细胞生物基础知识

(中)

编者董原

需要全本请访问 www.ertongbook.com

目 录

细胞内功能区隔与蛋白质分选 1
蛋白质分选的基本原理 1
膜泡运输 4
内质网 23
高尔基体 30
溶酶体与过氧化物酶体 35
线粒体与叶绿体 45
线粒体 45
叶绿体 64
线粒体与叶绿体的蛋白质定向转运 76
细胞通信 82
基本概念 83
膜表面受体介导的信号转导 91
胞内受体介导的信号传导 120
可控性蛋白降解与信号转导 123
细胞骨架 132
微丝 133
微管 146
中间纤维 157

细胞内功能区隔与蛋白质分选

与原核细胞物不同的是真核细胞具有复杂的由内膜构成的功能区隔。细胞内膜系统指在结构，功能或发生上相关的细胞内膜形成的细胞结构，包括核被膜、内质网、高尔基体及其形成的溶酶体和分泌泡等，以及其它细胞器如线粒体，质体和过氧化物酶体等膜包围的细胞器（膜性细胞器）。

内膜系统形成了一种胞内网络结构，其功能主要在于两个方面：其一是扩大膜的总面积，为酶提供附着的支架，如脂肪代谢、氧化磷酸化相关的酶都结合在细胞膜上。其二是将细胞内部区分为不同的功能区域，保证各种生化反应所需的独特的环境。

蛋白质分选的基本原理

从系统发生来看内膜系统起源于质膜的内陷和内共生（线粒体、叶绿体），从个体发生来看新细胞的内膜系统来源于原有内膜系统的分裂。当细胞进行分裂时，不仅要进行染色体和细胞核的复制，同时各种细胞器通过吸收新合成的成分长大，然后随着细胞的分裂分配到子细胞中去。细胞不能从无到有产生所有膜性细胞器，新的膜性细胞器来源于已存在细胞器的分裂。如果彻底移除细胞内所有的过氧化物酶体，细胞根本不能重建新的过氧化物酶体，因为过氧化物酶体中具有选择性地接受细胞质内合成的蛋白质的转位因子（translocator）。细

胞内合成的蛋白质、脂类等物质之所以能够定向的转运到特定的细胞器取决于两个方面：其一是蛋白质中包含特殊的信号序列（signal sequence or targeting sequence),其二是细胞器上具特定的信号识别装置(分选受体，sorting receptor)，因此内膜系统的发生具有核外遗传（epigenetic）的特性。

一、蛋白质分选信号

细胞类至少存在两类蛋白质分选的信号（图 6-1）：

①信号序列（signal sequence)：存在于蛋白质一级结构上的线性序列，通常 15-60 个氨基酸残基，有些信号序列在完成蛋白质的定向转移后被信号肽酶（signal peptidase）切除.

②信号斑（signal patch)：存在于完成折叠的蛋白质中，构成信号斑的信号序列之间可以不相邻，折叠在一起构成蛋白质分选的信号。

蛋白质分选信号的作用是引导蛋白质从胞质溶胶进入内质网、线粒体、叶绿体和过氧化物酶体，也可以引导蛋白质从细胞核进入细胞质或从 Golgi 体进入内质网。这种分选信号的氨基酸残基有时呈线性排列，有时折叠成信号斑，如引导蛋白质定向运输到溶酶体的信号斑,是溶酶体酸性水解酶被高尔基体选择性加工的标识。

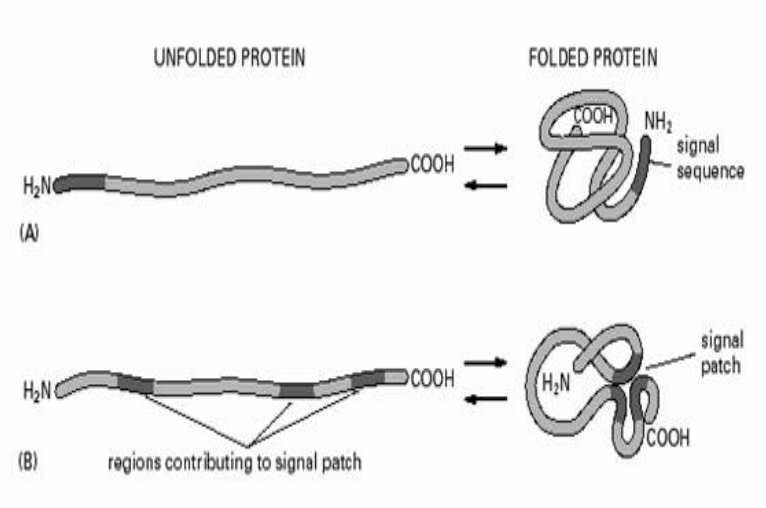


图 6-1 两类分选信号

每一种信号序列决定特殊的蛋白质转运方向，如输入内质网的蛋白质通常 N 端具有一段信号序列，含有 6-15 个带正电荷的非极性氨基酸。由高尔基体返回内质网的蛋白质，其 C 端的四个氨基序列，一些已知的分选信号见表 1。目前对于信号斑了解较少，主要是因为它存在于复杂的三维结构中，很难将其分离出来研究。

二、蛋白质分选运输的途径

蛋白质的分选运输途径主要有三类：

1、门控运输（gated transport）：如核孔可以选择性的主动运输大分子物质和 RNP 复合体，并且允许小分子物质自由进出细胞核。

2、跨膜运输（transmembrane transport）：蛋白质通过跨膜通道进入目的地。如细胞质中合成的蛋白质在信号序列的引导下，通过线粒体上的转位因子，以解折叠的线性分子进入线粒体。

3、膜泡运输（vesicular transport）：蛋白质被选择性地包装成运输小泡，定向转运到靶细胞器。如内质

需要全本请访问 www.ertongbook.com

网向高尔基体的物质运输、高尔基体分泌形成溶酶体、细胞摄入某些营养物质或激素，都属于这种运输方式。

这几种运输机制都涉及信号序列的引导和靶细胞器上受体蛋白的识别。

膜泡运输

细胞内部内膜系统各个部分之间的物质传递常常通过膜泡运输方式进行。如从内质网到高尔基体；高尔基体到溶酶体；细胞分泌物的外排，都要通过过渡性小泡进行转运。膜泡运输是一种高度有组织的定向运输，各类运输泡之所能够被准确地运到靶细胞器，主要是因为细胞器的胞质面具有特殊的膜标志蛋白。许多膜标志蛋白存在于不止一种细胞器,可见不同的膜标志蛋白组合，决定膜的表面识别特征。

大多数运输小泡是在膜的特定区域以出芽的方式产生的。其表面具有一个笼子状的由蛋白质构成的衣被（coat)。这种衣被在运输小泡与靶细胞器的膜融合之前解体。衣被具有两个主要作用：①选择性的将特定蛋白聚集在一起，形成运输小泡；②如同模具一样决定运输小泡的外部特征，相同性质的运输小泡之所以具有相同的形状和体积，与衣被蛋白的组成有关。

胞内膜泡运输沿微管或微丝运行，动力来自马达蛋白（motor proteins)。与膜泡运输有关的马达蛋白有 3 类：一类是动力蛋白（dynein)，可向微管负端移动；另一类为驱动蛋白（kinesin)，可牵引物质向微管的正端移动；第三类是肌球蛋白（myosin）,可向微丝的正极运动。在马达蛋白的作用下，可将膜泡转运到特定的区域，

一、衣被类型

已知三类具有代表性的衣被蛋白，即：笼形蛋白（clathrin)、COPI 和 COPII,个介导不同的运输途径(表 2)。

表 2 衣被小泡的类型与功能

衣被类型	GTP 酶	组成与衔接蛋白	运输方向
clathrin	Arf	Clathrin 重链与轻链，AP2	质膜→内体
		Clathrin 重链与轻链，AP1	高尔基体→内体
		Clathrin 重链与轻链，AP3	高尔基体→溶酶体 高尔基体→植物液泡
COP I	Arf	COPα β β ’ γ δ ε ζ	高尔基体→内质网
COP II	Sar 1	Sec23/Sec24 复合体，Sec 13/31 复合体，Sec 16，Sec 12	内质网→高尔基体

（一）笼形蛋白衣被小泡

笼形蛋白衣被小泡是最早发现的衣被小泡，介导高尔基体到内体、溶酶体、植物液泡的运输，以及质膜到内膜区隔的膜泡运输。

笼形蛋白分子由 3 个重链和 3 个轻链组成(图 6-2)，形成一个具有 3 个曲臂的形状 (triskelion)。许多笼形蛋白的曲臂部分交织在一起，形成一个具有 5 边形网孔的笼子（图 6-3)。

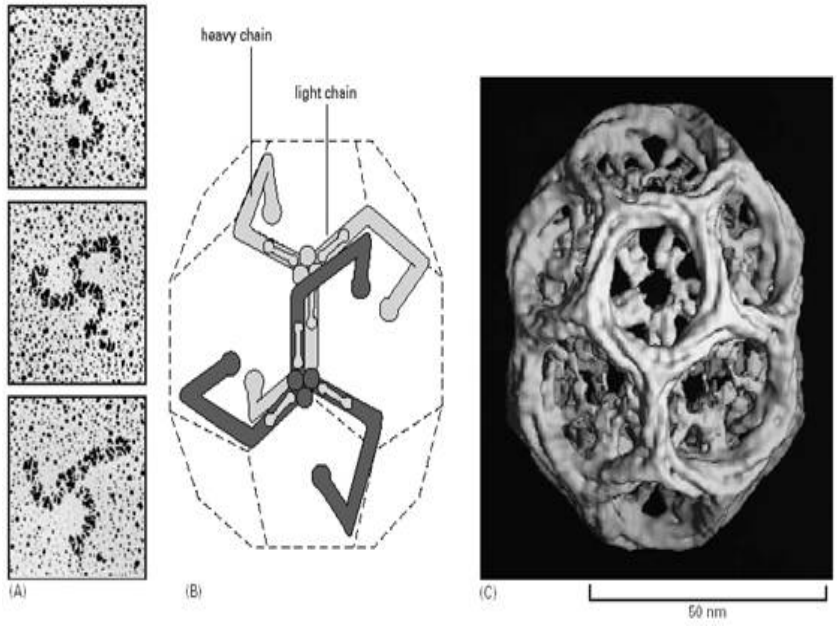
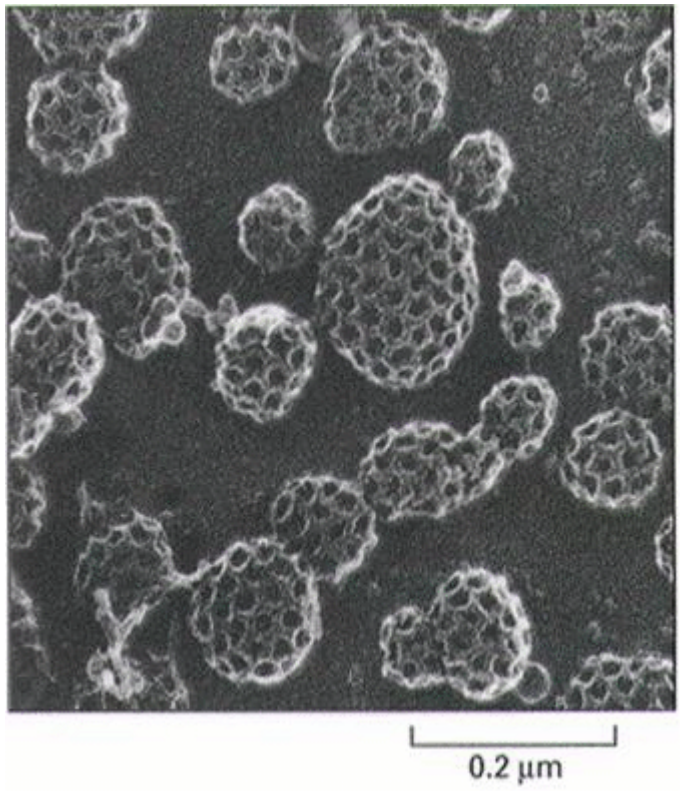


图 6-2 笼形蛋白的结构，A 电镜照片，B 分子模型，



C 衣被模型

图 6-3 笼形蛋白衣被小泡的形态

笼形蛋白形成的衣被中还有衔接蛋白（adaptin)。它介于笼形蛋白与配体受体复合物之间,起连接作用(图 6-4)。目前至少发现 4 种不同类型的衔接蛋白，可分别结合不同类型的受体,形成不同性质的转运小泡,如 AP1 参与高尔基体→内体的运输、AP2 参与质膜→内体的运输、AP3 参与高尔基体→溶酶体的运输。

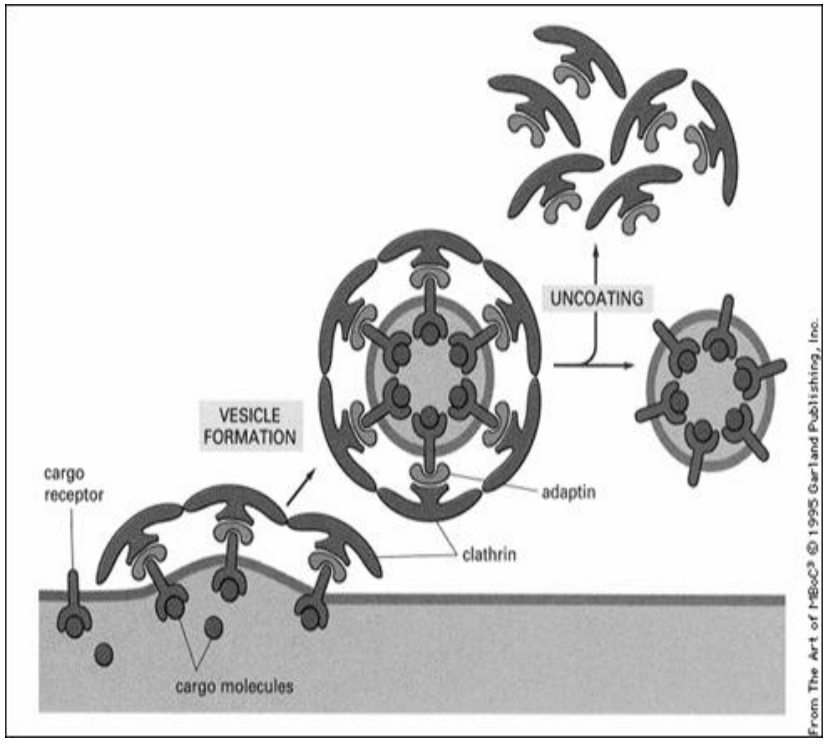


图 6-4 笼形衣被小泡的组成

当笼形蛋白衣被小泡形成时，可溶性蛋白动力素（dynamin）聚集成一圈围绕在芽的颈部（图 6-5)，将小泡柄部的膜尽可能地拉近（小于 1.5nm)，从而导致膜融合，掐断（pinch off）衣被小泡。动力素是一种 GTP 酶，调节小泡以出芽形式脱离膜的速率。动力素可以召集其它可溶性蛋白在小泡的颈部聚集，通过改变膜的形

状和膜脂的组成，促使小跑颈部的膜融合，形成衣被小泡。

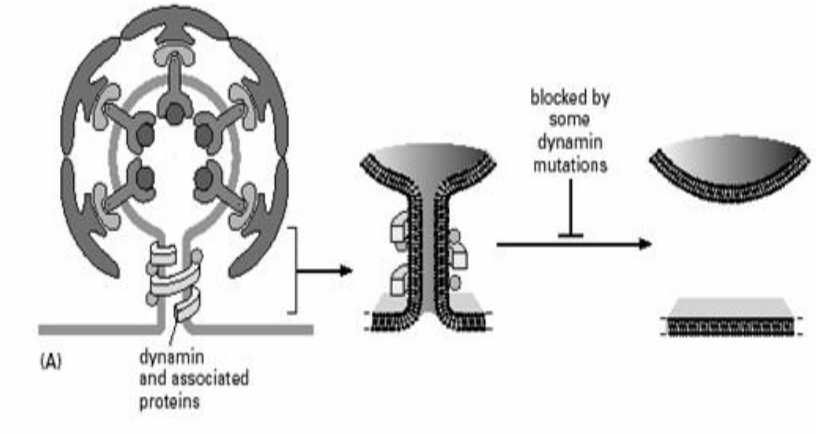


图 6-5 Clathrin 衣被小泡的掐断过程

当衣被小泡从膜上释放后，衣被很快就解体，属于 hsp70 家族的一种分子伴侣（molecular chaperone）充当衣被解体的 ATP 酶，一种辅蛋白（auxillin）可以激活这种 ATP 酶。

（二）COP Ⅰ衣被小泡

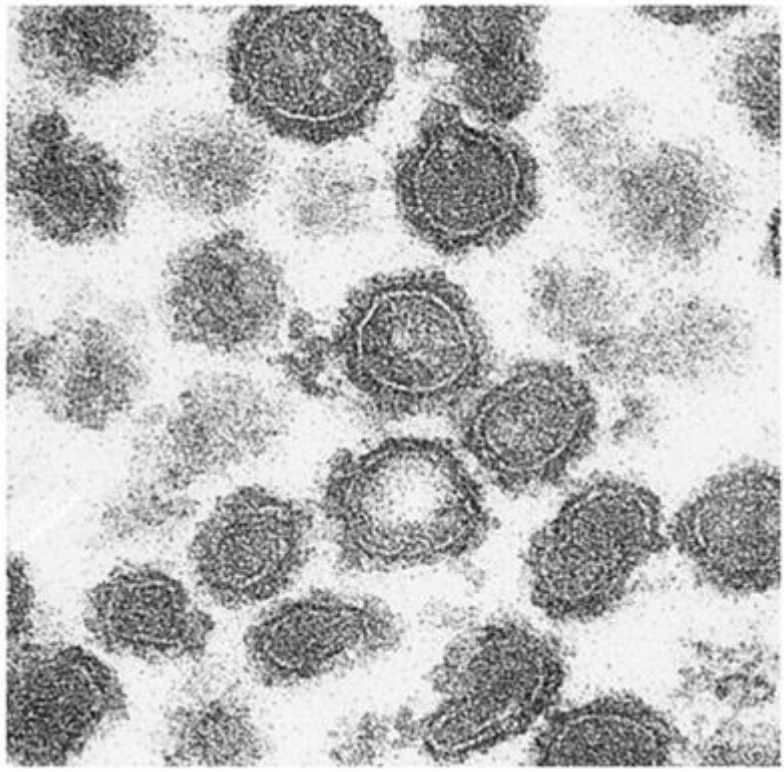
负责回收、转运内质网逃逸蛋白（escaped proteins）返回内质网（图 6-6、7）。起初发现于高尔基体碎片，在含有 ATP 的溶液中温育时，能形成非笼形蛋白包被的小泡。进一步的研究发现这种衣被蛋白复合体包含多达 7 种肽链。

内质网向高尔基体输送运输小泡时，一部分自身的蛋白质也不可避免的被运送到了高尔基体，如不进行回收则内质网因为磷脂和某些蛋白质的匮乏而停止工作。内质网通过两种机制维持蛋白质的平衡 ：一是转运泡将应被保留的驻留蛋白排斥在外，例如有些驻留蛋白参与形成大的复合物，因而不能被包装在出芽形成的转运泡中，结果被保留下来；二是通过对逃逸蛋白的回收机制，

使之返回它们正常驻留的部位。

内质网的正常驻留蛋白，不管在腔中还是在膜上，它们在 C 端含有一段回收信号序列（retrieval signals），如果它们被意外地逃逸进入转运泡从内质网运至高尔基体 cis 面，则 cis 面的膜结合受体蛋白将识别并结合逃逸蛋白的回收信号，形成 COPI 衣被小泡将它们返回内质网。内质网腔中的蛋白，如蛋白二硫键异构酶和协助折叠的分子伴侣，均具有典型的回收信号 Lys-Asp-Glu-Leu（KDEL，图 6-8）。内质网的膜蛋白（如 SRP 受体）在 C 端有一个不同的回收信号，通常是 Lys-Lys-X-X（KKXX，X：任意氨基酸），同样可保证它们的回收。

COP Ⅰ衣被小泡还可以介导高尔基体不同区域间的蛋白质运输。



需要全本请访问 www.ertongbook.com

图 6-6 COP Ⅰ衣被小泡的形态

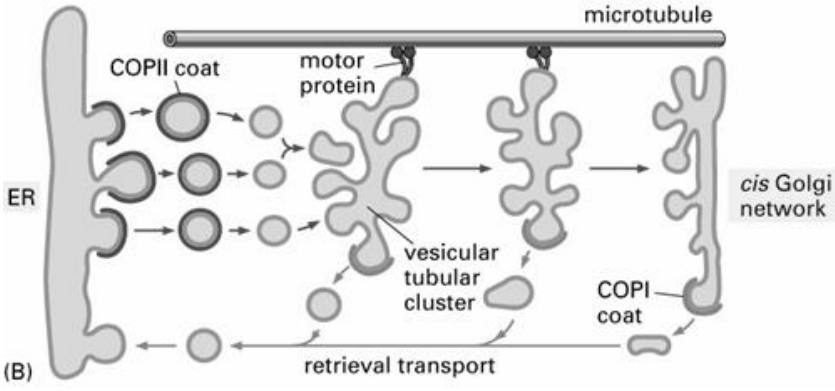


图 6-7 COPI 和 COPII 衣被小泡

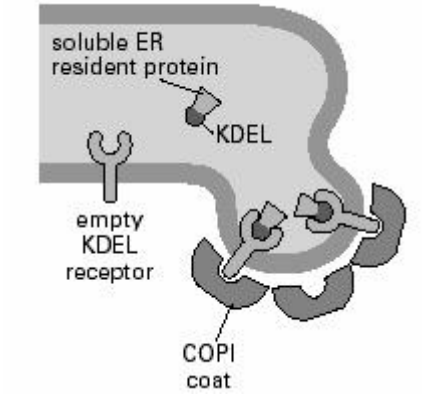


图 6-8 KDEL 序列

（三）COPⅡ衣被小泡

介导从内质网到高尔基体的物质运输。最早发现于酵母 ER 在 ATP 存在的细胞质液中温育时，ER 膜上能形成类似于 COP Ⅰ的衣被小泡，某些温度敏感型的酵母，由于 COPⅡ衣被蛋白发生变异，在特定温度下会在内质网中积累蛋白质。

COP Ⅱ衣被由多种蛋白质构成（参见表 2），其中 Sar1GTP 酶与 Sec23/Sec24 复合体结合在一起，形成紧紧包围着膜的一层衣被，Sec13/Sec31 复合体形成覆盖在外围的一层衣被，Sec16 推测可能是一种骨架蛋白，

Sec12 是 Sar1 的鸟苷酸交换因子。真核生物的 COP II 衣被蛋白亚单位具有一些横向同源物（Paralog）[1]，这些同源物可能介导不同的蛋白质转运，具有不同的调节机制。在实验条件下，纯化的 Sar1、Sec23/Sec24、Sec13/Sec31 等 5 种成分足以在人工脂质体上形成小泡，说明这些成分具有改变膜的形状和掐断运输小泡的功能。

COP II 衣被小泡形成与内质网的特殊部位，称为内质网出口（exit sites），这些部位没有核糖体，由交织在一起的管道和囊泡组成网络结构。

由内质网到高尔基体的蛋白转运中，大多数跨膜蛋白是直接结合在 COP II 衣被上，但是少数跨膜蛋白和多数可溶性蛋白通过受体与 COP II 衣被结合，这些受体在完成转运后，通过 COP I 衣被小泡返回内质网。

COP II 衣被所识别的分选信号位于跨膜蛋白胞质面的结构域，形式多样，有些包含双酸性基序[DE]X[DE]（D 为 Asp,E 为 Glu,X 为任何一种氨基酸）,如 Asp-X-Glu 序列，其他一些具有短的疏水基序，如 FF，YYM，FY，LL，IL 等等（其中 F 为 Phe，Y 为 Tyr，M 为 Met，L 为 Leu，I 为 Ile）。

二、衣被的形成

衣被是在一类叫作衣被召集 GTP 酶（coat-recruitment GTPase）作用下形成的。衣被召集 GTP 酶通常为单体 GTP 酶（monomeric GTPase），也叫 G 蛋白，起分子开关的作用，结合 GDP 的形式没有活性，位于细胞质中，结合 GTP 而活化，转位至膜上，能与衣被蛋白结合，促进核化和组装。

G 蛋白具有两类重要的调节蛋白，即：鸟苷酸交换

因子（guanine-nucleotide exchange factor，GEF）和GTP酶激活蛋白（GTPase activating protein，GAP)。GEF的作用是使G蛋白释放GDP，结合GTP而激活。GAP的作用是激活G蛋白的酶活性，使GTP水解，G蛋白失活，G蛋白本身的GTP酶活性不高。除单体G蛋白以外，三聚体G蛋白也起分子开关的作用，控制衣被小泡的形成。

衣被召集GTP酶包括Arf蛋白和Sar 1蛋白（图6-9)，Arf参与高尔基体上笼形蛋白衣被与COP I衣被的形成，Sar 1参与内质网上COP II衣被的形成，两者的作用方式大体相似。质膜上笼形蛋白衣被的形成也与GTP酶有关，但其成分尚不明确。

衣被召集GTP酶大量存在于细胞质中，但处于结合GDP的失活状态。当内质网上要形成COPII衣被小泡时，Sar 1释放GDP结合GTP而激活，激活的Sar 1暴露出一条脂肪酸的尾巴，插入内质网膜，然后开始召集衣被蛋白，以衣被蛋白为模型形成运输小泡。活化的衣被召集GTP酶还可以激活磷脂酶D（phospholipase D)，将一些磷脂水解,使形成衣被的蛋白质牢固地结合在膜上。

衣被召集GTP酶对衣被的形成其动态调节作用，当多数衣被召集GTP酶处于结合GTP的状态时，它催化衣被的形成；反之当多数衣被召集GTP酶处于结合GDP的状态时，它催化衣被的解体。因此衣被的形成过程是边形成便解体的动态过程，只有在组装速率大于解体速率时，才能形成衣被小泡。

ss

图6-9 COP II衣被小泡的组装

三、膜泡运输的定向机制

衣被小泡沿着细胞内的微管被运输到靶细胞器，马达蛋白水解 ATP 提供运输的动力。各类运输小泡之所以能够被准确地和靶膜融合，是因为运输小泡表面的标志蛋白能被靶膜上的受体识别，其中涉及识别过程的两类关键性的蛋白质是 SNAREs（soluble NSF attachment protein receptor）和 Rabs（targeting GTPase)。其中 SNARE 介导运输小泡特异性停泊和融合，Rab 的作用是使运输小泡靠近靶膜。

（一）SNAREs

SNAREs 的作用是保证识别的特异性和介导运输小泡与目标膜的融合，动物细胞中已发现 20 多种 SNAREs，分别分布于特定的膜上，位于运输小泡上的叫作 v-SNAREs，位于靶膜上的叫作 t-SNAREs（图 6-10)。v-SNAREs 和 t-SNAREs 都具有一个螺旋结构域，能相互缠绕形成跨 SNAREs 复合体（trans-SNAREs complexes，图 6-11)，并通过这个结构将运输小泡的膜与靶膜拉在一起，实现运输小泡特异性停泊和融合。实验证明包含了 SNARE 的脂质体和包含匹配 SNARE 的脂质体间可发生融合，尽管速度较慢。这说明除了 SNARE 之外，还有其他的蛋白参与运输泡与目的膜的融合。

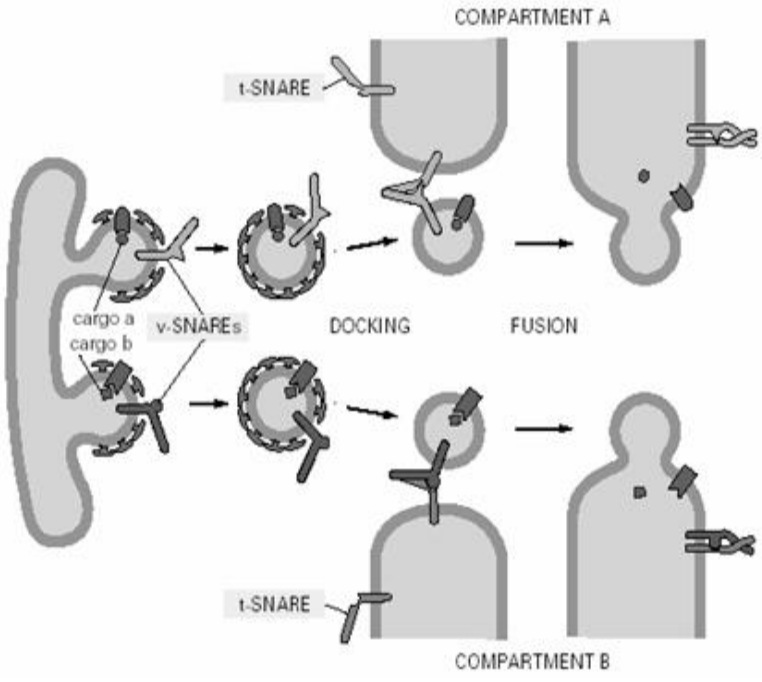


图 6-10 t-和 v-SNARE

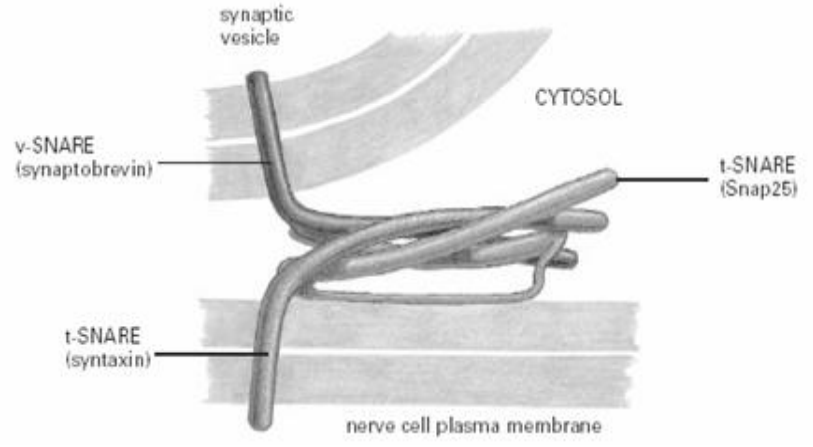


图 6-11 SNARE 复合体

在 SNAREs 接到新一轮的运输小泡停泊之前，SNAREs 必须以分离的状态存在，NSF（N-ethylmaleimide-sensitive fusion protein，NSF）催化 SNAREs 的分离，它是一种类似分子伴娘的 ATP 酶，

能够利用 ATP 作为能量通过插入几个适配蛋白(adaptor protein）将 SNAREs 复合体的螺旋缠绕分开（图 6-12)。

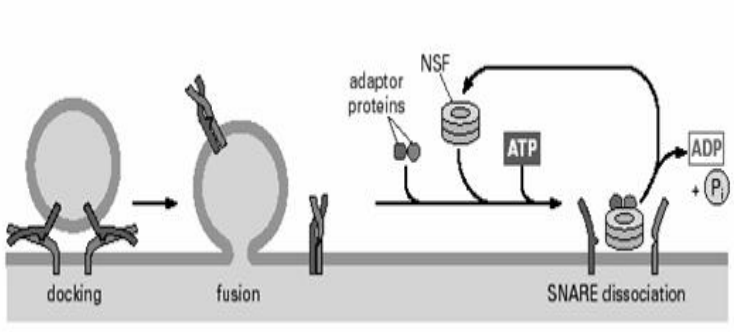


图 6-12 SNARE 复合体的解离

在神经细胞中 SNAREs 负责突触小泡的停泊和融合，破伤风毒素和肉毒素等细菌分泌的神经性毒素实际上是一类特殊的蛋白酶，能够选择性地降解 SNAREs，从而阻断神经传导。

精卵的融合、成肌细胞的融合均涉及 SNAREs，另外病毒融合蛋白的工作原理与 SNAREs 相似,介导病毒与宿主质膜的融合（图 6-13)。

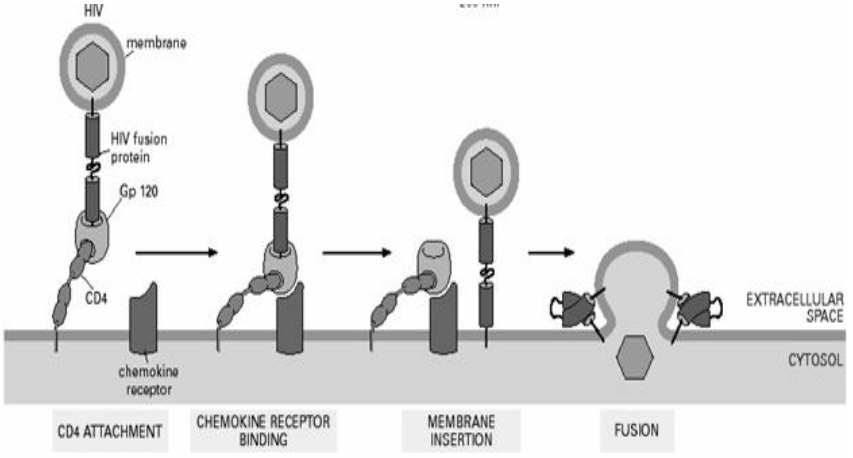


图 6-13 病毒融合蛋白的工作原理

（二）Rabs

需要全本请访问 www.ertongbook.com