

第三讲（2）

- 生物膜**vs.**细胞质膜
- 质膜的化学组成。
- 膜脂的运动有多少种？
- 膜蛋白的种类。
- 质膜结构发现的历史过程。
- 生物膜的共同特征。
- 生物膜的基本功能。
- 糖萼的作用。
- 为什么红细胞可以作为研究膜的模式细胞？
- 荧光漂泊恢复技术是什么？
- 膜骨架

第四讲 (1)

- 被动运输包括几种形式？
- 协助扩散与简单扩散的比较。
- 举例说明可动离子载体与通道离子载体。
- 什么是水通道？
- 主动运输的特点以及能量来源。
- 解释 P-type、V-type 、F-type 质子泵。
- 钠钾泵工作原理。
- 什么是ABC转运器？
- 协同运输是什么？有几种形式？
- 膜泡运输指什么？有几种形式？
- 胞饮与吞噬的区别？

第四讲 (2)

- 细胞核的基本形态、数目、结构和功能。
- 核被膜的结构。
- 核纤层的分子基础及功能。
- 核孔复合体。
- NLS vs. NES。
- 核运输过程。
- 了解简要核酸发展史。
- 染色体三个最关键部位：端粒、着丝粒和自主复制区。
- 组蛋白 vs. 非组蛋白
- 异染色质 vs. 常染色质
- Lyon假说。
- 染色体的packing。
- DNA甲基化对基因表达的作用。
- 持续性DNA甲基酶 vs. 从头甲基转移酶



物质的跨膜运输

被动运输

- 简单扩散
- 协助扩散

离子载体 vs 通道蛋白

水通道

主动运输

质子泵

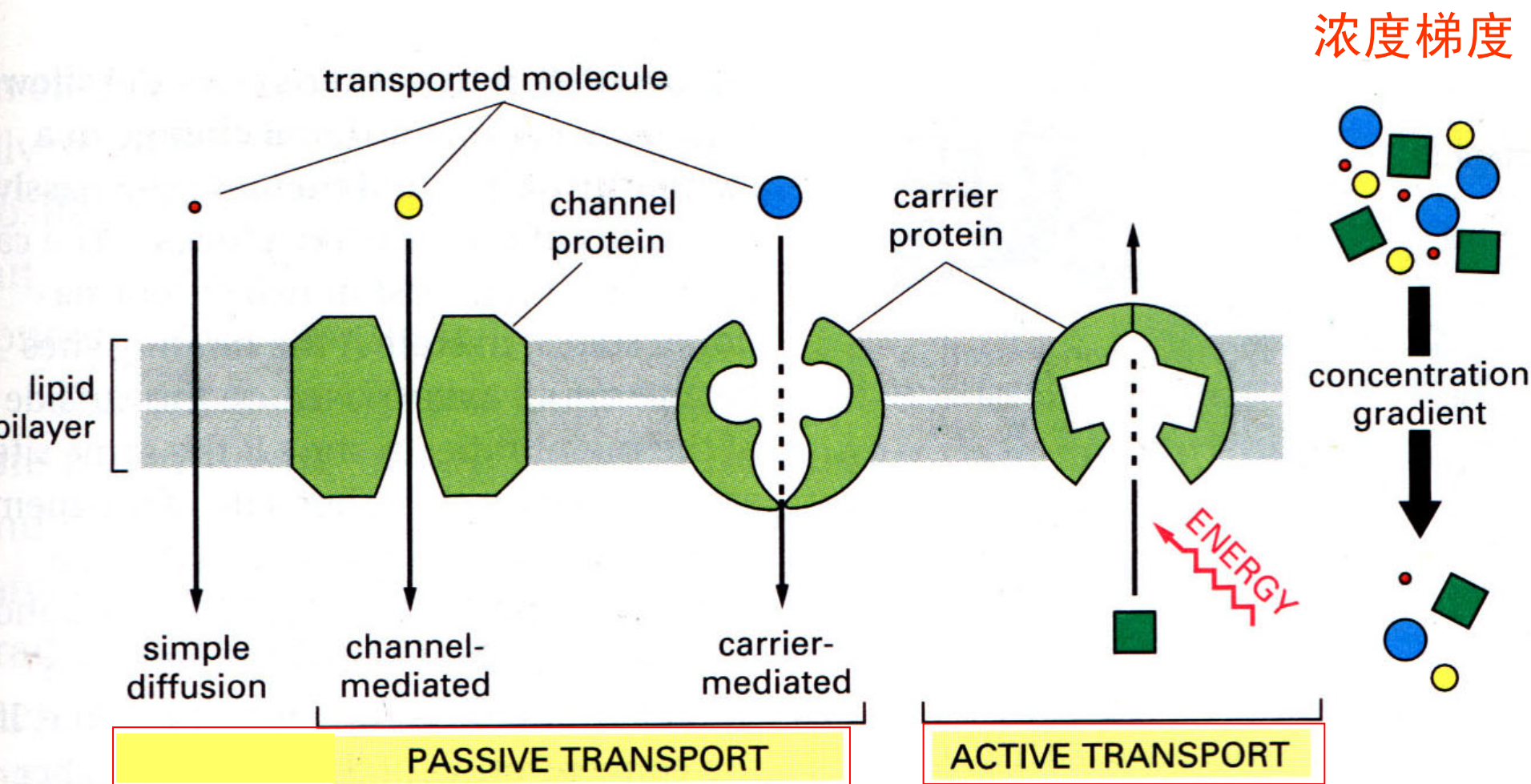
- P-Type, V-Type, F-Type and ABC转运器

协同运输

- 同向协同
- 反向协同

胞吞 vs 胞饮

- 据估计：细胞膜上与物质转运有关的蛋白占核基因编码蛋白的15~30%，细胞用在物质转运方面的能量达细胞总消耗能量的2/3。
- 细胞膜上存在两类主要的转运蛋白，即：载体蛋白（carrier protein）和通道蛋白（channel protein）。



浓度梯度

简单扩散 运输通道 运输载体

协助扩散

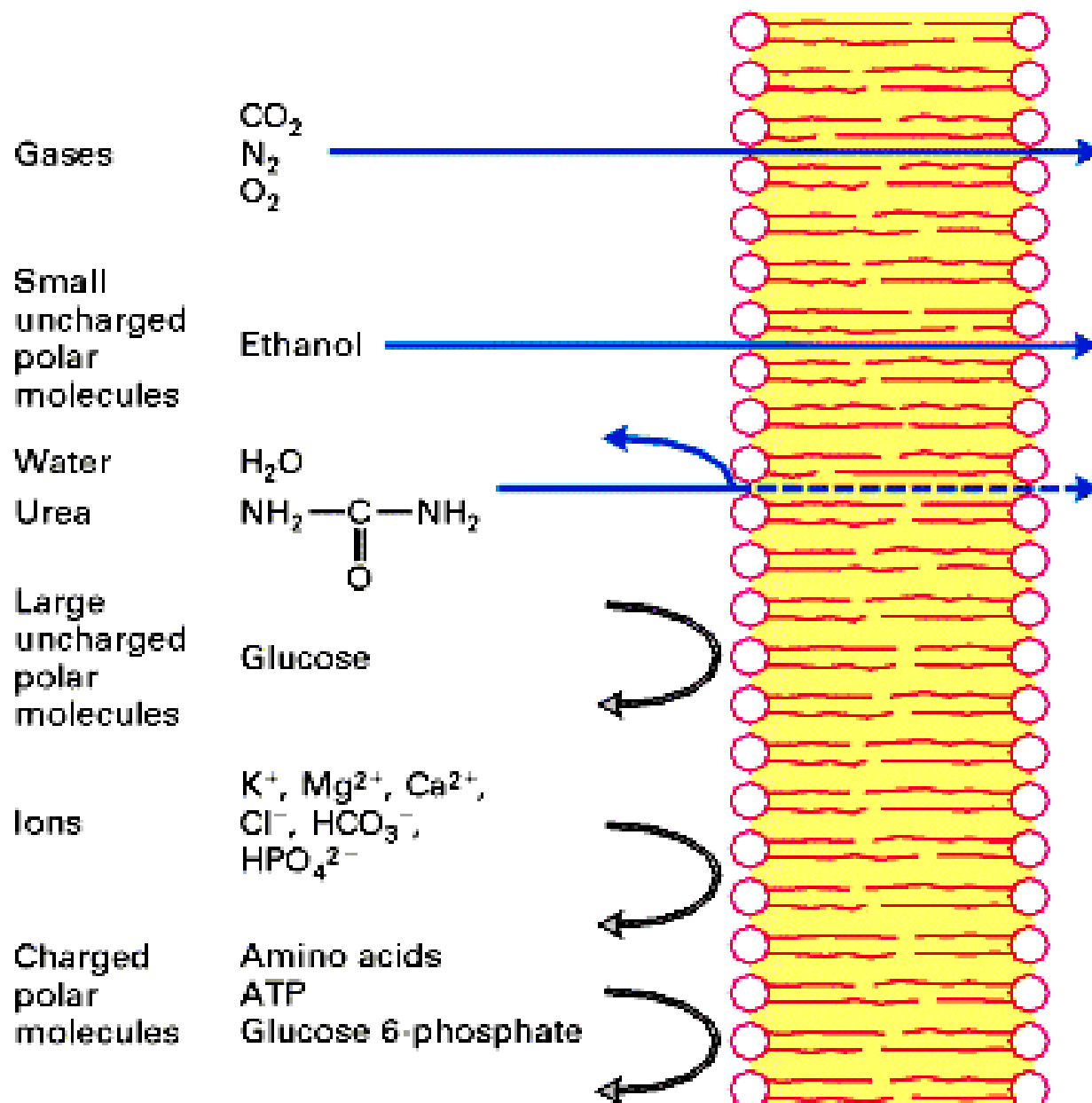
被动运输

简单扩散

- 也叫自由扩散（**free diffusion**）特点：
 - ◆ 沿浓度梯度（或电化学梯度）扩散；
 - ◆ 不需要提供能量；
 - ◆ 没有膜蛋白的协助。
- 某种物质对膜的通透性（**P**）可以根据它在油和水中的分配系数（**K**）及其扩散系数（**D**）来计算：

$$P=KD/t$$

- **t**为膜的厚度。



- 人工膜对各类物质的通透率：
- 脂溶性越高通透性越大，水溶性越高通透性越小；
- 非极性分子比极性容易透过，极性不带电荷小分子，如 H_2O 、 O_2 等可以透过人工脂双层，但速度较慢；
- 小分子比大分子容易透过；分子量略大一点的葡萄糖、蔗糖则很难透过；
- 人工膜对带电荷的物质，如各类离子是高度不通透的。

协助扩散

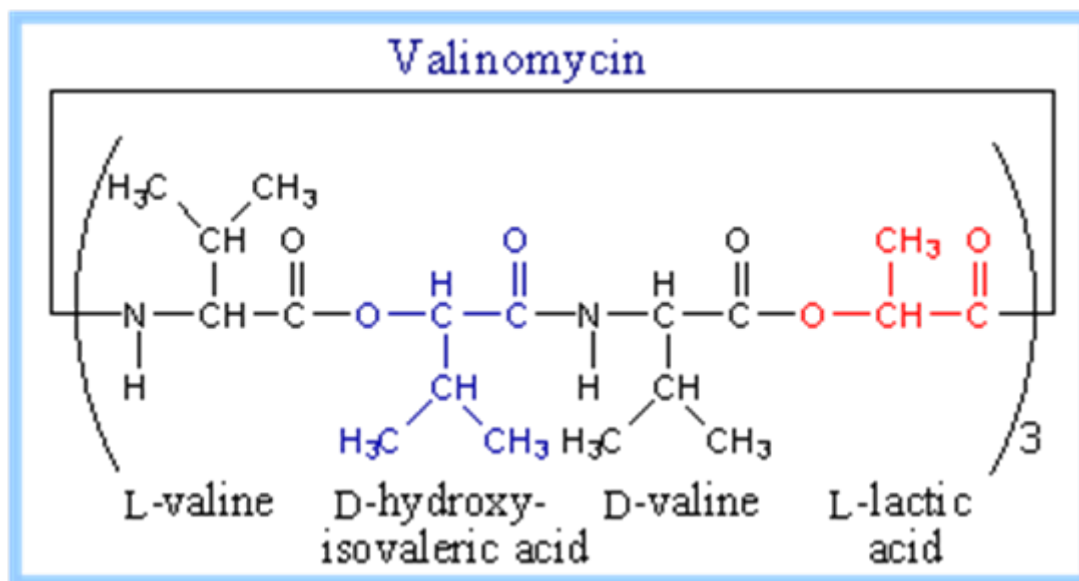
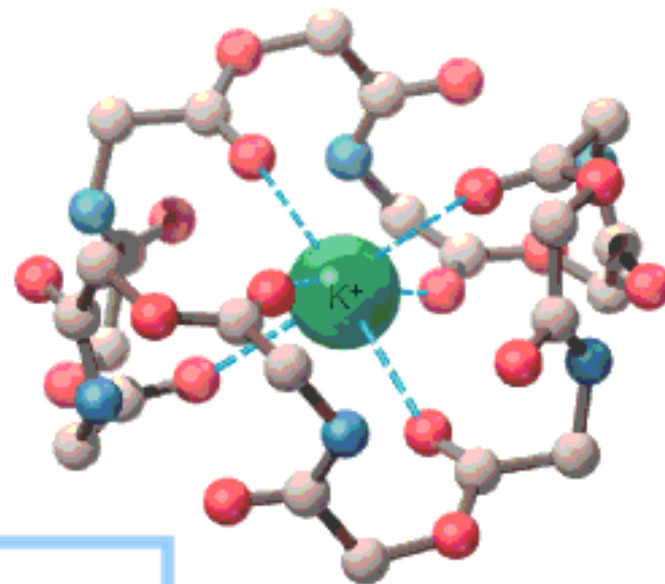
- 也称**促进扩散**（**facilitated diffusion**）。
- 载体：**离子载体和通道蛋白两种类型。**
- 特点：
 - ①比自由扩散**转运速率高**；
 - ②运输速率同物质浓度**成非线性关系**；
 - ③**特异性；饱和性。竞争性抑制**（如果某一载体对结构类似的A、B两种物质都有转运能力）

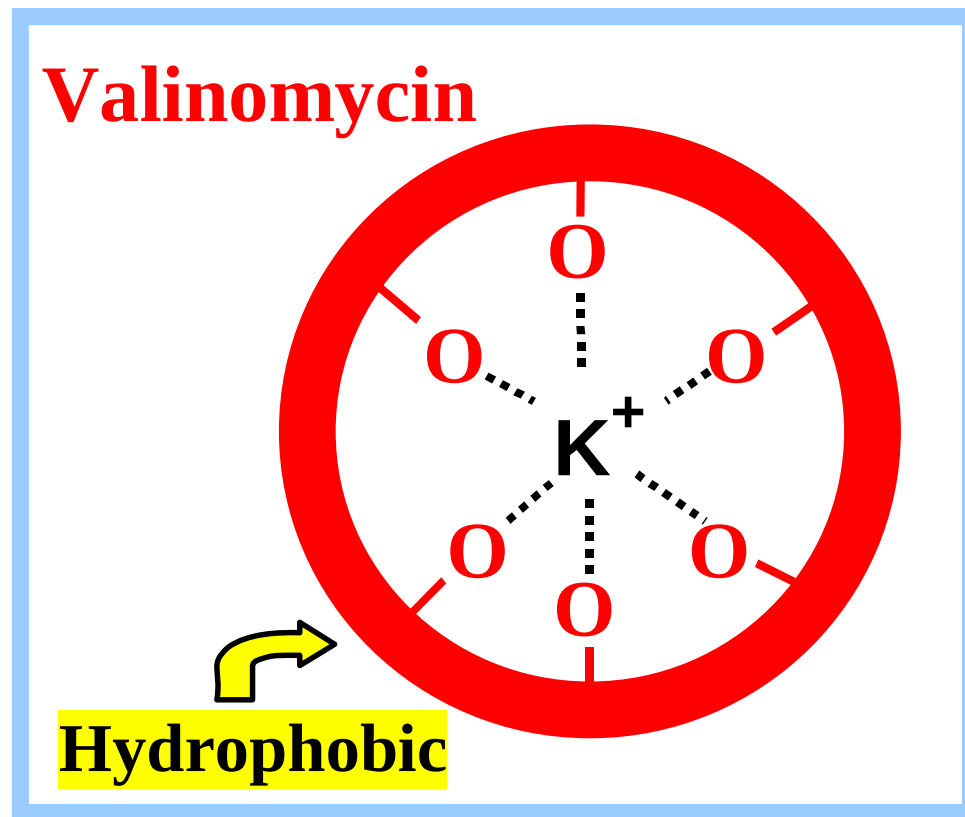
离子载体 (ionophore)

- 是疏水性的小分子，可溶于双脂层，多为微生物合成，是微生物防御或其它物种竞争的武器。
- 分为两类：
 - 可动离子载体 (mobile ion carrier) : 如缬氨霉素 (valinomycin) 是一种由三个重复部分构成的环形分子，能顺浓度梯度转运 K^+ 。
 - 通道离子载体 (channel former) : 如短杆菌肽A (grammicidin)，是由15个疏水氨基酸构成的短肽，2分子形成一个跨膜通道，有选择的使单价阳离子如 H^+ 、 Na^+ 、 K^+ 按化学梯度通过膜。

Valinomycin 缬胺霉素

is a passive carrier for K^+ .

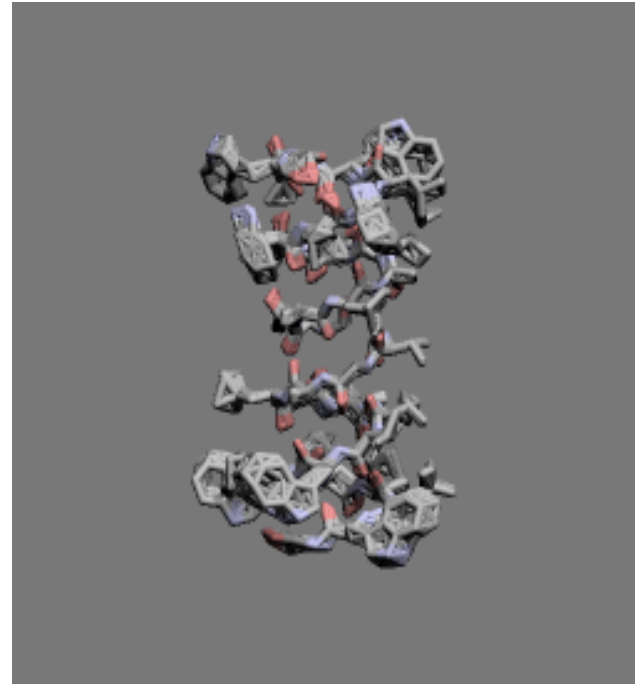




Whereas the interior of the valinomycin- K^+ complex is polar, the **surface** of the complex is **hydrophobic**.

This allows valinomycin to enter the lipid core of the bilayer, to solubilize K^+ within this hydrophobic milieu.

短杆菌肽A



- formyl-L-**X**-Gly-L-Ala-D-Leu-L-Ala-D-Val-L-Val-D-Val-L-Trp-D-Leu-L-**Y**-D-Leu-L-Trp-ethanolamine
- **X and Y depend upon the gramicidin molecule** 乙醇胺

the alternating D and L of the amino acids: this is vital to the formation of the β -helix

为什么短杆菌肽A可以作为药物?

载体蛋白和酶的异同点：

相同点：①特异性，有特异的结合位点；

②有饱和动力曲线；

③受抑制剂的影响。

不同点：①可改变过程的平衡点；

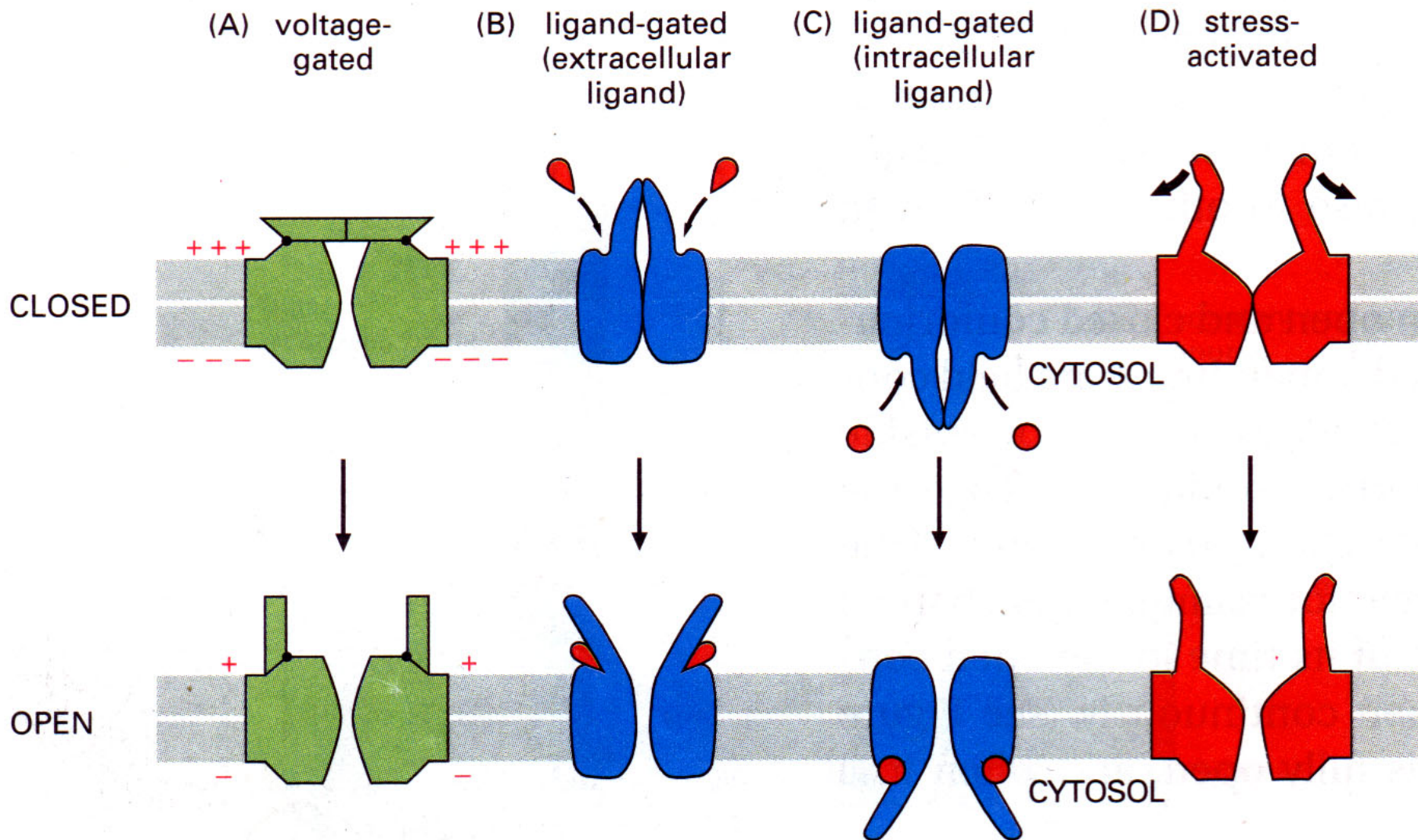
②不对溶质分子作任何共价修饰。

通道蛋白（channel protein）

(1) 概念：通道蛋白（channel protein）是横跨质膜的亲水性通道，允许适当大小的分子和带电荷的离子顺梯度通过，又称为离子通道。

(2) 特征：

- ① 具有离子选择性
对离子的大小和电荷有高度选择性
- ② 离子通道是门控的
其活性由通道开或关两种构象调节



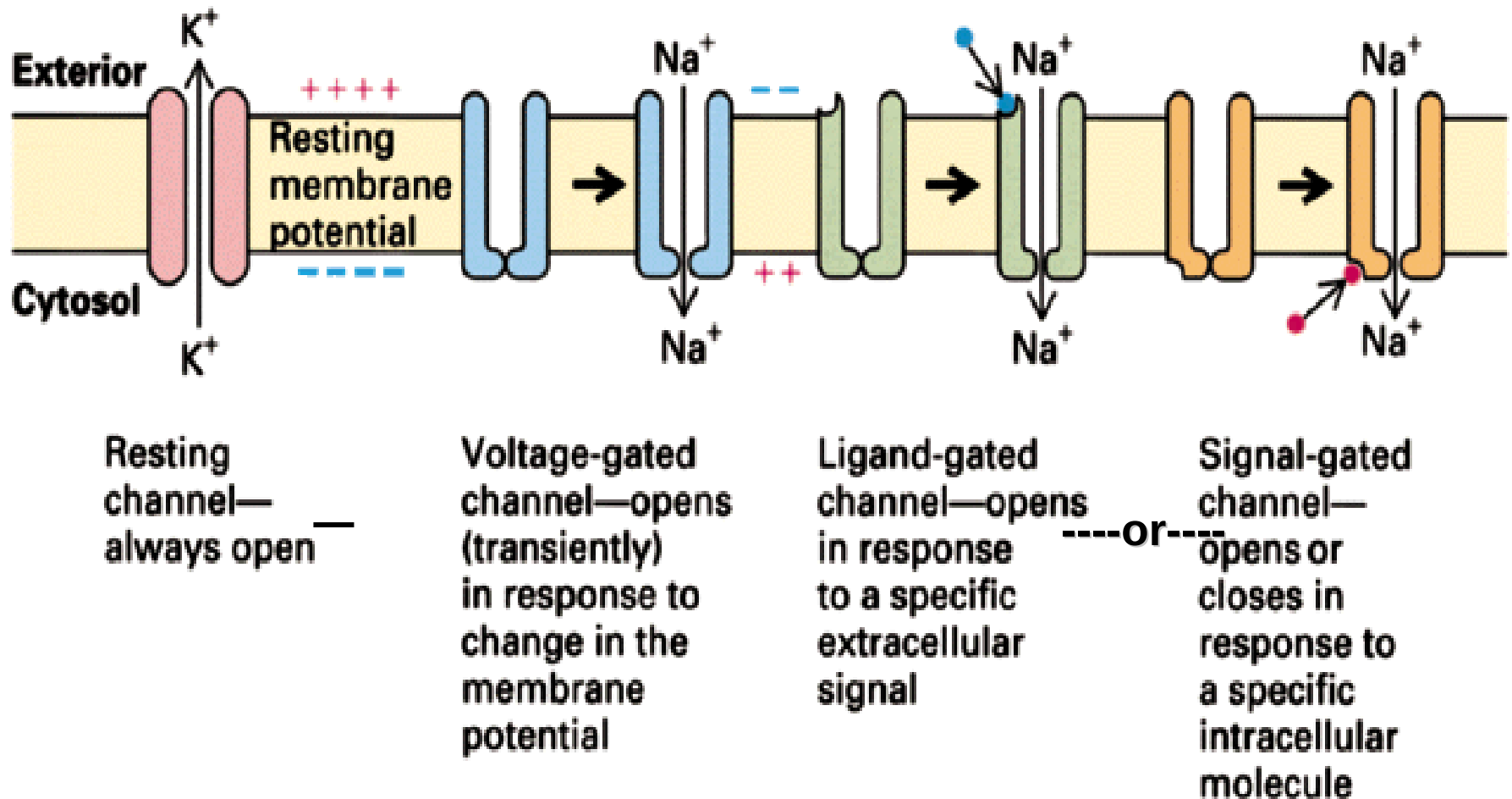
A. 电压门通道

B, C. 配体门通道

C. 压力激活通道

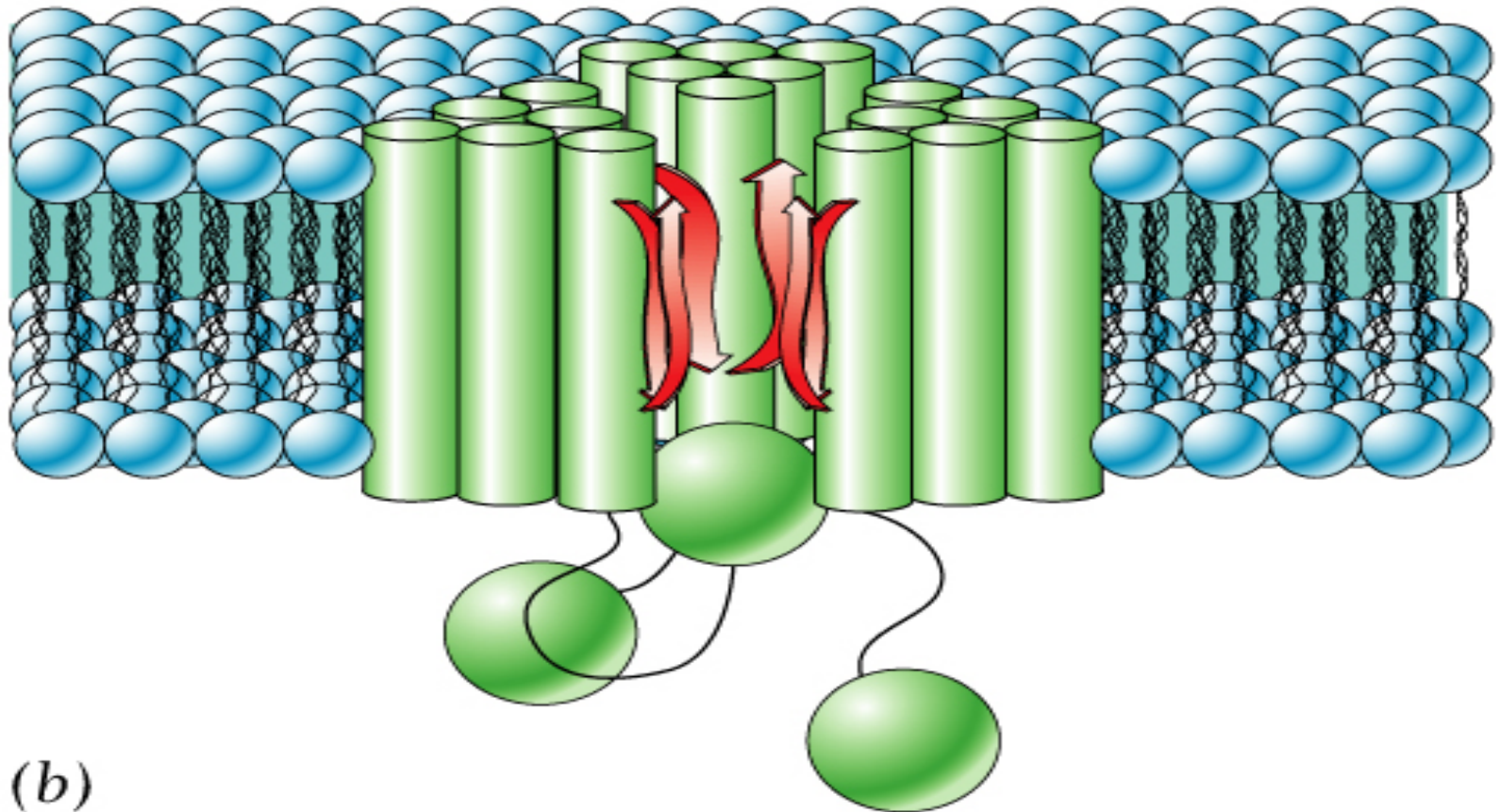
完整版，请访问www.kaoyancas.net 科大科院考研网，专注于中科大、中科院考研

Ion Channels



正常情况下细胞的电荷是：外正内负

K^+ channel

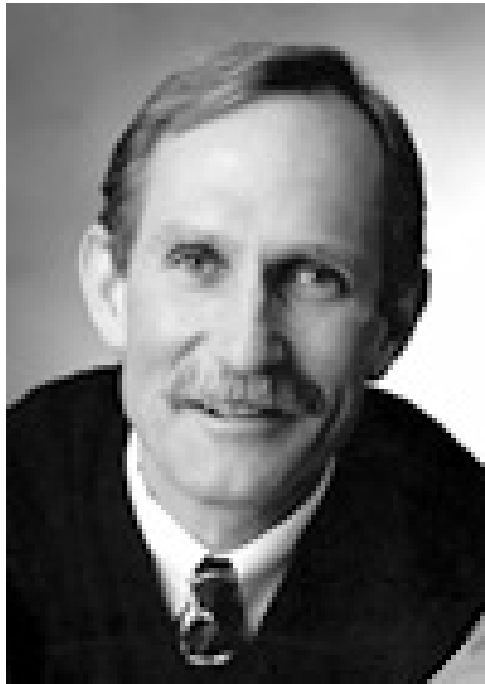


(b)

Copyright 1999 John Wiley and Sons, Inc. All rights reserved.

4th subunit not shown

2003年，美国科学家阿格雷和麦金农，因对细胞膜水通道，离子通道结构和机理研究获诺贝尔化学奖



Peter Agre

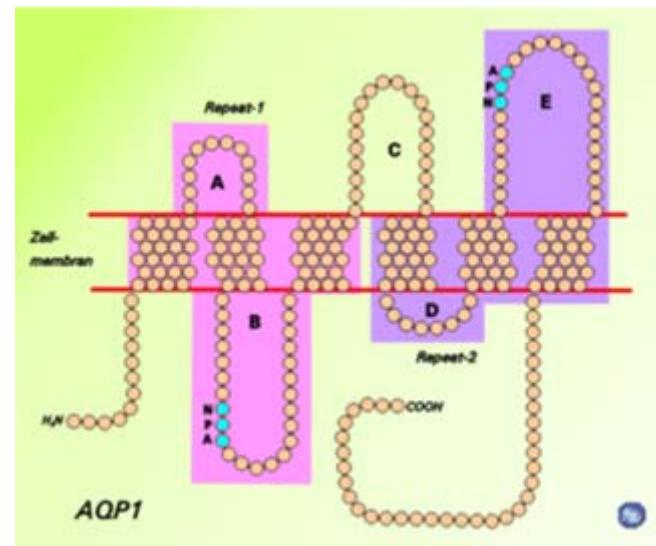


Roderick MacKinnon

水通道

- 水扩散通过人工膜的速率很低，人们推测膜上有水通道。
- 1991年Agre发现第一个水通道蛋白**CHIP28 (CHannel-forming Integral Protein 28)**。他将**CHIP28**的mRNA注入非洲爪蟾的卵母细胞中，在低渗溶液中，卵母细胞迅速膨胀，5 分钟内破裂。细胞的这种吸水膨胀现象会被 Hg^{2+} 抑制。
- 目前在人类细胞中已发现的此类蛋白至少有11种，被命名为水通道蛋白（**Aquaporin, AQP**）。
- **AQP mainly located on cell membrane of RBC and kidney cells**

培养的细胞中注射aquaporin (AQP) mRNA



0.5 min

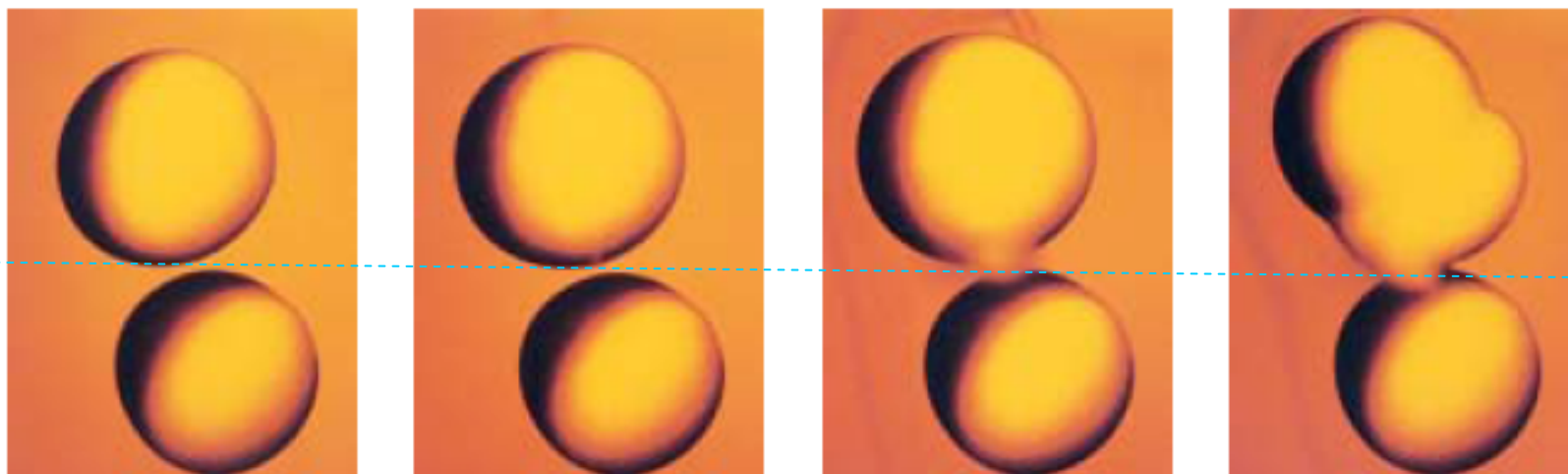
1.5 min

2.5 min

3.5 min

处理

对照

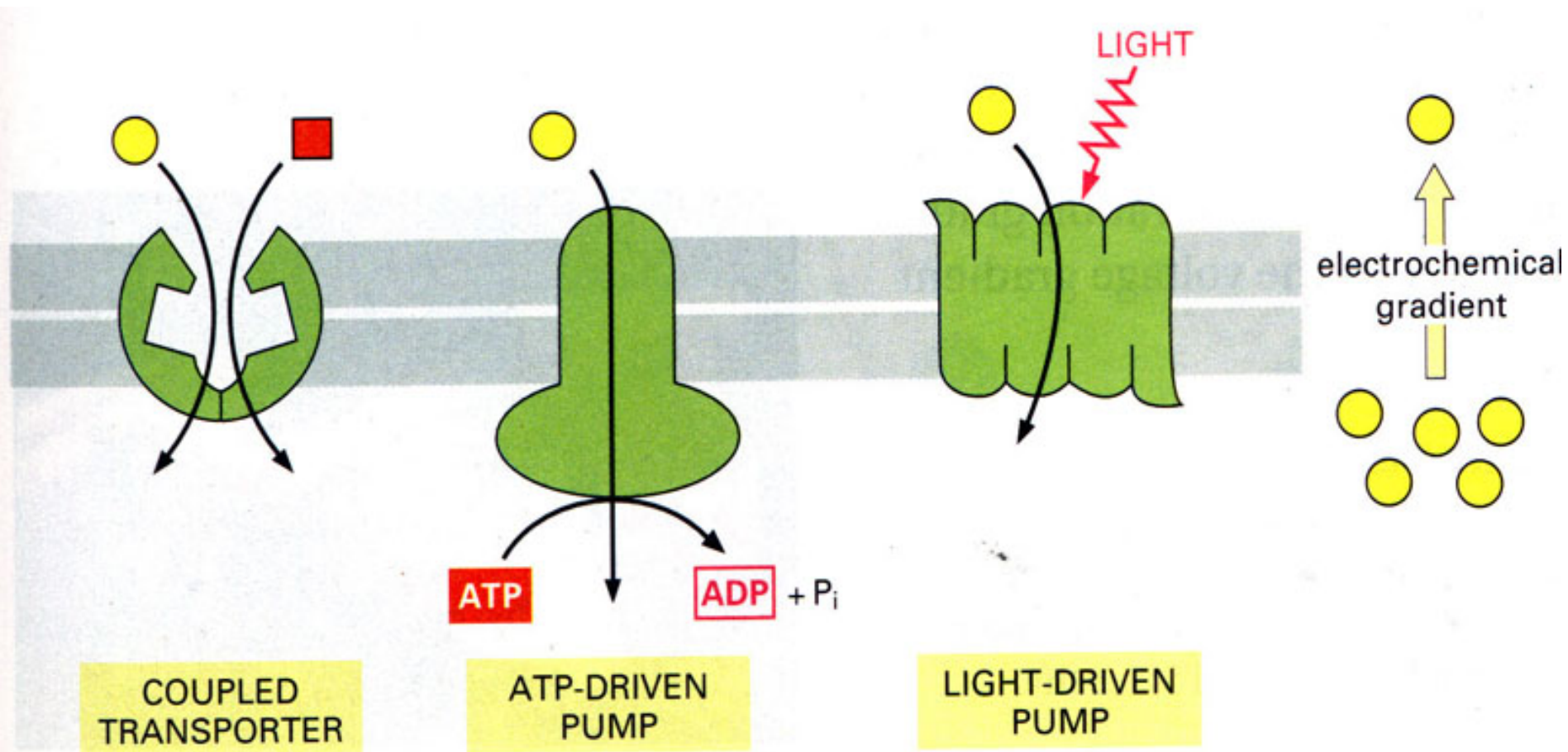


主动运输

- 主动运输的特点是：
 - ①逆浓度梯度（逆化学梯度）运输；
 - ②需要能量；并对代谢毒性敏感
 - ③依赖于膜运输蛋白。
 - ④具有选择性和特异性
- 主动运输所需的能量来源主要有：
 - ①协同运输中的离子梯度动力；
 - ②ATP驱动的泵通过水解ATP获得能量；
 - ③光驱动的泵利用光能运输物质，见于细菌。

电化学梯度 (electrochemical gradient)

质子跨过膜向膜内的转运也是一个生电作用 (electrogenesis)，即电压生成的过程，使内膜两侧形成**电位差**；第二是两侧氢离子浓度的不同因而产生**pH梯度** (ΔpH)，这两种梯度合称为**电化学梯度** (electrochemical gradient)。线粒体内膜两侧电化学梯度的建立，能够形成质子运动力 (proton-motive force, Δp)，只要有合适的条件即可转变成化学能储存起来



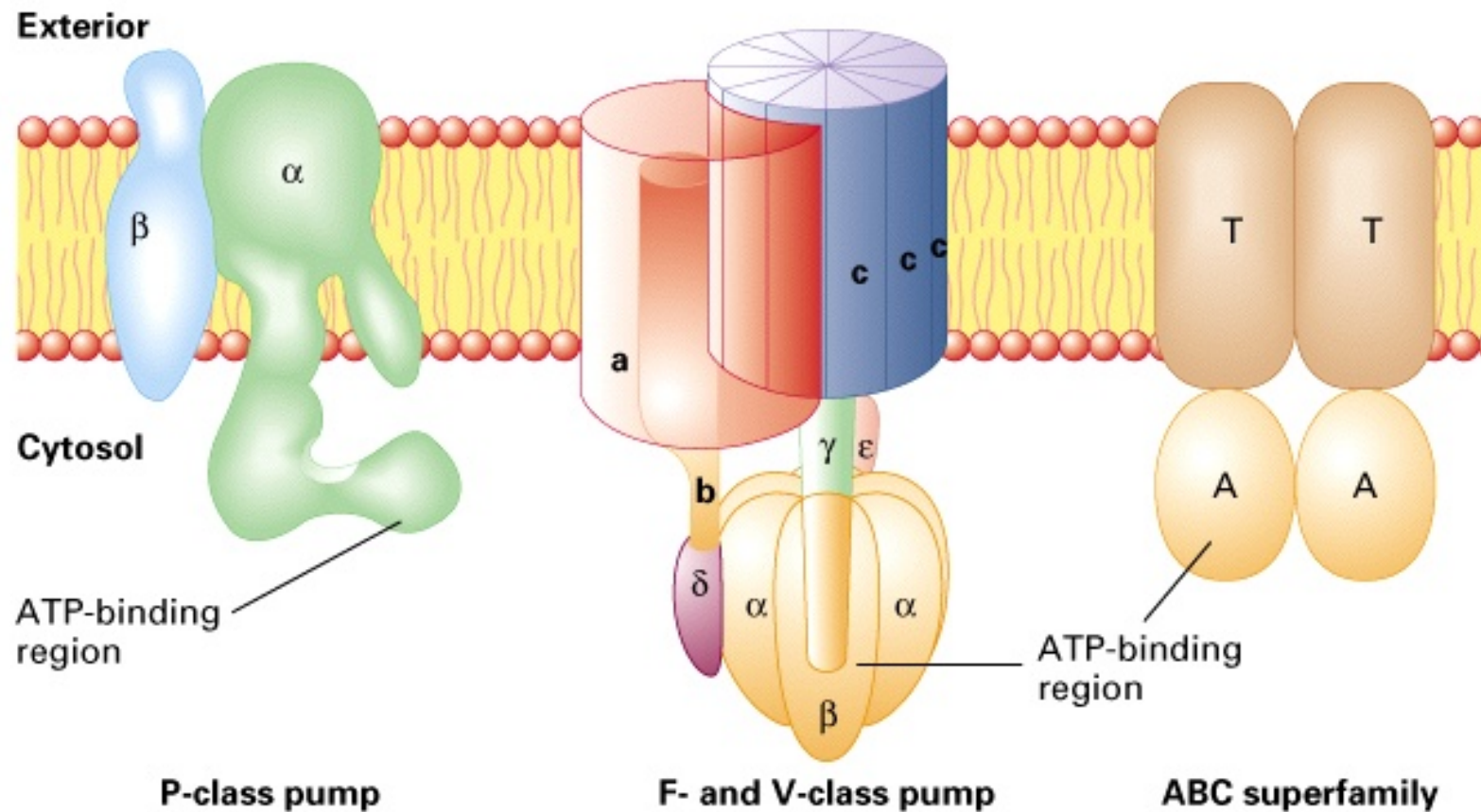
偶联转运蛋白

ATP驱动泵

光驱动泵

电化学梯度

Four types of ATP-powered pumps



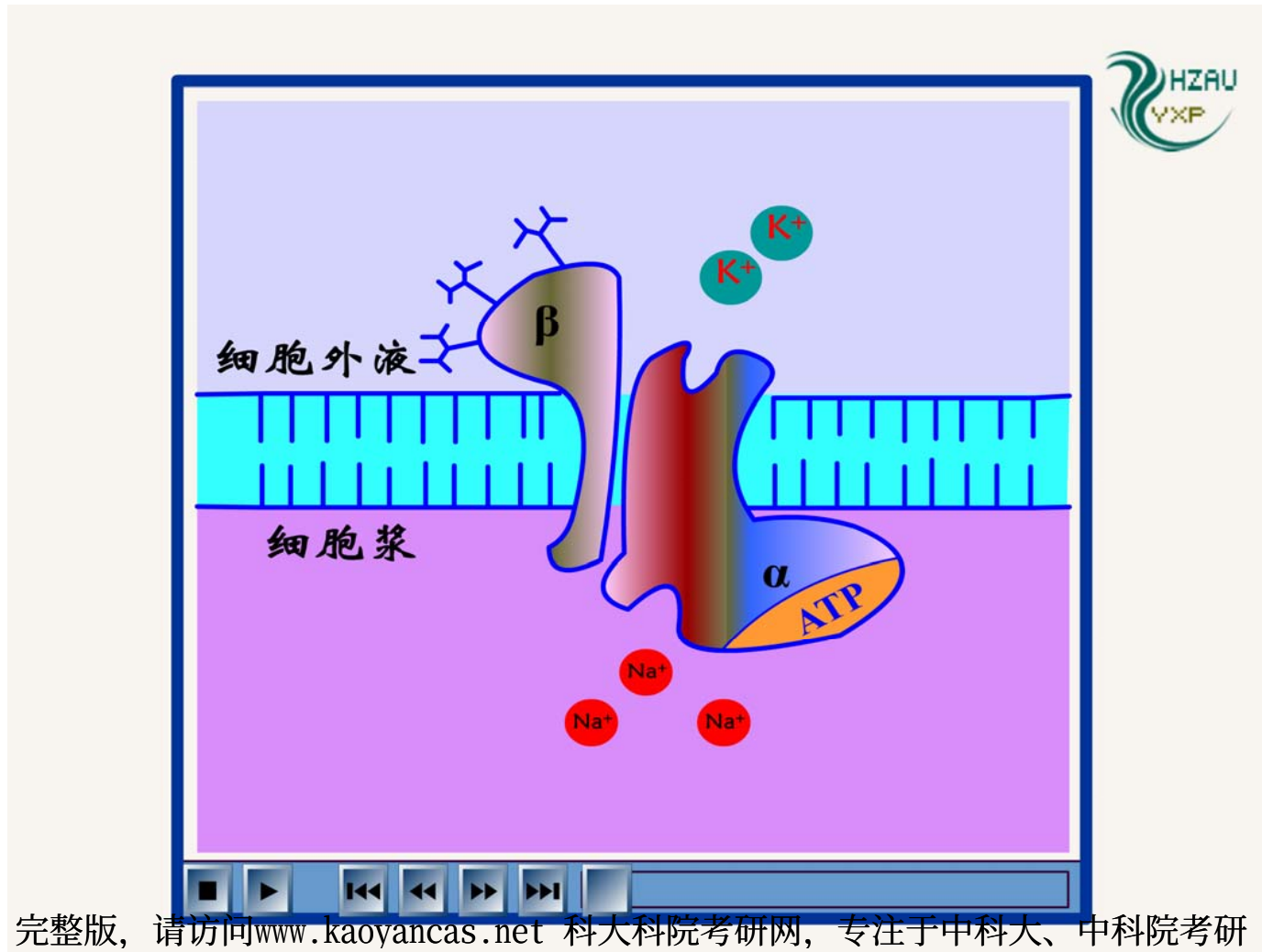
质子泵

- 1、**P-type**：利用ATP自磷酸化发生构象的改变来转移质子，如植物细胞膜上的 H^+ 泵、动物胃表皮细胞的 H^+-K^+ 泵（分泌胃酸）。
- 2、**V-type**：**proton pumps**。**transport protons against gradient**.存在于各类小泡(**vacuole**)膜上，水解ATP产生能量，但不发生自磷酸化。
- 3、**F-type**：**proton pumps**。是由许多亚基构成的管状结构，利用质子动力势合成ATP，位于线粒体内膜和叶绿体的类囊体膜上。(F1F0-ATPase)

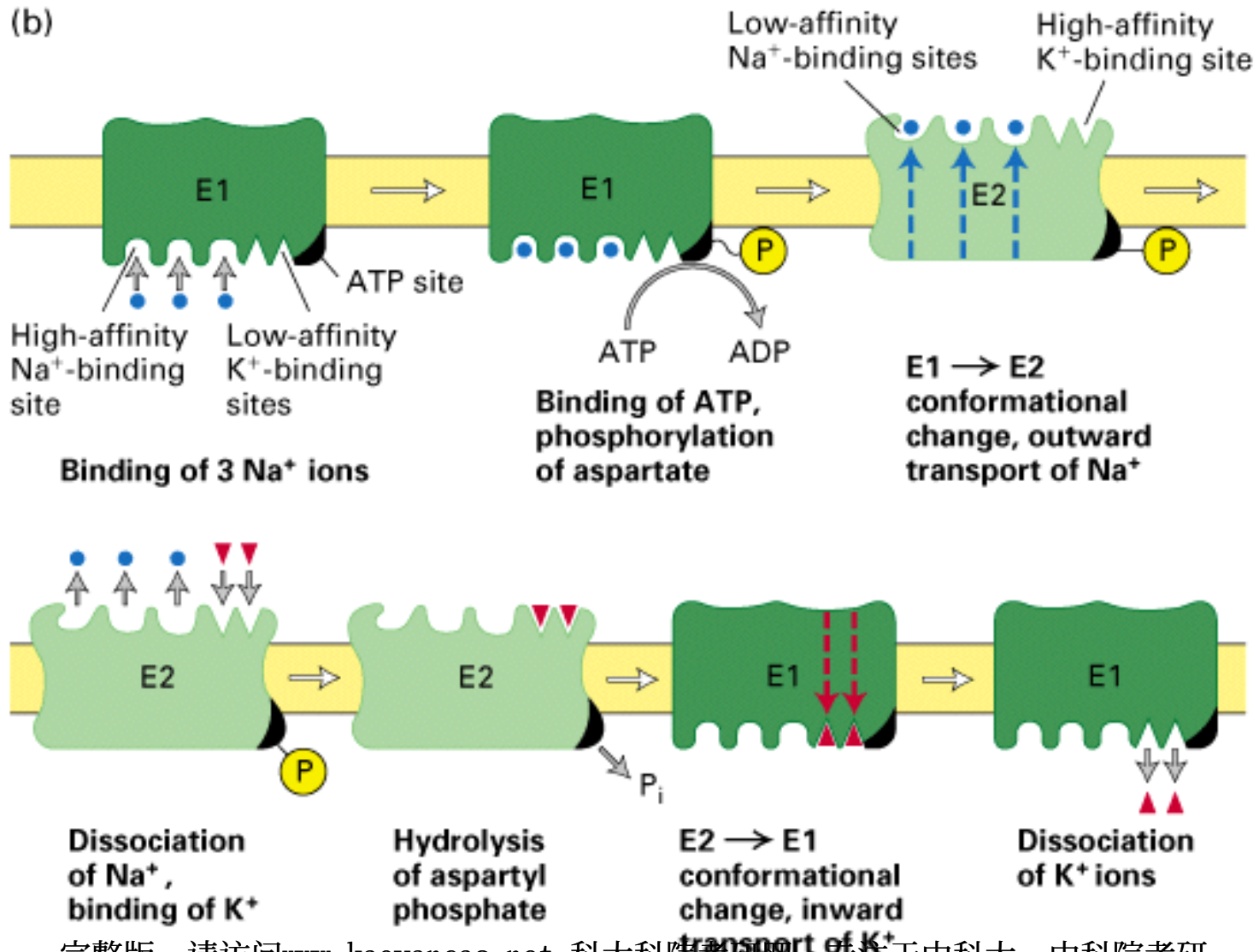
钠钾泵

构成：由2个大亚基、2个小亚基组成的4聚体，
实际上就是 $\text{Na}^+-\text{K}^+\text{ATP}$ 酶，分布于动物细胞的质膜。

人的红细胞中的 K^+ 的浓度比血浆中的 K^+ 的浓度要高出30倍；
红细胞中的 Na^+ 的浓度是血浆中的1/6。



Na⁺-K⁺ATP Pump



钠钾泵对离子的转运循环依赖磷酸化过程（ATP上的一个**磷酸基团**转移到钠钾泵的一个天冬氨酸残基上，导致构象变化），所以这类离子泵叫做**P-type**。

Na⁺-K⁺泵的作用：

维持细胞的渗透性，保持细胞的体积；（血浆**晶体渗透压**（最主要的物质是NaCl）对维持细胞内外的水平衡起重要作用。与之相对的是血浆**胶体渗透压**。后者主要由血浆内的蛋白质产生，在血液中的比例较小）

维持低Na⁺高K⁺的细胞内环境；

维持细胞的静息电位（静息电位是指细胞未受刺激时，存在于细胞膜内外两侧的外正内负的电位差）。

钙离子泵

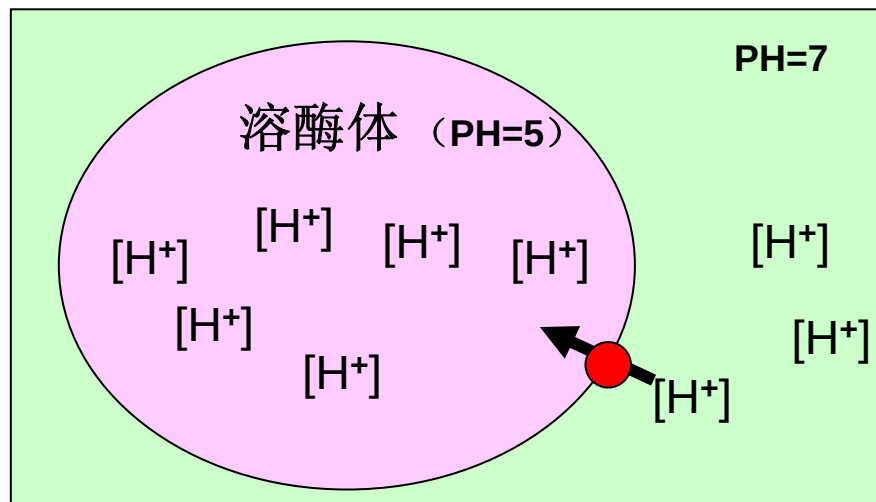
作用：维持细胞内较低的钙离子浓度（细胞内钙离子浓度 10^{-7}M ，细胞外 10^{-3}M ）。

位置：质膜和内质网膜。

类型：

- **P型离子泵**，其原理与钠钾泵相似，每分解一个ATP分子，泵出2个 Ca^{2+} 。
- **钠钙交换器**（ $\text{Na}^{+}\text{-Ca}^{2+}$ exchanger），属于**反向协同**运输体系，通过钠钙交换来转运钙离子。

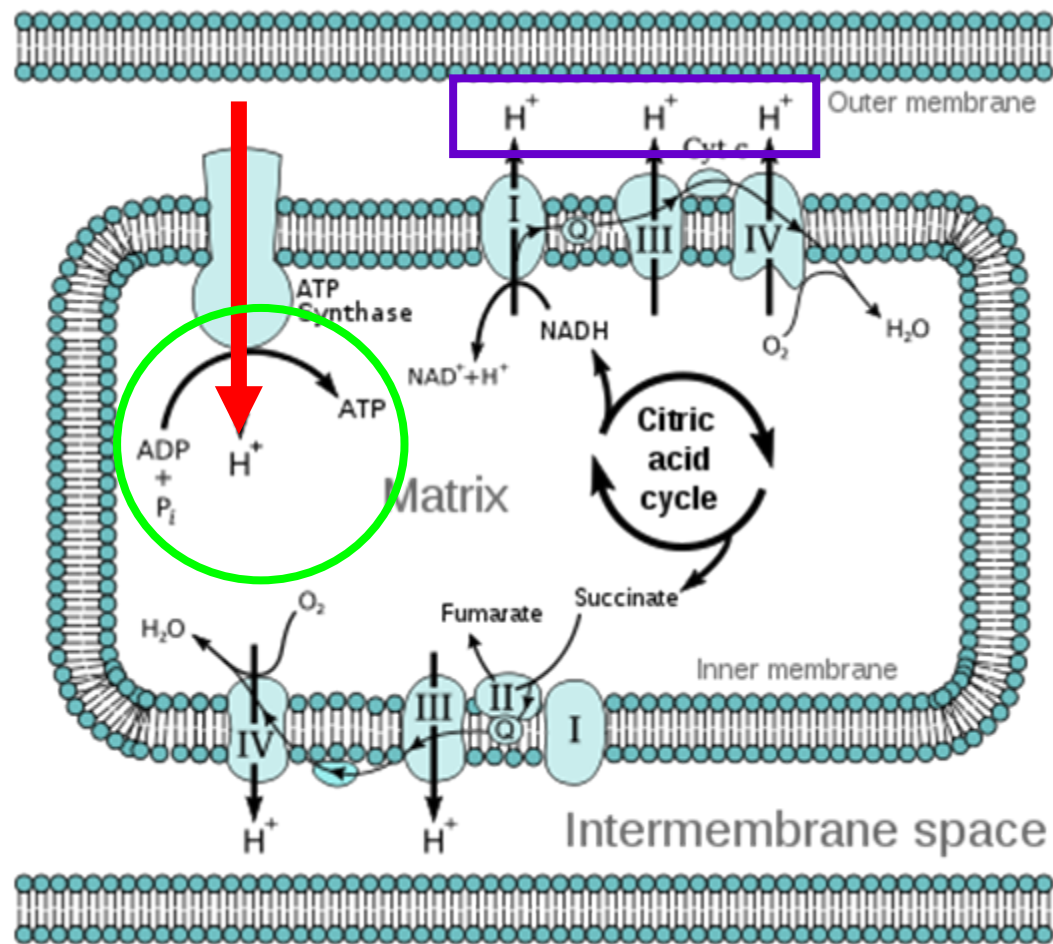
- **V型质子泵：在转运 H^+ 的过程中不磷酸化中间体，存在于动物细胞溶酶体膜和植物细胞液泡膜上，其功能是维持细胞质基质中性pH和细胞器内的酸性(pH=5.0)。**



F型质子泵

(F_1F_0 -ATPase, H^+ - ATP酶): 存在于线粒体膜、植物类囊体膜机多数细菌质膜上，以相反的方式发挥生理作用—— H^+ 顺浓度梯度运动，释放能量与合成ATP偶联起来：如线粒体氧化磷酸化和叶绿体光合磷酸化

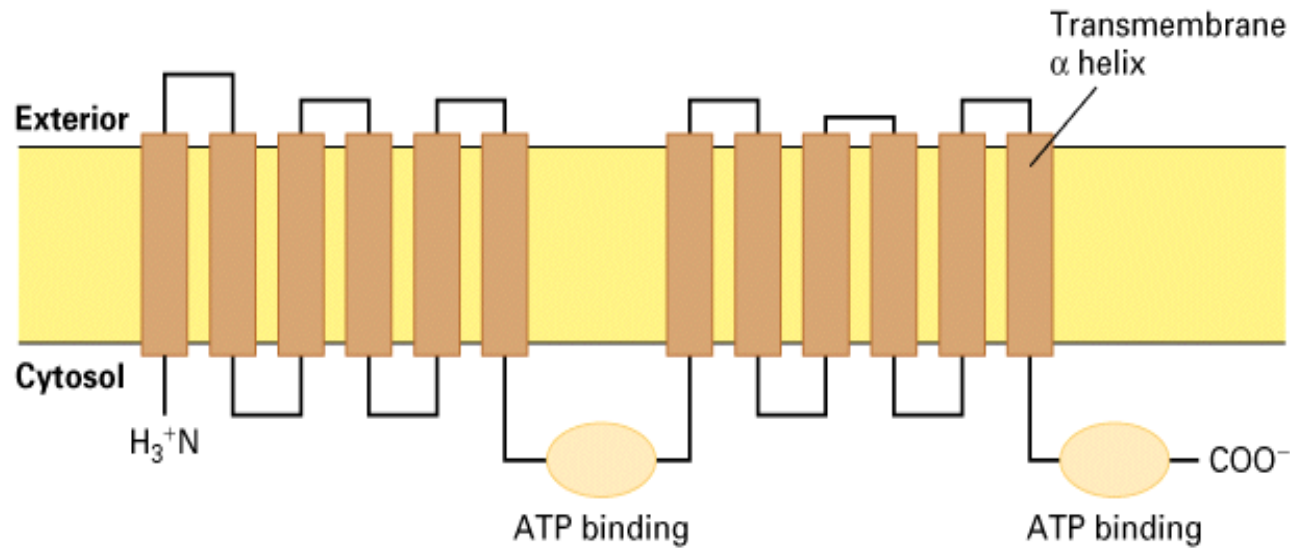
F型质子泵



ABC 转运器(P-glycoprotein)

- **ABC转运器**（ABC transporter）最早发现于细菌，属于一个庞大的蛋白家族，每个成员都有**两个**高度保守的**ATP结合区**（**ATP binding cassette**），故名**ABC转运器**。
- 每一种ABC转运器**只转运一种或一类底物**，不同的转运器可转运离子、氨基酸、核苷酸、多糖、多肽、甚至蛋白质。ABC转运器还可催化脂双层的脂类在**两层之间翻转**，在膜的发生和功能维护上具有重要的意义。

Mammalian MDR1 protein



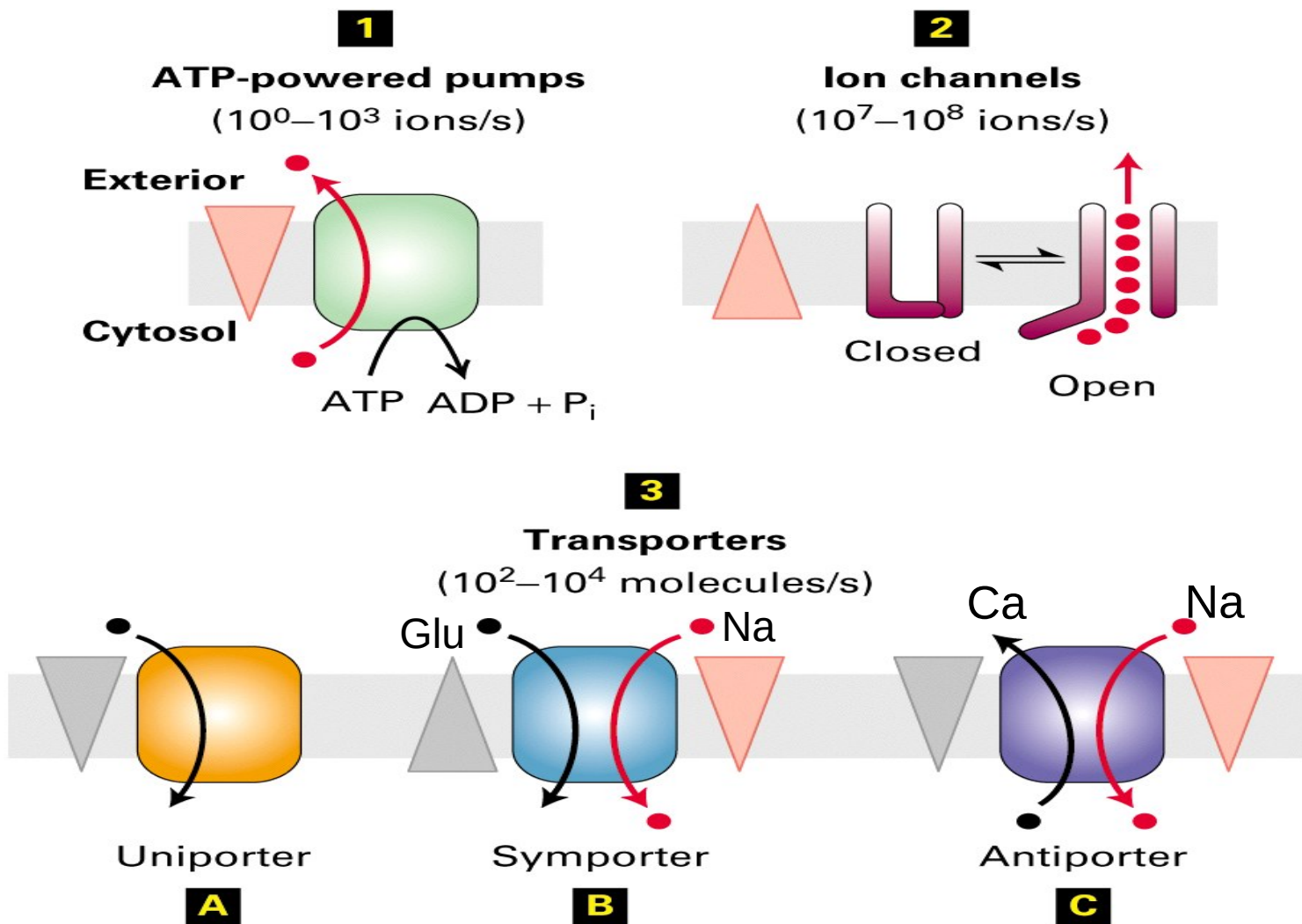
第一个被发现的真核细胞的ABC转运器是多药抗性蛋白（**multidrug resistance protein, MDR**），约40%患者的癌细胞内该基因过度表达。ABC转运器还与病原体对药物的抗性有关。ABC转运器 is an ATP-dependent efflux pump with broad substrate specificity. **It likely evolved as a defense mechanism against harmful substances.**

协同运输 cotransport

- 是一类靠间接消耗ATP所完成的主动运输方式。
- 物质跨膜运动所需要的能量来自膜两侧离子的电化学浓度梯度，而维持这种电化学势的是钠钾泵或质子泵。
 - 动物细胞中常常利用膜两侧 Na^+ 浓度梯度来驱动。
 - 植物细胞和细菌常利用 H^+ 浓度梯度来驱动。
- 根据物质运输方向与离子沿浓度梯度的转移方向，协同运输又可分为：同向协同（symport）与反向协同（antiport）。

同向协同（symport）

物质运输方向与离子转移方向相同。如小肠细胞对葡萄糖的吸收伴随着 Na^+ 的进入。在某些细菌中，乳糖的吸收伴随着 H^+ 的进入。

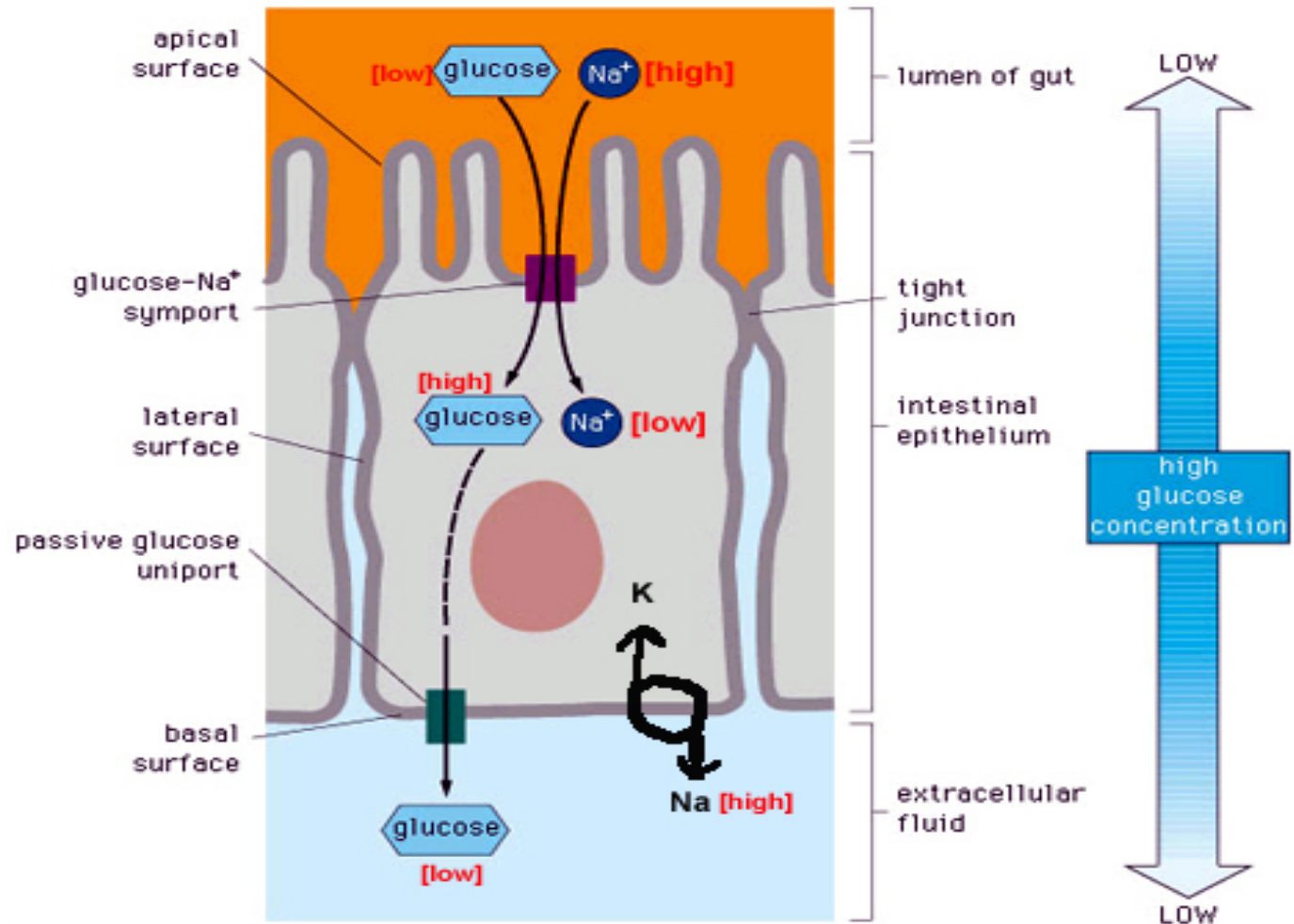


离子浓度梯度驱动的主动运输

这种主动运输是由离子浓度梯度贮存的能量来驱动的，不需要消耗细胞的代谢能(ATP)。

如，小肠上皮细胞摄取肠腔内的葡萄糖时需要肠腔内高浓度的 Na^+ 驱动。

Glucose is absorbed by symport



反向协同（antiport）

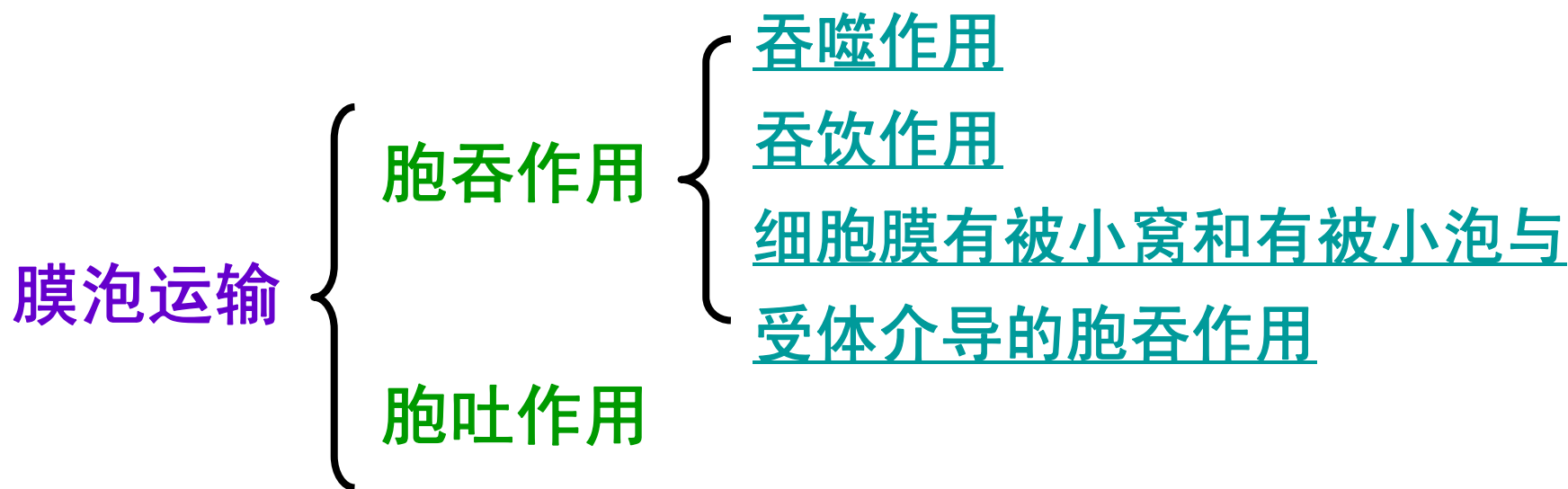
物质跨膜运动的方向与离子转移的方向相反，如动物细胞常通过 Na^+/H^+ 反向协同运输的方式来转运 H^+ ，以调节细胞内的PH值。还有一种机制是 Na^+ 驱动的 $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ 交换，即 Na^+ 与 HCO_3^- 的进入伴随着 Cl^- 和 H^+ 的外流，如存在于红细胞膜上的**带3蛋白**。

与血型糖蛋白（Glycophorin）一样都是红细胞的膜蛋白，因其在PAGE电泳分部时位于第三条带而得名。带3蛋白在红细胞膜中含量很高，约为红细胞膜蛋白的25%。由于带3蛋白具有阴离子转运功能，所以**带3蛋白**又被称为“**阴离子通道**”。在质膜中穿越12~14次，因此，是一种多次跨膜蛋白

◆ Usually antiporters exhibit "ping pong" kinetics.

细胞膜对大分子物质的膜泡运输

指大分子物质或物质团块，通过复杂的膜结构的功能改变进出细胞的过程。



胞吞作用

概念：胞吞作用通过细胞膜内陷形成囊泡（胞吞泡）
将外界物质裹进并输入细胞的过程。

类型： 胞饮作用（**pinocytosis**）
吞噬作用（**phagocytosis**）
受体介导的胞吞作用

胞饮作用

特点：胞吞物为液体和溶质；
形成的胞吞泡小（直径小于150nm）
连续发生的过程；
网格蛋白（包涵素）clathrin 180K。

冰冻蚀刻技术：将标本用液氮超低温
(**-196℃**)冷冻，真空中割断，稍升温使冰
升华，细胞内外凡空隙处或含游离水较多的
地方将因失水而下陷，膜和其它一些结
构被显露出来。

网格蛋白

- 从冰冻蚀刻技术观察有被小窝与有被小泡的衣被呈多角形网状结构。将衣被分离提纯，发现小泡膜含有数种蛋白质，其中最具有特征性的是**网格蛋白**，它是一种高度稳定的纤维状蛋白。
- **网格蛋白**是由三条较大的肽链(重链)和三条小的肽链(轻链)形成的三脚蛋白复合体。由三脚蛋白在小泡的表面排列成五角形或六角形的篮网状结构，包在小泡膜的外表面形成了有被小窝与有被小泡。

吞噬作用

特点：胞吞物为**大分子**和**颗粒**物质；

形成的胞吞泡大（直径大于**250nm**）；

信号触发过程；

微丝和结合蛋白。

作用：防御侵染和垃圾清除工。

胞饮作用和吞噬作用的区别

特 征	物质	胞吞泡的大小	转运方式	胞吞泡形成机制
胞饮作用	溶液	小于150nm	连续的过程	网格蛋白和接合素蛋白
吞噬作用	大颗粒	大于250nm	受体介导的信号触发过程	微丝和结合蛋白

受体介导的胞吞作用

受体介导的胞吞作用是一种特殊类型的胞吞作用，主要是用于摄取特殊的生物大分子。如不同的蛋白质，包括激素、生长因子、淋巴因子和一些营养物质都是通过这种方式进入细胞。

问题的提出

胚胎发育起始于一个微小的的精子和一个更大的卵细胞的结合。卵细胞是由卵母细胞发展而来的，并且积累卵黄。而这些卵黄是在雌性个体中其他部位合成的。那么，这些高分子量的卵黄蛋白是怎么样能够进入卵母细胞的呢？

1964年，哈佛大学的**Thomas Roth**和**Keith Porter**报道了有关蚊子的卵黄进入卵母细胞的可能的机理。他们注意到在卵母细胞快速增长时期，在卵母细胞表面有许多**压低的纹孔**，数量呈戏剧性的增长。这些纹孔，是由**原生质膜的凹陷构成的**。在它们的内表面被一层粗糙的表层所覆盖。

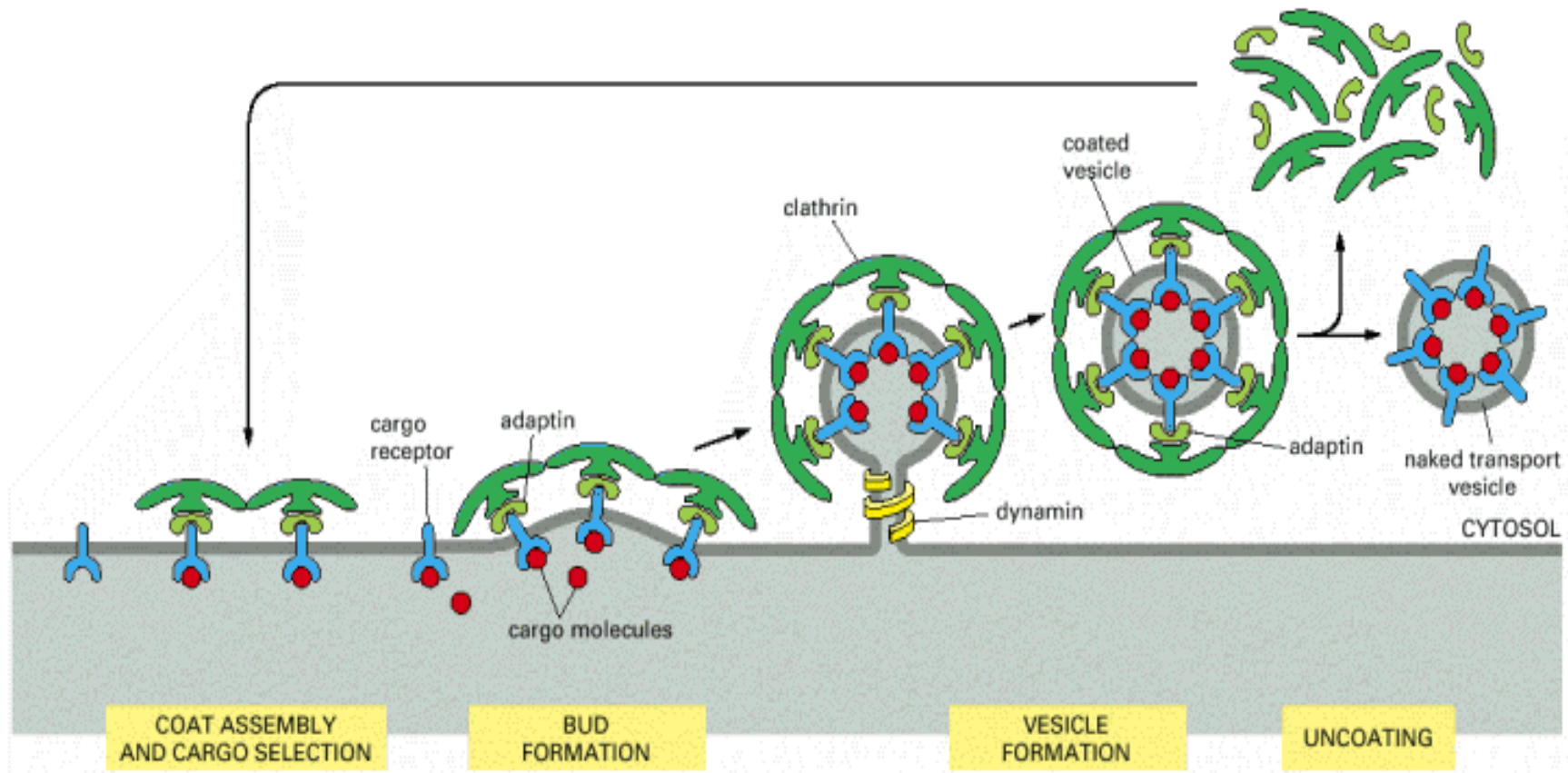
Roth和**Porter**假定卵黄蛋白是被特别的吸附在**有被小窝 (coated pits)**的膜的外表面，并将作为**有被小泡 (coated vesicles)**而吸入。这些有被小泡脱离粗糙的表层后，一个与另一个结合，使得它们变得更大。

细胞膜有被小窝和有被小泡与受体介导的胞吞作用：
大分子与细胞表面的受体结合，通过有被小窝进入细胞，此过程称为受体介导的胞吞作用。

有被小窝：在细胞膜表面有摄取蛋白质的特化部位，该部位细胞膜向内凹陷，在膜的细胞质面覆盖了一层与有被小泡相似的包被结构，此特化区域称为**有被小窝**。

有被小泡：直径约50~250nm之间，其细胞质面覆盖了毛刺状的包被，故称为有被小泡。有被小泡由细胞膜或高尔基复合体形成。

胞吞泡形成的机制



通过网格蛋白有被小泡介导的选择性运输示意图

完整版，请访问www.kaoyancas.net 科大科院考研网，专注于中科大、中科院考研

细胞对胆固醇的摄取

食物



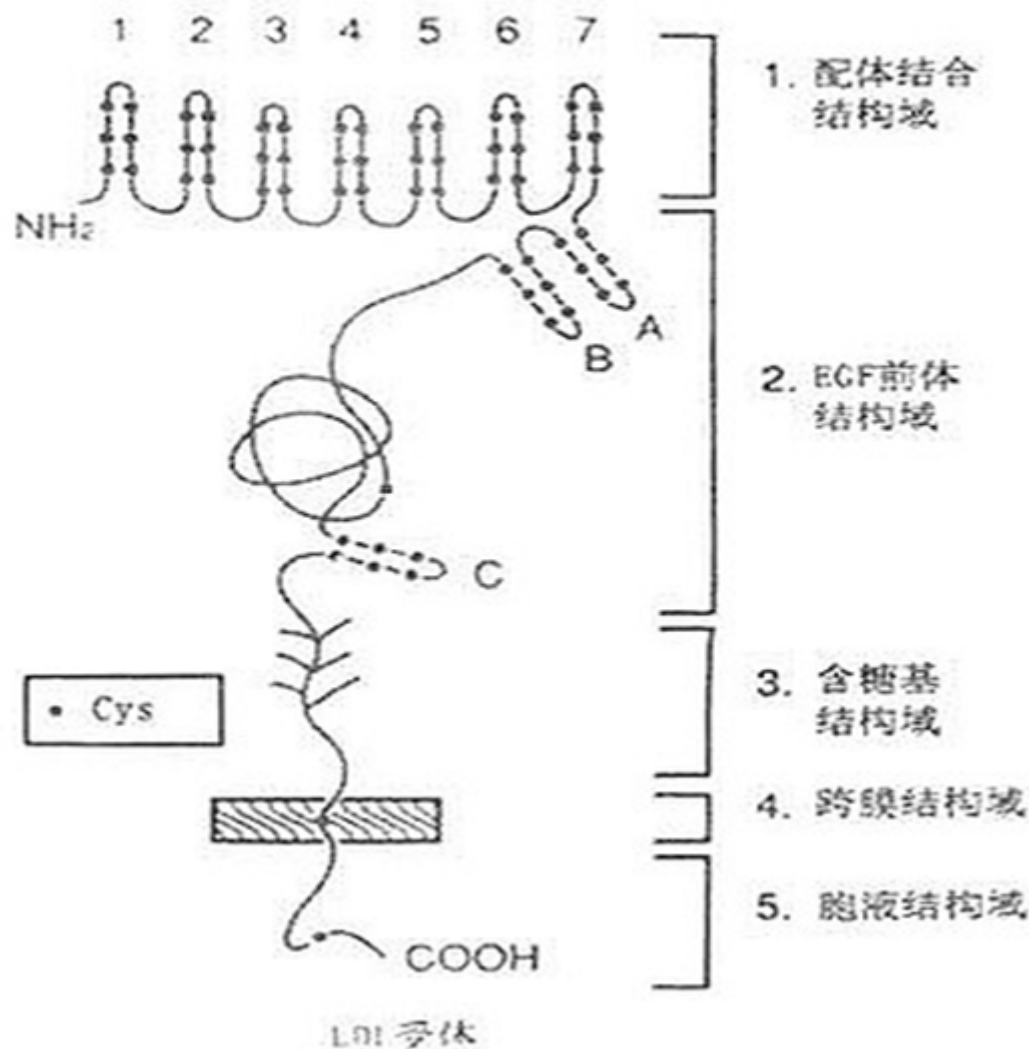
- 肝细胞内合成胆固醇→血液→LDL→组织细胞
- 低密度脂蛋白 (LDL)**：血液中的胆固醇与蛋白质结合而成，其形状为圆形颗粒，直径约22nm，颗粒核心含有大约1500个胆固醇分子，它们与脂肪酸结合形成胆固醇脂，外层包绕着脂质单层，一种特异性蛋白嵌在脂质层中。

胆固醇用于

{ 组成细胞膜
合成类固醇激素
合成胆汁酸

LDL 受体

- LDL受体是一种多机能蛋白，由839个氨基酸组成的36面体结构蛋白，分子量约115kD。由五种不同的区域构成，各区域有其独特的功能。



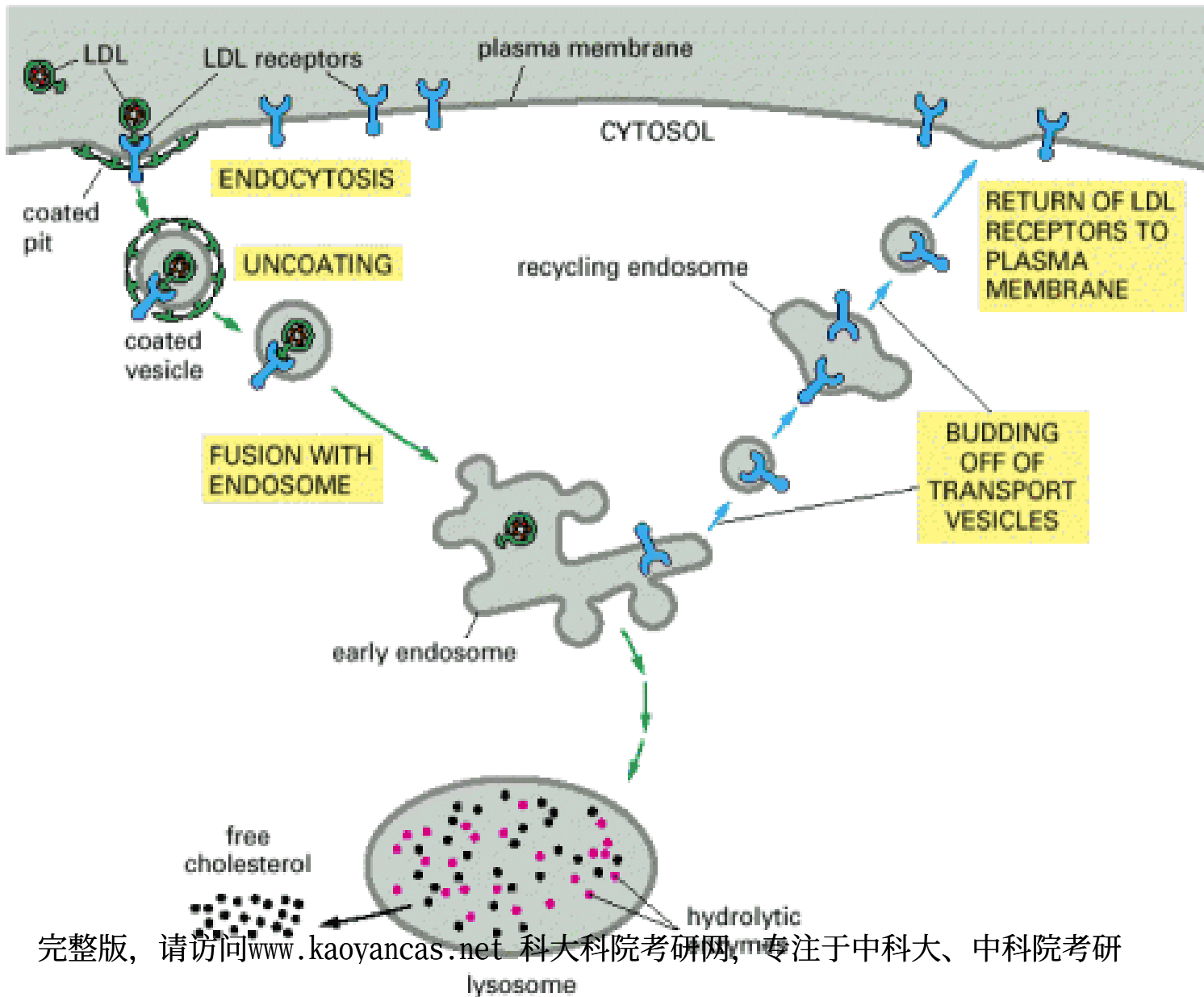
家族性血胆固醇过多 (familial hypercholesterolemia FH)

纯合体的个体含有致病基因（FH等位基因codes for **LDLR**）会导致严重增加血清胆固醇浓度。（正常人为 **200mg/dl**，而FH为**800mg/dl**），这种病常常导致阻断动脉（动脉粥样硬化），并且通常在患者20岁之前就死于心脏病。在当时，几乎没有人知道这种致病的生理原理。而且，目前尚无特效药物可以治疗。（**1dL=0.1L**）

- **摄取过程：**

当细胞需要胆固醇时，细胞先合成LDL受体，并将其受体镶嵌于细胞膜的特化区——有被小窝区，LDL与其受体在有被小窝区结合，结合后有被小窝向细胞内凹陷，与细胞膜脱离，进入细胞，形成有被小泡。有被小泡很快失去衣被，成为无被小泡，与细胞内体融合，形成较大的内吞小体。内吞小体在细胞内移动的过程中逐渐酸化，使受体与LDL解离，各自形成小泡。装有受体的小泡又返回到细胞膜的有被小窝区，再次被利用；而装有LDL的小泡则与溶酶体融合，形成吞噬性溶酶体，LDL在其内被分解成游离的胆固醇和蛋白质。如果细胞内胆固醇的量已过剩，这时，胆固醇即可抑制LDL受体的合成，细胞停止对胆固醇的摄取。

受体介导的LDL的胞吞作用



胞吐作用

胞吐作用：将细胞内的分泌泡或其它某些膜泡中的物质通过细胞质膜运出细胞的过程。

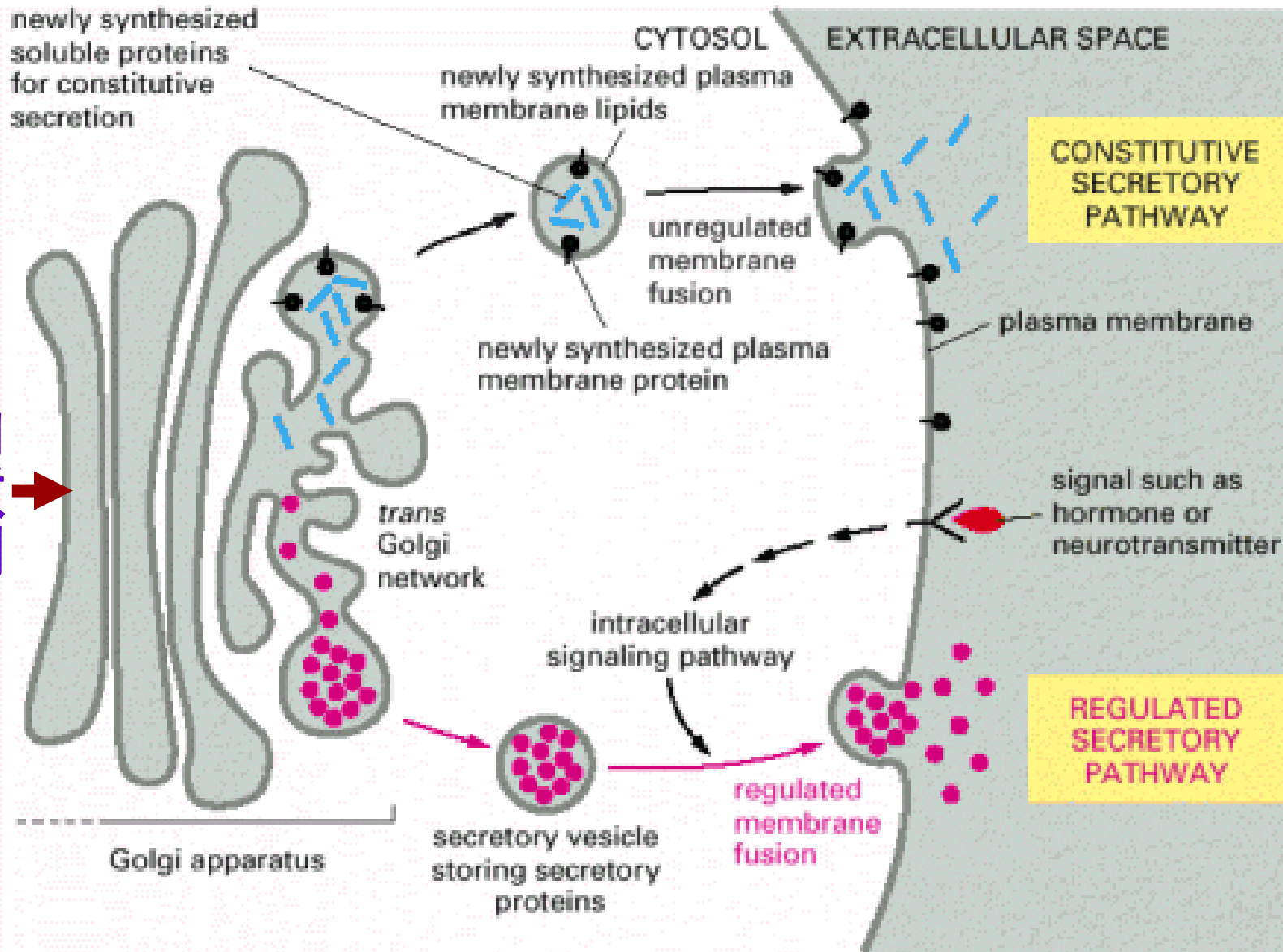
组成型胞吐途径（constitutive exocytosis pathway）

糙面内质网→高尔基体→分泌泡→细胞表面

调节型胞吐作用（regulated exocytosis）**特化的分泌细胞**

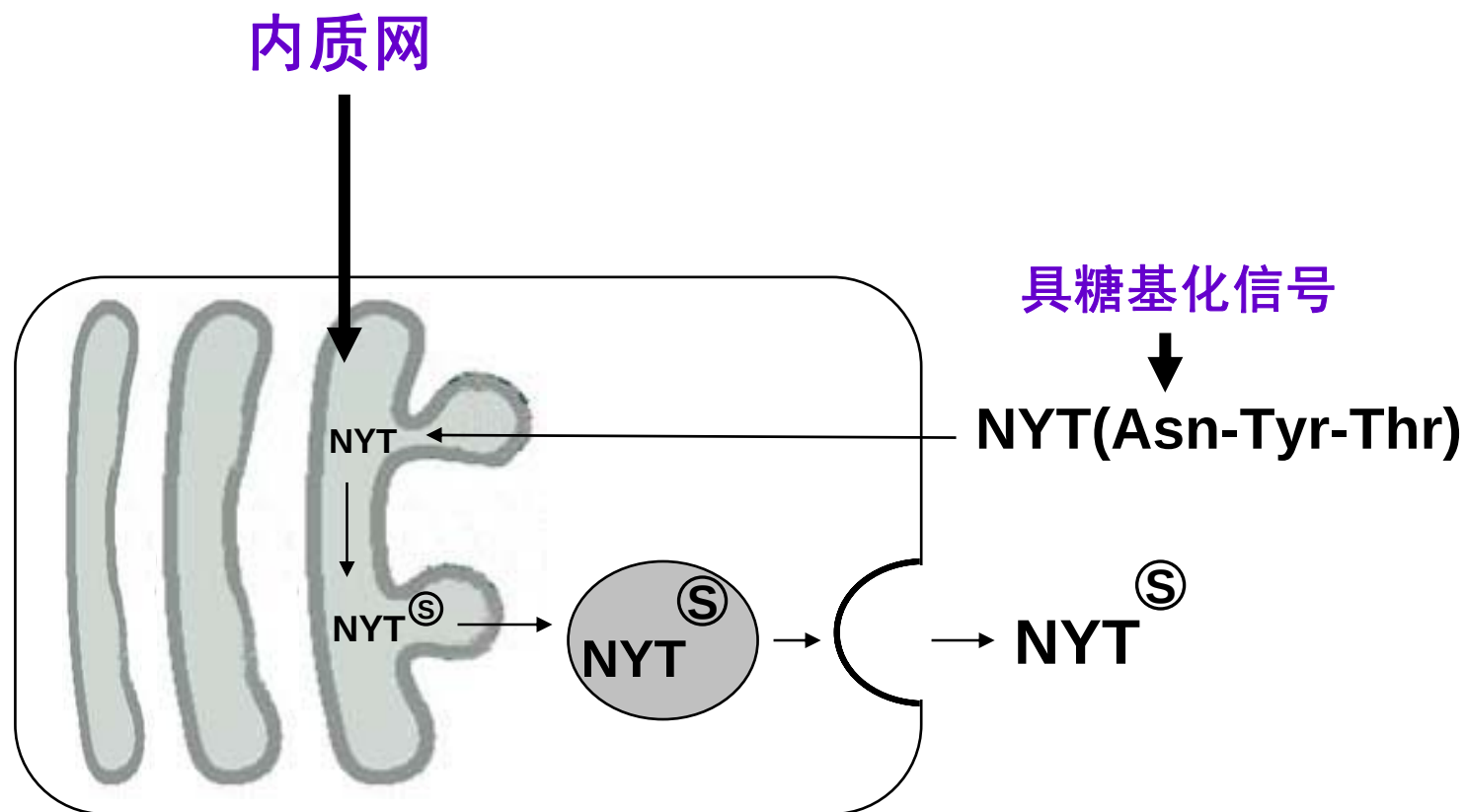
分泌产物→储存在特化的分泌细胞→相应的**激素信号刺激**→分泌

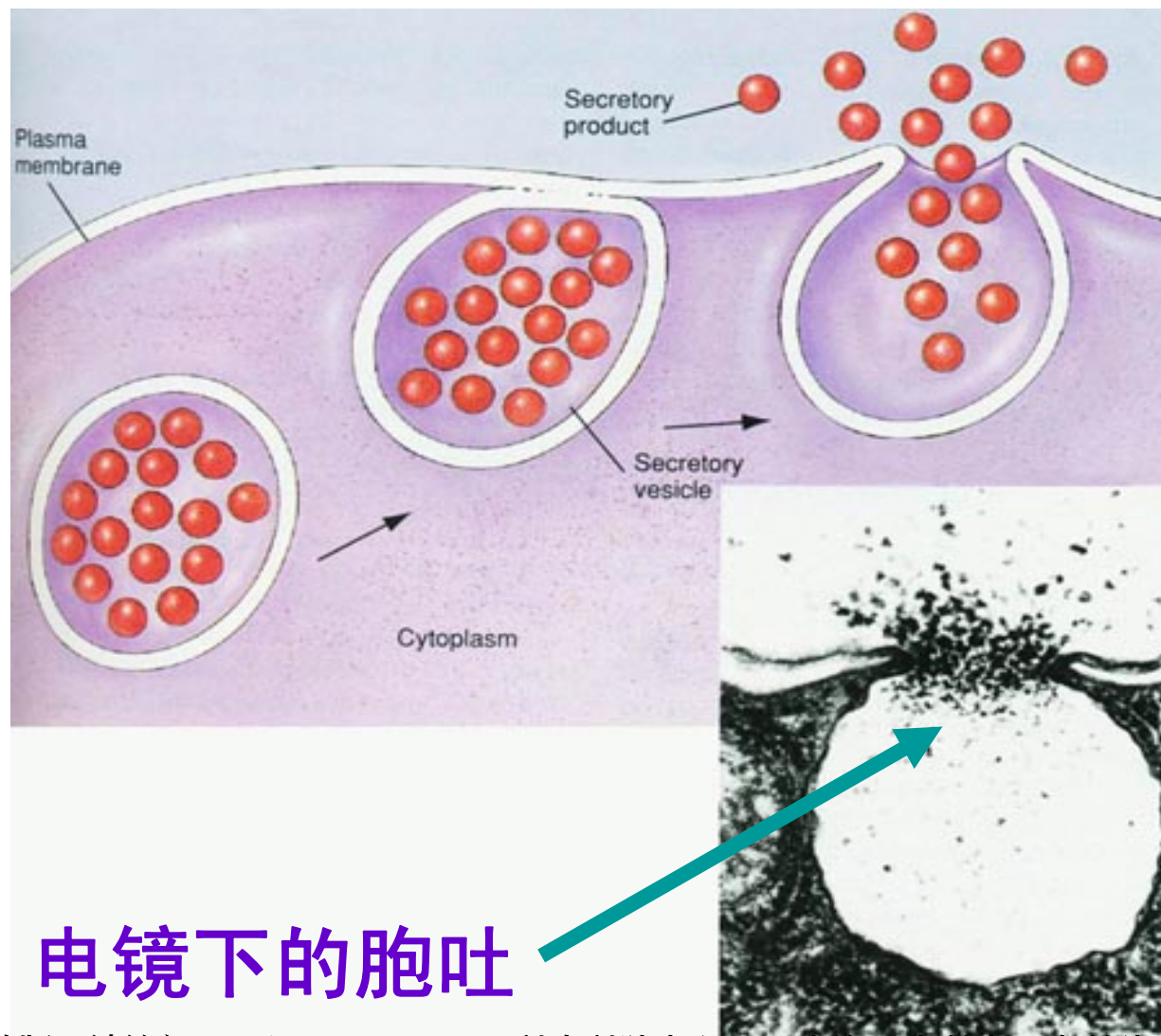
内质网



细胞组成型和调节型胞吐作用

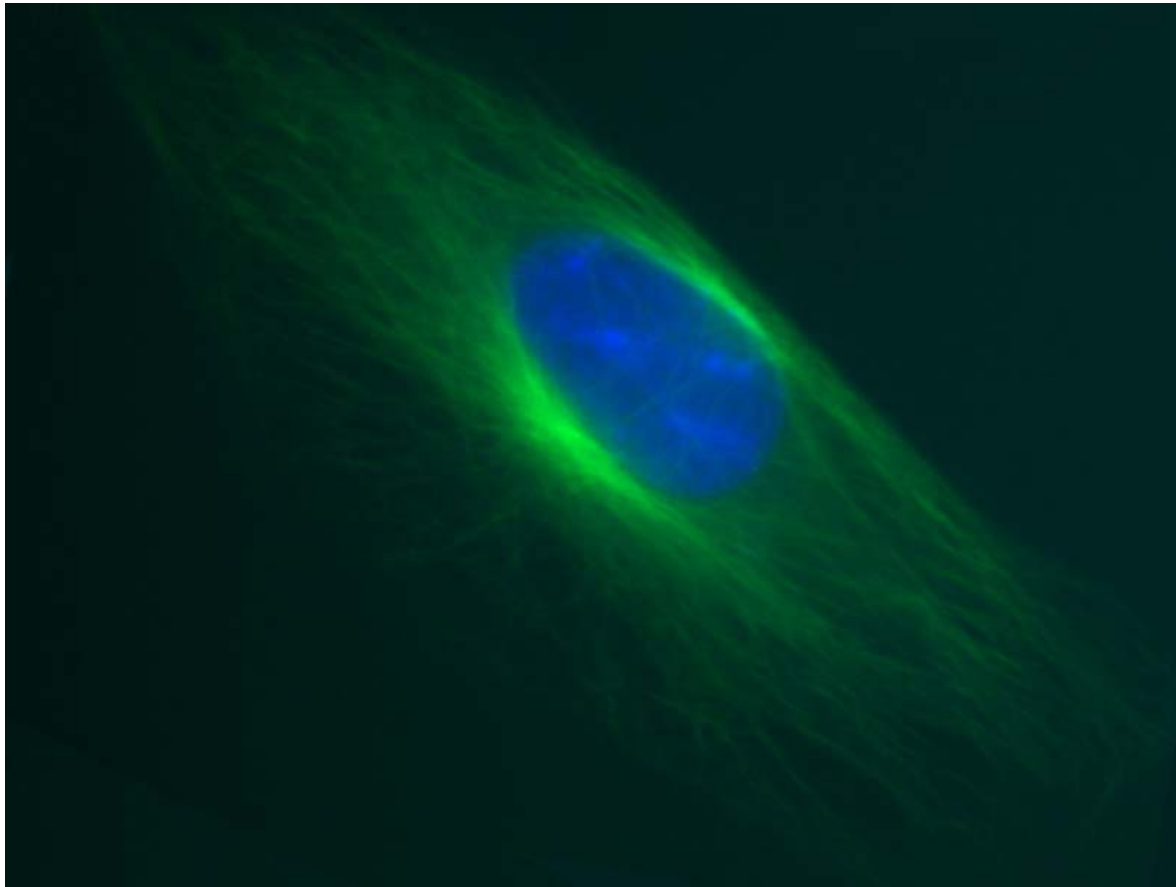
完整版，请访问www.kaoyancas.net 科大科院考研网，专注于中科大、中科院考研





电镜下的胞吐

细胞核与染色质

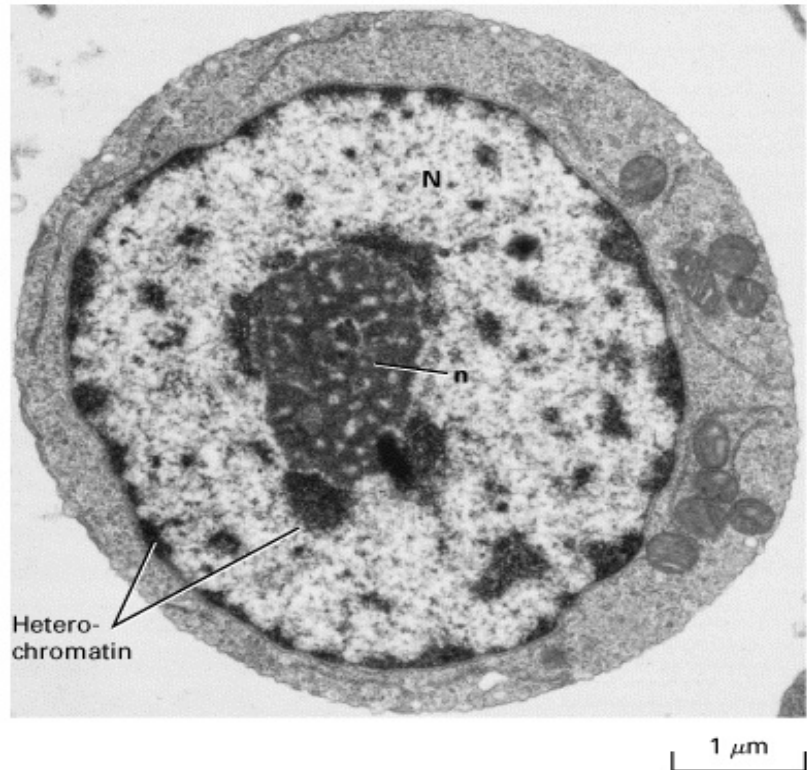
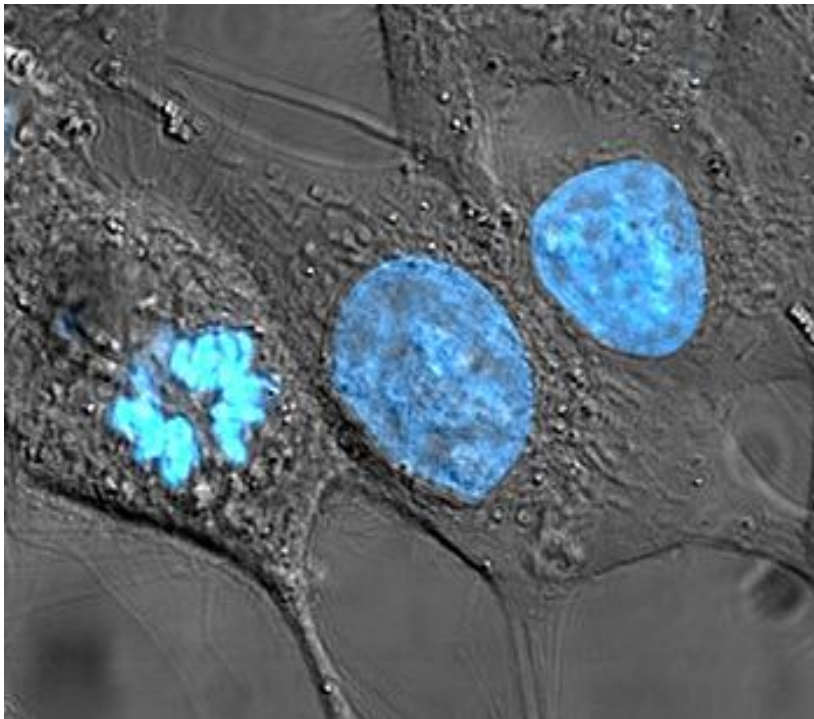


- 1781年 Trontana在鱼类细胞首次发现细胞核；
- 1831年，Brown在植物中发现了细胞核。
- 大小：植物 $1\sim 4\mu\text{m}$ ，动物 $10\mu\text{m}$ 。常以核质比来估算核的大小。正常细胞 $NP\approx 0.5$ ，分裂期细胞 $NP>0.5$ ，衰老细胞 $NP<0.5$ 。

$$NP = \frac{V_n}{V_c - V_n}$$

- **形状：** 圆形，胚乳细胞(网状) 蝶类丝腺细胞(分支状)。
- **位置：** 细胞中央 ， 成熟植物细胞的边缘。
- **数目：** 通常一个，成熟的筛管 and 红细胞(0)、肝细胞、心肌细胞(1-2)、破骨细胞(6~50)、骨骼肌细胞(核的数量随肌纤维的长短而异，短者核少，长者可达数百个) 。
- **结构：** ①核被膜、②核仁、③核基质、④染色质、⑤核纤层。
- **功能：** ①遗传、②发育 ③调控

Nucleus structure



Hoechst 33324 staining

4'-6-Diamidino-2-phenylindole (*DAPI*) staining

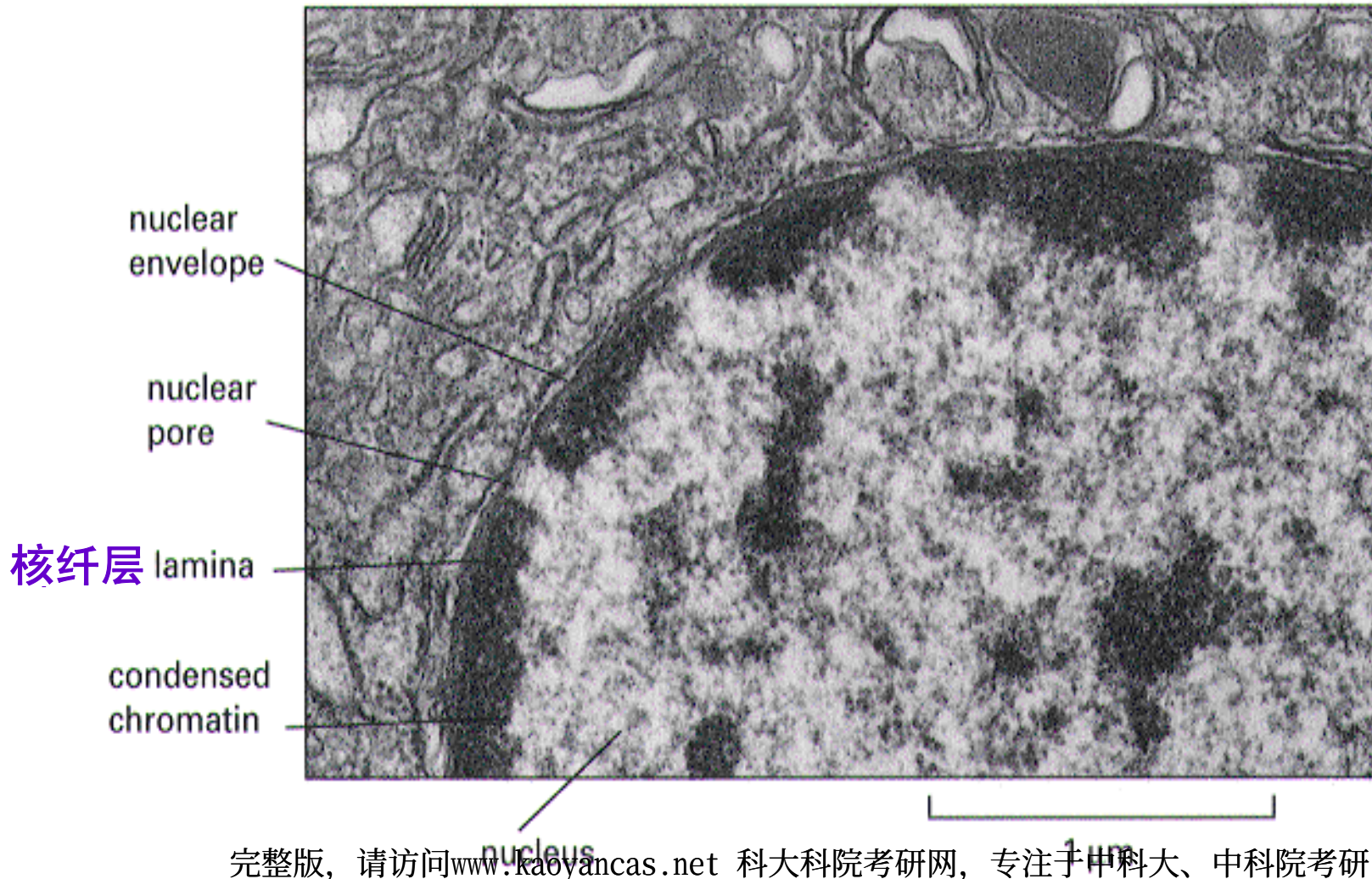
完整版，请访问www.kaoyancas.net 科大科院考研网，专注于中科大、中科院考研

核被膜 (nuclear envelope)

核被膜是双层膜结构

- 构成：①**内核膜**（inner nuclear membrane）
②**外核膜**（outer nuclear membrane）③**核周隙**（perinuclear space）
- **外核膜**：内质网的一部分，胞质面附有核糖体。
- **核周隙**：宽20~40nm，与内质网腔相通。
- **核纤层**：位于内核膜的内表面的**纤维网络**，可支持核膜，并与**染色质**及**核骨架**相连。

The nuclear envelope

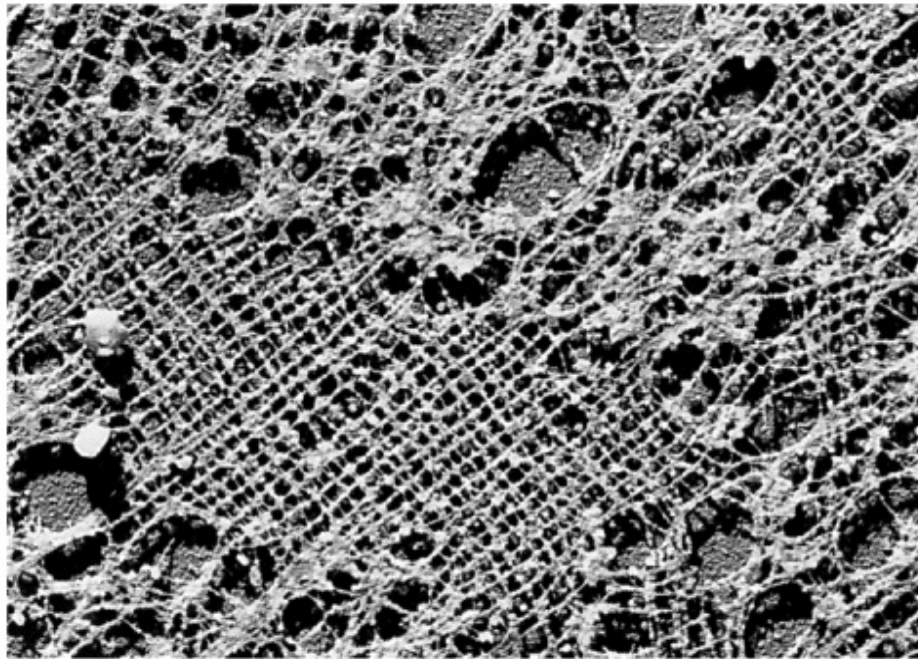


核纤层由**核纤肽**（**lamin**）构成，核纤肽一类中间纤维，分为**A、B**两型。作用：

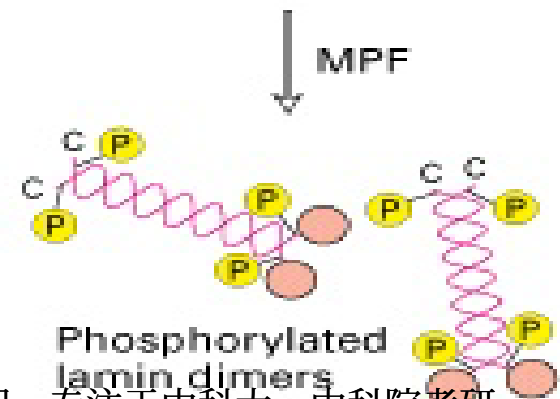
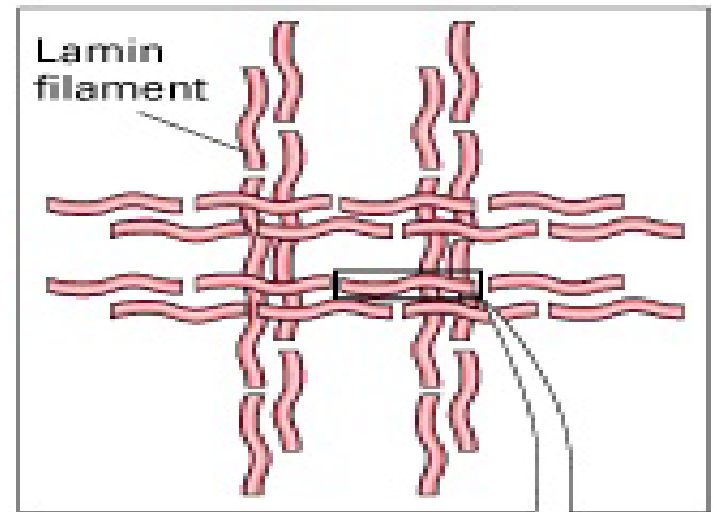
1. **保持核的形态：**
2. **参与染色质和核的组装：**核纤层在细胞分裂时呈现出周期性的变化，在间期核中，**核纤层提供了染色质（异染色质）在核周边锚定的位点**。在前期结束时，核纤层被**磷酸化**，**核膜解体**。其中B型核纤肽与核膜残余小泡结合，A型溶于胞质中。在分裂末期，**核纤肽去磷酸化重新组装**，介导了核膜的重建。

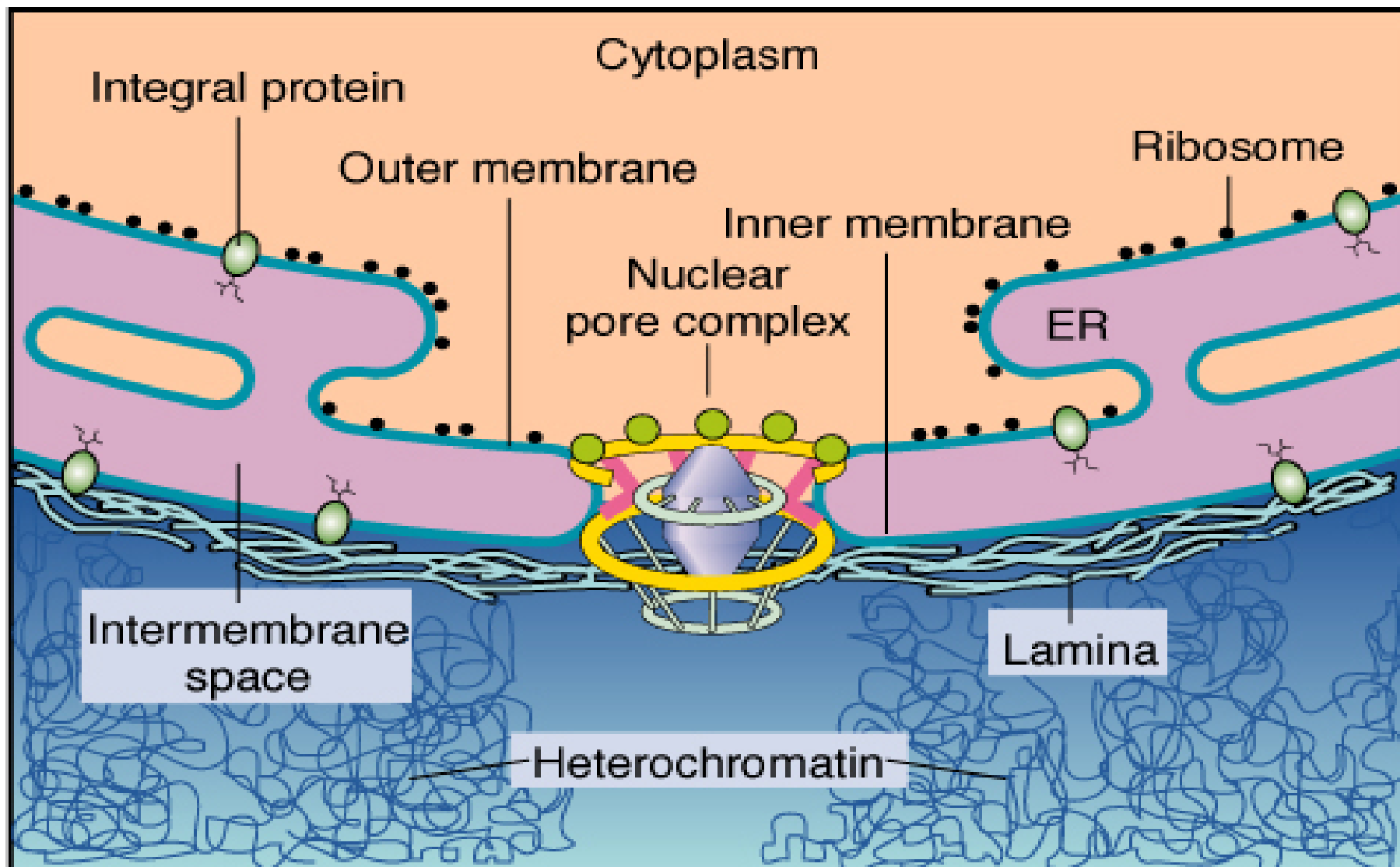
Lamins

(a)



1 μm



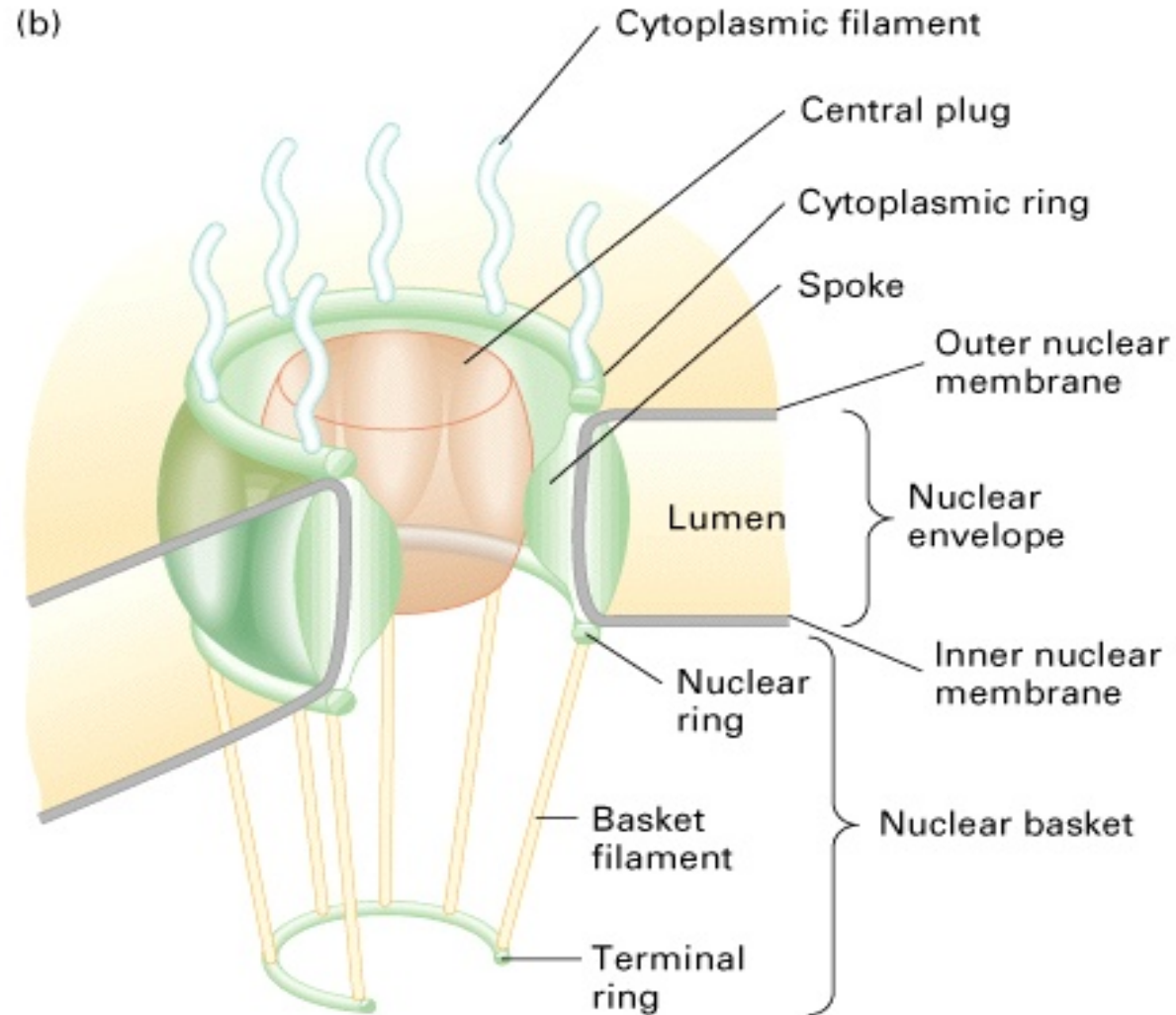


(a)

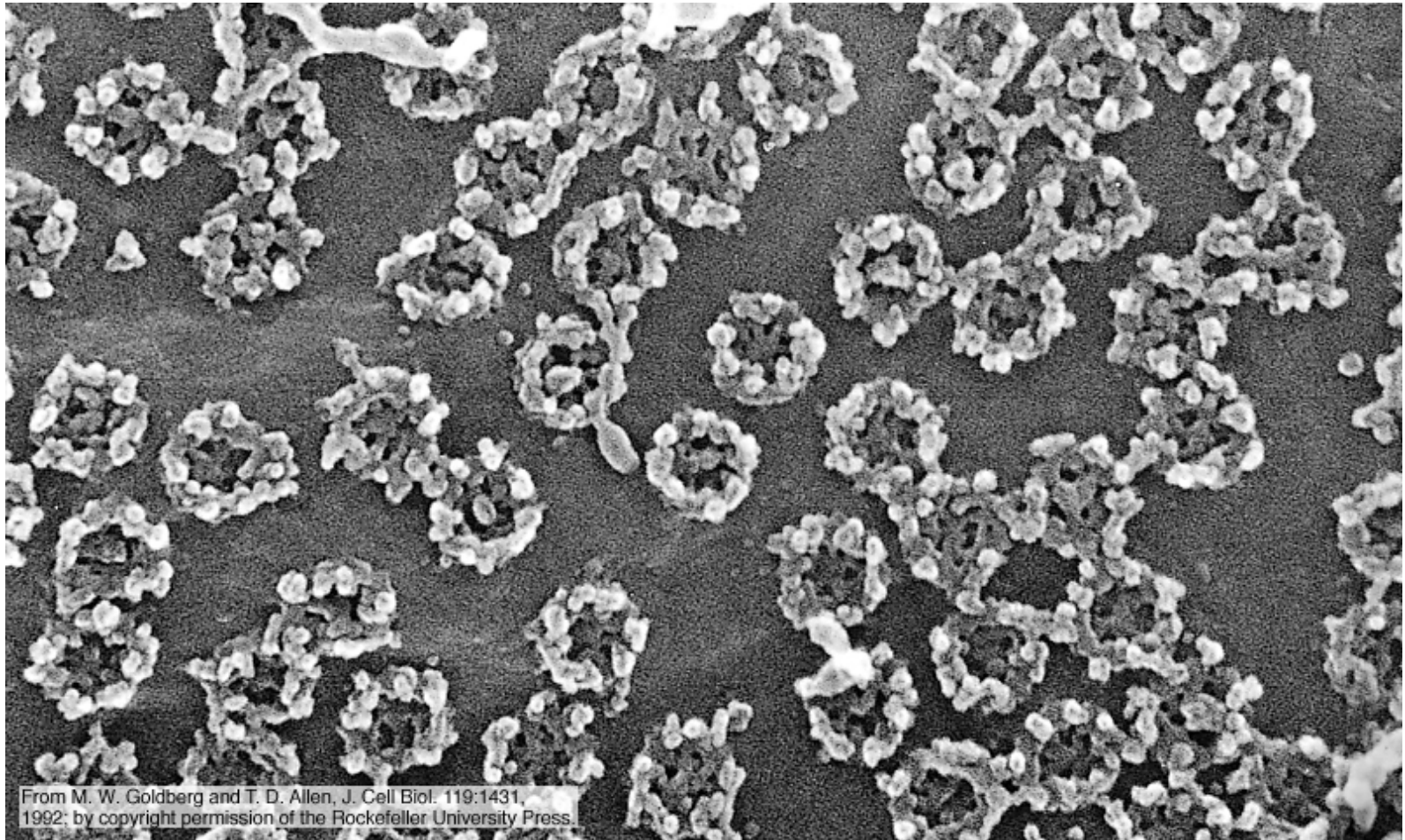
核孔是物质运输的通道

- 核孔由至少50种不同的蛋白质（nucleoporin）构成，称为核孔复合体（nuclear pore complex, NPC）。
- 一般哺乳动物细胞平均有3000个核孔。
- 细胞核活动旺盛的细胞中核孔数目较多，反之较少。
- 在电镜下观察，核孔是呈圆形或八角形，现在一般认为其结构如fish-trap。

The Nuclear Pore

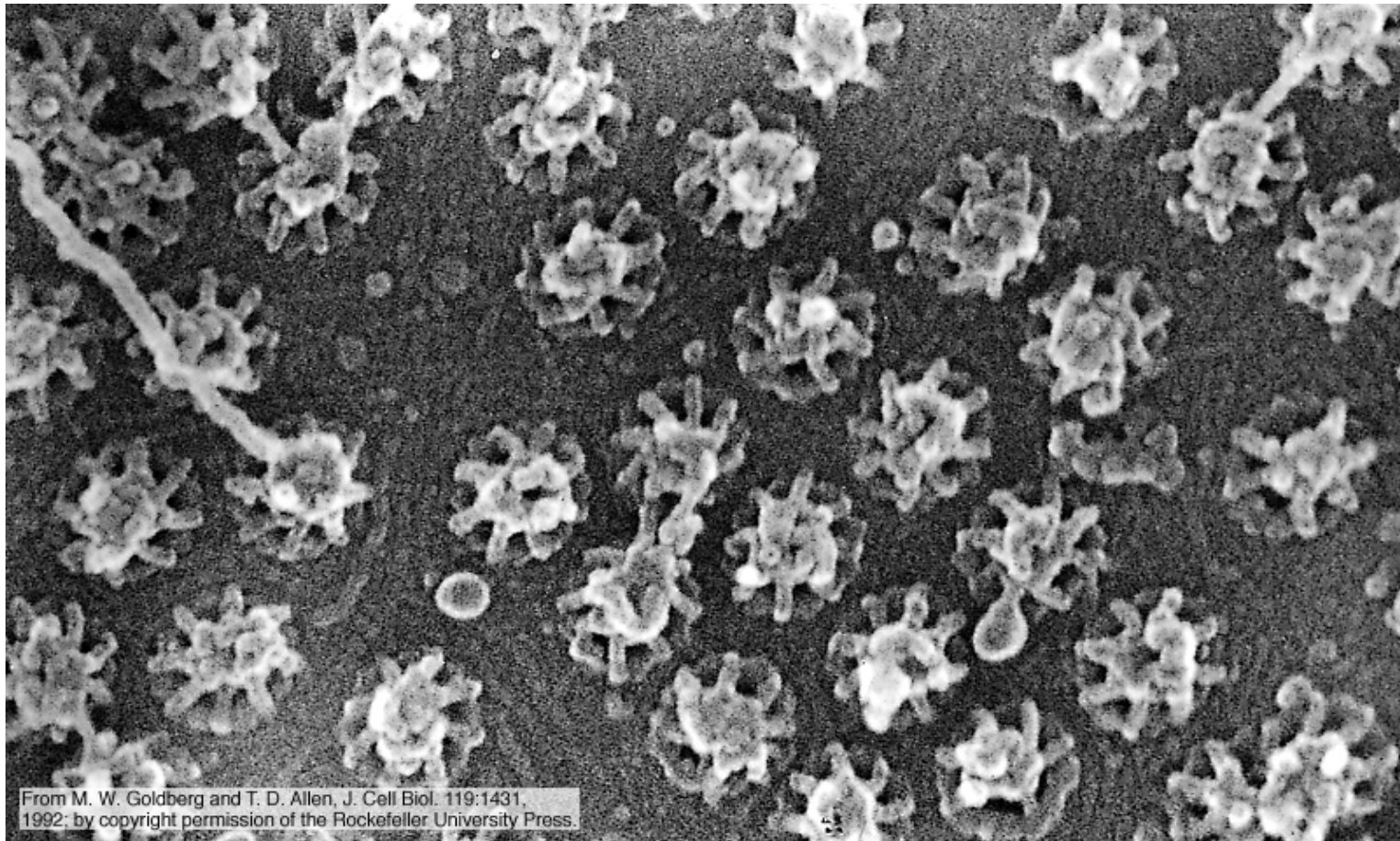


Cytoplasmic particles (cytoplasmic face)



From M. W. Goldberg and T. D. Allen, J. Cell Biol. 119:1431, 1992; by copyright permission of the Rockefeller University Press.

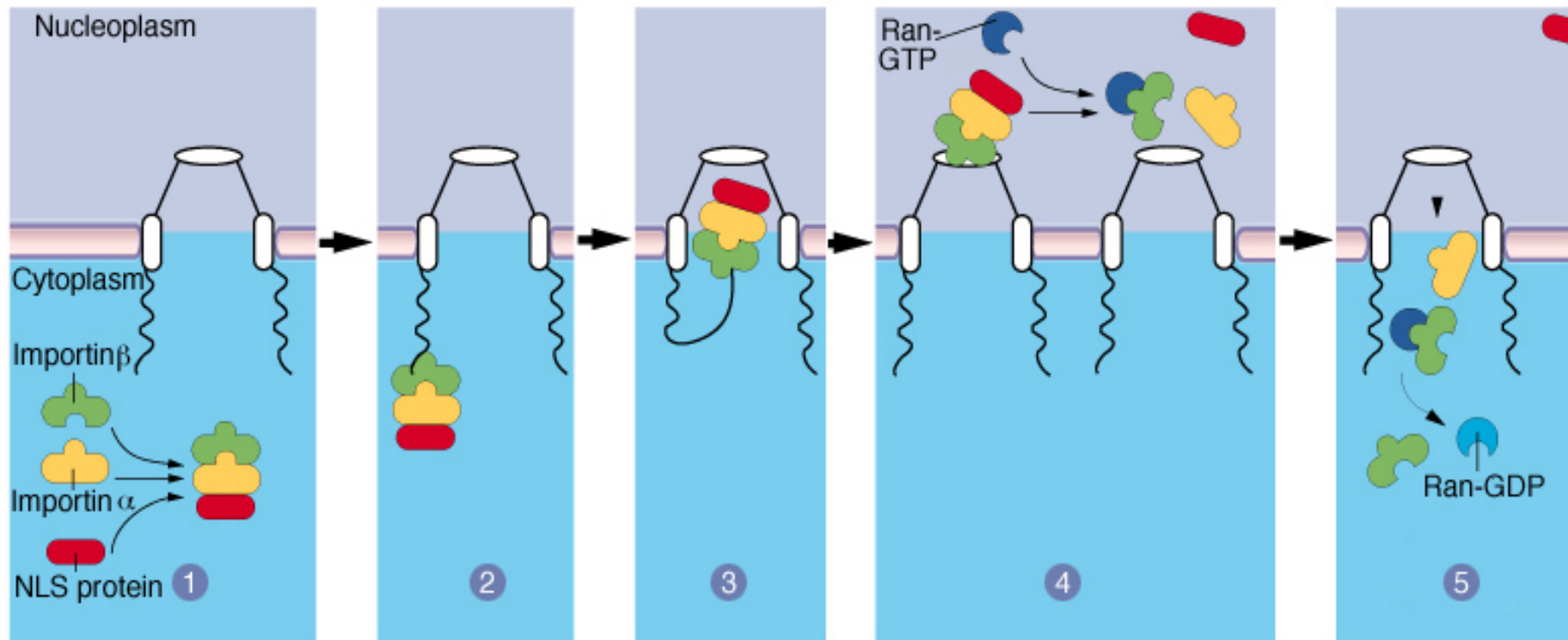
Basket inner complex (nuclear face)



通过核孔的蛋白与信号序列有关

- **核定位信号**（**nuclear localization signal, NLS**）：引导蛋白质进入细胞核的一段信号序列。受体为**importin**。**NLS**对连接的蛋白质无特殊要求，完成输入后不被切除。--PKKKRKV--
- **核输出信号**（**nuclear export signal, NES**），引导核蛋白输出细胞核，受体为**exportin**。**IXXLXXLLXL**
- **Ran蛋白**，一类**G蛋白**，调节货物复合体的解体或形成。

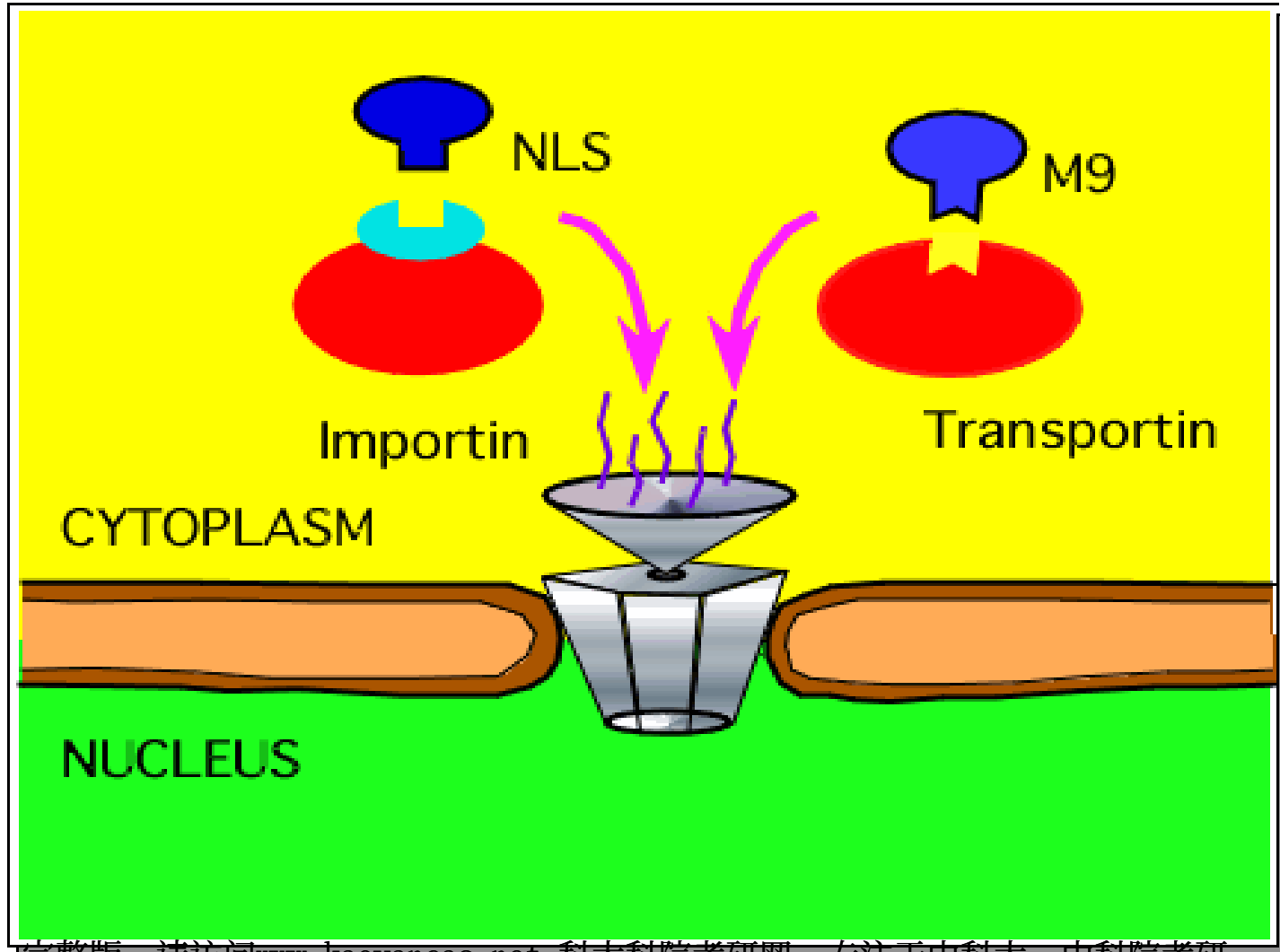
Process of Nuclear Import



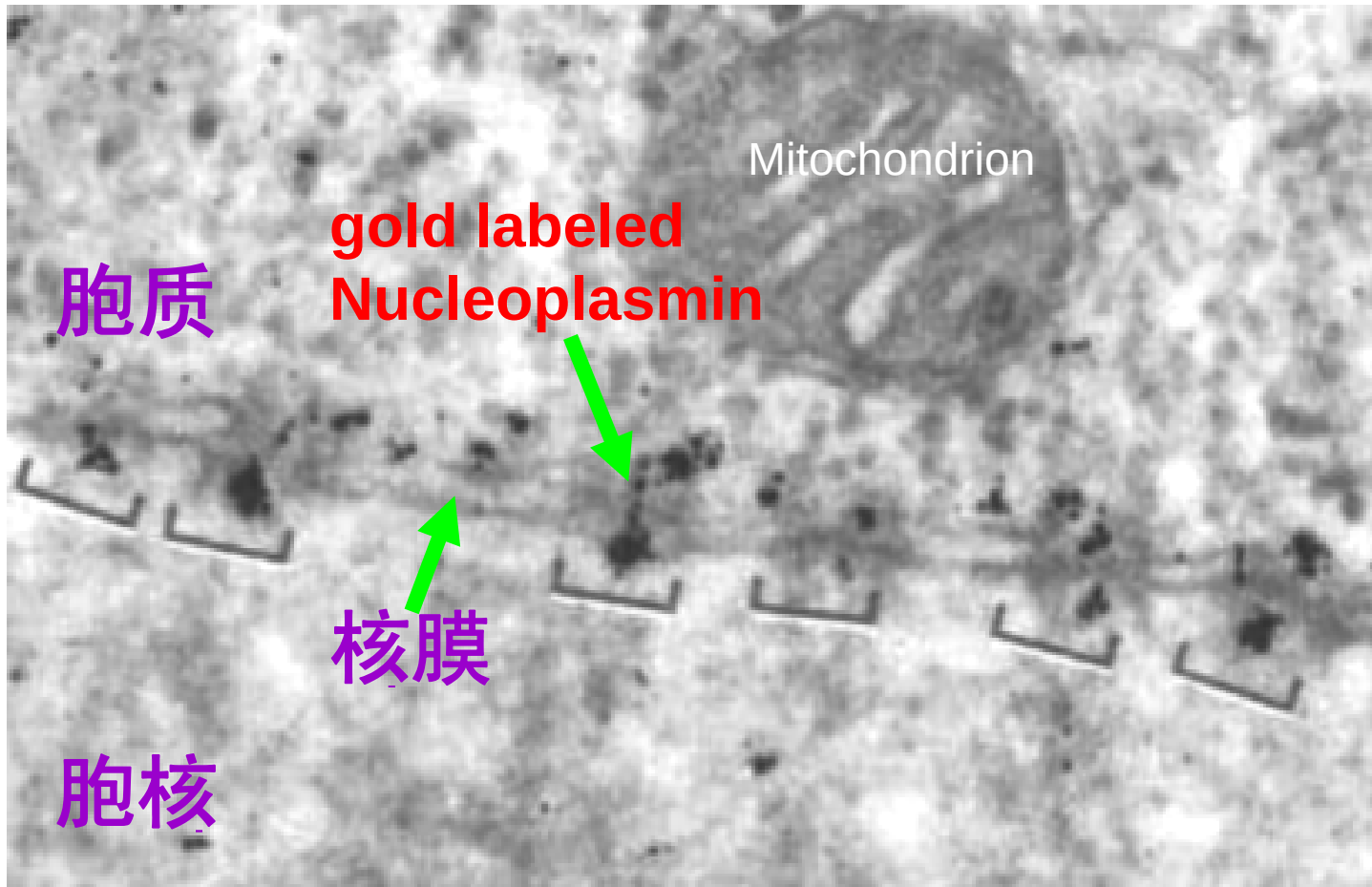
(a)

Copyright 1999 John Wiley and Sons, Inc. All rights reserved.

M9 domain (the C-terminal 38-residue NLS of hnRNP A1)



Colloidal gold labeled Nucleoplasmin were transported into nucleus.



染色体

- 1848年，Hofmeister发现于鸭跖草的小孢子母细胞。
- 1879年，W. Flemming提出Chromatin（染色质）。
- 1888年，Waldeyer提出Chromosome(染色体)。

染色质的化学组成

- 组成：DNA、组蛋白、非组蛋白、少量RNA
- 比例：1:1:(1-1.5):0.05。



A Bank in Spain

完整版，请访问www.kaoyancas.net 科大科院考研网，专注于中科大、中科院考研

核酸研究发展史

1869年 Miescher博士论文工作中测定淋巴细胞蛋白质组成时，发现了不溶于稀酸和盐溶液的沉淀物，并在所有细胞的核里都找到了此物质，故命名“核质(Nuclein)”

1879年 Kossel经过10年的努力，搞清楚核质中有四种不同的组成部分：A, T, C 和 G;

1889年 Altman建议将“核质”改名为“核酸”，并且已经认识到“核质”乃“核酸”与蛋白质的复合体。

核酸研究发展史

1909年 Levene 发现酵母的核酸含有核糖

1930年 Levene 发现动物细胞的核酸含有一种特殊的核糖——脱氧核糖，得出了一个错误概念：植物核酸含核糖，动物核酸含脱氧核糖。这个错误概念一直延续到1938年，这时才清楚RNA和DNA的区别。Levene还提出了核酸的“磷酸—核糖(碱基)—磷酸”的骨架结构，解决了DNA分子的线性问题，还在1935年提出“四核苷酸”，认为这四种碱基的含量是一样的。

核酸研究发展史

1950年 Chargaff,E和Hotchkiss,R.D. 采用纸层析法仔细分析了DNA的组成成分，得知
 $[A]=[T]$ ， $[G]=[C]$ ， $[A+G]=[C+T]$

1953年 Watson, Crick根据DNA的X射线图谱的研究结果，提出了DNA的双螺旋模型(Double helix)。几星期后提出了半保留式复制模型。

1957年 Meselson & Stahl用密度梯度超离心法，证实半保留复制假说。

核酸研究发展史

1958年 Kornberg得到高纯度的 DNA polymerase，这种酶需要一个模板DNA。

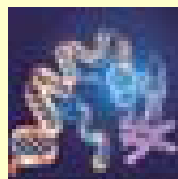
1960年 Cairns索性将复制中的细菌DNA的电镜照片拍了下来。

1970年 发现第一个DNA限制性内切酶。

1972年 DNA重组技术的建立。

1978年 双脱氧DNA测序法的建立。

1990年 人类基因组计划实施。



DNA和基因组

某生物体所含的全部基因称该生物体的**基因组**。

物种	基因组	基因数目	物种	基因组	基因数目
MS2噬菌体	3.6 kb	4	裂殖非洲粟酒酵	20 Mbp	6,000
Q β 噬菌体	4.2 kb	3	盘基网柄菌	47 Mbp	7,000
SV40	5.2 kbp	8	秀丽隐杆线虫	100 Mbp	19,100
Φ X174	5.4 kbp	9	拟南芥	70 Mbp	25,500
TMV	6.4 kb	4	水稻(籼稻)	74.8 Mbp	46,022~66,616
HIV	9.3 kb	10	黑腹果蝇	165 Mbp	13,000
腺病毒2	35.9 kbp	11	河豚鱼	400 Mbp	70,000
λ 噬菌体	48.5kbp	50	担尼鱼	1.9 Gbp	70,000
T4噬菌体	169 kbp	300	非洲爪蟾	2.9 Gbp	70,000
大肠杆菌	4.64 Mbp	4,288	小鼠	3.3 Gbp	70,000
酿酒酵母	13.5 Mbp	5,885	人	3.3 Gbp	31,000

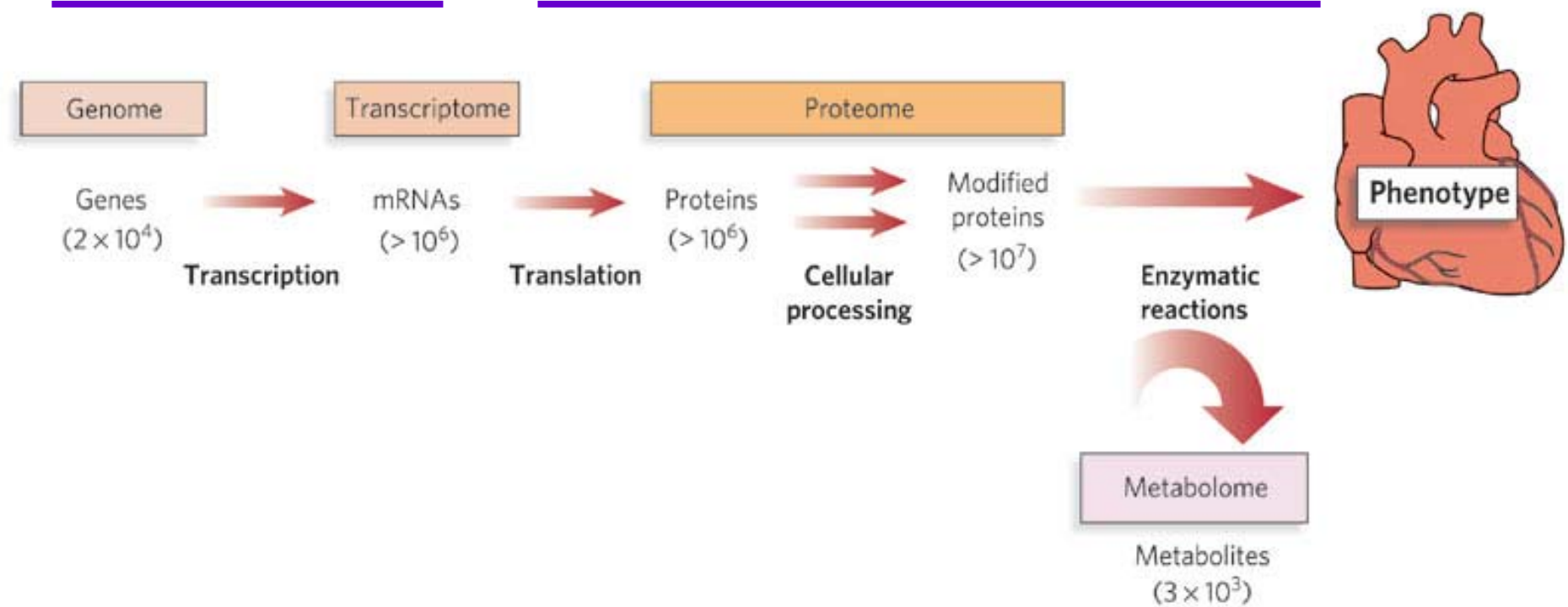
完整版，请访问www.kaoyancas.net 科大科院考研网，专注于中科大、中科院考研

- **bp** = **base pair(s)**—one bp corresponds to circa 3.4 Å of length along the strand
- **kb** (= kbp) = **kilo base pairs** = 1,000 bp
- **Mb** = **mega base pairs** = 1,000,000 bp
- **Gb** = **giga base pairs** = 1,000,000,000 bp

Genotype to Phenotype

细胞核

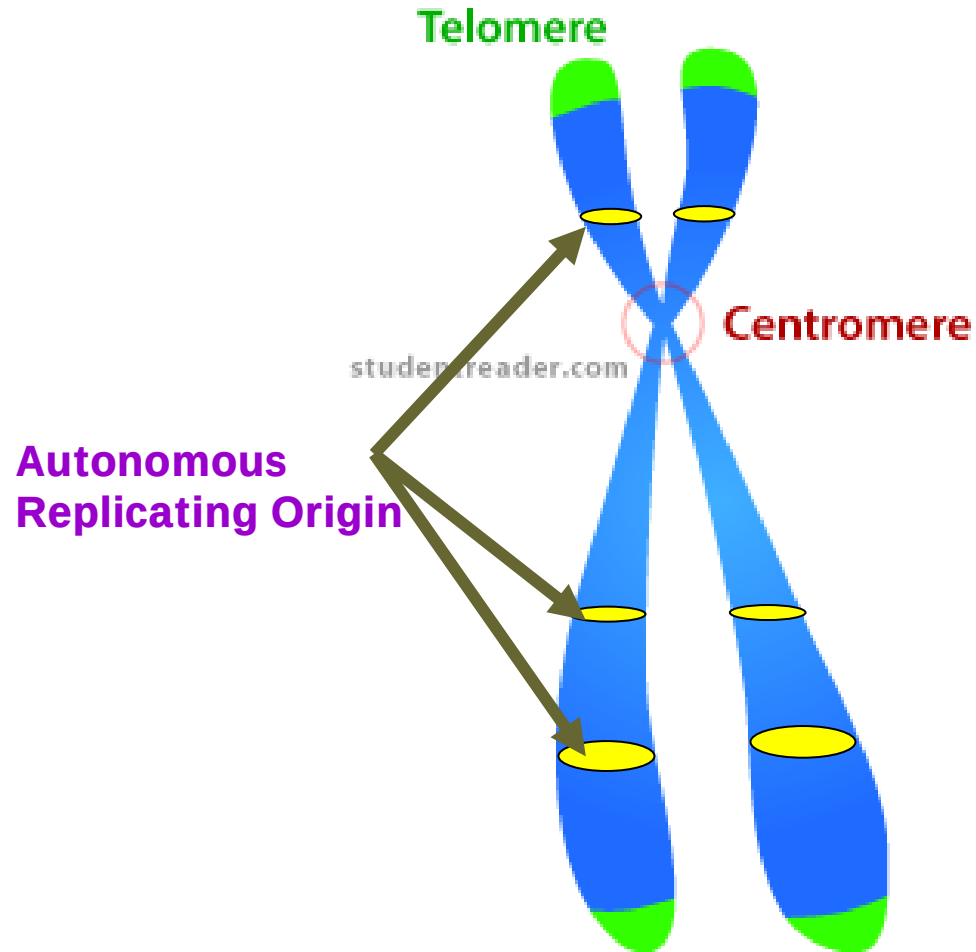
细胞质



DNA

- 3种序列：①单一序列；②中度重复序列（ $10^1 \sim 10^5$ ）*Alu*家族 130bp；单倍体人基因组50万-100万拷贝（灵长类基因组特有的含量丰富的短散在重复序列）③高度重复序列（ $>10^5$ ）有的重复单位长度不超过 6bp 。
- 3种构像：①B-DNA、②Z-DNA、③A-DNA。
- 3种基本元素：
 - ①自主复制序列(*ARS*)，是DNA复制的起点。
 - ②着丝粒序列(*CEN*)，含 α 卫星DNA。
 - ③端粒序列(*TEL*)。

Three key regions of a chromosome

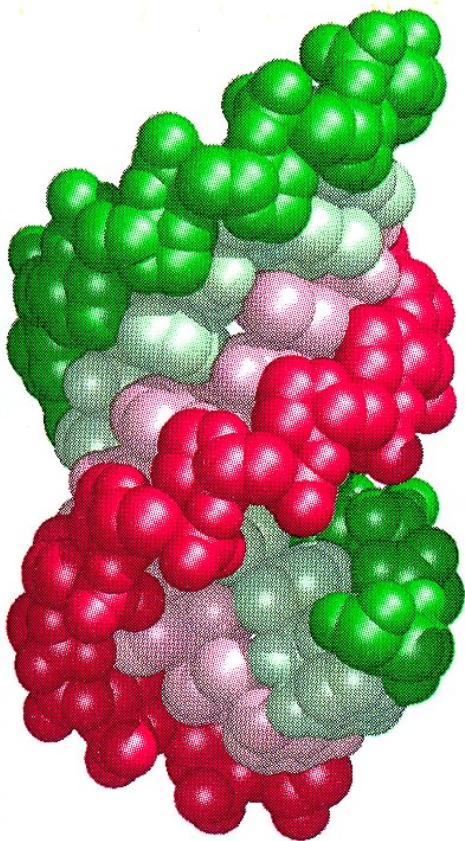


Metaphase Chromosome

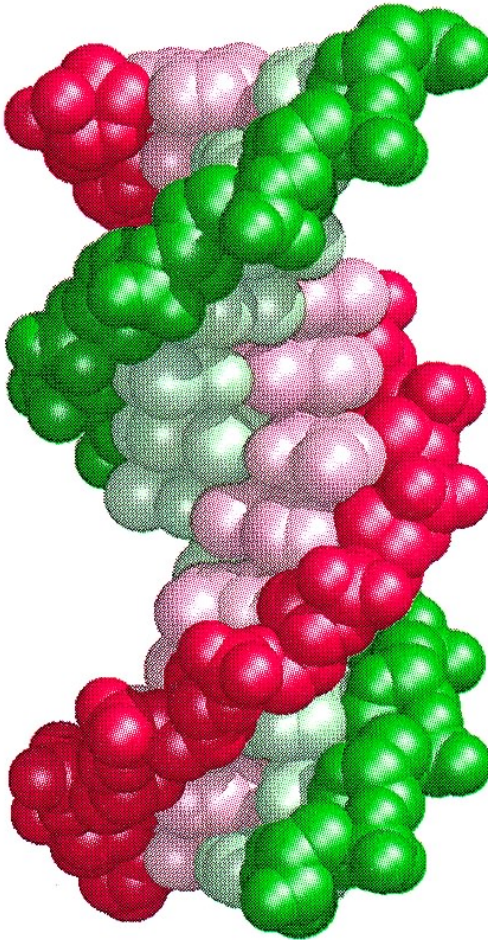
2 Identical Sister Chromatids

Three DNA conformations

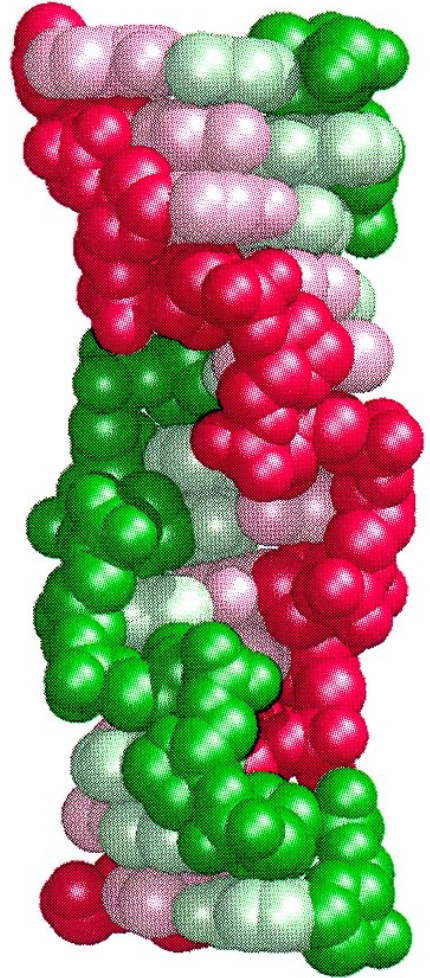
A



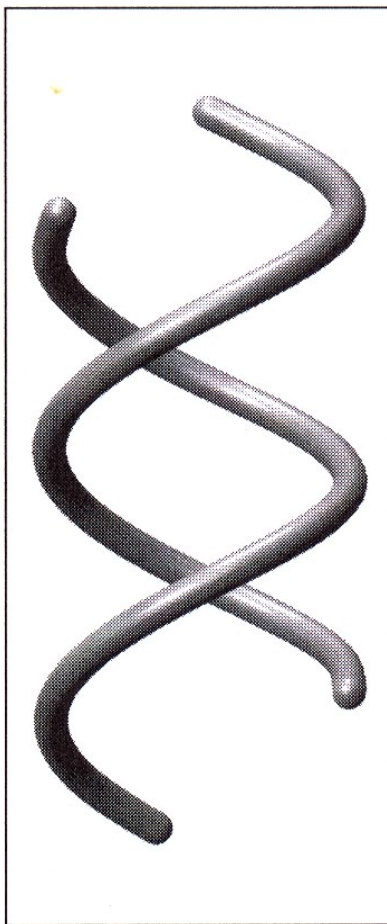
B



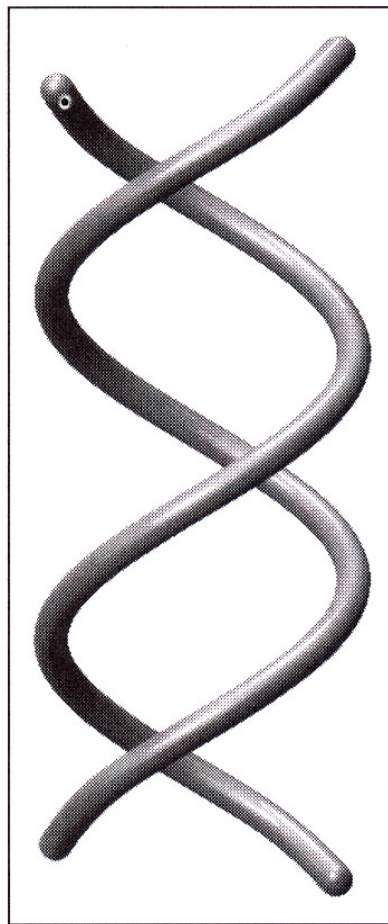
Z



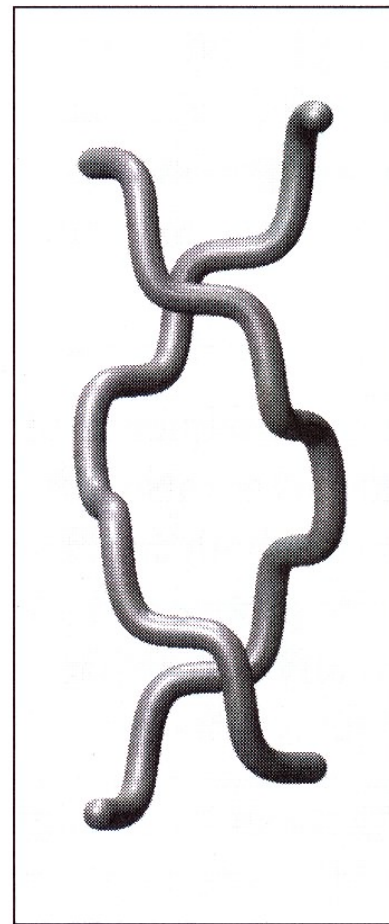
A



B



Z



- 1、A-DNA更紧密，每个碱基平面距离为0.256nm，每圈螺旋有11对碱基，螺距为2.8nm；B-DNA碱基距离为0.338nm，每圈螺旋有10对碱基，螺距为3.4nm。
- 2、C和G之间核苷酸中脱氧核糖的折叠不同，A-DNA是C3'在内，B-DNA是C2'在内。
- 3、B-DNA大沟、小沟的深度基本是一致的，只是大沟较宽；A-DNA大沟变窄、变深，小沟变宽、变浅。
- 4、Z-DNA糖-磷酸主链的走向呈“之”字形，分子呈左手螺旋构象。
- 5、Z-DNA较B-DNA细而舒展，螺旋直径为1.8nm，每个碱基平面距离是0.37nm，每圈含12对碱基，螺距为4.5nm。
- 6、Z-DNA是C3'在内与A-DNA相同。
- 7、Z-DNA仅有一条小沟，且较深，含有较高的负电荷密度。

Z-DNA的形成是DNA单链上出现嘌呤与嘧啶交替排列所成的。
比如CGCGCGCG或者CACACACA

几种DNA钠盐的特点

B-DNA： 生理状态下多为此种； 92%相对湿度

A-DNA： 右手螺旋； 75%相对湿度； 生理状态下多见dsRNA、DNA-RNA

Z-DNA： 人工合成、左手螺旋； 嘧啶、嘌呤交替； 有 m^5dC （Poly(dG- m^5dC) is known to convert from a right- to a left-hand helix）； 与基因表达调控有关；

组蛋白

- 带正电荷，含**Arg**，**Lys**，属碱性蛋白，共5种，分为：
核心组蛋白（core histone）：**H2A、H2B、H3、H4**；连接组蛋白（linker histone）：**H1**。
- 结构：高度保守，尤其是H4。
核心组蛋白由球形部和尾部构成，球形部借**Arg**与磷酸二脂骨架间的静电作用使DNA分子缠绕在组蛋白核心上，形成核小体，尾部含有大量**Arg**和**Lys**，为组蛋白转译后进行修饰的部位。
- **H1**多样性，具有属（genus）和组织特异性。

非组蛋白

- 非组蛋白具有多样性，占染色质蛋白60-70%
- 含有较多天冬氨酸、谷氨酸，带负电荷。
- 整个细胞周期都进行合成，组蛋白只在S期合成
- 能识别特异的DNA序列，识别与结合籍氢键和离子键。
- 功能：帮助DNA折叠；协助DNA复制；调节基因表达。

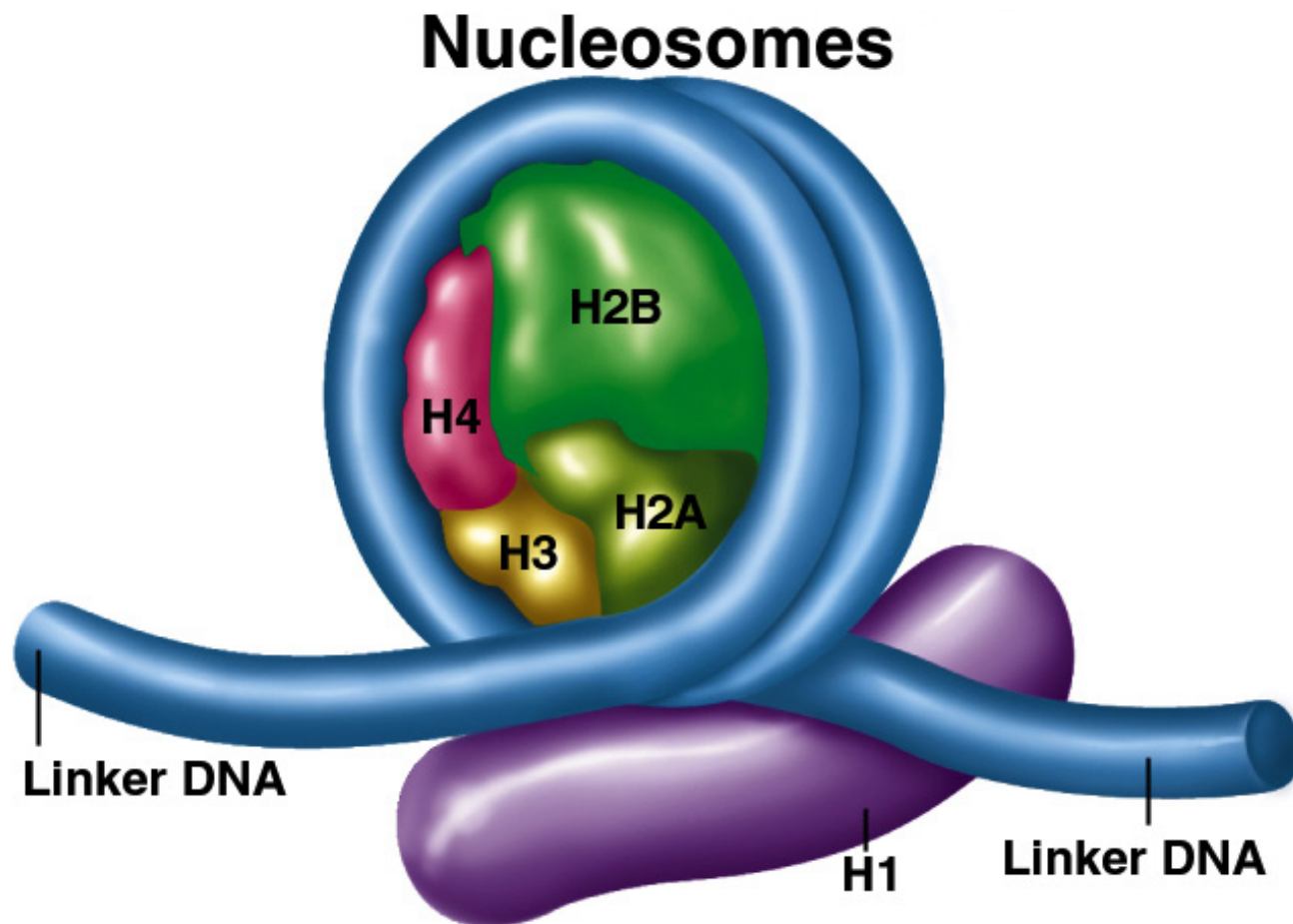
染色质的结构

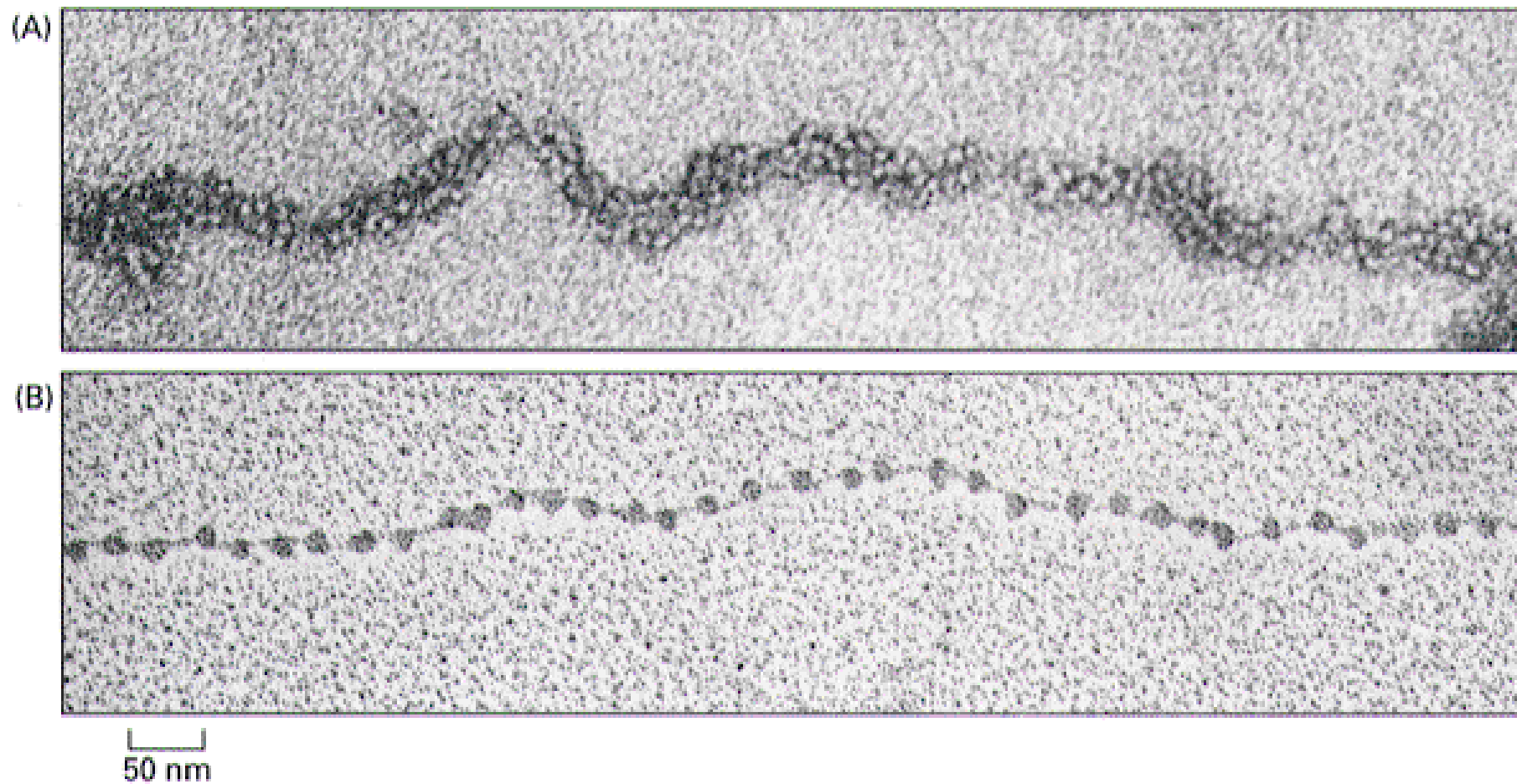
人体的一个细胞核中有23对染色体，每条染色体的DNA双螺旋若伸展开，平均长为5cm，核内全部DNA连结起来约1.7 ~ 2.0m。

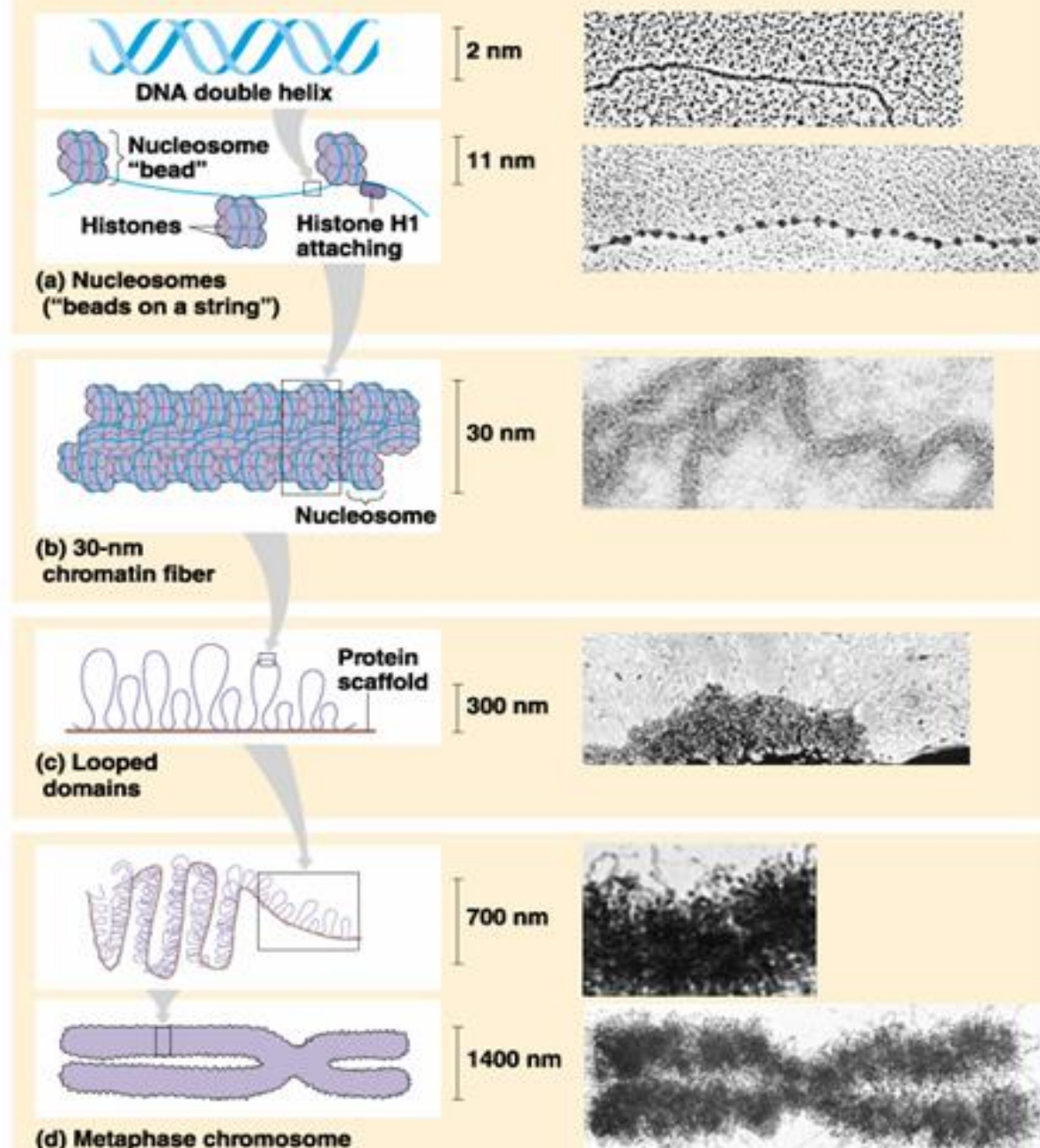
从DNA到染色体

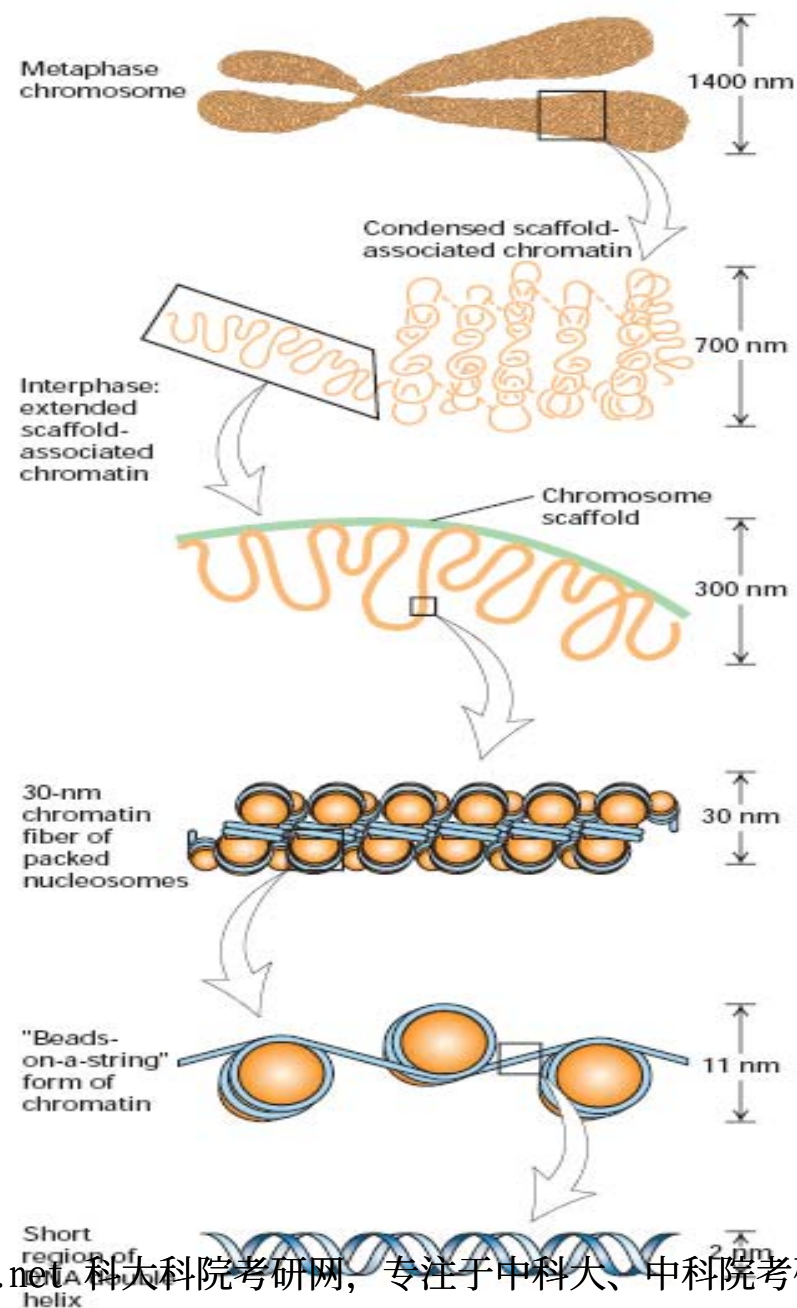
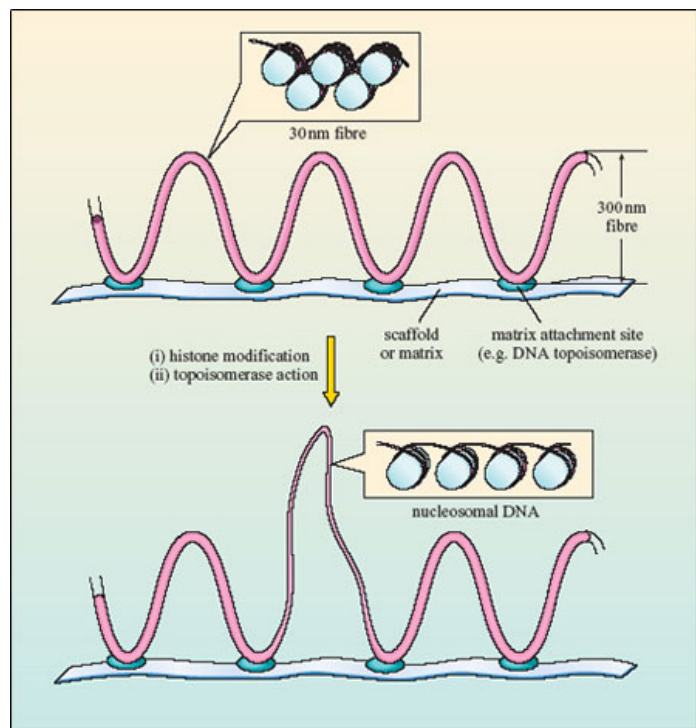
核小体（nucleosome）：一种串珠状结构，由核心颗粒和连结线DNA两部分组成，通过酶消化实验建立。

- ①每个核小体单位包括约200bp的DNA、一个组蛋白核心和一个H1；
- ②由H2A、H2B、H3、H4各两分子形成八聚体，构成核心颗粒；
- ③DNA分子以左手螺旋缠绕在核心颗粒表面，每圈80bp，共1.75圈，约146bp，两端被H1锁合；
- ④相邻核心颗粒之间为一段60bp的连接线DNA。

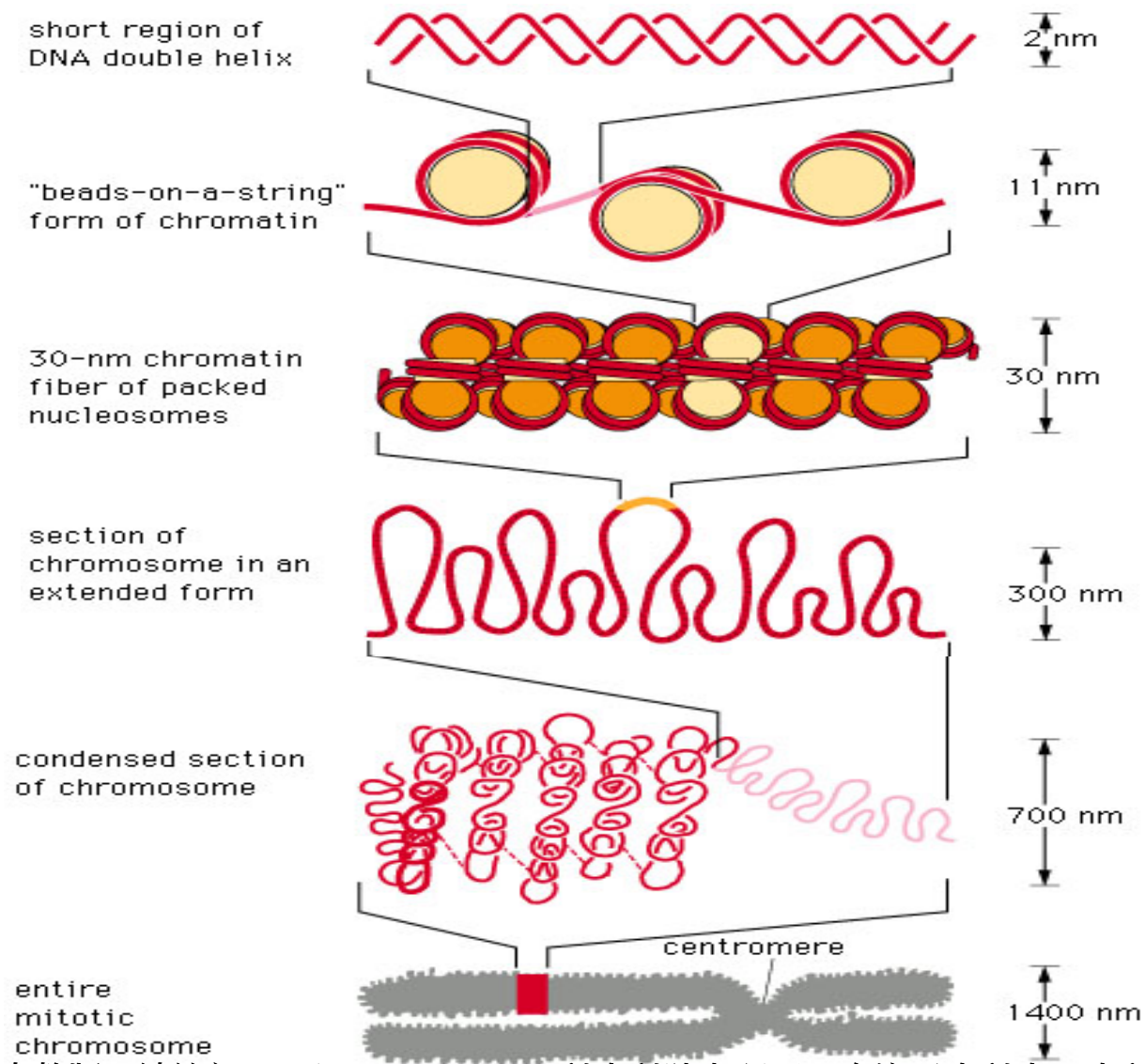








Chromatin Packing



异染色质和常染色质

间期核中染色质可分为异染色质（**heterochromatin**）和常染色质（**enchromatin**）。异染色质的特点：

- ①在间期核中处于凝缩状态，无转录活性、是遗传惰性区。
- ②在细胞周期中表现为晚复制、早凝缩（异固缩现象）。
- ③分为两类：**结构（恒定）异染色质（constitutive heterochromatin）**、**兼性（功能）异染色质（facultative heterochromatin）**

转录前调控

- DNA水平的调控：是真核生物发育调控的一种形式，它包括：基因丢失、扩增、重排、甲基化等方式。

基因丢失：目前认为这种调节方式主要是在较低等的真核生物中。如马蛔虫，只有在生殖细胞核中保持个体发育的全部基因，而体细胞核中却失去了一部分基因。在原生动物和昆虫中也有类似现象，体细胞不具有全能性。高等生物没有发现类似的现象，可进行体细胞核移植。

异染色质化

如水蜡虫（*Pseudococcus nipae*）（ $2n=10$ ）在体细胞里来自父本的5条染色体依次被异染色质化，在精子形成时丢失，只保留来自母本的5条染色体。

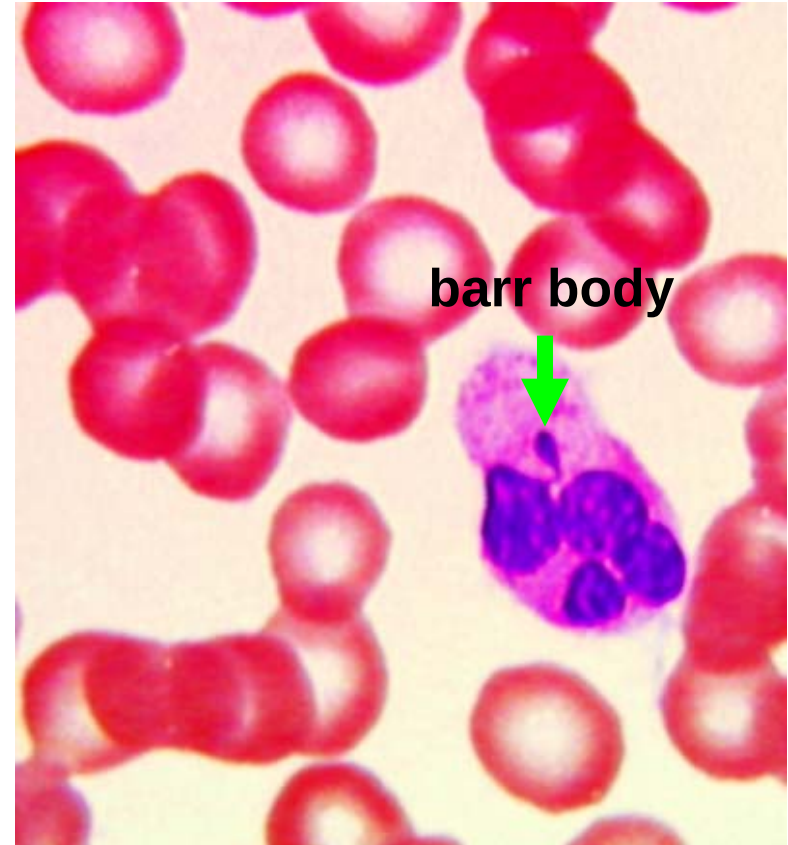
剂量补偿（dosage compensation）

雌性哺乳动物X染色体的失活

莱昂假说（Lyon hypothesis）

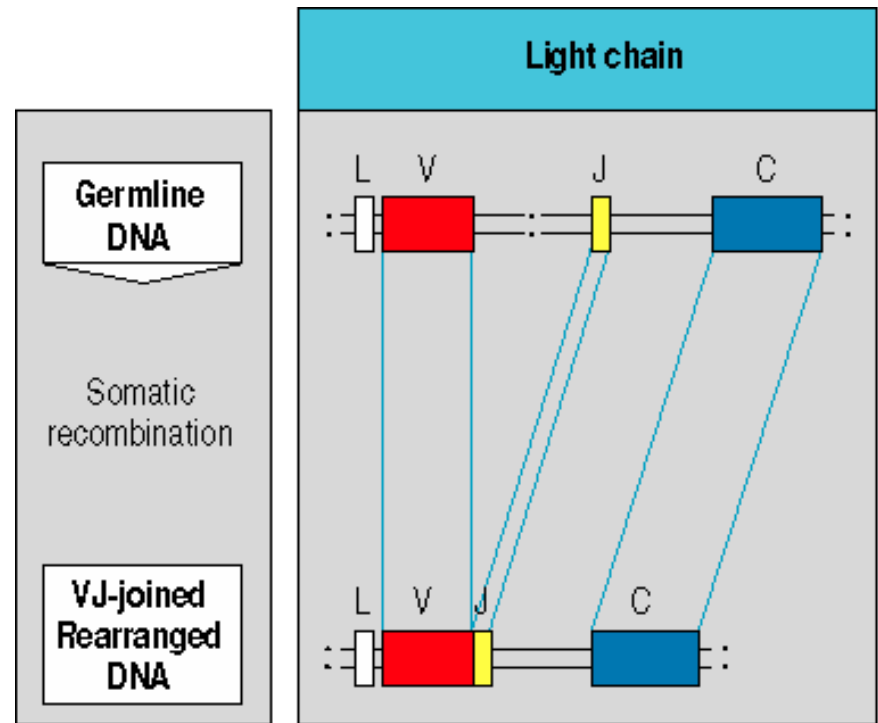
- 巴尔小体是一个失活的X染色体，失活的过程就称为莱昂化（lyonization）；
- 在哺乳动物中，雌性个体细胞中的两个X染色体中有一个X染色体在受精后的第16天（受精卵增殖到5000–6000，植入子宫壁时）失活；
- 两条X染色体中哪一条失活是随机的；
- X染色体失活后，细胞继续分裂形成的克隆中，此条染色体都是失活的；
- 生殖细胞形成时失活的X染色体可得到恢复。

- 巴氏小体（**barr body**）。
雌性哺乳动物细胞中一条异固缩化的X染色体。
- 人的胚胎发育到16天以后， 出现巴氏小体。



(2) **基因扩增**：是指某些基因的拷贝数专一性大量增加的现象。它使得细胞在短期内产生大量的基因产物以满足生长发育的需要，是基因活性调控的一种方式。如：非洲爪蟾的卵母细胞中原有rRNA基因约500个拷贝，在减数分裂I的粗线期，这个基因开始迅速复制，到双线期它的拷贝数约为200万个，扩增近4000倍，以满足卵裂期间和胚胎期间合成大量蛋白质的需要。是基因调控的一种方式。

(3) **基因重排**：一个基因可以通过远离其启动子的地方移到距它很近的位点，而被启动转录，这种方式称为基因重排。如：小鼠免疫球蛋白结构基因的表达：Ig分子的肽链主要是由V区、C区及两者间的J区组成的，而且V基因、C基因、和J基因在小鼠胚胎细胞中是相隔较远的。当免疫球蛋白形成细胞（淋巴细胞）发育分化时，能通过染色体内重组，把3个远离的基因紧密的连接在一起，从而产生免疫球蛋白Ig分子。

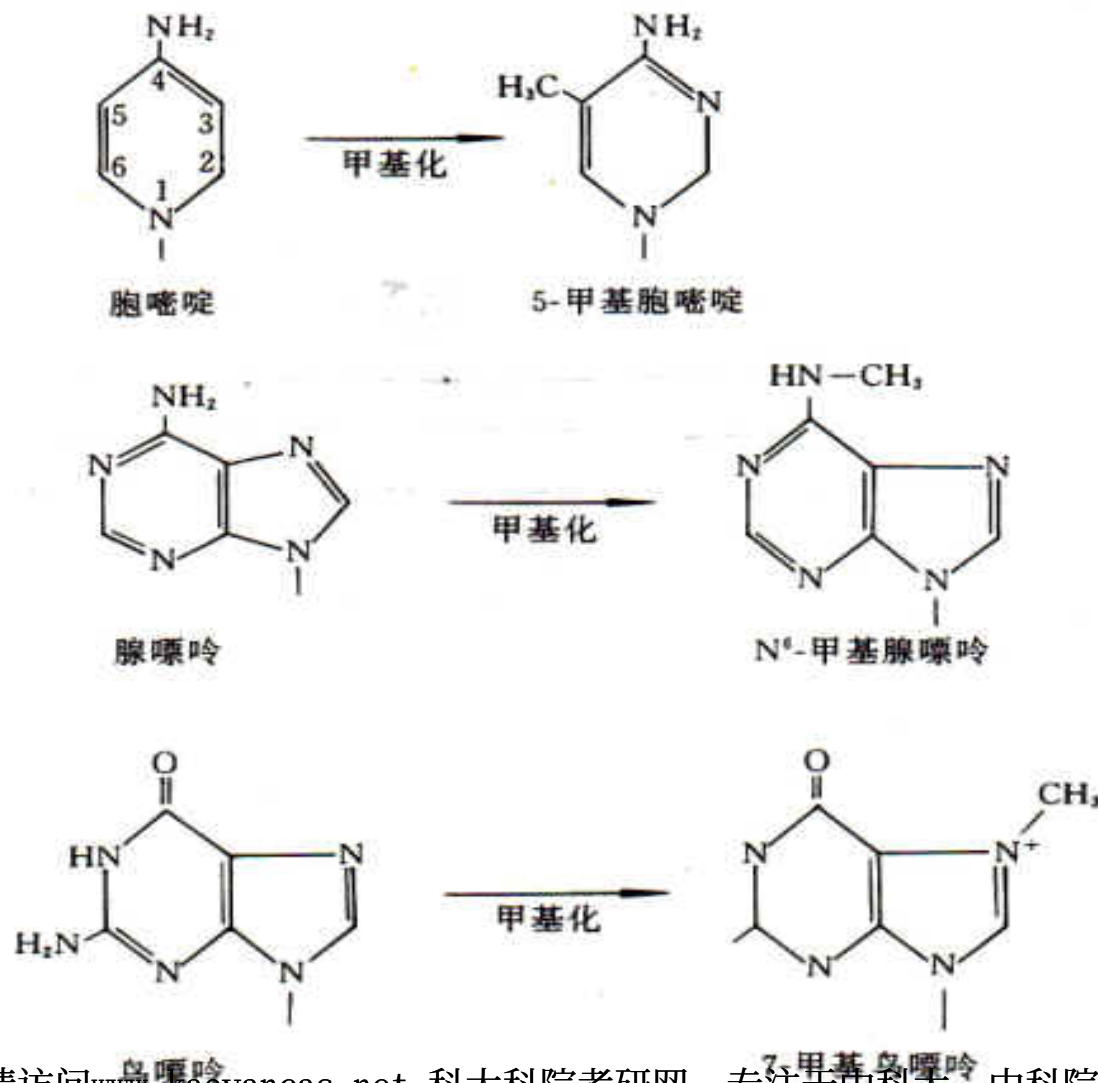


DNA甲基化

DNA甲基化 (Methylation of DNA) 為DNA化學修飾的一種形式， 能夠在不改變DNA序列的前提下， 改變遺傳表現。

(4) DNA甲基化是一种重要的基因组表观遗传修饰，参与调控许多细胞过程包括胚胎发育、转录、染色质结构、X染色失活、基因组印迹以及染色体稳定性。同这些重要功能相符合的是，越来越多的人类疾病被发现同DNA甲基化的异常有关。对这些疾病的研究提供了对DNA甲基化以及其他表观遗传修饰在发育和正常细胞动态平衡中的作用的新的认识。

DNA的甲基化

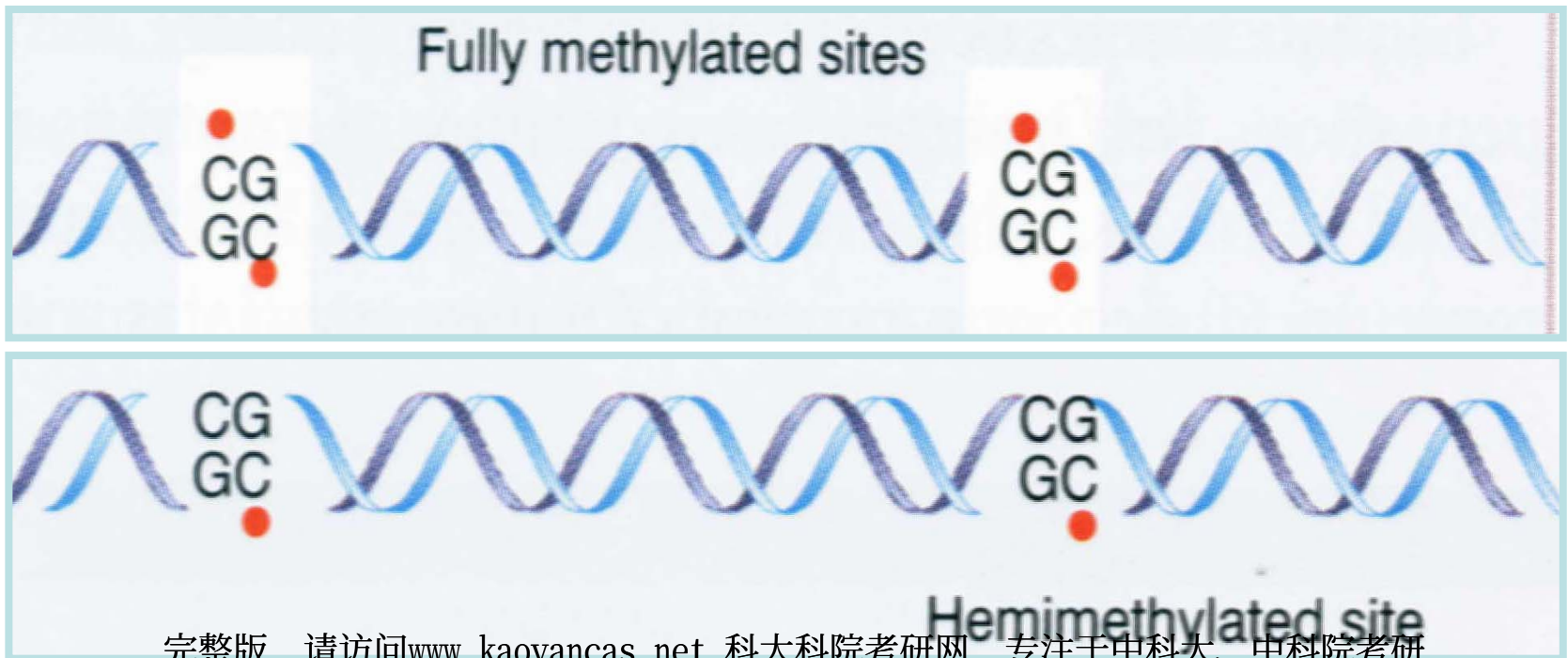


DNA 甲基化

- 所谓DNA甲基化是指在DNA甲基化转移酶的作用下，以S-腺苷甲硫氨酸(SAM)为甲基供体，在基因组CpG二核苷酸的胞嘧啶5'碳位共价键结合一个甲基基团。在脊椎动物中，CpG二核苷酸是DNA 甲基化发生的主要位点。
- CpG常成簇存在，人们将基因组中富含CpG的一段DNA 称为CpG岛(CpG island)，通常长度在1kb~2kb 左右。
- 正常情况下，人类基因组“垃圾”序列的CpG二核苷酸相对稀少，并且总是处于甲基化状态，与之相反，CpG岛常位于转录调控区附近，且在正常生理情况下，CpG 岛是非甲基化的。

在真核生物中，5-甲基胞嘧啶主要出现在CpG序列、CpXpG、CCA/TGG和GATC中

CpG二核苷酸通常成串出现在DNA上， CpG岛



真核生物细胞内存在两种甲基化酶活性

1 DNMT1，**持续性DNA甲基转移酶**——作用于**仅有一条链甲基化的DNA 双链**，使其完全甲基化，可参与DNA复制双链中的新合成链的甲基化

2 DNMT3a、DNMT3b**从头甲基转移酶**，它们可甲基化CpG，使其**半甲基化**，继而全甲基化。从头甲基转移酶可能参与细胞生长分化调控，其中DNMT3b在肿瘤基因甲基化中起重要作用。

甲基化一般会使基因失活即基因沉默，去甲基化又可以使基因重新恢复活性

体内甲基化状态有三种：

- 持续的低甲基化状态，如持家基因；
- 诱导的去甲基化状态，如发育阶段中的一些基因；
- 高度甲基化状态，如女性的一条缢缩的X 染色体。
- DNA去甲基化酶 仍没发现？