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

第二步：把 RNA 译成蛋白质

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

加工	内容	作用
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)）

类型	含义
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。