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

	凋亡	坏死
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**

	外源途径（死亡受体途径）	内源途径（线粒体途径）
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