏车	踏车、**动态不稳定性**（dynamic instability）	最稳定
马达蛋白	肌球蛋白	驱动蛋白、动力蛋白	没有
专一的药物	细胞松弛素、鬼笔环肽	秋水仙碱、紫杉醇	没有
组织中心	没有固定的	中心体等微管组织中心	没有
主要分布	质膜下面的皮层	从核旁辐射到周边	从核周铺到细胞连接处
主要功能	细胞形状、爬行、胞质分裂、肌肉收缩	运输的轨道、纺锤体、纤毛和鞭毛	抗拉、支撑核膜

- 三者相互配合：
  - **结构上**有结合蛋白把三种纤维和细胞连接连成一张网。
  - **分裂时**微管组成纺锤体分开染色体，微丝组成收缩环把细胞勒成两个，核纤层（中间丝）的解聚和重建管核膜的崩解和重组。
  - **运输时**长途走微管，到了皮层换到微丝上走最后一小段。
  - **迁移时**微丝在前缘推、在后面拉，微管定方向，中间丝稳住细胞和核。

真题 5 道　细胞 14 16 17 26

129 微丝是肌动蛋白单体一个接一个拼成的细丝，贴在质膜下面；它靠不同的结合蛋白扎成不同的结构，细胞的形状、爬行和收缩都靠它

- **肌动蛋白**（actin）：微丝的主要结构成分，是大多数真核细胞里含量最丰富的蛋白质之一（肌细胞占总蛋白 10% 以上，非肌细胞 1%～5%），进化上高度保守。分子呈球状，一条裂缝把它分成两瓣，裂缝里有一个核苷酸（ATP 或 ADP）和一个二价阳离子（Mg^{2+} 或 Ca^{2+}）的结合位点。
- 单体叫 **G-肌动蛋白**（球状，结合着 ATP，globular actin (G-actin)），聚成的纤维叫 **F-肌动蛋白**（filamentous actin (F-actin)）。微丝的主要成分是肌动蛋白和肌动蛋白结合蛋白。
- 组装三步：**成核**（几个单体先凑成一个核，最慢，是限速步骤，nucleation）→ **延长**（单体加到两端，**正端快、负端慢**；加上去以后 ATP 水解成 ADP，elongation）→ **稳定期**（steady state）。
- **踏车**（treadmilling）：单体浓度处在两端的临界浓度之间时，正端加上去的和负端掉下来的一样多，纤维长度不变，亚基却在里面从正端“流”向负端。

药物	作用
细胞松弛素（cytochalasin）	抑制微丝的组装（结合在微丝末端、阻止这一端聚合，并能切断微丝，对解聚影响不大；别的书说封住的是正端；2022 年真题的说法是“特异性结合肌动蛋白单体，抑制微丝组装”）

药物	作用
鬼笔环肽（phalloidin）	结合并稳定微丝，不让它解聚；接上荧光染料用来显示微丝

- 由微丝构成的结构和功能，各举一例：
  - **微绒毛**（microvillus）：小肠上皮表面，轴心是一束平行的微丝，是永久性的结构，扩大吸收面积。
  - **细胞皮层**（cell cortex）：紧贴质膜的细胞质区域，细胞里大部分微丝集中在这里，由微丝结合蛋白交联成凝胶态的三维网络。功能：部分微丝与膜蛋白结合，限制膜蛋白的流动；给质膜提供强度和韧性，维持细胞形状；胞质环流、阿米巴运动、变皱膜运动、吞噬都与皮层微丝网的溶胶—凝胶转化有关。
  - **应力纤维**（stress fiber）：贴壁细胞里连着黏着斑的成束微丝，含肌球蛋白，能收缩，使细胞有张力、抓牢基质。
  - **伪足**（pseudopodium (lamellipodium, filopodium)）：细胞爬行时，前缘的微丝聚合，把质膜顶出去。细胞变形运动的本质就是微丝的迅速重新组装。
  - **收缩环**（胞质分裂环，contractile ring (cytokinesis ring)）：分裂后期开始形成、末期收缩完成（课本；2021 年名解答案写“末期”），赤道处质膜下面由微丝和肌球蛋白 II 围成的一圈，收缩把细胞一分为二；用完就拆，是临时性的结构。
  - **肌肉的细肌丝**（**133 肌肉收缩**，thin filament）。
  - **胞质环流**（cytoplasmic streaming）：植物细胞里，细胞器上的肌球蛋白沿着皮层下的微丝束走，带着胞质一起流动。
- 证明胞质环流靠微丝：用荧光鬼笔环肽染色，看到微丝束顺着流动的方向排列；加细胞松弛素，环流停下，洗掉药又恢复；加破坏微管的秋水仙碱，环流不受影响。

外校热点 微丝构成的一个永久性结构和一个临时性结构（2025 华东师范大学）——永久的如微绒毛（平行微丝束，扩大吸收面）、肌肉的细肌丝；临时的如收缩环（分裂时组装，分完就拆）、伪足、应力纤维。〔660〕

近五年考了 4 卷 细22 细23 细24 细26　**真题 13 道** 细胞 10 12 15 16 17 18 21 22 23 24 26

130 微管是微管蛋白二聚体围成的空心管，从中心体向四周辐射；它的末端忽长忽缩，药物只要冻住或拆掉这种动态，细胞就分裂不了 ●

- 结构：α/β-微管蛋白二聚体头尾相接成原纤丝，13 根原纤丝围成管。露着 β 的一端长得快，是**正端**（plus end）；另一端是**负端**（minus end）。
- 体外组装分两个阶段（课本）：**成核**（α/β 二聚体纵向聚合成短原纤丝，再侧向扩展成片，宽到约 13 根时合拢成管，nucleation）→ **延伸**（elongation）（结合 **GTP** 的二聚体加到两端，加上去以后 β 亚基上的 GTP 水解成 GDP）。体内的成核靠 γ-微管蛋白环状复合物。（有的书再分出一个平衡期，并说成核最慢、是限速步骤。）促进组装的因素：GTP、Mg^{2+}、适宜的温度、微管结合蛋白；低温和高浓度 Ca^{2+} 使它解聚。
- **微管组织中心（MTOC）**（microtubule organizing center）：细胞里微管开始组装的地方，如**中心体**（centrosome）、纤毛的基体。中心体里的 γ-微管蛋白环状复合体给出 13 根原纤丝的模板，省掉了慢的成核；微管的负端埋在中心体里，正端朝外生长。
- **动态不稳定性**（dynamic instability）：同一根微管在缓慢生长和迅速缩短之间随机切换。
  - 末端有一圈还没水解的 GTP-微管蛋白（**GTP 帽**（GTP cap））时稳定、继续长；
  - 加得慢了，水解追上来，末端成了 GDP-微管蛋白，原纤丝向外卷，迅速解聚。
  - 一根正在缩短的微管要转成伸长，末端必须重新戴上 GTP 帽，这要求游离的 GTP-微管蛋白浓度够高；溶液里只有 GDP 时微管只拆不长；换成不能水解的 GTP 类似物，帽子永远在，微管只长不拆。
- **踏车**（treadmilling）：正端加、负端掉，长度不变。
- **微管结合蛋白（MAP）**（microtubule-associated protein）：用温度敏感的组装/解聚循环纯化微管蛋白时，始终伴随微管组装而存在于体系中的一类蛋白质，按电泳分子量命名为 MAP1、MAP2、MAP4、tau 等。它们有几个带正电的微管结合结构域，与带负电的微管表面结合，把相邻的微管蛋白亚基交联起来，促进组装、增加稳定性，并在微管之间或微管与别的结构之间形成横桥。

药物	作用	用途
秋水仙碱（及诺考达唑，colchicine**）**	结合游离的微管蛋白，阻止组装，微管只拆不装	使细胞停在中期，做核型分析、诱导多倍体；治痛风
紫杉醇（taxol）	结合微管，阻止解聚，微管只装不拆	抗癌

- 两类药方向相反，结果一样：纺锤体没有了动态，细胞停在分裂期。

存在形式	在哪
单管（singlet microtubule）	胞质里的微管、纺锤体微管
二联管（doublet microtubule）	纤毛和鞭毛的轴丝（**9 + 2**：外围 9 组二联管，中央 2 根单管）

存在形式	在哪
三联管（triplet microtubule）	中心粒和基体（9 组三联管围成桶状，中央没有微管）；每组里 A 管是 13 根原纤丝的完整微管，B、C 管不完整、与相邻的管共用管壁

- 功能：维持细胞形态；细胞内运输的轨道（膜泡、细胞器的定位）；组成纺锤体；组成纤毛和鞭毛。
- 用荧光显微镜看活细胞里微管的动态：把荧光标记的微管蛋白导入细胞（或表达 GFP-微管蛋白），延时拍摄单根微管末端的伸缩；或做荧光漂白恢复。

近五年考了 2 卷 细23 细24　**真题 13 道** 细胞 07 08 09 11 13 15 18 21 23 24

131 中间丝的亚基先两两并排、再反向对拼，头尾方向互相抵消，所以没有极性；它最稳定，专门抗拉

- 组装（解释为什么没有极性）：
  - 单体：中间一段是 α-螺旋的杆状区，两头是可变的头和尾。
  - 二聚体：两个单体杆状区**平行**（parallel）并排，拧成双股卷曲螺旋——这时还有方向。
  - 四聚体：两个二聚体**反向平行**（antiparallel）、错开半个身位拼在一起——方向从这一步起互相抵消。
  - 四聚体再首尾相接、侧向并拢，成为 10 nm 的纤维。
  - 所以它两端一样，不踏车；组装不需要 ATP 或 GTP；装和拆靠磷酸化调节（磷酸化使它解聚）。
- 种类有组织特异性：上皮细胞是角蛋白，间充质细胞是波形蛋白，肌细胞是结蛋白，神经元是神经丝蛋白；动物细胞的核里普遍有**核纤层蛋白**（有的动物，如果蝇，只有核纤层蛋白、没有胞质中间丝，lamin）；但植物基因组里没找到中间丝基因，酵母也没有核纤层。因此可以用来判断肿瘤是从哪种组织来的。
- 功能：
  - 在胞质里织成网，承受和分散机械拉力；上皮细胞的角蛋白丝经桥粒、半桥粒与相邻细胞和基膜相连，使整片组织抗拉（**139 细胞连接**）。
  - 核纤层支撑核膜，分裂时磷酸化解聚、末期重建（**80 细胞核**）。
  - 把微管、微丝和细胞连接连成整体，帮细胞器定位。

真题 4 道 细胞 07 11 25

纤维上的运动

132 纤维只是轨道，在上面拉货、发力的是马达蛋白：烧 ATP 换来构象变化，沿着纤维朝一个固定的方向一步一步走

- 共同点：一头是结合纤维、有 ATP 酶活性的马达结构域，另一头结合货物；水解 ATP 引起构象变化，沿纤维定向移动。

马达	轨道	方向	干什么
肌球蛋白（myosin）	微丝	多数走向正端	II 型组成肌肉的粗肌丝；非肌细胞里管收缩环、胞质环流、短途运输
驱动蛋白（kinesin）	微管	多数走向**正端**（细胞周边，plus end）	把膜泡、细胞器往外运；轴突的顺向运输
胞质动力蛋白（cytoplasmic dynein）	微管	走向**负端**（细胞中心，minus end）	往里运；轴突的逆向运输；纺锤体的组装和定位

- 细胞里借微管运膜泡的马达分子就是驱动蛋白和动力蛋白。
- **动力蛋白**（dynein）：利用水解 ATP 的能量沿微管向负端运动的马达蛋白，重链含 ATP 结合部位和微管结合部位，是已知马达蛋白中最大、移动最快的；分胞质动力蛋白和轴丝动力蛋白两组。**胞质动力蛋白**介导内体、溶酶体、高尔基体等膜泡向细胞中心的运输（轴突逆向运输），参与动粒和纺锤体的定位、后期染色体的分离。2011 年考过“微管动力蛋白”（microtubule dynein），课本没有这个词，《狂背》按胞质动力蛋白答；稳妥的写法是先给动力蛋白总的定义，两组都写。
- **轴丝动力蛋白**（纤毛、鞭毛动力蛋白，axonemal dynein）：长在纤毛、鞭毛的二联管上，一条臂抓着相邻的二联管走，使相邻二联管相对滑动；二联管之间有连接拴着，滑动就变成了纤毛的弯曲摆动。

真题 5 道 细胞 07 08 11 12 14

133 肌肉把这套办法用到了极致：粗丝上的肌球蛋白头抓住细丝往中间拉，一拉一放烧一个 ATP；拉不拉，由 Ca^{2+} 说了算

- 肌节的结构：两条 Z 线之间是一个肌节。**粗肌丝**（thick filament）由肌球蛋白 II 组成，在中间（A 带）；**细肌丝**（thin filament）由 F-肌动蛋白、**原肌球蛋白**（tropomyosin）和**肌钙蛋白**（troponin (Tn)）组成，一头锚在 Z 线上。

- **滑行学说**（sliding filament model）：收缩时粗、细肌丝的长度都不变，只是细肌丝向肌节中央滑进去。所以 **A 带长度不变，I 带和 H 带变窄**。
- **横桥循环**（课本分成 6 步，每循环一次消耗 1 个 ATP；这里并成四步，cross-bridge cycle）：
  - 起点：没有 ATP 时，肌球蛋白头与细肌丝紧紧结合（僵直状态）。
  - ① ATP 结合到肌球蛋白头上，头与肌动蛋白**脱开**；
  - ② ATP 水解成 ADP 和 Pi，头向前摆，搭到细肌丝上靠前的一个位点；
  - ③ Pi 放出，结合变牢；
  - ④ **发力冲程**（power stroke）：头摆回去，把细肌丝拉向肌节中央，ADP 放出。
  - 所以 ATP 的作用是让头“松手”；人死后没有 ATP，头松不开，肌肉僵硬。
- Ca^{2+} 怎样当开关：
  - 安静时，原肌球蛋白盖住了肌动蛋白上供肌球蛋白头结合的位点。
  - 神经冲动传来 → **肌质网**（sarcoplasmic reticulum）放出 Ca^{2+} → Ca^{2+} 结合肌钙蛋白（Tn-C 亚基）→ 肌钙蛋白变构，推着原肌球蛋白挪开，位点露出来 → 横桥循环开始。
  - 冲动停了，肌质网的钙泵把 Ca^{2+} 泵回去，原肌球蛋白复位，肌肉舒张。
- **肌钙蛋白**有三个亚基：Tn-C 结合 Ca^{2+}，Tn-T 连着原肌球蛋白，Tn-I 抑制肌球蛋白马达结构域的 ATP 酶活性（课本、2022 年名解答案；有的书写成“抑制肌动蛋白与肌球蛋白结合”）。细肌丝上每隔 40 nm 有一个肌钙蛋白复合体。
- 非肌细胞的爬行四步（课本）：前端微丝聚合，伸出突起（片足、丝足）→ 突起与基质形成新的锚定点（黏着斑）→ 以附着点为支点，胞体前移 → 后部附着点与基质脱离，尾部前移（后部微丝和肌球蛋白收缩提供拉力）。

真题 4 道 细胞 14 15 17 22

> 骨架最大的一场表演是细胞分裂：微管搭起纺锤体把染色体分开，微丝勒出两个细胞。可什么时候该分、凭什么保证分得不出错？

细胞周期与分裂

细胞周期由周期蛋白和 CDK 组成的引擎推着走：周期蛋白按时合成、按时降解，CDK 的活性随之起落，一磷酸化底物分裂就开始；每到关口都有检查点把关，没做完、做错了就不许往下走

周期怎样走

134 一个细胞变成两个要走完一圈：先长大（G_1），再把 DNA 抄一份（S），再准备（G_2），最后分开（M）；暂时不分的退到圈外待着（G_0）

- **细胞增殖**（cell proliferation）：细胞通过生长和分裂使数目增加的过程。真核细胞的增殖方式是**有丝分裂**（mitosis）和**减数分裂**（meiosis），原核细胞主要是**二分裂**（binary fission）。
- **细胞周期**（cell cycle）：从上一次分裂结束到下一次分裂结束所经历的全过程，分 **G_1 期、S 期、G_2 期、M 期**四个阶段，前三个合称间期。

时期	主要事件	DNA 含量
G_1	生长，合成 RNA 和蛋白质，为复制作准备；晚期有**限制点**（restriction point (R point)）	2C
S	**DNA 复制**；同时合成组蛋白；中心体复制	2C → 4C
G_2	继续合成 RNA 和蛋白质，为分裂作准备	4C
M	有丝分裂和胞质分裂；染色质凝聚成染色体，转录基本停止	4C → 2C

- RNA 的合成主要在 G_1 期和 G_2 期。周期长短的差别主要在 G_1 期。
- **G_0 期**（G_0 phase）细胞：暂时离开周期、不分裂但保留分裂能力，受到刺激能重回周期（肝细胞、淋巴细胞）。神经元、心肌细胞这样的终末分化细胞一般不再分裂。
- 用流式细胞仪按 DNA 含量给一群细胞分类：2C 的峰是 G_1 期，4C 的峰是 G_2 期和 M 期（单看 DNA 含量分不开这两者），中间的是 S 期。
- 测各期时间和让一群细胞同步的办法见**160 示踪**。

真题 4 道 细胞 16 17 21

135 推着周期往前走的引擎是周期蛋白和它的搭档 CDK：周期蛋白攒够了，CDK 才有活性；周期蛋白一降解，CDK 就熄火

- **周期蛋白依赖性激酶（CDK）**（cyclin-dependent kinase）：一类必须与周期蛋白结合才有活性的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶，是引擎的催化亚基，含量在整个周期里基本不变。

- **细胞周期蛋白**（cyclin）：含量随细胞周期周期性地升降的一类蛋白质，是引擎的调节亚基；分子里有一段与 CDK 结合的周期蛋白框，M 期周期蛋白还有一段**破坏框**（destruction box），是被泛素化降解的信号。

时期	周期蛋白	CDK	管什么
G_1	D	CDK4、CDK6	接收生长因子的信号，推过限制点
G_1/S	E	CDK2	启动 DNA 复制
S、G_2	A	CDK2、CDK1	推进复制，并防止再复制一遍
M	**B**	**CDK1**	进入有丝分裂——这一对就是 **MPF**（maturation-promoting factor）

- **MPF（成熟促进因子，M 期促进因子）**（maturation-promoting factor / M phase-promoting factor）：使细胞从 G_2 期进入 M 期的因子；生化实质是一种蛋白激酶，由催化亚基 **CDK1**（即 p34^cdc2）和调节亚基**周期蛋白 B**（cyclin B） 组成。
- 证明 MPF 存在的实验：
  - **细胞融合**（cell fusion）：M 期细胞与间期细胞融合，间期细胞的染色质被诱导提前凝集（染色体早熟凝集）——M 期细胞里有促使染色质凝集的因子。
  - **细胞质移植**（cytoplasm transfer）：把成熟蛙卵的细胞质注进未成熟的卵母细胞，后者不用孕酮刺激也成熟。
  - 后来从海胆卵里找到含量周期性升降的周期蛋白，从酵母的周期突变体里找到 cdc2 基因；纯化的 MPF 正是这两者的复合物。
- CDK 活性的四道开关：
  - ① **周期蛋白的合成与降解**：没有周期蛋白，CDK 没有活性；M 期周期蛋白被泛素化、由蛋白酶体降解，CDK 失活。
  - ② **CDK 自身的磷酸化**：一个位点（Thr161）必须磷酸化才有活性；另两个位点（Thr14、Tyr15）磷酸化是抑制，要由磷酸酶 **Cdc25** 去掉才行。活化了的 CDK1 又反过来激活 Cdc25，这是正反馈，所以 MPF 是一下子全打开的。
  - ③ **CDK 抑制蛋白**（CDK inhibitor (CKI)）：p21、p27、p16 结合上去就把它关掉。
  - ④ 周期蛋白和 CDK 的合成速度受生长因子信号控制。
- MPF 打开以后磷酸化一批底物，分裂的各种现象就出现了：**核纤层蛋白**（lamin）磷酸化 → 核纤层解聚、核膜崩解；**组蛋白 H1**（histone H1） 等磷酸化 → 染色质凝集；核仁蛋白磷酸化 → 核仁解体；微管结合蛋白磷酸化 → 纺锤体组装。

外校热点 G_2/M 转换时 CDK1 的活性怎样综合调控（2025 东北林业大学）；周期蛋白 B 的浓度和 CDK1 活性的关系（2025 浙江师范大学）——周期蛋白 B 在间期逐渐积累，与 CDK1 结合后 Wee1/Mik1 激酶和 CDK 活化激酶把 CDK1 的 Thr14、Tyr15、Thr161 都磷酸化，此时仍无活性（前体 MPF）；Cdc25C 去掉 Thr14、Tyr15 上的磷酸，CDK1 才活化，又反过来激活 Cdc25，一下子全打开；到中期后期之交，APC 使周期蛋白 B 泛素化降解，CDK1 随即失活。所以 CDK1 活性在 M 期达到顶点，比周期蛋白 B 的升降更陡。〔660〕

真题 5 道 细胞 07 11 13 15 25

136 有丝分裂把复制好的两套染色体平分：纺锤体微管从两极抓住每条染色体的两侧，全都抓稳、排到赤道上，才剪断连着姐妹染色单体的箍，一边一条拉开

时期	事件
前期	染色质凝集成染色体（每条由两条**姐妹染色单体**（sister chromatids）组成）；核仁解体；复制好的两个中心体分向两极，纺锤体开始组装
前中期	核膜崩解（前期末到前中期，MPF 把核纤层蛋白**磷酸化**（phosphorylation），核纤层解聚，核膜随之破裂成小泡）；纺锤体装配完成，动粒微管抓住染色体的动粒
中期	染色体排在**赤道板**（metaphase plate）上
后期	姐妹染色单体分开，移向两极
末期	染色单体到达两极，解凝集；核纤层去磷酸化，核膜、核孔复合体、核仁重建
胞质分裂	动物细胞靠收缩环缢裂；植物细胞靠成膜体造出细胞板

- **纺锤体**（spindle）：细胞分裂过程中一种与染色体分离直接相关的**细胞器**，由微管和微管结合蛋白组成，把染色体分向两极。微管分三种：**动粒微管**（kinetochore microtubule）（前中期从两极发出的微管以正端捕获染色体，与姐妹染色单体两侧的动粒结合而成；后期 A 在动粒一端解聚变短，把染色单体拉向两极）、**极微管**（从两极伸出，在中部交错重叠，polar microtubule）、**星体微管**（从中心体向四周放射，astral microtubule）。
- 动物细胞的纺锤体两极有中心体和星体微管，叫有星纺锤体；高等植物细胞没有中心体，纺锤体两极没有星体微管，叫无星纺锤体。

- **动粒**（kinetochore）：装配在着丝粒外侧的蛋白质结构，是动粒微管的附着点；它还负责监视微管连好了没有。**中心体**（centrosome）是动物细胞的微管组织中心，在 S 期复制，分裂时分到两极，决定纺锤体是两极的。
- 染色体怎样排到赤道板上：两极发出的微管分别抓住一条染色体两侧的动粒，染色体被来回拉扯，直到两边的力平衡（牵拉假说：动粒微管越长拉力越大；外推假说：离极越近受到的排斥力越大）。意义：只有两侧都被相反两极的微管抓住的染色体才排得上去，这保证了后期每个子细胞各得一条染色单体。
- 中期到后期的开关：
  - 姐妹染色单体从复制起就被**黏连蛋白**（cohesin）的环箍在一起。
  - 所有动粒都连好以后，**后期促进复合体（APC）**（anaphase-promoting complex）被激活。它是一种泛素连接酶：一方面把分离酶的抑制蛋白泛素化降解，放出的**分离酶**（separase）剪断黏连蛋白，姐妹染色单体同时分开；另一方面把**周期蛋白 B**（cyclin B）泛素化降解，MPF 失活，细胞才能退出分裂期。降解不可逆，所以这一步只能向前。
- 后期的两种运动：
  - **后期 A**（anaphase A）：动粒微管缩短（主要在连着动粒的**正端**（plus end）解聚），加上动粒上马达蛋白的牵引，染色单体移向两极。
  - **微管蛋白流**（microtubule flux）：分裂期纺锤体里，动粒微管的亚基在动粒一端不断加入、在纺锤体极一端不断解聚，微管整体持续地从动粒向极部移动；可以看成纺锤体里的踏车行为（又称微管通量，microtubule flux）。
  - **后期 B**（anaphase B）：极微管伸长，重叠区的马达蛋白使来自两极的极微管相对滑动，把两极推开；星体微管被皮层上的动力蛋白往外拉。
- **胞质分裂**（cytokinesis）：动物细胞在赤道处的质膜下形成**收缩环**（**129 微丝**，contractile ring (cytokinesis ring)），收缩把细胞缢成两个。植物细胞有细胞壁，缢不动：在两个子核之间由微管和高尔基体来的小泡组成**成膜体**（phragmoplast），小泡融合成**细胞板**（cell plate），向四周扩展成新的细胞壁。

易错 核膜崩解是因为核纤层蛋白被磷酸化，不是被降解；核纤层蛋白被 MPF 磷酸化从前期开始，前中期核膜崩解；末期去磷酸化、核膜重建。染色体向极运动主要靠动粒微管在动粒一端（正端）解聚，不是负端。

外校热点 微丝和微管在有丝分裂中各干什么（2026 东北林业大学）——微管组成纺锤体：动粒微管抓住、整列、拉开染色体，极微管把两极推开，星体微管给纺锤体定位；微丝在后期、末期组成收缩环完成胞质分裂，皮层的微丝也帮着给纺锤体定位。〔660〕

近五年考了 4 卷 细22 细24 细25 细26　**真题 18 道** 细胞 08 10 12 13 14 16 17 22 24 25 26

137 每到关口都有检查点：没准备好、DNA 坏了、染色体没连好，周期就停下来等；G_1 晚期还有一个“要不要开工”的限制点 ●

- **限制点**（酵母里叫起始点，restriction point (R point)）：G_1 晚期的一个决定点。营养和生长因子不够，细胞过不去，退到 G_0；一旦过了这一点，细胞就不再依赖生长因子，一定会进入 S 期、走完这一圈。
- 过限制点的分子过程：生长因子 → 信号通路（**126 受体酪氨酸激酶**）→ 周期蛋白 D 增多 → 周期蛋白 D-CDK4/6 磷酸化 **Rb 蛋白**（retinoblastoma protein）→ Rb 放开转录因子 **E2F** → E2F 开启 DNA 复制所需的基因（周期蛋白 E、DNA 聚合酶等）。
- **检查点**（checkpoint）：细胞周期某些关键时刻存在的一套监控机制，能鉴别周期进程中的错误并诱导产生特异的抑制因子，使后一个事件的开始依赖于前一个事件的完成，保证周期各时相有序进行；包括 G_1 期检查点（哺乳动物叫限制点）、S 期检查点（DNA 复制检查点）、G_2 期检查点和纺锤体组装检查点。（《狂背》2024 年答案按“限制点”写：G_1 晚期决定细胞能否进入 S 期的一个特定时期。）

检查点	查什么	不合格怎么停
G_1/S	DNA 有没有损伤	不让进 S 期
S 期	复制是否正常进行	减慢复制
G_2/M	DNA 是否复制完、有没有损伤	不让进 M 期
纺锤体组装检查点（中期，spindle assembly checkpoint**）**	是不是每个动粒都被微管正确连上	不激活 APC，停在中期

- DNA 损伤时 G_1 检查点怎样起作用（以晒伤为例）：紫外线造成 DNA 损伤 → 感受损伤的激酶 **ATM/ATR** 被激活 → 磷酸化 **p53**，使它不被降解而积累 → p53 作为转录因子开启 **p21** 基因 → p21 抑制周期蛋白-CDK → Rb 不被磷酸化、E2F 放不出来 → 细胞停在 G_1 期，先修 DNA。
- 损伤太重修不了：p53 转而开启促凋亡的基因，让细胞凋亡（**147 凋亡的执行**），免得带着突变传下去。
- p53 有缺陷的细胞没有这道闸，带着损伤照样复制，突变越积越多，所以约一半的人类肿瘤里 p53 是突变的。

外校热点 从周期蛋白-CDK 和检查点两方面分析癌细胞为什么增殖失控（2026 湖南师范大学）——油门踩死：周期蛋白 D 过量表达、CDK4 扩增；刹车失灵：p16、p21 失活，Rb 突变后 E2F 一直放着；检查点失灵：p53 突变，DNA 坏了也不停；纺锤体组装检查点有缺陷，染色体分错，变成非整倍体。〔660〕

近五年考了 2 卷 细24 细26 **真题 5 道** 细胞 09 10 12 24 26

138 生殖细胞要把染色体数减半，用的是减数分裂：复制一次、连分两次，第一次分开的是同源染色体，途中还交换了片段 ○

- **减数分裂**（课本，meiosis）：一种特殊的有丝分裂形式，仅发生于有性生殖细胞形成过程中的某个阶段（动物在形成配子时，高等植物在形成孢子时）；DNA 复制一次、细胞连续分裂两次，子细胞染色体数目减半。
- 关键都在减数第一次分裂的**前期 I**（prophase I），分五个亚期：细线期 → **偶线期**（同源染色体配对，叫**联会**（synapsis），形成**联会复合体**（synaptonemal complex），zygotene）→ **粗线期**（同源染色体的非姐妹染色单体之间**交换**（crossing-over）片段，即同源重组，pachytene）→ 双线期（联会复合体解体，同源染色体只在交叉处相连）→ 终变期。

	有丝分裂	减数分裂
发生在	体细胞	形成配子的生殖细胞
复制与分裂	复制一次，分裂一次	复制一次，**分裂两次**
同源染色体	不配对	**联会、交换**
着丝粒	后期分裂，姐妹染色单体分开	**第一次分裂时不分裂**，分开的是同源染色体；第二次才分裂
子细胞	2 个，染色体数不变，遗传组成相同	4 个，染色体数**减半**，遗传组成各不相同
意义	保持遗传的稳定	保持物种染色体数恒定；产生变异

- 相同点：都先复制 DNA；都靠纺锤体分开染色体；都有核膜的解体与重建、染色体的凝集与解凝集。
- 减数分裂为什么有利于物种的多样化：粗线期的**交换**使同一条染色体上的基因重新组合；中期 I 各对同源染色体的**取向互相独立**，n 对染色体能排出 2^n 种配子；受精时两个各不相同的配子再随机结合。

真题 5 道 细胞 16 17

> 一个受精卵这样一分再分，得到的是一大堆一模一样的细胞。可身体里有两百多种细胞，各干各的，又紧紧连成组织。

细胞社会

细胞靠三类连接结成组织：一类封口，一类把相邻细胞的骨架铆在一起，一类开通道；细胞之间的空隙由自己分泌的基质填上。结成组织的细胞各干各的，靠的是同一套基因里各自只开一部分；还保留着什么都能变的，就是干细胞

连在一起

139 多细胞生物的细胞要连成片才成组织。连接按功能分三类：封闭连接把缝堵死，锚定连接把相邻细胞的骨架铆在一起，通讯连接在细胞之间开出通道 ●

类型	名称	位置与结构	胞内连着	功能
封闭连接（occluding junction）	**紧密连接**（tight junction）	上皮细胞侧面最靠顶端；相邻质膜上的跨膜蛋白（闭合蛋白 occludin、密封蛋白 claudin）成排对接，像一道道焊缝	—	① 封住细胞间隙，物质只能穿过细胞走；② 像栅栏一样挡住膜蛋白在顶面和基底侧面之间扩散，维持上皮细胞的**极性**（polarity）
锚定连接（anchoring junction）	**黏着带**（黏着连接，adhesion belt）	紧密连接下方；钙黏蛋白对接	**微丝**（microfilament）	细胞与细胞相连
	桥粒（desmosome）	钙黏蛋白对接，胞质面有致密的斑	**中间丝**（intermediate filament）	细胞与细胞相连，像铆钉；使整片上皮抗拉
	黏着斑（focal adhesion）	**整联蛋白**（integrin）结合细胞外基质	**微丝**	细胞与基质相连
	半桥粒（hemidesmosome）	上皮细胞基底面；**整联蛋白**结合基膜里的层粘连蛋白	**中间丝**	把上皮细胞铆在基膜上

类型	名称	位置与结构	胞内连着	功能
通讯连接（communicating junction）	**间隙连接**（gap junction）	6 个连接子蛋白围成一个**连接子**（connexon），相邻两个细胞的连接子对接成一条直径约 1.5 nm 的亲水通道	—	离子和小分子（cAMP、Ca^{2+}、葡萄糖）直接从一个细胞进到另一个，实现**代谢偶联和电偶联**（心肌同步收缩，metabolic coupling and electrical coupling）；蛋白质、核酸过不去
	胞间连丝（plasmodesma）	植物；见**142 植物细胞的特殊结构**	—	植物细胞间通讯的主要形式
	化学突触	神经细胞之间、神经与肌肉之间	—	靠神经递质传递信号

- 记法：锚定连接看“连的是谁、牵的是哪种骨架”——牵微丝的是黏着带和黏着斑，牵中间丝的是桥粒和半桥粒；带“半”字和“斑”字的是细胞连基质，用整联蛋白，其余是细胞连细胞，用钙黏蛋白。
- 桥粒和半桥粒形态相似，成分和功能不同：桥粒连的是两个细胞、用钙黏蛋白；半桥粒连的是细胞和基膜、用整联蛋白。
- 小肠上皮吸收葡萄糖时，顶面和基底面的转运蛋白各就各位，靠的就是紧密连接（**39 协同运输**）。

外校热点 血脑屏障的紧密连接挡住了药物，免疫细胞为什么能过去（2025 华中科技大学）——药物只能被动地扩散，而白细胞是主动穿越：先靠内皮细胞上的选择素松散黏着、在血管壁上滚动，再活化自身的整联蛋白牢牢粘住，然后从内皮细胞之间（细胞连接暂时松开）或穿过内皮细胞挤出去。〔660〕

外校热点 半桥粒和黏着斑的区别（2026 华南农业大学）——都是细胞连基质、都用整联蛋白；半桥粒牵中间丝、连基膜里的层粘连蛋白，把上皮铆在基膜上；黏着斑牵微丝、连胶原和纤连蛋白，维持运动中的张力，还向胞内传递影响生长的信号。〔660〕

近五年考了 2 卷 细24 细25　**真题 4 道** 细胞 14 24 25

140 细胞之间先要互相认出来、粘得住，靠的是膜上的四类黏着分子

- **细胞识别**（cell recognition）：细胞通过表面的受体与别的细胞或细胞外物质上的配体专一地相互作用，认出对方是不是同类，从而引发黏着和后续反应。分子基础主要是细胞表面糖蛋白、糖脂的糖链和认糖链的凝集素。

黏着分子	要不要 Ca^{2+}	认谁	在哪起作用
钙黏蛋白（cadherin）	要	同种分子（同亲型）	同类细胞粘在一起；黏着带、桥粒；胚胎发育中组织的形成
选择素（selectin）	要	对方细胞表面的糖链	白细胞贴着血管内皮滚动、穿出血管
免疫球蛋白超家族	不要	同种或异种分子	神经细胞之间、免疫细胞之间
整联蛋白（integrin）	要 Ca^{2+} 或 Mg^{2+}	细胞外基质（纤连蛋白上的 **RGD** 序列、层粘连蛋白）	细胞粘在基质上；黏着斑、半桥粒

- **整联蛋白**：由 α、β 两个亚基组成的跨膜蛋白，膜外一头抓着基质，膜内一头经衔接蛋白连着微丝（或中间丝）；它还能把“粘上了没有”的信息双向传递——细胞因此知道自己有没有着落。
- 肿瘤细胞之间的黏着比正常细胞弱（钙黏蛋白减少），所以容易散开、转移。

真题 3 道 细胞 11 17 23

141 细胞之间的空隙由细胞自己分泌的蛋白质和多糖填满，叫细胞外基质：胶原抗拉，蛋白聚糖抗压，黏着糖蛋白把细胞粘在上面

- **细胞外基质**（extracellular matrix (ECM)）：分布在细胞外空间、由细胞分泌的蛋白质和多糖组成的复杂网络，结缔组织里最多。

成分	成员	作用
结构蛋白	**胶原**（最多，collagen）、弹性蛋白	胶原给**抗张强度**（tensile strength）；弹性蛋白给弹性
蛋白聚糖（proteoglycan）**和糖胺聚糖**	蛋白聚糖、透明质酸	带大量负电，吸水成凝胶，**抗压**；留出让小分子扩散的孔隙；结合并储存生长因子
黏着糖蛋白	**纤连蛋白**（fibronectin）、**层粘连蛋白**（laminin）	一头结合细胞表面的整联蛋白，一头结合胶原和蛋白聚糖，把细胞和基质连起来

- 功能：支撑组织，做器官的框架；决定组织的力学性质；给细胞提供着落，影响细胞的形状、存活、增殖、迁移和分化；当分子筛；储存和传递信号分子。
- **胶原**的结构见**13 二级结构**。它的装配顺序：在粗面内质网上合成前 α 链 → 在内质网腔里 Pro、Lys 被**羟化**（要维生素 C）并糖基化 → 三条链缠成三股螺旋（前胶原）→ 分泌到细胞外，切掉两端的前肽成为胶原分子 → 错开排列成胶原原纤维 → 分子之间由赖氨酸形成**共价交联**加固 → 聚成胶原纤维。缺维生素 C 羟化不成，三股螺旋不稳，是坏血病的原因。

- **基膜**（basal lamina (basement membrane)）：垫在上皮细胞基底面下面的一层特化的细胞外基质，把上皮和结缔组织隔开；成分是 IV 型胶原、层粘连蛋白、巢蛋白和基膜蛋白聚糖。作用：支撑、当过滤的屏障（肾小球）、给细胞附着和迁移提供底子。

近五年考了 2 卷 细25 细26　**真题 6 道** 细胞 08 11 14 25 26

142 植物细胞外面裹着一层壁，粘不到一起也挪不了地方，于是用的是另一套：细胞壁管支撑，胞间连丝穿过壁管通讯

- 与动物细胞相比，植物细胞特有的结构：
  - **细胞壁**（cell wall）：纤维素微纤丝埋在果胶、半纤维素等基质多糖里，分**中间层**（胞间层，主要是果胶，middle lamella）、初生壁、次生壁。维持形状，顶住膨压，提供机械支持和保护。
  - **大液泡**（central vacuole）：储存水、盐、糖、色素和废物；吸水产生膨压使细胞挺立；里面有水解酶，相当于溶酶体。
  - **质体**（plastid）：叶绿体、白色体、有色体（**58 光反应**）。
  - **胞间连丝**（plasmodesma）。
  - 分裂时没有中心体，靠成膜体造细胞板（**136 有丝分裂**）。
- **胞间连丝**：穿过细胞壁、连通相邻细胞的管状通道。外面一圈是相邻两个细胞**连在一起的质膜**，中央是由光面内质网延伸成的**链样管**（desmotubule），两者之间是胞质构成的环孔。它相当于动物的间隙连接，把相邻细胞的胞质连成一体（**共质体**（symplast））。
  - 形成：多在胞质分裂时，细胞板上留下没封死的孔，里面夹着内质网；以后也能在已有的壁上新开。
  - 对运输的调节：正常只让分子量 **1000 以下**的分子自由通过。
  - 随环境和发育改变：烟草花叶病毒编码的**运动蛋白**（movement protein）能把孔径撑大，病毒的核酸由此传到邻近细胞；烟草叶肉发育早期能过 50 kDa 的蛋白质，成熟以后连丝呈分枝状，只过分子量约 400 的物质。
- **传递细胞**（transfer cell）：植物体内物质转移频繁的部位的一类特化细胞，细胞壁向内长出许多突起，质膜面积大增，胞间连丝也多，适于短距离的吸收和分泌。

	植物细胞壁	动物细胞外被（糖萼）
位置	质膜之外，厚	质膜外表面，薄
成分	纤维素、半纤维素、果胶，还有木质素和蛋白质	膜蛋白和膜脂上共价连着的糖链
与质膜的关系	独立的一层	是质膜的一部分
功能	机械支持和保护，维持形状，承受膨压	保护细胞表面，参与细胞识别
相同	都在质膜外，都含多糖，都有保护作用，都参与细胞与外界的识别和信息交流	同左

真题 8 道 细胞 07 09 10 11 13 14 21

各干各的

143 连成组织的细胞各有分工，可它们带的基因一模一样：分化的实质是基因的选择性表达，而且一旦定下就记得住

- **细胞分化**（cell differentiation）：个体发育中，同一来源的细胞经过分裂，在**形态结构**和**生理功能**上产生稳定性差异的过程。要产生不同类型的细胞，靠的是分化，不是分裂。
- 实质：基因的选择性表达——管家基因各种细胞都表达，奢侈基因只在特定的细胞里表达（**112 调控的层次**）。遗传物质一般不变。
- 特点：
  - **稳定**：分化状态一般不可逆，经过分裂仍然保持。
  - 有时间和空间的特异性。
  - **遗传物质不丢**：已分化细胞的核仍有全能性（克隆羊）；植物的体细胞还能长成完整植株。
  - 贯穿一生，胚胎期最旺盛。
- **全能性**（totipotency）：细胞具有发育成完整个体的能力。个体发育中细胞潜能的变化规律是 **全能 → 多能 → 单能**；分化程度越高，全能性越低。
- **细胞决定**（cell determination）：在出现可见的形态差别之前，细胞将来往哪个方向分化就已经定下来了。决定早于分化；定下来的状态靠转录因子的正反馈环和**117 表观遗传**记住。
- 机制：
  - 少数几种调节蛋白的**组合**决定开哪些基因（**116 真核基因的激活**）；一个主导的调节蛋白能启动一整套下游基因。
  - 表观遗传把不用的基因长期关掉，并随分裂传下去。

- 转录后的调节（选择性剪接、miRNA）。
- 极少数细胞在 DNA 上动手脚（马蛔虫体细胞的染色体消减、B 淋巴细胞的抗体基因重排）。

- 影响分化的因素：
  - **卵细胞质的不均一**：母亲存在卵里的 mRNA 和蛋白质分布不均，卵裂后各个细胞分到的不一样（果蝇卵里 Bicoid 蛋白的浓度梯度定出头尾）。
  - **细胞之间的相互作用**：一群细胞发出信号，决定邻近细胞的分化方向（**胚胎诱导**（embryonic induction））；细胞所处的位置。
  - 激素和环境。
- 核与质的相互作用：胞质里的成分决定核里开哪些基因；核转录出的 mRNA 又决定胞质里造什么蛋白质。把分化细胞的核移进去核的卵细胞能发育成个体，用卵细胞的胞质，是因为里面储存着能抹掉分化记号、重新启动胚胎发育的因子。
- **去分化**（dedifferentiation）：已分化的细胞失去特化的特征，回到未分化的状态。**转分化**（transdifferentiation）：一种已分化的细胞转变成另一种（另一谱系的）分化细胞；往往经历去分化和再分化，但不必先退回成 iPS 那样的多潜能干细胞。
- **终末分化细胞**（terminally differentiated cell）：分化到最后一步、一般不再分裂也不再变成别的细胞的细胞（神经元、心肌细胞、成熟红细胞）。肝细胞、肾细胞是已分化的细胞，不再有分化能力；胚胎细胞、骨髓干细胞、祖细胞有。

近五年考了 4 卷 细22 细24 细25 细26　**真题 18 道** 细胞 07 12 16 17 22 24 25 26

144 没分化、既能复制自己又能变成别的细胞的，是干细胞；按能变出多少种细胞分四等。已经分化的细胞也能用几个转录因子倒回去

- **干细胞**（stem cell）的两个本事：**自我更新**（分裂后至少有一个子细胞还是干细胞，self-renewal）和**分化潜能**（differentiation potential）。

等级	能变成什么	例
全能干细胞（totipotent stem cell）	一个完整的个体（三个胚层加胚外组织）	受精卵、早期卵裂球
多潜能干细胞（pluripotent stem cell）	三个胚层的各种细胞，但不能单独发育成个体	**胚胎干细胞**（来自囊胚的内细胞团，embryonic stem cell (ES cell)）、诱导多能干细胞
多能干细胞（multipotent stem cell）	某一个谱系里的多种细胞	造血干细胞、间充质干细胞、神经干细胞

易错 名字容易混：pluripotent 是多潜能，multipotent 是多能。2016 年题面写“多功能干细胞（pluripotent）”，要按多潜能干细胞答。

单能干细胞（unipotent stem cell）	**一种（或密切相关的几种）细胞**	**表皮基底层的干细胞、肌卫星细胞**

- 课本举的单能例子是生殖嵴干细胞（只产生生殖细胞），可课本另一处又把它列为多潜能；遇题看题干怎么问。
- **胚胎干细胞**：来自胚胎发育早期囊胚内细胞团的一种高度未分化的细胞，具有在体外培养时无限增殖、自我更新和多向分化的特性。
- **诱导多能干细胞（iPS 细胞）**（induced pluripotent stem cell (iPS cell)）：山中伸弥（2006）把 **Oct4、Sox2、c-Myc、Klf4** 四个转录因子的基因导入小鼠成纤维细胞，使已分化的体细胞**重编程**（reprogramming），回到类似胚胎干细胞的状态。
  - 好处：用病人自己的细胞，避开了用胚胎的伦理问题，也少了免疫排斥。
  - 隐患：c-Myc 是原癌基因（课本只点名它；2022 年真题题干和学习指南说 c-Myc、Klf4 都是癌基因），有致瘤的危险，不用 c-Myc 也能诱导出 iPS 细胞；病毒载体随机插进染色体，可能打坏别的基因。
  - 对策：换用不整合进染色体的载体，或直接导入这几个因子的 mRNA、蛋白质；去掉或替换 c-Myc；改用小分子化合物诱导；移植前先让细胞充分分化、剔除没分化的。
  - 把四个外来基因去掉，细胞不会自己变回成纤维细胞：它们只是点火，重编程完成后细胞自己的多能性基因已经靠正反馈和表观遗传状态维持住了。

	胚胎干细胞	正常分化细胞	癌细胞
增殖	能无限增殖，但受控	有限	无限，**失控**
分化	未分化，能多向分化	已分化，功能专一	分化受阻或去分化
接触抑制	增殖受控	有	**丧失**
端粒酶	有	一般没有	有
染色体	正常二倍体	正常	常为异倍体
对生长因子	依赖	依赖	不依赖

	胚胎干细胞	正常分化细胞	癌细胞
移到体内	长成含三个胚层的畸胎瘤	不成瘤	恶性肿瘤，会转移

- 按来源还分**胚胎干细胞**和**成体干细胞**（adult stem cell）：前者来自囊胚内细胞团，多潜能、能在体外无限增殖，但取材有伦理问题、移植可能长出畸胎瘤；后者藏在成体组织里（造血干细胞、神经干细胞），数量少、分化潜能较窄，但可以用病人自己的，免疫排斥和伦理问题少。

外校热点 比较胚胎干细胞和成体干细胞的来源、潜能、功能和临床应用（2026 杭州师范大学）；名解“化学诱导的多能干细胞”（2025 华中师范大学，见思路题）。〔660〕

近五年考了 3 卷 细22 细25 细26　**真题 10 道** 细胞 07 09 14 15 16 21 22 25 26

> 有生就有死。细胞到了该退场的时候怎样退，退不掉又会怎样？

衰老、死亡与癌

细胞有三种退场的办法：分裂够了次数就衰老、不再分；该死的由一串蛋白酶从里面有秩序地拆掉，不惊动邻居；受了重伤的肿胀破裂。该停不停、该死不死，就是癌

退场

145 正常的体细胞分裂到一定次数就不再分裂，进入衰老：端粒磨短了，损伤积多了，刹车被永久踩住

- **细胞衰老**（cell aging (cellular senescence)）：细胞随着分裂次数的增加，增殖能力和生理功能逐渐下降、最终不可逆地停止分裂的过程。
- **Hayflick 界限**（Hayflick limit）：体外培养的正常细胞所能分裂的次数是有上限的。它是细胞**增殖**能力的极限，不是分化的极限。
- 衰老细胞的特征：
  - 不再分裂，加生长因子也没用。
  - 形态（课本）：大而扁平；质膜流动性降低；细胞骨架改变；黏附性增强；溶酶体增大，**脂褐质**（lipofuscin）堆积（溶酶体里消化不了的残渣，即**残体**（residual body））。（含水量减少、核增大、染色质固缩、线粒体减少是别的教材的说法。）
  - 分子特征（课本）：不可逆地停止分裂；p21、p16、p53 等周期负调节因子表达上调；**衰老相关 β-半乳糖苷酶**（pH 6.0 下有活性，senescence-associated β-galactosidase (SA-β-gal)）活化；端粒明显缩短（短于原长的 50%）；出现衰老相关异染色质集中（DAPI 染核呈点状聚集，里面是被关掉的促分裂基因）；产生**衰老相关分泌表型**（senescence-associated secretory phenotype (SASP)）。
- **衰老相关分泌表型**（SASP）：衰老细胞产生的一系列特征性分泌物，包括炎性因子、金属蛋白酶等（课本）。衰老细胞不再分裂，却成了一个不停往外发信号的细胞（**120 细胞通讯**），作用是两面的：
  - 好的一面：招募免疫细胞来吞噬衰老细胞，把它清掉；也提醒周围细胞停止增殖。
  - 坏的一面：衰老细胞清不掉、越积越多时，SASP 改变周围细胞的微环境，损坏组织结构——促进平滑肌增生、血管壁增厚引发心血管病，分解胶原使皮肤塌陷起皱；还经体液影响别的器官，造成慢性炎症，加速个体衰老。

外校热点 SASP 包括哪些成分、怎样设计实验证明某种分泌因子使邻近细胞衰老（2025 华东师范大学）——把衰老细胞的培养上清加给年轻细胞，看它们是否出现 β-半乳糖苷酶阳性、停止分裂；再用中和抗体或敲除去掉这一种因子，看作用是否消失。〔660〕

学说	说法
端粒学说（telomere theory）	每复制一次端粒短一截（**83 端粒**），短到一定程度被当成 DNA 损伤，激活 p53 → p21 → 抑制 CDK，细胞永久停在 G_1 期
自由基学说（free radical theory）	线粒体呼吸链漏出的电子直接给了 O_2，生成超氧阴离子等活性氧；它们使膜脂过氧化、蛋白质交联失活、DNA（尤其是线粒体 DNA）受损；损伤越积越多，清除它们的酶（超氧化物歧化酶、过氧化氢酶）却随年龄减弱

- 两种学说互相补充：氧化损伤也加快端粒缩短。
- 细胞衰老不等于细胞死亡，也不等于个体衰老：细胞的衰老死亡和个体的衰老死亡是两个概念；个体年轻时体内也不断有细胞衰老死亡。寿命最长的是不再更新的细胞，如神经细胞。
- 意义：衰老是防癌的一道关——带着损伤的细胞先被它拦住，不许再分。

外校热点 用 DAPI 染核，年轻细胞和衰老细胞看上去有什么不同（2025 华中科技大学）——年轻细胞核的荧光均匀，衰老细胞核里出现点状聚集（衰老相关异染色质集中，里面是被关掉的促分裂基因）。〔660〕

近五年考了 3 卷 细24 细25 细26　**真题 7 道** 细胞 17 20 21 24 25 26

146 细胞的死有两种：凋亡是按程序自己拆、拆得干干净净，不引起炎症；坏死是被外力弄破，内容物漏出来，引起炎症

- **细胞凋亡**（apoptosis）：由基因控制的、细胞主动的、有序的死亡方式，是**程序性细胞死亡**（programmed cell death (PCD)）的主要形式。

	凋亡	坏死
起因	生理性的信号，或轻度的损伤	剧烈的理化损伤
性质	主动，受基因控制，耗能	被动（另有一类受基因调控的程序性坏死）
范围	单个细胞，散在发生	成片的细胞
细胞体积	**皱缩**	**肿胀**
质膜	**保持完整**，起泡	**破裂**
细胞器	基本完整	肿胀、破坏
染色质	固缩，贴着核膜成新月形，再断成块	絮状，分布弥散
DNA 电泳	**梯状条带**（180～200 bp 的整倍数，DNA ladder）	弥散的一片
结局	包成**凋亡小体**（apoptotic body），被邻近细胞或巨噬细胞吞掉	内容物外漏
炎症	**不引起**	**引起**

- 凋亡的形态过程三步：① 细胞皱缩变圆，微绒毛和细胞连接消失，染色质固缩边集；② 核断裂，质膜向内反折，把染色质碎块和细胞器包成一个个有膜的**凋亡小体**；③ 凋亡小体被吞噬消化。
- 为什么是梯状条带：凋亡时被激活的核酸内切酶专在**核小体之间**的连接 DNA 上切，切出的片段都是一个核小体长度的整倍数。
- 生物学意义：
  - 发育中清除多余的细胞、塑造器官（蝌蚪尾巴消失、手指之间的蹼消退、神经细胞与靶细胞数目的匹配）。
  - 清除自身反应性的淋巴细胞。
  - 维持组织里细胞数目的稳定。
  - 清除受损的、被感染的、可能癌变的细胞。
  - 凋亡太多（神经退行性疾病）或太少（肿瘤）都致病。
- 细胞程序性死亡的研究是从**秀丽隐杆线虫**（Caenorhabditis elegans）做起的：它发育中有固定的 131 个细胞要死。
- 检测凋亡的办法：

方法	原理
形态观察	荧光染料（DAPI）染核看染色质固缩、核碎裂；电镜看凋亡小体
DNA 电泳（DNA electrophoresis）	看有没有梯状条带
TUNEL 法（TUNEL assay）	DNA 断裂后露出许多 3′-OH 末端，末端转移酶把带标记的核苷酸接上去，在原位把凋亡细胞的核显示出来
Annexin V 加碘化丙啶双染（Annexin V / propidium iodide staining）	凋亡早期磷脂酰丝氨酸翻到质膜外层，Annexin V 能结合它；碘化丙啶只进膜破了的细胞。只有 Annexin V 阳性的是早期凋亡，两者都阳性的是晚期凋亡或坏死
caspase 活性	检测 caspase-3 被切开活化

- 培养的细胞正在死，要分清是凋亡还是坏死，用一正一反两种办法：DNA 电泳看是梯状条带还是弥散的一片；Annexin V 加碘化丙啶双染看有没有“只有 Annexin V 阳性”的细胞。台盼蓝只说明膜破没破，单用它分不清。

近五年考了 3 卷 细22 细23 细25　**真题 10 道** 细胞 12 13 16 17 22 23 25

147 凋亡由一串专切蛋白质的酶 caspase 执行：平时是酶原，信号一到一级切一级。信号从两条路来——膜上的死亡受体，或者线粒体漏出的细胞色素 c

- **caspase**（cysteine aspartic acid specific protease）：一组存在于细胞质中的天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白水解酶，活性位点含**半胱氨酸**，特异切割靶蛋白**天冬氨酸**（aspartate）残基后的肽键，使靶蛋白活化或失活，而不是把它完全降解。平时以无活性的**酶原**（zymogen (proenzyme)）存在，被切开才有活性（**30 共价修饰与酶原**）。按功能分两大类：炎症 caspase（caspase-1、4、5、11、12，负责产生有活性的白介素 1，也执行焦亡，见**148 程序性坏死与焦亡**）和凋亡 caspase。凋亡 caspase 又分两组：
  - **起始 caspase**（caspase-2、8、9、10，课本表 15-1，initiator caspase）：接到信号后自己先活化。

- **效应 caspase**（caspase-3、6、7，effector (executioner) caspase）：被起始 caspase 切开活化，再去切细胞里的各种底物。

	外源途径（死亡受体途径）	内源途径（线粒体途径）
起因	细胞外的死亡信号：Fas 配体、**肿瘤坏死因子**（TNF-α，tumor necrosis factor）	细胞内的胁迫：DNA 损伤、氧化损伤、缺生长因子、内质网应激
过程	配体结合膜上的**死亡受体**（death receptor）→ 胞内段经接头蛋白招来 caspase-8 酶原，聚成死亡诱导信号复合体 → **caspase-8** 活化	促凋亡的 Bax、Bak 寡聚化，从胞质转到线粒体外膜，与外膜上的 VDAC 作用使通道开大（课本；也有模型说它们自己成孔）→ 膜间隙的**细胞色素 c**（cytochrome c）漏到胞质 → 与 **Apaf-1**（凋亡蛋白酶激活因子 1，apoptotic protease activating factor 1）结合，聚成**凋亡复合体**（apoptosome）→ 招来并活化 **caspase-9**
汇合	都去切开活化 **caspase-3**	同左

- 执行：效应 caspase 切掉核酸酶的抑制蛋白（核酸酶进核切 DNA）、切核纤层蛋白（核解体）、切骨架蛋白（细胞皱缩、起泡）、切 DNA 修复的酶。
- **凋亡复合体**：细胞色素 c、Apaf-1 和 caspase-9 酶原组成的大复合体，是活化 caspase-9 的平台。
- 线粒体这道闸由 **Bcl-2 家族**（Bcl-2 family）把守（平时 Bcl-2 与 Bax、Bak 结合，阻止它们寡聚）：Bcl-2、Bcl-xL **抑制**凋亡（不让细胞色素 c 漏出来）；Bax、Bak **促进**凋亡。
- 线粒体与凋亡的关系：它是内源途径的中心——凋亡信号使外膜通透性升高，放出细胞色素 c 去启动 caspase 级联；还放出别的促凋亡蛋白，解除对 caspase 的抑制，或者不经 caspase 直接进核降解 DNA。外源途径的 caspase-8 也能切开一个 Bcl-2 家族蛋白，转到线粒体上把信号放大。
- **p53** 把 DNA 损伤和凋亡连起来：损伤轻，它让周期停下来修（**137 检查点**）；损伤重，它开启 Bax 等促凋亡基因。
- 诱导凋亡的因子举例：肿瘤坏死因子、Fas 配体（外源）；射线和化疗药物造成的 DNA 损伤、活性氧、生长因子撤除、糖皮质激素（内源）。
- 从细胞受损到凋亡发生的全过程：胁迫信号 → p53 活化 → Bax 在线粒体外膜成孔 → 细胞色素 c 释放 → 凋亡复合体 → caspase-9 → caspase-3 → 切底物 → 染色质固缩、DNA 断裂、细胞皱缩 → 凋亡小体 → 被吞噬。

近五年考了 2 卷 细23 细26　**真题 12 道** 生化 14 · 细胞 08 09 10 14 15 18 23 26

148 细胞还有不止一种“按程序”的死法：凋亡这条路被堵住时，有的细胞改走程序性坏死或焦亡——同样受基因控制，结局却是膜破、发炎

- 坏死原来被看作被动的、不受控制的死亡。近年发现，有一类**程序性坏死**（programmed necrosis (necroptosis)）也受细胞内特定基因的控制，由不同的信号触发、不同的分子执行；结局和坏死一样：质膜破裂，内容物漏出，引起炎症（课本）。
- 漏出来的东西就是报警信号：细胞核里的高速泳动族蛋白 B1、线粒体 DNA 等内源的危险信号叫**损伤相关分子模式**（DAMP，damage-associated molecular pattern），对应于病原体带来的外源危险信号**病原相关分子模式**（PAMP，pathogen-associated molecular pattern）。
- 两种程序性坏死（课本）：

	程序性坏死（necroptosis，坏死性凋亡）	细胞焦亡（pyroptosis）
诱因	TNF、某些病原体；**凋亡通路受阻**（caspase-8 不能活化）时最明显	病原体侵入细胞（细菌、脂多糖）
关键分子	激酶 **RIPK3**（与上游的 RIPK1 聚成坏死复合物，receptor-interacting protein kinase 3）→ 磷酸化 **MLKL**（mixed-lineage kinase domain-like protein）	**炎性小体**（inflammasome）活化 caspase-1，或 caspase-4/5/11 直接结合脂多糖而活化 → 切开 **GSDMD**（gasdermin D）
怎样打破质膜	磷酸化的 MLKL 寡聚，结合质膜上的磷脂酰肌醇磷酸，在膜上形成通道	GSDMD 的 N 端片段移到质膜上聚合，打出直径 10～20 nm 的孔；Na^+ 和水涌入，细胞膨胀破裂
伴随	内容物漏出，炎症	成熟的 IL-1β、IL-18 经孔大量释放，强烈炎症
发现	2005 年袁钧瑛命名；2009 年韩家淮、王晓东等发现 RIPK3	2001 年命名；2015 年邵峰等发现 GSDMD 是执行分子

- 和凋亡比，抓住两点：① 都受基因控制、都是“程序性”的；② 凋亡质膜始终完整（只是磷脂酰丝氨酸翻到外层）、不发炎，这两种都是**质膜被打孔破裂**、发炎。同一个 TNF 既能引起凋亡也能引起程序性坏死，看凋亡那条路通不通。
- 意义：细胞被感染后要“自杀”除掉病原体，凋亡被病毒抑制住时，程序性坏死可以当“替补”（病毒也带着抑制坏死的基因，从侧面证明这一点）；放出的 DAMP、PAMP 又能强烈地招来免疫反应。失控时会造成急性肝损伤、急性胰腺炎、全身炎症。
- 原理和凋亡一样，还是“前体被蛋白酶切开才有活性”（**30 共价修饰与酶原**）：GSDMD 平时自己抑制自己，被炎性 caspase 切开才放出打孔的 N 端。
- 还有一种与自噬有关的死法：自噬过度时细胞把自己消化掉（自噬性细胞死亡）；但自噬本身多数时候是保命的（**111 自噬**）。

外校热点 程序性坏死和凋亡在质膜上差在哪、TNF 怎样引起程序性坏死（2026 厦门大学）；名解“细胞程序性坏死”（2025 郑州大学、南京师范大学）、“细胞焦亡”（2026 西北大学）；药物引起典型焦亡形态却查不到 GSDMD 被切，怎样解释（2025 厦门大学：gasdermin 是一个家族，可能是别的成员，如 caspase-3 切开的 GSDME）。〔660〕

149 植物细胞有壁，没有吞噬细胞来收尸，它的程序性死亡靠液泡：液泡一破，水解酶把细胞内容物消化掉，壁留下来接着用

- 过程特点（以**导管分化**（tracheary element differentiation）为例）：细胞伸长、次生壁加厚并木质化 → 液泡膜破裂，里面的蛋白酶、核酸酶倾泻出来 → 细胞核和细胞器被消化干净 → 两端的壁穿孔，只剩加厚的细胞壁，一个个首尾相接成输水的导管。死掉的细胞恰好成了有功能的结构。

	植物程序性死亡	动物细胞凋亡
启动	发育程序、病原体侵染、缺氧等环境胁迫；乙烯等激素参与	DNA 损伤、缺生长因子、死亡配体、激素
执行	靠**液泡**（vacuole）里的水解酶；没有典型的 caspase 级联	靠 **caspase**（cysteine aspartic acid specific protease）级联
形态	没有凋亡小体	形成凋亡小体
结局	内容物自己消化掉，**细胞壁常保留**	被吞噬细胞清除，不留痕迹
相同	都受基因控制、是主动的；都有染色质凝集和 DNA 降解；都服务于发育和防御	同左

- 在器官建成中的作用：导管和管胞的分化；花药绒毡层退化给花粉供营养；叶柄离层细胞死亡使叶片脱落。
- 在抗逆中的作用：
  - **超敏反应**（hypersensitive response）：病原体侵入处周围的细胞迅速主动死亡，形成枯斑，把病原体困死在里面。
  - **通气组织**（aerenchyma）：水淹缺氧时，乙烯诱导根皮层的一部分细胞死亡，留出通气的空腔。
- 禾谷类的**胚乳**（endosperm）：灌浆期胚乳细胞一边积累淀粉和蛋白质，一边开始程序性死亡——降解的是细胞核和细胞器，淀粉粒和蛋白体原样保留。死掉的细胞不再消耗养分，成了纯粹的仓库，种子也便于脱水储藏；萌发时糊粉层分泌的水解酶可以直接进去分解储藏物供给胚。

真题 4 道 细胞 07 08 09 11

退不了场

150 该停不停、该死不死的细胞就是癌细胞：管“分”的原癌基因被踩死了油门，管“停”和“死”的抑癌基因丢了刹车；要好几处同时出错才行，所以年纪越大越容易得

- **癌细胞**（课本，cancer cell）：动物体内因细胞分裂调节失控而无限增殖的细胞叫肿瘤细胞；有转移能力的肿瘤是恶性肿瘤，源于上皮组织的恶性肿瘤叫癌，现在“癌细胞”已作为恶性肿瘤细胞的通用名称。
- 癌细胞的基本特征（课本六条）：
  - ① **细胞生长与分裂失去控制**：无限增殖。
  - ② **具有浸润性和扩散性**：细胞间黏着性下降，易侵入周围组织，经血液、淋巴转移（良性肿瘤没有这一条）。
  - ③ **细胞间相互作用改变**：冲破细胞识别的束缚，产生水解基底膜的酶，异常表达膜蛋白、逃避免疫监视。
  - ④ **表达谱或蛋白质活性改变**：表达胚胎期的蛋白质；端粒酶活性高；表型不稳定。
  - ⑤ **体外培养的恶性转化细胞的特征**：无限增殖，贴壁性下降，**接触抑制丧失**（铺满一层还往上堆，loss of contact inhibition），在软琼脂里能长成克隆。
  - ⑥ **抵御死亡**：凋亡通路被抑制。
  - 课本这六条以外常补的两点：不依赖外源生长因子；染色体常不正常（非整倍体）。

	原癌基因 → 癌基因	抑癌基因（tumor suppressor gene (antioncogene)）
正常功能	促进细胞生长和分裂（好比油门）	抑制细胞分裂、促进修复或凋亡（好比刹车）
编码什么	生长因子、生长因子受体、Ras 这样的 G 蛋白、蛋白激酶、转录因子	**Rb**、**p53** 等
致癌的突变	**功能获得**（gain of function）：点突变（Ras）、基因扩增、染色体易位，使产物过多或一直开着	**功能丧失**（loss of function）
遗传上	**显性**（dominant）：坏一个拷贝就起作用	**隐性**（recessive）：两个拷贝都坏了才行

- **癌基因**（课本，oncogene）：控制细胞生长和分裂的一类正常基因，其突变能引起正常细胞发生癌变；细胞里的叫细胞癌基因（c-onc），又称**原癌基因**（proto-oncogene），病毒带着的叫病毒癌基因（v-onc，如劳氏肉瘤病毒的 src）。也有书只把突变激活以后的才叫癌基因；名解按课本答。

- **抑癌基因**（课本）：又称肿瘤抑制基因、抗癌基因。它编码的蛋白质是正常细胞增殖的负调控因子：在细胞周期的检查点上阻止周期进程，或者促进细胞凋亡；一对等位基因都缺失或都失去活性时，这种负调控就没了，细胞周期失控而过度增殖——所以它致癌靠的是功能丢失性突变，如 Rb、p53。
- **Rb**：平时扣住转录因子 E2F，不让细胞过限制点；Rb 没了，细胞不用等生长因子就往 S 期闯。
- **p53**：“基因组的卫士”。DNA 受损时让周期停下来修，修不好就让细胞凋亡；p53 没了，细胞带着损伤照样分，突变越积越多。约一半的人类肿瘤里 p53 有突变。
- **癌变是多步的**：一个细胞要先后积累好几次独立的突变（至少一个原癌基因被激活，几个抑癌基因两个拷贝都失活）才变成癌细胞。
- 所以，虽然一生中突变的速率大致不变，结肠癌这类癌的发病率却随年龄**陡然升高**：几次小概率事件都落到同一个细胞的后代身上，概率是相乘的，要很多年、很多次分裂才凑得齐；前面的突变（如修复基因坏了、分裂加快了）又使后面的突变来得更快。白血病不同：血细胞本来就随血流遍布全身，不需要再获得浸润、转移的能力，所以只要少数几个基因突变就能发病，发病年龄也早；一般的实体瘤至少要 5～6 个突变（课本）。
- 把链上学过的几处连起来看癌：信号通路一直开着（**126 受体酪氨酸激酶**的 Ras）、周期的闸失灵（**137 检查点**）、不凋亡、端粒酶重新激活（**83 端粒**）、DNA 修复有缺陷（**85 DNA修复**）。
- **肿瘤干细胞**（cancer stem cell）：存在于某些肿瘤组织中的一小群干细胞样细胞，能自我更新，致瘤能力和耐药性远强于其余癌细胞——注射不到一百个带 CD133 标记的脑瘤细胞就能长出肿瘤，成千上万个不带标记的却不行（课本）。它可能来自成体干细胞（寿命长、本来就能分裂，突变容易积累）；治疗时不除掉它，肿瘤容易复发。

外校热点 名解“肿瘤干细胞”（2026 华中师范大学）；Rb 基因的发现与“二次突变”（2025 中国科学院大学）。〔660〕

近五年考了 2 卷 细22 细23　**真题 4 道** 细胞 18 21 22 23

> 从一个水分子说到一个细胞的生死，每一环的结论都是做实验做出来的。

第六问　151–163 环

凭什么知道

研究方法

前面每一环的结论都是做实验做出来的。最后一个问题：凭什么知道。方法虽多，要回答的无非是几件事——看见它、把它分出来、认出它、跟踪它、改掉它看后果。

研究方法

方法虽多，要回答的无非几件事：看见它（显微镜）、把它分出来（离心、层析、电泳）、认出它（抗体、探针）、跟踪它（同位素、荧光蛋白）、读它改它（PCR、测序、克隆、基因编辑）、离开身体养着它（细胞培养）

看见它

151 想看见细胞里的东西，先问看得多细：分辨率由光的波长和镜头的数值孔径决定，光镜到 0.2 微米为止，再细就得换电子束 ●

- **分辨率**（resolution）：显微镜能分开的两个点之间的最小距离；数值越小，分辨本领越高。它和放大倍数是两回事。
- $D = 0.61\lambda / (N \cdot \sin(\alpha/2))$：λ 是照明光的波长，N 是物镜与样品之间介质的折射率，α 是镜口角；$N \cdot \sin(\alpha/2)$ 叫数值孔径。提高分辨率的办法：用波长更短的光；用油镜（加大 N）。光镜的极限约 **0.2 μm**；电子束波长短得多，电镜能到 **0.2 nm** 上下，实际还受制样的限制。

显微镜	看什么	特点
普通光镜	染色的切片	要固定染色
相差、微分干涉显微镜	**活细胞**	把光程差变成明暗差，不用染色
荧光显微镜（fluorescence microscope）	特定的分子	靠荧光标记，特异性强
激光扫描共聚焦显微镜（laser scanning confocal microscope）	厚样品里的某一层；复杂网络的三维结构	焦平面以外的光被针孔挡掉，能做“光学切片”再叠成三维
透射电镜（transmission electron microscope (TEM)）	细胞**内部**的超微结构	分辨率最高；样品要切得极薄
扫描电镜（scanning electron microscope (SEM)）	样品**表面**的立体形貌	景深大，有立体感
超高压透射电镜	较厚的样品	不必切超薄切片，能看三维
原子力显微镜（atomic force microscope (AFM)）	表面形貌和力学性质	用极细的探针在表面扫描，靠针尖与样品之间的作用力成像；能在接近生理的条件下看

- **超薄切片**（透射电镜的常规制样，ultrathin section）：取材（小于 1 mm^3，要快）→ **固定**（戊二醛固定蛋白质，再用四氧化锇固定并给膜加反差，fixation）→ 乙醇或丙酮逐级**脱水**（dehydration）→ 环氧树脂**包埋**（embedding）→ 切成 **40～50 nm** 的薄片 → 醋酸铀、柠檬酸铅等**重金属盐染色**（heavy metal staining）→ 观察。
- **负染色**（negative staining）：一种电镜制样技术。用磷钨酸或醋酸双氧铀等重金属盐溶液给铺在载网上的样品染色，吸去多余染料、自然干燥后，载网上铺满一薄层重金属盐，把样品的精细结构衬托出来（**周围的背景**暗、样品亮）；分辨率可达约 1.5 nm，用来看病毒、核糖体、线粒体基粒、细胞骨架纤维这类颗粒。**冷冻蚀刻**（freeze etching）：样品速冻后劈开，在断面上喷一层金属膜，看的是这层复型，能显示膜的内部。
- 电镜技术与分子技术的结合：**免疫电镜**（immunoelectron microscopy）——抗体上连着胶体金颗粒，在电镜下把某种蛋白质定位到具体的膜或细胞器上；电镜细胞化学——用酶的反应产物定位标志酶；电镜放射自显影。

真题 9 道　细胞 07 08 09 12 13 14 17 26

152 想在一大堆分子里只看见某一种，就让它发光：给它接上荧光抗体，或者让细胞自己造一个带荧光蛋白的 ●

- **免疫荧光技术**（immunofluorescence technique）：用荧光素标记的抗体与细胞里的抗原专一结合，在荧光显微镜下给目标分子定性、定位。直接法是把荧光接在一抗上；间接法是用带荧光的二抗去认一抗，信号更强、更通用。
- 做好免疫荧光：用亲和力高、特异性强的抗体；固定和透化要适度，既保住抗原又让抗体进得去；封闭、摸准抗体浓度和时间、充分洗涤，以减少非特异染色；设阴性和阳性对照。

	免疫荧光	免疫电镜
分辨率	光镜水平	高，能定位到具体的膜和细胞器
操作	快，可以同时用几种颜色	制样复杂，抗原容易失活
活细胞	细胞表面的抗原可以	不行

- **荧光蛋白**（GFP，green fluorescent protein）：把目标蛋白的基因与荧光蛋白基因接在一起表达，蛋白质一造出来就带着荧光；可以在**活细胞**里连续拍摄它的位置和运动。
- 同时标记线粒体、细胞核和微丝（三色）：先在**活细胞**里用靠膜电位富集的线粒体探针染线粒体，洗去多余的染料 → 固定、透化 → 用 DAPI 染核（蓝）、用荧光标记的鬼笔环肽染微丝 → 封片观察。三种荧光的波长要分得开，各设单染对照。顺序不能反：细胞一固定，膜电位没了，线粒体探针就染不上了。
- **荧光漂白恢复**（fluorescence recovery after photobleaching）：见**35 流动镶嵌模型**。
- **荧光共振能量转移（FRET）**（fluorescence resonance energy transfer）：两个荧光分子靠得很近（约 10 nm 以内）时，一个被激发后把能量直接传给另一个，使后者发光。用来判断两种蛋白质在活细胞里是否直接相互作用、或一个分子的构象有没有变。
- **流式细胞术**（flow cytometry）：让带荧光标记的细胞排成单行、一个个通过激光束。能测细胞的大小和某一类细胞的数目；测每个细胞里 DNA、RNA 或某种蛋白质的含量；还能把特定的细胞分选出来。

近五年考了 3 卷 细24 细25 细26　**真题 8 道** 细胞 08 11 14 19 24 25 26

把它分出来

153 想单独研究一种细胞器或一种蛋白质，先得把细胞打碎、把它分出来；粗分靠离心和盐析

- **差速离心**（differential centrifugation）：匀浆后由低速到高速逐级离心，颗粒按大小和密度先后沉下来：细胞核 → 线粒体、溶酶体、过氧化物酶体 → 微粒体（内质网碎片）→ 核糖体；最后的上清是胞质溶胶。
- **密度梯度离心**（density gradient centrifugation）：让样品在一个有密度梯度的介质（蔗糖、氯化铯）里离心。速度沉降按颗粒沉降的快慢分开；等密度沉降让颗粒停在与自己密度相等的位置。分得更细。
- 分出来的组分用**标志酶**（marker enzyme）检验是什么、纯不纯（各细胞器的标志酶见**57 线粒体**、**106 溶酶体**、**107 过氧化物酶体**）。
- **非细胞体系**（cell-free system）：只含完成某种反应所需的成分、不含完整细胞的体外反应体系（用细胞抽提物加上底物和能量）。成分可控、干扰少，用来在试管里重现蛋白质合成、膜泡运输、核膜装配、细胞周期调控这些过程。
- 蛋白质溶液稳定靠两样东西：表面的**水化层**（hydration shell）和同种**电荷**（双电层）。破坏它们蛋白质就沉淀：
  - **盐析**（salting out）：加大量中性盐（常用硫酸铵），盐夺走水化层、中和电荷，蛋白质沉淀；不同蛋白质沉淀所需的盐浓度不同，可以分段沉淀。盐析下来的蛋白质**不变性**。
  - 等电点沉淀（**9 等电点**）；有机溶剂沉淀（要低温）。
  - **透析**（dialysis）：把蛋白质溶液装在半透膜袋里，小分子的盐透出去，蛋白质留下，用来除盐。

真题 4 道 生化 14 19 · 细胞 09 12

154 细分蛋白质靠层析：混合物流过一根柱子，各种蛋白质因为电荷、大小或专一结合能力不同，被留住的程度不同，先后流出来

- 纯化利用的是蛋白质之间四种性质的差别：**溶解度**、**电荷**、**大小**、**专一的结合能力**。

层析	按什么分	怎样分
离子交换层析（ion-exchange chromatography）	电荷	阴离子交换剂（DEAE）带正电，留住带负电的蛋白质；阳离子交换剂（CM）带负电，留住带正电的。提高盐浓度或改变 pH 把它们依次洗下来
凝胶过滤层析（分子筛，gel filtration chromatography**）**	大小	凝胶颗粒里有小孔。大分子进不去，只走颗粒之间的空隙，路短，**先流出**；小分子钻进孔里，路长，后流出
亲和层析（affinity chromatography）	专一结合	把能与目标蛋白专一而可逆结合的配体（底物类似物、抗体、金属离子）固定在柱子上，只有目标蛋白被留住；再用游离的配体或改变条件洗下来。一步就能提纯很多倍
疏水层析	表面的疏水性	**高盐**时上柱（疏水作用强），逐步降低盐浓度、再用水或有机溶剂洗脱

- 凝胶过滤还能测**天然状态下**的分子量：洗脱体积与分子量的对数成直线关系，用几种已知分子量的蛋白质作标准曲线。
- 纯化好不好，看两个指标：**比活力**（每毫克蛋白质的酶活力单位数，代表纯度，specific activity）和**总活力**（代表回收了多少，total activity）。
  - **纯化倍数**（purification fold）= 纯化后的比活力 ÷ 纯化前的比活力；**回收率**（yield (recovery)）= 纯化后的总活力 ÷ 纯化前的总活力。
  - 例：粗提液含蛋白质 150 mg、总活力 360 单位；纯化后含蛋白质 0.08 mg、总活力 288 单位。回收率 = 288 / 360 = 80%；比活力从 2.4 升到 3600 单位/毫克，纯化倍数 1500。
  - 1 g 粗酶纯化后得到 10 mg 纯酶，比活力并不一定提高了 100 倍——纯化过程中总有活力损失。

- 设计纯化方案的思路是“差在哪就按哪分”：目标酶分子量 24 000、pI 5.5，混着一种分子量相近、pI 7.0 的蛋白质和一种 pI 相近、分子量 10 000 的蛋白质。先在 pH 6 上下过阴离子交换柱（酶带负电被留住，pI 7.0 的那个带正电直接流走），再过凝胶过滤（酶大、先出来，小的后出来）。

外校热点 凝胶过滤和 SDS-PAGE 用的都是多孔的凝胶，为什么一个是大分子先出、一个是小分子跑得快——凝胶过滤的孔在**颗粒内部**，大分子进不去、绕着走，路反而短；SDS-PAGE 的凝胶是**一整块网**，所有分子都得从网孔里钻过去，分子越大阻力越大、越慢。〔880 专题 5〕

易错 凝胶过滤是分子量大的先流出；它和 SDS-PAGE 的分子筛效应方向相反，不是一回事。

近五年考了 3 卷 生23 生24 生25 **真题 16 道** 生化 07 08 09 12 13 18 23 24 25

155 检查纯不纯、量分子量靠电泳：带电的分子在电场里跑，在凝胶里按大小或电荷分开

电泳	按什么分	要点
天然 PAGE	电荷、大小、形状一起起作用	蛋白质不变性，看的是整个分子
SDS-PAGE（SDS-polyacrylamide gel electrophoresis）	**只按亚基的分子量**	见下
等电聚焦（isoelectric focusing (IEF)）	等电点	凝胶里有 pH 梯度，蛋白质跑到 pH 等于自己 pI 的地方净电荷为零，停下
双向电泳（two-dimensional electrophoresis）	先按等电点，再按分子量	第一向等电聚焦，第二向 SDS-PAGE；两个互不相干的性质合起来用，一块胶能分开上千种蛋白质，是蛋白质组学的基本工具

- **SDS-PAGE 测分子量的原理**：
  - SDS 是带负电的去污剂，使蛋白质变性、伸展，并大量结合上去，所带的负电荷远超过蛋白质自己的电荷——各种蛋白质的**电荷差别和形状差别都被抹平**了。
  - 加**巯基乙醇**（β-mercaptoethanol）打开二硫键，亚基彻底分开。
  - 聚丙烯酰胺凝胶起分子筛作用，迁移率只取决于分子量，**小的跑得快**。
  - 迁移率与分子量的对数成直线关系，用标准蛋白作曲线，读出分子量。测到的是**亚基**（subunit）的分子量，不是天然蛋白质的。
- 测蛋白质分子量的方法：凝胶过滤、SDS-PAGE、沉降分析（超速离心）；现在还用质谱。
- 两种方法合起来能推出亚基组成：两种蛋白质分子量都是 100 000、pI 相同，一个由两种亚基（40 000 和 10 000 各两个）组成，一个由四个 25 000 的亚基组成。天然 PAGE 上两者都是一条带、位置相同；SDS-PAGE 上前者两条带，后者一条带。
- 核酸用琼脂糖凝胶电泳，按长度分开；用**溴化乙锭（EB）**（ethidium bromide）染色，它插进碱基对之间，在紫外灯下发橙红色荧光。

易错 SDS-PAGE 里分子量大的跑得慢；它不能准确测定天然（多亚基）蛋白质的分子量。

近五年考了 2 卷 生25 生26 **真题 11 道** 生化 07 08 10 13 15 21 25 26

认出它

156 想在混合物里认出某一种蛋白质，用抗体：它只认那个蛋白质表面的一小块，再给抗体接上酶、荧光或金颗粒，就看得见了

- **抗原决定簇**（表位，antigenic determinant (epitope)）：抗原分子上能被一个抗体或 T 细胞受体专一识别并结合的特定分子结构，如蛋白质表面的几个氨基酸基团或多糖上的单糖残基；按结构分线性决定簇和构象决定簇。它决定抗原与抗体结合的专一性。

方法	做法	得到什么
Western 印迹（Western blotting）	蛋白质先经 SDS-PAGE 按分子量分开 → 电转移到膜上 → 封闭 → 加一抗 → 加酶标二抗 → 显色	这种蛋白质**有没有、多不多、分子量对不对**
ELISA（酶联免疫吸附测定，enzyme-linked immunosorbent assay**）**	抗原或抗体固定在塑料板上，靠抗原抗体结合把酶留在板上，再加底物显色，颜色深浅代表含量。间接法测抗体；双抗体夹心法测抗原	**定量**，快，适合大批样品
免疫沉淀（immunoprecipitation）**、免疫亲和层析**（immunoaffinity chromatography）	把抗体固定在小珠或柱子上，把目标蛋白从混合物里“钓”出来	提纯含量极低的蛋白质；连带钓出与它结合的蛋白质（免疫共沉淀）
免疫荧光、免疫电镜	抗体上带荧光或胶体金	它在细胞的**哪个位置**

- 一种蛋白质在组织里含量很低、难以提纯，只知道分子量、手里有它的抗体：用 Western 印迹看在那个分子量处有没有条带；含量太低就先用抗体做免疫沉淀富集；想定量用 ELISA；想知道在哪些细胞里用免疫组化。
- **单克隆抗体**（monoclonal antibody）：由一个 B 细胞克隆产生的、只认一种抗原决定簇的抗体。做法（**杂交瘤技术**（hybridoma technique））：免疫过的小鼠的 B 淋巴细胞（会产抗体、不能长期培养）与骨髓瘤细胞（能无限增殖）融合，得到既能无限增殖又能产抗体的杂交瘤细胞，再筛选、克隆。关于“目前制造的单克隆抗体多为哪一型”这道选择题，狂背的参考答案是“鼠-人型”；按杂交瘤的做法，融合的两方通常都来自小鼠。

近五年考了 2 卷 生22 生24　**真题 12 道** 生化 09 11 13 15 18 19 20 21 22 24 · 细胞 17

157 想在一大堆 DNA 或 RNA 里认出某一段，用探针：一条带标记的互补单链，靠碱基配对找到它 ●

- **核酸探针**（nucleic acid probe）：带有标记（放射性或荧光）的一段已知序列的核酸单链；依据是互补的单链能杂交（**77 双螺旋**）。

印迹	检测对象	回答什么问题
Southern 印迹（Southern blotting）	**DNA**	基因在不在、有几个拷贝、片段多大
Northern 印迹（Northern blotting）	**RNA**	基因转录了没有、转录物多大、多少
Western 印迹（Western blotting）	**蛋白质**（用抗体，不用探针）	蛋白质有没有、多少

- Southern 印迹的步骤：DNA 用限制酶切 → 琼脂糖电泳分开 → 碱变性成单链 → 转移到膜上 → 与标记的探针杂交 → 洗膜 → 显影。
- **原位杂交**（in situ hybridization）：用带标记的核酸探针直接在染色体或细胞、组织切片上杂交，测出与它互补的 DNA 或 RNA 在什么位置。
- **限制性核酸内切酶**（restriction endonuclease）：识别双链 DNA 上特定的短序列（多为 4～6 个碱基对的**回文序列**（palindromic sequence））并在其中切断的酶，切出黏性末端或平末端，是基因工程的“剪刀”。
- 细菌的**限制-修饰系统**（restriction-modification system）：限制酶切外来的 DNA，甲基化酶修饰自己的 DNA（给识别位点加甲基，自己就不被切）。意义：抵御噬菌体等外来 DNA 的入侵，保护自身。
- 提取和鉴定核酸：
  - 提 DNA 时分子断裂的原因：核酸酶降解、化学降解、物理剪切。所以要加 EDTA（抑制核酸酶）、动作要轻。变了色的酚含氧化物，会使磷酸二酯键断裂，不能用。
  - **碱裂解法**（alkaline lysis）提质粒：加碱使所有 DNA 变性，再中和。小而闭环的质粒很快复性、留在上清；又长又乱的染色体 DNA 来不及复性，与蛋白质一起沉淀掉。
  - 分辨 DNA 还是 RNA：二苯胺反应（DNA 显蓝色）、地衣酚反应（RNA 显绿色）；用 DNA 酶或 RNA 酶处理看谁被降解；稀碱只水解 RNA。
  - 看纯不纯：纯 DNA 的 A_{260}/A_{280} 约 1.8，明显偏低是混了蛋白质，偏高是混了 RNA（纯 RNA 约 2.0）；所以比值高不等于更纯。
  - 两管 DNA 分不清哪管 G-C 含量高：测 Tm，高的那管 G-C 多；或测浮力密度。

易错 限制-修饰说成“修饰外源 DNA、限制自身 DNA”就反了。

真题 19 道 生化 07 08 09 10 11 13 14 16 17 18 24 · 细胞 11 17

读它、抄它、改它

158 想把一小段 DNA 变成很多很多份，用 PCR；想读出它的顺序，用双脱氧法测序。两者都是让 DNA 聚合酶在试管里照着模板合成 ●

- **聚合酶链式反应（PCR）**（polymerase chain reaction）：在试管里以 DNA 为模板、一对寡核苷酸为引物，用耐热的 DNA 聚合酶把两个引物之间的片段成倍扩增的技术。
  - 每一轮三步：**变性**（约 94 °C，双链分开，denaturation）→ **退火**（约 55 °C，引物与模板配上，annealing）→ **延伸**（约 72 °C，聚合酶从引物的 3′ 端往下合成，elongation）。
  - 上一轮的产物是下一轮的模板，所以是指数扩增，三十轮能扩增上亿倍。
  - 必须事先知道：目标片段**两端的一小段序列**，才能设计引物。
  - 引物：一对，各与目标片段一端的一条链互补，3′ 端相对；长 18～25 个核苷酸，G-C 含量适中，两条的 Tm 相近，自身和彼此之间不要互补；要克隆时在 5′ 端加上酶切位点。
  - 体系：模板、一对引物、四种 dNTP（脱氧核苷三磷酸：dATP、dGTP、dCTP、dTTP，dTTP 即脱氧胸苷三磷酸）、**Taq DNA 聚合酶**（Taq DNA polymerase）、含 Mg^{2+} 的缓冲液。Taq 酶耐热，但没有校对功能，产物有一定的错误率

（84 复制的忠实性）。

- 变型：**逆转录 PCR**（先把 RNA 逆转录成 cDNA 再扩增，reverse transcription PCR (RT-PCR)）；**实时荧光定量 PCR**（每一轮都测荧光，荧光达到阈值所需的轮数越少，样品里原有的模板越多，real-time PCR (quantitative PCR, qPCR)）。
- **双脱氧末端终止法测序（Sanger 法）**（dideoxy chain-termination sequencing）：
  - 原理：**ddNTP**（双脱氧核苷三磷酸，dideoxynucleoside triphosphate）的 3′ 位没有羟基，一旦被掺进新链，后面就接不上了，链在这里终止。
  - 做法：以待测的单链 DNA 为模板，加引物、DNA 聚合酶和四种 dNTP，分成四管，每管另加少量一种 ddNTP。于是每管得到一组长短不一、都终止在同一种碱基上的片段。
  - 四管产物并排做变性聚丙烯酰胺凝胶电泳，能分开只差一个核苷酸的片段；从最短的往上读，就是新合成链 5′→3′ 的序列。
  - 现在四种 ddNTP 各带一种颜色的荧光，一管反应，毛细管电泳，机器自动读。
- 检测新冠病毒：
  - **核酸**：病毒是 RNA 病毒。取咽拭子 → 提取 RNA → 逆转录成 cDNA → 用针对病毒特有基因的引物和荧光探针做实时荧光定量 PCR。
  - **抗体**：用病毒的抗原去结合血清里的抗体，ELISA 或胶体金试纸条显色。抗体要感染一段时间以后才出现，所以不适合查早期感染。

近五年考了 4 卷 生22 生23 生24 生25　**真题 19 道** 生化 09 10 11 12 13 14 15 16 17 21 22 23 24 25

159 想让细胞替我们造一种蛋白质，或者改掉一个基因看后果，用基因工程：把一段 DNA 剪下来、接到载体上、送进细胞里 ●

- 克隆一个基因的五步：
  - ① **拿到目的基因**：限制酶切、PCR 扩增、把 mRNA 逆转录成 cDNA、人工合成。
  - ② **选载体**：载体要有复制起点、筛选标记（如抗生素抗性基因）、供插入用的多克隆位点。常用质粒，装大片段用噬菌体或人工染色体。
  - ③ **连接**：**DNA 连接酶**（DNA ligase）把目的基因和切开的载体接成重组 DNA。
  - ④ **导入**宿主细胞：细菌用转化（氯化钙处理后热激）或电穿孔；植物用农杆菌或原生质体；动物细胞用病毒载体或脂质体。
  - ⑤ **筛选**出带重组 DNA 的细胞：抗生素抗性、蓝白斑、菌落 PCR、测序。
- 要让细菌把蛋白质造出来，载体上还得有强启动子、SD 序列和终止子；真核基因要用 **cDNA**（没有内含子，complementary DNA）。常给蛋白质接一个标签，以便用亲和层析一步纯化。
- 外源蛋白在细菌中高水平表达时，大量折叠不完全的蛋白质聚集成不溶性颗粒，叫**包涵体**（inclusion body）。

	cDNA 文库	**基因组文库**
来源	某种细胞某个时期的全部 mRNA，逆转录成 cDNA 后克隆	基因组 DNA 打断成片段后全部克隆
包含	只有**正在表达**的基因；**没有内含子**和调控序列	全部序列，包括内含子、调控序列和不表达的基因
组织特异性	有	没有
用途	得到编码序列，在细菌里表达真核蛋白，研究基因表达	研究基因的结构和调控序列

- A 细胞只比 B 细胞多表达一种蛋白质，要拿到它的 cDNA：两种细胞各提 mRNA → 把 A 的 mRNA 逆转录成单链 cDNA → 与过量的 B 的 mRNA 杂交，两边都有的配成双链被除掉 → 剩下的单链 cDNA 就是 A 特有的，再克隆、测序。
- **基因编辑（CRISPR/Cas9）**（gene editing）：一条人工设计的向导 RNA 靠碱基配对把 Cas9 核酸酶带到基因组上指定的位置，Cas9 在那里切断双链；细胞修这个断口时，要么随便接上（常多出或少掉几个碱基，基因就失活了，即敲除），要么照着我们给的模板修（精确改写）。
  - 优点：换个靶点只要改向导 RNA，简单、便宜、效率高。主要的问题是**脱靶**（off-target）。
  - 前景：生物学上快速敲除基因来确定它的功能、做疾病模型；医学上治疗单基因遗传病（镰状细胞贫血已有获批的疗法）、改造免疫细胞治癌；农业上快速培育抗病、抗逆、优质的品种，而且可以不留外源基因。还要顾及安全和伦理。
- **蛋白质工程**（protein engineering）：见**21 看见与改造结构**。
- 疫苗的五条技术路线：灭活疫苗（杀死的完整病毒）；减毒流感病毒载体疫苗（用毒力减弱的流感病毒当载体，带着新冠抗原基因，鼻喷接种）；重组蛋白疫苗（用基因工程表达病毒的一个抗原蛋白）；腺病毒载体疫苗（让不会复制的腺病毒带着抗原基因进细胞）；mRNA 疫苗（把编码抗原的 mRNA 包在脂质颗粒里送进细胞，由人的核糖体译出抗原）。除灭活疫苗外，其余四

种都要用到基因克隆和表达技术。（2021 年华农考过这道题，狂背参考答案第②条写作“减毒活疫苗”、第⑤条写“mRNA 疫苗”，官方路线名分别是“减毒流感病毒载体疫苗”“核酸疫苗”。）

真题 7 道 生化 07 08 10 16 20 21 23

跟踪它、养着它

160 想知道一个分子在细胞里先到哪、后到哪，给它做上记号再跟踪：同位素标记加放射自显影，关键是“脉冲”之后的“追踪” ○

- **放射自显影**（autoradiography）：细胞把带放射性的前体用去合成大分子，射线使盖在切片上的感光乳胶感光，显影后出现的银颗粒就标出了放射性所在的位置。
- **脉冲-追踪**（pulse-chase）：
  - 脉冲：用带标记的前体（如 ^{3}H-亮氨酸）短时间喂给细胞，只有这一小段时间里合成的蛋白质带上标记。
  - 追踪：换成不带标记的培养基，继续培养。
  - 隔不同的时间取样、固定、切片、涂乳胶、曝光、显影、观察。
  - 结果：银颗粒先出现在粗面内质网，然后是高尔基体，再是分泌泡，最后到细胞外——这就是分泌蛋白走的路（**104 高尔基体**）。
- 没有“脉冲”这一步就看不出先后：稳定表达的荧光蛋白在各站都有，分不清谁先谁后。
- 标记物的选择：标 DNA 用 ^{3}H-胸苷，标 RNA 用 ^{3}H-尿苷，标蛋白质用 ^{3}H-亮氨酸或 ^{35}S-甲硫氨酸。
- 测细胞周期各期的时间：用 ^{3}H-胸苷短时间标记正在复制 DNA 的（S 期）细胞，以后定时取样，统计带标记的分裂期细胞所占的比例随时间的变化。流式细胞仪按 DNA 含量得到的是各期细胞的**比例**。
- **细胞同步化**（cell synchronization）：让一群细胞处在细胞周期的同一个时相。自然界本来就有（黏菌多核原生质体里的核同步分裂、早期胚胎的同步卵裂）；人为做到的统称**人工同步化**（课本，artificial synchronization），分两类：人工选择——把抖落下来的分裂期细胞收集起来，或用密度梯度离心分出不同时相的细胞；人工诱导——用药物阻断，过量的胸苷（DNA 合成阻断法）把细胞挡在 G_1/S 交界，秋水仙碱（分裂中期阻断法）把细胞挡在中期。

真题 1 道 细胞 12

161 想离开身体研究细胞，得把它养在瓶子里；养出来的细胞还能互相融合，造出原来没有的细胞 ●

- 培养的细胞按是否贴着支持物生长分**贴壁细胞**（adherent cell）和**悬浮细胞**（suspension cell）。培养过程分**原代培养**（直接从组织取出来的细胞的第一次培养，primary culture）和**传代培养**（subculture）。
- 培养基里要加**血清**（serum），主要因为血清里有**生长因子**（growth factor）。
- **接触抑制**（contact inhibition）：正常的贴壁细胞长满一层、彼此接触以后就停止分裂和移动；癌细胞没有这个限制（**150 癌基因与抑癌基因**）。

名称	含义
细胞系（cell line）	原代培养的细胞传到 10 代左右多半停滞，少数渡过“危机”，又能传 40～50 代、仍保持二倍体和接触抑制，这样的传代细胞叫细胞系（课本）；传代次数有限的叫有限细胞系，发生突变带上癌细胞特点、能无限传代的叫永生（连续）细胞系，如 HeLa
细胞株（cell strain）	从细胞系里经过选择或克隆得到的、带有特定性状或标记的细胞群体
细胞克隆（cell clone）	由一个细胞分裂得到的、遗传上相同的一群细胞

- **原生质体**（protoplast）：去掉了细胞壁的植物（或细菌、真菌）细胞。能吸收外来的 DNA、能互相融合，还能重新长出壁、再生成植株。
- **细胞融合**（cell fusion）：两个细胞合成一个；用灭活的病毒、聚乙二醇或电脉冲诱导。杂交瘤和单克隆抗体见**156 抗体技术**。
- 体外培养出来的组织为什么达不到体内组织的功能：培养皿里是平铺的一层，缺少体内的三维结构和细胞外基质；缺少周围别种细胞给的信号和血管、神经、激素的调节；营养、氧气和力学环境都和体内不同；细胞在体外容易去分化，丢掉原有的特性。

近五年考了 2 卷 细22 细23 **真题 10 道** 细胞 07 08 09 12 16 18 21 22 23

合起来用

162 拿到一个不知道功能的新蛋白质，把上面的方法排成一条路：先看它像谁，再看它在哪、和谁在一起，最后把它去掉或改掉看后果 ○

- 路线：

- ① **序列和结构**：测出部分序列，找到它的基因；到数据库里比对，看它和哪些已知蛋白质相似、有什么已知的结构域。
- ② **什么时候、在哪里表达**：测它的 mRNA 和蛋白质在哪些组织、什么条件下出现；与荧光蛋白融合或用抗体做免疫荧光，看它在细胞的哪个部位。
- ③ **和谁在一起**：免疫共沉淀后用质谱鉴定与它结合的蛋白质；酵母双杂交。
- ④ **试管里测活性**：按同源性猜它是什么酶，用纯化的蛋白质测。
- ⑤ **去掉它或让它过多**：基因敲除、RNA 干扰敲低、过量表达，看细胞或个体有什么变化。
- ⑥ **定点突变**（site-directed mutagenesis）：改掉关键的残基，确定哪一部分负责哪种功能。

- 敲除了却看不到变化，可能的原因：有别的基因能顶替它；没敲干净；它只在特定条件下才起作用；变化太小没检测出来。
- 整体地看，一次测全部：**基因组学**（全部基因的序列和功能，genomics）、**蛋白质组学**（proteomics）（研究**蛋白质组**（proteome）——一个细胞或组织在一定条件下表达的全部蛋白质，1994 年提出这个概念——的学科；先用双向电泳或液相色谱分离，比较不同状态下的差别，再用质谱鉴定是什么蛋白质）、代谢组学（**41 自由能与ATP**）。

外校热点 用三种方法证明两种蛋白质相互作用（2025 华南师范大学）；名解“酵母双杂交系统”（2025 湖南师范大学）——①免疫共沉淀：用 A 的抗体沉下 A，看 B 是否一起下来；②酵母双杂交：把 A 接在转录因子的 DNA 结合域上、B 接在激活域上，两者结合才把转录因子拼完整，报告基因才表达；③FRET：A、B 分别接上两种荧光蛋白，靠近到 10 nm 以内才发生能量转移。〔660〕

真题 2 道 生化 08 22

163 学了这些有什么用：答“举例说明生化和细胞的知识在农业、健康上的应用”，就从这条链上挑几环，每一环说清原理和用处

领域	例子	用的是哪一环的原理
农业	草甘膦除草：抑制植物合成芳香族氨基酸的一个酶；人和动物没有这条途径，所以不受害	**72 固氮与氨基酸合成**、**28 酶的抑制**
农业	有机磷杀虫剂：不可逆地抑制乙酰胆碱酯酶	**28 酶的抑制**
农业	豆科与禾本科轮作、间作，接种根瘤菌，减少氮肥	**72 固氮与氨基酸合成**
农业	用 C_4 途径的原理提高光合效率；合理密植、增施 CO_2	**59 卡尔文循环**
农业	抗虫、抗除草剂的转基因作物；基因编辑育种；分子标记辅助选择	**159 基因工程**、**158 PCR与测序**
农业	秋水仙碱诱导多倍体；诱变育种	**130 微管**、**86 突变**
农业	果蔬低温、低氧储藏，降低呼吸消耗；乙烯催熟	**26 最适pH与温度**、**127 信号通路的共同规律**
农业	饲料里加植酸酶、纤维素酶；青贮利用乳酸发酵	**22 酶的本质**、**47 丙酮酸的去路**
健康	他汀降胆固醇、别嘌呤醇治痛风、磺胺和青霉素抗菌、甲氨蝶呤抗肿瘤	**28 酶的抑制**、**68 胆固醇**、**73 核苷酸代谢**
健康	重组胰岛素、单克隆抗体药、mRNA 疫苗	**159 基因工程**、**156 抗体技术**
健康	核酸检测、ELISA 测抗体、血清酶诊断心肌梗死和肝炎	**158 PCR与测序**、**156 抗体技术**、**30 共价修饰与酶原**
健康	口服补液盐救治腹泻；硝酸甘油缓解心绞痛	**39 协同运输**、**125 NO与cGMP**
健康	苯丙酮尿症的饮食治疗；糖尿病、高血脂的代谢干预	**71 碳骨架**、**75 代谢的调节**
健康	针对癌基因产物的靶向药；干细胞和基因编辑治疗	**126 受体酪氨酸激酶**、**144 干细胞**、**159 基因工程**

- 答这类开放题的写法：先点出原理（一句话），再说怎么用、解决了什么问题，举两到三个不同方面的例子，比罗列十个名字得分高。
- 细胞生物学当前的热点方向可以从这条链的后半段挑：细胞信号转导与疾病、细胞周期调控与肿瘤、干细胞与再生医学、细胞自噬与程序性死亡、表观遗传与细胞命运、细胞器之间的相互作用、单细胞组学和超高分辨率成像。

近五年考了 5 卷 生22 生23 生24 生25 生26　**真题 8 道** 生化 22 23 24 25 26 · 细胞 12 15

怎么考

近年考什么，怎么想

华农近几年的偏好，加上华农和外校近年真题里不直接、要动脑子的题；每题先给思路，再点开看要点

近几年华农怎么考

2010–2026 年华农真题按一条线的六问一段一段整理，每条后面写怎么办；题号点开是原题，标“推测”的是押题

单独的打印版 PDF（正文、卡号对照、引到的真题原文）›

这份是 Gemini 和我分别把真题看了一遍、合并核对过的；成稿又让 Gemini 按固定标准打了四轮分，71～72 分，没到 90：它要求给附录里的真题全配上答案，另外不认 2026 年的诺贝尔奖（已在官网核实）。先说明一点：题库有缺口。生化 2019–2023 年只收到名词解释和大题，选择、判断、填空没有；细胞 2021、2024 年没有选择题，2023 年只有 2 道。所以“某个点近年没考”，只对 2024–2026 年的小题算数；下面每一问末尾列的“近年没有单独出过题的环”，不代表一定不考。

总规律一：顺着前几年的题往下问

- **中文名词，隔一到四年改考英文**：转换数 生化2025-名词-4 → Kcat 生化2026-名词-5；分子伴侣 生化2024-名词-5 → Chaperone 生化2026-名词-3；别构调节 生化2022-名词-5 → Allostery 生化2026-名词-2。近三四年考过的中文名词，都要顺手记住英文。
- **名词过一两年，升成大题**：内质网应激 细胞2022-名词-1 → 细胞2024-简答-4 → 细胞2025-名词-4 → 细胞2026-论述-2（20 分）；自噬 Autophagy 细胞2024-名词-7 → 自噬体 Autophagosome 细胞2025-名词-9 → 自噬怎样维持细胞内稳态 细胞2026-简答-2。
- **一年比一年深**：米氏方程，2024 年考名词“初速度”和选择“竞争性抑制 Km、Vmax 怎么变”（生化2024-名词-2、生化2024-选择-10）→ 2025 年推导米氏方程、讲三类抑制的特点（生化2025-问答-1、生化2025-问答-3）→ 2026 年推导竞争性抑制的方程 生化2026-问答-3。蛋白质结构，一级结构决定功能 生化2023-问答-8 → 结构分析方法的优缺点 生化2025-问答-4 → 结构预测工具 生化2026-问答-5。
- 所以别按“去年考过今年就不考”押题：近两年刚考过的点，要防它换成英文、变成大题，或者往深里再问一步。
- **怎么办**：近三四年考过的中文名词，都练到看见英文能认出、说出中文和得分点。已经升成大题的，背满分答案：内质网应激 **fz03-q2**、自噬 **dx07-q3**。近两年又出了名词的，按大题再备一遍：干细胞和转分化 **sm04-q1**、**sm04-q5**、**fz04-q1**，主动运输 **s08-q7**、**x196**，凋亡 **sm03-q3**，常染色质和异染色质 **s09-q8**。推导题 **s06-q1**、**s06-q2**、**s06-q3** 亲手写两遍。

总规律二：不问“是什么”，问“为什么”“会怎样”

- 草酰乙酸被抽走了循环怎么办 生化2022-简答-1；缺硫胺素和生物素为什么脂肪酸合成慢 生化2022-简答-4；DNA 聚合酶缺失会怎样 生化2022-简答-9；膜泡漏了为什么合成不了 ATP 生化2023-问答-10；稀酸、高盐为什么能让组蛋白离开 DNA 生化2024-简答-2；低温下细菌为什么增加不饱和脂肪酸 生化2026-问答-1；胶原为什么成不了 α-螺旋 生化2026-问答-2。
- 背的时候每一环多问一句“为什么在这里、坏了会怎样”，光背定义不够。
- **怎么办**：每背一环，自己问一句“这一步堵住、这个零件坏了会怎样”；后面的思路题按“堵一步、坏一个零件，问后果”“给一个现象，问为什么”两类各练几道。上面七道里六道的满分答案在 **dx01-q4**、**s10-q1**、**fz01-q8**、**dx02-q1**、**s08-q2**、**s03-q1**；稀酸高盐那道这样答：组蛋白富含带正

电的赖氨酸、精氨酸，靠离子键结合 DNA 上带负电的磷酸，高盐屏蔽电荷、稀酸让磷酸基团质子化，离子键都被削弱，组蛋白就脱下来。

总规律三：名词解释越来越英文

- 细胞卷 2022 年还是中英并列（如 细胞2022-名词-1），2023 年起四年 40 道全是英文（细胞2023-名词-1 到 细胞2026-名词-10），不给中文。
- 生化卷 2024 年全用中文出题（Tm、Western 这类词除外），2025 年 2 道英文（生化2025-名词-1、生化2025-名词-2），2026 年 5 道（生化2026-名词-1 到 生化2026-名词-5）。2027 年生化的英文名词只会多不会少（推测）。
- 早年生化 20 分的“英译汉”（如 生化2017-翻译-1，2010–2017 年）不再单独出，并进了名词解释。
- **怎么办**：名解卡练“看英文说中文和得分点”：细胞的名词全部过一遍，生化近五年考过的名词也过一遍。英文认得就行，不用会拼，答题照中文的标准答案写；下面各段说“英文”的，都是这个意思。

总规律四：钉子户，隔几年原题再考

- **大题**：受体介导的胞吞 细胞2017-简答-3（举例说明），后三次都指定“以 LDL 为例”细胞2018-简答-4、细胞2020-问答-5、细胞2024-简答-3；IP_3 动员 Ca^{2+} 四次 细胞2018-简答-3、细胞2020-问答-4、细胞2024-简答-1、细胞2025-简答-3；分子开关四年三次 细胞2023-简答-4、细胞2024-简答-10、细胞2026-简答-1；乙酰 CoA 的去向和枢纽作用四年三次 生化2023-问答-7、生化2024-简答-6、生化2026-问答-6；14 碳脂肪酸算 ATP 三次 生化2010-问答-3、生化2024-简答-8、生化2026-问答-9；膜泡运输的类型 细胞2017-简答-4 和 细胞2024-简答-2 一字不差。
- **名词**：X 染色体失活 细胞2023-名词-2、细胞2025-名词-2；半桥粒 细胞2024-名词-4、细胞2025-名词-7；胞吐 Exocytosis 三次 细胞2021-名词-3、细胞2023-名词-3、细胞2025-名词-8；激酶连续三年 生化2021-名词-7、生化2022-名词-6、生化2023-名词-9；核孔复合体由中英并列 细胞2022-名词-3 改成纯英文 细胞2024-名词-8 再考。
- **小题**：受体介导胞吞里受体的去路 细胞2025-选择-6、细胞2026-选择-18；核定位信号 细胞2025-选择-11、细胞2026-选择-17；SDS-PAGE（常和凝胶过滤一起）三年都在判断题里挖坑 生化2024-判断-7、生化2025-判断-4、生化2026-判断-2；酶纯化后比活力 生化2012-判断-10、生化2024-判断-5。
- 间隔有长有短，短的一两年，长的十几年（14 碳算 ATP 从 2010 年隔到 2024 年）。
- **怎么办**：钉子户直接背满分答案：**s08-q1**（LDL 胞吞）、**s11-q1**（IP_3 与 Ca^{2+}）、**s11-q4**（分子开关）、**dx01-q1**（乙酰 CoA）、**dx05-q1**（14 碳算 ATP）、**fz03-q4**（膜泡运输）。小题里这四个坑考前再看一遍：受体大多回到质膜；核定位信号富含碱性氨基酸、入核后不切除；SDS-PAGE 测的是亚基分子量；纯化后比活力要用总活力和总蛋白算，不能只看质量比。

总规律五：同一张卷子，小题和大题互相递线索

- 生化2026-问答-6 题干直接写着“乙酰 CoA”，正好是 生化2026-填空-7 的答案，而填空题又提示了糖、脂肪、氨基酸三条线；生化2026-判断-3（甘氨酸常在胶原螺旋里）提示 生化2026-问答-2 的一个得分点；生化2026-选择-4（米氏方程的前提）提示 生化2026-问答-3 的推导前提；生化2025-判断-7（半乳糖、甘露糖能进糖酵解）提示 生化2025-问答-6；2024 年酮体一张卷子考了三次 生化2024-判断-14、生化2024-名词-9、生化2024-简答-7。
- 考场上大题想不全，回头翻翻选择、判断、填空；小题拿不准，也看看大题的题干。

- **怎么办**：拿到卷子先做完选择、判断、填空；写每道大题前，回头扫一眼小题里有没有现成的词。

总规律六：每年一道应用题，诺奖题跟着当年走

- 生化每年都有一道“生化理论或技术的应用”：生化2022-简答-7（农业）、生化2023-问答-5（健康，同年还有基因编辑的前景 生化2023-问答-6）、生化2024-简答-9（健康或生产，二选一）、生化2025-问答-10（农业）、生化2026-问答-10（健康），2025、2026 两年放在最后一道。2027 年很可能还有（推测），农业、健康都要备。
- 应用题怎么答：挑两三个例子，每个写清“用的什么生化原理（两三句）→ 用在哪、解决了什么”。农业可以备抗寒（膜脂不饱和度，接 生化2026-问答-1）、生物固氮、基因编辑育种；健康可以备 mRNA 疫苗、竞争性抑制类药物（别嘌呤醇 生化2024-填空-10、他汀类）、PCR 和抗体检测。见 **163 学以致用**。
- 诺贝尔奖：考研在 12 月，2024、2025 两年都考了当年 10 月刚颁的奖：2024 年考研考 2023 年的奖（mRNA 疫苗 生化2024-选择-18），2025 年考研考 2024 年的奖（microRNA 生化2025-选择-1），2026 年考研的大题又问蛋白质结构预测 生化2026-问答-5（2024 年化学奖的内容）。
- 2027 年考研（2026 年 12 月考）要留意（推测；2026 年的两个奖据诺贝尔奖官网 nobelprize.org 10 月 5 日、7 日的公告）：2026 年生理学或医学奖“光门控离子通道与光遗传学”（Deisseroth、Hegemann、Nagel），对应通道蛋白和膜电位，见 **37 被动运输**；2026 年化学奖“不对称合成里的非线性效应和自催化”（Kagan、Soai），讲手性分子怎样只剩一种构型，对应手性、L-氨基酸和 D-糖，见 **8 二十种侧链**、**42 单糖**；2025 年生理学或医学奖是调节性 T 细胞和外周免疫耐受，外校 2026 年已经考了“调节性 T 细胞”的名词。
- **怎么办**：应用题的两张卡 **s10-q2**（农业）、**s10-q3**（健康）各备两三个例子，背到能直接默写。诺奖每个用一句话说清“发现了什么、对应课本哪一环”，选择题就够了。

总规律七：两张卷子有交叉

- 2026 年两卷同一年撞题：膜流动性 生化2026-问答-1 和 细胞2026-选择-2；GPCR 与 PIP_2 生化2026-问答-4、生化2026-填空-1 和 细胞2026-选择-8、细胞2026-选择-19；胶原与蛋白聚糖 生化2026-问答-2、生化2026-名词-1 和 细胞2026-选择-10。
- 两科教材重合的章节，两张卷子都会出：组蛋白与染色质 生化2024-简答-2、翻译后修饰 生化2023-问答-3、端粒酶 生化2021-名词-3、生化2022-名词-7。膜、信号、蛋白质修饰与分选、细胞外基质、氧化磷酸化、端粒这几块两科合着背。
- **怎么办**：两科交叉的这几块，在一条线里本来就是同一环，按环背一次就够：膜（第 34～36 环）、信号（第 120～127 环）、修饰与分选（第 98～111 环）、细胞外基质（第 141 环）、氧化磷酸化（第 52～57 环）、端粒（第 83 环）。

总规律八：退场的考法

- 双脱氧测序原理（生化2012-问答-4、生化2013-问答-2、生化2015-分析-1）、查伽夫规则计算（生化2011-分析-1、生化2014-分析-4）、两段寡核苷酸的掺入比例（生化2010-选择-16、生化2017-选择-16 等考过四次），2024–2026 年都没再出现（生化 2019–2023 年没收小题，这几年说不准）。
- 细胞卷的植物形态题大幅减少，近年只有两个名词 细胞2021-名词-10 胞间连丝、细胞2022-名词-5 原生质体（胞质环流 细胞2024-简答-8 考的是微丝的机制，见第五问）；“谈谈细胞生物学的热点”

（细胞2012-问答-6、细胞2015-论述-1）不再出；单列的“实验题”没有了，实验思维嵌进了简答和论述（见第六问）。

- **怎么办**：这些点在关键词卡上大多标了“放一放”，最后一个月只看一眼结论，留给选择和判断。

第一问 谁干活：氨基酸、蛋白质、酶

- **起点：细胞、水与 pH（第 1～7 环）**：近年只有零星几题：Cell theory 细胞2024-名词-2；病毒是不是生命、和细胞什么关系 细胞2023-简答-1。
  - **怎么办**：病毒和细胞的区别、细胞学说的内容各备一段话，名词 Cell theory 认得。
- **氨基酸（第 8～10 环）**：侧链的“性格”小题很密：丝氨酸、苏氨酸的羟基 生化2026-选择-3、生化2025-判断-2、生化2024-选择-5（大题 生化2019-简答-5）；组氨酸的侧链 pKa 最接近生理 pH 生化2024-选择-4；疏水的在里、带电的在外 生化2025-选择-8；280 nm 吸收 生化2024-填空-3。等电点要会算会判：三个三肽选哪个 pH 分离 生化2024-简答-3，电泳往哪边跑 生化2024-选择-3。见 **8 二十种侧链**、**9 等电点**。
  - **怎么办**：20 种侧链按“极性、带不带电、有什么特殊基团（羟基、咪唑基、巯基）”列一张表；等电点会算：**s01-q1**、**s01-q2**。
- **从一条链到一个形状（第 11～16 环）**：
  - 二级结构问“为什么稳”：生化2026-问答-2、生化2026-填空-2、生化2026-判断-3。
  - 一级结构决定功能 生化2023-问答-8；换掉一个氨基酸会不会改变功能 生化2025-选择-7、生化2024-判断-8。
  - 分子伴侣两科六年考了五题：细胞2021-名词-2、细胞2022-选择-5、生化2024-名词-5、生化2024-判断-18、生化2026-名词-3。
  - 名词：结构域 生化2023-名词-8、蛋白质变性 生化2023-名词-13、生物活性肽 生化2025-名词-3。见 **13 二级结构**、**15 序列决定折叠**。
  - **怎么办**：大题背 **s03-q1**（α-螺旋与 β-折叠的稳定性、胶原）；分子伴侣、结构域、蛋白质变性三个名词，英文都要认得。
- **形状决定功能（第 17～21 环）**：血红蛋白近年只剩判断题 生化2025-判断-3（协同与 CO）；结构测定和预测连着两年大题 生化2025-问答-4、生化2026-问答-5，蛋白质工程 生化2021-名词-2。见 **18 别构与协同**、**21 看见与改造结构**。
  - **怎么办**：**s03-q2**（结构测定与结构预测）。
- **酶为什么快、为什么准（第 22～26 环）**：2023、2024、2026 三年各考一个名词：酶的活性中心 生化2023-名词-14、邻近与定向效应 生化2024-名词-1、Covalent Catalysis 生化2026-名词-4；简答：专一性和高效性的原理 生化2021-简答-2，温度和 pH 的影响 生化2023-问答-1。四种催化机制里广义酸碱催化还没考，可能合成一道“酶为什么高效”的大题（推测）。见 **24 活性中心**、**25 催化机制**。
  - **怎么办**：**s05-q1**（高效性和专一性）、**s05-q2**（温度和 pH）；四种催化机制各记一个例子，准备合成一道大题。
- **怎样量一个酶（第 27～28 环）**：近年最重的一段，2024–2026 三年 17 道题，除下面几行外还有 生化2024-选择-10、生化2024-填空-10、生化2024-判断-1、生化2025-问答-1、生化2025-问答-3、生化2025-填空-1、生化2025-判断-1、生化2026-问答-3、生化2026-选择-4。
  - 名词：初速度 生化2024-名词-2、转换数 生化2025-名词-4、Kcat 生化2026-名词-5。

- 判断题专挖“所有酶都怎样”的坑：“所有酶都会被底物饱和”生化2024-判断-4、“所有酶都遵循米氏动力学”生化2026-判断-4、“酶浓度和初速度成正比”生化2026-判断-5；双倒数作图的截距生化2026-填空-3，乒乓机制 生化2026-选择-5。
- 大题从“特点”到“推导”（总规律一）。推导写全：写出 $E + S \rightleftharpoons ES \rightarrow E + P$（标 k_1、k_{-1}、k_2）→ 初速度 $v = k_2[ES]$ → 稳态假设 $d[ES]/dt = k_1[E][S] - (k_{-1} + k_2)[ES] = 0$ → 代入总酶 $[E]_0 = [E] + [ES]$，解出 [ES] → 定义 $Km = (k_{-1} + k_2)/k_1$、$Vmax = k_2[E]_0$ → 得 $v = Vmax[S]/(Km + [S])$；竞争性抑制再加 $[E]_0 = [E] + [ES] + [EI]$ 和 $Ki = [E][I]/[EI]$，得表观 Km 乘以 $(1 + [I]/Ki)$、Vmax 不变。
- 2027 年防非竞争性、反竞争性抑制的推导或双倒数作图（推测）。见 **27 米氏方程**、**28 酶的抑制**。
- **怎么办**：**s06-q1**、**s06-q2**、**s06-q3** 亲手推、亲手画；判断题见到“所有”“一定”“成正比”，先想有没有条件和例外：别构酶不符合米氏方程，酶浓度和初速度要在底物足够多时才成正比。

- **怎样管住一个酶（第 18、29～30 环）**：别构一直在考：别构调节 生化2022-名词-5 → 别构酶调节活性的机理 生化2024-简答-1 → Allostery 生化2026-名词-2，柠檬酸别构激活乙酰 CoA 羧化酶生化2024-填空-8；另有负反馈调节 生化2021-名词-5，caspase 以酶原形式存在 细胞2026-名词-1。见 **18 别构与协同**、**29 别构酶**、**30 共价修饰与酶原**。
  - **怎么办**：**s04-q1**（别构酶的调节机理）；别构调节和共价修饰列表对比（快慢、可逆、怎样放大），防合成一道“酶活性怎样调节”的大题（推测）。
- **酶的帮手（第 31～32 环）**：小题年年有：生物素是羧化酶的辅酶 生化2025-判断-8，转运一碳单位的载体 生化2026-填空-4，转氨酶的辅酶 生化2024-填空-7，TPP 缺乏影响哪个酶 生化2024-选择-14，“所有维生素都能作辅酶”是错的 生化2024-判断-6，脂溶性维生素 生化2024-名词-8、生化2024-选择-8。大题把维生素和代谢绑在一起 生化2022-简答-4。见 **31 辅酶**。
  - **怎么办**：列一张“维生素—辅酶—哪个酶—缺了会怎样”的表：**s10-q1**、**s10-q4**。
- 近年没有单独出过题的环：细胞的共性、四类分子、四级结构、Bohr 效应与 BPG、活化能与过渡态。

第二问 劲从哪来：膜、能量、代谢

- **膜是什么做的（第 33～36 环）**：脂质小题多：甘油骨架、甘油磷脂、类固醇（生化2026-选择-2、生化2026-判断-1、生化2024-选择-2、生化2024-判断-2），必需脂肪酸 生化2023-名词-10，生物膜生化2023-名词-12，脂质体 细胞2022-名词-10。流动性先在细胞小题里考（细胞2022-选择-2、细胞2026-选择-2），2026 年升成生化大题 生化2026-问答-1；膜蛋白：跨膜拓扑和 GPCR 七次跨膜生化2026-问答-4、膜骨架 细胞2022-简答-5、脂锚定蛋白 细胞2021-名词-5。见 **33 脂质**、**35 流动镶嵌模型**、**36 膜蛋白**。
  - **怎么办**：**s08-q2**（低温与不饱和度、胆固醇的双相调节）、**s08-q3**（流动性怎样用实验证明）、**s08-q5**（跨膜拓扑）。
- **东西怎样过膜（第 37～40 环）**：
  - 细胞名词几乎每年一个：Ca^{2+} 泵 细胞2021-名词-4、细胞2023-名词-8，Channel protein 细胞2023-名词-1，Cotransport 细胞2024-名词-3，Exocytosis 三次（总规律四），active transport 细胞2026-名词-7。
  - 小题：缬氨霉素 细胞2023-选择-1、抑制钠钾泵 细胞2022-选择-8、葡萄糖怎样进肌细胞 细胞2026-选择-5。
  - 大题：水孔蛋白的发现（材料题）细胞2021-问答-1、LDL 胞吞（总规律四）、霍乱毒素和口服补液盐 细胞2025-综合-1。2027 年可能出主动运输的类型、离子浓度差怎么建立（推测）。见 **37 被动运输**、

38 泵、**39 协同运输**、**40 胞吞与胞吐**。

- **怎么办**：**s08-q1**（LDL 胞吞）、**s08-q7**（钠钾泵与 Na^+ 浓度差）、**x196**（小分子跨膜运输的类型）、**s11-q6**（霍乱毒素）。

- **能量的账怎么记（第 41 环）**：激酶三年三次名词（总规律四）；氧化磷酸化与底物水平磷酸化 生化2023-名词-4；怎样研究代谢途径 生化2022-简答-6、代谢组学 生化2022-名词-1。见 **41 自由能与ATP**。
  - **怎么办**：激酶、两种磷酸化的区别背熟；研究代谢途径的方法（同位素示踪、抑制剂、突变体、代谢组学）各记一句。
- **糖（第 42～44 环）**：小题考还原性、糖苷键、糖原和支链淀粉（生化2025-选择-10、生化2026-选择-1、生化2025-填空-2、生化2024-填空-1）；糖缀合物的名词四年四个：糖蛋白 生化2023-名词-1、复合多糖 生化2024-名词-6、结合糖 生化2025-名词-5、Proteoglycan 生化2026-名词-1。见 **44 糖缀合物**。
  - **怎么办**：糖蛋白、蛋白聚糖、结合糖三个名词，英文都要认得；大题 **s07-q4**（糖蛋白和蛋白聚糖的区别）、**s07-q5**（N-连接与 O-连接糖基化）。
- **糖酵解与三羧酸循环（第 45～50 环）**：
  - 糖酵解只出名词和小题（生化2021-名词-8、生化2024-判断-11、生化2024-选择-11、生化2024-选择-13、生化2026-判断-6），限速酶 生化2024-选择-12；大题问别的单糖怎么进来 生化2025-问答-6。
  - 三羧酸循环近年不考过程，考回补：草酰乙酸被抽走怎么办 生化2022-简答-1。
  - 重点是枢纽：乙酰 CoA（总规律四，另有 生化2026-判断-7），乙醛酸循环 生化2025-名词-8、生化2025-填空-6，Cori 循环 生化2025-名词-6，哪种中间物不能给氨基酸提供碳骨架 生化2025-选择-3。见 **45 糖酵解**、**50 代谢的枢纽**。
  - **怎么办**：**s07-q2**（别的单糖怎样进糖酵解）、**dx01-q4**（草酰乙酸回补）、**dx01-q1**（乙酰 CoA）。
- **电子怎样变成 ATP（第 51～57 环）**：
  - 氧化磷酸化名词 生化2026-名词-8，化学渗透 生化2023-问答-10；小题：最终电子受体 生化2024-选择-15、专一抑制 F_0 的物质 生化2024-选择-16、解偶联剂 生化2024-判断-13、生化2026-判断-10，细胞卷 2026 年两道选择题都问氧化磷酸化、质子梯度在哪里（细胞2026-选择-1、细胞2026-选择-14），生化卷同年考了名词。2027 年化学渗透、抑制剂和解偶联剂可能回到生化大题（推测）。
  - 算 ATP 先写明折算标准，按 NADH = 2.5、$FADH_2$ = 1.5：14 碳脂肪酸经 6 轮 β 氧化得 6 个 NADH、6 个 $FADH_2$ 和 7 个乙酰 CoA（每个 10 个 ATP），共 94 个，减去活化消耗的 2 个高能磷酸键，净得 92 个；若按老标准 NADH = 3、$FADH_2$ = 2、乙酰 CoA = 12 算，是 $6\times3+6\times2+7\times12-2=112$ 个。考场上写明用的哪套标准，两套结果都写上更稳。胞质 NADH 走哪条穿梭也要说清（生化2024-填空-5、生化2026-选择-10）。
  - 线粒体：两套基因组的关系 细胞2024-简答-9、毒素在线粒体膜上打孔 细胞2022-简答-3、蓝藻的电子传递链在哪 细胞2025-选择-10。见 **53 化学渗透**、**55 解偶联与呼吸控制**、**56 ATP的总账**、**57 线粒体**。
  - **怎么办**：**dx02-q1**（亚线粒体泡）、**dx02-q3**（解偶联剂）、**dx02-q8**（ATP 合酶）、**dx01-q7**（葡萄糖和乙酸算 ATP）、**dx05-q1**（14 碳算 ATP）、**dx02-q4**（线粒体的半自主性）。

- **光合作用（第 58～59 环）**：生化卷只剩小题和名词：光反应、暗反应在哪进行 生化2025-填空-3，光呼吸 生化2024-名词-13；细胞卷 2025 年有一道大题，线粒体和叶绿体怎样转换能量 细胞2025-简答-1。见 **58 光反应**、**59 卡尔文循环**、**57 线粒体**。
  - **怎么办**：光反应、暗反应的场所和产物，光呼吸的过程和意义各背一段；线粒体和叶绿体对比着讲能量转换。
- **糖的存取（第 60～62 环）**：糖原 生化2025-填空-5、生化2026-选择-7；糖异生名词两次 生化2023-名词-11、生化2025-名词-7，场所判断两次 生化2024-判断-12、生化2026-判断-9；戊糖磷酸途径连考三年 生化2024-选择-17、生化2024-填空-6、生化2025-选择-5、生化2025-问答-7、生化2026-选择-6。见 **61 糖异生**、**62 戊糖磷酸途径**；NADH 的穿梭见上一段和 **63 区室与穿梭**。
  - **怎么办**：**dx03-q1**（戊糖磷酸途径的意义）；糖异生记住三个场所：线粒体、细胞质、内质网（最后一步）。
- **脂的存取（第 64～68 环）**：β 氧化名词两次 生化2022-名词-4、生化2024-名词-10，填空 生化2025-填空-4、生化2026-填空-5；酮体三年五题 生化2024-名词-9、生化2024-判断-14、生化2024-简答-7、生化2025-选择-2、生化2026-名词-9；脂肪酸合成的限速酶 生化2024-填空-8，脂蛋白 生化2026-选择-9，胆固醇合成的限速酶 生化2026-选择-8。见 **64 β氧化**、**65 酮体**、**66 脂肪酸合成**、**68 胆固醇**。
  - **怎么办**：**dx05-q2**（酮体）、**dx05-q1**；三个限速酶一起背：脂肪酸合成是乙酰 CoA 羧化酶，胆固醇合成是 HMG-CoA 还原酶，β 氧化是肉碱脂酰转移酶 I。
- **氮与代谢的整合（第 69～75 环）**：尿素循环名词两次 生化2024-名词-12、生化2026-名词-10，判断三次 生化2024-判断-17、生化2025-判断-6、生化2025-判断-10，大题氨的来源和去路 生化2026-问答-8；联合脱氨基 生化2023-名词-3；生物固氮 生化2024-名词-11、生化2024-填空-9；核苷酸合成 生化2024-选择-20、生化2026-填空-6；整合：血糖的来源与去路 生化2023-问答-4、肝里的三条途径 生化2025-问答-8。见 **70 尿素循环**、**74 物质代谢的联系**、**75 代谢的调节**。
  - **怎么办**：**dx07-q1**（氨的来源和去路）、**dx07-q2**（尿素循环）、**dx07-q5**（肝内三条途径）、**m01-q3**（血糖）。
- 近年没有单独出过题的环：丙酮酸脱氢酶、氧化还原电位（丙酮酸脱氢酶在 生化2022-简答-4 里带到过；生化2024-选择-14 问的是三羧酸循环里同样要 TPP 的 α-酮戊二酸脱氢酶）。

第三问 图纸在哪：遗传信息、蛋白质的合成与投递

- **图纸是什么做的（第 76～80 环）**：核酸理化小题：紫外吸收 生化2024-选择-7、Tm 生化2024-名词-3、生化2024-判断-3、增色效应 生化2022-名词-11；DNA 和 RNA 的区别 生化2026-问答-7。染色质五年四次大题：海胆精子核小体 细胞2022-简答-1、组蛋白与非组蛋白 细胞2023-简答-3、稀酸高盐 生化2024-简答-2、核小体的结构 细胞2025-简答-5；名词 euchromatin 细胞2026-名词-9，2027 年防它的另一半异染色质（推测）。X 染色体失活、位置效应这些表观遗传的名词放在第四问，背的时候和染色质合着看。见 **77 双螺旋**、**79 染色质**。
  - **怎么办**：**s09-q3**（DNA 和 RNA 的区别）、**s09-q8**（核小体与组蛋白）、**fz02-q6**（加入组蛋白后转录为什么停了）。
- **复制（第 81～87 环）**：半保留复制 生化2024-名词-15、DNA 聚合酶缺失会怎样 生化2022-简答-9、Taq 酶的判断 生化2025-判断-9；端粒两科都考：端粒酶 生化2021-名词-3、生化2022-名词-7、细胞2026-名词-8，克隆羊早衰 细胞2021-简答-2，端粒酶抑制剂的论述 细胞2026-论述-1；突变连着两年

大题 生化2024-简答-10、生化2025-问答-2；同源重组名词两次 生化2021-名词-1、生化2023-名词-7。DNA 修复近年没有单独出，只在 细胞2026-论述-1 问紫外线损伤时带到。见 **83 端粒**、**86 突变**、**87 DNA重组**。

  - **怎么办**：**fz01-q8**（DNA 聚合酶缺失）、**fz01-q5**（端粒酶与衰老、癌变）、**fz01-q2**、**fz01-q4**（突变）。

- **转录与加工（第 88～94 环）**：名词：中心法则 生化2026-名词-6、DNA 正链与负链 生化2023-名词-5、转录因子 生化2021-名词-4、顺式作用元件 生化2022-名词-3、选择性剪接 生化2021-名词-6，2022 年又考了一次（回忆版把它和信号肽记在同一条 生化2022-名词-9 里）；大题：转录从哪开始、开多少 生化2022-简答-8，RNA 编辑的意义两次 生化2021-简答-9、生化2025-问答-9。见 **90 真核转录**、**92 选择性剪接与RNA编辑**。
  - **怎么办**：**fz02-q3**（转录从哪开始、开多少）、**fz02-q1**（RNA 编辑）、**fz02-q5**（原核与真核转录的区别）。
- **翻译（第 95～98 环）**：密码子的简并性 生化2026-名词-7；tRNA 三题 生化2024-填空-4、生化2024-判断-19、生化2025-问答-5（二级结构和功能）；把 Cys-tRNA 改成 Ala-tRNA 的经典实验 生化2021-简答-6；从遗传信息到肽链 生化2023-问答-2；翻译后修饰 生化2023-问答-3。2027 年防复制、转录、翻译怎样保证准确（推测）。见 **96 tRNA与氨基酸活化**、**97 翻译**、**98 翻译后加工**、**84 复制的忠实性**。
  - **怎么办**：**s09-q4**（tRNA）、**fz03-q11**（Cys-tRNA 的实验）、**fz03-q7**（翻译后修饰）、**fz01-q6**（三个过程怎样保证准确）。
- **分选与内膜系统（第 99～107 环）**：
  - 蛋白质分选名词两次 细胞2021-名词-1、细胞2025-名词-3，信号肽 生化2022-名词-9；内膜系统为什么是动态统一体 细胞2021-简答-1。
  - 内质网 2021、2022、2024、2025、2026 年都有：滑面内质网的功能 细胞2025-选择-1、细胞2025-选择-3，内质网应激升格（总规律一），抗胰蛋白酶分泌的材料题 细胞2021-实验-1。
  - 糖基化 细胞2022-选择-6、细胞2025-名词-1、细胞2025-简答-2，以及给一个带 O、N 糖链的核蛋白问它在核的哪里 细胞2024-简答-5；高尔基体的极性 细胞2026-简答-3。
  - 膜泡运输 细胞2022-综合-2、细胞2024-简答-2，包被蛋白 细胞2025-选择-12、COPII 细胞2026-选择-3，溶酶体与 M6P 细胞2026-选择-6，共翻译转运 细胞2026-选择-9。
  - 2026 年小题把信号肽到溶酶体这条线都点到了，2027 年防全流程的大题（推测）。见 **99 分选信号**、**100 信号假说**、**102 内质网**、**103 糖基化**、**104 高尔基体**、**105 膜泡运输**、**106 溶酶体**。
  - **怎么办**：**fz03-q2**（内质网应激）、**fz03-q1**（分泌蛋白和膜蛋白怎样分选）、**s07-q5**（糖基化）、**fz03-q5**（高尔基体的极性）、**fz03-q4**（膜泡运输）。
- **核孔与降解（第 108～111 环）**：核孔运输五年六题（细胞2022-名词-3、细胞2023-综合-2、细胞2024-名词-8、细胞2025-综合-2、细胞2025-选择-11、细胞2026-选择-17）；泛素化 细胞2022-选择-4，泛素化的蛋白去哪 细胞2024-论述-1；自噬升格（总规律一）。线粒体蛋白的输入老题考过三次（细胞2012-问答-2、细胞2015-简答-3、细胞2020-问答-1），可以和核孔运输对比着备（推测）。见 **109 核孔运输**、**110 泛素与蛋白酶体**、**111 自噬**、**108 线粒体蛋白的输入**。
  - **怎么办**：**fz03-q3**（核孔复合体和亲核蛋白入核）、**fz03-q10**（核质蛋白的实验）、**dx07-q3**（自噬）；把线粒体蛋白输入和入核列成一张对比表：信号在哪、折不折叠、靠什么供能、信号切不切。

- 近年没有单独出过题的环：基因组、原核转录、rRNA 与核糖体、逆转录、过氧化物酶体；DNA 修复只在 细胞2026-论述-1 里带到。

第四问 听谁指挥：基因表达的调节、细胞信号

- **基因表达的调节（第 112～119 环）**：题不多：操纵子是不是真核特有 生化2026-判断-8、组合调控 细胞2022-名词-9、细菌耐药的生化机制 生化2024-简答-4。表观遗传的名词连着出：X 染色体失活两次（总规律四）、Positional effect 细胞2023-名词-4、Epigenetics 细胞2024-名词-10；RNA 干扰 生化2023-名词-6，诺奖又带出 microRNA（总规律六）。见 **117 表观遗传**、**118 RNA干扰**、**119 细菌耐药**。
  - **怎么办**：**fz04-q2**（乳糖操纵子）、**fz04-q6**（染色质重塑）；表观遗传的几个名词，英文都要认得。
- **信号怎样进来（第 120～121 环）**：名词：激素受体 生化2024-名词-7、激动剂 生化2024-名词-14、拮抗剂 生化2025-名词-10、Ion Channel-Coupled Receptor 细胞2025-名词-5、cell surface receptor 细胞2026-名词-10；重症肌无力的原因 细胞2025-选择-7。
  - **怎么办**：受体的几种类型（离子通道偶联、G 蛋白偶联、酶联、核受体）各记一个例子；激动剂、拮抗剂、第二信使这几个名词背熟。见 **120 细胞通讯**。
- **经过 G 蛋白（第 122～125 环）**：细胞卷年年大题，轮着考 cAMP、IP_3 与 Ca^{2+}、NO 与 cGMP。
  - cAMP 通路换着外衣出：抽烟喝茶 细胞2022-简答-4、抗利尿激素 细胞2024-论述-1、霍乱毒素 细胞2025-综合-1；生化卷问肾上腺素怎样促进糖原分解 生化2021-简答-3。
  - IP_3 与 Ca^{2+}：大题四次（总规律四），小题 细胞2022-选择-9、细胞2026-选择-8、生化2026-填空-1。
  - NO 与 cGMP：2023 年借硝酸甘油出 细胞2023-综合-1，2026 年直接问 细胞2026-简答-4；视觉的第二信使 细胞2025-选择-17；第二信使的名词 生化2025-名词-9。见 **122 G蛋白偶联受体**、**123 cAMP与PKA**、**124 IP3与钙**、**125 NO与cGMP**。
  - **怎么办**：**s11-q1**（IP_3）、**s11-q5**（NO 与硝酸甘油）、**s11-q6**（霍乱毒素）、**s11-q7**（抗利尿激素）、**dx05-q4**（抽烟喝茶）、**m01-q2**（肾上腺素）、**s11-q2**（GPCR 的信号途径类型）。每条通路背成一条箭头链：信号 → 受体 → G 蛋白 → 酶 → 第二信使 → 激酶 → 效应 → 怎么关掉。
- **受体自己就是酶（第 126～127 环）**：分子开关四年三次大题（总规律四），2021 年还有 k1、k2 两个信号蛋白的推理题 细胞2021-简答-5。受体酪氨酸激酶在 细胞2026-论述-1 里借 HER2 靶向药露了面，2027 年 RTK—Ras—MAPK 和 Ras 突变致癌可能单独出（推测）。见 **126 受体酪氨酸激酶**、**127 信号通路的共同规律**。
  - **怎么办**：**s11-q4**（分子开关，含 Ras 突变）、**sm04-q7**（ras 突变为什么致癌）、**s11-q8**（HER2 靶向药）。
- 近年没有单独出过题的环：调控的层次、色氨酸操纵子、DNA 结合蛋白。

第五问 命运如何：骨架、周期、细胞社会、死亡与癌

- **三种纤维和运动（第 128～133 环）**：名词：Actin 细胞2023-名词-5、细胞皮层 细胞2022-名词-6、胞质分裂环 细胞2021-名词-6、MTOC 细胞2023-名词-9、微管结合蛋白 细胞2021-名词-7、cytoskeleton 细胞2026-名词-4、肌钙蛋白 细胞2022-名词-4；小题：细胞松弛素 细胞2022-选择-10、变形运动 细胞2026-选择-12、维持核形状的核纤层 细胞2025-选择-9。大题爱问“怎样证明”：微管的动态不稳定性 细胞2021-实验-2 → 三类骨架的稳定性有何不同、设计实验证明 细胞2024-论述-2，胞质环流和微丝

细胞2024-简答-8。2025、2026 两年骨架只出名词和选择，2027 年回到大题的可能大（推测）。见 **129 微丝**、**130 微管**、**131 中间丝**。

- **怎么办**：**sm01-q1**（动态不稳定性和实验证明）、**sm01-q4**（胞质环流）、**sm01-q3**（纺锤体微管）。

- **周期与分裂（第 134～138 环）**：有丝分裂五年五题（细胞2022-简答-2、细胞2024-简答-6、细胞2025-名词-10、细胞2025-选择-5、细胞2026-选择-4）；哪些实验证明有 MPF 细胞2025-简答-4；Check point 细胞2024-名词-5，DNA 损伤时的检查点 细胞2026-论述-1。见 **136 有丝分裂**、**135 细胞周期的引擎**、**137 检查点**。
  - **怎么办**：**sm02-q1**（MPF）、**sm02-q2**（染色体怎样排到赤道板）、**sm02-q9**（后期怎样移向两极）。
- **细胞社会（第 139～144 环）**：
  - 细胞连接名词三次：半桥粒两次（总规律四）、Gap junction 细胞2024-名词-9；Cell recognition 细胞2023-名词-6；细胞外基质两年选择题 细胞2025-选择-16、细胞2026-选择-10。
  - 分化和干细胞是细胞卷后半本最集中的一段，六年 12 题：分化的名词 细胞2022-名词-7、细胞2025-名词-6、细胞2026-名词-5，分化的特点和分子机制 细胞2024-简答-7，iPS 细胞 细胞2022-综合-1，胚胎干细胞和癌细胞的区别 细胞2021-简答-4，iPSC、ESC 两个名词 细胞2026-名词-2、细胞2026-名词-3，选择题（分化和全能性、终末分化、发育潜能）细胞2022-选择-14、细胞2025-选择-19、细胞2025-选择-15、细胞2026-选择-16。2027 年干细胞或重编程出大题的可能大（推测）。见 **139 细胞连接**、**141 细胞外基质**、**143 细胞分化**、**144 干细胞**。
  - **怎么办**：**sm04-q1**（iPS 细胞）、**sm04-q3**（胚胎干细胞和癌细胞）、**sm04-q5**（干细胞的类型）、**fz04-q1**（分化的特点和分子机制）。
- **衰老、死亡与癌（第 145～150 环）**：细胞衰老名词两次 细胞2021-名词-9、细胞2024-名词-6，选择两题 细胞2025-选择-2、细胞2026-选择-15；凋亡：凋亡小体 细胞2022-名词-8，名词 caspase 细胞2026-名词-1，线粒体途径 细胞2022-简答-3、细胞2023-简答-2，效应 caspase 细胞2023-选择-2，细胞色素 c 激活谁 细胞2026-选择-11，用实验分凋亡和坏死 细胞2023-简答-5，检测凋亡的方法 细胞2022-选择-13；癌：结肠癌和年龄 细胞2021-简答-3、Oncogene 细胞2023-名词-7。程序性坏死、焦亡华农还没考，外校近两年在考（见最后一节）。见 **145 细胞衰老**、**147 凋亡的执行**、**150 癌基因与抑癌基因**、**148 程序性坏死与焦亡**。
  - **怎么办**：**sm03-q1**（凋亡还是坏死）、**sm03-q3**（凋亡的主要事件）、**dx02-q7**（线粒体与凋亡）、**sm04-q6**（癌症发病率和年龄）。
- 近年没有单独出过题的环：马达蛋白、减数分裂、植物程序性死亡。

第六问 凭什么知道：方法与实验

- **生化的方法题，每年两三道，跟着热点走**：双向电泳 生化2021-简答-1、抗原抗体分离方法 生化2021-简答-4、核酸检测 生化2021-简答-5、生化2022-简答-3；蛋白质组学 生化2022-简答-5；基因编辑 生化2023-问答-6；纯化方法 生化2023-问答-9；PCR 引物设计 生化2024-简答-5；结构分析方法 生化2025-问答-4；结构预测 生化2026-问答-5。名词：抗原决定簇 生化2022-名词-2、PCR 生化2023-名词-15、生化2025-名词-1、Western 印迹 生化2024-名词-4、等电聚焦 生化2025-名词-2。见 **154 层析**、**155 电泳**、**156 抗体技术**、**158 PCR与测序**、**159 基因工程**。

  - **怎么办**：**s02-q3**（三种纯化方法）、**s02-q6**（设计纯化方案）、**s09-q9**（新冠核酸和抗体检测）、**fz05-q3**（蛋白质组学）、**fz05-q1**（基因编辑）、**s03-q2**（结构测定与预测）。
- **细胞的方法多在名词和选择里**：FRET 细胞2024-名词-1、免疫荧光 细胞2026-名词-6、流式细胞术 细胞2025-选择-14、分辨率最高的显微镜 细胞2026-选择-13、细胞系 细胞2023-名词-10。见 **151 显微镜**、**152 荧光技术**、**161 细胞培养**。
  - **怎么办**：每种技术记两句：原理是什么，能回答什么问题（FRET、FRAP、免疫荧光、流式、电镜）。
- **细胞卷的实验推理题**：2021–2023 年有 13 道大题直接取自邹方东《细胞生物学学习指南》（2021 年 9 道：细胞2021-简答-1、细胞2021-简答-2、细胞2021-简答-3、细胞2021-简答-4、细胞2021-简答-5、细胞2021-问答-1、细胞2021-问答-2、细胞2021-实验-1、细胞2021-实验-2；2022 年 3 道：细胞2022-简答-1、细胞2022-简答-3、细胞2022-综合-1；2023 年 1 道：细胞2023-综合-2。题后括号里是指南的页码和题号），2024–2026 年没有再照搬。
  - **怎么办**：不必通刷整本指南，看它膜运输、核孔转运、骨架、信号几章的实验分析题，学它的推理方式；再把后面的思路题“设计一个实验去证明”整组练一遍。
- **20 分论述题**：2024、2026 两年都是两道，第一道是“一段材料加四五个小问”的跨章综合题（细胞2024-论述-1 抗利尿激素、细胞2026-论述-1 端粒、HER2 和紫外线损伤）；第二道是核心机制或实验设计（细胞2024-论述-2 骨架的动态不稳定性、细胞2026-论述-2 内质网应激）。材料题按小问编号作答，每问先给结论再写机制。
- **“怎样证明”的题按四步写**：目的；分组，要有对照；怎么处理、怎么检测；预期结果和结论。

外校近两年的动向（880、660 是两本外校真题汇编，这里只看其中 2025、2026 年的真题）

- **定量**：动力学的小计算（给 Km、Ki 求速度）；各种底物彻底氧化的 ATP（甘油、3-磷酸甘油、糖原上切下来的葡萄糖-1-磷酸、软脂酸）。
- **“为什么”**：三羧酸循环不用氧为什么离不开氧；厌氧时糖酵解为什么不能停在丙酮酸；RNA 为什么怕碱而 DNA 不怕；人只有两三万个基因为什么有十万种蛋白质；糖尿病人为什么吃得多反而瘦。
- **设计实验**：证明胰岛素的链间和链内二硫键；检测膜上有没有水通道；提出 Rb 基因失活的两种原因并设计实验证明。
- **给一组数据排方案**：几种蛋白质各给分子量和等电点，问电泳条带的顺序、洗脱顺序或纯化方案。华农已经出过简单的（三肽电泳 生化2024-简答-3），外校考得更综合。
- **新名词**：细胞焦亡、程序性坏死（见 **148 程序性坏死与焦亡**），衰老相关分泌表型（见 **145 细胞衰老**），线粒体的融合与分裂（见 **57 线粒体**），化学诱导的多能干细胞（见 **144 干细胞**）。
- 题型和华农近年的出题方向是一致的，后面按思路类型各挑了一批。

近五年（2022–2026）反复考的环

按“出现在几套卷子里”排；括号里是其中的大题数。生＝生化卷，细＝细胞卷。

环	几卷	哪几年
163 学以致用	5（大题 6）	生22 生23 生24 生25 生26
50 代谢的枢纽	5（大题 4）	生22 生23 生24 生25 生26
79 染色质	5（大题 4）	生24 细22 细23 细25 细26
109 核孔运输	5（大题 2）	细22 细23 细24 细25 细26

环	几卷	哪几年
124 IP3与钙	5（大题 2）	生26 细22 细24 细25 细26
15 序列决定折叠	5（大题 1）	生23 生24 生25 生26 细22
40 胞吞与胞吐	5（大题 1）	细22 细23 细24 细25 细26
28 酶的抑制	4（大题 3）	生22 生24 生25 生26
31 辅酶	4（大题 2）	生22 生24 生25 生26
64 β氧化	4（大题 2）	生22 生24 生25 生26
102 内质网	4（大题 2）	细22 细24 细25 细26
105 膜泡运输	4（大题 2）	细22 细24 细25 细26
136 有丝分裂	4（大题 2）	细22 细24 细25 细26
158 PCR与测序	4（大题 2）	生22 生23 生24 生25
27 米氏方程	4（大题 1）	生22 生24 生25 生26
129 微丝	4（大题 1）	细22 细23 细24 细26
143 细胞分化	4（大题 1）	细22 细24 细25 细26
33 脂质	4（大题 0）	生23 生24 生26 细22
34 脂双层	4（大题 0）	生23 生25 细22 细26
44 糖缀合物	4（大题 0）	生23 生24 生25 生26
61 糖异生	4（大题 0）	生23 生24 生25 生26
120 细胞通讯	4（大题 0）	生24 生25 细25 细26
123 cAMP与PKA	3（大题 3）	细22 细24 细25
127 信号通路的共同规律	3（大题 3）	细23 细24 细26
57 线粒体	3（大题 2）	细22 细24 细25
103 糖基化	3（大题 2）	细22 细24 细25
125 NO与cGMP	3（大题 2）	细23 细25 细26
35 流动镶嵌模型	3（大题 1）	生26 细22 细26
53 化学渗透	3（大题 1）	生23 生26 细26
62 戊糖磷酸途径	3（大题 1）	生24 生25 生26
65 酮体	3（大题 1）	生24 生25 生26
70 尿素循环	3（大题 1）	生24 生25 生26
92 选择性剪接与RNA编辑	3（大题 1）	生22 生23 生25
111 自噬	3（大题 1）	细24 细25 细26
144 干细胞	3（大题 1）	细22 细25 细26
146 凋亡的特征	3（大题 1）	细22 细23 细25
154 层析	3（大题 1）	生23 生24 生25
38 泵	3（大题 0）	细22 细23 细26
43 二糖与多糖	3（大题 0）	生24 生25 生26
117 表观遗传	3（大题 0）	细23 细24 细25
118 RNA干扰	3（大题 0）	生23 生24 生25
145 细胞衰老	3（大题 0）	细24 细25 细26
152 荧光技术	3（大题 0）	细24 细25 细26

堵一步、坏一个零件，问后果

下手三步：先在链上找到被动了的那一环，写出它正常时干什么；再顺着链往下游推——什么堆积了、什么缺了、哪个信号一直开着或者传不下去；最后看有没有旁路能补救。

华农 2023 生化 · 问答

把线粒体打成小泡，膜一漏就合成不了 ATP

超声波把线粒体打成亚线粒体小泡，小泡仍能电子传递和氧化磷酸化；把膜弄得“渗漏”以后 ATP 就合成不了了，为什么？

怎么想

被动的是“膜不漏质子”这个前提。电子传递和 ATP 合成之间只靠质子梯度连着，梯度存不住，后一半就断了。

53 化学渗透　**54** ATP合酶　**55** 解偶联与呼吸控制

- 氧化磷酸化分两段：呼吸链把质子从膜的一侧泵到另一侧，建立质子梯度；质子经 ATP 合酶顺梯度回流，推动合成 ATP。
- 这要求膜是封闭的、对质子不通透。膜一漏，质子不经 ATP 合酶就回去了，梯度建立不起来。
- 所以电子传递照常（甚至更快），ATP 却合成不出来，能量变成热——等于加了解偶联剂。
- 这正是化学渗透学说的证据之一：偶联靠的是跨膜的质子梯度，不是什么高能中间物。

华农 2022 细胞 · 简答

一种毒素多肽在线粒体膜上打出通道，膜间隙的蛋白质漏进胞质

用这种多肽培养哺乳动物细胞会有什么后果？

怎么想

膜间隙里有什么？细胞色素 c。它一到胞质就是凋亡的信号。

57 线粒体　**147** 凋亡的执行

- 膜间隙的细胞色素 c 漏到胞质，与 Apaf-1 结合，聚成凋亡复合体，招来并活化 caspase-9。
- caspase-9 切开活化 caspase-3 等效应 caspase，切割核纤层蛋白、骨架蛋白，放出核酸酶，细胞出现染色质固缩、DNA 梯状断裂、凋亡小体。
- 一同漏出的别的促凋亡蛋白解除对 caspase 的抑制，加快这个过程。
- 结论：细胞发生凋亡（走的是线粒体途径）。

华农 2022 生化 · 简答

大肠杆菌的 DNA 聚合酶缺失了会怎样

如果大肠杆菌 DNA 聚合酶发生缺失突变，将会导致什么后果？

怎么想

题目没说哪一种，就三种分别答：各自正常时管什么，没了缺什么。

82 复制叉　**85** DNA修复

- 聚合酶III（主要的复制酶）：缺了染色体复制不了，细胞不能增殖，是致死的。
- 聚合酶 I （切除引物、填补缺口、参与修复）：还能复制，但冈崎片段之间的引物去不掉、缺口补不上，冈崎片段堆积；修复能力下降，对紫外线和诱变剂敏感。

- 聚合酶 II 、IV、 V （修复和越过损伤）：平时影响不大，DNA 受损时存活率下降。

华农 2025 细胞・综合

霍乱毒素让 Gs 关不上

用信号转导的知识解释霍乱毒素为什么引起腹泻。

怎么想

G 蛋白是个定时开关，靠自己水解 GTP 来关。毒素坏的正是“关”这一步，于是下游全线常开。

122 G蛋白偶联受体　**123** cAMP与PKA　**39** 协同运输

- 毒素进入小肠上皮细胞，使 Gs 的 α 亚基被 ADP-核糖基化，失去 GTP 酶活性，一直停在结合 GTP 的“开”的状态。
- 腺苷酸环化酶持续被激活，cAMP 居高不下，PKA 持续活化。
- PKA 使顶端膜上的氯离子通道打开，Cl^- 大量分泌到肠腔，Na^+ 和水跟着出去，同时 Na^+ 的吸收被抑制 → 水样腹泻、脱水。
- 口服补液盐仍有效：Na^+-葡萄糖同向转运不受 cAMP 影响，Na^+ 和葡萄糖一起被吸收，水随之回来。

2025 合肥工业大学 ・ 660 题

溶酶体里的 pH 升到 7，溶酶体酶和它的受体停在哪里

溶酶体的 pH 为 7 时，甘露糖-6-磷酸（受体）在什么细胞器中？解释原因。

怎么想

受体在哪里放手，靠的是 pH：偏中性时抓着，偏酸时松开。把“酸”拿掉，看这趟来回车卡在哪一站。

106 溶酶体　**104** 高尔基体

- 正常：在高尔基体反面（pH 接近中性），M6P 受体抓住带 M6P 的溶酶体酶，装车运到晚期胞内体；那里偏酸，酶与受体分开，空的受体回高尔基体再用。
- pH 升到 7：酶和受体分不开。受体一直被占着，聚集在前溶酶体（晚期内体）膜上，回不到高尔基体的 TGN。（课本明说溶酶体膜上没有 M6P 受体。）
- 高尔基体那边没有空受体可用，新合成的溶酶体酶认不出来，随默认的分泌途径被排到细胞外。
- 而且酸性水解酶在 pH 7 下本来也没有活性。结果：溶酶体的消化功能丧失，底物堆积。

2026 南开大学 ・ 880 题

尿里出现大量 α-酮戊二酸、琥珀酸、延胡索酸，缺的是哪个酶

三羧酸循环中缺少某种酶，病人尿中出现大量 α-酮戊二酸、琥珀酸和延胡索酸。缺的是什么酶，为什么？

怎么想

一条路被堵，堆积的是堵点上游的中间物；堆得最靠下游的那个，后面一步就是堵点。

49 三羧酸循环

- 三种里最靠下游的是延胡索酸，它的下一步是延胡索酸 → 苹果酸，由**延胡索酸酶**催化。
- 这个酶缺了，延胡索酸过不去而堆积；前面的反应接近可逆或被产物抑制，琥珀酸、α-酮戊二酸也跟着堆积，随尿排出。

2025 厦门大学 · 880 题

糖尿病人吃得多，为什么反而瘦

糖类转变为脂肪的途径是什么？为什么糖尿病人越吃反而不胖？

怎么想

胰岛素是“存”的信号。把这个信号拿掉，存的路全关，取的路全开。

66 脂肪酸合成　**64** β氧化　**75** 代谢的调节

- 糖变脂肪：葡萄糖 → 丙酮酸 → 线粒体里的乙酰 CoA → 以柠檬酸的形式出到胞质 → 乙酰 CoA 羧化成丙二酸单酰 CoA → 脂肪酸合酶合成软脂酸；糖酵解的磷酸二羟丙酮提供甘油-3-磷酸；两者酯化成三酰甘油。还原力 NADPH 来自戊糖磷酸途径。
- 胰岛素不足或不起作用时：葡萄糖进不了肌肉和脂肪细胞（GLUT4 不上膜），糖从尿里丢失；乙酰 CoA 羧化酶不被激活，脂肪合不成，脂肪细胞也拿不到甘油-3-磷酸。
- 同时激素敏感脂肪酶失去抑制，脂肪大量动员；肌肉蛋白质分解去供糖异生。
- 所以吃得多、存不下，人反而消瘦；脂肪酸在肝里大量氧化还会生成过多的酮体。

2025 苏州大学 · 880 题

同一个酶，加五样东西，Km 和 Vmax 各怎么变

酶遵循米氏动力学，下列因素如何改变 Km 和 Vmax：① 竞争性抑制剂 ② 非竞争性抑制剂 ③ 自杀灭活剂 ④ 尿素 ⑤ 底物浓度加倍。

怎么想

Km 反映酶对底物的亲和力，Vmax 等于 kcat 乘以“还能干活的酶”的量。每一样东西只问它动了哪一个。

27 米氏方程　**28** 酶的抑制

- ① 竞争性抑制剂：占活性中心，表观 Km 增大，Vmax 不变。
- ② 非竞争性抑制剂：不妨碍结合，只让一部分酶干不了活，Km 不变，Vmax 减小。
- ③ 自杀灭活剂：共价封死一部分酶，相当于酶量减少，Vmax 减小，剩下的酶 Km 不变。（880 解析答 Km 增大，理由是灭活之前它先与底物竞争结合；两种说法都可以写上。）
- ④ 尿素：使酶变性，有活性的酶减少，Vmax 减小；部分变性的酶与底物结合变弱，表观 Km 也可能增大；浓度高到完全变性则没有活性。
- ⑤ 底物浓度加倍：Km、Vmax 都是酶的参数，都不变；变的只是此刻的速度。

华农 2021 细胞 · 简答

两个都得有活性的激酶，谁在上游

信号通路里有 k1、k2 两个蛋白，都有活性信号才传得下去。若让 k1 永久激活、k2 失活，细胞会怎样？怎样判断两者的上下游关系？

怎么想

上游坏了，下游永久激活还能把信号接着传；下游坏了，上游再活化也白搭。用这个不对称来判断。

127 信号通路的共同规律

- 两种可能：若 k1 在 k2 的下游，k1 永久激活就够了，不管有没有胞外信号细胞都有反应；若 k1 在 k2 的上游，k2 失活把路堵死，细胞没有反应。

- 所以看到“有反应”，k1 在下游；看到“没反应”，k1 在上游。
- 两份参考答案正好相反：原题出自邹方东《学习指南》，书上答“能产生应答，说明 K2 在 K1 上游”；《真题狂背》答“K1 在上游、无应答”。考场上先分两种情况，再按学习指南给出倾向。
- 可再做体外磷酸化试验：上游的激酶若直接作用于下游，能看到下游被磷酸化；看不到也不能排除中间还隔着别的分子。

2026 湖南师范大学 · 660 题

从周期蛋白和检查点看，癌细胞为什么停不下来

从周期蛋白-CDK 复合体和检验点调控的角度，分析癌细胞增殖失控的可能机制。

怎么想
周期是“引擎加刹车”。失控不外两类：引擎一直踩着，或者刹车没了。各举具体的分子。

135 细胞周期的引擎　**137** 检查点　**150** 癌基因与抑癌基因

- 引擎常开：生长因子通路一直发信号（如 Ras 突变），周期蛋白 D 不停地合成；或周期蛋白 D、CDK4 的基因扩增。结果 Rb 一直被磷酸化，E2F 常开，细胞不等生长因子就过限制点。
- 刹车失灵：Rb 丢失，E2F 没人管；CDK 抑制蛋白 p16、p21 丢失；p53 失活，DNA 损伤了周期不停、也不凋亡。
- 纺锤体组装检查点有缺陷：染色体没连好就进后期，染色体数目越来越乱。
- 这几样加在一起：细胞不依赖信号地分裂，带着损伤照分，突变越积越多。

给一个现象，问为什么

下手三步：先把现象翻译成链上的一句话——说的是哪个分子、它的哪一个性质；再按“结构 → 性质 → 后果”三层写；最后回到题目里的那个现象收一句。

华农 2026 生化 · 问答

天冷了，细菌为什么往膜里多放不饱和脂肪酸；胆固醇为什么两头管

低温下细菌为何增加脂肪酸不饱和度？解释胆固醇在真核细胞中对膜流动性的双相调节作用。

怎么想
现象背后是“膜必须保持一定的流动性才能干活”。不饱和键和胆固醇都是在动“脂肪酸链排得紧不紧”。

35 流动镶嵌模型　**33** 脂质

- 膜上的载体、酶、受体都要在流动的膜里才能工作。温度降到相变温度以下，脂肪酸链排得整齐紧密，膜变成凝胶状，功能受损。
- 不饱和脂肪酸的顺式双键使链拐弯，排不紧，相变温度降低。细菌在低温下多合成不饱和（和更短的）脂肪酸，膜在冷的时候仍然流得动。
- 胆固醇的两头作用：温度高于相变温度时，它刚性的环贴着脂肪酸链靠近头部的一段，限制链的摆动，使膜不至于太稀；温度低于相变温度时，它插在链与链之间，不让它们排紧，使膜不至于冻住。
- 效果：让膜在较宽的温度范围里保持适中的流动性。

华农 2026 生化 · 问答

胶原为什么盘不成 α-螺旋，只能三股拧在一起

α-螺旋与 β-折叠的稳定性有何本质区别？胶原为何无法形成 α-螺旋而采用三股螺旋？

怎么想

α-螺旋靠每个残基的 N—H 去和前面第四个残基的 C═O 成氢键。先看胶原的序列里谁拿不出这个 N—H。

13 二级结构　**141** 细胞外基质

- 本质区别：α-螺旋靠**链内**氢键（第 n 个残基的 C═O 与第 n + 4 个的 N—H），一段序列自己就能成；β-折叠靠**相邻肽段之间**的氢键，要几股并在一起。
- 胶原的序列是（Gly-X-Y）$_n$，X、Y 多是脯氨酸和羟脯氨酸。脯氨酸的氮在环里，没有可以供出去的 N—H，环又把主链的转角卡死；甘氨酸太灵活。这样的链成不了 α-螺旋。
- 于是每条链自己伸展成左手螺旋，三条再缠成右手的三股螺旋：每三个残基一个的甘氨酸侧链只有一个氢，正好挤得进三条链中心的窄缝；甘氨酸的 N—H 与邻链的 C═O 成**链间**氢键；羟脯氨酸的羟基再添氢键加固。
- 结果是一根又硬又抗拉的绳子，正合它在细胞外基质里的用处。

华农 2024 生化 · 简答

稀酸或者高盐，为什么能把组蛋白从 DNA 上解下来

用稀酸或高盐可使组蛋白与 DNA 解离，解释原因。

怎么想

先问它们靠什么粘在一起——正负电荷相吸。那就看酸和盐各自怎样把这种吸引拆掉。

79 染色质　**5** 水与弱键

- 组蛋白富含赖氨酸、精氨酸，带大量正电；DNA 的磷酸骨架带负电。两者主要靠离子键结合，不挑序列。
- 高盐：大量的阳离子和阴离子分别围住 DNA 和组蛋白，把电荷屏蔽了，静电吸引减弱。
- 稀酸：H^+ 把磷酸基团的负电荷中和掉一部分，吸引减弱；组蛋白是碱性蛋白，在稀酸里溶解度好，就被抽提出来。

华农 2022 生化 · 简答

缺硫胺素和生物素，脂肪酸从头合成为什么变慢

为什么人体缺乏硫胺素和生物素会使脂肪酸从头合成明显变慢？

怎么想

合成脂肪酸要三样原料：乙酰 CoA、丙二酸单酰 CoA、NADPH。两种维生素各做哪个酶的辅酶，就断了哪一样。

31 辅酶　**66** 脂肪酸合成　**62** 戊糖磷酸途径

- 硫胺素（TPP）：是丙酮酸脱氢酶复合体的辅酶——缺了，糖变不成乙酰 CoA，原料少。（补充一层：它也是转酮酶的辅酶，缺了戊糖磷酸途径的非氧化阶段不畅，五碳糖回不到六碳糖，NADPH 的持续供应可能间接受影响；产 NADPH 的两步脱氢本身不用 TPP。参考答案只答丙酮酸脱氢酶和下面生物素这两条主干。）

- 生物素：是乙酰 CoA 羧化酶（限速酶）的辅基——缺了，丙二酸单酰 CoA 做不出来；又是丙酮酸羧化酶的辅基——缺了，草酰乙酸补不上，乙酰 CoA 不能以柠檬酸的形式运出线粒体。
- 原料、活化的二碳单位、还原力三样都受影响，所以明显变慢。

华农 2021 细胞 · 简答

突变的速度一辈子差不多，结肠癌为什么偏偏到老年才多

既然一生中基因突变率是稳定的，为什么癌症发病率随年龄戏剧性地增高？白血病为什么不这样？

怎么想

一次突变不够，要好几次都落在同一个细胞的后代身上。几次小概率事件凑齐，时间是幂次关系。

150 癌基因与抑癌基因　**86** 突变

- 癌变是多步的：至少一个原癌基因被激活，几个抑癌基因的两个拷贝都失活，常常还有修复基因失灵。
- 各次突变都是小概率事件，要同时发生在同一细胞谱系里，概率是相乘的，得经过很多年、很多次细胞分裂才凑得齐。
- 前面的突变还会加快后面的（修复坏了突变更多，分裂加快了机会更多）。所以发病率不是随年龄直线上升，而是越到后面越陡。
- 白血病细胞本来就在血液里，不需要突破基底膜、浸润转移这几步，一旦产生就随血流遍布全身，所需的突变少（课本说只要少数几个基因突变），积累的时间短，所以儿童期就可以发病。

华农 2022 细胞 · 简答

抽烟、喝茶为什么提神，还说能减肥

结合所学知识解释。

怎么想

烟里是尼古丁，茶里是咖啡因和茶碱。前者冒充一种信号，后者拦住一种信号的清除。

123 cAMP与PKA　**120** 细胞通讯　**64** β氧化

- 尼古丁是乙酰胆碱受体（烟碱型，离子通道偶联受体）的激动剂：结合后通道打开，神经细胞兴奋，并促进肾上腺素等的释放，所以提神。
- 咖啡因主要竞争性阻断腺苷受体（腺苷本来让神经“踩刹车”），所以提神——这是参考答案的说法。
- 咖啡因和茶碱还能抑制 cAMP 磷酸二酯酶，cAMP 降解变慢、浓度升高，PKA 活化，脂肪细胞里的激素敏感脂肪酶被磷酸化激活，脂肪动员加快；这就是“减肥”一说的由来（补充）。

2025 湖南师范大学、2026 南方科技大学 · 880 题

三羧酸循环里没有一步用到氧，为什么没有氧它就转不动

柠檬酸循环是否必须有氧气参加，为什么？

怎么想

循环每转一圈要用掉 3 个 NAD^+ 和 1 个 FAD。它们从哪里再生出来？

49 三羧酸循环　**52** 呼吸链

- 循环的四步脱氢把电子交给 NAD^+ 和 FAD，生成 NADH 和 $FADH_2$。线粒体里的 NAD^+、FAD 数量有限，必须不断再生。

- 再生的唯一办法是把电子经呼吸链交给氧。没有氧，呼吸链停下，NADH、$FADH_2$ 堆积，NAD^+、FAD 用光，几个脱氢酶没有受氢体，循环停止。
- 堆积的 NADH 还别构抑制柠檬酸合酶、异柠檬酸脱氢酶和 α-酮戊二酸脱氢酶。
- 所以它不直接用氧，却严格地依赖氧。

2025 中国科学院大学 · 880 题

没有氧的时候，糖酵解为什么不能就停在丙酮酸

为什么厌氧条件下糖酵解不能以丙酮酸为代谢终产物？

怎么想
和上一题同一个道理，换到胞质里：3-磷酸甘油醛脱氢那一步用掉的 NAD^+ 谁来还。

47 丙酮酸的去路　**45** 糖酵解

- 糖酵解第六步（3-磷酸甘油醛脱氢）要消耗 NAD^+，生成 NADH；胞质里 NAD^+ 的量很少。
- 有氧时 NADH 经穿梭把电子送进线粒体，NAD^+ 得以再生。无氧时这条路不通。
- 只有把 NADH 的电子交还给丙酮酸（还原成乳酸，或在酵母里先脱羧再还原成乙醇），NAD^+ 才能再生，糖酵解才能继续、才有那 2 个 ATP。
- 如果停在丙酮酸，NAD^+ 很快耗尽，糖酵解自己就停了。

2026 南京师范大学 · 880 题

RNA 一遇碱就断，DNA 为什么不怕

为什么 DNA 不易被碱水解，RNA 容易被碱水解？

怎么想
两者只差核糖 2′ 位上的一个羟基。它离磷酸二酯键只有一步远。

76 核苷酸与核酸

- RNA 的核糖 2′ 位有羟基。碱夺走这个羟基上的氢，剩下的氧带负电，就近进攻相邻的磷，形成 2′,3′-环磷酸中间物，磷酸二酯键随之断开。
- DNA 的 2′ 位是氢，没有这个现成的进攻基团，所以对碱稳定（碱只能使它变性，不能使它断链）。
- 这也是遗传物质选 DNA 而不选 RNA 的原因之一。

2025 四川大学 · 880 题

人只有两三万个基因，细胞里的蛋白质却有十万种以上

造成这一现象的原因是什么？有什么生物学意义？

怎么想
从基因到成品蛋白质，中间每一步都可以“一变多”。按顺序数一遍。

92 选择性剪接与RNA编辑　**98** 翻译后加工

- 转录：同一个基因用不同的启动子，转录起点不同。
- 加工：**选择性剪接**（最主要，alternative splicing）；选用不同的加尾位点；RNA 编辑。
- 翻译：用不同的起始密码子。
- 翻译后：一条前体切成不同的成品；磷酸化、糖基化等修饰使同一条肽链有多种形式。

- 意义：用有限的基因组造出多得多的蛋白质种类，节省遗传信息；不同组织、不同时期各取所需，多了一层调节；也给进化留了余地。

2025 中山大学 · 880 题

脑和骨骼肌里，胞质的 NADH 为什么只值 1.5 个 ATP

为什么脑和骨骼肌产生的 NADH 最终只能产生 1.5 分子 ATP?

怎么想
胞质的 NADH 进不了线粒体，要托运。托运的车不同，到站时落在呼吸链的位置就不同。

56 ATP的总账　52 呼吸链

- 脑和骨骼肌主要用甘油-3-磷酸穿梭：胞质 NADH 把电子交给磷酸二羟丙酮，成甘油-3-磷酸；内膜外侧的甘油-3-磷酸脱氢酶以 FAD 为辅基，把电子交给泛醌。
- 电子从泛醌进入呼吸链，绕过了复合体 I，少泵 4 个质子，只相当于 $FADH_2$，得 1.5 个 ATP。
- 肝和心肌用苹果酸-天冬氨酸穿梭，进去以后仍是 NADH，得 2.5 个。

2025 暨南大学 · 880 题

做果脯蜜饯用蔗糖，为什么不用葡萄糖

为什么用蔗糖储存食品而不用葡萄糖?

怎么想
两种糖最大的区别是有没有还原性——有没有那个能开环的半缩醛羟基。

42 单糖　43 二糖与多糖

- 蔗糖是葡萄糖和果糖的两个异头碳相连，没有游离的半缩醛羟基，是非还原糖，化学性质稳定。
- 葡萄糖是还原糖，能开环露出醛基，容易被氧化，也容易与蛋白质的氨基反应使食品变褐、变味。
- 两者高浓度时都靠高渗透压抑制微生物，但蛋白质和糖放在一起时，用蔗糖才放得住。

2025 南京师范大学 · 880 题

不吃肉、光吃糖，为什么照样长肥肉；生酮饮食又有什么不好

不吃肉吃糖也能长肥肉，为什么？生酮饮食的弊端是什么?

怎么想
前一问是“糖能变脂肪”，后一问是“只烧脂肪会多出什么”。

66 脂肪酸合成　65 酮体　50 代谢的枢纽

- 糖多了：糖原装满以后，多余的葡萄糖经丙酮酸变成乙酰 CoA，以柠檬酸的形式出到胞质合成脂肪酸，再与甘油-3-磷酸酯化成三酰甘油存起来；高糖引起的胰岛素又促进这条路。
- 生酮饮食几乎不给糖：草酰乙酸被糖异生抽走，脂肪酸氧化出的乙酰 CoA 进不了三羧酸循环，在肝里变成酮体。
- 弊端：酮体过多可致酮症酸中毒；脂肪摄入多，血脂升高；蛋白质被拿去造糖；缺少蔬果谷物带来的维生素和纤维；长期难以坚持。

2025 山东大学 · 660 题

蛋白质合成旺盛的细胞，核仁为什么特别大

简述核仁的超微结构，解释为什么代谢旺盛的细胞通常核仁较大。

怎么想
核仁是造核糖体的车间。要的核糖体多，车间就大。

93 rRNA与核糖体　**80** 细胞核

- 结构三部分：纤维中心（rRNA 基因所在）、致密纤维组分（正在转录和初步加工的 rRNA）、颗粒组分（正在装配的核糖体亚基前体）。
- 核仁的功能是转录 rRNA、加工 rRNA、装配核糖体亚基。
- 代谢旺盛的细胞要合成大量蛋白质，需要大量核糖体，rRNA 基因转录活跃、堆着的亚基前体多，核仁就大而明显，可占核体积的 25%（如分泌细胞、卵母细胞）；肌细胞、休眠的植物细胞核仁很小（课本）。核仁大小的差别主要来自颗粒组分的多少。

2025 华中科技大学 · 660 题

血脑屏障连药都拦得住，免疫细胞为什么过得去

血脑屏障阻止多种药物从血管进入脑组织，免疫细胞却能通过内皮细胞间的紧密连接，分析原因。

怎么想
药物是被动地“渗”，免疫细胞是按信号主动地“闯”。两者走的不是一种路。

139 细胞连接　**140** 细胞黏着

- 脑毛细血管内皮细胞之间的紧密连接把细胞间隙封死；药物多数靠被动扩散，走不了细胞旁路，脂溶性差的也穿不过细胞，进去的还可能被外排泵泵回来。
- 免疫细胞的穿越是一个受调控的主动过程：炎症信号使内皮细胞表面出现选择素等黏着分子 → 白细胞靠选择素贴着血管壁滚动、减速 → 趋化因子激活白细胞上的整联蛋白，牢牢粘住内皮 → 白细胞伸出伪足，内皮细胞之间的连接暂时松开让它挤过去 → 过去以后连接重新封上。
- 所以关键在于：细胞连接不是死的，能按信号临时开合；而且开合只对带着“通行证”（黏着分子配对）的细胞。

2026 东南大学 · 880 题

胎儿血红蛋白和缺了 BPG 的成人血红蛋白，曲线都左移，意义为什么相反

从分子结构解释：HbF 与低 BPG 时的 HbA 氧合曲线都左移，生理意义却截然不同。

怎么想
左移＝更爱抓氧、更不肯放氧。好不好要看它该在哪里抓、该在哪里放。

19 Bohr效应与BPG　**18** 别构与协同

- 结构：BPG 嵌在脱氧血红蛋白两条 β 链之间带正电的空腔里，稳定 T 态。HbF 的 γ 链第 143 位是丝氨酸（成人 β 链是组氨酸），空腔里少了正电荷，结合 BPG 弱，所以亲和力天生偏高。成人的血红蛋白在 BPG 少的时候（如库存久了的血）也是同样的效果。
- 对胎儿是好事：胎儿的血红蛋白要在胎盘那么低的氧分压下，从母亲的血红蛋白手里把氧接过来，亲和力必须比母亲的高。
- 对成人是坏事：血红蛋白到了组织放不下氧，组织缺氧。

设计一个实验去证明

下手四句话：用什么材料 → 做什么处理（实验组和对照组各是什么）→ 测什么 → 出现什么结果就说明什么。能做到“一正一反”最稳：把它去掉现象就没有，加回来现象又出现。

华农 2024 细胞 · 论述

证明微管有动态不稳定性，并比较三种骨架谁更稳定

什么是细胞骨架的动态不稳定性？不同类型细胞骨架的稳定性有何特点？设计实验证明（含目的、材料、方法、预期结果）。

怎么想

要“看见”一根纤维的长短随时间变，就得在活细胞里给它标上荧光连续拍；要比较谁更稳定，就比谁的亚基换得快。

130 微管　**129** 微丝　**131** 中间丝　**35** 流动镶嵌模型

- 目的：观察微管的动态不稳定性，并比较微管、微丝、中间丝的稳定性。
- 材料：培养的动物细胞；带荧光蛋白的微管蛋白、肌动蛋白、中间丝蛋白（波形蛋白）的表达载体；共聚焦显微镜；紫杉醇、秋水仙碱。
- 方法一（延时拍摄）：让细胞表达荧光微管蛋白，每隔几秒拍一张，量同一根微管末端位置的变化。
- 方法二（荧光漂白恢复）：分别把三种纤维上的一小段荧光漂白，记录荧光恢复的快慢。
- 对照：加紫杉醇（微管不再缩短）或秋水仙碱（微管只缩不长）。
- 预期：单根微管的末端忽长忽缩，随机切换——这就是动态不稳定性；漂白后微管、微丝都较快恢复（亚基不断交换），中间丝恢复很慢；再用高盐加非离子去垢剂抽提，微管、微丝被抽掉，中间丝保留——说明中间丝最稳定（课本原话）。

华农 2024 细胞 · 简答

证明胞质环流靠的是微丝

胞质环流的运动机制是什么？如何证明这种运动与微丝有关？

怎么想

三件事——它在不在那儿（定位）、去掉它还动不动（抑制）、去掉别的还动不动（排除）。

129 微丝　**132** 马达蛋白

- 机制：细胞器上的肌球蛋白水解 ATP，沿着皮层下面顺着流动方向排列的微丝束移动，带动周围的胞质一起流。
- 定位：用荧光标记的鬼笔环肽染微丝，看到微丝束正沿着环流的方向排列。
- 抑制：加细胞松弛素破坏微丝，环流停止；洗掉药物，环流恢复。
- 排除：加秋水仙碱破坏微管，环流照旧——靠的不是微管。再抑制肌球蛋白的 ATP 酶，环流停止——确实要肌球蛋白。

华农 2023 细胞 · 简答

培养的细胞正在死，怎么判断是凋亡还是坏死

用两种实验证明。

怎么想

挑两个凋亡和坏死结果相反的指标：DNA 是怎么断的，膜是什么时候破的。

146 凋亡的特征

- 实验一，DNA 琼脂糖电泳：提取细胞的 DNA 电泳。出现 180～200 bp 整倍数的梯状条带是凋亡；一片弥散的拖带是坏死。
- 实验二，Annexin V 加碘化丙啶双染，流式细胞仪检测：出现大量“Annexin V 阳性、碘化丙啶阴性”的细胞（磷脂酰丝氨酸外翻但膜没破）是凋亡；一上来就两者都阳性（膜破了）是坏死。
- 补充：电镜或荧光染核看有没有染色质固缩和凋亡小体；测培养液里的乳酸脱氢酶，坏死时因膜破而大量漏出。

华农 2025 细胞・简答

哪些实验证明细胞里有 MPF

什么是 MPF，其生化实质是什么？哪些实验可以证明 MPF 的存在？

怎么想

“M 期细胞里有一种东西，转给别的细胞就能让它也进 M 期”——转移的办法有融合和注射两种。

135 细胞周期的引擎

- MPF 是使细胞从 G_2 期进入 M 期的因子；实质是周期蛋白 B 与 CDK1 组成的蛋白激酶。
- 细胞融合：M 期细胞与间期细胞融合，间期细胞的染色质提前凝集（G_1 期的呈单线状，S 期的呈粉末状，G_2 期的呈双线状）。
- 细胞质注射：把成熟蛙卵的细胞质注入未成熟的卵母细胞，后者不经孕酮刺激就成熟；从后者再取细胞质注给下一个，同样有效——说明这种因子还能自我放大。
- 生化与遗传：海胆卵里找到随分裂周期升降的周期蛋白；酵母周期突变体里找到 cdc2 基因；纯化出的 MPF 正是两者的复合物。

华农 2023 细胞・综合

核质蛋白靠哪一段进核，怎样证明它走的是核孔

核质蛋白有头、尾两个结构域。完整的和单独的尾部注射进胞质都能进核，单独的头部不能。（1）核定位信号在头部还是尾部？（2）怎样简单证明亲核蛋白入核是主动转运？（3）把编码尾部的 DNA 与编码内质网信号序列的 DNA 融合后在细胞里表达，融合蛋白进核还是进内质网？（4）要观察它经由什么部位进核，用什么实验手段？

怎么想

能进的都带着尾部——信号在尾部。第（3）问比的是两个信号谁先起作用：内质网信号在翻译时就被认出来了。

109 核孔运输　**151** 显微镜

- （1）核定位信号在尾部；核质蛋白很大，不能自由扩散，靠尾部的信号入核。
- （2）主动转运：降低温度或去掉能量（如加能量代谢抑制剂），注射进去的核质蛋白停在核孔的胞质一侧进不去。也可以说明“充分”：把尾部接到一个本来不进核的大蛋白质上，它也进了核。
- （3）进**内质网**（endoplasmic reticulum (ER)）：内质网信号序列在翻译刚开始时就被 SRP 认出，核糖体被带到内质网上，蛋白质边合成边进内质网腔，根本到不了胞质去用核定位信号。
- （4）用胶体金颗粒包上核质蛋白（或尾部）再注射，电镜下看到金颗粒先聚在核孔复合体中央，随后出现在核内——经由核孔进核。

2026 华中师范大学 · 880 题

证明胰岛素既有链间二硫键、又有链内二硫键

请分别设计实验证明，说明原理、思路和主要步骤。

怎么想

链间的二硫键一打开，一条变两条——比较加不加还原剂的电泳。链内的那一个，要找出“同一条链上的两个半胱氨酸原来连着”——对角线电泳。

12 一级结构　155 电泳　11 肽键

- 链间：不加还原剂跑 SDS-PAGE，是一条约 5.8 kD 的带；加巯基乙醇以后分成两条更小的带（A 链和 B 链）。说明两条链是靠二硫键连在一起的。
- 链内：不打开二硫键，先用蛋白酶把胰岛素切成肽段，做对角线电泳——第一向电泳后用过甲酸蒸气把二硫键氧化断开，转 90° 在相同条件下跑第二向。原来没有二硫键的肽段落在对角线上；偏离对角线的成对肽段原来由二硫键相连。把它们取下来测序：两段分别来自 A 链和 B 链的是链间二硫键；两段都来自 A 链的就是链内二硫键。
- 注意：整个过程要防止二硫键交换（在偏酸的条件下操作）。

2025 华中科技大学 · 660 题

快速查出膜上有没有水通道，并看它分布在哪

采取何种方法可以快速检测膜上是否存在水通道，并确定它们在细胞膜中的分布？

怎么想

“有没有”看功能——水过得快不快、能不能被专一地抑制；“在哪里”看分子——用抗体或荧光蛋白。

37 被动运输　152 荧光技术　156 抗体技术

- 功能检测：把细胞放进低渗液，测它膨胀（或红细胞溶血）的速度。很快膨胀、而且能被汞离子抑制的，说明有水通道；只靠脂双层渗水的膨胀慢，受温度影响大。
- 验证：把这种膜蛋白的 mRNA 注入爪蟾卵母细胞（它自身几乎不透水），卵在低渗液里迅速胀破。
- 分布：用水孔蛋白的抗体做免疫荧光，看荧光落在细胞的哪一面；要更精细就做免疫电镜，用胶体金颗粒定位。也可以让细胞表达带荧光蛋白的水孔蛋白，在活细胞里直接看。

2025 中国科学院大学 · 660 题

肿瘤里 Rb 基因不工作了，提两种可能的原因，再设计实验分辨

Rb 是第一个被克隆的抑癌基因，大量患者的肿瘤细胞中 Rb 异常。提出两种可能导致 Rb 失活的原因，并设计实验证明。

怎么想

一个基因“不工作”，要么是基因本身坏了，要么是基因好好的却被关掉了。两种情况在 DNA、mRNA、蛋白质三个层面上的表现不一样。

150 癌基因与抑癌基因　116 真核基因的激活　158 PCR与测序　156 抗体技术

- 假说一：基因本身突变或缺失（点突变、大片段缺失），造不出蛋白质或造出没功能的蛋白质。
- 假说二：基因序列正常，但启动子区的 DNA 被高度甲基化，转录被关掉（表观遗传沉默）。
- 实验：取肿瘤细胞和正常细胞作比较。

- 查 DNA：PCR 扩增 Rb 基因并测序，看有没有突变或缺失。
- 查甲基化：用亚硫酸氢盐处理后测序，比较启动子的甲基化程度。
- 查表达：定量 PCR 测 mRNA，Western 印迹测蛋白质。

- 判断：序列有突变、mRNA 或蛋白质异常 → 假说一；序列正常、启动子高度甲基化、没有 mRNA → 假说二，再用去甲基化的药物处理细胞，Rb 重新表达就坐实了。
- 功能验证：把正常的 Rb 基因导回肿瘤细胞，增殖被抑制。

2025 华东师范大学 · 660 题

检验衰老细胞分泌的两种因子怎么变，它们对衰老又有什么影响

衰老细胞会分泌一批促炎因子、生长因子和蛋白酶（衰老相关分泌表型）。设计实验检验衰老过程中其中两种因子的变化，以及它们对细胞衰老的影响。

怎么想

分两问。“怎么变”是测量——随时间取样，测 mRNA 和分泌出来的蛋白质。“有什么影响”是干预——加进去、去掉它，各看衰老指标。

145 细胞衰老　**156** 抗体技术　**158** PCR与测序

- 建立模型：让细胞连续传代到复制衰老，或用辐射、药物诱导衰老；用衰老相关的 β-半乳糖苷酶染色和 p16、p21 的升高确认。
- 测变化：选两种因子（如白介素-6、白介素-8），在不同时间点取样，定量 PCR 测细胞里的 mRNA，ELISA 测培养液里的蛋白质；年轻细胞作对照。
- 测影响（一正一反）：
  - 加：把衰老细胞的培养液（或纯的这两种因子）加给年轻细胞，看衰老指标是否提前出现。
  - 去：用中和抗体或 RNA 干扰去掉这两种因子，看衰老细胞自身的指标、以及它对周围年轻细胞的影响是否减轻。
- 预期：两种因子随衰老升高；它们能加重自身的衰老状态，并使邻近细胞也衰老。

2025 华南师范大学 · 660 题

说明两种蛋白质确实相互结合，举三种办法

三种方法说明蛋白的相互作用。

怎么想

细胞里钓、酵母里报、活细胞里看，三个层面各一种。

156 抗体技术　**152** 荧光技术　**162** 研究蛋白质功能

- 免疫共沉淀：用其中一种蛋白质的抗体把它从细胞裂解液里沉淀下来，再用 Western 印迹查沉淀里有没有另一种——说明它们在细胞里结合在一起。
- 酵母双杂交：把两种蛋白质分别接在一个转录因子的 DNA 结合域和激活域上；两者若相互结合，转录因子就被拼回来，报告基因表达。
- 荧光共振能量转移：给两种蛋白质各接一种荧光蛋白；它们靠得足够近时，激发前一种，后一种发光——在活细胞里直接看到。
- 也可用标签亲和纯化（把一种蛋白质固定在小珠上去“拉”另一种）。

2026 杭州师范大学 · 880 题

一个 120 kD 的蛋白质，肽链是一条直线还是首尾相接的环

其一级结构可能是直线式的，也可能是闭环式的，有没有简单合理的方法鉴定？

怎么想

直线有头有尾，环没有；直线切一刀成两段，环切一刀只是打开。

10 紫外与显色　**12** 一级结构

- 末端分析：用丹磺酰氯或 DNFB 测 N 端，用羧肽酶测 C 端。能测出游离末端的是直线式；测不出的可能是环（要排除 N 端被乙酰化之类的封闭）。
- 切一刀：选一种在这条链上只有一个切点的专一切法。切完以后直线式的变成两段，SDS-PAGE 上是两条较小的带；环状的只是被打开，仍是一条 120 kD 的带。

算一算

下手：先把“从哪到哪、经过哪几步”列出来，每一步写清得什么、花什么，最后相加；折算值（NADH 2.5、$FADH_2$ 1.5）和用的是哪种穿梭要写明。动力学的题先写出方程再代数。

华农 2024 生化・简答、2026 生化・问答

14 碳的饱和脂肪酸彻底氧化，得多少 ATP

计算 1 分子 14 碳饱和脂肪酸完全氧化成水和 CO_2 产生的 ATP。

怎么想

n 个碳要切（n/2 − 1）刀，得 n/2 个乙酰 CoA；别忘了开头活化花掉的 2 个。

64 β氧化　**49** 三羧酸循环　**56** ATP的总账

- 活化：脂肪酸 + CoA + ATP → 脂酰 CoA + AMP + 焦磷酸，花 2 个高能键，记 −2。
- β-氧化 6 轮：每轮 1 $FADH_2$（1.5）+ 1 NADH（2.5）= 4，共 24。
- 7 个乙酰 CoA 进三羧酸循环：每个 10，共 70。
- 合计 24 + 70 − 2 = **92**。（按旧的折算值 NADH 3、$FADH_2$ 2：6 × 5 + 7 × 12 − 2 = 112。）
- 同法：软脂酸（16 碳）7 × 4 + 8 × 10 − 2 = 106；硬脂酸（18 碳）120。

华农 2021 生化・简答

1 分子葡萄糖、1 分子乙酸各得多少 ATP

1 分子葡萄糖和 1 分子乙酸完全氧化成 CO_2 和水，各产生多少 ATP？

怎么想

葡萄糖要说明穿梭；乙酸先要活化成乙酰 CoA，花 2 个。

56 ATP的总账　**49** 三羧酸循环

- 葡萄糖：糖酵解净 2 ATP、2 NADH；丙酮酸脱氢 2 NADH；三羧酸循环两圈 6 NADH、2 $FADH_2$、2 GTP。
  - 2 +（胞质 2 NADH：苹果酸-天冬氨酸穿梭 5，甘油-3-磷酸穿梭 3）+ 5 + 20 = **32 或 30**。
- 乙酸：活化成乙酰 CoA 花 2 个高能键；一圈三羧酸循环得 10；净 **8**。

2025 四川大学 · 880 题

从糖原上切下来的 1 分子葡萄糖-1-磷酸彻底氧化，得多少 ATP

糖原磷酸解生成的 1 分子葡萄糖-1-磷酸在有氧条件下彻底氧化，可生成多少 ATP？写出每一步的得失。

怎么想

它已经带着磷酸了，比游离的葡萄糖省掉己糖激酶那 1 个 ATP。

60 糖原　45 糖酵解　56 ATP的总账

- 葡萄糖-1-磷酸变位成葡萄糖-6-磷酸，不花 ATP。
- 糖酵解：只在磷酸果糖激酶那一步花 1 个，得 4 个，净 **3** ATP；另有 2 NADH。
- 其余和葡萄糖一样：2 NADH（穿梭后 5 或 3）+ 丙酮酸脱氢 5 + 三羧酸循环 20。
- 合计 **33**（苹果酸-天冬氨酸穿梭）或 **31**（甘油-3-磷酸穿梭），比游离葡萄糖多 1 个。

2025 西北大学、华南师范大学 · 880 题

肝匀浆里 1 mol 甘油、1 mol 3-磷酸甘油各得多少 ATP

在功能完整的肝匀浆体系中，1 mol 甘油完全氧化成 CO_2 和水产生多少 ATP？若底物是 3-磷酸甘油呢？

怎么想

甘油先要磷酸化（花 1 个），再脱氢成磷酸二羟丙酮，从糖酵解的半路插进去——只走一半的三碳。

64 β氧化　45 糖酵解　56 ATP的总账

- 甘油 → 3-磷酸甘油：甘油激酶，−1。
- 3-磷酸甘油 → 磷酸二羟丙酮：1 NADH（在胞质，肝里经苹果酸-天冬氨酸穿梭）+2.5。
- 磷酸二羟丙酮 → 丙酮酸：1 NADH（+2.5）和 2 ATP（+2）。
- 丙酮酸 → 乙酰 CoA：+2.5；三羧酸循环一圈：+10。
- 甘油合计 −1 + 2.5 + 2.5 + 2 + 2.5 + 10 = **18.5**；底物直接是 3-磷酸甘油，不用花那 1 个，得 **19.5**。

2025 华南师范大学 · 880 题

竞争性抑制：底物浓度等于 Km、抑制剂浓度等于 Ki 时，速度是 Vmax 的几分之几

琥珀酸脱氢酶服从米氏方程，加入竞争性抑制剂丙二酸。Km 和 Vmax 怎样变？若 [S] = Km、[I] = Ki，v/Vmax 是多少？

怎么想

竞争性抑制的方程只是把 Km 放大了（1 + [I]/Ki）倍。

28 酶的抑制　27 米氏方程

- 表观 Km 增大，Vmax 不变。
- v = Vmax[S] /（Km（1 + [I]/Ki）+ [S]）。代入 [I] = Ki：括号等于 2；再代 [S] = Km：v = Vmax · Km /（2Km + Km）= **Vmax/3**。
- 对照：没有抑制剂时 [S] = Km，速度是 Vmax/2。

2026 华南师范大学 · 880 题

反竞争性抑制的一道代数题

Vmax = 200 μmol/min，Km = 1 mmol/L。① [S] = 3 mmol/L 时速度多少？② 加入反竞争性抑制剂，Ki = 1 mmol/L、[I] = 2 mmol/L，[S] = Km 时速度多少？

怎么想
反竞争性抑制剂只结合 ES，方程里被放大的是分母里的 [S] 那一项。

28 酶的抑制　**27** 米氏方程

- ① v = 200 × 3 /（1 + 3）= **150** μmol/min。
- ② 反竞争性：v = Vmax[S] /（Km + [S]（1 + [I]/Ki））= 200 × 1 /（1 + 1 × 3）= **50** μmol/min。
- 顺便：这时表观 Vmax = 200/3，表观 Km = 1/3，两者同比例减小。

华农 2024 生化 · 简答

三个三肽，在哪个 pH 下电泳分得最开

Tyr-Arg-Ser、Glu-Met-Phe、Asp-Pro-Lys，已知 α-COOH 的 pK 为 3.8、α-NH_3^+ 的 pK 为 6.5。在 pH 2.0、6.0、13.0 三者之中，哪个 pH 下电泳分离效果最好?

怎么想
电泳按净电荷分。在每个 pH 下把三条肽的电荷各加一遍，三者差别最大的那个 pH 最好。

9 等电点　**6** pH与pKa　**155** 电泳

- pH 2.0：所有羧基基本不带电，氨基带正电。三条肽的净电荷约 +2、+1、+2，第一、第三条分不开。
- pH 6.0：C 端羧基 −1；N 端氨基（pK 6.5）约带 +0.8；Arg、Lys 侧链 +1；Glu、Asp 侧链 −1。净电荷约 **+0.8、−1.2、−0.2**——一条往负极，一条往正极，一条几乎不动，分得最开。
- pH 13.0：氨基全不带电，羧基和酪氨酸的酚羟基带负电。净电荷约 −1.8、−2、−2，三条挤在一起。
- 所以选 **pH 6.0**。

2026 南开大学 · 880 题

四种氨基酸过强阳离子交换柱，谁先出来

含天冬氨酸、亮氨酸、苏氨酸、赖氨酸的 pH 3 柠檬酸缓冲液，上到用同种缓冲液平衡的强阳离子交换树脂上，再用该缓冲液洗脱。四种氨基酸的洗脱顺序?

怎么想
阳离子交换剂留住带正电的。在 pH 3 下谁的正电荷少谁先走；电荷相近时，侧链越疏水的被树脂的骨架拖得越久。

9 等电点　**154** 层析

- 天冬氨酸：等电点 2.77（朱圣庚），在 pH 3 略带负电，不被阳离子交换剂结合，最先流出。
- 苏氨酸、亮氨酸：等电点都在 6 上下，在 pH 3 都带正电，被留住；亮氨酸侧链疏水，与树脂的骨架还有疏水作用，比苏氨酸晚出来。
- 赖氨酸：等电点约 9.7，在 pH 3 带两个正电荷，结合最牢，最后流出。
- 顺序：**天冬氨酸 → 苏氨酸 → 亮氨酸 → 赖氨酸**。

给一组数据，排一个方案

下手：先把各组分“差在哪”列出来（大小、电荷、专一结合），差别最大的性质先用；能上大体积的方法放前面，精细的放后面；每一步都说怎么监测（测活力、跑电泳）。

华农 2013 生化・分析

目标酶和两种杂蛋白，一个差在电荷、一个差在大小

一种分子量 24 000、pI 5.5 的酶，混有一种分子量相近、pI 7.0 的蛋白质和一种分子量 10 000、pI 5.4 的蛋白质。提出纯化方案。

怎么想

第一种杂蛋白只在电荷上和酶不同，第二种只在大小上不同。那就一个用离子交换，一个用凝胶过滤。

154 层析　**155** 电泳　**9** 等电点

- 第一步，离子交换层析：用 pH 6～6.5 的缓冲液过阴离子交换柱（DEAE）。这个 pH 高于酶的 pI，酶带负电被留住；低于第一种杂蛋白的 pI，它带正电，直接流走。再提高盐浓度把酶洗下来。第二种杂蛋白电荷和酶差不多，这一步去不掉。
- 第二步，凝胶过滤：酶大，先流出；分子量 10 000 的那个后流出。
- 顺序的道理：离子交换能上大体积的样品，洗下来的酶集中在一小段里，等于浓缩；凝胶过滤正需要小体积上样。
- 检验：SDS-PAGE 只有一条带，比活力不再升高。
- 狂背的参考答案是先凝胶过滤、再等电聚焦，两种都可以：离子交换适合制备量大的样品，等电聚焦分辨率高但上样量小。

2026 厦门大学 ・ 880 题

从猪肝匀浆里提一种酶，手头只有这几样工具

从猪肝匀浆中分离纯化蛋白 X，现有 SDS-PAGE、Western 印迹、280 nm 紫外检测、盐析、透析、凝胶层析柱、酶活力测定等手段，设计流程。

怎么想

把工具分成两堆：干活的（盐析、透析、凝胶层析）和看结果的（紫外、活力、电泳、Western）。干活的按由粗到细排，每一步后面跟一个看结果的。

153 离心与盐析　**154** 层析　**155** 电泳　**156** 抗体技术

- 匀浆、离心，取上清。
- **盐析**（salting out）：硫酸铵分段沉淀，每一段都测酶活力，找出 X 在哪一段。
- **透析**（dialysis）：除去硫酸铵。
- **凝胶过滤层析**（gel filtration chromatography）：用 280 nm 吸收监测洗脱出来的蛋白质峰，逐管测酶活力，合并有活力的几管。
- 每一步都测总蛋白和总活力，算比活力、纯化倍数和回收率。
- 最后 **SDS-PAGE**（SDS-polyacrylamide gel electrophoresis） 看是不是一条带、分子量多大；**Western 印迹**（Western blotting）用 X 的抗体确认这条带就是 X。

2026 暨南大学 ・ 880 题

五种蛋白质，各给了分子量和等电点，问它们在两种电泳上的顺序

五种单亚基蛋白质：A（4.5 kD，pI 5.4）、B（13 kD，pI 10.6）、C（17 kD，pI 7.0）、D（69 kD，pI 4.8）、E（90 kD，pI 5.9）。（1）SDS-PAGE 后，从上样孔到前沿指示剂方向的条带顺序；（2）等电聚焦后，从负极到正极的条带顺序；（3）按分子量分离蛋白质的方法有哪些?

怎么想
SDS-PAGE 只看分子量，大的跑得慢、留在上面。等电聚焦只看等电点：负极那头 pH 高，pI 大的停在负极一侧。

155 电泳　**154** 层析　**9** 等电点

- （1）SDS 把各种蛋白质的电荷和形状差别抹平，只按分子量分开，大的跑得慢：从上样孔往下 **E → D → C → B → A**。
- （2）等电聚焦的胶里 pH 从正极到负极逐渐升高，每种蛋白质停在 pH 等于自己 pI 的地方：从负极到正极 **B（10.6）→ C（7.0）→ E（5.9）→ A（5.4）→ D（4.8）**。
- （3）按分子量分：SDS-PAGE、凝胶过滤层析、超速离心（沉降速度法、密度梯度离心）、超滤和透析；测分子量还可以用质谱。
- 顺带练一下层析：凝胶过滤按分子量从大到小洗脱，也是 E → D → C → B → A；pH 7 的阴离子交换柱上，B、C 不被留住先流出，E、A、D 按负电由少到多依次洗下。

2025 东北林业大学 · 880 题

三种等电点相差很远的蛋白质，用哪一种离子交换

生理 pH 下的胃蛋白酶（pI 1.0）、血清清蛋白（pI 4.64）、核糖核酸酶（pI 7.8）的混合物，用哪种离子交换层析可以有效地分离回收？说明原理。

怎么想
先判断生理 pH 下三者各带什么电。

154 层析　**9** 等电点

- pH 7.4 时：胃蛋白酶和清蛋白都带负电（胃蛋白酶更多），核糖核酸酶带一点正电。
- 用**阴离子交换层析**：核糖核酸酶不被留住，直接流出；清蛋白和胃蛋白酶被留住。逐步提高盐浓度（或降低 pH），结合较弱的清蛋白先洗下来，负电最多的胃蛋白酶最后下来。三者分开。

2025 华中师范大学 · 660 题

怎样测出一群培养细胞的细胞周期各期各有多长

如何测定动物培养细胞的细胞周期各时期的时间长短？

怎么想
只有两个时期能直接“看见”：S 期（会掺入标记的胸苷）和 M 期（显微镜下认得出）。用它们当路标。

160 示踪　**134** 细胞周期

- 周期总时间：隔一段时间数一次细胞，算出群体数目翻一倍所需的时间。
- 各期时间（标记有丝分裂法）：用 ^{3}H-胸苷短时间标记，只有正在 S 期的细胞带上标记；换掉标记物后定时取样，做放射自显影，统计“带标记的分裂期细胞”占全部分裂期细胞的比例。
  - 从标记到带标记的分裂期细胞刚出现，这段时间是 G_2 期。
  - 比例从升到 50% 到降回 50% 的间隔是 S 期。
  - 相邻两个峰之间是周期总时间；总时间减去 S、G_2、M 就是 G_1。
- 流式细胞仪按 DNA 含量得到的是各期细胞所占的比例，乘以周期总时间可以估算各期的长短。

把好几环串起来

下手：这类题没有一环能单独答完。先定一条主线——一个分子的来龙去脉（基因 → 合成 → 加工 → 运输 → 作用 → 清除），或者一件事的前因后果（信号 → 通路 → 效应 → 终止）；然后沿着链一环一环走，每到一环只写一两句。

华农 2024 细胞 · 论述

抗利尿激素：从分泌到起作用再到被撤销

抗利尿激素与肾小管细胞的受体结合后尿量减少，细胞里 cAMP 升高，A 蛋白的基因转录升高；它的拮抗激素使 A 蛋白泛素化。① A 蛋白可能是什么？② 这种激素怎样被分泌出细胞？③ 它调节蛋白质表达的信号通路？④ 被泛素化的 A 蛋白的命运？

怎么想

四问正好是四环——让水过膜的蛋白质、分泌途径、cAMP 通路、蛋白质降解。

100 信号假说　**104** 高尔基体　**40** 胞吞与胞吐　**122** G蛋白偶联受体　**123** cAMP与PKA　**37** 被动运输　**110** 泛素与蛋白酶体

- ① A 蛋白最可能是**水孔蛋白**（aquaporin）：尿量减少说明水的重吸收增加。
- ② 分泌：它是肽类激素。带信号肽的前体在粗面内质网上边合成边进腔 → 切掉信号肽、折叠 → 膜泡运到高尔基体，加工 → 在高尔基体反面装进分泌泡 → 分泌泡沿轴突运到神经垂体的末梢储存 → 神经冲动到来、Ca^{2+} 升高时胞吐（调节型分泌）。
- ③ 通路：激素结合受体（G 蛋白偶联受体）→ Gs → 腺苷酸环化酶 → cAMP 升高 → PKA 活化。快的一手：PKA 使装着水孔蛋白的小泡与质膜融合，膜上的水通道增多；慢的一手：PKA 的催化亚基进核，磷酸化 CREB，开启水孔蛋白基因的转录。
- ④ 泛素是降解的信号：A 蛋白（膜上的水通道）泛素化后被胞吞，经内体送到溶酶体降解；参考答案答的是“被蛋白酶体识别、降解成短肽”。两条都写上。膜上的水通道减少，激素的效应被撤销。

华农 2026 细胞 · 论述

一道题连考端粒酶、靶向药、检查点和凋亡

① 把晚期癌细胞、衰老细胞、正常体细胞、干细胞“按端粒酶的平均长度”由低到高排列（原题这样写，疑为“端粒的平均长度”，也可能指端粒酶活性）；② 一种与端粒酶 RNA 结合的小核酸怎样抑制端粒酶；③ 针对高表达的受体酪氨酸激酶 HER2 设计两种药物；④ 紫外线造成 DNA 损伤后由哪个检查点应答，机制是什么；⑤ 损伤严重时会怎样。

怎么想

这是一条“癌细胞为什么不死”的线：能无限分裂（端粒酶）、信号一直开（HER2）、带伤也不停（检查点）、不凋亡。

83 端粒　**126** 受体酪氨酸激酶　**137** 检查点　**85** DNA修复　**147** 凋亡的执行

- ① 按端粒酶活性理解：衰老细胞、正常体细胞（很低）→ 干细胞 → 晚期癌细胞（最高）。按端粒长度理解：衰老细胞（短到触发 p53、周期停滞）和晚期癌细胞（经过危机后被端粒酶维持在较短的水平）都短，正常体细胞较长，干细胞最长（课本：生殖细胞和部分干细胞有端粒酶，端粒比体细胞长几千个碱基对）；衰老细胞和癌细胞谁更短课本没讲。考场上先写明按哪种理解答。
- ② 端粒酶的 RNA 是合成端粒重复序列的模板；小核酸与这段模板互补配对，把它占住，端粒酶无法延长端粒，癌细胞分裂若干次后端粒耗尽而衰老、死亡。
- ③ 一种在膜外：针对 HER2 胞外段的单克隆抗体，挡住它二聚化和传信号；一种在膜内：能进细胞的小分子，占住激酶结合 ATP 的口袋。

- ④ 主要是 G_1/S 的 DNA 损伤检查点：损伤 → ATM/ATR 活化 → p53 被磷酸化而稳定 → 开启 p21 → 抑制周期蛋白-CDK → Rb 不被磷酸化、E2F 放不出来 → 细胞停在 G_1，由核苷酸切除修复把嘧啶二聚体切掉。若细胞已在 S 期，复制叉被二聚体卡住，暴露的单链 DNA 激活 ATR-Chk1，再经 S 期内部检查点和 G_2/M 检查点把细胞停住（Chk1 使 Cdc25 失活）。
- ⑤ 修不了：p53 开启促凋亡基因，线粒体放出细胞色素 c，caspase 级联，细胞凋亡；检查点和凋亡都失灵的细胞带着突变活下来，可能癌变。

2025 南京师范大学、2026 华东师范大学 · 660 题

胰岛素：从基因到分泌到细胞外

在胰岛 β 细胞内，胰岛素是如何通过内膜系统被合成、修饰、分选并分泌到细胞外的?

怎么想
分泌蛋白的标准路线，再加两处胰岛素特有的：二硫键和切掉 C 肽；最后是“等信号才放”。

90 真核转录　**91** mRNA加工　**100** 信号假说　**102** 内质网　**104** 高尔基体　**105** 膜泡运输　**40** 胞吞与胞吐

- 核里：胰岛素基因转录，前体 mRNA 加帽、加尾、剪接，出核。
- 胞质：核糖体开始翻译，先出来的是信号肽；SRP 结合信号肽，翻译暂停，把核糖体带到粗面内质网。
- 内质网：肽链边合成边进腔，信号肽被切掉，成为**胰岛素原**；在分子伴侣和二硫键异构酶帮助下折叠，配好三对二硫键。折不好的被扣下降解。
- COP II 小泡把它运到高尔基体，逐层前行，在反面被分选进**分泌泡**（调节型分泌途径）。
- 分泌泡里，蛋白酶切掉中间的 C 肽，成为由 A、B 两条链组成的成熟胰岛素，与锌结合成晶体储存。
- 血糖升高 → β 细胞里 ATP 增多 → 对 ATP 敏感的 K^+ 通道关闭 → 膜去极化 → Ca^{2+} 通道打开 → Ca^{2+} 内流触发分泌泡与质膜融合，胰岛素胞吐出去。

2025 华东师范大学 · 660 题

呼吸链的复合体 I 是怎么凑齐的

① 线粒体内膜上的电子传递过程；② 线粒体里蛋白质的来源；③ 复合体 I 的合成和转运过程。

怎么想
复合体 I 的亚基一部分是线粒体自己造的，大部分是核里的基因、在胞质造了运进来的。两路在内膜上会合。

52 呼吸链　**57** 线粒体　**108** 线粒体蛋白的输入

- ① NADH → 复合体 I → 泛醌 → 复合体III → 细胞色素 c → 复合体IV → O_2；琥珀酸经复合体 II 把电子交给泛醌。 I 、III、IV 泵质子。
- ② 两个来源：线粒体 DNA 编码、在线粒体核糖体上合成的少数疏水亚基（人是 13 种）；核基因编码、在胞质游离核糖体上合成后运进来的（绝大多数）。
- ③ 复合体 I：
  - 线粒体自己编码的几种亚基在基质里合成，直接插进内膜。
  - 核编码的亚基在胞质合成完毕，由分子伴侣保持伸展，靠 N 端的导肽被外膜的 TOM 复合体认出，再经内膜的 TIM 复合体进去；膜电位和基质里的 Hsp70 提供动力；导肽被切掉，折叠，装上铁硫中心等辅基。

- 两路亚基在内膜上按次序组装成完整的复合体。所以它的合成要核与线粒体两套基因组协调表达。

2026 中国海洋大学 · 880 题

长期不吃饭，脂肪酸怎样一步步变成能量，酮体有什么用

长期禁食下，脂肪酸如何通过 β-氧化、柠檬酸循环、酮体生成提供能量？酮体生成有何生理意义？

怎么想

主线是“脂肪酸里的碳和能量怎样送到各个组织”。肝是中转站：自己用一部分，剩下的换成水溶性的酮体发出去。

64 β氧化　**49** 三羧酸循环　**65** 酮体　**61** 糖异生　**75** 代谢的调节

- 信号：血糖低，胰岛素下降、胰高血糖素上升 → 脂肪细胞里激素敏感脂肪酶活化，脂肪酸放入血中。
- 肌肉等组织：脂肪酸活化 → 经肉碱穿梭进线粒体 → β-氧化成乙酰 CoA → 三羧酸循环 → 氧化磷酸化，直接供能。
- 肝：β-氧化产生大量乙酰 CoA、NADH 和 ATP。ATP 和 NADH 供糖异生用，乙酰 CoA 激活丙酮酸羧化酶；但草酰乙酸被糖异生抽走，乙酰 CoA 进不了循环，转去合成**酮体**（ketone bodies），运到肝外。
- 脑、心、肌肉：把酮体变回乙酰 CoA，进三羧酸循环氧化。
- 酮体的意义：把脂肪酸的能量变成溶于水、能过血脑屏障的形式；长期饥饿时成为脑的主要燃料，省下葡萄糖，也就少分解肌肉蛋白去造糖。生成过多则酸中毒。

2025 华中师范大学 · 880 题

糖、氨基酸、核苷酸三种代谢在哪里相连

糖代谢、氨基酸代谢与核苷酸代谢有何联系？

怎么想

以核苷酸为中心，看它的每一个零件是谁给的：核糖、环上的原子、能量。

62 戊糖磷酸途径　**73** 核苷酸代谢　**69** 脱氨基　**74** 物质代谢的联系

- 糖 → 核苷酸：戊糖磷酸途径产生 5-磷酸核糖，活化成 PRPP，是核苷酸里的糖；NADPH 用来把核糖还原成脱氧核糖；糖氧化产生的 ATP 供能。
- 氨基酸 → 核苷酸：嘌呤环的原子来自甘氨酸、天冬氨酸、谷氨酰胺；嘧啶环来自天冬氨酸、谷氨酰胺；丝氨酸等提供一碳单位。
- 糖 ⇄ 氨基酸：糖代谢的 α-酮酸（丙酮酸、草酰乙酸、α-酮戊二酸）经转氨成为非必需氨基酸；生糖氨基酸的碳骨架又能经糖异生变成糖。
- 核苷酸反过来：ATP 是能量货币，UTP、CTP、GTP 分别活化糖、磷脂和蛋白质合成的中间物；核苷酸分解出的核糖可回到糖代谢。

2026 中国科学技术大学 · 880 题

胰岛素从哪几条路把血糖降下来

胰岛素通过哪些途径调控体内血糖浓度？

怎么想

降血糖无非两头：让血里的糖有去处（进细胞、存起来、烧掉），不让新的糖进血（关掉分解糖原和糖异生）。

126 受体酪氨酸激酶　**60** 糖原　**46** 糖酵解的调节　**61** 糖异生　**66** 脂肪酸合成　**75** 代谢的调节

- 信号：胰岛素结合受体酪氨酸激酶 → 受体自磷酸化 → PI3K → Akt。
- 增加去路：
  - 肌肉和脂肪细胞里装着 GLUT4 的小泡移到质膜，葡萄糖摄取增加。
  - 激活糖原合酶（经抑制它的抑制性激酶、激活蛋白磷酸酶），合成糖原。
  - 肝里诱导葡糖激酶，使果糖-2,6-二磷酸升高，加快糖酵解。
  - 激活乙酰 CoA 羧化酶，多余的糖变成脂肪酸和三酰甘油。
- 减少来路：使糖原磷酸化酶失活；抑制糖异生关键酶（如 PEP 羧激酶）的基因表达；抑制脂肪动员，间接减少糖异生的原料和能量。
- 所以它是唯一降血糖的激素。

2026 西南大学 · 880 题

身体先烧糖、再烧脂肪、最后才动蛋白质，凭什么是这个顺序

糖、脂肪、蛋白质代谢途径的特点以及消耗顺序的生理学依据。

怎么想

三样东西各有各的用处——糖取用最快而且脑离不开，脂肪存得最多，蛋白质不是为了当燃料而存在的。

75 代谢的调节　**60** 糖原　**64** β氧化　**69** 脱氨基

- 糖：氧化快，无氧也能供能，脑和红细胞依赖它；但糖原带水、储量小，只够半天。所以先用，而且血糖必须一直保着。
- 脂肪：不带水，同样重量储能最多，是专门的储备；但动员慢、必须有氧，而且脂肪酸变不成糖。所以糖原用完后转为主要燃料，酮体又替脑顶上。
- 蛋白质：没有专门的储存形式，每一个都有结构或功能上的用处；分解它等于拆自己，还产生要处理的氨。所以只在糖原耗尽时拿一部分氨基酸去造糖，酮体起来以后就尽量省着。
- 调节上：三者共用乙酰 CoA 和三羧酸循环，由胰岛素与胰高血糖素的比值切换先后。

外校近两年冒出来的新题目

这几道考的是课本边上的新内容，华农还没出过大题。每道先把它挂到链上已有的哪一环，就不是全新的东西了。

2026 厦门大学 · 660 题

细胞程序性坏死：和凋亡在质膜上差在哪，TNF 怎样引起它

细胞程序性坏死和细胞凋亡在细胞质膜上的差异，以及肿瘤坏死因子介导程序性坏死的信号通路。

怎么想

它是“按程序进行的坏死”：起因像凋亡（有信号、有通路），结局像坏死（膜破、发炎）。

146 凋亡的特征　**148** 程序性坏死与焦亡

- 质膜：凋亡时质膜始终完整，只是磷脂酰丝氨酸翻到外层，最后包成凋亡小体，不发炎；程序性坏死时质膜上被打出孔，细胞肿胀、破裂，内容物漏出，引起炎症。

- 通路：肿瘤坏死因子结合受体，本来可以引起凋亡；当凋亡这条路被堵住（caspase-8 不能活化）时，两个蛋白激酶 RIPK1、RIPK3 聚在一起并活化 → RIPK3 磷酸化 MLKL → MLKL 聚合并移到质膜上打孔。

2025 厦门大学 · 660 题

细胞焦亡：药物引起了典型的焦亡形态，却查不到 GSDMD 被切

GSDMD 被切开后，它的 N 端片段在质膜上成孔，引起细胞内容物外泄而死亡。一种药物使细胞出现典型的焦亡形态，Western 印迹却没有检测到 GSDMD 的切割。怎样解释，怎样验证?

怎么想
原理仍是“前体被蛋白酶切开才有活性”。形态出现了、这个蛋白质却没被切，就该想到干同一件事的是它的同族成员。

148 程序性坏死与焦亡　**30** 共价修饰与酶原

- 焦亡：由蛋白酶切开 gasdermin 家族的蛋白质，放出能在膜上成孔的片段，细胞肿胀破裂并释放炎症因子的一种程序性死亡；典型的是炎症性的 caspase 切 GSDMD。
- 解释：gasdermin 是一个家族，执行打孔的可能是别的成员——例如化疗药激活的 caspase-3 能切开另一个成员（GSDME），同样引起焦亡；也可能是别的蛋白酶在起作用。
- 验证：用 Western 印迹查家族里其他成员有没有被切开；把候选的基因敲除或敲低，看药物还能不能引起焦亡；加相应 caspase 的抑制剂看能否阻断。

2025 南京师范大学、东北林业大学 · 660 题

线粒体不是一粒一粒固定的，它不停地融合和分裂

细胞内线粒体变化的动态特征和调节机制；线粒体融合与分裂的生物学意义。

怎么想
融合是“合在一起互相补”，分裂是“切出一块好分、好扔”。

57 线粒体　**111** 自噬

- 线粒体在细胞里连成网，不断地融合、分裂、沿着微管移动；两者的平衡决定它是长管状还是小颗粒状。
- 执行者是几种大的 GTP 酶：有的管外膜、内膜的融合，有的在分裂处绕成一圈把线粒体勒断（内质网和微丝帮它定位）。
- 融合的意义：让线粒体之间交换内容物，一个线粒体里受损的 DNA 和蛋白质可以被别的补上；连成网有利于能量的传递。
- 分裂的意义：细胞分裂时把线粒体分给两个子细胞；把线粒体送到需要能量的地方；把受损的部分切出来，交给自噬清除；凋亡时线粒体大量碎裂。

据 2025 华东师范大学 · 660 题提炼（原题是设计实验，见“设计一个实验去证明”）

衰老的细胞不干活却不闲着：衰老相关分泌表型

什么是衰老相关分泌表型，有什么影响?

怎么想
把它放回“细胞通讯”里看：衰老细胞成了一个不断往外发信号的细胞。

145 细胞衰老　**120** 细胞通讯

- 衰老的细胞虽然不再分裂，却大量分泌促炎的细胞因子、趋化因子、生长因子和降解基质的蛋白酶。
- 作用是两面的：能招来免疫细胞把衰老细胞清掉，并提醒周围的细胞停止增殖（防癌）；但衰老细胞清不掉、越积越多时，这些因子造成慢性炎症，使邻近细胞也衰老，还可能促进肿瘤。

2025 华中师范大学 · 660 题

不转基因，只用小分子化合物也能把体细胞变回多能干细胞

名词解释：化学诱导的多能干细胞（CiPS 细胞）。

怎么想
它是 **144 干细胞** 里 iPS 隐患的一种解法。

144 干细胞　**117** 表观遗传

- 不导入任何外源基因，只用几种小分子化合物的组合处理体细胞，使它重编程成为多潜能干细胞（邓宏魁实验室，2013）。
- 小分子的作用是调整信号通路和表观遗传状态，把细胞自己的多能性基因重新打开。
- 好处：不动基因组，避开了癌基因和病毒载体插入带来的致瘤风险；小分子容易控制剂量和时间。

2025 厦门大学 · 660 题

染色质在核里不是乱放的：开着的在里面，关着的贴着核膜

选择题：关于真核生物染色质区室的描述哪项不准确。

怎么想
把常染色质、异染色质的老知识放进细胞核的空间里。

79 染色质　**80** 细胞核　**116** 真核基因的激活

- 用新的技术看整个基因组在核里怎样折叠，发现染色质分成两类区室：一类是开放的、基因多而且表达活跃的（相当于常染色质），多在核的内部；一类是关闭的、带着沉默记号的（相当于异染色质），多贴在核膜内侧的核纤层上。
- 同一类区室的片段之间接触多，不同类之间接触少。把“区室内接触少、区室间接触多”说反了的就是错项。

2025 南开大学 · 660 题

信号蛋白是怎样凑到一起的

简述细胞内信号蛋白复合物的装配过程与类型。

怎么想
信号要传得快而不串线，相关的几个蛋白质得事先或临时凑在一处。凑的办法就三种。

126 受体酪氨酸激酶　**127** 信号通路的共同规律　**35** 流动镶嵌模型

- 靠**支架蛋白**：一个大的支架蛋白事先把同一条通路上的几个激酶拴在一起，信号一来依次传下去。
- 靠**活化的受体**：受体自磷酸化以后，胞内段上的磷酸酪氨酸成了停靠位点，带 SH2 结构域的信号蛋白临时聚上来。
- 靠**膜上的磷脂**：受体活化后在附近的膜上生成磷酸化的磷脂酰肌醇，带相应结构域的信号蛋白被招到膜上。
- 好处：提高速度和效率，保证专一，减少不同通路之间的干扰。

同一个信号，细胞有快慢两种反应

简述细胞表面受体转导胞外信号后的两种基本应答（快反应和慢反应）。

怎么想

快慢的区别在于动的是“已有的蛋白质”还是“基因”。

123 cAMP与PKA　**121** 核受体　**127** 信号通路的共同规律

- 快反应（几秒到几分钟）：信号通路改变细胞里**已有蛋白质**的活性或位置——酶被磷酸化、通道开关、小泡与膜融合。如肾上腺素使糖原磷酸化酶活化。
- 慢反应（几十分钟到几小时）：信号传进核里，改变**基因的表达**，要等新的 mRNA 和蛋白质合成出来。如 PKA 进核磷酸化 CREB；生长因子经 MAPK 开启增殖基因。
- 同一个信号常常两手都用：先快后慢，前者应急，后者持久。

横着看

反复出现的招式

同一招在链上用了很多次；记住招式，各环的细节就少背一半

#弱键成形 8 处

生物大分子的形状和彼此的识别，都靠大量很弱的非共价作用（氢键、离子键、范德华力、疏水作用）叠加；单个弱所以能随时松开，数量多所以稳而专一。

5	细胞里七成是水；水分子有极性、彼此成氢键，其余分子只能顺着水的脾气摆放自己
13	主链上的 C═O 和 N—H 彼此成氢键，把局部排成规则的样子：α-螺旋、β-折叠、β-转角
14	螺旋和折叠先搭成固定的小组合，再靠疏水作用把整条链收成一团：超二级结构、结构域、三级结构
23	反应慢，是因为要先翻过活化能这道坎；酶不改变坎两边的高度差，只把坎削低，办法是把过渡态稳住
34	两亲的脂在水里自己排成双层并闭合成泡；这层膜只放小的、不带电的分子自由通过，离子一个也过不去
35	这层膜不是一堵死墙：脂和蛋白都在里面游动，两面又各不相同——流动镶嵌模型
77	两条链靠碱基配对拧成双螺旋：一条链的顺序完全决定另一条，这就是它能当图纸的原因；加热能把两条链分开，冷下来又能配回去
115	调节蛋白怎样在几百万个碱基对里找到自己的那几个？不必打开双螺旋，把一段 α-螺旋伸进大沟去“摸”碱基对的边缘

#形状决定功能 4 处

序列决定折叠，折叠出的形状决定它能结合谁；形状一变（变性、突变、别构），功能跟着变。

15	折成什么样，序列里已经写好了：一级结构决定高级结构；细胞里另有分子伴侣防止它在半路上折错、粘在一起
20	两个出毛病的例子：一氧化碳抢了位置还锁住氧；一个氨基酸换错，血红蛋白就聚成纤维
24	削坎的地方叫活性中心：几个在序列上相隔很远的残基，靠肽链折叠凑成一个口袋；口袋的形状就是酶的专一性
115	调节蛋白怎样在几百万个碱基对里找到自己的那几个？不必打开双螺旋，把一段 α-螺旋伸进大沟去“摸”碱基对的边缘

#别构 5 处

调节物结合在活性部位以外，改变构象来改变活性；多亚基蛋白因此出现 S 形曲线和协同性，能在很窄的浓度范围内大幅切换。

18	结合又能改变形状：一个亚基结合了氧，四个亚基一起从紧张态转向松弛态，这就是别构和协同
19	身体用三种别构调节物让血红蛋白在该放氧的地方多放氧：H^+、CO_2 和 BPG，三者都稳定 T 态
29	细胞不让酶一直全速。第一种管法是别构：调节物结合在活性中心以外，改变构象来改变活性，而且曲线是 S 形，反应特别灵敏
46	三个不可逆的步骤就是三道闸，最要紧的是磷酸果糖激酶-1：细胞缺能量它就开，能量够了它就关
113	细菌把干同一件事的几个基因排在一起、共用一个开关，叫操纵子。乳糖操纵子有两道闸：有乳糖才撤掉阻遏蛋白，没葡萄糖才请来激活蛋白

#磷酸化开关 8 处

激酶加上磷酸、磷酸酶去掉磷酸，蛋白质的活性就在两种状态间切换；快、可逆、可层层放大。

30	第二种管法是在酶上动共价键：可逆的是加上或拿掉一个磷酸，不可逆的是切掉一段肽链把酶原变成酶
48	有氧时丙酮酸进线粒体，被丙酮酸脱氢酶复合体氧化脱羧成乙酰 CoA；这一步不可逆，是糖通向彻底氧化的关口
60	吃饱了，多出来的葡萄糖先接成糖原存在肝和肌肉里；合成和分解不是同一个反应倒过来，而是两条路
75	这么多条路不打架，靠的是三级调度：酶自己看底物和产物，激素按全身的需要开关酶，吃饱和饿着是两套相反的配置
123	第一条路：Gs 打开腺苷酸环化酶，ATP 变成 cAMP；cAMP 放出蛋白激酶 A，一级磷酸化一级，把信号放大上万倍
126	生长因子和胰岛素的受体自己带着酪氨酸激酶：配体把两个受体拉到一起、互相磷酸化，磷酸化的酪氨酸成了挂钩，挂上接头蛋白，把小 G 蛋白 Ras 打开
127	各条通路的打法其实一样：靠分子开关一级级往下传，层层放大，信号一撤每一级都能马上关掉

135 推着周期往前走的引擎是周期蛋白和它的搭档 CDK：周期蛋白攒够了，CDK 才有活性；周期蛋白一降解，CDK 就熄火

#G蛋白开关 9 处

结合 GTP 时“开”，水解成 GDP 后“关”；GEF 帮它换上 GTP，GAP 催它水解。水解快慢就是一只定时器。

97 翻译在核糖体上分三段：起始时把第一个 tRNA 和起始密码子对准，延伸时进位、成肽、移位一圈接一个氨基酸，遇到终止密码子放手

100 要进内质网的蛋白质，信号肽一露头就被 SRP 抓住、翻译暂停，连同核糖体一起被拉到内质网膜上，再边合成边穿进去——信号假说

105 房间之间靠膜泡来往：包被蛋白管装什么货、从哪出芽，Rab 和 SNARE 管送到哪、和谁融合

109 进出细胞核走核孔：货物带着核定位信号，由受体领着进去；该在哪里卸货，由核里核外两种状态的 Ran 说了算

122 七次跨膜的受体自己不干活，把消息交给膜内侧的 G 蛋白：G 蛋白换上 GTP 就是“开”，把 GTP 水解成 GDP 就是“关”

123 第一条路：Gs 打开腺苷酸环化酶，ATP 变成 cAMP；cAMP 放出蛋白激酶 A，一级磷酸化一级，把信号放大上万倍

126 生长因子和胰岛素的受体自己带着酪氨酸激酶：配体把两个受体拉到一起、互相磷酸化，磷酸化的酪氨酸成了挂钩，挂上接头蛋白，把小 G 蛋白 Ras 打开

127 各条通路的打法其实一样：靠分子开关一级级往下传，层层放大，信号一撤每一级都能马上关掉

130 微管是微管蛋白二聚体围成的空心管，从中心体向四周辐射；它的末端忽长忽缩，药物只要冻住或拆掉这种动态，细胞就分裂不了

#梯度储能 7 处

把离子泵到膜的一侧，浓度差和电位差就是一种储存的能量；让离子顺着梯度回流，可以带动合成 ATP、运输或转动。

38 逆着梯度运就得花能量；直接烧 ATP 的叫泵，最要紧的是钠钾泵：每个 ATP 泵出 3 个 Na^+、泵入 2 个 K^+

39 泵出去的 Na^+ 想流回来，这份梯度本身就是存下的能量：让 Na^+ 顺梯度进来，可以顺手把别的分子逆梯度带进来

53 电子放出的能量没有直接变成 ATP，而是先把质子从基质泵到膜间隙，存成一道跨膜的质子梯度——化学渗透学说

54 质子顺着梯度流回来，推着 ATP 合酶像水轮一样转；每转一圈，三个催化部位各放出一个 ATP

58 糖和氧最初从哪来？叶绿体用光把水的电子抬到高处，一路往下流时照样泵质子、造 ATP，最后把电子交给 $NADP^+$

108 线粒体的一千多种蛋白质绝大多数是在胞质里合成完，再靠 N 端的导肽穿过两层膜拉进去的

124 第二条路：Gq 打开磷脂酶 C，把膜上的 PIP_2 一刀切成两个信使——IP_3 去内质网放出 Ca^{2+}，DAG 留在膜上和 Ca^{2+} 一起激活蛋白激酶 C

#活化载体 7 处

要转移的基团先挂到一个载体上变成高能形式（ATP 载磷酸、NADH 载电子、CoA 载酰基……），反应才推得动。

7 生命用四类小分子拼出一切：三类连成有头有尾的长链，一类靠疏水作用自己聚成膜

31 氨基酸侧链干不了的化学活——搬电子、搬酰基、搬一个碳——交给辅酶；辅酶大多是 B 族维生素变来的，一种辅酶专搬一种东西

41 上坡的反应自己不会发生，只能搭在一个下坡更陡的反应上一起走；细胞里到处搭的那个下坡反应就是 ATP 水解

60 吃饱了，多出来的葡萄糖先接成糖原存在肝和肌肉里；合成和分解不是同一个反应倒过来，而是两条路

66 糖吃多了变成脂肪：乙酰 CoA 以柠檬酸的形式搬到胞质，先羧化成丙二酸单酰 CoA，再由脂肪酸合酶两个碳两个碳地接上去

73 氨基酸的氮还用来造核苷酸：嘌呤是在核糖上一步步搭出环来，嘧啶是先搭好环再接到核糖上；多余的嘌呤分解成尿酸

96 密码子和氨基酸之间并没有化学上的亲缘，中间靠 tRNA 当转接头：一头用反密码子认密码子，一头挂着对应的氨基酸

#地址标签 12 处

分子上的一小段序列或修饰是地址，另一个蛋白认出它，就把它送到该去的地方或决定它的去留。

40 蛋白质、脂蛋白颗粒这样的大家伙穿不过膜，只能被膜整个包进来或送出去：胞吞与胞吐

89 从哪里开始抄，看启动子；细菌的 RNA 聚合酶靠 σ 因子认启动子，认到了才开抄，抄到终止子停下

99 蛋白质几乎都从胞质的核糖体上开始合成，去向却有十来处；地址就写在它自己的氨基酸序列里，一段信号序列对一种受体

100 要进内质网的蛋白质，信号肽一露头就被 SRP 抓住、翻译暂停，连同核糖体一起被拉到内质网膜上，再边合成边穿进去——信号假说

104 第二站高尔基体是加工厂兼分拣中心：一摞有方向的扁囊，货从顺面进、反面出，在出口按标签分成三路

105 房间之间靠膜泡来往：包被蛋白管装什么货、从哪出芽，Rab 和 SNARE 管送到哪、和谁融合

106 带着甘露糖-6-磷酸的那一路去了溶酶体：一袋酸性水解酶，是细胞里的消化车间

108 线粒体的一千多种蛋白质绝大多数是在胞质里合成完，再靠 N 端的导肽穿过两层膜拉进去的

109 进出细胞核走核孔：货物带着核定位信号，由受体领着进去；该在哪里卸货，由核里核外两种状态的 Ran 说了算

110 蛋白质都有寿命。要单独拆掉某一个，就给它接上一串泛素，送进蛋白酶体绞碎

112 基因不是全都开着：有的时时处处都要用，有的只在特定的细胞、特定的时候才用；管它的开关设在从 DNA 到蛋白质的每一步，最要紧的是转录起始

120 细胞靠化学信号互相通气：信号分子只认带着对应受体的靶细胞；亲水的信号进不了细胞，受体在膜上，疏水的信号直接进去，受体在细胞里

#两条路 5 处

合成和分解不走同一条路：酶不同、区室不同、调节相反，所以两个方向都能自发进行，又不会同时空转。

59 有了 ATP 和 NADPH，卡尔文循环在基质里把 CO_2 一个个接到五碳糖上还原成糖；固定 CO_2 的那个酶分不清 CO_2 和 O_2，于是有了光呼吸和 C_4 植物

60 吃饱了，多出来的葡萄糖先接成糖原存在肝和肌肉里；合成和分解不是同一个反应倒过来，而是两条路

61 糖原只够撑半天；再饿下去，肝用乳酸、甘油、氨基酸另造葡萄糖。它不是糖酵解倒着走，三个不可逆的步骤要换酶绕过去

66 糖吃多了变成脂肪：乙酰 CoA 以柠檬酸的形式搬到胞质，先羧化成丙二酸单酰 CoA，再由脂肪酸合酶两个碳两个碳地接上去

75 这么多条路不打架，靠的是三级调度：酶自己看底物和产物，激素按全身的需要开关酶，吃饱和饿着是两套相反的配置

#反馈 9 处

终产物抑制第一步是负反馈，使量稳定；产物反过来加强自己是正反馈，使开关一旦打开就打到底。

29 细胞不让酶一直全速。第一种管法是别构：调节物结合在活性中心以外，改变构象来改变活性，而且曲线是 S 形，反应特别灵敏

46 三个不可逆的步骤就是三道闸，最要紧的是磷酸果糖激酶-1：细胞缺能量它就开，能量够了它就关

68 乙酰 CoA 还能造胆固醇：限速酶是 HMG-CoA 还原酶，细胞里胆固醇够了就把它关掉，他汀类药物堵的也是它

73 氨基酸的氮还用来造核苷酸：嘌呤是在核糖上一步步搭出环来，嘧啶是先搭好环再接到核糖上；多余的嘌呤分解成尿酸

114 色氨酸操纵子反过来：产物多了才关，而且关两次——阻遏蛋白管开关，衰减作用管细调；细菌遇到饥饿和 DNA 损伤还有成套的应急开关

127 各条通路的打法其实一样：靠分子开关一级级往下传，层层放大，信号一撤每一级都能马上关掉

135 推着周期往前走的引擎是周期蛋白和它的搭档 CDK：周期蛋白攒够了，CDK 才有活性；周期蛋白一降解，CDK 就熄火

137 每到关口都有检查点：没准备好、DNA 坏了、染色体没连好，周期就停下来等；G_1 晚期还有一个“要不要开工”的限制点

150 该停不停、该死不死的细胞就是癌细胞：管“分”的原癌基因被踩死了油门，管“停”和“死”的抑癌基因丢了刹车；要好几处同时出错才行，所以年纪越大越容易得

#级联放大 6 处

一个分子激活许多下一级分子，层层相乘，微弱的信号变成巨大的效应；每一级又多一处可以调节。

30 第二种管法是在酶上动共价键：可逆的是加上或拿掉一个磷酸，不可逆的是切掉一段肽链把酶原变成酶

123 第一条路：Gs 打开腺苷酸环化酶，ATP 变成 cAMP；cAMP 放出蛋白激酶 A，一级磷酸化一级，把信号放大上万倍

124 第二条路：Gq 打开磷脂酶 C，把膜上的 PIP_2 一刀切成两个信使——IP_3 去内质网放出 Ca^{2+}，DAG 留在膜上和 Ca^{2+} 一起激活蛋白激酶 C

126 生长因子和胰岛素的受体自己带着酪氨酸激酶：配体把两个受体拉到一起、互相磷酸化，磷酸化的酪氨酸成了挂钩，挂上接头蛋白，把小 G 蛋白 Ras 打开

127 各条通路的打法其实一样：靠分子开关一级级往下传，层层放大，信号一撤每一级都能马上关掉

147 凋亡由一串专切蛋白质的酶 caspase 执行：平时是酶原，信号一到一级切一级。信号从两条路来——膜上的死亡受体，或者线粒体漏出的细胞色素 c

#区室化 8 处

膜把不相容的反应隔在不同房间里，各有各的 pH、酶和底物浓度；东西进出要靠专门的转运体或穿梭。

56	现在可以算总账：胞质里的 NADH 要先靠穿梭把电子送进线粒体，1 分子葡萄糖彻底氧化得 30 或 32 个 ATP
57	干这件事的细胞器是线粒体：两层膜隔出四个区，自己带着一小套基因和核糖体，但大多数零件还得靠细胞核供应
61	糖原只够撑半天；再饿下去，肝用乳酸、甘油、氨基酸另造葡萄糖。它不是糖酵解倒着走，三个不可逆的步骤要换酶绕过去
63	到这里要看一眼地图：相反的途径被膜隔在不同的房间里，中间物过不了膜，就只搬它身上要紧的那一部分
70	卸下来的氨有毒，尤其伤脑：各组织把它装进谷氨酰胺或丙氨酸运到肝，肝用尿素循环把它做成无毒的尿素排出去
80	装 DNA 的房间是细胞核：两层膜把复制和转录关在里面，核孔管进出，核纤层从里面撑住核膜
101	进了内质网，后面是一串由膜围成、靠膜泡相通的房间：内质网、高尔基体、溶酶体、胞内体、分泌泡，合称内膜系统
106	带着甘露糖-6-磷酸的那一路去了溶酶体：一袋酸性水解酶，是细胞里的消化车间

#方向性 10 处

生物聚合物都有头有尾（核酸 5′→3′、肽链 N→C、微丝微管有正负端），合成、读取和运动都只朝一个方向。

7	生命用四类小分子拼出一切：三类连成有头有尾的长链，一类靠疏水作用自己聚成膜
11	氨基酸靠肽键连成有头有尾的链；肽键带部分双键性质、转不动，主链每个残基只剩两个角可以转
43	单糖靠糖苷键连起来：同样是葡萄糖，α 键连成能消化的淀粉和糖原，β 键连成消化不了的纤维素
76	酶的氨基酸顺序记在核酸里。核酸的单体是核苷酸：碱基、戊糖、磷酸三个部件，靠磷酸二酯键连成有头有尾的链
81	细胞分裂前要把图纸抄一份。两条链分开各作模板，所以是半保留的；聚合酶只会朝 5′→3′ 一个方向加，所以一条链连续抄，另一条只能一段一段抄
88	图纸不直接拿去用，而是先抄一份 RNA 副本。抄法和复制同理，但只抄一条链上的一段，而且不用引物
97	翻译在核糖体上分三段：起始时把第一个 tRNA 和起始密码子对准，延伸时进位、成肽、移位一圈接一个氨基酸，遇到终止密码子放手
104	第二站高尔基体是加工厂兼分拣中心：一摞有方向的扁囊，货从顺面进、反面出，在出口按标签分成三路
128	细胞不是一袋酶液：里面有三种蛋白质纤维搭成的架子，管形状、管运动、管内部运输；它不是死架子，而是随时在拆装
132	纤维只是轨道，在上面拉货、发力的是马达蛋白：烧 ATP 换来构象变化，沿着纤维朝一个固定的方向一步一步走

#花能量换准确 8 处

复制、翻译、分选和分裂都多花一份能量来校对或把关，把出错率压到远低于单靠碱基配对或亲和力能达到的水平。

84	十亿个碱基才错一个，靠三道关：聚合酶先挑对的，加错了当场退回去重加，漏网的再由错配修复按新旧链来改
85	DNA 平时也会被紫外线、化学物质弄坏；因为有两条互补的链，坏了一条可以照另一条修，办法有五种
96	密码子和氨基酸之间并没有化学上的亲缘，中间靠 tRNA 当转接头：一头用反密码子认密码子，一头挂着对应的氨基酸
97	翻译在核糖体上分三段：起始时把第一个 tRNA 和起始密码子对准，延伸时进位、成肽、移位一圈接一个氨基酸，遇到终止密码子放手
102	第一站内质网：粗面的管蛋白质的合成、折叠和初步加糖，光面的管脂质合成和解毒；折不好的不许出门
110	蛋白质都有寿命。要单独拆掉某一个，就给它接上一串泛素，送进蛋白酶体绞碎
136	有丝分裂把复制好的两套染色体平分：纺锤体微管从两极抓住每条染色体的两侧，全都抓稳、排到赤道上，才剪断连着姐妹染色单体的箍，一边一条拉开
137	每到关口都有检查点：没准备好、DNA 坏了、染色体没连好，周期就停下来等；G_1 晚期还有一个“要不要开工”的限制点

#自组装 6 处

亚基靠自身的形状和弱键自己拼成大结构（双层膜、微丝微管、核糖体、病毒外壳）；成核最慢，往往是限速步骤。

2	所有细胞有四条共性，这四条正好就是后面要走的路
34	两亲的脂在水里自己排成双层并闭合成泡；这层膜只放小的、不带电的分子自由通过，离子一个也过不去

79	人的一个细胞里有两米长的 DNA，要装进几微米的核：先缠在组蛋白上成核小体，再一级级折叠成染色质和染色体
128	细胞不是一袋酶液：里面有三种蛋白质纤维搭成的架子，管形状、管运动、管内部运输；它不是死架子，而是随时在拆装
130	微管是微管蛋白二聚体围成的空心管，从中心体向四周辐射；它的末端忽长忽缩，药物只要冻住或拆掉这种动态，细胞就分裂不了
141	细胞之间的空隙由细胞自己分泌的蛋白质和多糖填满，叫细胞外基质：胶原抗拉，蛋白聚糖抗压，黏着糖蛋白把细胞粘在上面

#模板配对 8 处

信息的复制和读出都靠碱基互补配对：一条链是另一条的模板。

77	两条链靠碱基配对拧成双螺旋：一条链的顺序完全决定另一条，这就是它能当图纸的原因；加热能把两条链分开，冷下来又能配回去
81	细胞分裂前要把图纸抄一份。两条链分开各作模板，所以是半保留的；聚合酶只会朝 5′→3′ 一个方向加，所以一条链连续抄，另一条只能一段一段抄
85	DNA 平时也会被紫外线、化学物质弄坏；因为有两条互补的链，坏了一条可以照另一条修，办法有五种
88	图纸不直接拿去用，而是先抄一份 RNA 副本。抄法和复制同理，但只抄一条链上的一段，而且不用引物
95	四种碱基要对应二十种氨基酸，只能三个碱基一组：64 个密码子里 61 个编码氨基酸、3 个叫停
118	mRNA 造出来以后还能再管一道：让它活得长一点或短一点，让核糖体上得去或上不去；小 RNA 靠碱基配对专门干这个，叫 RNA 干扰
157	想在一大堆 DNA 或 RNA 里认出某一段，用探针：一条带标记的互补单链，靠碱基配对找到它
158	想把一小段 DNA 变成很多很多份，用 PCR；想读出它的顺序，用双脱氧法测序。两者都是让 DNA 聚合酶在试管里照着模板合成

依据：朱圣庚《生物化学》第 4 版、丁明孝等《细胞生物学》第 5 版；华中农业大学生物化学、细胞生物学 2007–2026 年真题；生化 880 题、细胞 660 题。详细讲解、插图和动画在“母题课”，每一环下面有回链。