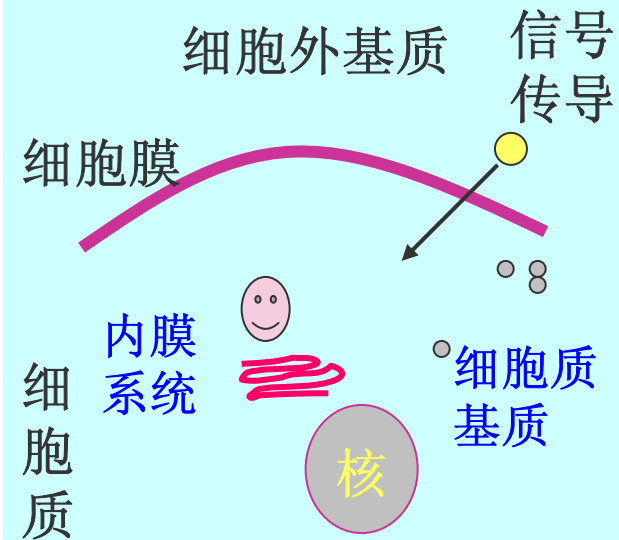
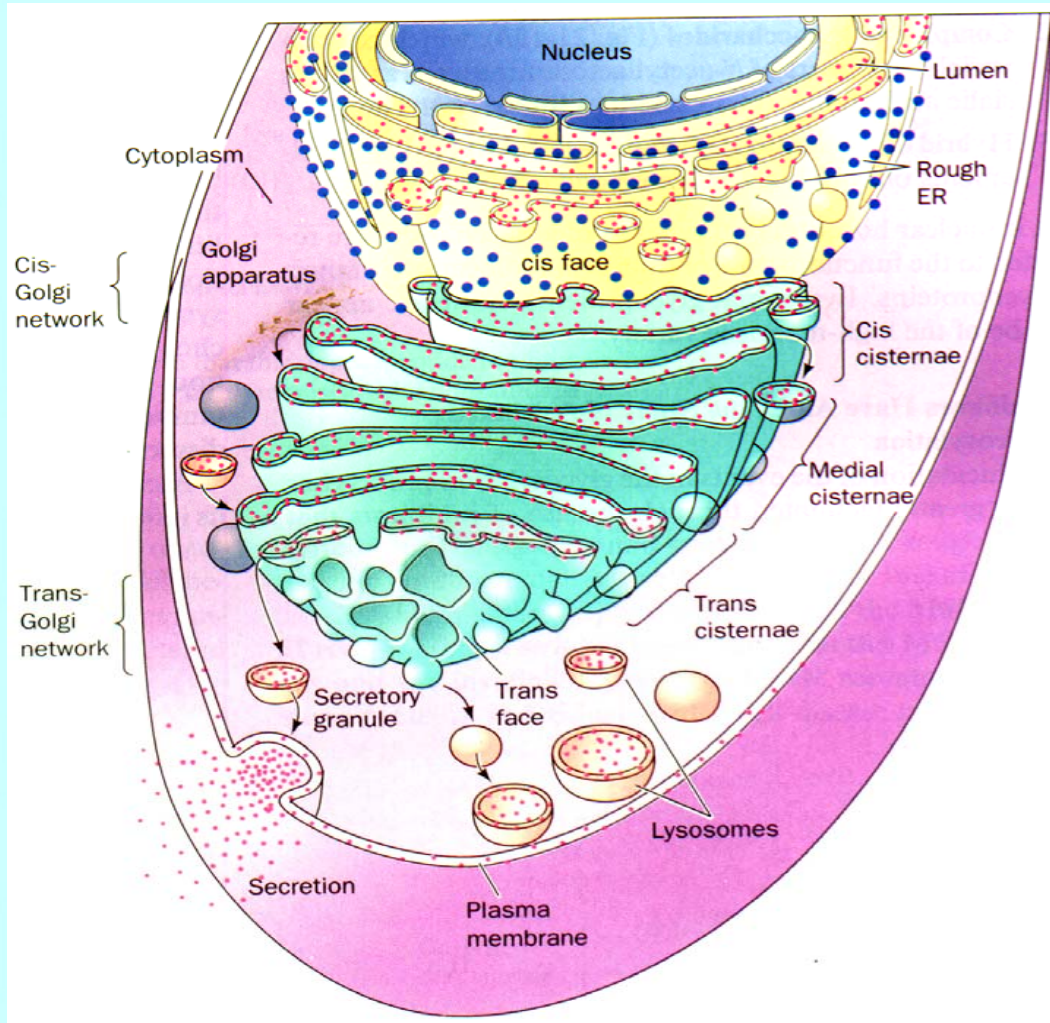


第六章 细胞质基质与细胞内膜系统





§ 6.1 细胞质基质

- 概念：真核细胞质中，除去可分辨的细胞器以外的胶状物质。
- 主要成分：中间代谢有关的数千种酶类、细胞质骨架结构。

细胞质基质的功能

- 完成各种中间代谢过程

如糖酵解过程、磷酸戊糖途径、糖醛酸途径等

- 与细胞质骨架相关的功能

维持细胞形态、细胞运动、胞内物质运输及能量传递等

- 蛋白质的修饰、蛋白质选择性的降解

- ◆ 蛋白质的修饰

- ◆ 控制蛋白质的寿命

- ◆ 降解变性和错误折叠的蛋白质

- ◆ 帮助变性或错误折叠的蛋白质重新折叠，

形成正确的分子构象

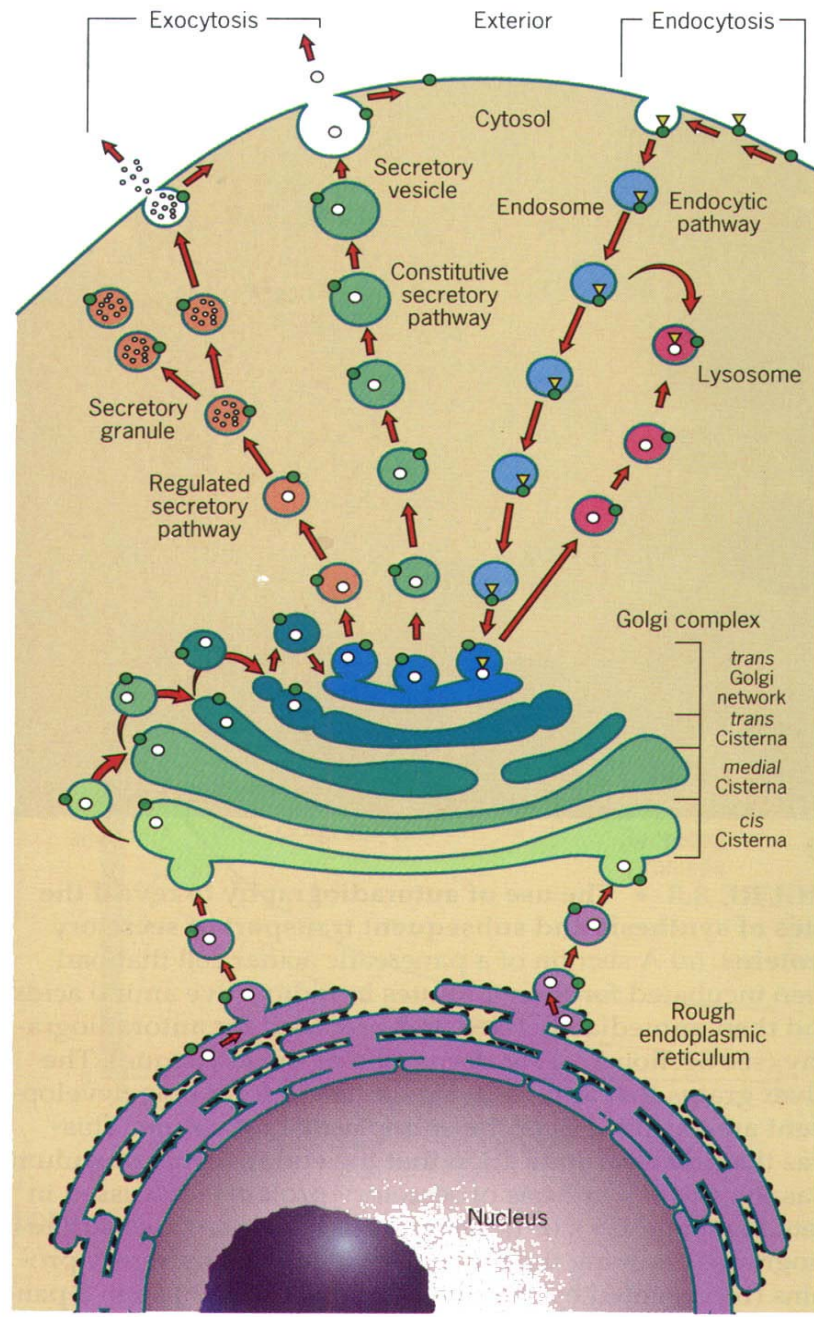




➡ 内膜系统

概念：是指内质网、高尔基体、细胞核、溶酶体、液泡5类膜结合细胞器。这些膜是相互流动的，处于动态平衡，功能上相互协调

内膜系统的动态特性



(a)

§ 6.2 内质网

Endoplasmic Reticulum, ER

◆形态

● ER 由封闭的膜系统及其形成的腔构成的相互沟通的网状结构。它从核膜延伸至细胞质中，靠近细胞质内侧。

● ER 是真核细胞中最大的细胞器

● ER的膜占细胞膜系统的一半

● 所包围的体积占细胞总体积的10%



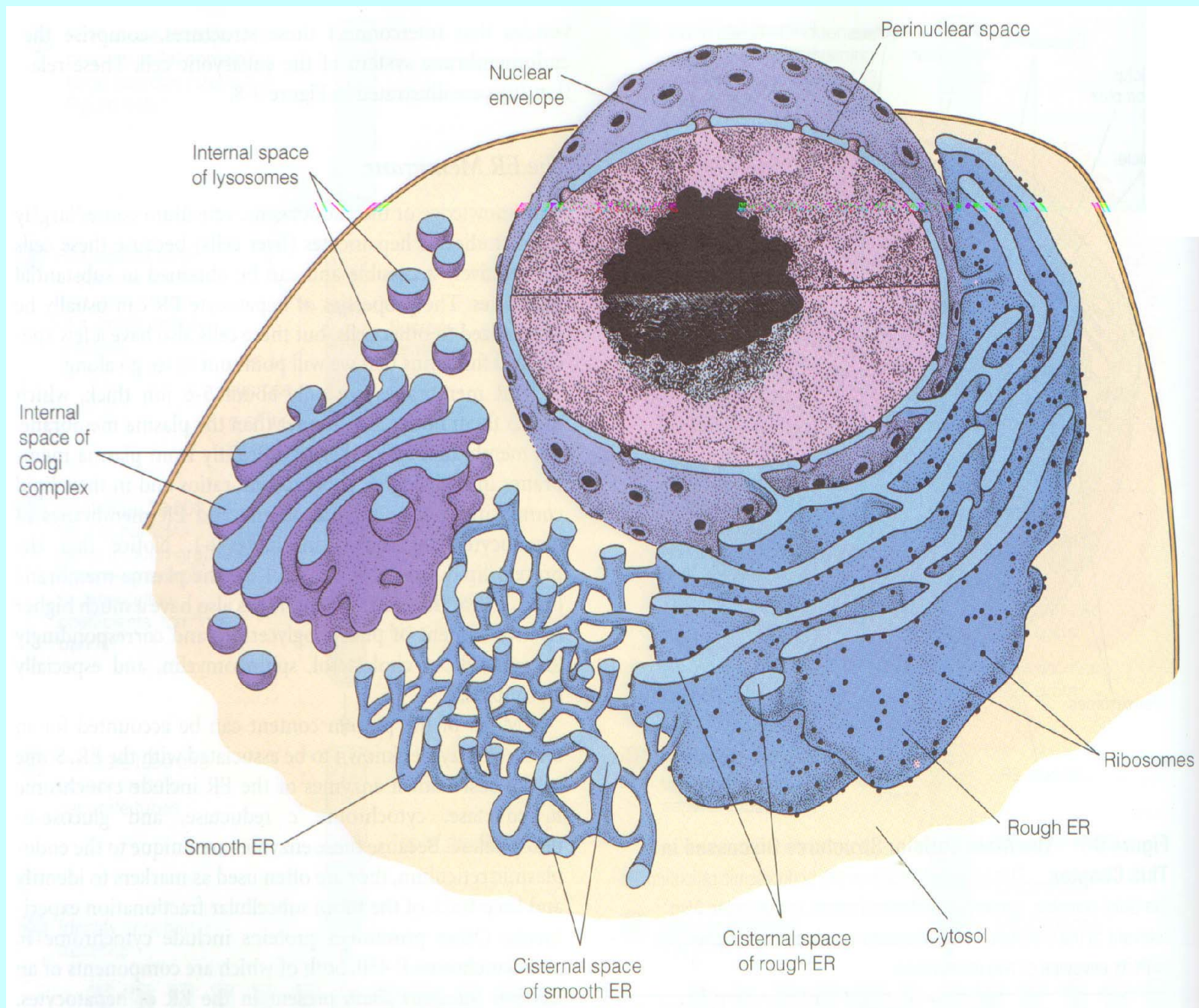
➔ 内质网的化学组成

主要为蛋白质、脂类。

◆ 内质网的标志酶是葡萄糖-6-磷酸酶。

◆ 细胞色素P₄₅₀在内质网膜中最为丰富。

内质网的形态结构





➔ 内质网种类

根据是否附有核糖体：

糙面内质网(**RER**)

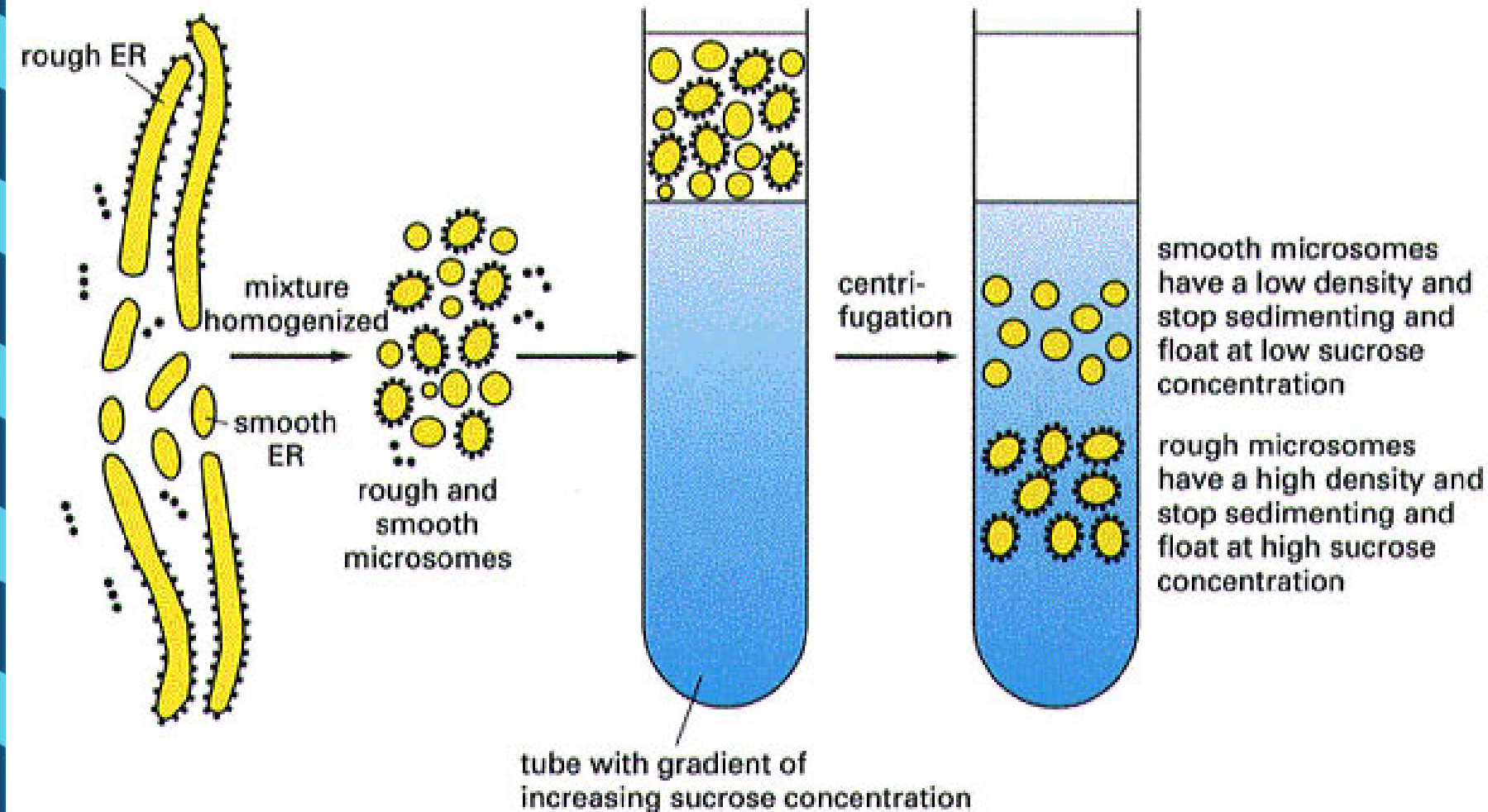
光面内质网(**SER**)

主要功能：合成分泌蛋白质

合成脂类

微粒体

----细胞匀浆等人工过程，破碎的内质网形成的近似球形的囊泡





➔ 内质网的功能

- ◆ 蛋白质的合成
- ◆ 蛋白质运输
- ◆ 蛋白质的修饰和加工
- ◆ 脂质的合成



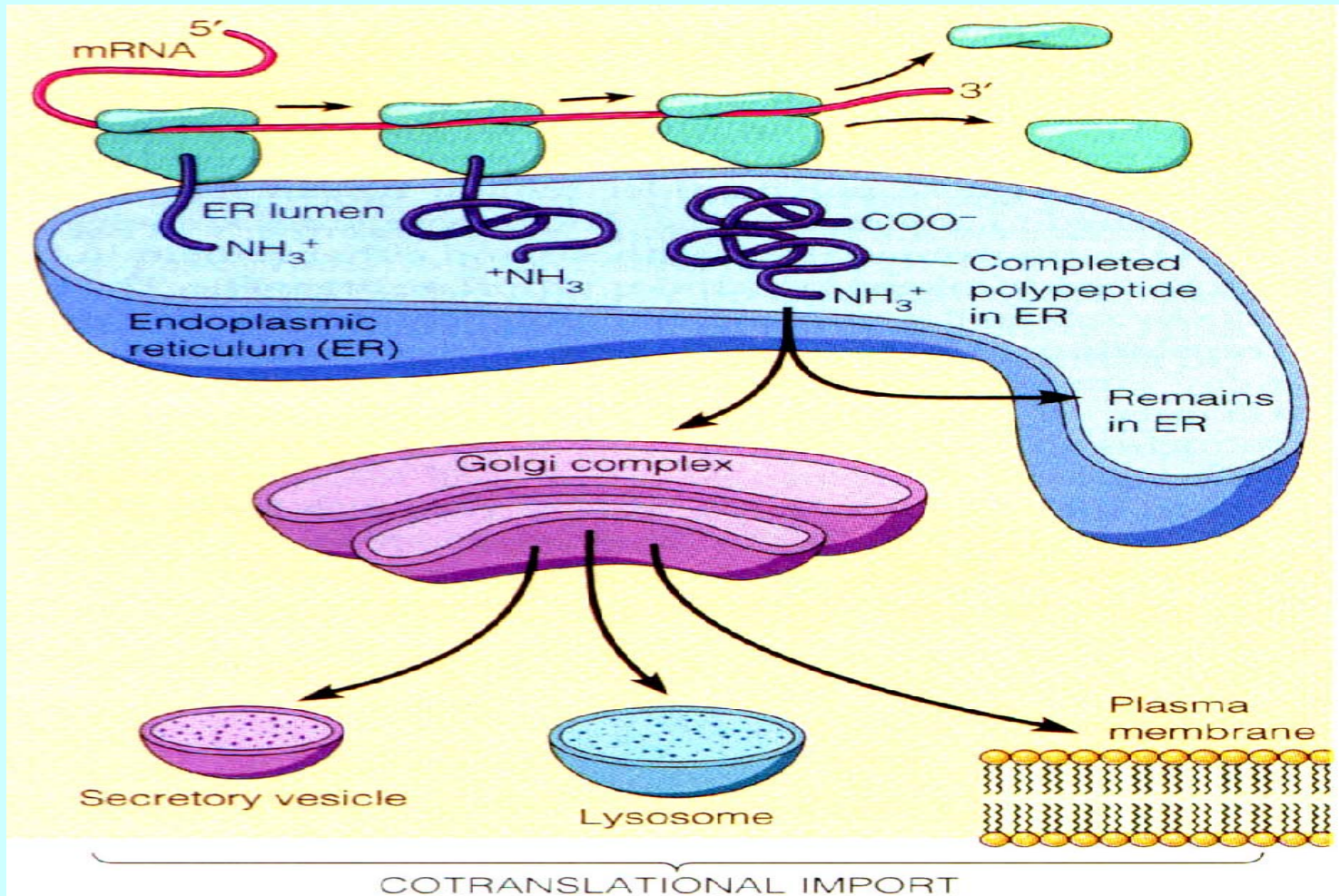
◆ 蛋白质的合成

粗面内质网上, 膜结合核糖体, 合成分泌蛋白、膜蛋白、细胞器中可溶性驻留蛋白。

其它部位所需蛋白质都是由游离核糖体合成。

注意: 细胞中蛋白质都是在核糖体上合成的, 并都是起始于细胞质基质中。

◆ 信号肽与蛋白质运输





◆ 蛋白质的修饰和加工

修饰：糖基化、羟基化、酰基化、二硫键形成等

◆糖基化：发生在ER腔面，是在糖基转移酶作用下。

N-linked glycosylation (Asn)

**O-linked glycosylation (Ser/Thr or
Hylys/Hypro)**

◆酰基化发生在ER的细胞质基质侧：软脂酸→Cys



◆ 蛋白质的修饰和加工

新生肽的折叠与组装：

非还原性的内腔，易于二硫键形成；

◆ 正确折叠涉及驻留蛋白：二硫键异构酶（**protein disulfide isomerase, PDI**）切断二硫键，帮助新合成的蛋白重新形成二硫键并处于正确折叠的状态

◆ 结合蛋白（**Binding protein , Bip , chaperone**）识别错误折叠的蛋白或未装配好的蛋白亚单位，并促进重新折叠与装配。



◆ 脂质的合成（光面内质网）

◆ **ER**合成细胞所需绝大多数膜脂（包括磷脂和胆固醇）

◆ 磷脂合成酶是**ER**膜整合蛋白，活性位点朝向**cytosol**；合成后很快转向内质网腔面 (转位酶**flippase**)

◆ 磷脂的转运:

出芽(**budding**): **ER**→GC、Ly、PM

载体蛋白磷脂转换酶(**phospholipid exchange proteins, PEP**)：磷脂分子+**PEP**→细胞质基质→靶膜



◆其它功能

➔糖原分解与游离葡萄糖释放

➔解毒作用:光面内质网含有丰富的氧化酶系统(如细胞色素P₄₅₀、NADH细胞色素C还原酶等)能使许多有害物质解毒,转化为易于排出的物质。

➔Ca²⁺离子浓度的调节作用:
Ca²⁺储存库,参与信号传导



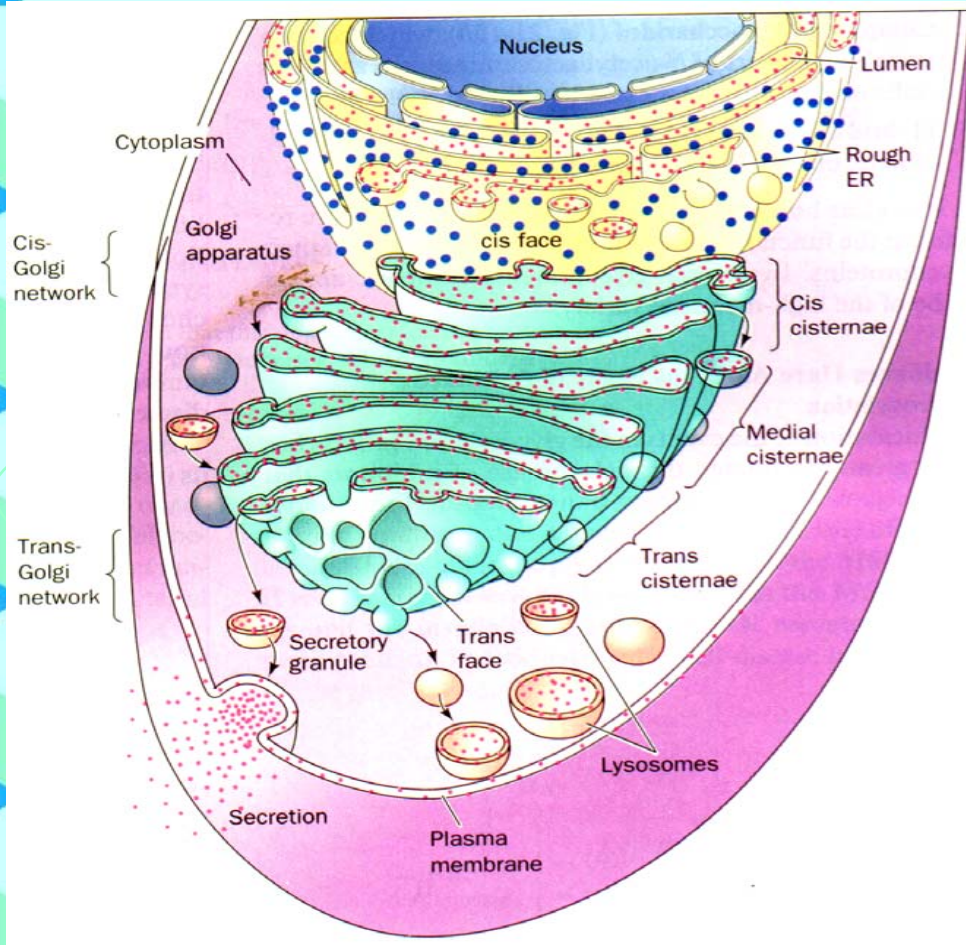
◆ 内质网与基因表达的调控

内质网蛋白质的合成、加工、折叠、组装、转运及向高尔基体转运的复杂过程显然是需要有一个精确调控的过程。

影响内质网→细胞核信号转导的三种因素：

- ◆ 内质网腔内未折叠蛋白的超量积累。
- ◆ 折叠好的膜蛋白的超量积累。
- ◆ 内质网膜上膜脂成份的变化——主要是固醇缺乏不同的信号转导途径，最终调节细胞核内特异基因表达

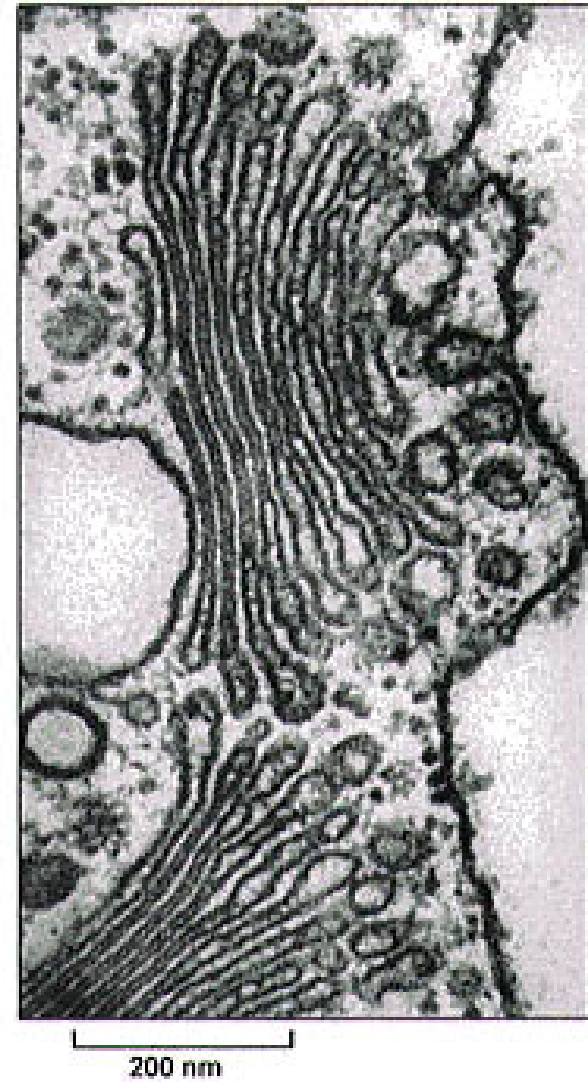
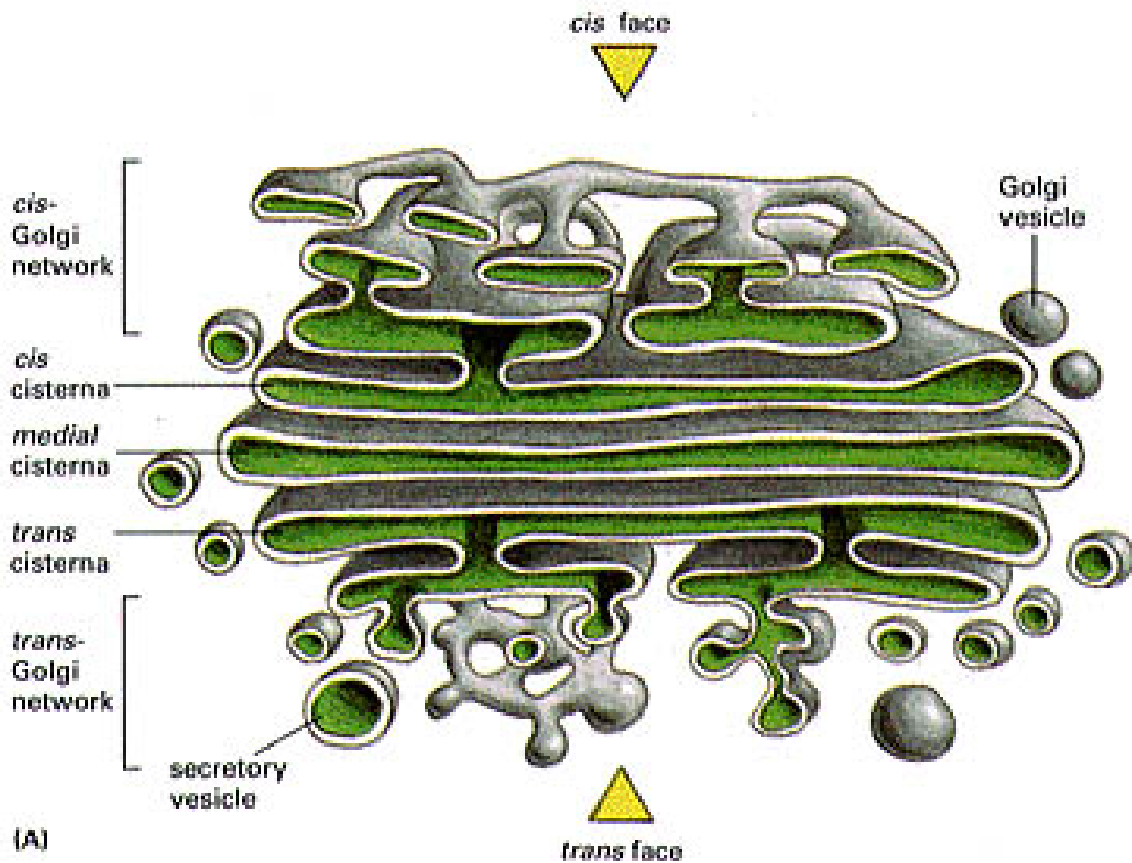
§ 6.3 高尔基复合体



◆ 高尔基器 (Golgi apparatus)或高尔基复合体 (Golgi complex)

◆ 意大利科学家 Camillo Golgi 在 1898年发现的。

高尔基体的形态结构



➔ 高尔基体的结构和极性

形态结构：

连续的整体膜结构。

- ◆ 扁平囊泡 (sacuules)
- ◆ 小囊泡 (vesicle)
- ◆ 大囊泡 (vacuoles)

高尔基体的极性：

化学组成：

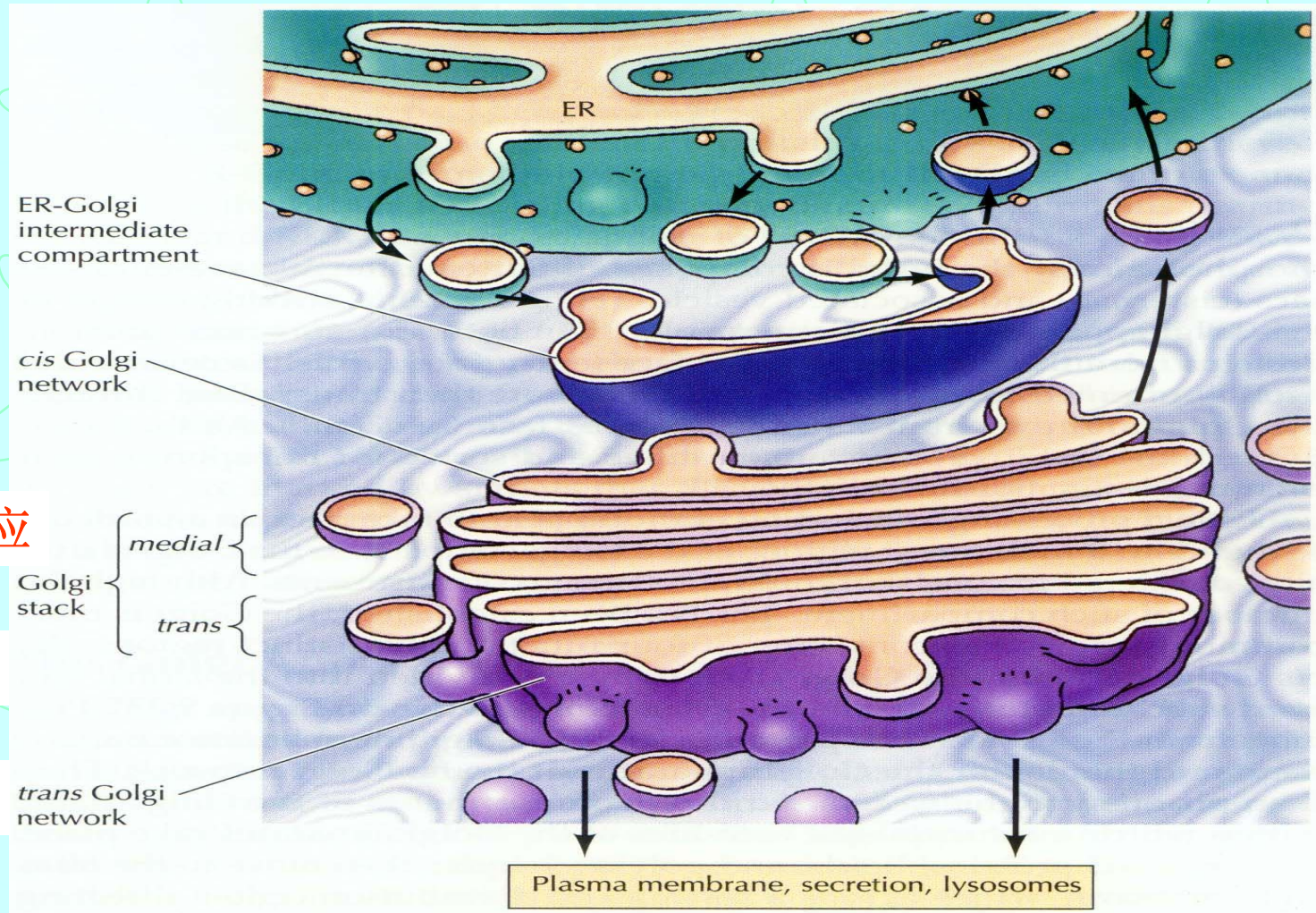
- ◆ 高尔基内侧网络
(*cis*-Golgi network, CGN)
顺面、形成面, 面向核
- ◆ 中间膜囊 (*medial cisternae*)
- ◆ 高尔基外侧网络
(*trans* Golgi network, TGN)
外侧面、成熟面

- ◆ 蛋白质和脂：
- ◆ 高尔基复合体的标志酶是糖基转移酶。

4 种标志细胞化学反应

- ◆ 嗜钼反应的高尔基体cis面膜囊；
- ◆ 焦磷酸硫胺素酶（TPP酶）细胞化学反应，显示trans面1~2层膜囊；
- ◆ 胞嘧啶单核苷酸酶（CMP酶）细胞化学反应，显示靠近trans面膜囊状和管状结构
- ◆ 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸酶（NADP酶）的细胞化学反应，显示中间扁平囊

Regions of the Golgi apparatus



嗜铁反应

NADP酶反应

TTP酶反应

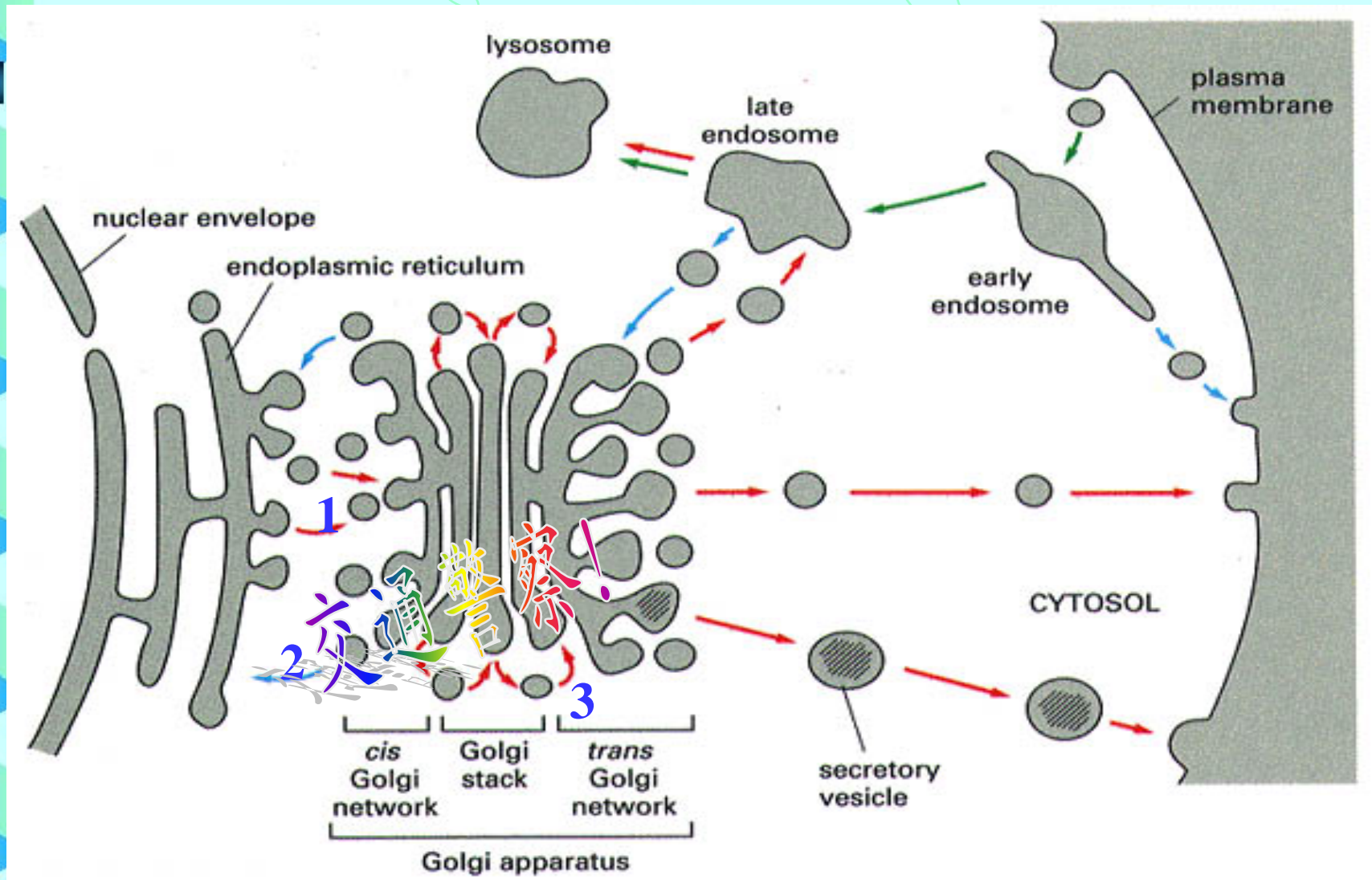
CMP酶反应



➔ 高尔基体的功能

- 蛋白质运输
- 蛋白质的糖基化
- 蛋白质的水解

高尔基体的蛋白运输作用





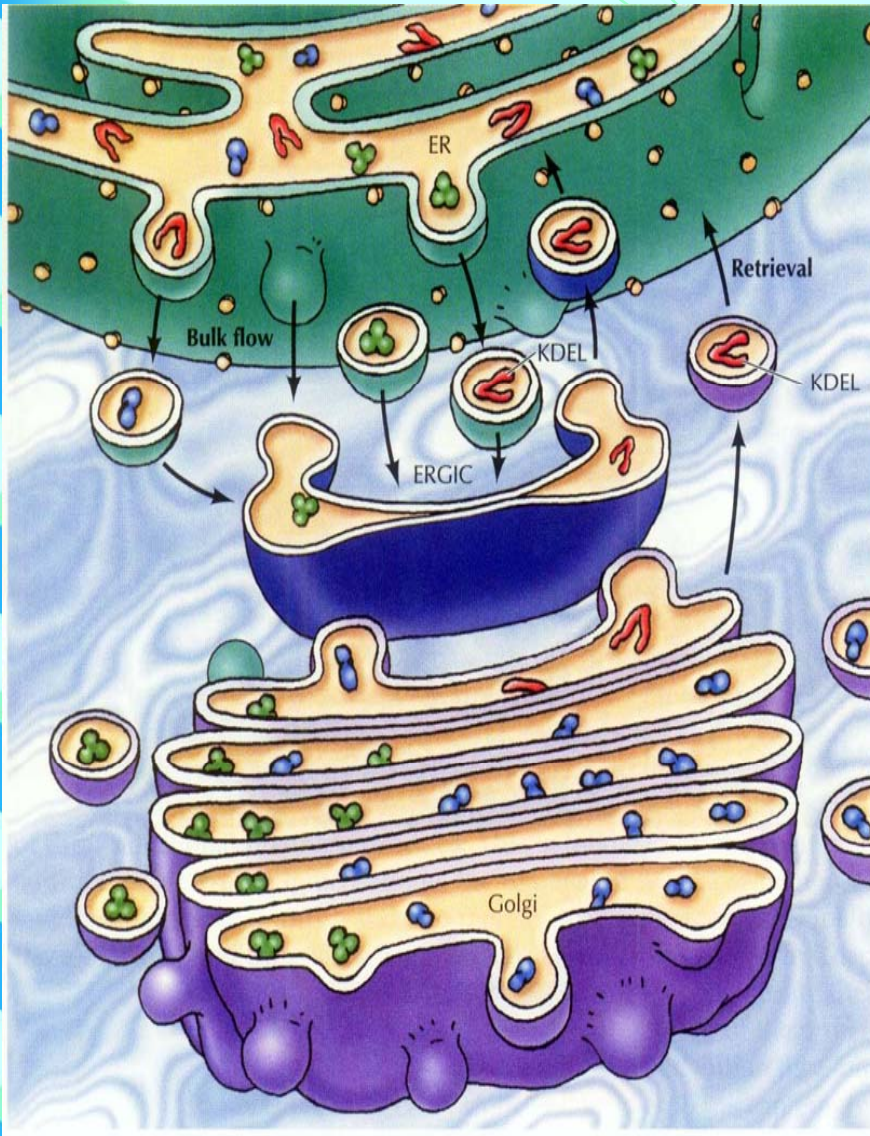
➔ 蛋白质运输

- ◆ ER到高尔基体内侧的运输

- ◆ ER蛋白的逆向运输

- ◆ 高尔基体内侧到高尔基体外侧运输以及向溶酶体和细胞膜的运输

ER驻留蛋白的运输



驻留机制

● 内质网驻留信号 (ER retention signal) :

Lys-Asp-Glu-Leu-COO-,
即KDEL信号序列

● KDEL信号受体

▲ 高尔基体膜: 有识别该信号的受体, 形成小泡, 将逃逸的蛋白送回

▲ 内质网膜: 有识别该信号的受体, 接收逃逸的蛋白

➔ GC中蛋白质的糖基化

◆ *O*-连接的糖基化

将糖链转移到多肽链的丝氨酸、苏氨酸或羟赖氨酸的羟基上，称为*O*-连接的糖基化。

◆ *N*-连接的寡聚糖进一步加工：

内质网上：磷酸多萜醇上的糖基转移到多肽的天冬酰胺（Asn）上

高尔基体：加工，切除葡萄糖和部分甘露糖分子，添加特定的单糖，形成成熟的糖蛋白

蛋白质的糖基化生物学意义

- ◆ 糖基化的主要作用是蛋白质在成熟过程中折叠成正确构象和增加蛋白质的稳定性；多羟基糖侧链影响蛋白质的水溶性及蛋白质所带电荷的性质。对多数分选的蛋白质来说，糖基化并非作为蛋白质的分选信号。
- ◆ 进化上的意义：寡糖链具有一定的刚性，从而限制了其它大分子接近细胞表面的膜蛋白，这就可能使真核细胞的祖先具有一个保护性的外被，同时又不象细胞壁那样限制细胞的形状与运动。

➔ 蛋白质在高尔基体中酶解加工类型

- ◆ 无生物活性的蛋白原（proprotein）➔高尔基体➔切除N-端或两端的序列➔成熟的多肽。如胰岛素、胰高血糖素及血清白蛋白等。
- ◆ 蛋白质前体➔高尔基体➔水解➔同种有活性的多肽，如神经肽等。
- ◆ 含有不同信号序列的蛋白质前体➔高尔基体➔加工成不同的产物。
- ◆ 同一种蛋白质前体➔不同细胞、以不同的方式加工➔不同的多肽。

§ 6.3 溶酶体 (lysosome)

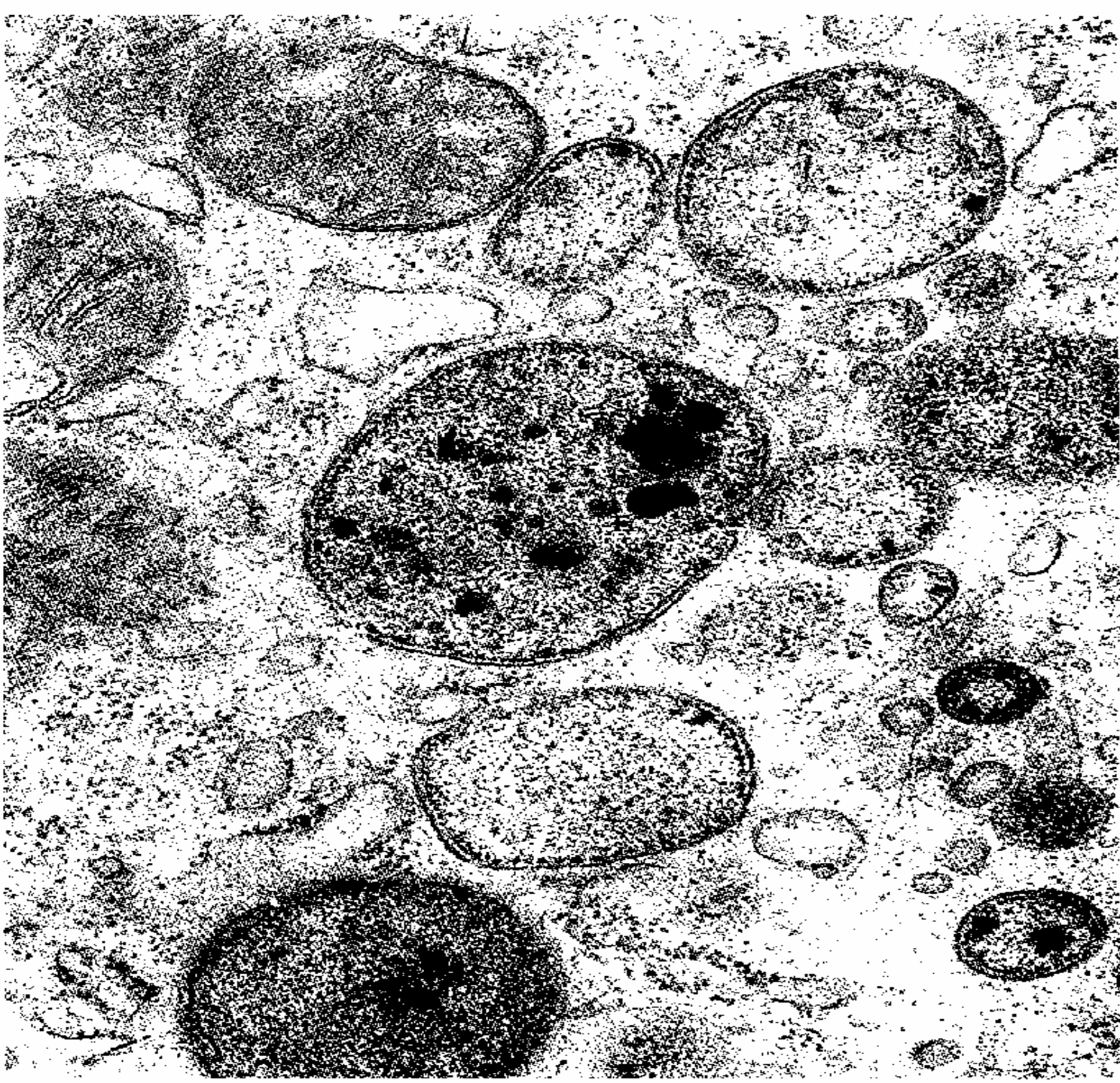
➔ 溶酶体的发现

- ◆ 动物细胞内的一种细胞器。 植物细胞中?
- ◆ 小球状, 外面由一层单位膜包被
- ◆ 是一种异质性 (heterogenous) 的细胞器, 呈小球状。大小变化很大, 直径一般 $0.25 \sim 0.8 \mu\text{m}$, 最大的可超过 $1 \mu\text{m}$, 最小的直径只有 $25\text{--}50\text{nm}$
- ◆ 溶酶体含有50多种水解酶类, 在细胞内起消化和保护作用
- ◆ 当细胞被损伤时, 溶酶体可释放出水解酶类, 使细胞自溶

电子显微镜下的溶酶体

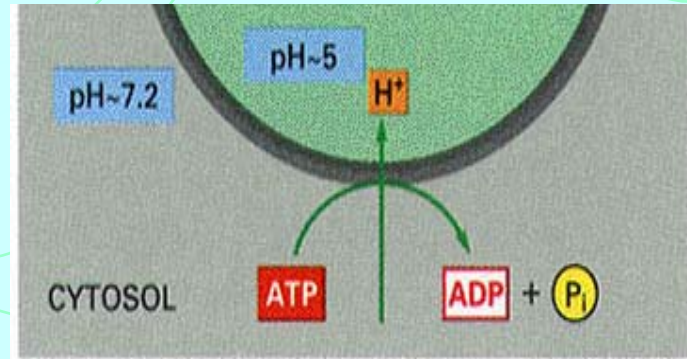
33

31



➔ 溶酶体膜稳定性

- ◆ 溶酶体的膜上嵌有质子泵
- ◆ 溶酶体的膜上具有多种载体蛋白用于水解产物向外转运
- ◆ 溶酶体的膜蛋白高度糖基化
- ◆ 溶酶体的膜含有能促进膜稳定性的胆固醇



➔ 溶酶体的酶类

- ◆ 种类:
 - A typical lysosome contains approximately 50 different hydrolytic enzymes
 - The enzymes of a lysosome all have their optimal activity at an acid pH and thus are acid hydrolases (酸性水解酶), which is approximately 4.6
- ◆ 少量的溶酶体酶泄漏到细胞质基质中并不会引起细胞损伤 ?
- ◆ 酸性磷酸酶是溶酶体的标志酶

0.05–0.5 μm

ACID HYDROLASES

- nucleases 核酸酶
- proteases 蛋白酶
- glycosidases 糖苷酶
- lipases 酯酶
- phosphatases 磷酸酶
- sulfatases 硫酸酶
- phospholipases 磷脂酶

pH~7.2

pH~5

H⁺

ATP

ADP

+

P_i

CYTOSOL

溶酶体及其酶类

➔溶酶体的类型

- ◆初级溶酶体(primary lysosome)
- ◆次级溶酶体(secondary lysosome)
 - ▲自噬性溶酶体(aotolysosome)
 - ▲异噬性溶酶体(heterolysosome)
 - ▲混合性溶酶体(ambilyosome)
- 具消化作用
- ◆后溶酶体(post lysosome)

➡ 溶酶体的功能

➡ 吞噬作用(Phagocytosis): 外来物质、衰老、死亡的细胞

➡ 自噬作用(Autophagy): 细胞内受损、衰老的细胞器、不需要的生物大分子-

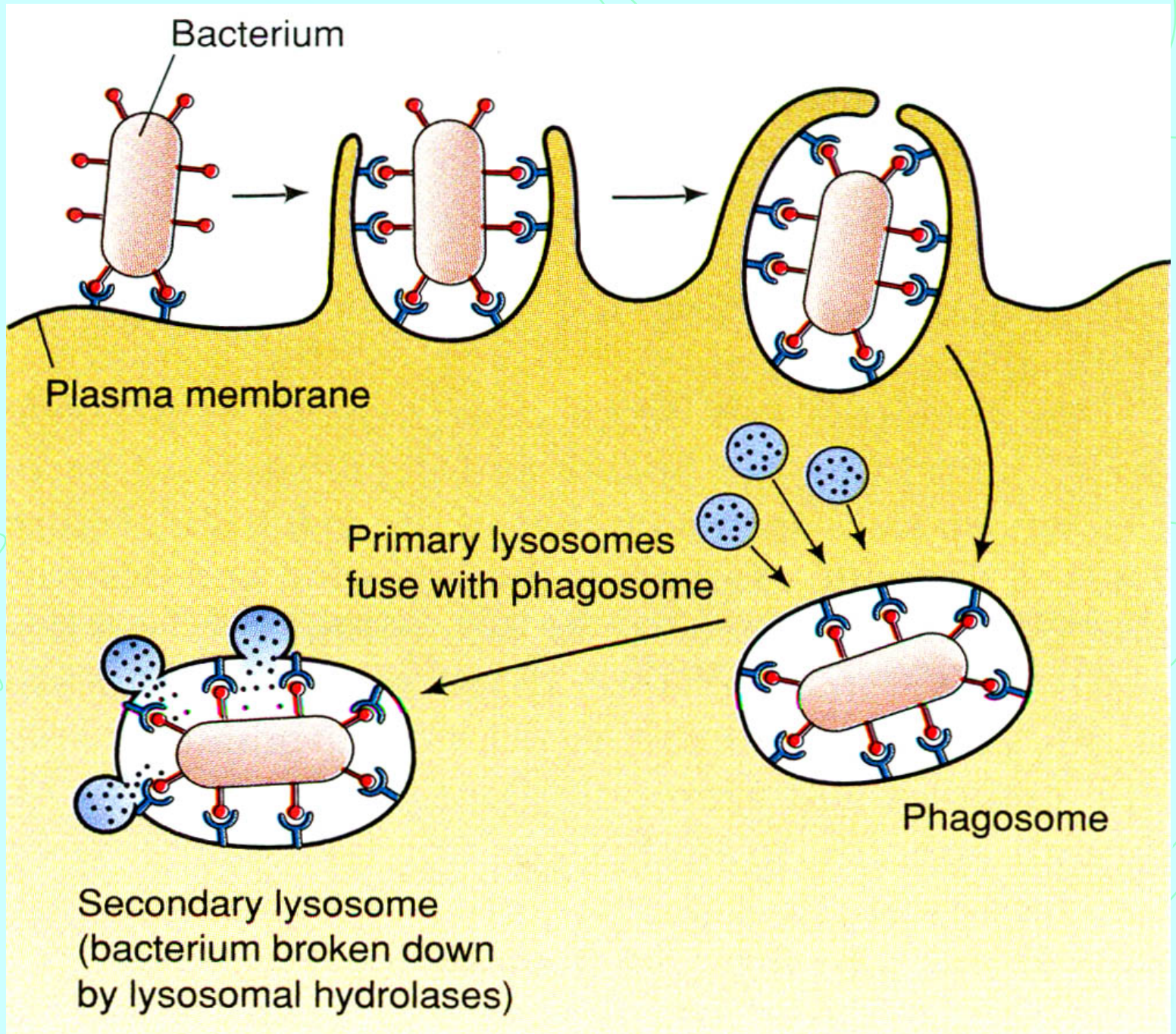
➡ 自溶作用(Autolysis): 细胞的自我毁灭

➡ 其它的生理功能

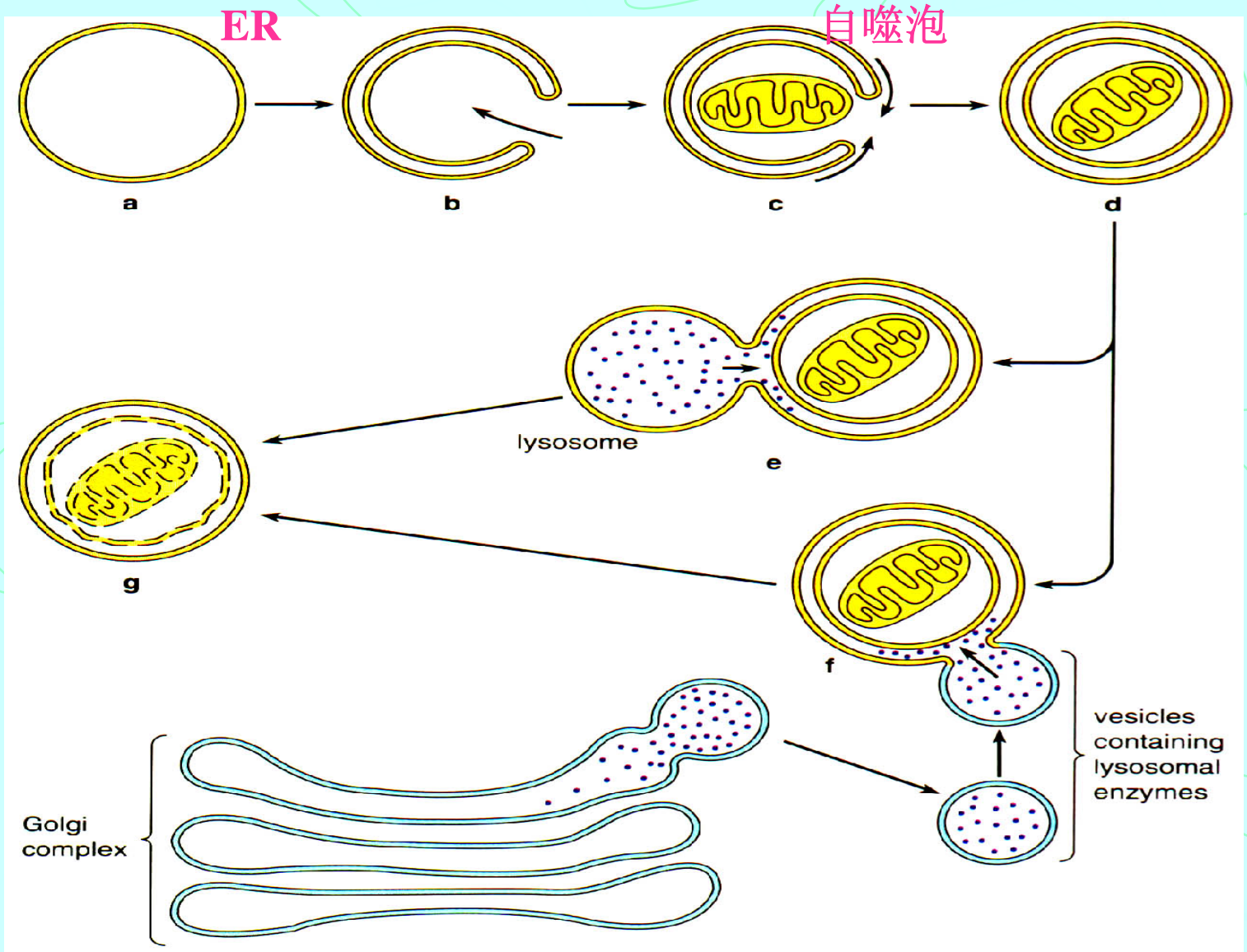
◆ 胚胎发育和形态建成

◆ 受精作用 (fertilization)

异体吞噬



围歼线粒体





➔ 溶酶体的生物发生

◆ 甘露糖-6-磷酸途径 (M6P)

◆ 非甘露糖-6-磷酸途径:

溶酶体的生物发生

溶酶体酶的合成及N-连接的糖基化修饰（RER）

高尔基体cis膜囊寡糖链上的甘露糖残基磷酸化

N-乙酰葡萄糖胺磷酸转移酶

磷酸葡萄糖苷酶

M6P

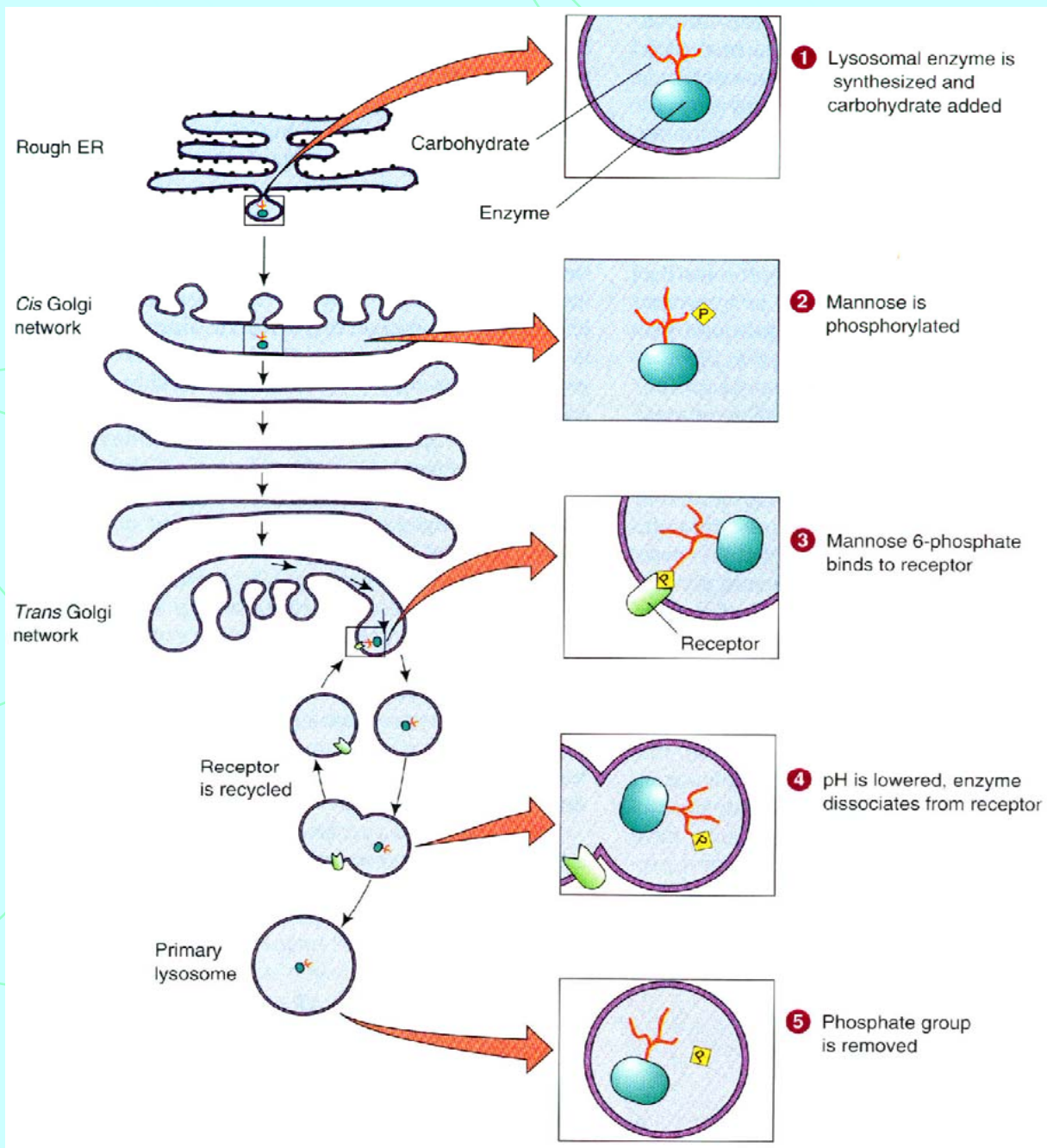
磷酸化识别信号：信号斑

高尔基体trans-膜囊和TGN膜（M6P受体）

溶酶体酶分选与局部浓缩

以出芽的方式转运到前溶酶体

溶酶体酶的加工



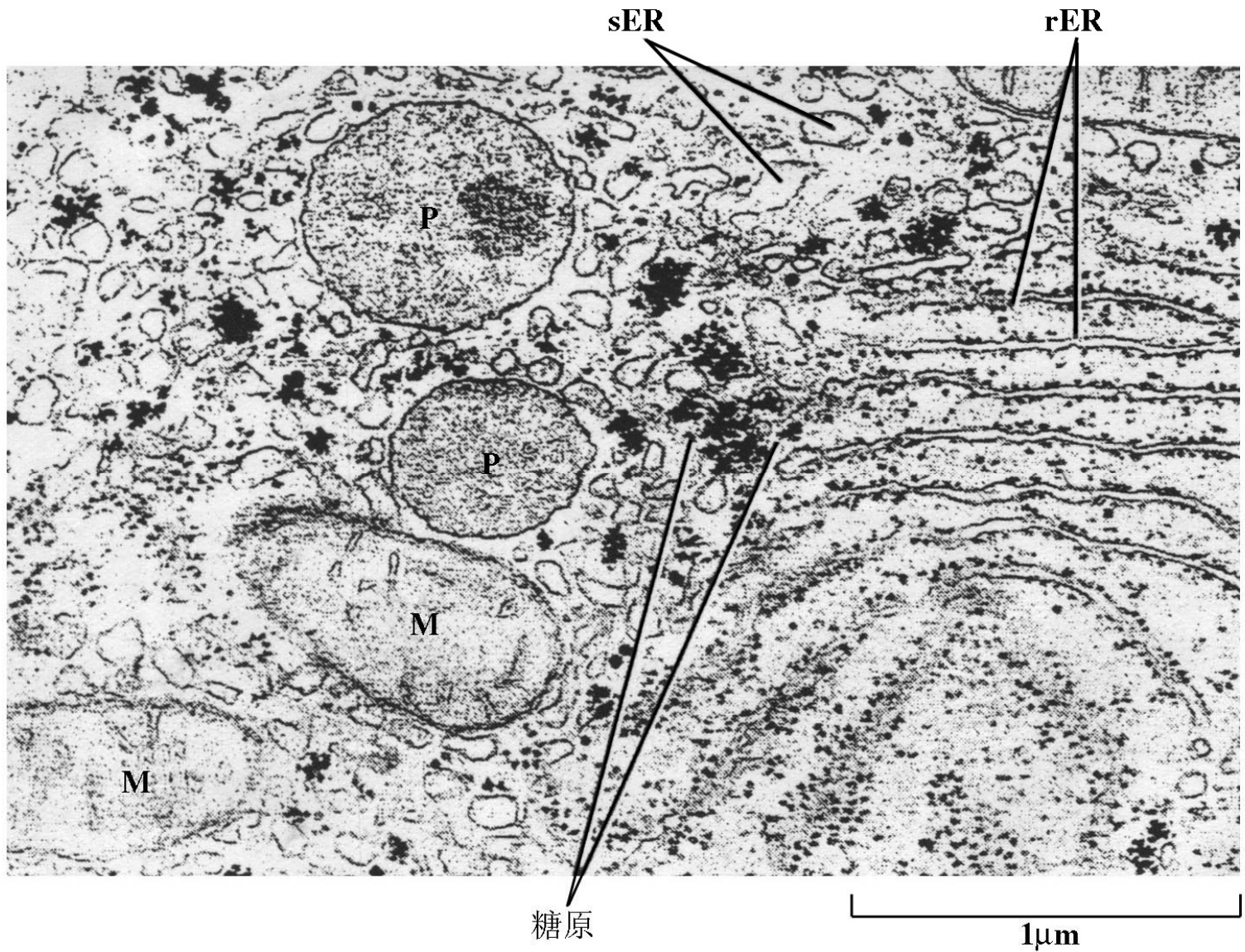
➔ 溶酶体酶的特征

- ◆ 溶酶体的酶上都有一个特殊的标记：6-磷酸甘露糖 (mannose 6-phosphate, M6P)。
- ◆ 高尔基体外侧网络通过对M6P的识别将溶酶体的酶分选出来。
- ◆ 这一标记是溶酶体在粗面内质网合成后通过糖基化和磷酸化添加上去的。

➡ 过氧化氢体

过氧化物酶体(peroxisom)又称微体

(microbody)，是由单层膜围绕的内含一种或几种氧化酶类的异质性细胞器。



鼠肝细胞超薄切片所显示的过氧化物酶体 (P) 和其它细胞器如线粒体 (M) 等

(Albert et al., 1989)

过氧化物酶体与溶酶体的区别

- ◆过氧化物酶体和初级溶酶体的形态与大小类似，但过氧化物酶体中的尿酸氧化酶等常形成晶格状结构，可作为电镜下识别的主要特征。
- ◆通过离心可分离过氧化物酶体和溶酶体
- ◆过氧化物酶体和溶酶体的差别

微体与初级溶酶体的特征比较.

特征	溶酶体	微体
形态大小	多呈球形，直径 $0.2 \sim 0.5 \mu\text{m}$ ，无酶晶体	球形，哺乳动物细胞中直径多在 $0.15 \sim 0.25 \mu\text{m}$ ，内常有酶的晶体
酶种类	酸性水解酶	含有氧化酶类
pH值	5左右	7左右
是否需要	不需要	需要
功能	细胞内的消化作用	多种功能
发生	酶在粗面内质网合成经高尔基体出芽形成	酶在细胞质基质中合成，经分裂与组装形成
识别的标志酶	酸性水解酶等	过氧化氢酶

过氧化物酶体的功能

- ◆ 动物细胞（肝细胞或肾细胞）中过氧化物酶体可氧化分解血液中的有毒成分，起到解毒作用。

过氧化物酶体中常含有两种酶：

依赖于黄素（FAD）的氧化酶，其作用是将底物氧化形成 H_2O_2 ；
过氧化氢酶，作用是将 H_2O_2 分解，形成水和氧气。

- ◆ 过氧化物酶体分解脂肪酸等高能分子向细胞直接提供热能。
- ◆ 在植物细胞中过氧化物酶体的功能：

- ◇ 在绿色植物叶肉细胞中，它催化 CO_2 固定反应副产物的氧化，即所谓光呼吸反应；
- ◇ 乙醛酸循环的反应，在种子萌发过程中，过氧化物酶体降解储存的脂肪酸→乙酰辅酶A→琥珀酸→葡萄糖。



§ 6.5 细胞内蛋白质的分选 与细胞结构的组装

Because of the complex internal organization of eukaryotic cells, the sorting and targeting of proteins to their appropriate destinations are considerable tasks.

蛋白质的定向运输、分选

Protein Sorting and Export from the Golgi Apparatus

◆分选的概念

●广义

●狭义:

▲内膜系统中的蛋白质分选作用

▲高尔基体外侧网络的分选作用

◆分选作用主要是由信号序列和受体之间的相互作用决定的

➡ 早期信号假说 (signal hypothesis)

1975年, Blobel等正式提出了信号假说

目前普遍承认：

◆指导分泌性蛋白在粗面内质网上合成, 需要其它因子的协助:

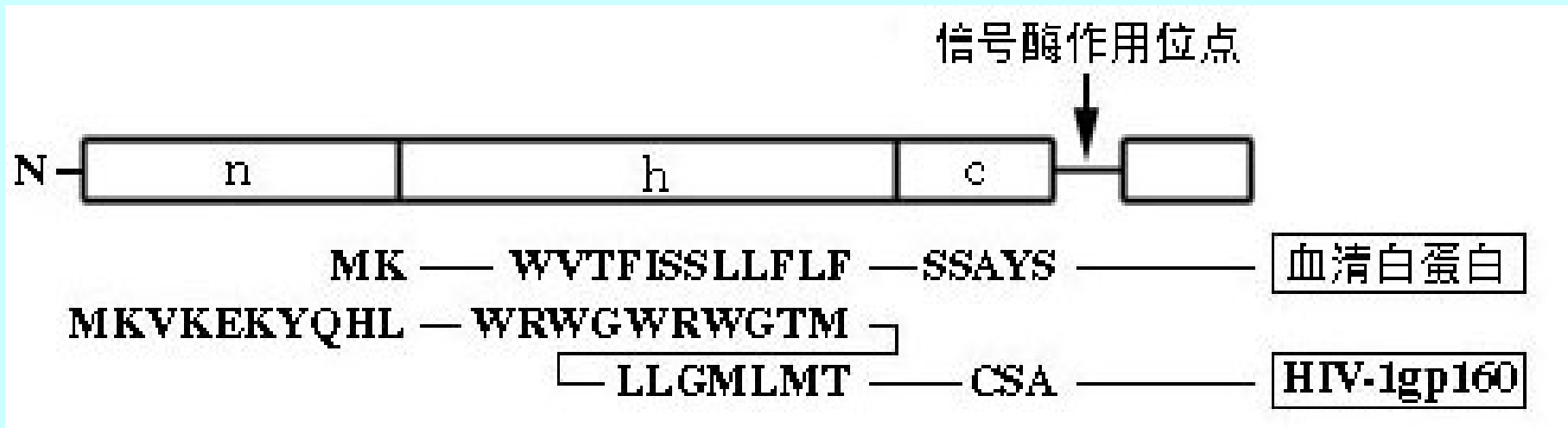
●信号识别颗粒 (signal recognition particle, SRP)

●信号识别颗粒的受体 (又称停泊蛋白, docking protein, DP) 等

●过程: 信号肽→信号识别颗粒→信号识别颗粒的受体→合成

➔ 信号肽的特性

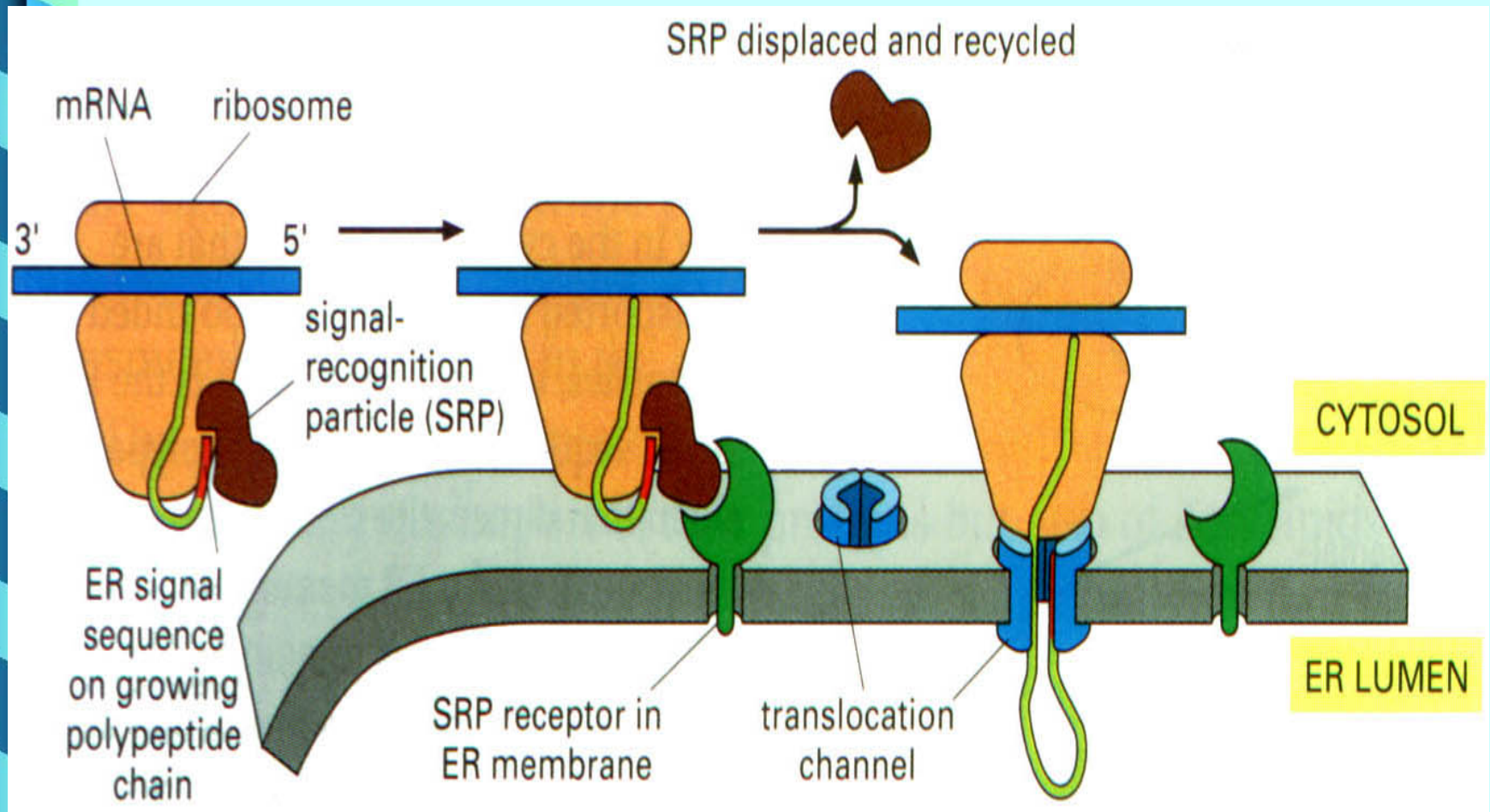
- ◆ 指导分泌性蛋白在粗面内质网上合成
- ◆ 在蛋白质上的位置：
N-端突出的一段肽
- ◆ 序列特征
16-26个（15-35个）氨基酸残基，其中含有4-12个疏水残基



信号肽的一级序列.

信号肽一级序列由疏水核心（h）、C端（c）和N端（n）三个区域构成。以血清白蛋白和HIV-1型病毒的糖蛋白gp160信号肽为例，显示出两者的n区长度明显不同。

Signal hypothesis



◆合成后蛋白的去向：

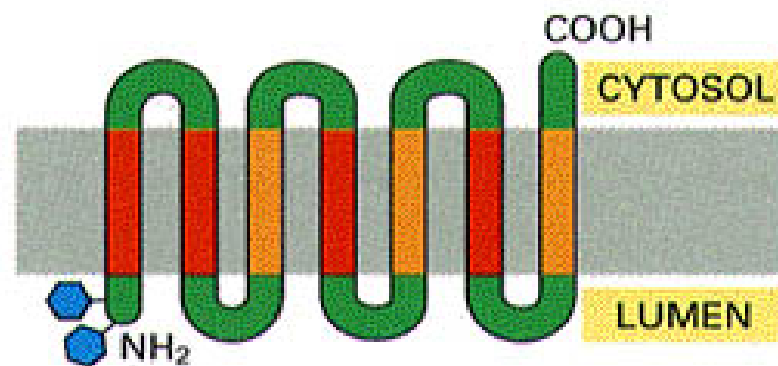
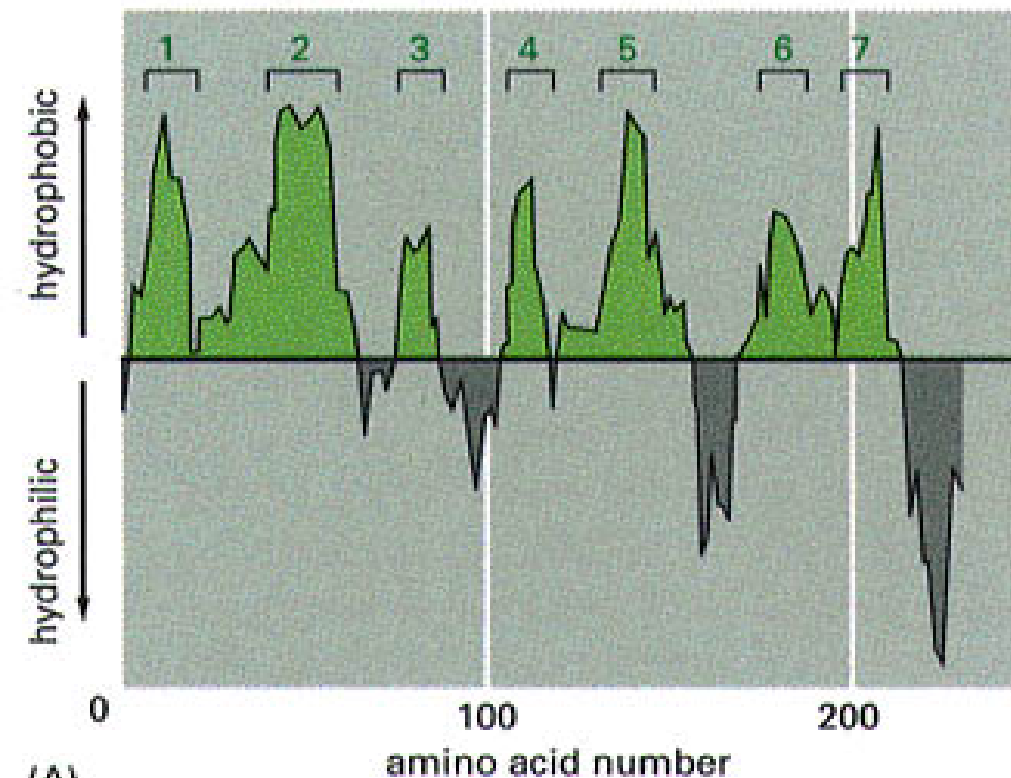
- 若信号肽序列被信号肽酶切除→ 完全进入腔
(共转移)
- 若有停止转移信号，能与内质网膜有极强的亲和力：膜蛋白

共转移：肽链在粗面内质网膜上边合成边转移到内质网腔中

后转移：蛋白质在细胞质基质中合成以后在某种信号指导下再转移到线粒体、叶绿体、过氧化氢体等细胞器中的转移方式。
这类信号序列称**导肽**。

需要ATP使多肽去折叠；需要一些蛋白质（如热休克蛋白Hsp70）帮助其正确地折叠成有功能的蛋白。

多个起始与终止跨膜信号



(A)

(C)

(B)

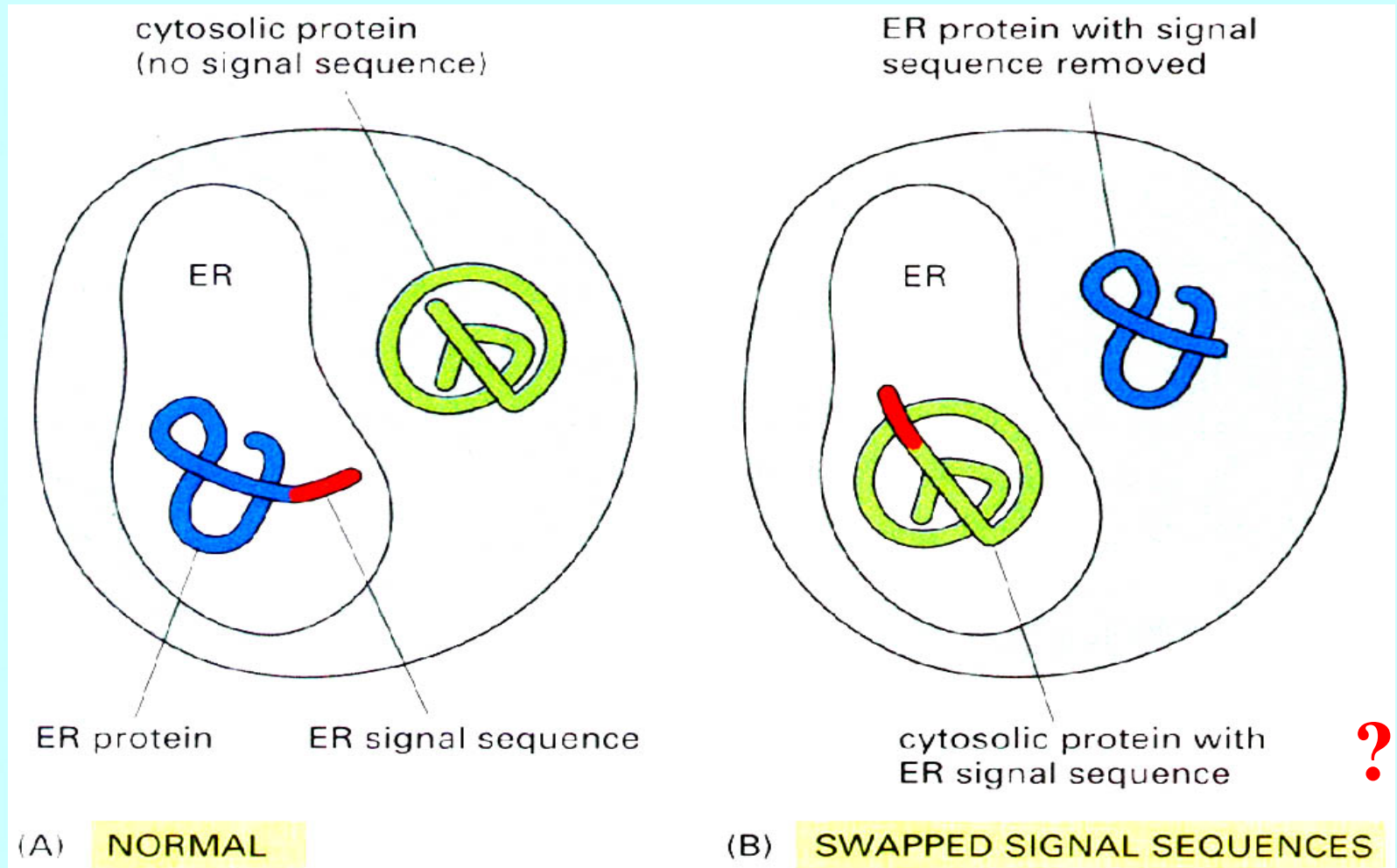
某些类型的信号肽特征

Table 12-3 Some Typical Signal Peptides

Function of Signal Peptide	Example of Signal Peptide
Import into ER	^+H_3N -Met-Met-Ser-Phe-Val-Ser- Leu-Leu-Leu-Val Gly-Ile-Leu-Phe-Trp-Ala -Thr-Glu-Ala-Glu- Gln-Leu-Thr-Lys-Cys-Glu-Val-Phe-Gln-
Retain in lumen of ER	-Lys-Asp-Glu-Leu-COO ⁻
Import into mitochondria	^+H_3N -Met-Leu-Ser-Leu-Arg-Gln-Ser-Ile-Arg-Phe- Phe-Lys-Pro-Ala-Thr-Arg-Thr-Leu-Cys-Ser- Ser-Arg-Tyr-Leu-Leu-
Import into nucleus	-Pro-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val-
Import into peroxisomes	-Ser-Lys-Leu-
Attach to membranes via the covalent linkage of a myristic acid to the amino terminus	1H_3N -Gly-Ser-Ser-Lys-Ser-Lys-Pro-Lys-

Positively charged amino acids are shown in *red* and negatively charged amino acids in *green*. An extended block of hydrophobic amino acids is enclosed in a *yellow* box. H_3N^+ indicates the amino terminus of a protein; COO^- indicates the carboxyl terminus.

信号序列 在蛋白质定位中的作用





➔ 信号序列的种类

◆ 与生俱来的三种信号序列

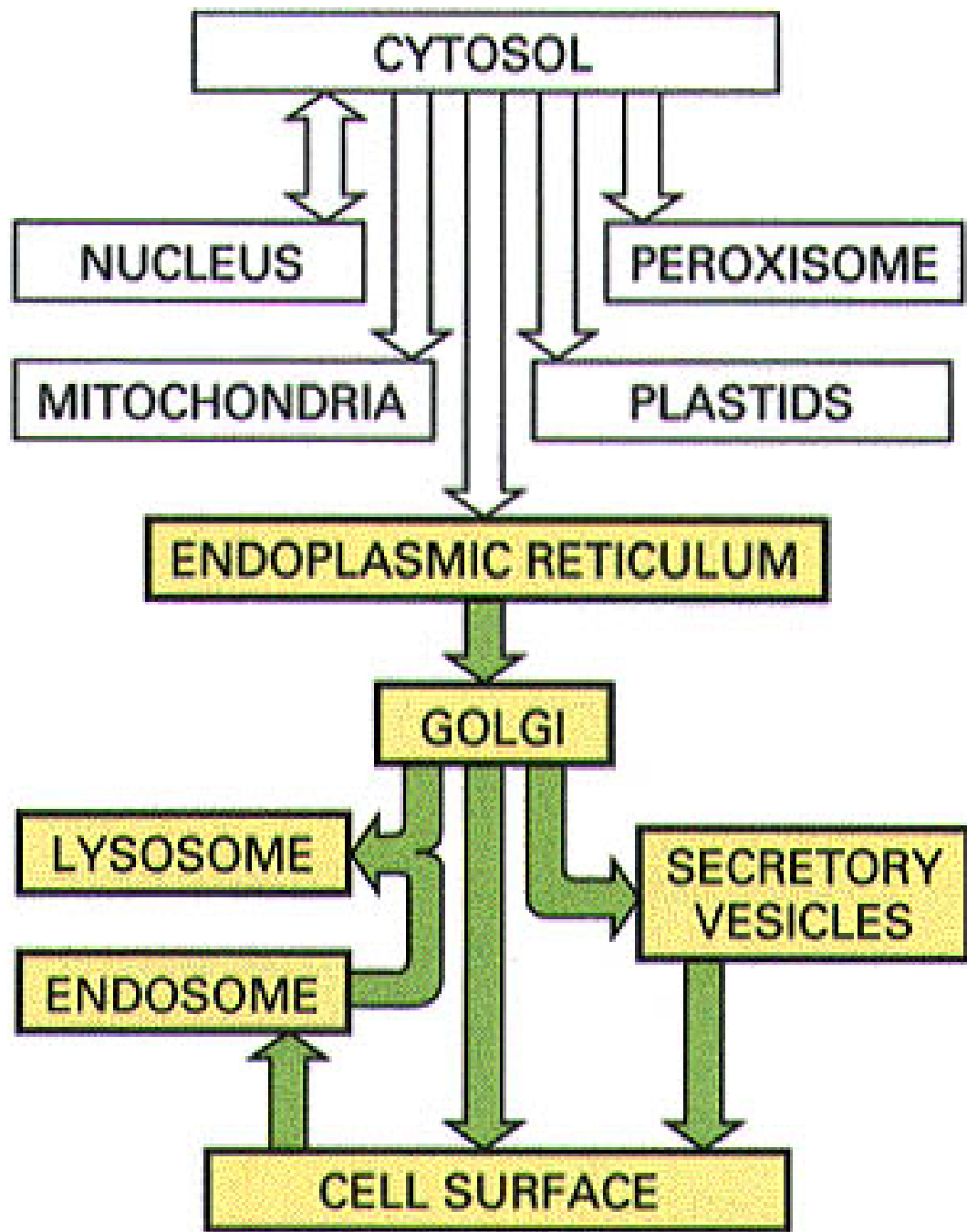
- 寿命信号
- 加工信号
- 定位信号

▲ 核定位信号 (NLS)

▲ 引导肽

▲ 信号肽

细胞内蛋白质的分选途径



➔ 蛋白质分选定位的三种机制

- ◆ 细胞质基质中蛋白质的转运
- ◆ 门控运输 (**gated transport**)
 - 通过核孔的运输 (**Transport through nuclear pore**)
- ◆ 跨膜运输 (**Across membrane transport**)
- ◆ 膜泡运输 (**Vesicle translocation**)



➔ 膜泡运输 (Vesicle translocation)

膜泡运输是蛋白运输的一种特有的方式，普遍存在于真核细胞中。在转运过程中不仅涉及蛋白本身的修饰、加工和组装，还涉及到多种不同膜泡定向运输及其复杂的调控过程。



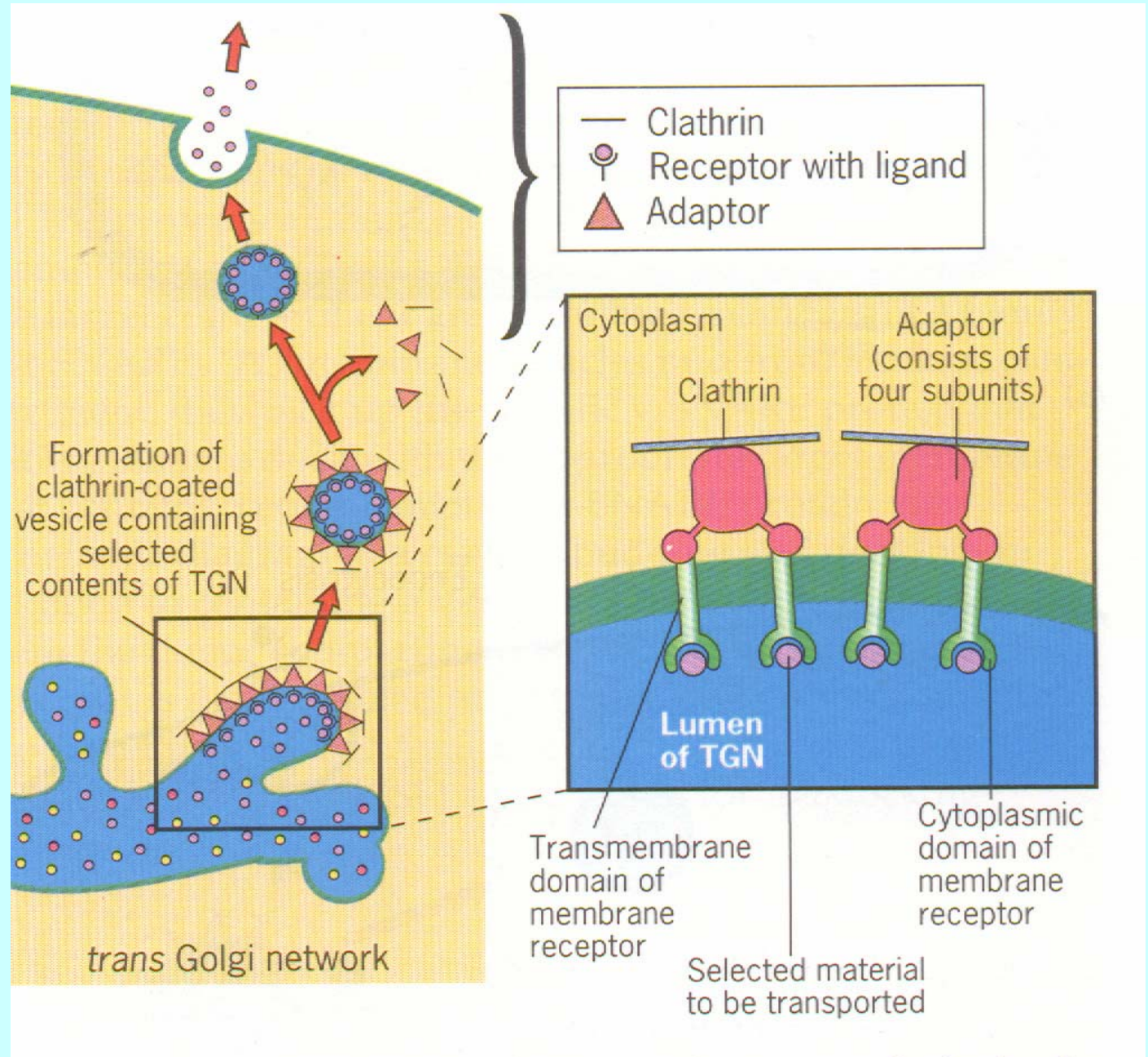
三种不同类型的包被小泡

1. 网格蛋白有被小泡
2. COPII有被小泡
3. COPI有被小泡

1. 网格蛋白有被小泡

- ◆负责蛋白质从高尔基体TGN→质膜、胞内体或溶酶体和植物液泡运输。
- ◆在受体介导的细胞内吞途径中，也负责将物质从质膜→细胞质
- ◆胞内体→溶酶体
- ◆高尔基体TGN是网格蛋白有被小泡形成的发源地

在高尔基体
TGN区网格蛋
白有被小泡的
形成示意图





2. COPII有被小泡

- ◆ 负责从内质网→高尔基体的物质运输；
- ◆ COPII包被由5种蛋白亚基组成；
包被蛋白的装配是受控的；
- ◆ COPII有被小泡具有对转运物质的选择性并使之浓缩。

3. COPI有被小泡

◆ **COPI包被含有8种蛋白亚基，包被蛋白复合物的装配与去装配依赖于ARF；**

◆ **负责回收、转运内质网逃逸蛋白（escaped proteins）↪ 返回内质网。**

细胞器中保留及回收蛋白质的两种机制：

◆ **转运泡将应被保留的驻留蛋白排斥在外，防止出芽转运；**

◆ **通过识别驻留蛋白C-端的回收信号的特异性受体，以COPI-包被小泡的形式捕获逃逸蛋白；**

◆ **驻留蛋白C-端的回收信号：KDEL (Lys-asp-glu-leu).**

◆ **COPI-包被小泡在非选择性的批量运输（bulk flow）中行使功能。**

◆ **COPI-包被小泡除行使Golgi→ER逆行转运外，可能也行使顺行转运从ER→Golgi。**



膜泡运输是特异性过程，涉及多种蛋白识别、组装、去组装的复杂调控

- ◆ 膜泡融合是特异性的选择性融合
- ◆ 选择性融合基础在于供体膜蛋白与受体膜蛋白的特异性相互作用



➔ 细胞结构体系的组装

装配的方式？

装配和去装配的生物学意义？

Protein Sorting

