

第三章 蛋白质的转运、加工与修饰

第一节 蛋白质的转运

第二节 蛋白质的加工与修饰

第一节 蛋白质的转运

哺乳动物细胞大约含有 10,000 种蛋白质，
酵母约含 5,000 种

除了少量的蛋白质由线粒体和叶绿体
DNA 编码外，其余蛋白质都是由细胞核
DNA 编码，在细胞质（cytosol）游离核
糖体（free ribosomes）上合成



细胞要发挥正常功能，必须使每一个蛋白质都要在膜（细胞膜，细胞器膜）或水相腔室（细胞质，细胞器基质或内膜腔）中正确定位。

如：

- 1、受体蛋白、离子通道蛋白和转运蛋白需要嵌在质膜内；
- 2、DNA、RNA聚合酶需送到核（nucleus）；
- 3、蛋白酶（proteolytic enzymes）和过氧化氢酶（catalase）应分别转运至溶酶体（lysosome）和过氧化物酶体（peroxisome）；
- 3、其他如细胞外间质（ECM）和激素则需要分泌到细胞外。

蛋白质的转运

一、信号序列（斑块）、跨膜疏水区和分拣信号

二、伴侣蛋白（chaperone）

三、翻译同步转运和翻译后转运

四、小泡运输的机制

五、受体介导的胞吞作用和内化蛋白质的分拣

六、高尔基复合体内蛋白质的分拣

一、信号序列（斑块）、跨膜疏水区 和分拣信号

1. 信号序列（斑块）

2. 跨膜疏水区

3. 分拣信号

1. 信号序列（斑块）（signal sequence/patch）

内质网（endoplasmic reticulum, ER）信号序列：

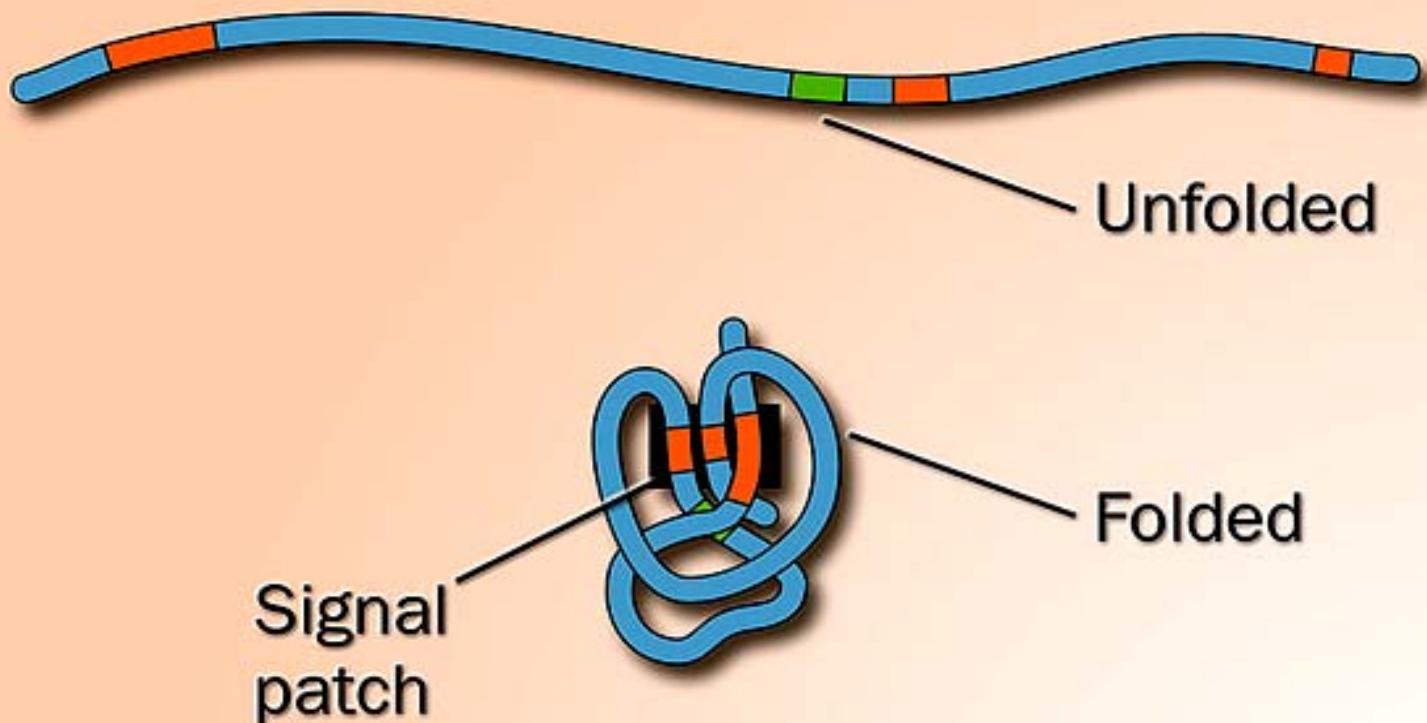
存在于所有分泌蛋白质的前体中。一般位于肽链
N-terminus，引导新生肽从细胞质进入内质网。

基质（matrix）信号序列：引导新合成的蛋白质经过跨
膜转运从细胞质进入细胞器基质。

内膜腔 (intermembrane space) 信号序列：
新合成的蛋白质进入基质后，基质信号序列被切除，然后由内膜腔信号序列引导蛋白质进入内膜腔（即内、外膜间隙）。

信号斑块：蛋白质分子中由于肽链折叠而使互不连续的肽段相互靠拢，而构成的局部立体结构，其功能与信号序列相似。

信号斑块



2. 跨膜疏水区

信号-锚定序列（**signal-anchor sequence**）：引导新生肽链从细胞质进入内质网并锚定在内质网膜中。

停止转运-锚定序列（**stop transfer-anchor sequence**）：停止新生肽链的转运并锚定在内质网膜中。

信号-停止转运-锚定序列（**signal-stop transfer-anchor sequence**）：兼有上述二者功能。

3. 分拣信号 (sorting signal)

存在于已合成的蛋白质中，能被特异的受体所识别，从而引导蛋白质到达合适的地点。

如溶酶体分拣信号 M6P、内质网分拣信号 KDEL 等 (赖天谷亮)

几种信号序列及分拣信号

Position of signal sequence	Function	Example of sequence
N-Terminal sequences	内质网信号序列	
C-Terminal sequences	线粒体蛋白信号序列	
Internal signals	内质网蛋白分拣信号 核定位序列 过氧化体分拣信号	

各种蛋白质含有一种或多种信号序列或跨膜疏水区，从而决定了它们在细胞内的精确定位。

二、伴侣蛋白 (chaperone)

- 细胞内 95% 以上的蛋白质处于天然构象状态，所以蛋白质的折叠效率很高。
- 有些蛋白质由于自身内部发生的相互作用而进行自我组装 (self assembly)，但更多蛋白质的折叠需要伴侣蛋白参与。

📖 伴侣蛋白广泛地存在于所有生物细胞内，他们与靶蛋白的活性表面结合，阻止这些活性表面与蛋白质其他部分发生作用，从而防止蛋白质形成错误构象。

📖 伴侣蛋白有 ATP 酶 (ATPase) 活性，它们结合并稳定靶蛋白的过程需要 ATP 水解。

伴侣蛋白的功能

- 伴侣蛋白与正在合成中的肽链结合，介导各功能域乃至整个蛋白质分子的正确折叠。
- 与胞液中合成的线粒体及叶绿体蛋白质结合，使肽链保持伸展状态而被跨膜转运。

应激状态下，与非天然构象的蛋白质结合，稳定其结构，防止蛋白质变性后内部疏水基团暴露而发生不可逆的凝集。

另外，伴侣蛋白还介导新复制的 DNA 和组蛋白装配成染色质，蛋白质的降解，类固醇激素信号传递中类固醇受体的变构，某些酪氨酸蛋白激酶的活化等多种生理生化过程。

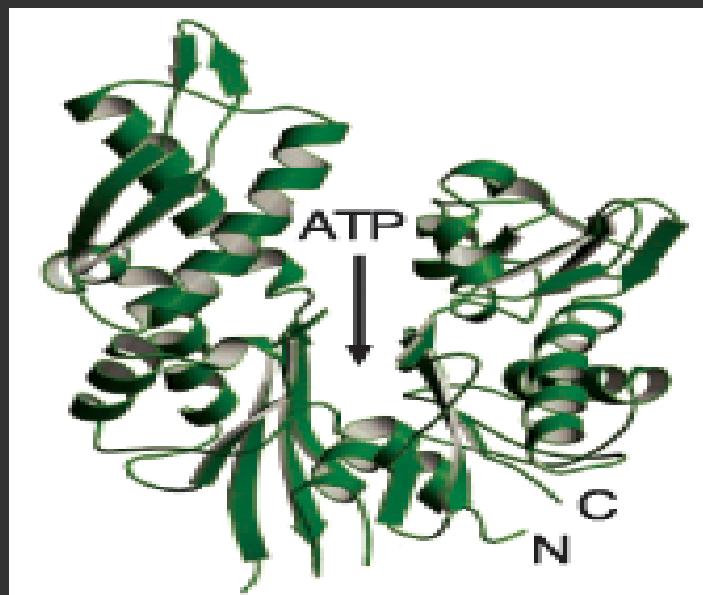
伴侣蛋白可分为两类

1. **molecular chaperone**: 与未折叠或部分折叠的蛋白质结合，防止蛋白质降解。
2. **Chaperonin**: 陪伴蛋白。多个分子伴侣蛋白形成的复合体，能直接推动蛋白质的折叠。

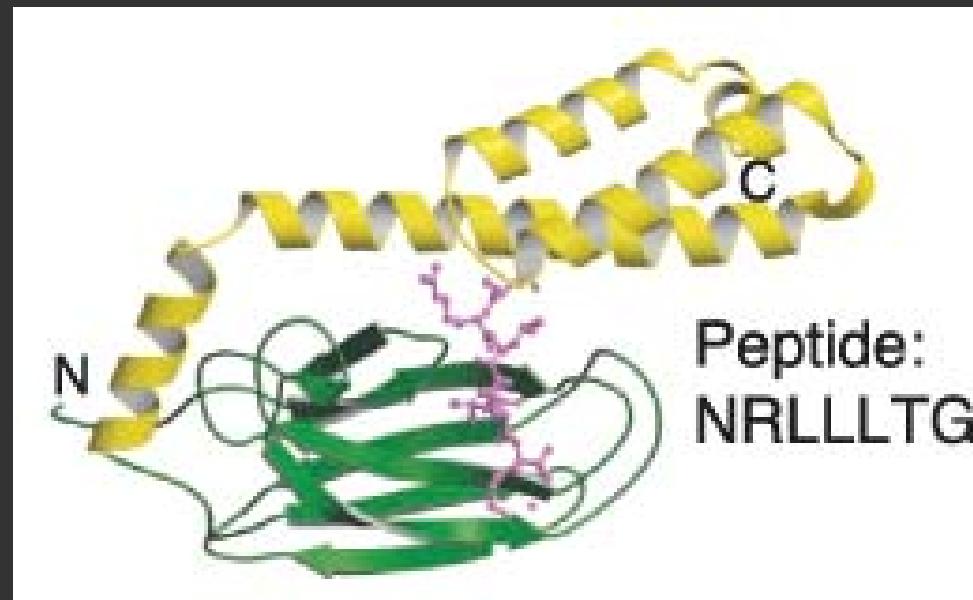
1. molecular chaperone

- 📖 Hsp70 (heat shock protein) 分子伴侣家族。
括 Hsp70 (细胞质、线粒体基质) , Bip (immunoglobulin heavy-chain –binding protein, 内质网) , DnaK (细菌) 。
- 📖 Hsp70 的作用机制: Hsp70 与 ATP 结合后, 呈开放形式, 其疏水“口袋”暴露出来, 与靶蛋白的疏水区结合。然后 ATP 水解, sp70 变成关闭形式, 释放蛋白质。

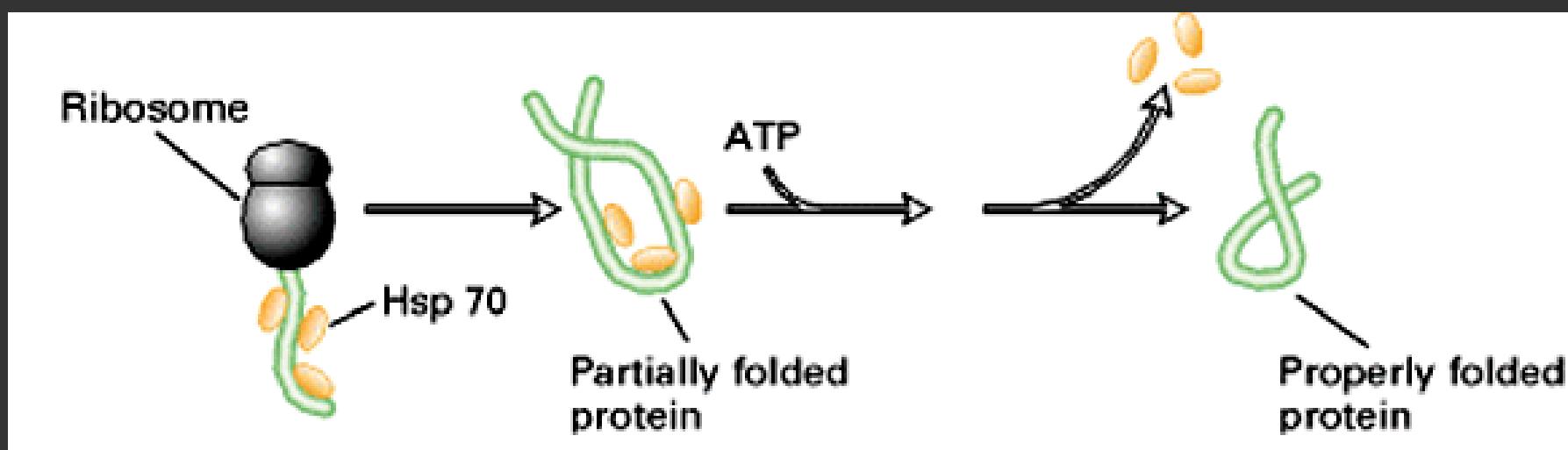
Hsp70的ATPase结构域



Hsp70的肽链结合结构域



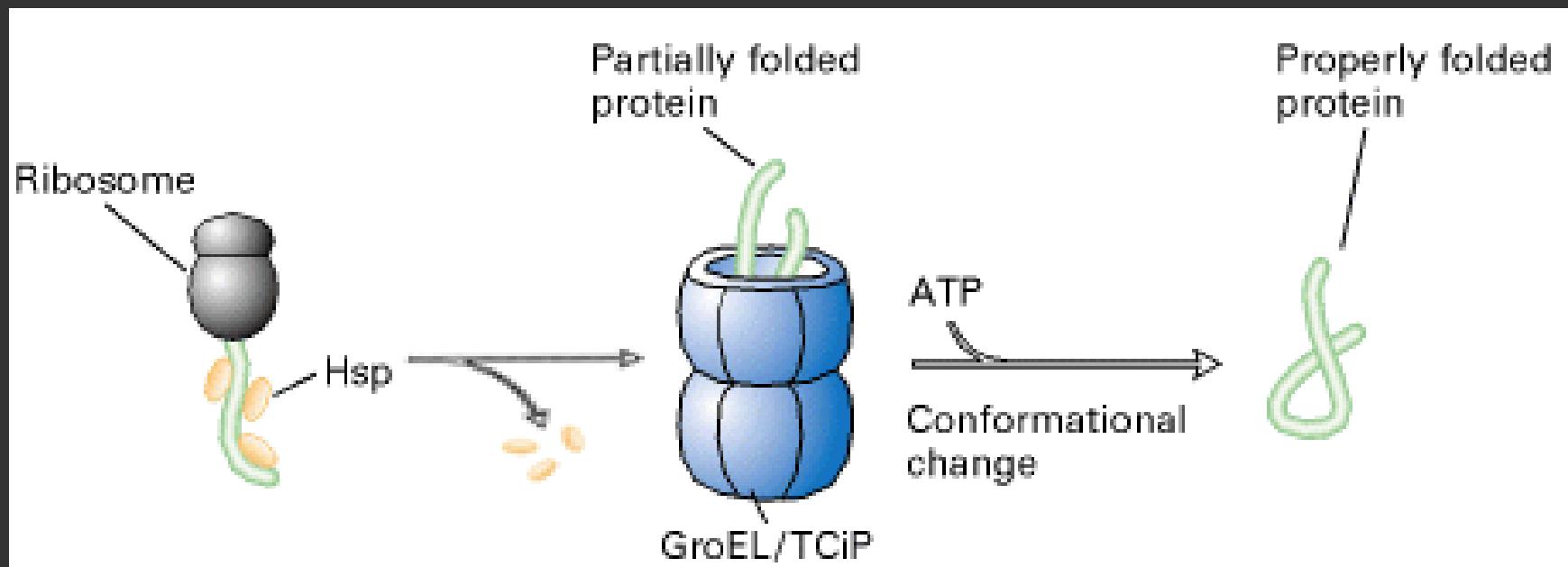
Hsp70介导的蛋白质折叠



2. chaperonin

- 少数蛋白质（如细胞骨架中的肌动蛋白、微管蛋白）的正确折叠需要**chaperonin**辅助。
- 真核 **chaperonin**: 如TCiP(tubular cell interaction products), 大的桶形多聚体复合物，由 8 个 Hsp60 亚基组成。

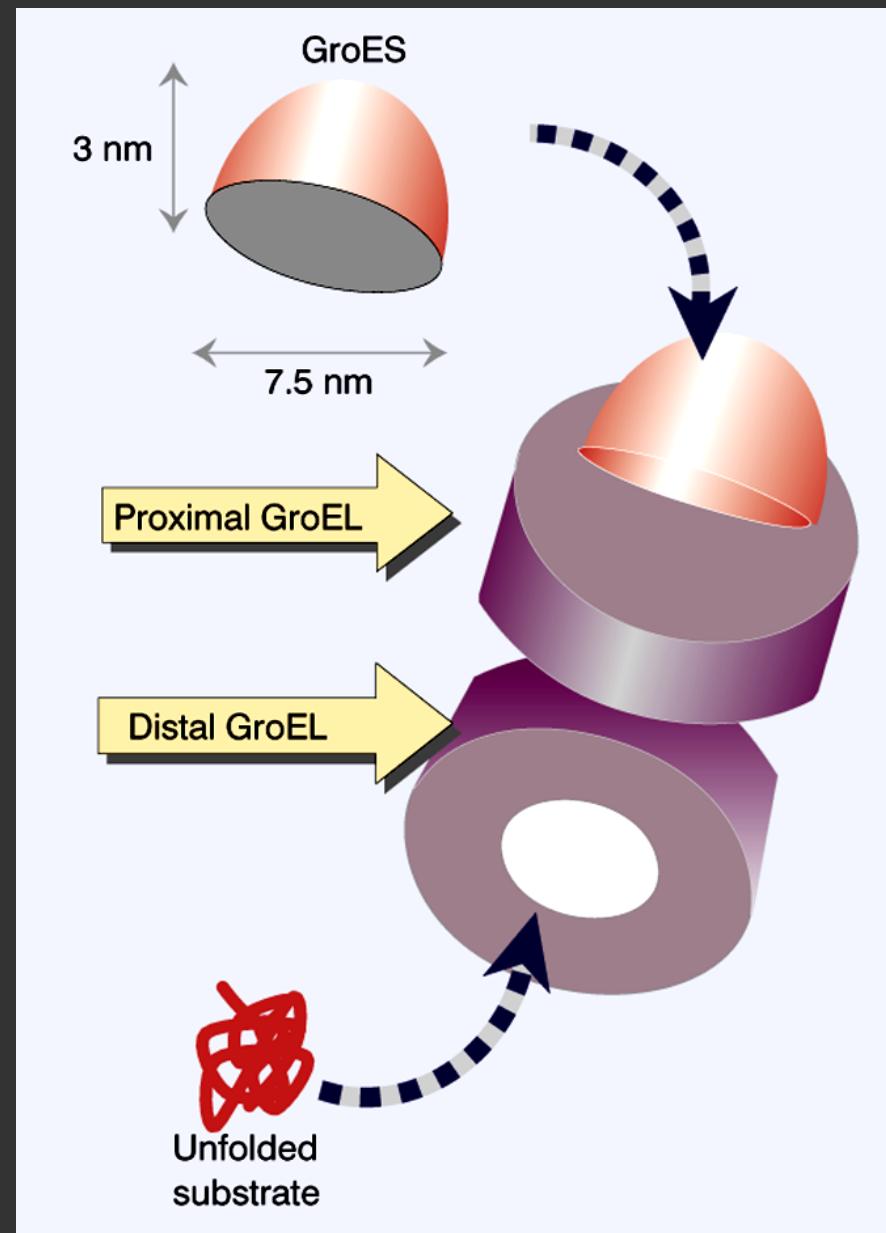
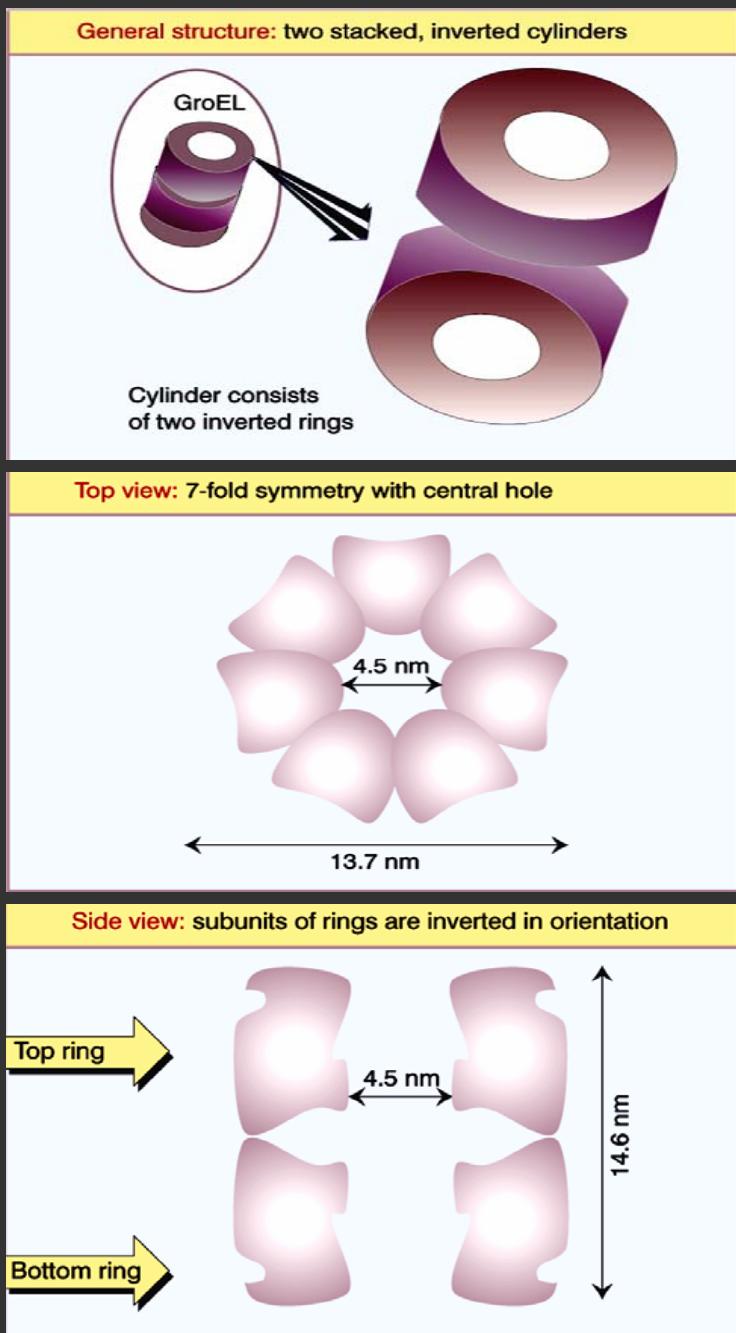
细菌 **chaperonin**: GroEL (大肠杆菌 Hsp60) , 14 个相同的亚基组成, 形成两个七聚体的环。每个亚基结合一个 ATP。两个环上下堆叠在一起, 中间形成一个通道。GroES (大肠杆菌陪伴蛋白之一) 是一个七聚体复合物, 与GroEL结合, 帮助 GroEL 完成蛋白质折叠, 因此称为 **co-chaperonin**



GroEL的两个环

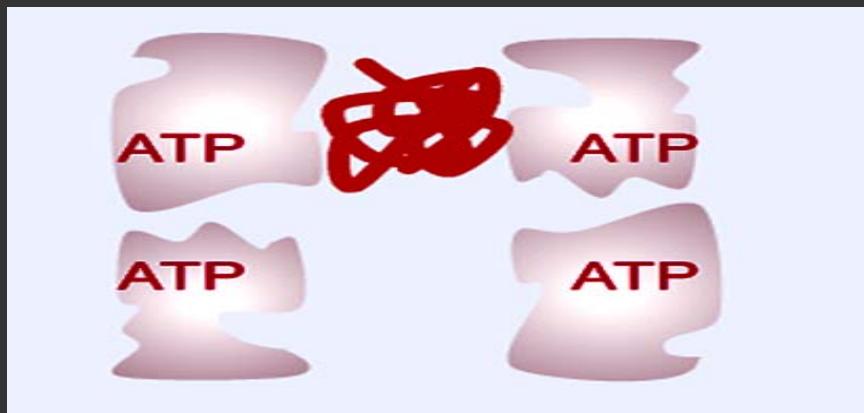
上面观

侧面观

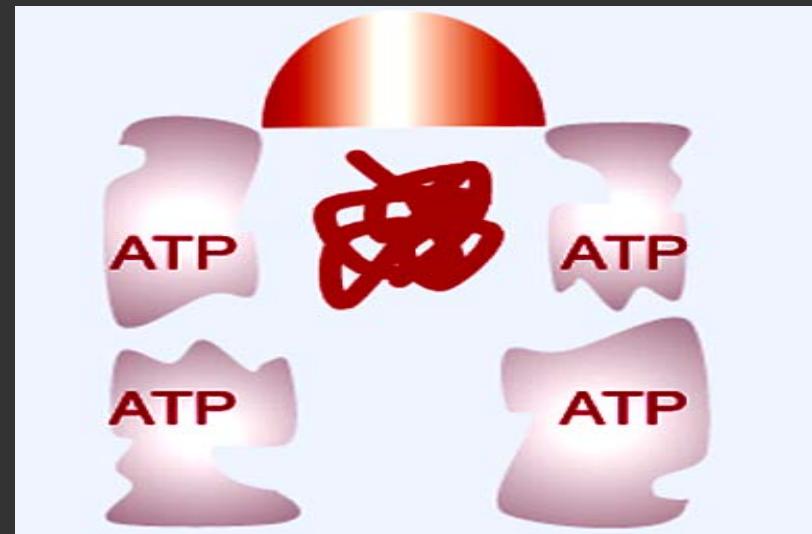


GroEL 与 GroES

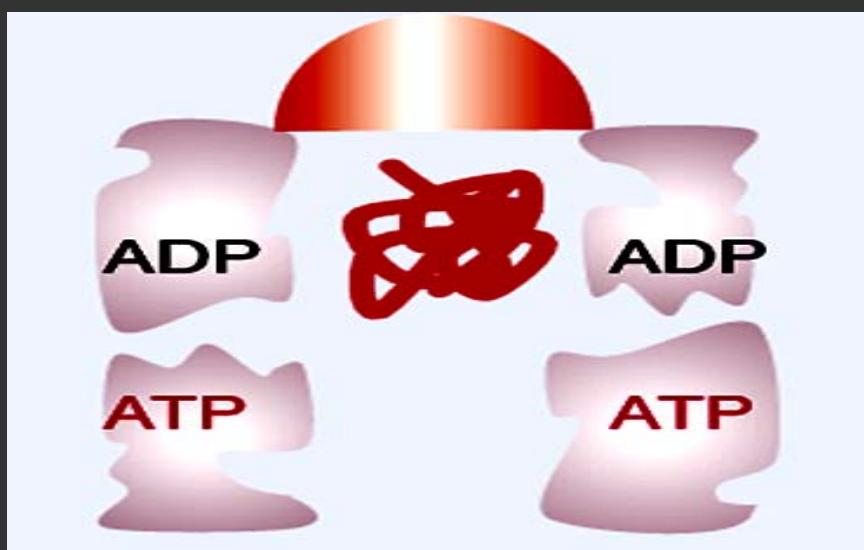
GroEL 作用模式



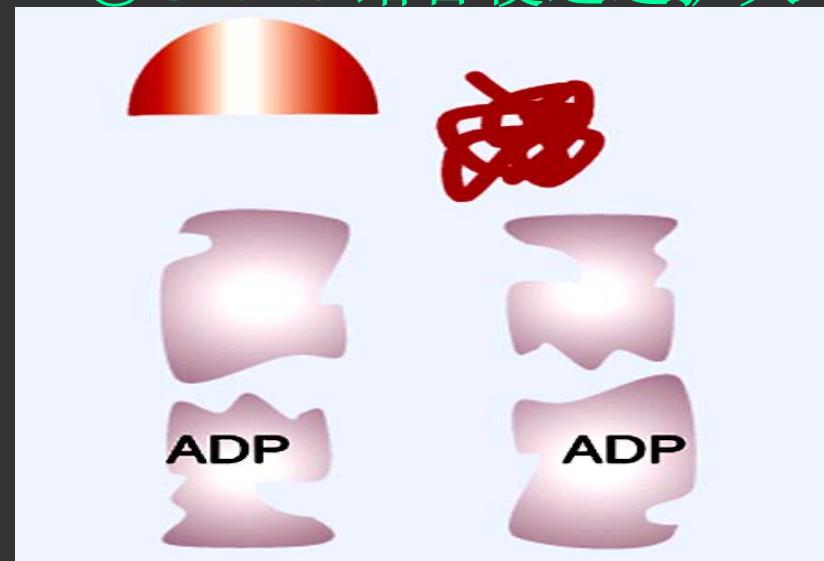
① 蛋白质进入通道



② GroES 结合使通道扩大



③ 近侧环内的 ATP 水解，
蛋白质折叠



④ 远侧环内的 ATP 水解，蛋
白质和 GroES 从 GroE L 释放

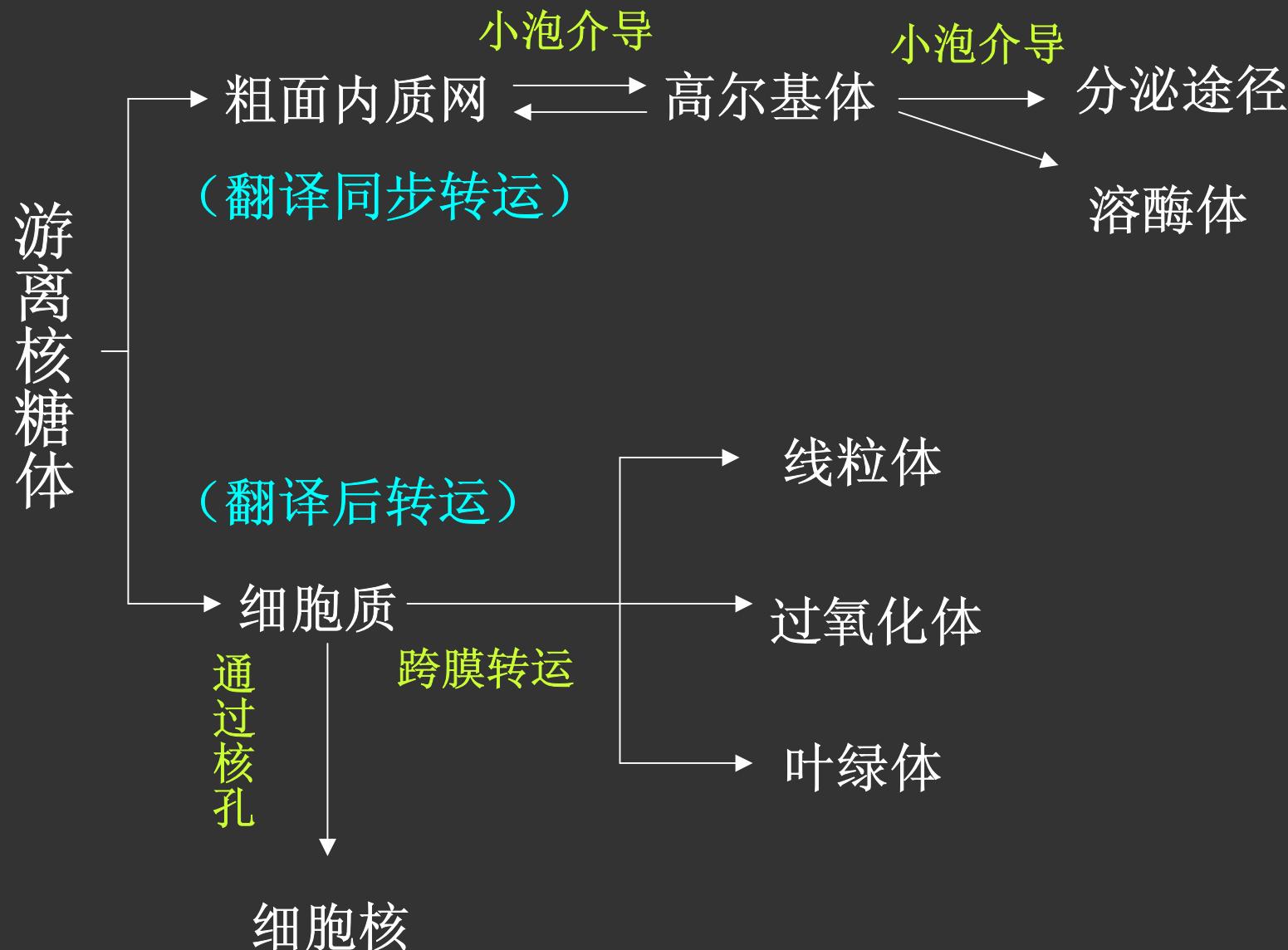
Media Connections

伴侣蛋白

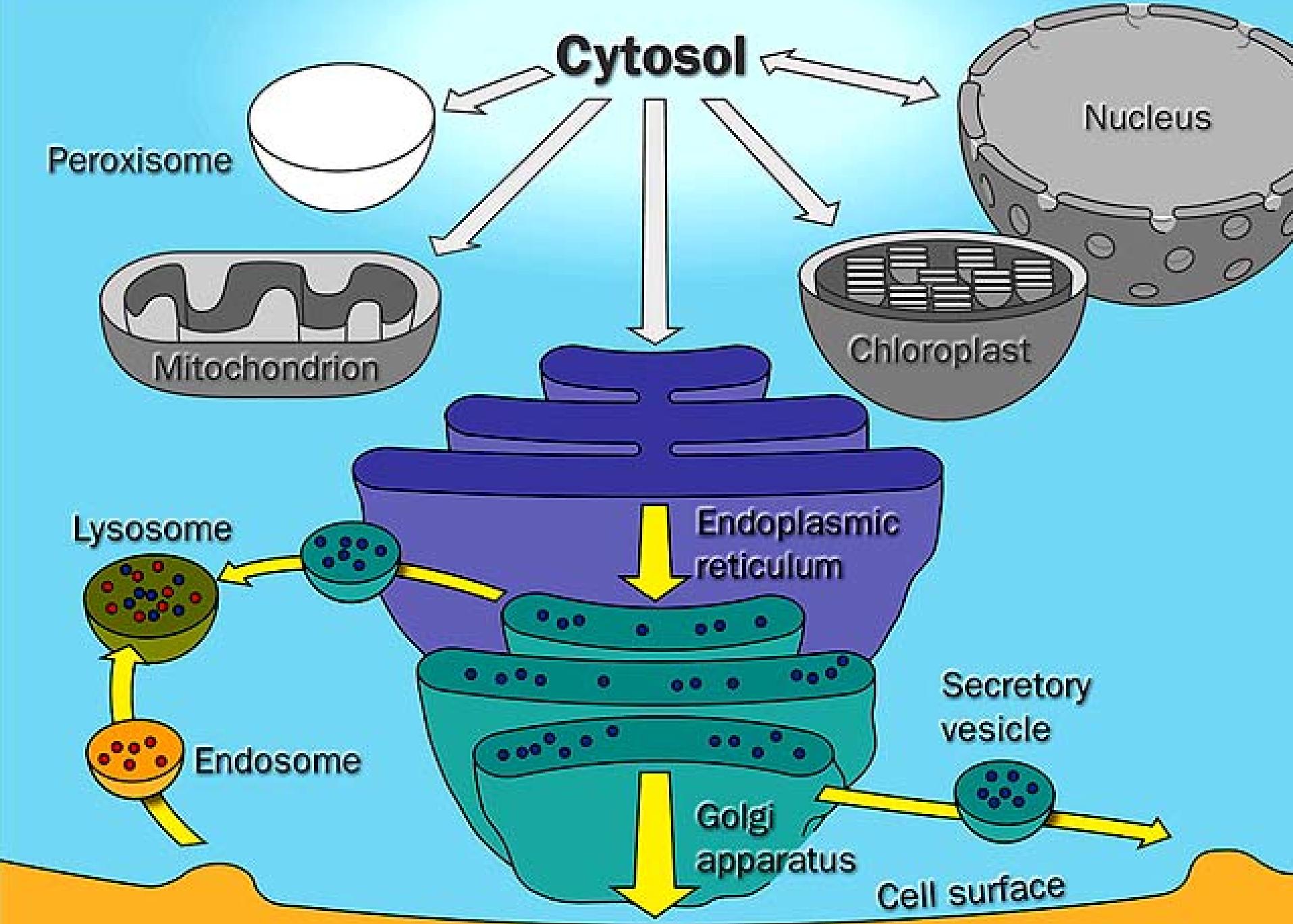
三、翻译同步转运和翻译后转运

真核生物细胞中所有蛋白质的起使合成都是在游离核糖体

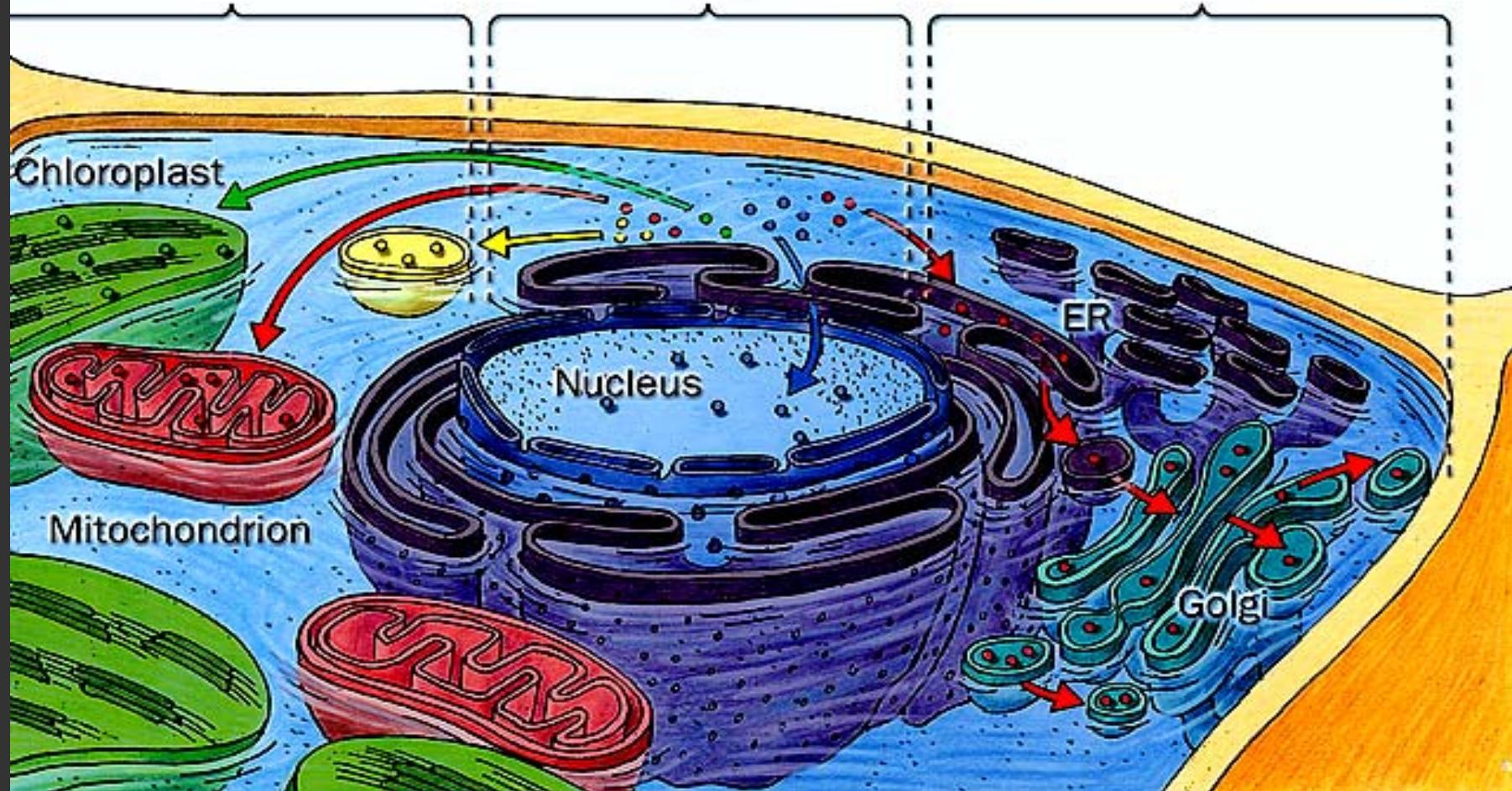
1. 翻译同步转运 (co-translational translocation)
2. 翻译后转运 (post-translational translocation)



Cytosol



蛋白质转运方式



1. 翻译同步转运 (co-translational translocation)

翻译同步转运：蛋白质在游离核糖体中先合成N-terminus信号序列（即内质网信号序列），信号序列介导核糖体与内质网膜结合，使新生肽链边合成边进入内质网腔（ER lumen）或插入内质网膜。

进入内质网腔或膜的蛋白质，除了一部分留在内质网外，其他的形成转运小泡（transport vesicle）被运输到各个细胞器或分泌到细胞外（分泌途径）。

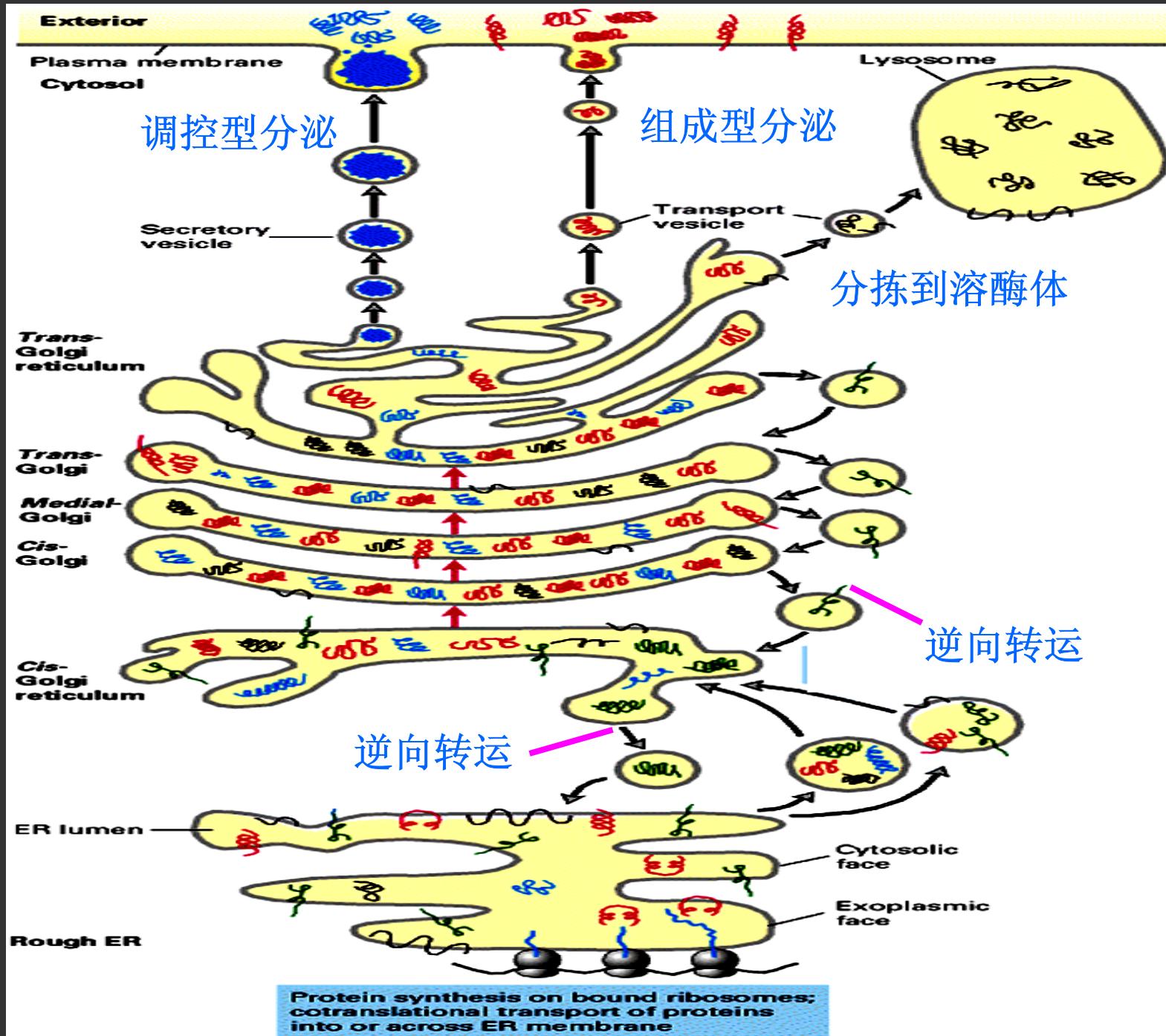
分泌途径（secretory pathway）是指通过翻译同步转运、小泡介导的方式把蛋白质分泌到细胞外。

蛋白质分泌有两种形式：

组成型分泌（**constitutive secretion**），即蛋白质持续地进行的分泌。这些蛋白质在外侧高尔基体网（*trans-Golgi network*）进行分拣，然后由转运小泡运送到质膜并与质膜融合，最后通过外吐作用（**exocytosis**）释放到细胞外

调控型分泌（**regulated secretion**），蛋白质在外侧高尔基体网络分拣后形成分泌小泡（**secretory vesicles**），然后储存在细胞内，有神经或激素刺激时从细胞内释放出来

蛋白质的分泌途径



新生蛋白质从核糖体进入内质网的过程

- (1) 分泌性蛋白通过内质网膜进入内质网腔
- (2) 膜蛋白插入内质网膜

(1) 分泌性蛋白通过内质网膜进入内质网腔

① 信号序列

② 信号识别颗粒和受体

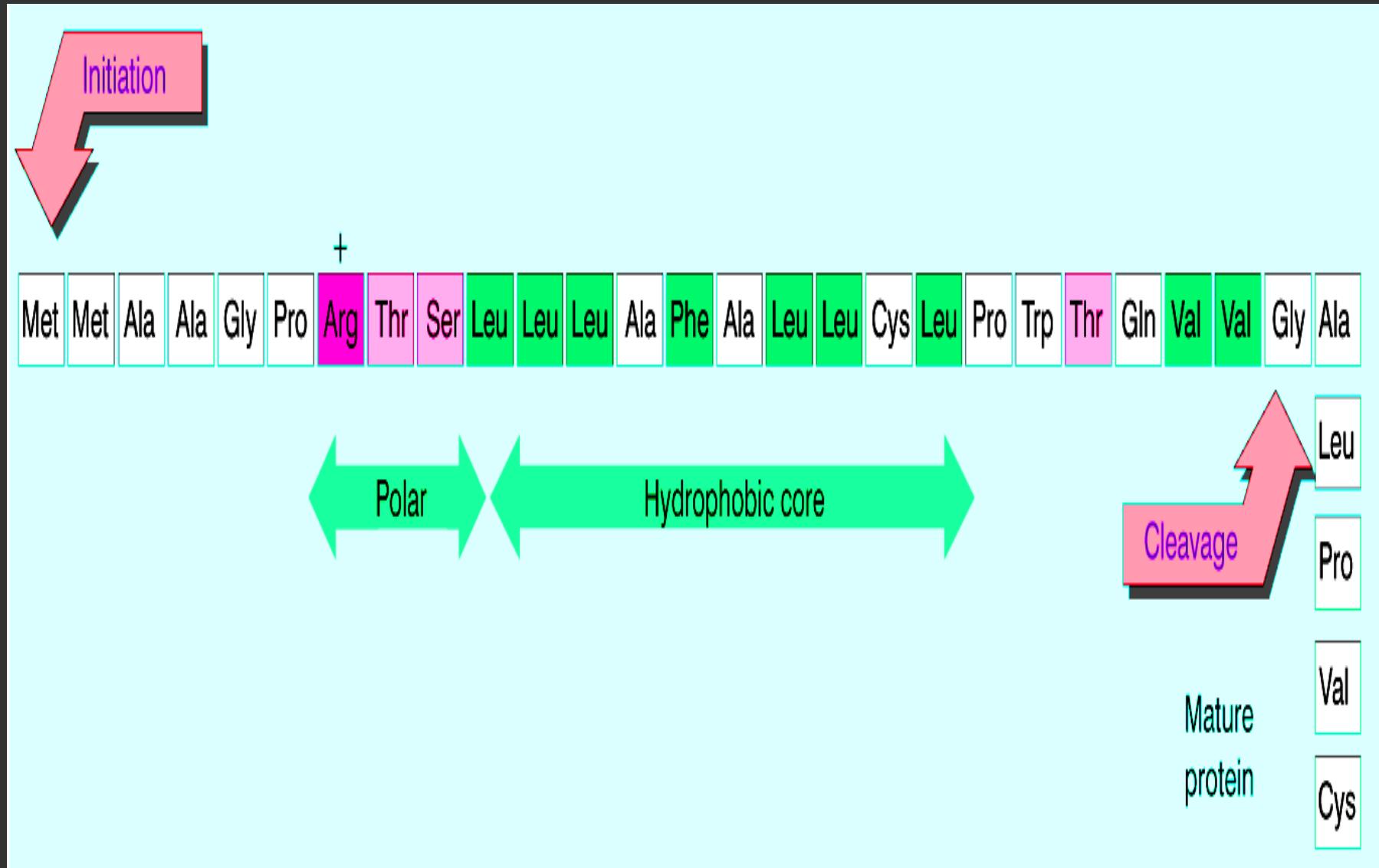
③ 易位子

④ 能量供应

① 信号序列

- 由 16~30个氨基酸残基组成，一般位于 **N-terminus**，含有一个或两个带**正电荷**残基，后面是连续的6~12**疏水性**氨基酸残基.
- 引导游离核糖体与内质网结合，起始新生肽链向内质网膜的转运.
- 疏水残基形成的信号序列与内质网膜上受体蛋白结合的位点有关.
- 信号序列由内质网腔内的信号肽酶（**signal peptidase**）切除。所以成熟的蛋白质没有信号序列.

牛生长激素信号序列



② 信号识别颗粒（SRP）和受体（SRP receptor）

- SRP 是一种核糖核蛋白ribonucleoprotein），由 6 条多肽链及含 300 个核苷酸的 7S 小 RNA 组成。
- P54 的一个区域含有甲硫氨酸残基簇。甲硫氨酸的疏水侧链向外伸展，与信号序列的疏水氨基酸残基相结合。

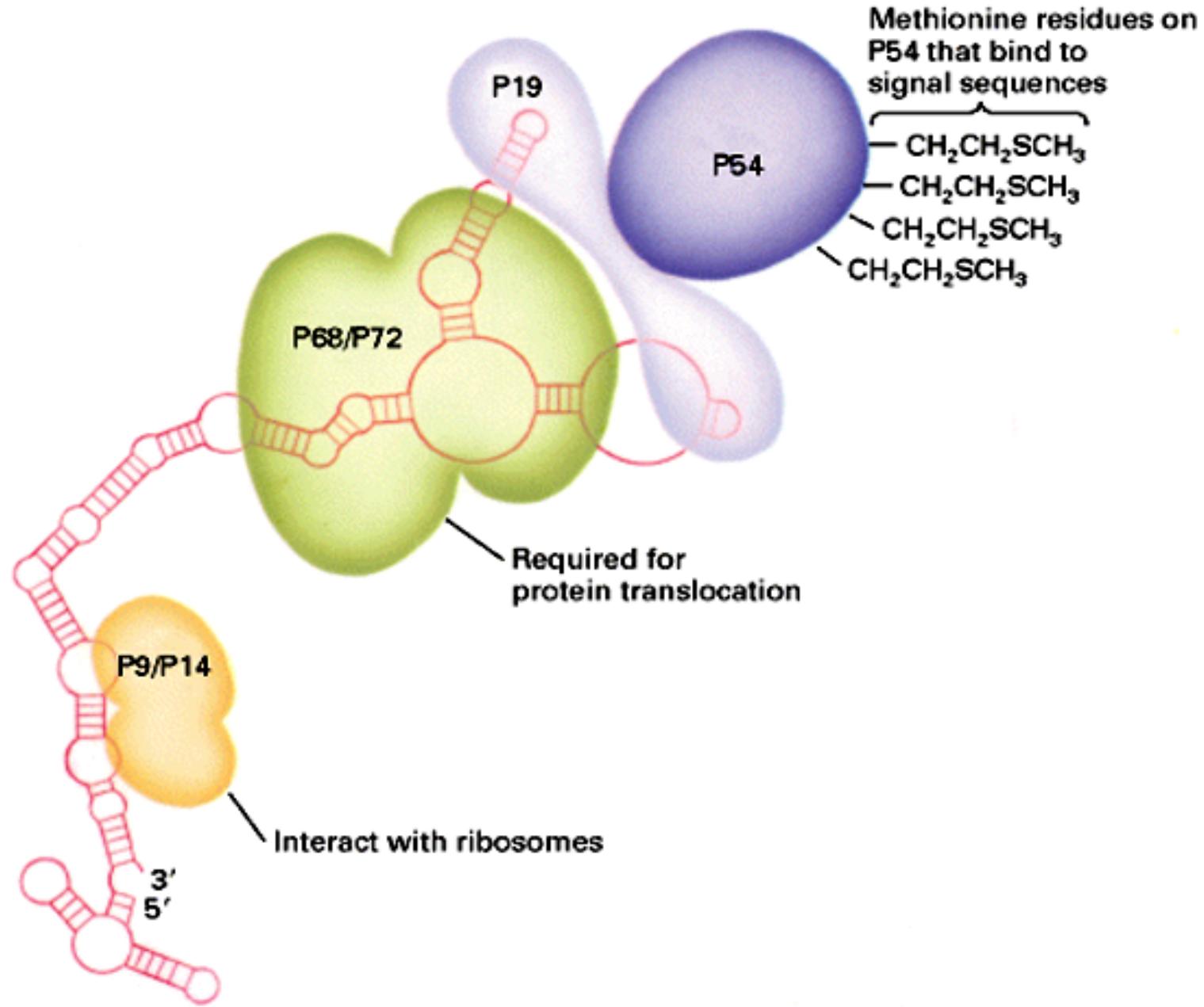
【P9 / P14】与核糖体相互作用。

【P68 / P72】为蛋白质转运所必需。

SRP 功能：介导新生肽链与内质网膜结合；

在核糖体没有与内质网膜结合时阻止肽链延长。

信号识别颗粒



信号识别颗粒受体（SRP receptor），又称停靠蛋白（docking protein）

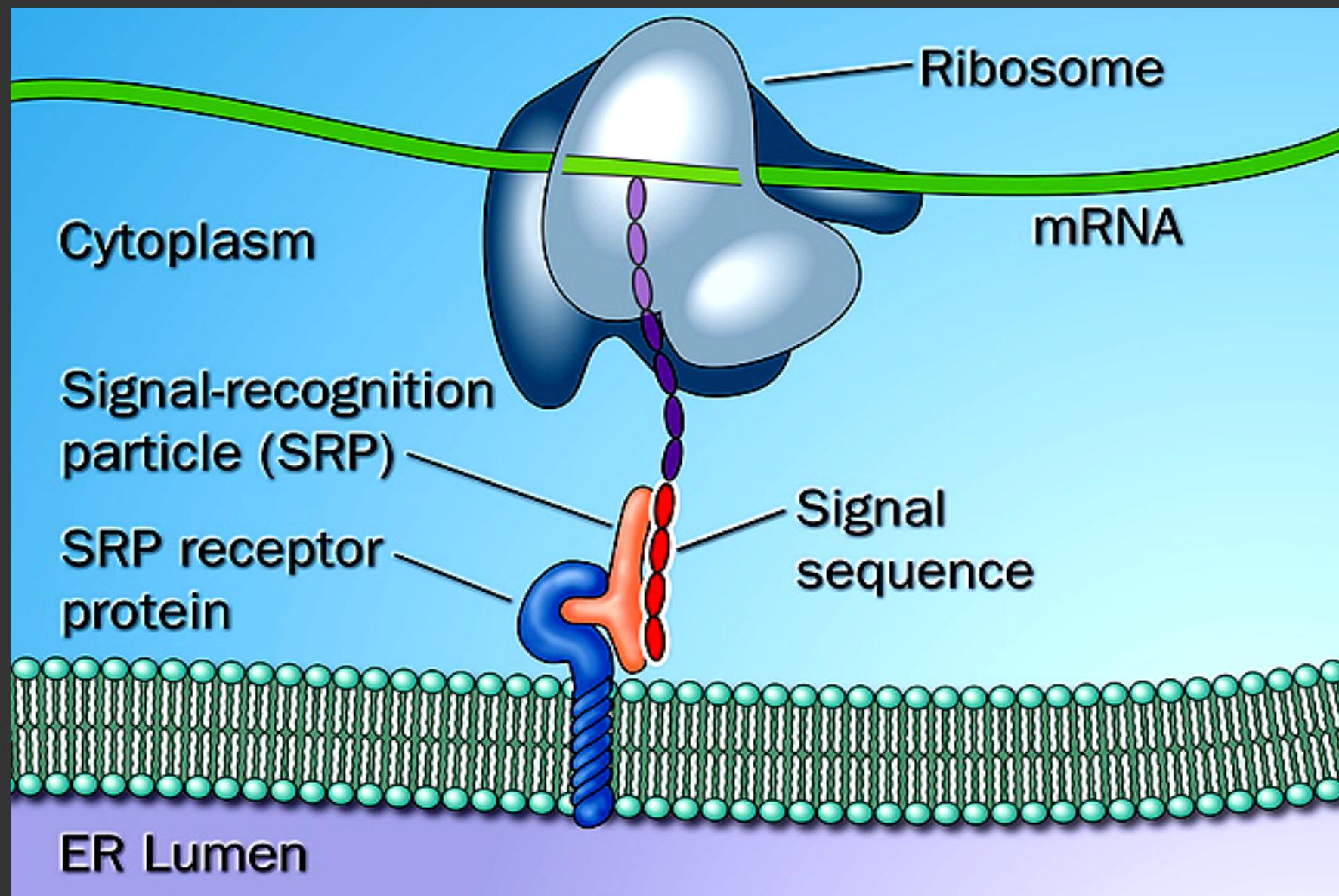
由两个亚基组成：

β subunit 为膜蛋白：含 300 个氨基酸残基。

α subunit 是膜周边蛋白：含 640 个氨基酸残基，负载着GDP，并且有 GTP 酶活性。

SRP receptor 功能：与 SRP 结合并起始肽链向内质网膜转运；使肽链的延长继续进行。

SRP 与信号序列及 SRP 受体结合



③ 易位子 (translocon)

新生肽链由于 **N-terminus** 带有正电荷，不能轻易进入疏水的内质网膜。所以要完成蛋白质的转运，需要内质网膜提供一个水相通道 (aqueous channel)。这个水相通道就是易位子。

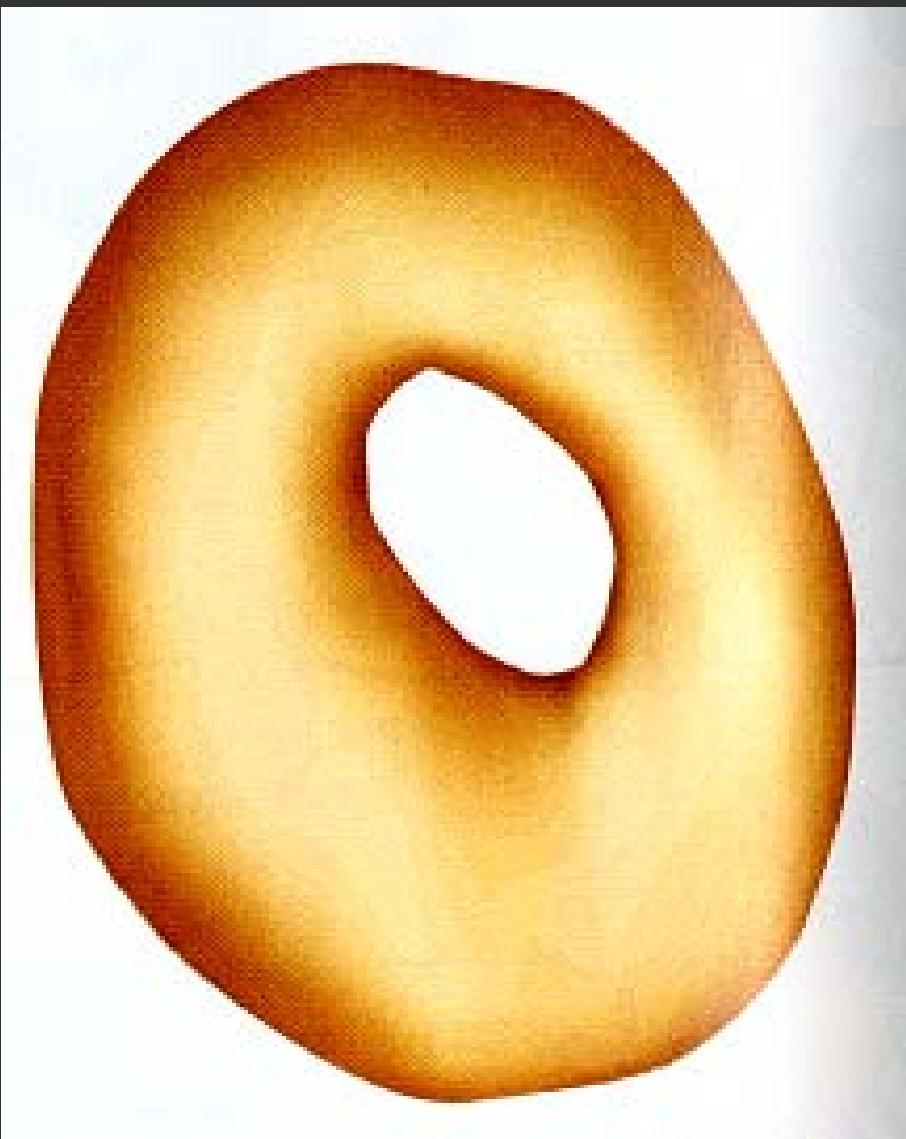
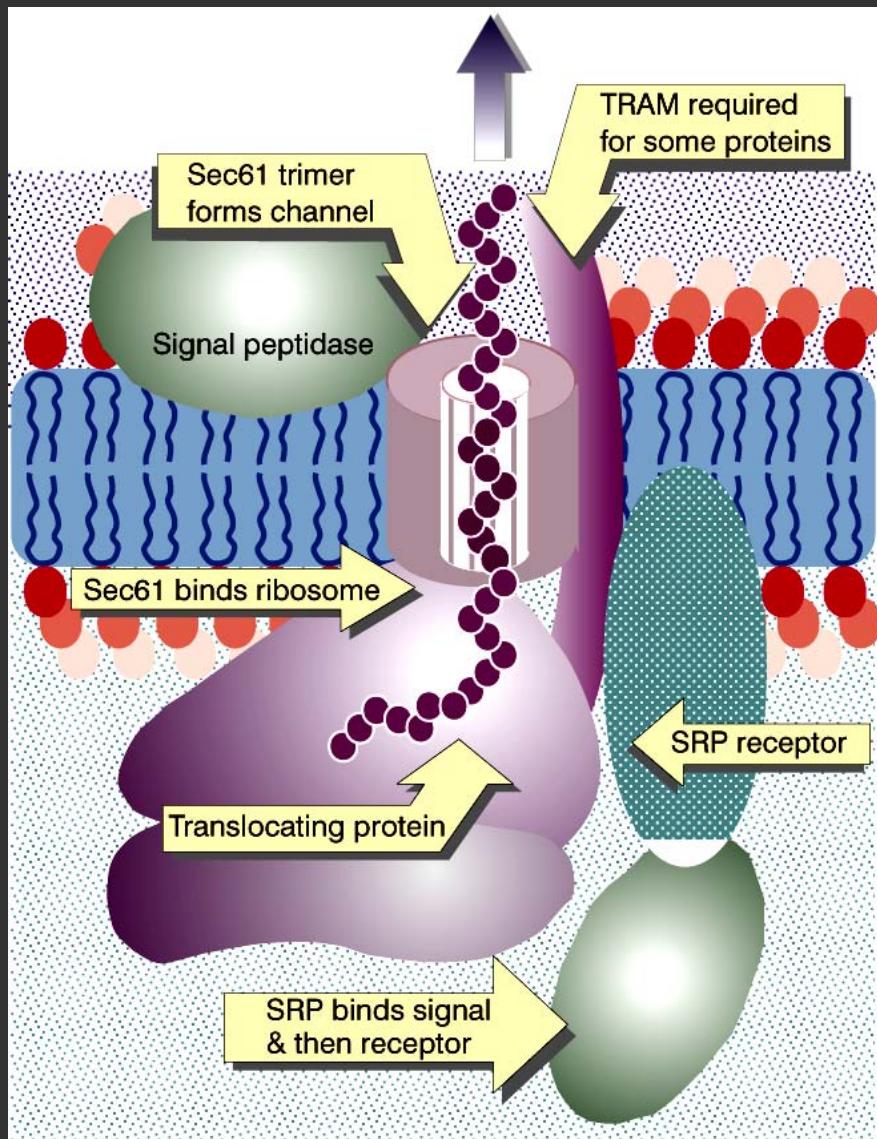
易位子含两种蛋白成分：

转位链相关膜蛋白（translocating chain-associated membrane protein, TRAM protein） TRAM 蛋白至少跨膜 8 次，能与新生肽链进行交联。

Sec61 蛋白（酵母secretion gene 产物），易位子通道的主要蛋白成分。哺乳动物 Sec61p 含 10 个跨膜 α helices，与 Sec61 β 和 Sec61 γ 共同形成 Sec61 复合物。这个复合物能与核糖体大亚基紧密结合，从而把核糖体与内质网膜连接起来。

易位子结构

电镜下的易位子通道



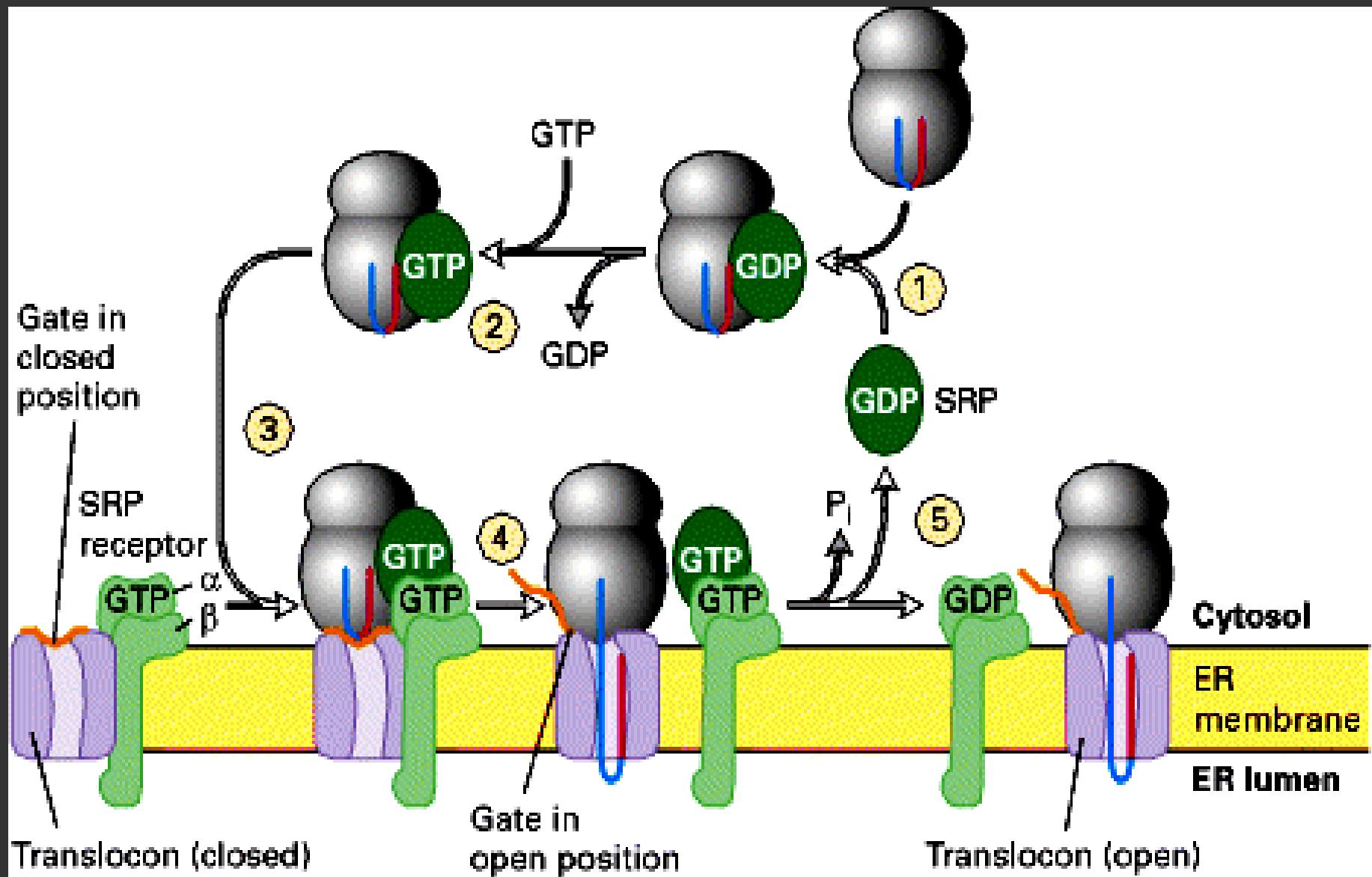
易位子的功能

- 无蛋白质转运时，易位子的胞质面被 Sec61p 蛋白的一个片段关闭。
- 核糖体-新生链复合物结合后，易位子打开，同时核糖体与易位子之间紧密密封以防止小分子物质进入易位子。
- 然后肽链一边合成一边通过易位子通道进入内质网。

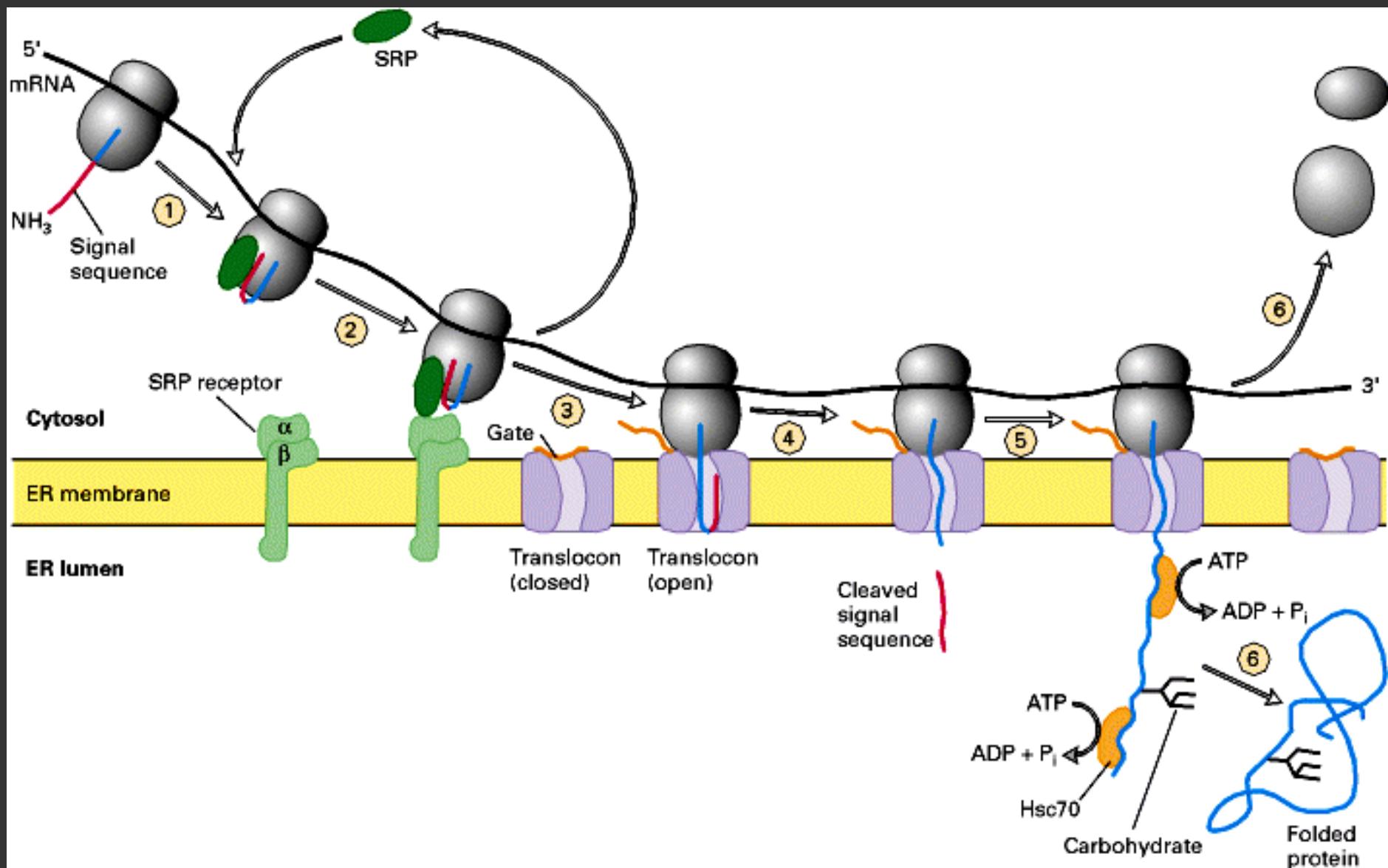
④ 能量供应

- SRP 的 P54 蛋白和 SRP 受体的 α subunit 都负载着 GDP，且都有 GTPase 活性。
- GTP 取代 GDP，促进核糖体-新生肽链-SRP-SRP 受体复合物的形成。
- 水解 GTP，复合物解离，核糖体-新生肽链-易位子复合物形成。SRP 和受体进入下一轮循环，而肽链转移继续进行。

能量供应



分泌性蛋白通过内质网膜进入内质网腔的全过程



(2) 膜蛋白插入内质网膜

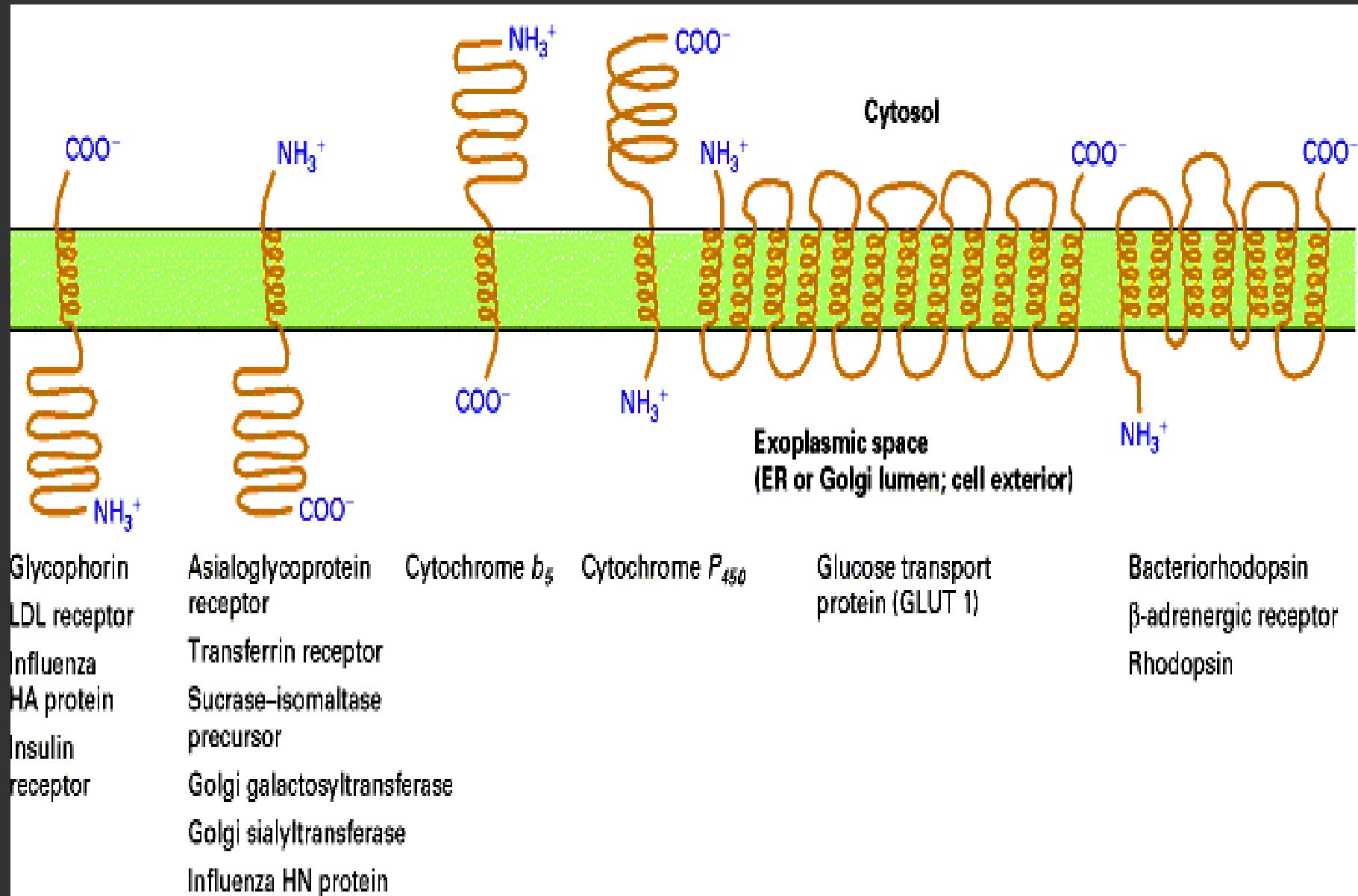
📖 膜蛋白以翻译同步转运的方式一边合成一边插入内质网膜中。

📖 合成完毕后，一部分留在内质网膜，但大部分通过小泡转运到质膜或其他细胞器膜（如滑面内质网、高尔基复合体、溶酶体、内体）。

📖 在转运过程中，蛋白质的**方向保持不变**。比如，同一个片段总是向着细胞质。所以膜蛋白的方向都是在内质网膜上合成时建立的。

📖 膜蛋白插入内质网膜的过程需要多种信号序列。

各种膜蛋白在内质网膜中的方向



膜蛋白插入内质网膜

- ① I 、 II 型膜蛋白形成机制
- ② 多跨膜蛋白质 (multipass transmembrane protein)
- ③ 与 GPI 共价结合的膜蛋白

① I 、 II 型膜蛋白形成机制

① I 型膜蛋白的 C-terminus 在细胞液，包括两类：

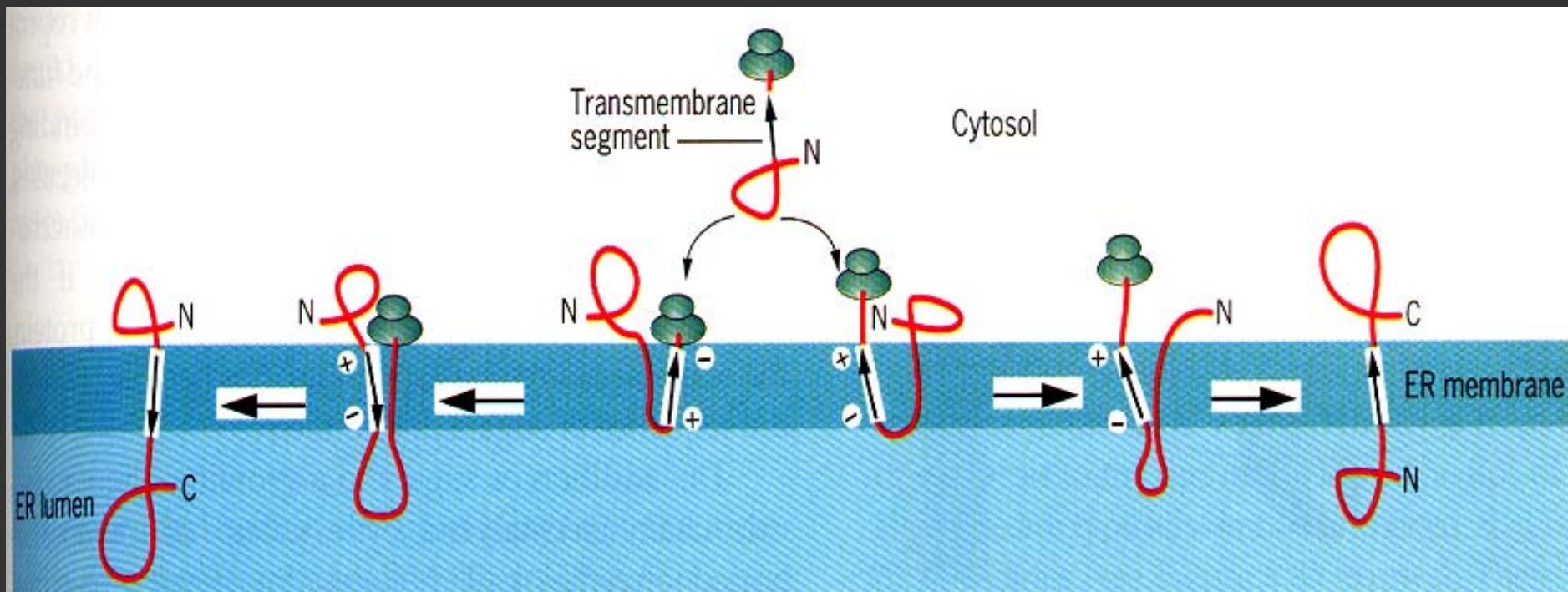
一是蛋白质含有 **N-terminus** 信号序列和转运停止-锚定序列（stop transfer-anchor sequence），如胰岛素受体。

二是蛋白质只有一个疏水的内部信号-转运停止-锚定序列（signal-stop transfer-anchor sequence），如细胞色素 P450。

② II 型膜蛋白 N-terminus 在细胞液，如脱唾液酸糖蛋白（asialoglycoprotein）。

影响蛋白质方向的因素

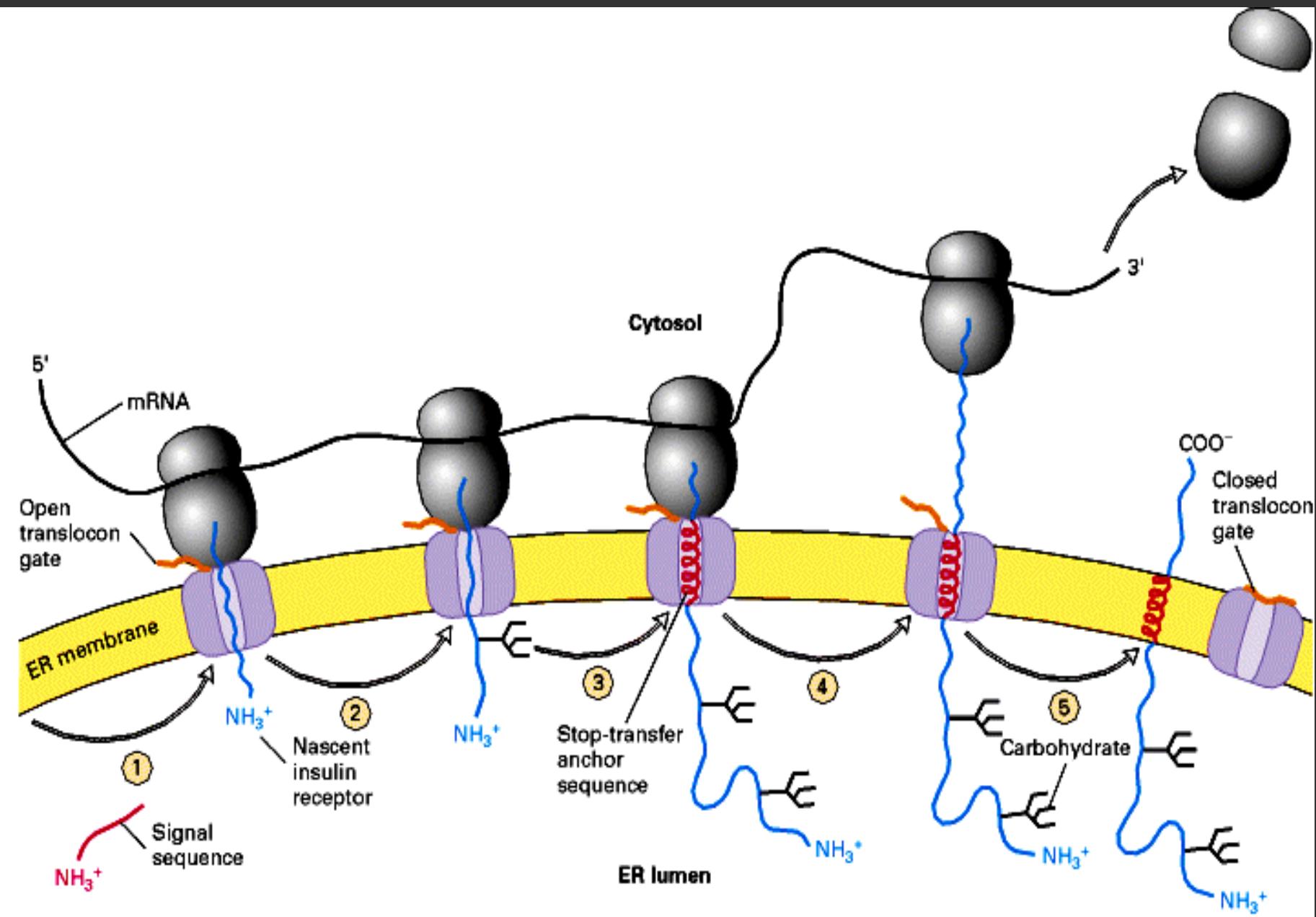
不同的蛋白质信号锚定序列两侧的亲水氨基酸残基的极性不同，但插入时总是正电性强的一端朝向细胞质，由此蛋白质信号锚定序列的长度和氨基酸组成对蛋白质的方向也有影响。含有长的疏水片段（>20个残基）的一般是 I 型膜蛋白。



I型膜蛋白举例 — 胰岛素受体

- 胰岛素受体含有一个 **N-terminus** 信号序列和一个转运停止-锚定序列。
- 转运停止-锚定序列由 22 个疏水氨基酸残基组成。
- 肽链合成结束后，转运停止-锚定序列从易位子中移动出来，接着锚定在磷脂双层中。

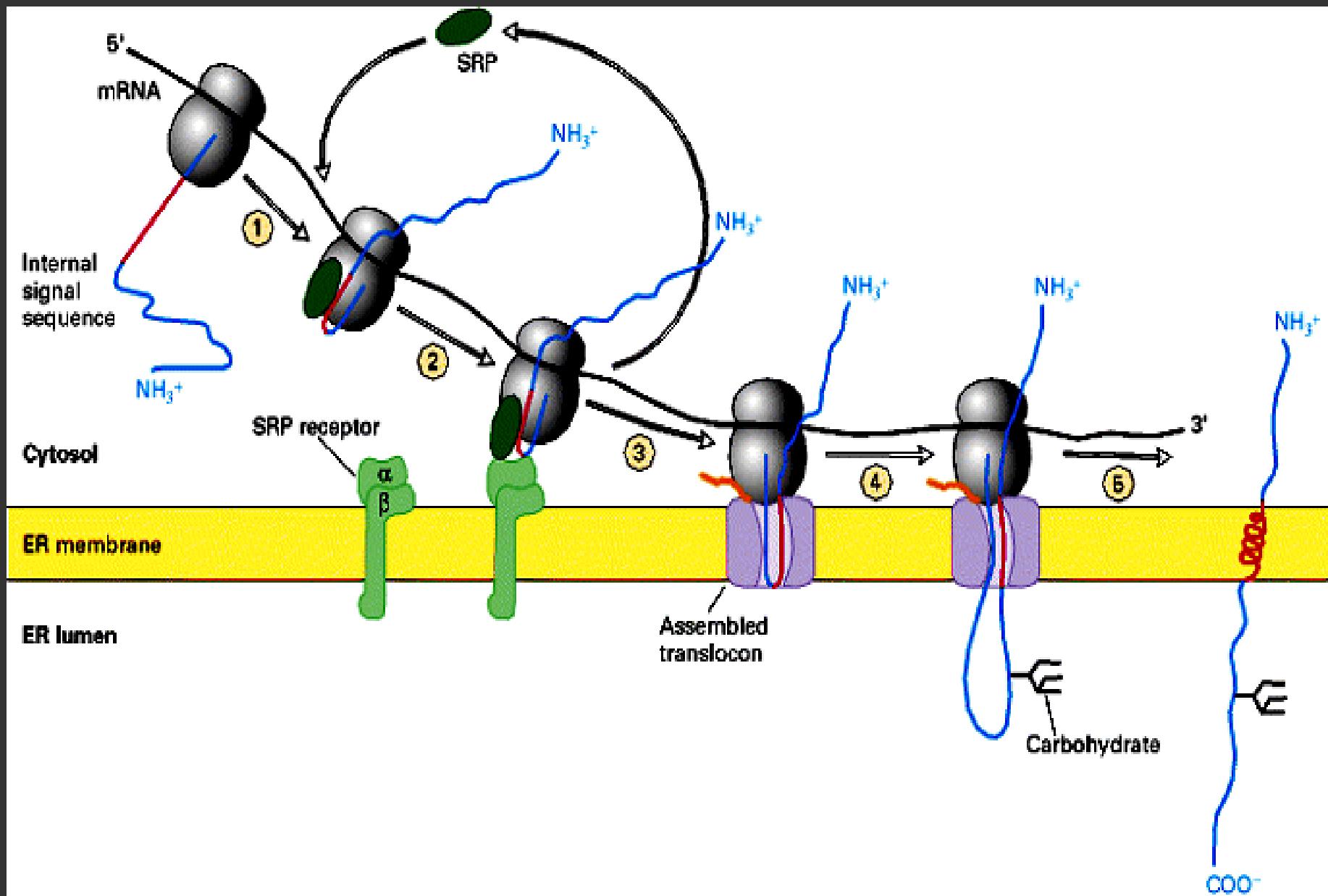
胰岛素受体的合成



II型膜蛋白举例 — 脱唾液酸糖蛋白

- 脱唾液酸糖蛋白含有一个信号-锚定序列，引导新生肽链进入内质网，但信号序列的 **N terminus** 在细胞质。
- 信号序列进入易位子后，C 端肽链继续合成，逐步进入内质网。
- 蛋白质合成结束后信号序列移出易位子并锚定在磷脂双层中。

脱唾液酸糖蛋白的合成



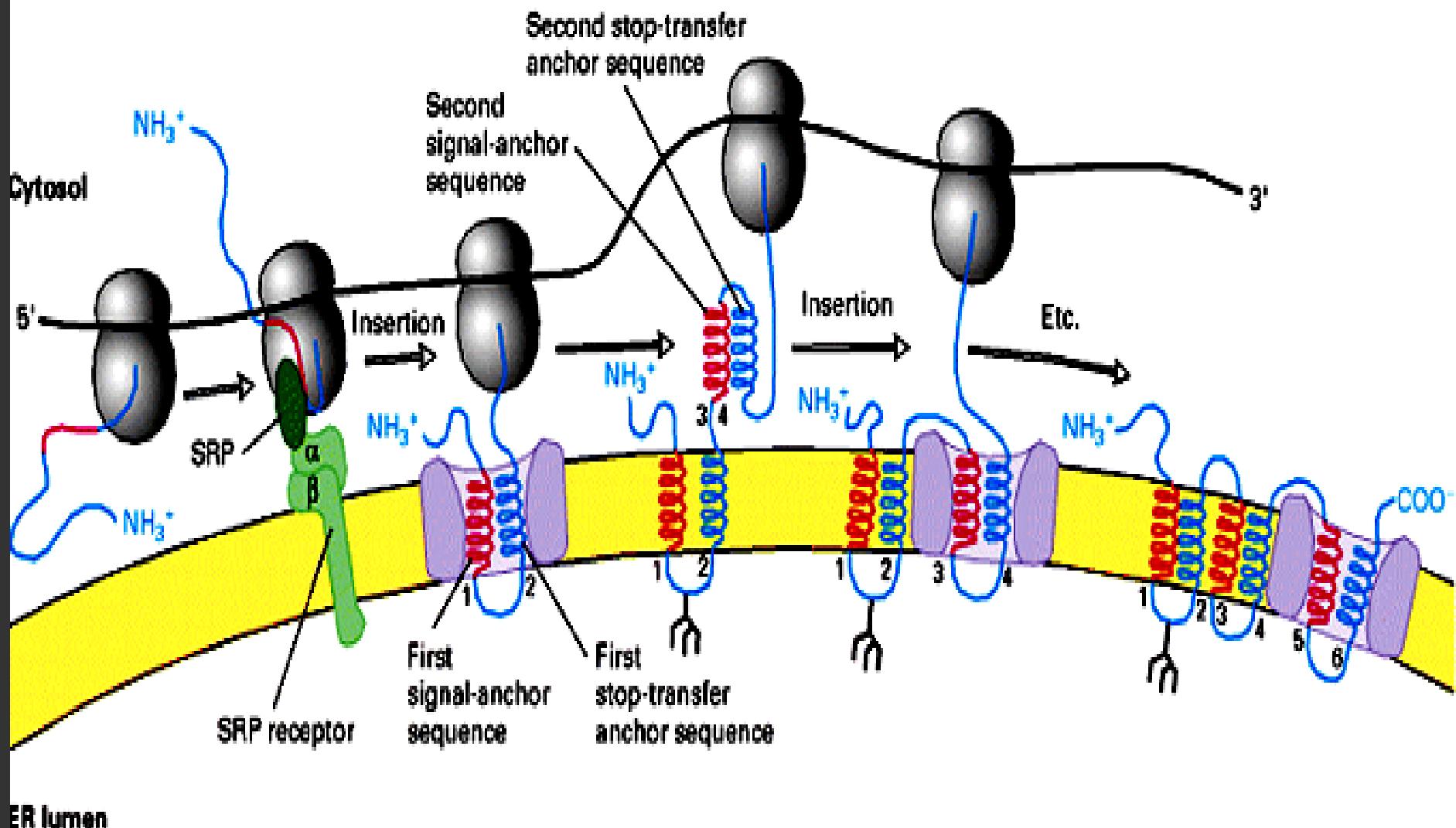
② 多跨膜蛋白质 (multipass transmembrane protein)

- 多跨膜蛋白质是指含有多个跨膜区段 (α helices) 的蛋白质。
- 第一个 α helices 是信号-锚定序列，进入易位子 (N-terminus在细胞质) 后新生肽链在内质网内延伸，直到第二个 α helices 形成。
- 第二个 α helices 是转运停止-锚定序列，阻止肽链一步延伸，然后与第一个 α helices 一起锚定在内质网膜中。

多跨膜蛋白质（续）

- 依次类推，第三个是信号-锚定序列，第四个是转运停止-锚定序列。
- 只有第一个 α helices 序列的插入需要 SRP 及其受体，后面的都不需要。第二个 α helices 合成后核糖体离开内质网膜，在细胞质继续进行肽链合成
- 各个 α helices 的相对位置决定了谁是信号-锚定序列，谁是转运停止-锚定序列

多跨膜蛋白质举例 — 葡萄糖转运子 1 (GLUT1) 的合成

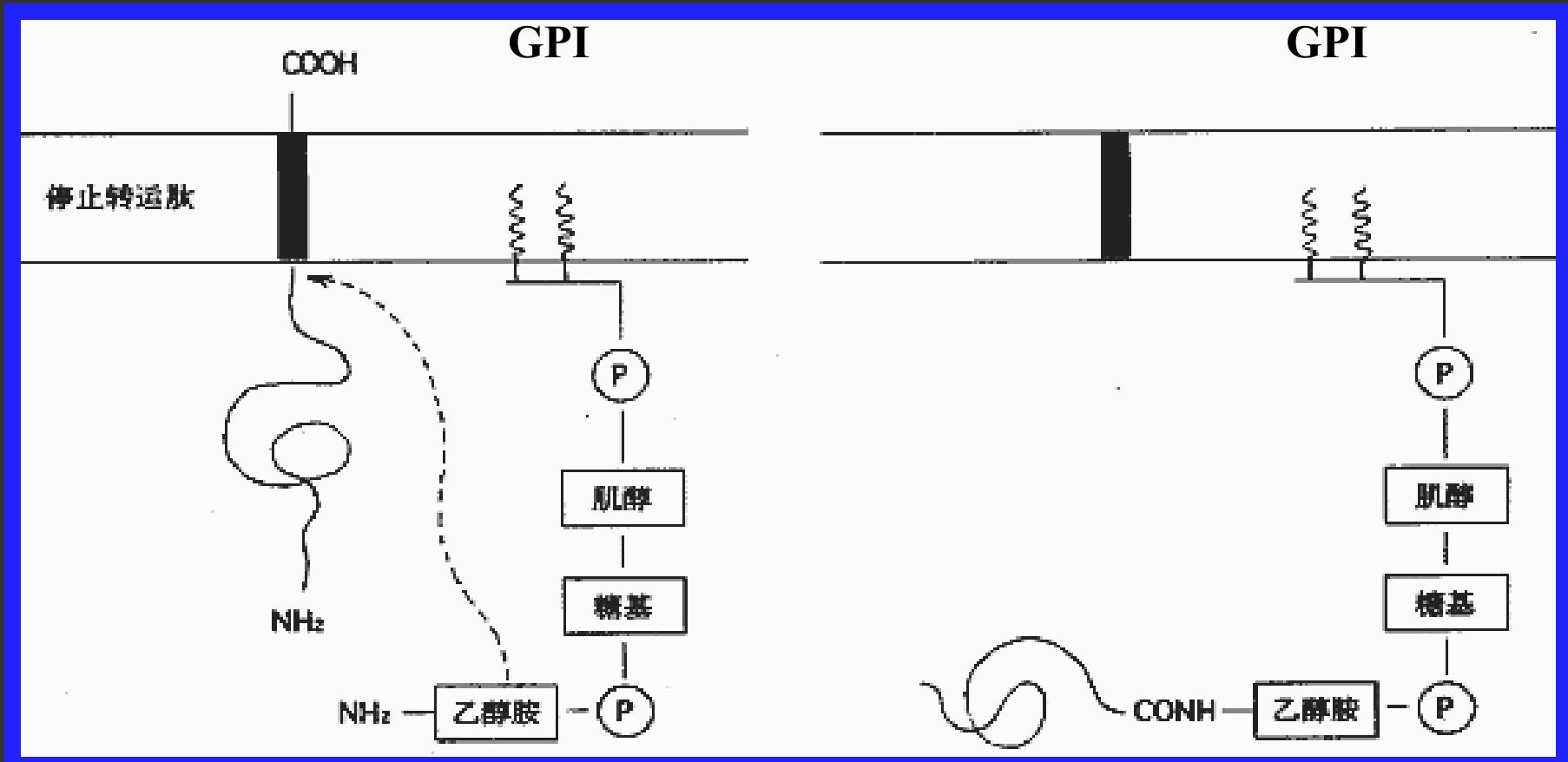


③ 与 GPI 共价结合的膜蛋白

某些膜蛋白的转运停止序列位于 C-terminus，该肽段及其内质网腔旁侧的氨基酸序列含有特异的信息，使肽链合成之后能被内质网中的转肽酶 (transpeptidase) 识别

转肽酶切除转运停止序列并催化新生的 C-terminus 羧基与内质网膜中的糖基磷脂酰肌醇 (glycosylphosphatidyl inositol, GPI) 相连的乙醇胺的氨基反应，使蛋白质通过酰胺键与膜上的 GPI 共价结合而定位于膜，最后被转运到细胞表面

这类蛋白质能通过扩散作用进入磷脂双层，最终被运送到细胞表面，所以不受细胞质和细胞骨架的作用，因而比跨膜蛋白有更大的活动程度。



与 **GPI** 共价结合的膜蛋白

Media Connections

翻译 同步 转运

2. 翻译后转运 (post-translational translocation)

翻译后转运指的是游离多聚核糖体上合成的蛋白质的运输。

(1) 转运到线粒体 (mitochondria)

(2) 转运到叶绿体 (chloroplast)

(3) 转运到过氧化体 (peroxisome)

(4) 转运到细胞核 (nuclear)

(1) 转运到线粒体 (mitochondria)

- ① 蛋白质转运到线粒体基质
- ② 蛋白质转运到内膜腔
- ③ 蛋白质插入到内外膜

线粒体和叶绿体中的蛋白质除很少一部分（自主蛋白）在线粒体和叶绿体内部的核糖体上合成外，大多数在细胞质游离核糖体上合成，然后由细胞器表面的受体蛋白识别新生蛋白质的信号序列，再经过跨膜转运进入细胞器中。

线粒体和叶绿体蛋白质的信号序列有三种：

基质信号序列：

内膜腔信号序列

转运停止序列。

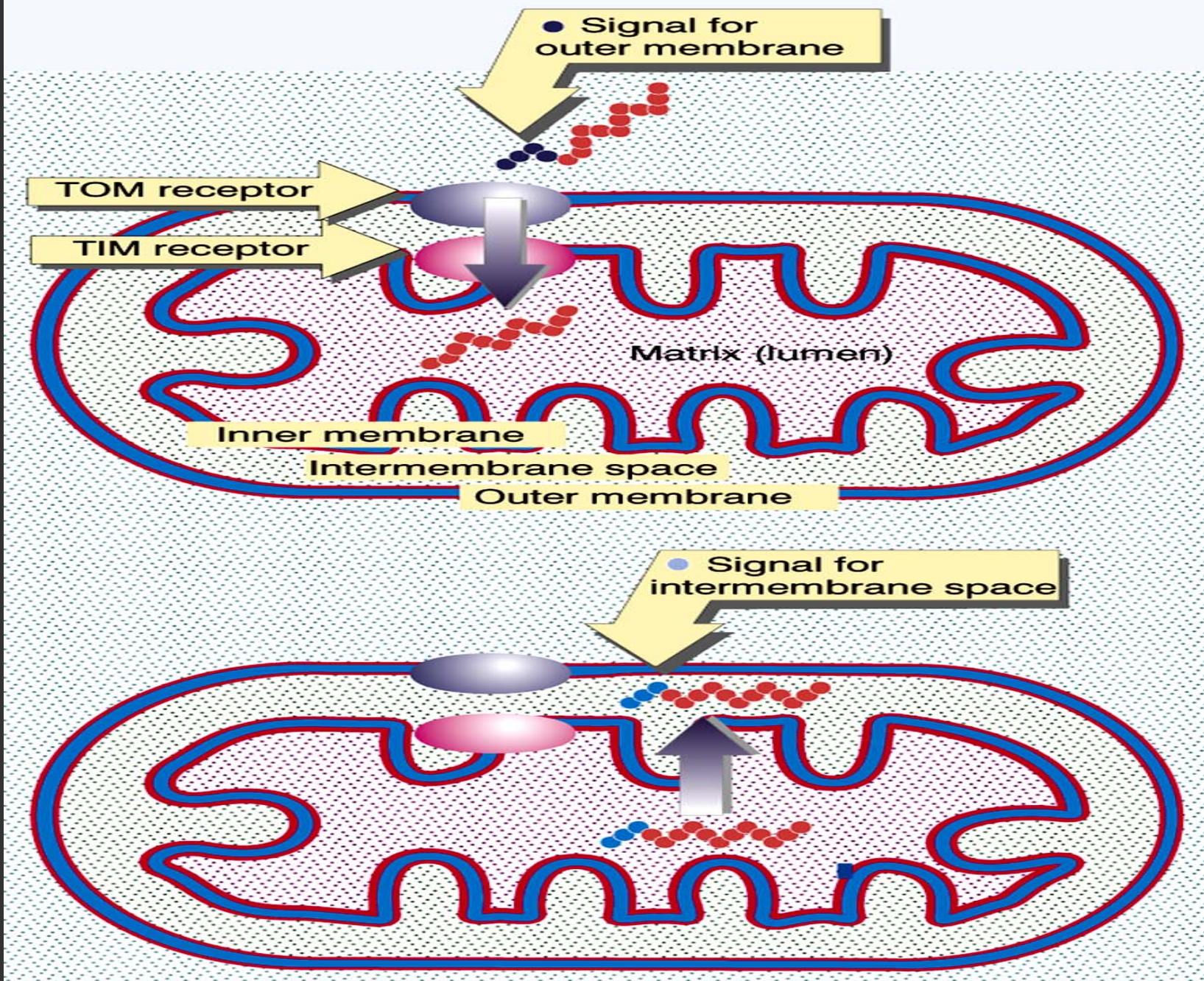
线粒体蛋白转运的特点

 指导蛋白质从细胞质转运到线粒体基质的所有信息都存在于 **N-terminus** 基质信号序列中

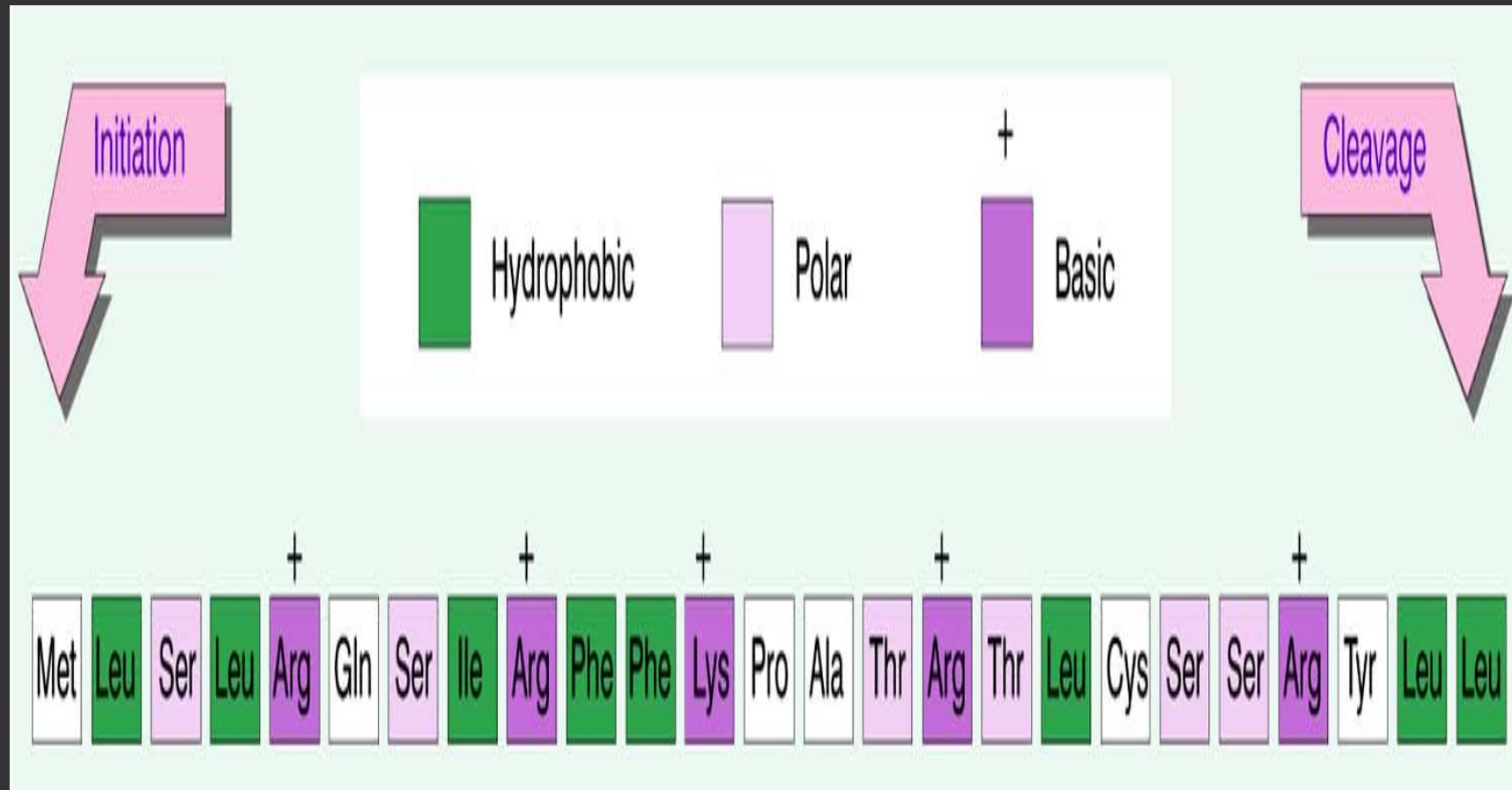
 只有未折叠的蛋白质才可以转运

 转运发生在外膜与内膜靠近处

线粒体蛋白转运



酵母细胞色素 c 氧化酶亚基IV的基质信号序列

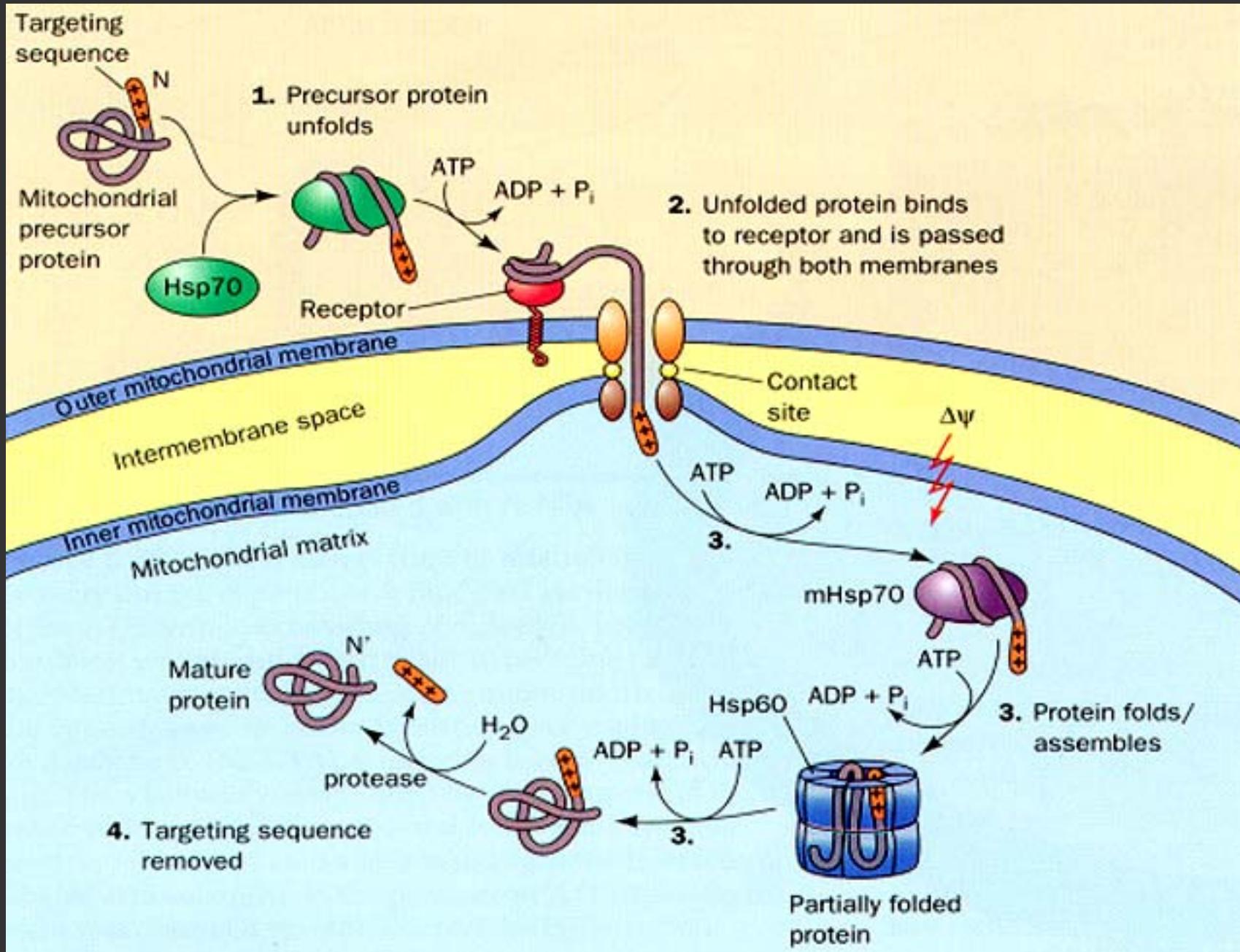


① 蛋白质转运到线粒体基质

基质信号序列富含带正电的 (Arg, Lys)
和含有羟基的氨基酸残基 (Ser, Thr) 。

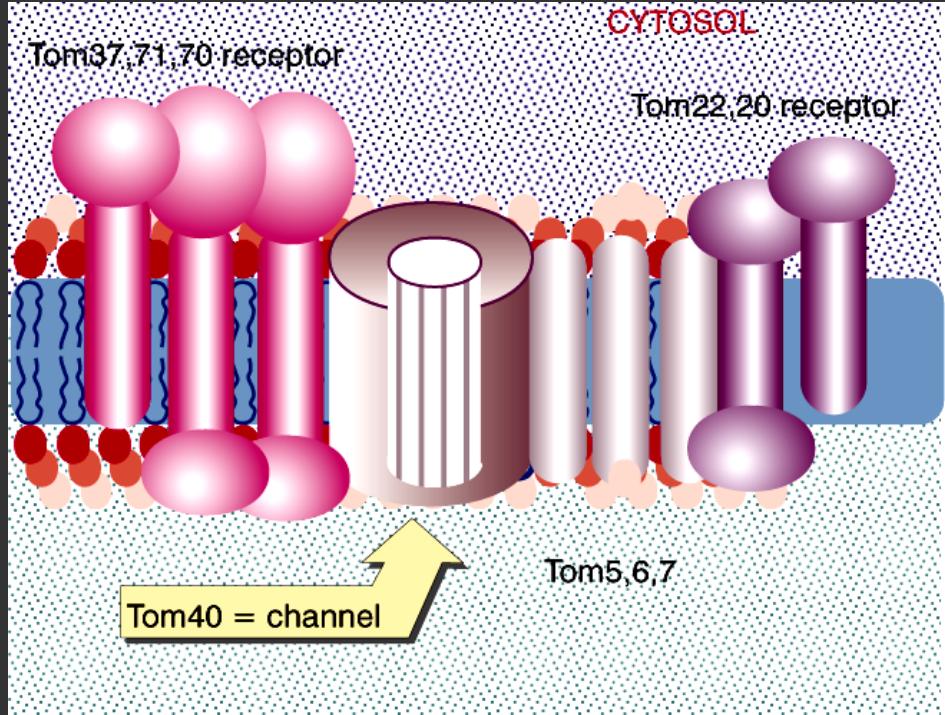
伴侣蛋白

- 在细胞质中，新合成的蛋白质与一个或多个伴侣蛋白结合以防止蛋白质聚集并使其保持伸展状态。这些伴侣蛋白包括细胞质 Hsp70 和线粒体输入刺激因子（mitochondrial-import stimulation factor, MSF）。
- 在基质中，基质 Hsp70 与进入基质的蛋白质结合以防止蛋白质聚集和错误折叠。
- 有些蛋白质进入基质后能自己折叠成最终构象，但许多蛋白质还需要 Hsp60 辅助。



受体蛋白— Tom

- ① 存在于线粒体外膜
- ② Tom40 嵌入在膜内，形成转运通道
- ③ Tom 5,6,7 可能是通道的组成成分，也可能是通道组装因子
- ④ Tom 20/22 亚复合物识别蛋白质的 N-terminus 信号序列
- ⑤ Tom 37,70,71 识别少量含有内部信号序列的蛋白质



受体蛋白—Tim

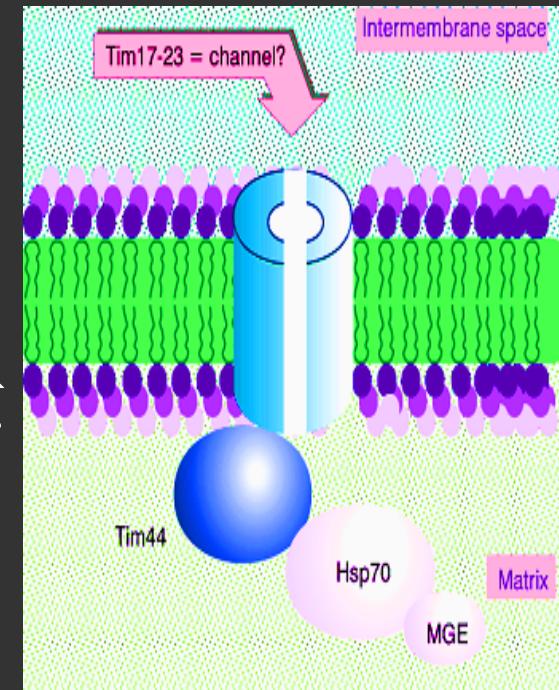
存在于线粒体内膜，形成两种通道：

☞ Tim 17/23：转运进入线粒体基质的蛋白质

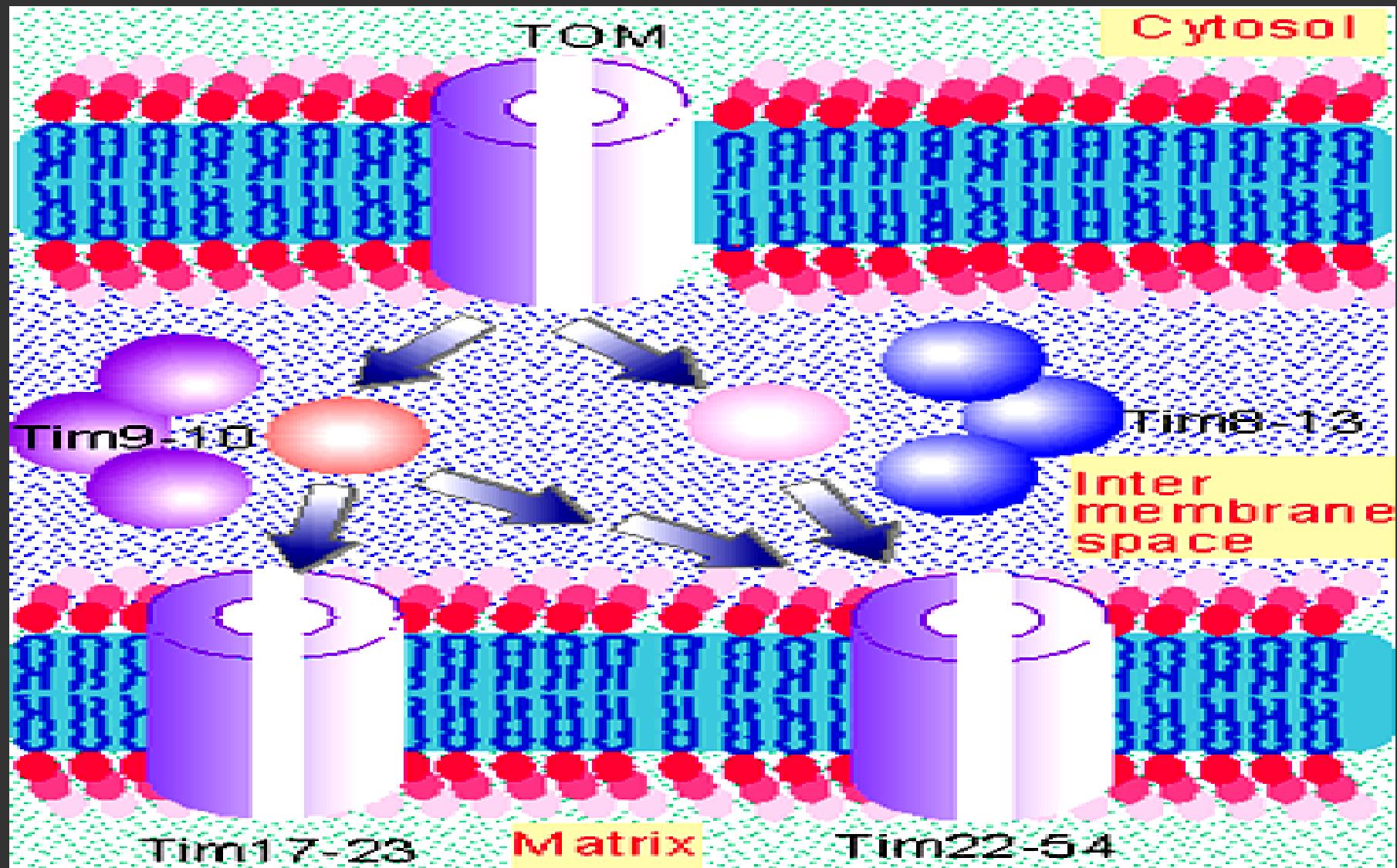
☞ Tim 22/54：转运定位在内膜上的蛋白质

Tim 44 分别与 Tim 17/23 和 Hsp70 结合，使蛋白进入基质就可结合到 Hsp70 上。

Tim 9/10 和 Tim 8/13 负责将 Tom 转运来的蛋白质“护送”到 Tim。其中 Tim 9/10 能把蛋白质“护送”到 Tim 22/54 和 Tim 17/23，而 Tim 8/13 只能“护送”到 Tim 22/54。有些蛋白质不被二者护送，说明还存在其他途径。



Tim 9/10 和 Tim 8/13 把蛋白质从 Tom “护送”到 Tim



能量供应

- ① 细胞质伴侣蛋白水解 ATP 供能，以保持蛋白质伸展状态。
- ② 基质伴侣蛋白与进入线粒体基质的蛋白质结合，并辅助这些蛋白质正确折叠，需要水解 ATP 来供能。
- ③ 蛋白质跨越内膜时需要，以提供质子动力（proton-motive force），但跨越外膜时不需要。

② 蛋白质转运到内膜腔

蛋白质转运到内膜腔有多种分拣机制

 **保留性分拣机制：**
(conservative sorting mechanism)

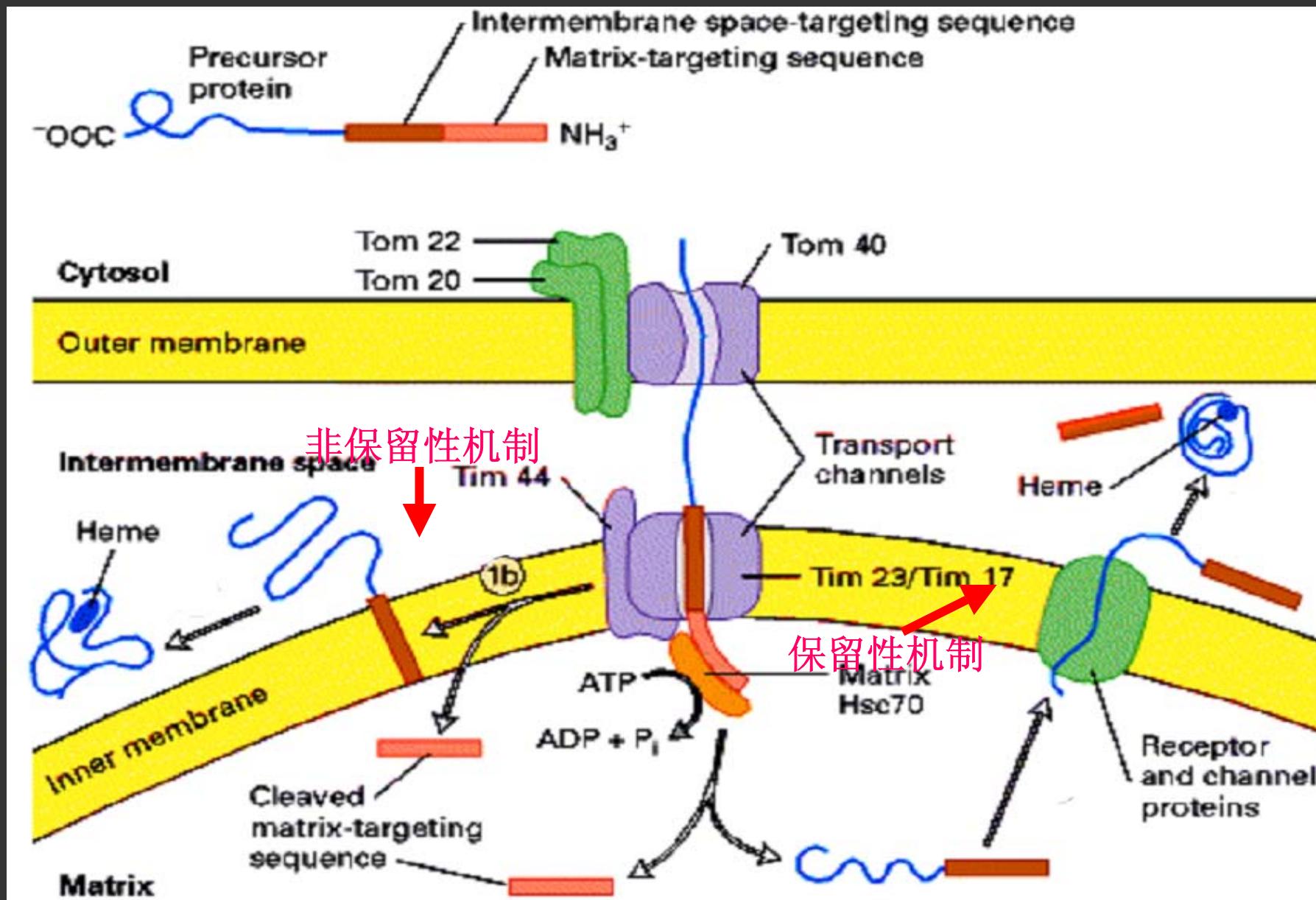
细胞色素 c_1 采用这种机制，细胞色素 c_1 含有两个信号序列。整个蛋白质进入基质后，第二个信号序列（含有连续的不带电荷的氨基酸）引导它跨越内膜进入内膜腔。



非保留性分拣机制 (nonconservative sorting mechanism)

- 细胞色素 b_2 采用 该机制， 细胞色素 b_2 的第二个信号序列同时也是转运停止序列。
- 蛋白质进入内膜腔时这个信号序列阻止它的转运， 然后离开受体蛋白通道， 并锚定在内膜中。
- 最后内膜腔中的蛋白酶将信号序列切割下来， 把蛋白质释放到内膜腔内。

细胞色素 c1 和细胞色素 b2 转运到内膜腔的模型



直接进入内膜腔机制

- 脱辅基细胞色素 c (apocytochrome c) 不含任何信号序列而直接进入内膜腔
- 脱辅基细胞色素 c 与成熟形式具有相同的氨基酸序列，只缺少共价连接的血红素 (heme) 基团
- P70 (与细菌孔蛋白相似) 在外膜磷脂双层中形成一个通道，从而提高了外膜的通透性，使一些小分子能自由通过外膜
- 脱辅基细胞色素 c 可能就是通过 P70 进入内膜腔，然后在酶的作用下结合血红素。结合血红素后构象发生变化，不能再通过 P70 通道回到细胞质中

③ 蛋白质插入内膜和外膜

👉 插入外膜的蛋白质含有基质信号序列和转运停止—锚定信号序列。

蛋白质在进入基质的过程中，转运停止序列使蛋白停止转运，并锚定在外膜中。

👉 插入内膜的蛋白质首先进入基质，但插入内膜的机制未知。

(2) 转运到叶绿体 (chloroplast)

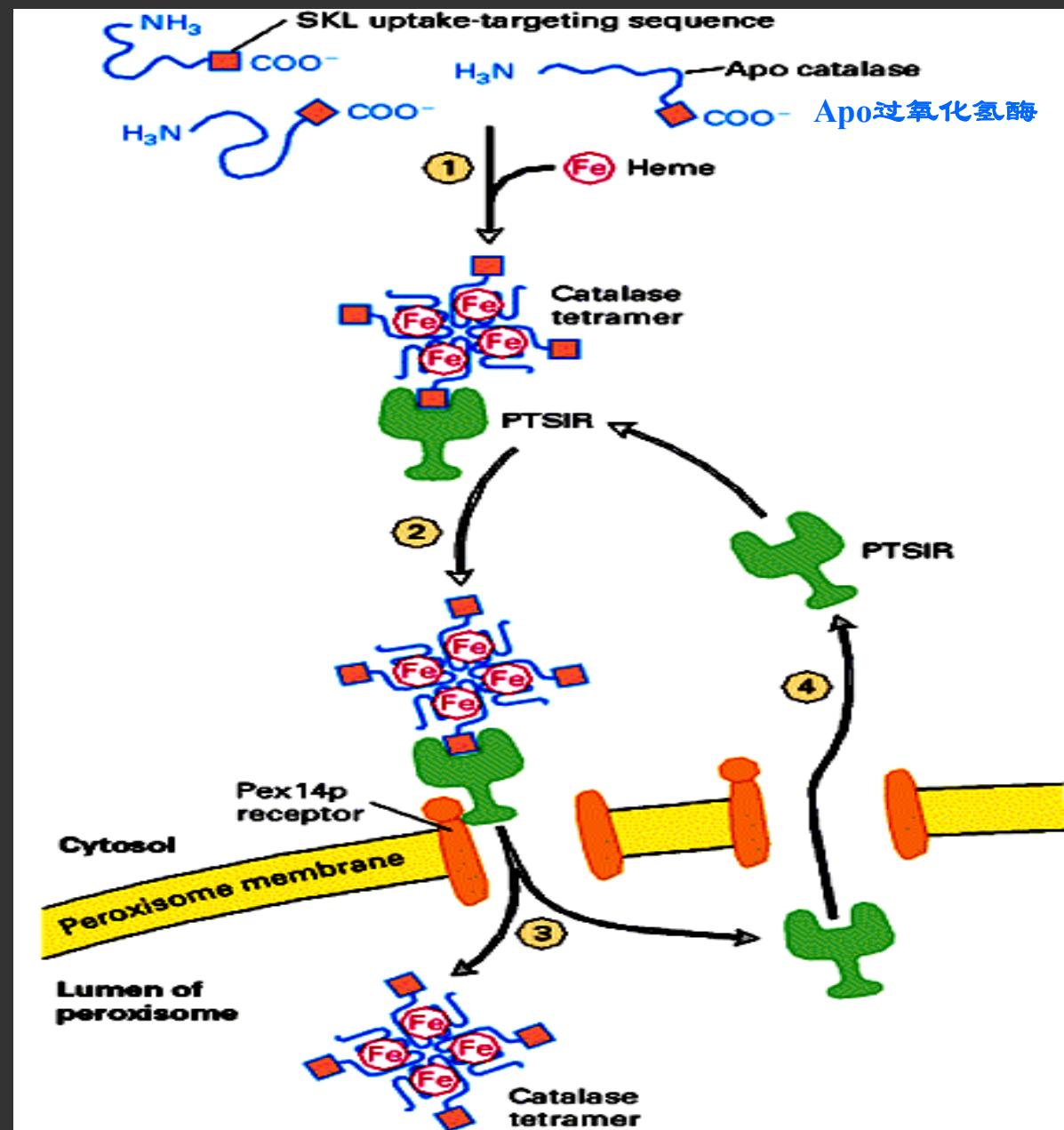
- 叶绿体蛋白质转运到基质中的方式与线粒体基本相同，不同的是叶绿体不能产生电化学梯度，所以没有质子动力驱动。
- 转运到类囊体 (thylakoid) 的蛋白质含有基质信号序列和类囊体信号序列。不同的蛋白质含有不同的类囊体信号序列：
 - 有的仅有疏水区，与伴侣蛋白结合，然后以伸展的方式进入类囊体腔；
 - 有的在 **N-terminus** 含有碱性氨基酸残基，先在基质中与辅因子结合并进行折叠，然后在一些膜蛋白的帮助下进入类囊体腔，同时需要质子动力驱动。

(3) 转运到过氧化体 (peroxisome)

- 过氧化体是单层膜，不含 DNA 和核糖体，所有的蛋白都由核基因编码，通过跨膜转运进入过氧化体。
- 大部分过氧化体蛋白先在细胞质中折叠成成熟形式。这些蛋白质在 C-terminus 含有分拣信号 **Ser-Lys-Leu (SKL)** 或相关序列。
- 细胞质可溶性受体PTS1R与信号序列结合，再与过氧化体膜上的受体 **Pex14p**结合，然后在 ATP 水解驱动下进入过氧化体。蛋白质进入后 **SKL** 序列不被切除。

过氧化氢酶进入过氧化体

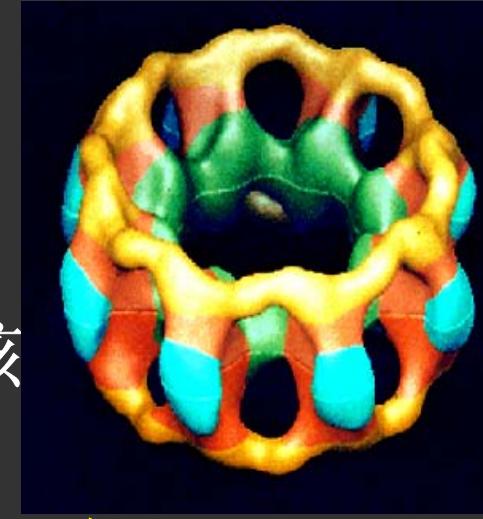
- 有些过氧化体蛋白含有 N-terminus 信号序列，与细胞质受体 PTS2R 结合，再结合到膜受体 Pex14p 上，然后进入过氧化体。进入后信号序列被切除。



- 过氧化体的膜蛋白不含 SKL 序列，其转运过程未知。

(4) 转运到细胞核 (nuclear)

- 蛋白质是通过核膜上的核孔进入细胞核
- 输入细胞核的蛋白质都含核定位信号序列 (nuclear localization signal, NLS) .



NLS其特征是：

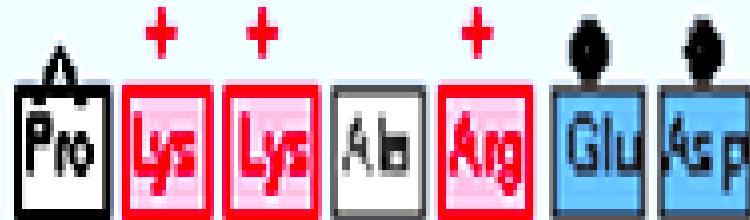
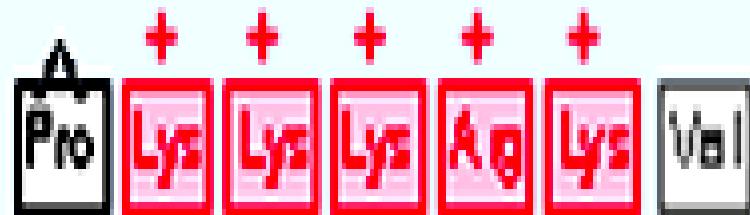
- 含一段或两段富含碱性氨基酸残基的信号序列；
- 碱性氨基酸上游有一个 Pro, 以防止 α helix 的形成；
- 疏水氨基酸残基很少

SV40 T antigen

Polyoma T antigen (1)

Polyoma T antigen (2)

NLS

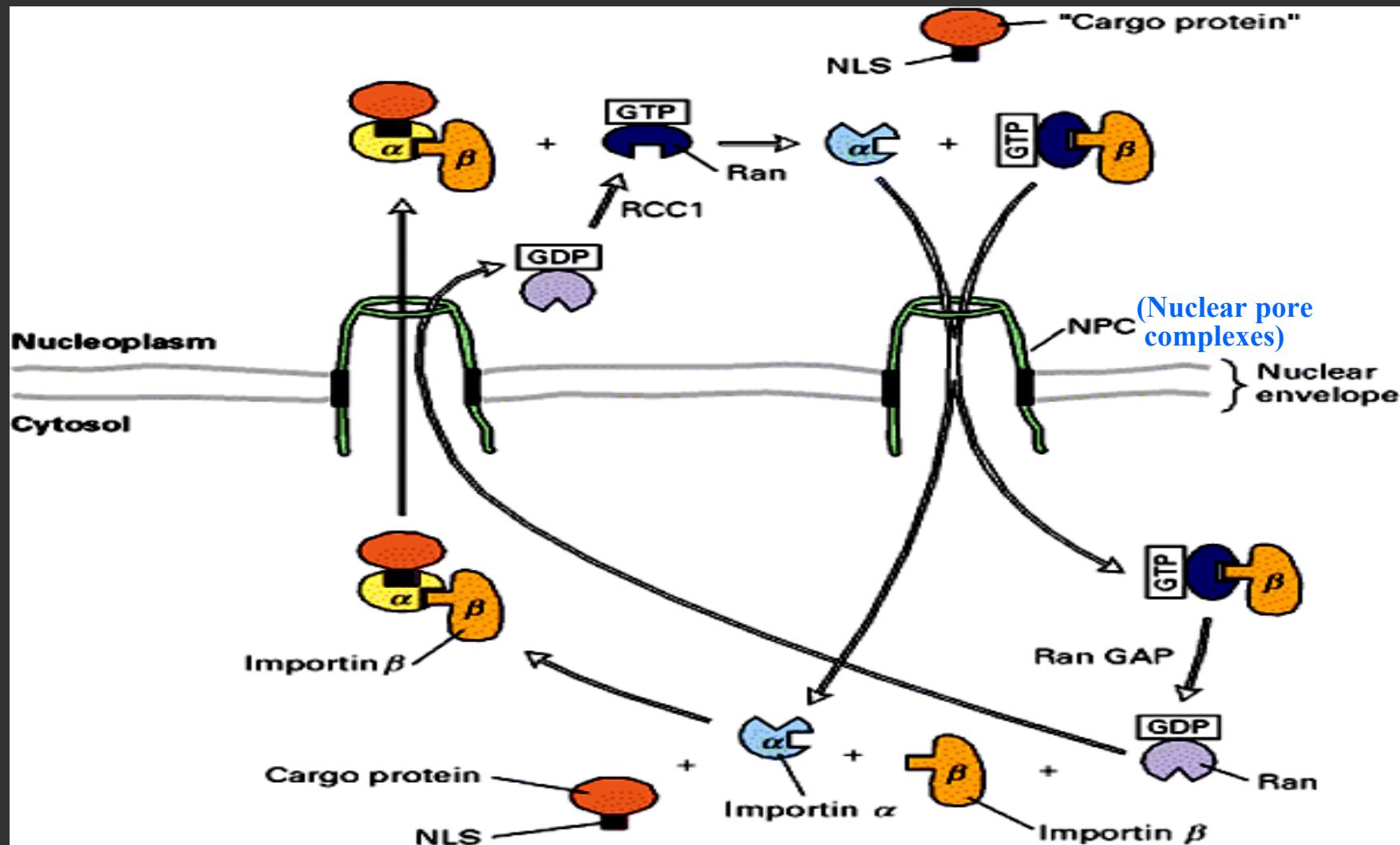


- 输出细胞核的蛋白质则含有一个核输出信号序列（nuclear export signal, NES）。NES 由大约 10 个氨基酸残基组成，富含 Leu

- 蛋白质转运涉及到多种蛋白质和辅助因子，如转运受体 **importin** 和 **exportin**（分别负责蛋白质输入和输出），Ran 等。
- Ran 是一种小的 GTP 酶，有两种构象，分别结合结合 GTP 和 GDP。在细胞核中以 **Ran-GTP** 形式存在，细胞质中以 **Ran-GDP** 形式存在
- importin** 有两个亚基：**importin α** 和 **importin β** ，二者形成异源二聚体，称为核输入受体（**nuclear**

- 转运到细胞核后，三元复合物中的 importin β 与 Ran-GTP 紧密结合，同时二者的结合部分覆盖了 importin α 与 importin β 的结合位点，使结合有底物蛋白的 importin α 与 importin β 解离，从而把底物蛋白释放进细胞核内。
- 蛋白质输出细胞核的过程与输入细胞核相似

蛋白质输入细胞核与 Ran 循环



Ran GAP: Ran GTP 激活蛋白, 只存在于细胞质

RCC1: Ran 核苷酸交换因子, 只存在于细胞核

Media Connections

翻译后转运

四、小泡运输的机制

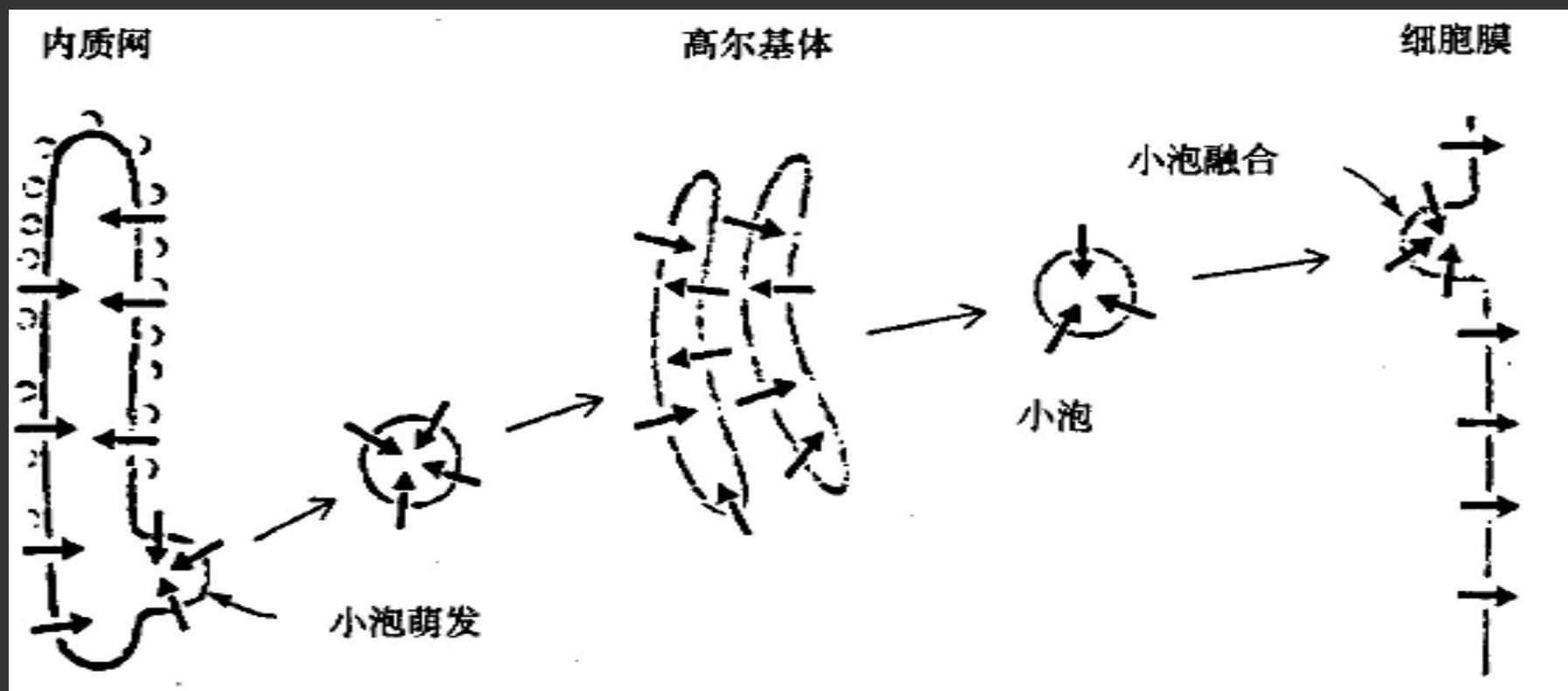
1、小泡的类型

2、小泡的融合

小泡转运是指一种细胞器的膜局部突起形成小囊，萌发的小囊与供体膜分离形成独立的小泡，然后小泡把携带的蛋白质运输到另一个细胞器。小泡与受体细胞器的膜融合，完成蛋白质的运输。另外，细胞的胞吞作用（**endocytosis**）也是由小泡完成的。

小泡的萌发、形成及融合需要许多蛋白质参与。

小泡在介导蛋白质运输时保持了生物膜的不对称性：
小泡萌发时供体的胞液面成为小泡的胞液面，小泡与受体融合时小泡的胞液面又成为受体的胞液面，因此供体和受体细胞器内部的蛋白质不会因小泡的萌发和融合而释放放到胞液中

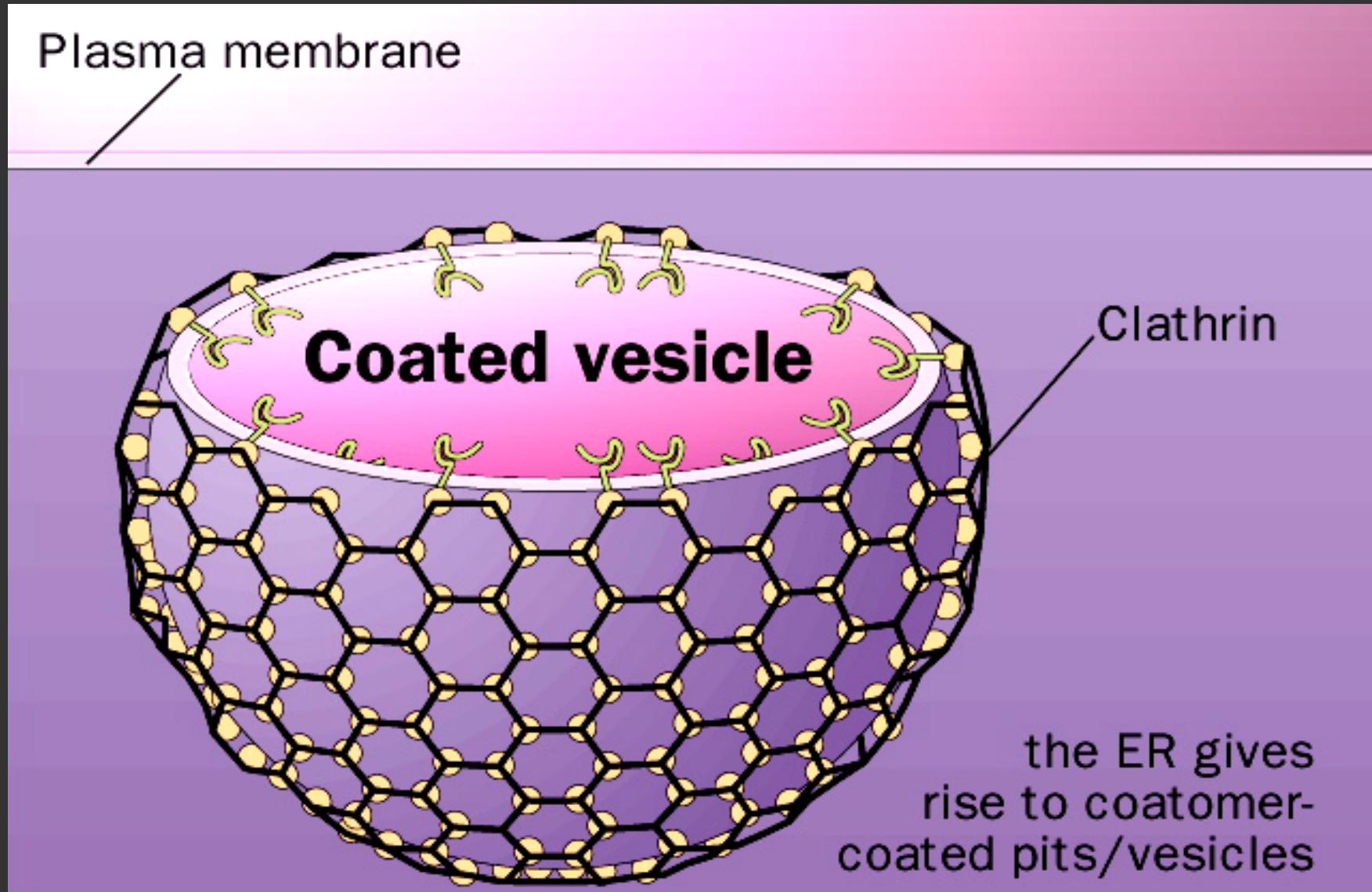


(1) 小泡的类型

根据小泡外包被蛋白的不同，可将小泡分为三种，每一种小泡可逆性聚合所需要的蛋白质有很大差

- ① 网格蛋白（clathrin）包被的小泡
- ② 包被蛋白 I （COP I）包被的小泡
- ③ 包被蛋白 II （COP II）包被的小泡

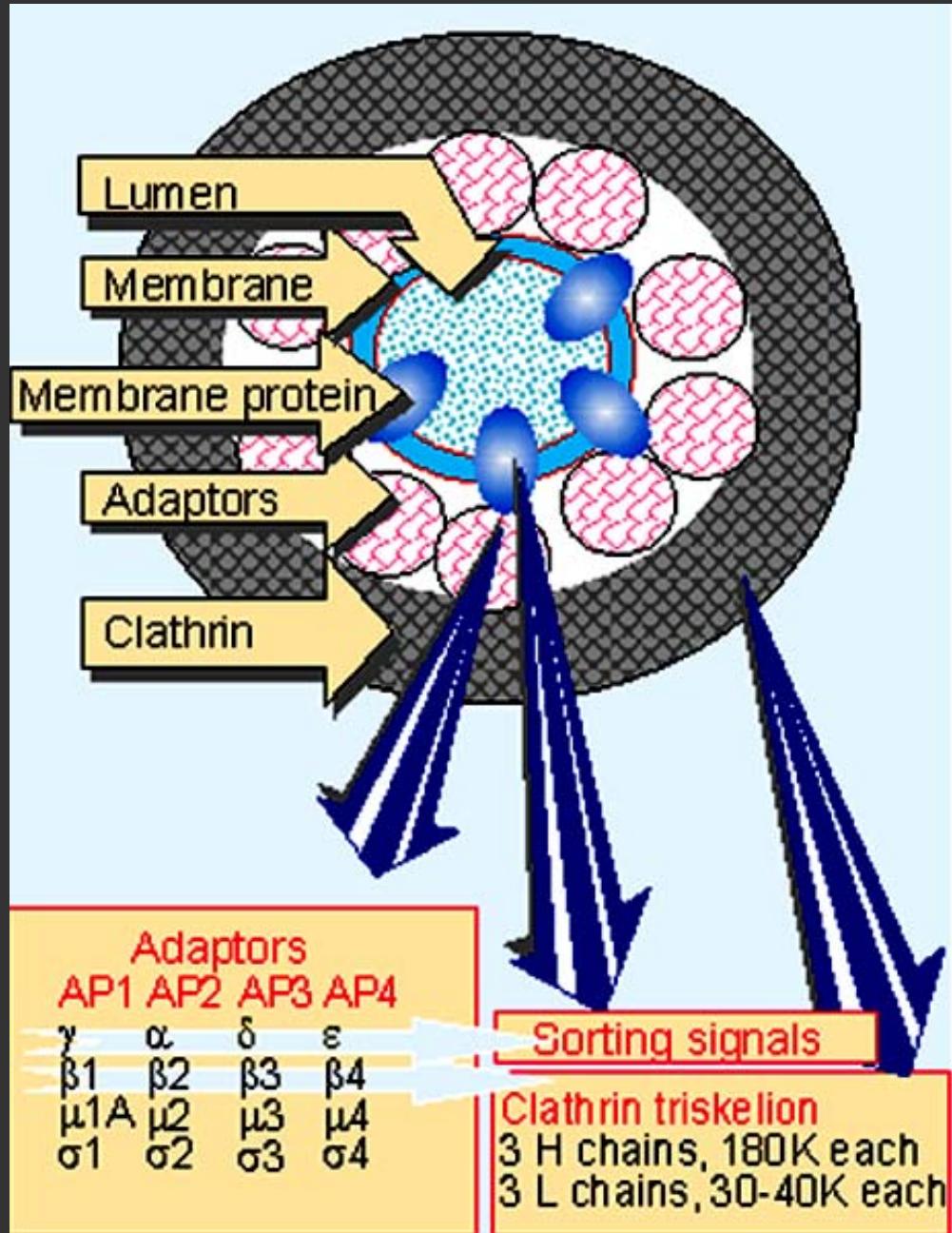
① 网格蛋白 (clathrin) 包被的小泡



哺乳动物细胞表面有一些内陷的区域，称为有被小窝（coated pit）

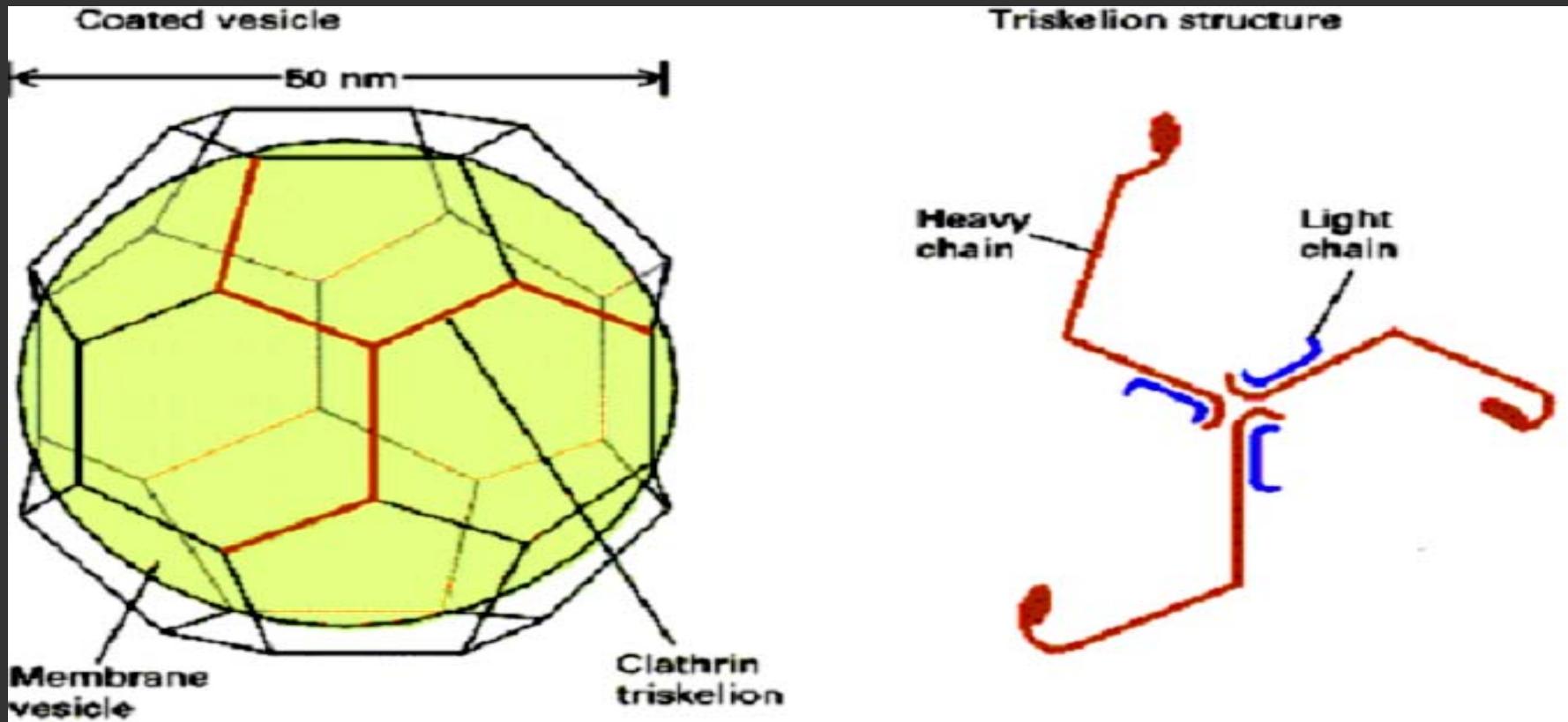
这些有被小窝的形成需要三种蛋白质成分：

- a. 网格蛋白（clathrin）
- b. 连接蛋白（adapter protein）
- c. 发动蛋白（dynamin）



a. 网格蛋白 (clathrin)

一种纤维蛋白，由 3 条重链和 3 条轻链组成，形状象 3 个分支的树叉，又称三脚蛋白复合体 (triskelions)



b. 连接蛋白 (adapter protein)

现已发现多种连接蛋白 (adapter protein/adaptin)

- ☛ β adaptin 与网格蛋白骨架相连.
- ☛ μ adaptin 识别内化作用 (internalization) 中酪氨酸的分拣信号.
- ☛ α 和/或 γ adaptin 在组装连接子时与膜发生相互作用



每一种连接蛋白可由 γ 、 α 、 δ 、 ϵ 四种亚型连接成不同的异源四聚体称为连接子 (adaptor, AP) 。

连接子（adaptor, AP）的功能

- 连接子与网格蛋白的重链末端球状区结合，促进网格蛋白形成笼状结构
- 连接子与膜蛋白的胞质面特异结合，在小泡萌发时对蛋白质进行选择（即选择特定的蛋白质用来组装小泡）
- 不同的连接子介导不同转运过程



AP1: 高尔基体 → 内体 (endosome)

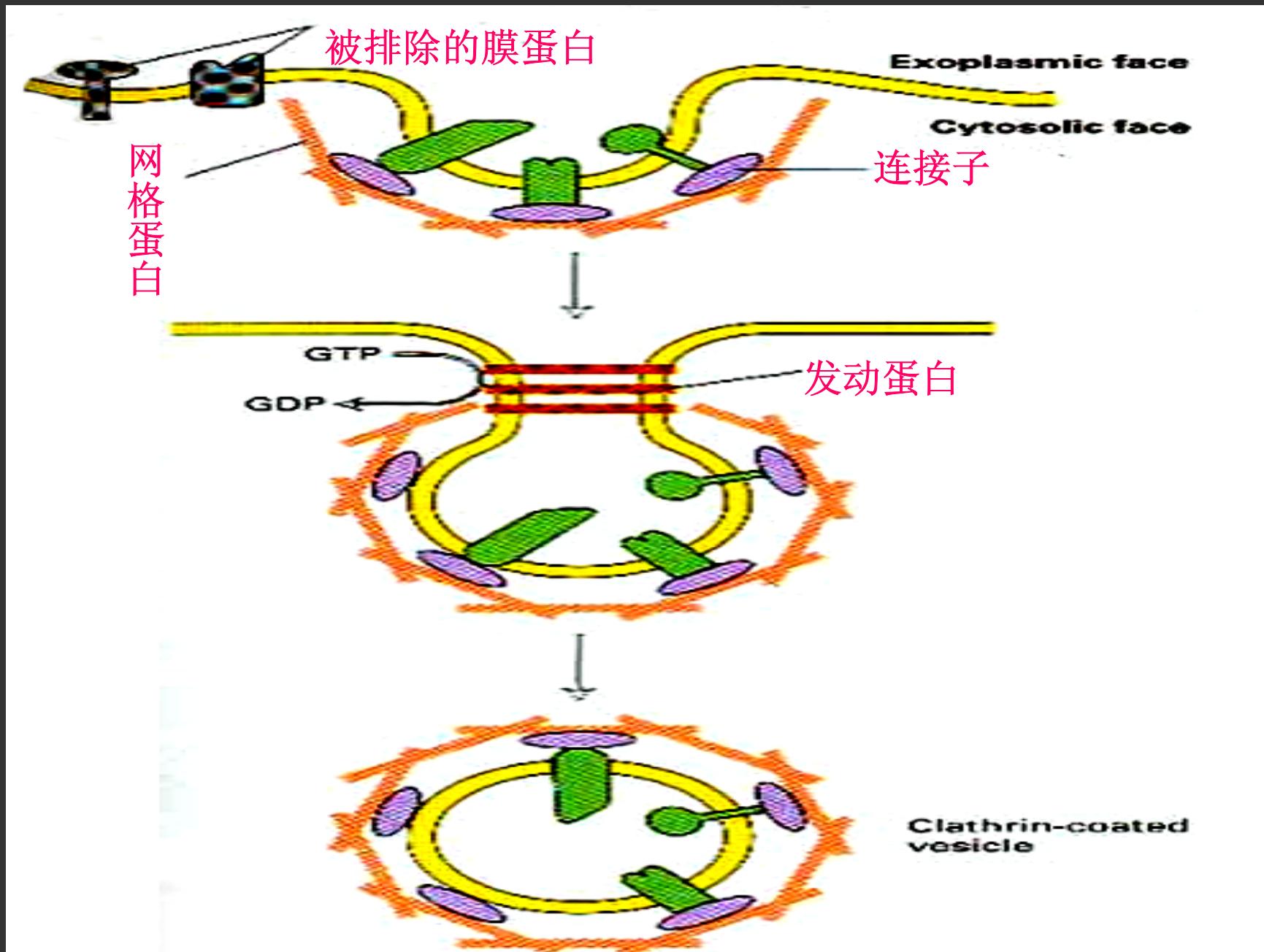
AP2: 质膜 → 内体

AP3: 高尔基体 → 溶酶体, 液泡 (vacuole), 黑素小体 (melanosome), 血小板小体 (platelet vesicles)

c. 发动蛋白 (dynamin)

- 👉 大约由 900 个氨基酸组成.
- 👉 一种细胞质蛋白, 能结合并水解 GTP.
- 👉 发动蛋白的亚基围绕萌发小泡的“颈部”进行多聚化, 然后水解 GTP, 使小泡与膜相连的部位收缩, 直至小泡解离.

小泡萌发时各种蛋白质的掺入及对膜蛋白的选择

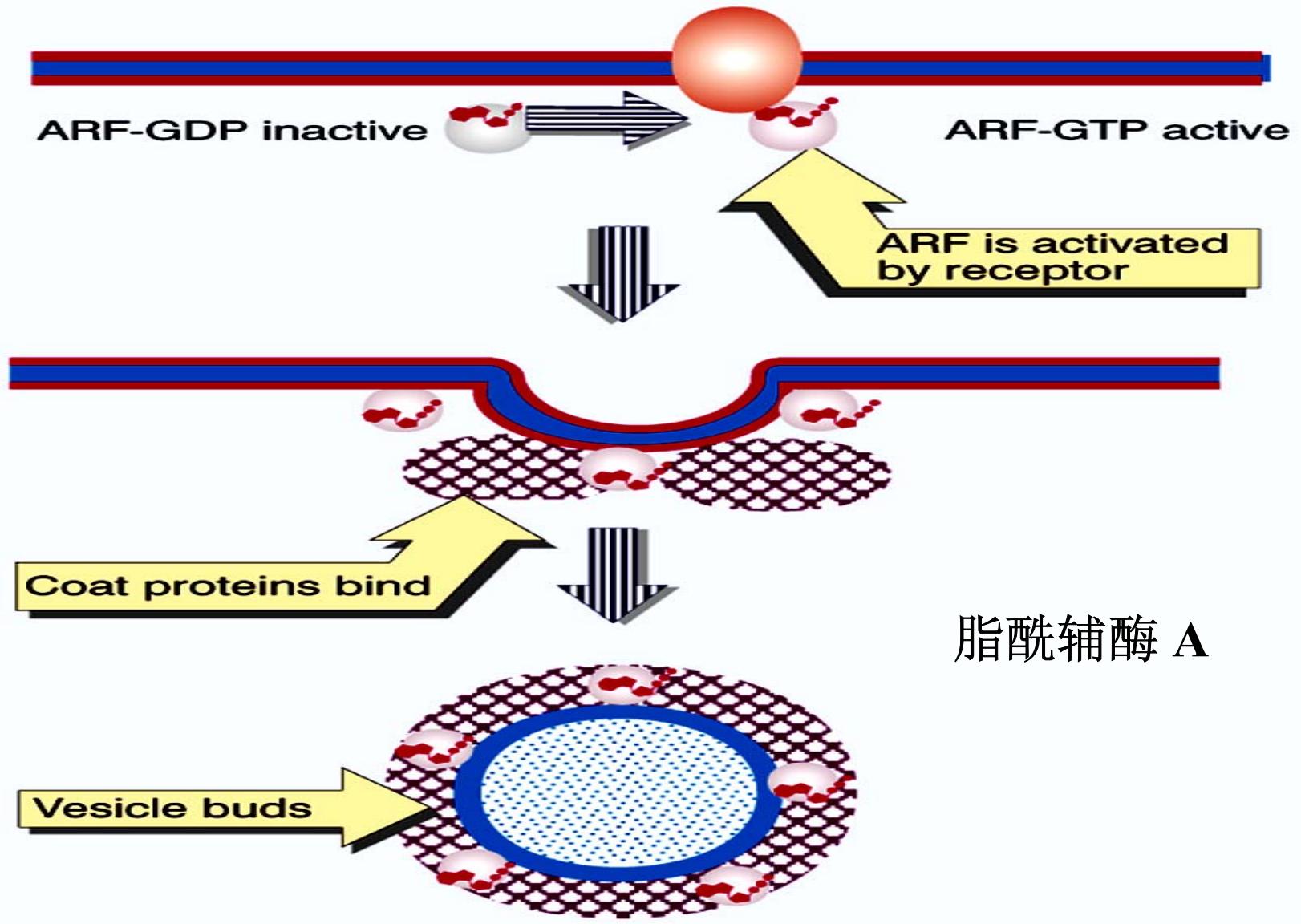


网格蛋白包被小泡的解聚

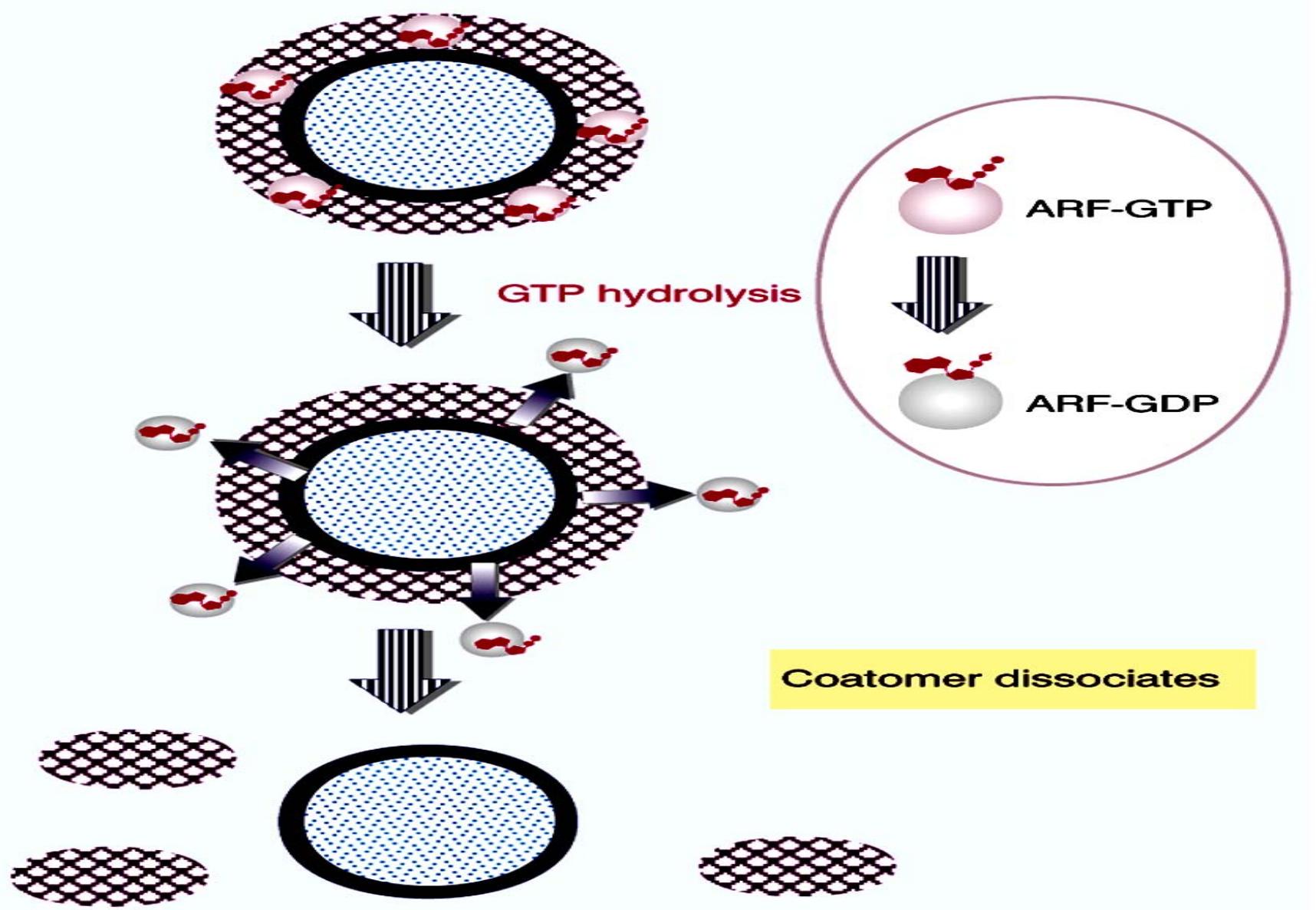
- ➡ 网格包被小泡形成后就进行解聚
- ➡ 解聚由细胞质伴侣蛋白 Hsp70 催化
- ➡ 生成的网格蛋白可再利用

② 包被蛋白 I (COP I) 包被的小泡

- COP I 含有 7 个亚基 ($\alpha, \beta, \beta', \gamma, \delta, \varepsilon, \zeta$)。这些亚基与网格蛋白包被小泡中的连接蛋白有相似的功能。COP I 的各个亚基聚合在一起形成包被体 (coatomer)。
- ADP 核糖基化因子 (ADP ribosylation factor, ARF) 是一种小的 GTP 结合蛋白。GTP 置换 GDP 形成 ARF-GTP 复合物，然后此复合物与高尔基体膜上的 ARF 受体结合。
- 包被体与 ARF 结合，引起局部的膜突起。
- 完整的小泡与膜解离需要脂酰辅酶 A (fatty acyl CoA) 的参与，但具体机制未知。



COP I 小泡的形成



COP I 小泡的解聚

COP I 小泡的功能

- ➥ 介导蛋白质从内质网运输到高尔基体
- ➥ 介导蛋白质在高尔基体内部进行逆向转运 (retrograde transport)

③ 包被蛋白II（COP II）包被的小泡

- ☞ COP II 小泡的形成过程与 COP I 相似，但所需要的蛋白成分不同。
- ☞ COP II 的包被及连接蛋白包括： Sec23/24 复合物， Sec13/31 复合物， Sec16。
- ☞ COP II 的小 GTP 结合蛋白是 Sar1。
- ☞ 介导蛋白质从内质网运输到高尔基体。

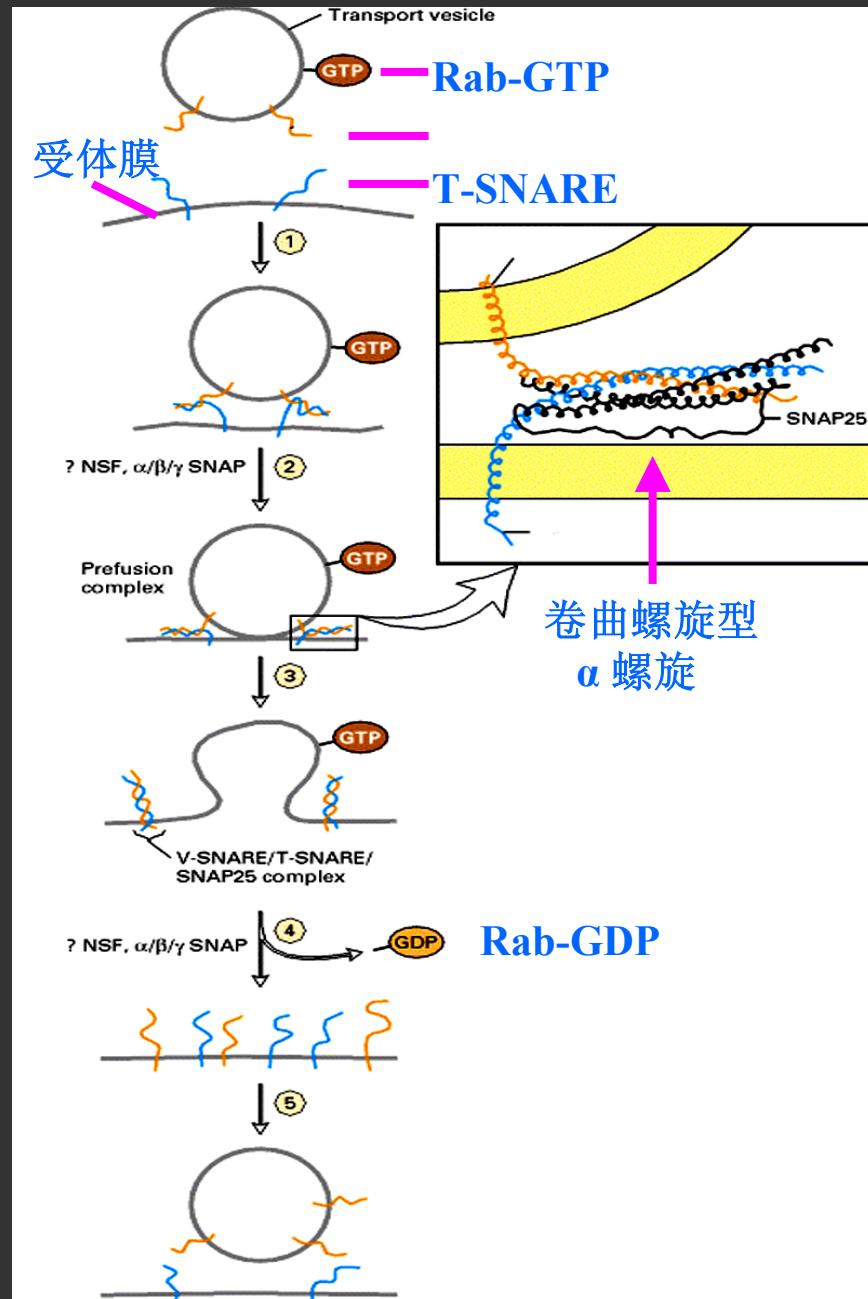
(2) 小泡的融合

- 运输小泡有不同的包被蛋白，但小泡与靶膜的融合有着共同的特征
- N-乙基马来亚胺敏感因子 (N-ethyl maleimide-sensitive factor, NSF)** 是一个同源四聚体，能结合并水解 ATP。NSF 与膜结合需要多种可溶性 NSF 连接蛋白 (soluble NSF attachment proteins, SNAP) 参与，如 α -, β -, γ -SNAP

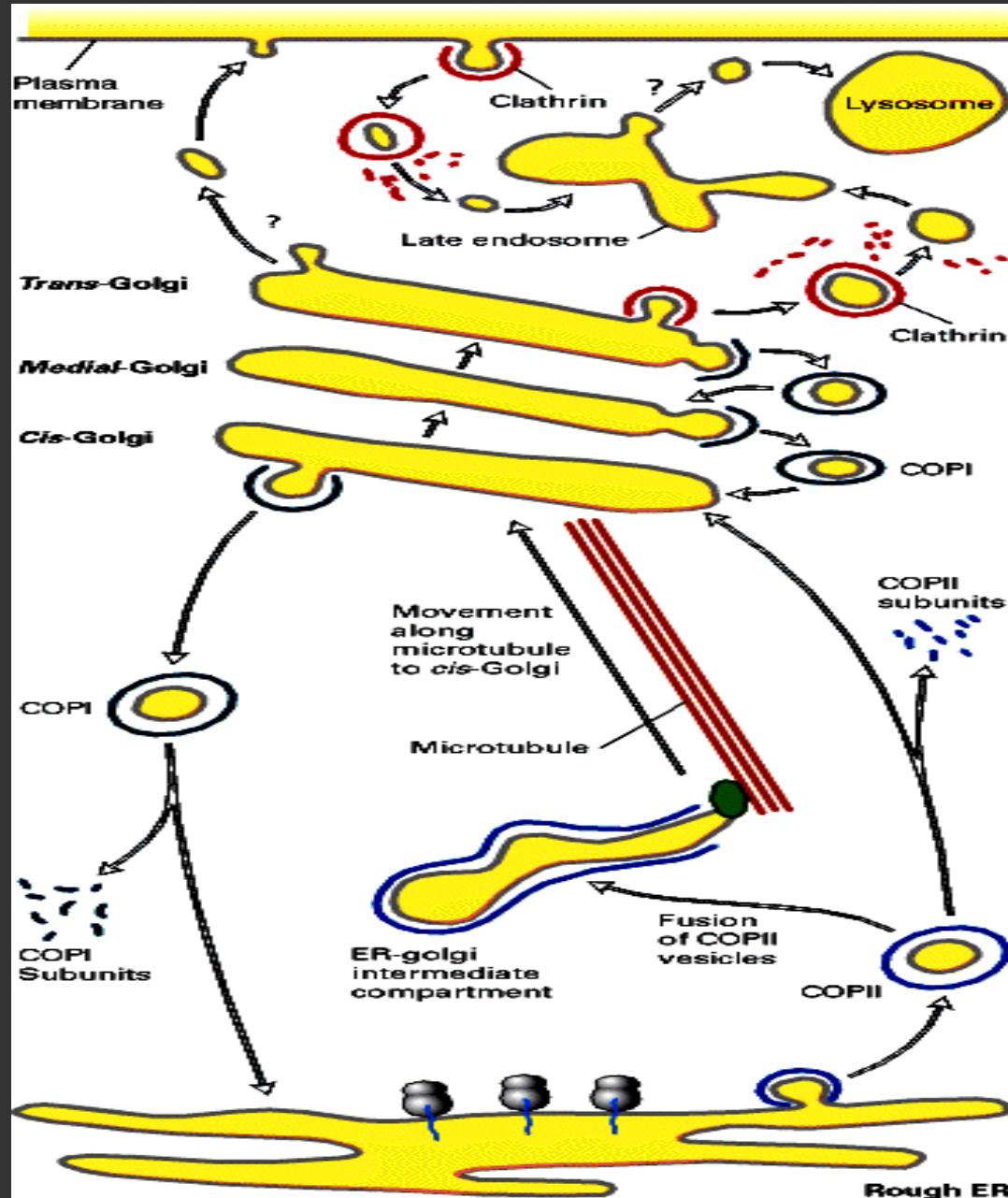
- 小泡 **SNAP** 受体 (**V-SNARE**) 在小泡萌发时就掺入小泡，与特异的靶膜 **SNAP** 受体 (**T-SNARE**) 相互作用，引导小泡与特定的靶膜融合。
- **Rab** 蛋白 (一种 GTP 结合蛋白) 中的 GTP 置换 GDP，引起 **Rab** 蛋白构象发生变化，使其与特定小泡膜表面的蛋白结合。GTP 水解使 **Rab** 蛋白释放出来并进入下一个循环。**Rab** 蛋白在小泡融合过程中起调节作用。

小泡与受体膜的融合

- ① V-SNARE 与 T-SNARE 相互作用使小泡附着在受体膜上.
- ② 前融合复合物形成。需要许多 V-SNARE 与 T-SNARE 相互作用，ATP 水解。能为 N-乙基马来亚胺（NEM，与 NSF 的巯基发生作用）阻断，证明 NSF 是必需的.
- ③ 融合，具体机制未知.
- ④ 解离，可能由NSF和SNAP催化.
- ⑤ 含有 V-SNARE 的小泡重新形成.



各种类型的小泡运输



网格蛋白包被的小泡：
胞吞作用；高尔基体
到内体、溶酶体等

COP I 包被的小泡：
高尔基体到内质网；
高尔基体内部逆向转
运

COP II 包被的小泡：
内质网到高尔基体

Media Connections

小泡运输

五、受体介导的胞吞作用和内化蛋白 质的分拣

- 受体介导的胞吞作用 (receptor mediated endocytosis) 是指细胞表面的特异受体识别细胞外大分子 (配体) 并与之紧密结合，含有受体-配体复合物的细胞膜区内化 (internalization) 而形成转运小泡，选择性地把受体-配体复合物掺入小泡进行运输
- 配体内化的效率取决于其在细胞表面对应受体的浓度
- 细胞表面有一些由小窝蛋白 (caveolin) 组成的小窝 (caveolae)。这些小窝含有一些受体蛋白，能介导特定类型的胞吞作用。但大多数受体介导的胞吞作用形成的是网格蛋白包被的小窝和小泡

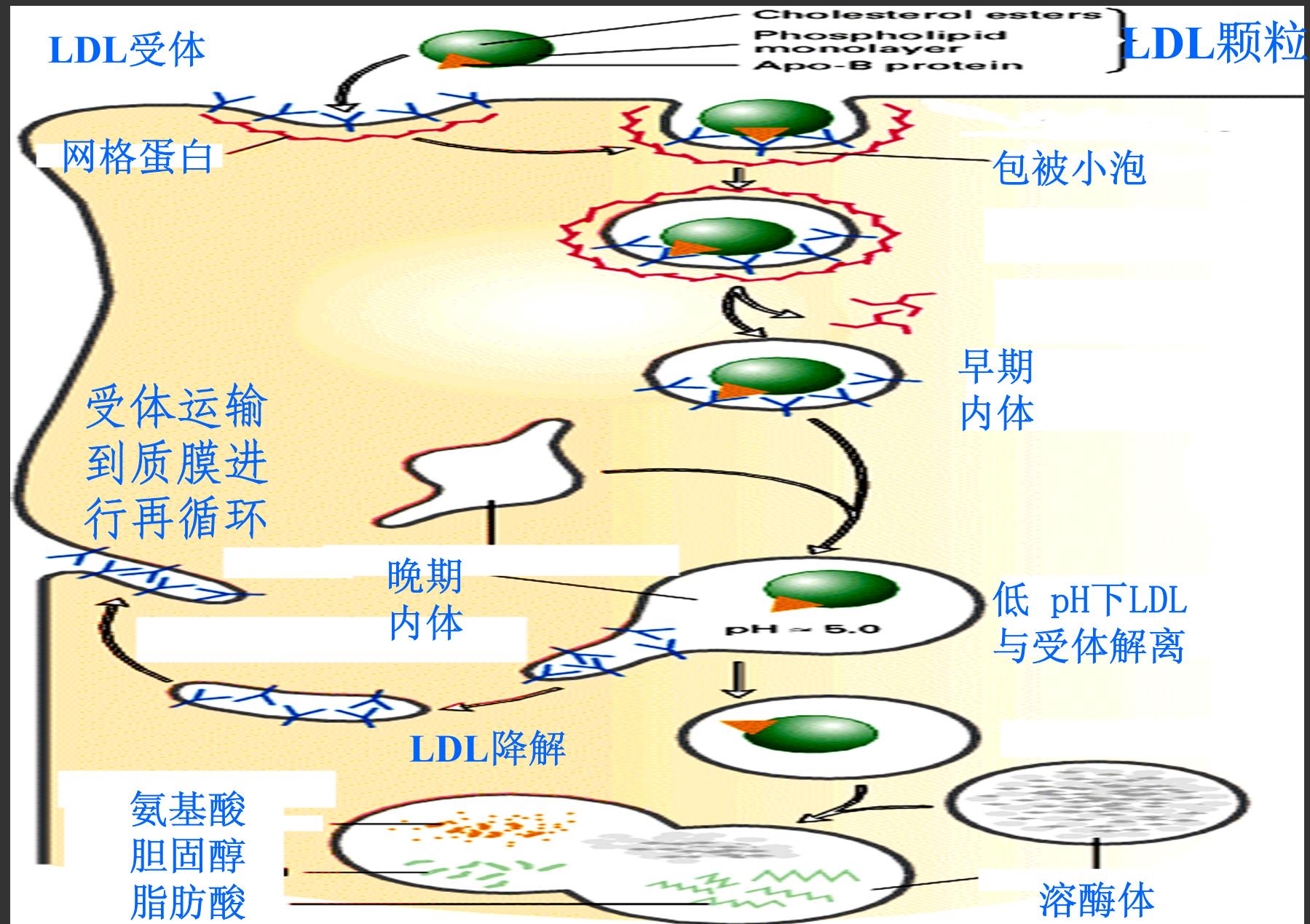
细胞膜表面的受体在其胞质面含有特异的分拣信号，这些分拣信号决定了蛋白质形成什么样的小泡以及运输到什么位置

信号序列	蛋白质类型	转运方向	小泡类型	信号受体
KDEL	分泌	Golgi 到 ER	COP I	Golgi 膜上的 KDEL 受体
KKXX	膜	Golgi 到 ER	COP I	COP α 和 β 亚基
二酸性氨基酸	膜	ER 到 Golgi	COP II	未知
M6P	分泌	<i>trans</i> -Golgi 和 质膜到后期内体	网格蛋白	<i>trans</i> -Golgi 和质膜的 M6P 受体； AP1 和 AP2 连接蛋白
YXXΦ	膜	质膜到内体	网格蛋白	AP2 连接蛋白
LL	膜	质膜到内体	网格蛋白	AP2 连接蛋白

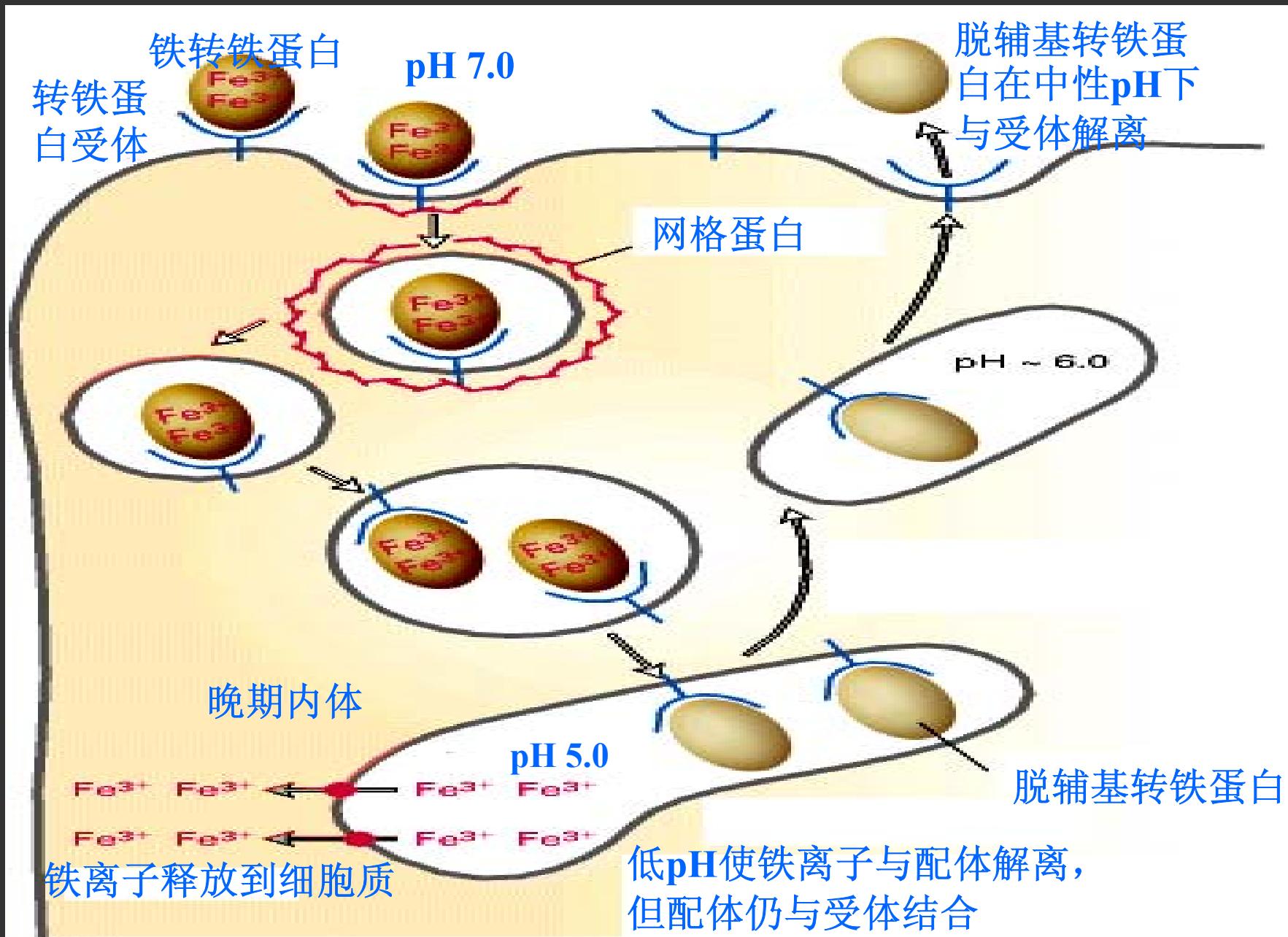
不同蛋白质的分拣信号
(X=任何氨基酸, Φ=体积较大的疏水氨基酸)

- 小泡形成之后,内部装载受体与配体的复合物。胞液中的伴侣蛋白 Hsp70 依靠水解 ATP 提供的能量,使小泡外的网格蛋白解聚
- 失去网格蛋白的小泡就成为早期内体。早期内体与晚期内体融合, 将受体-配体复合物带进晚期内体
- 晚期内体是一种蛋白质分拣小泡 (protein sorting vesicles)。由于膜上有 H 离子泵, 利用水解 ATP 能量使 H 离子内流, 泡内 pH 较低。受体与配体在低 pH 环境中相互分离
- 不同的受体与配体有不同的去路

LDL 的胞吞



转铁蛋白循环

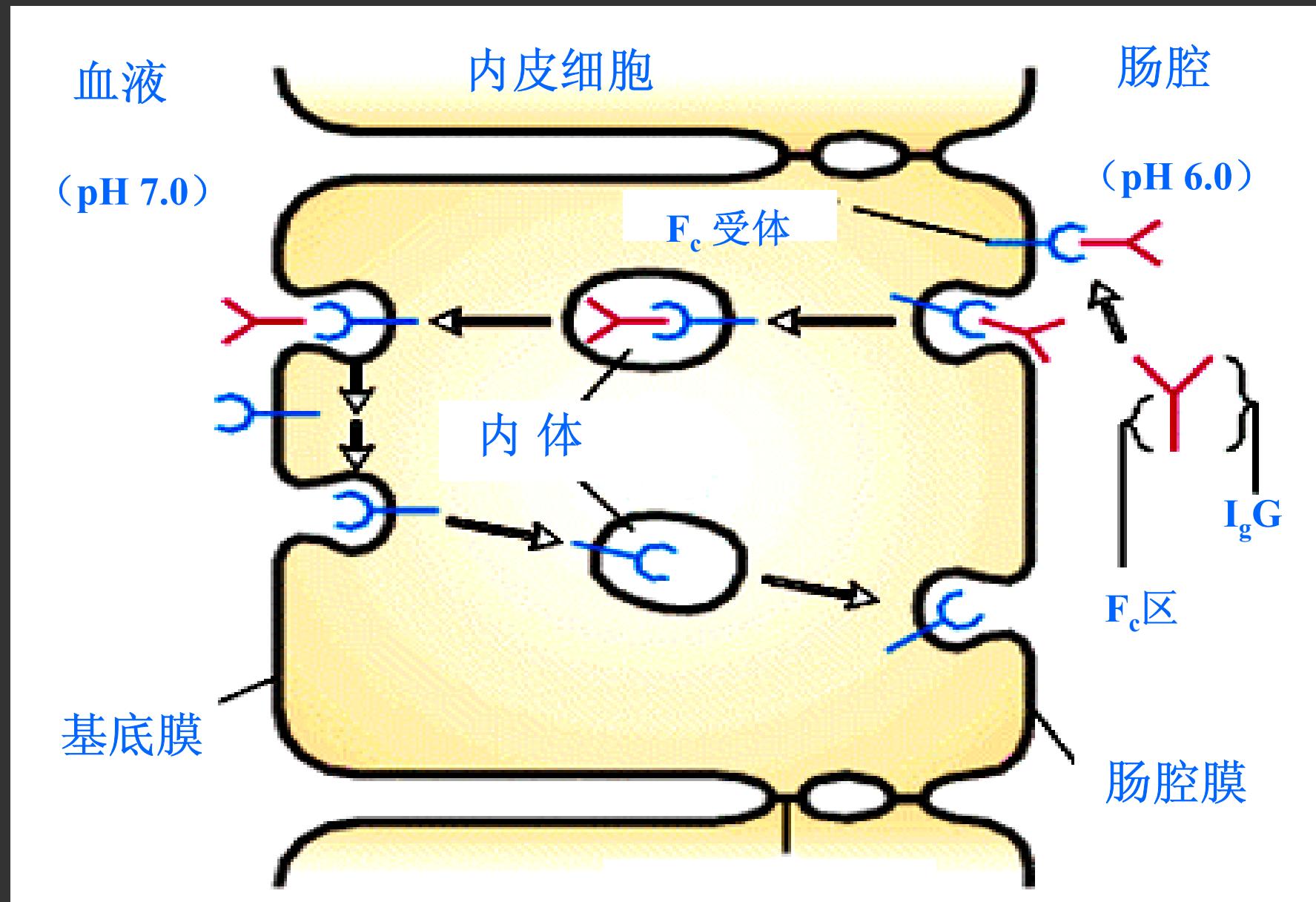


受体介导的胞吞作用中受体与配体的去向

方式	受体去向	配体去向	举例
1	再循环	再循环	运铁蛋白
2	再循环	降解	LDL
3	降解	降解	上皮生长因子
4	运出细胞	运出细胞	母体的免疫球蛋白通过胎盘

- 一些蛋白质通过受体介导的内吞作用进入细胞后就留在细胞内，然后进行轻度加工，如卵黄原蛋白（**vitellogenin**）。卵黄原蛋白是多种卵黄（yolk）蛋白的前体，在肝脏中合成。合成功后分泌到血液，在蛋形成过程中通过胞吞作用进入蛋内。
- 一些蛋白质转运是通过胞转作用（**transcytosis**）完成的。即细胞的一侧通过胞吞作用使物质进入细胞，在细胞质中进行运输，然后通过胞吐作用在细胞的另一侧将物质分泌到细胞外。如母体免疫球蛋白通过初生小鼠的小肠内皮细胞进入小鼠体内的过程就是胞转作用

初生小鼠免疫球蛋白的胞转作用



受体介导的胞吞作用的功能

- 将胞外代谢物运输到胞内。如铁离子、LDL、维生素 B₁₂ 等。
- 是细胞应答肽类激素和生长因子的调节方式之一。通过胞吞作用可灭活激素或生长因子。细胞表面受体的减少使细胞对激素及生长因子的应答减弱，称为受体的下降调节。

- ➡ 将环境中需要降解的蛋白质通过内吞作用进入细胞后运输到溶酶体。如巨噬细胞清除血液循环中的损伤的蛋白质
- ➡ 某些病毒或及细菌毒素能通过这种作用进入细胞。如 HIV 病毒、白喉毒素等

Media Connections

LDL 的胞吞

六、高尔基复合体内蛋白质的分拣

1. 高尔基体蛋白的分拣

2. 转运小泡和分泌小泡

1. 高尔基体蛋白的分拣

- 所有已知的高尔基体蛋白都是由内质网膜，通过小泡运输到达高尔基体。
- 不同的高尔基体蛋白都含有一个跨膜 α 融合蛋白。这个 α 融合蛋白比质膜蛋白的跨膜 α 融合蛋白短 2~3 个氨基酸。
- 多数高尔基体蛋白可通过 α 融合蛋白与磷脂双层特异结合形成复合物，然后与细胞骨架蛋白结合（或通过其他未知的机制）定位在高尔基体内，而不是形成转运小泡运输到质膜。

2. 转运小泡和分泌小泡

- 外侧高尔基体形成两种小泡：转运小泡（用于组成型分泌）和分泌小泡（用于调控型分泌）
- 电镜下的分泌小泡外层由网格蛋白包被，里面是分泌性蛋白聚集形成的核心

► 分泌性蛋白的选择性聚集决定了它们形成的是
分泌小泡

► 许多哺乳动物细胞中的分泌小泡含有两种蛋白
质：嗜铬粒蛋白 B (chromogranin B) 和分泌
粒蛋白 II (secretogranin II) 。

两种蛋白与选择性聚集的分泌性蛋白一起，
在外侧高尔基体内形成分泌小泡，而不与这两种
蛋白发生联系的分泌性蛋白则进行组成型分泌。

第二节 蛋白质的加工与修饰

一、二硫键的形成

二、内质网中蛋白质的质量控制

三、蛋白质的共价修饰

四、蛋白质前体的加工

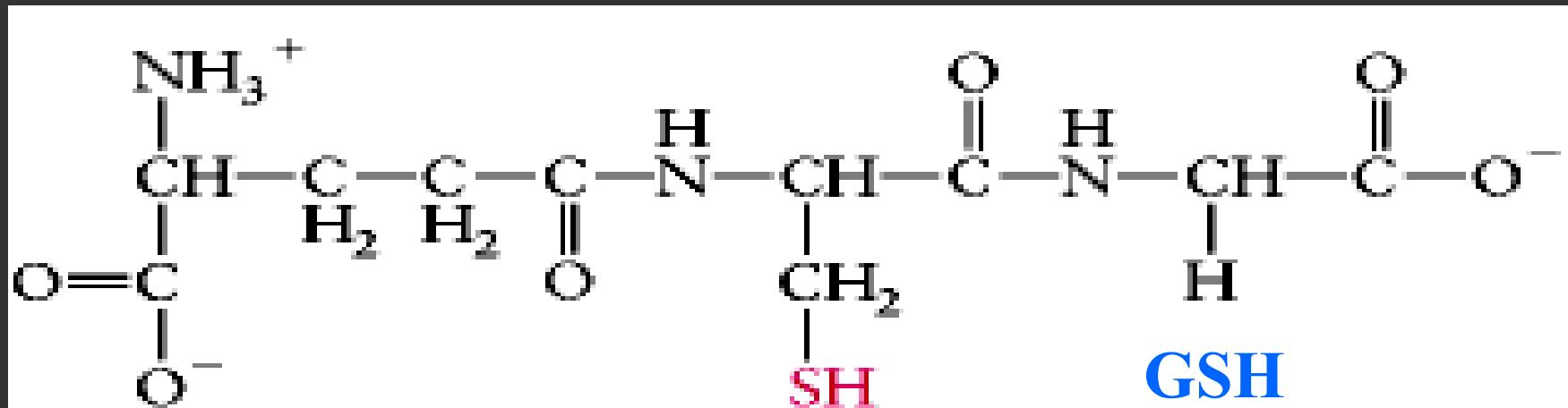
五、多亚基蛋白的组装

六、蛋白质糖基化

- 只有正确折叠和组装的蛋白质才能够从内质网运输到高尔基体，并最终运输到细胞表面或其他部位。
- 未折叠、错误折叠和部分折叠或组装的蛋白质被选择性地留在内质网，或者从高尔基体运回内质网。
- 错误折叠和多亚基蛋白质的未组装亚基往往通过易位子运回细胞质，然后在蛋白体（proteasome）中降解。

一、二硫键的形成

- 真核细胞中，二硫键在粗面内质网腔中形成的，所以只有分泌性蛋白和膜蛋白的腔面结构域含有二硫键。
- 谷光甘肽（glutathione, G）是真核细胞中含有巯基的主要分子。细胞质中 GSH 与 GSSG 的比例是 50 : 1，所以细胞质中没有二硫键形成。

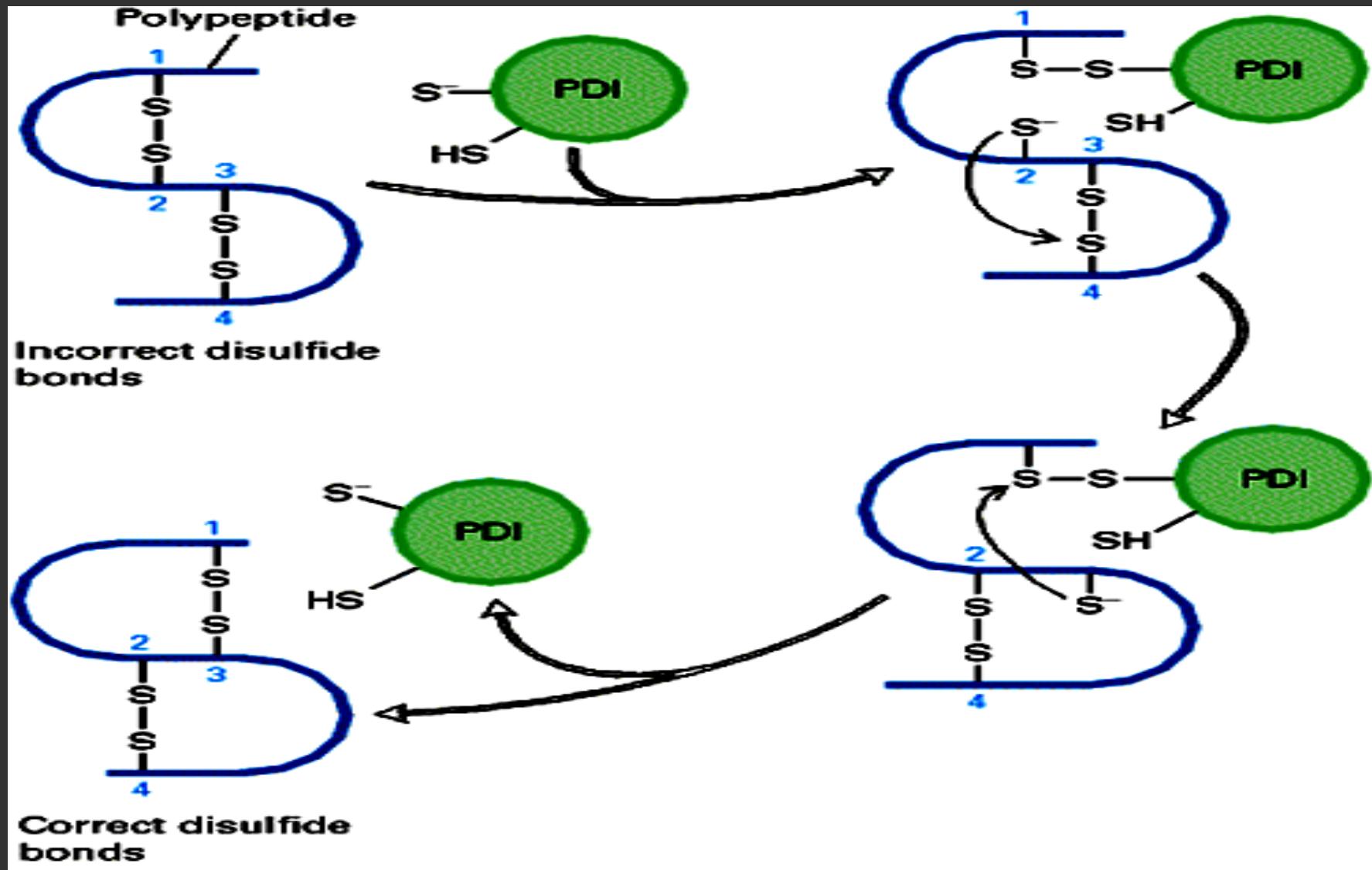


- 蛋白质中二硫键的形成有特定的顺序。首先在一条多肽链的小结构域内形成，然后在距离较远的片段之间形成。
- 二硫键在 Cys 间的正确配对对蛋白质的结构和功能非常重要。从蛋白质的合成到成熟都存在着二硫键的形成和重排

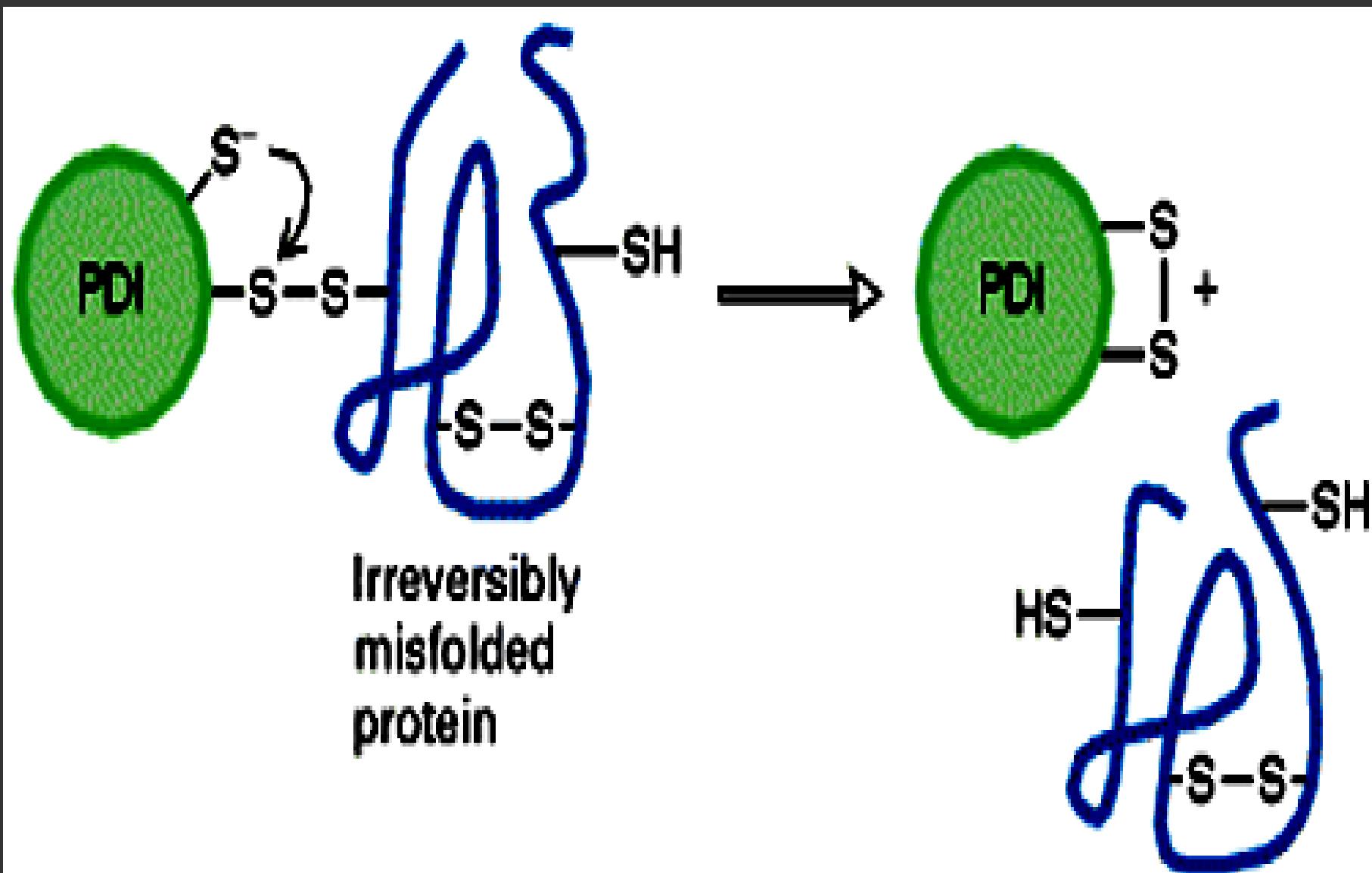
➥ 催化二硫键重排的酶是蛋白质二硫键异构酶 (protein disulfide isomerase, PDI)。二硫键异构酶是一种含有巯基的酶，能随机切断并催化多种蛋白质中二硫键的形成，使之正确折叠成稳定的构象。

如果二硫键异构酶与蛋白质结合后形成了不可逆的错误折叠，二硫键异构酶能够从所形成的中间产物中脱离出来。

PDI 催化的二硫键重排



PDI 从错误折叠的蛋白质上脱离



二、内质网中蛋白质的质量控制

1、蛋白质折叠

2、未折叠或错误折叠的蛋白质留在内质网

3、泛素介导的蛋白酶解

4、内质网蛋白从内侧高尔基体运回内质网

1、蛋白质折叠

- 许多变性的蛋白质在体外能自发地进行折叠，但往往需要几个小时才能完成。而体内分泌性蛋白质在内质网腔中的折叠仅需几分钟
- 内质网具有多种能加速新合成蛋白折叠蛋白，如 伴侣蛋白 **Bip**、钙连接蛋白（**calnexin**）、钙网蛋白（**calreticulin**）、蛋白质二硫键异构酶、肽基脯氨酰异构酶（**peptidylprolyl isomerases, PPI**）

- 内质网腔中的 **Bip-ATP** 复合物能与肽链中疏水氨基酸(Trp、Phe 及 Leu 等)结合，使该肽段保持伸展状态
- Bip** 有 ATP 酶活力，解 ATP 产能并从肽段上解离。肽段迅速折叠。

若折叠不正确，**Bip-ATP** 复合物能重新与它结合，重复上述过程，直到肽段正确折叠为止

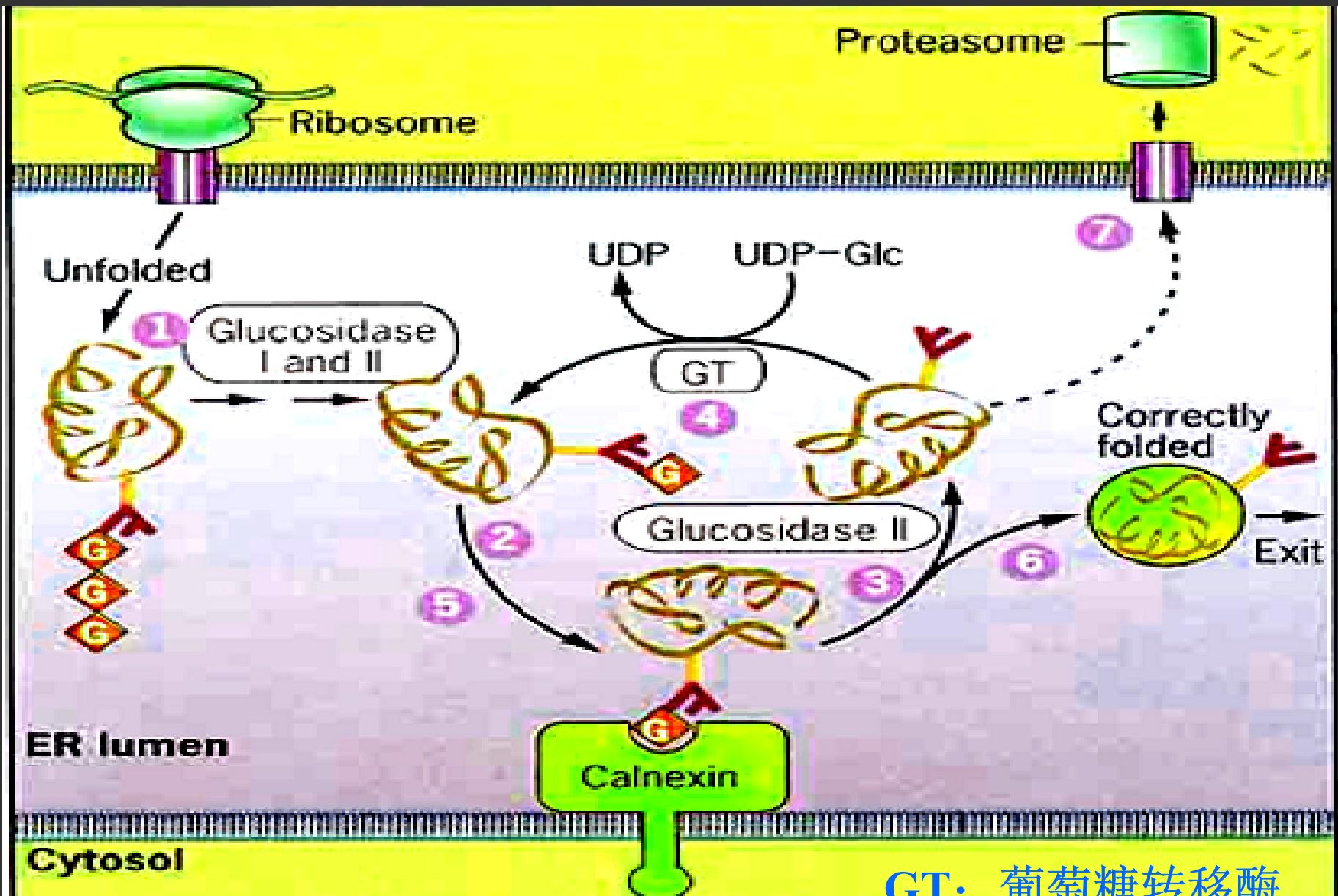
糖蛋白的糖链合成始于内质网。肽链边合成，边糖基化，边折叠。糖蛋白的正确折叠与识别糖基化状态的伴侣蛋白有关

钙连接蛋白和钙网蛋白能介导肽链正确折叠。

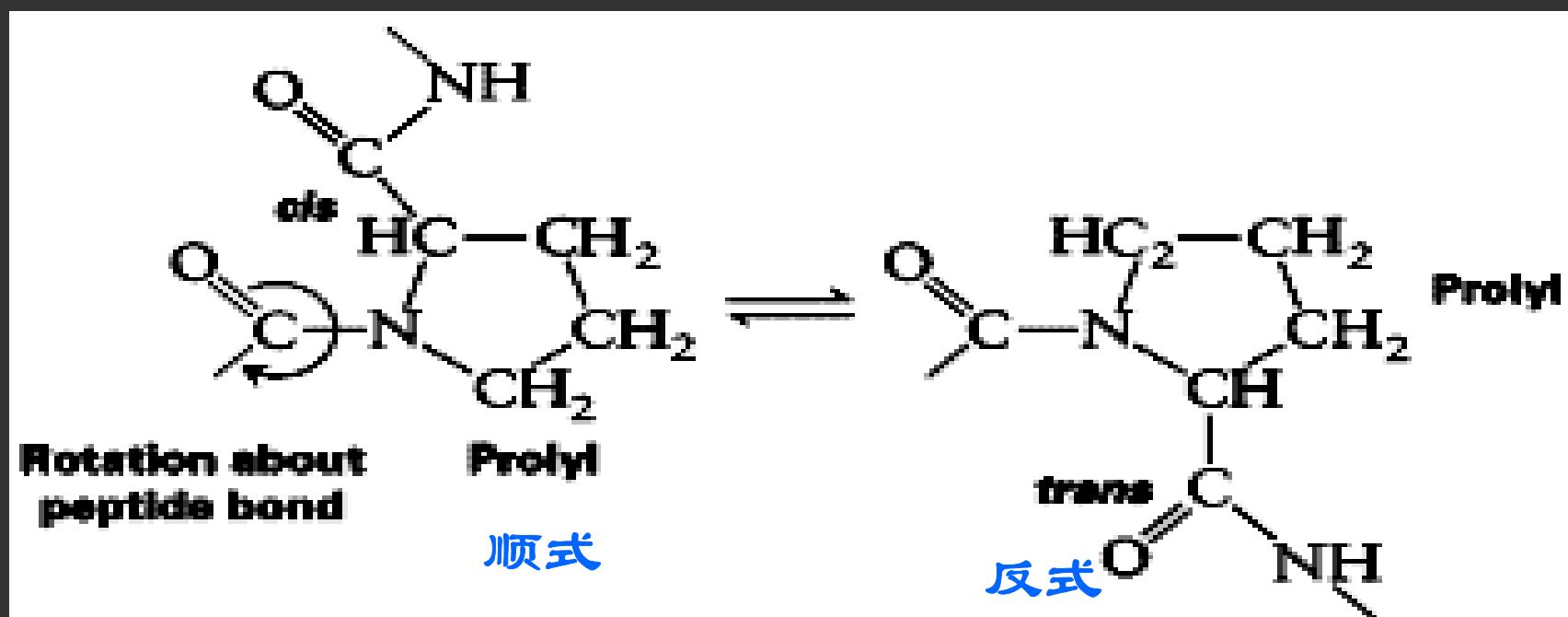
钙连接蛋白：属 I 型膜蛋白，C terminus 位于胞液，有磷酸化位点；N terminus 位于内质网腔，能与钙离子和靶蛋白结合

钙网蛋白：结构类似于钙连接蛋白，但位于内质网腔中。活力受钙离子及磷酸化的调控，它与靶蛋白的结合也需要 ATP

钙连接蛋白介导糖蛋白肽链的正确折叠



- 蛋白质肽键绝大多数是反式构型，但有 6% 的肽基与 Pro 残基之间的肽键是顺式的。顺式 Pro 有利于肽键在该处折叠
- 肽基脯氨酰异构酶能催化多肽链未折叠肽段中肽基和 Pro 残基间的肽链旋转。这种异构化作用往往是蛋白质结构域折叠的限速步骤



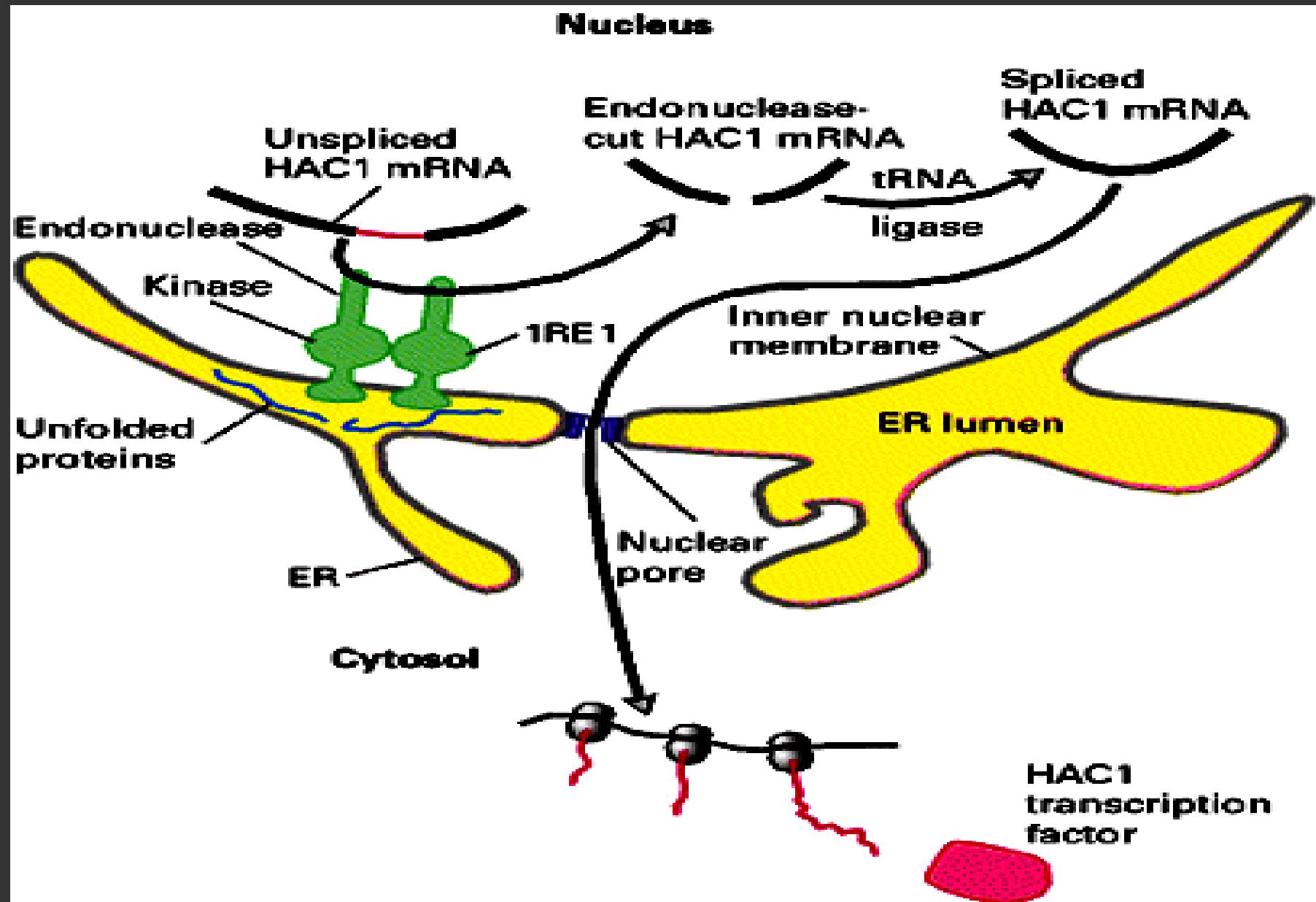
2、未折叠或错误折叠的蛋白质留在内质网

- 大多数情况下，未正确折叠的蛋白质永久性地与内质网伴侣蛋白（如 Hsp70、钙连接蛋白）结合在一起，不能进行转运
- 细胞对未正确折叠蛋白质的反应，是增加内质网伴侣蛋白和其他酶的表达量，而在这个过程中起关键作用的是 **IRE1**（铁应答元件）

- ➥ IRE1 是一种膜蛋白，位于细胞核内膜（与内质网膜连续）上。IRE1的内质网腔面结构域有未折叠蛋白质的结合位点，而细胞核面结构域有激酶活性（功能未知）和核酸内切酶（endonuclease）活性。在内质网腔内 IRE1 与未折叠蛋白质结合，促进了转录因子 **HAC1** 的表达
- ➥ 在内质网腔内，未折叠蛋白质的结合促进了 IRE1 二聚化，进而激活其核酸内切酶活性。随后 IRE1 切割 HAC1 的前体mRNA，并由 tRNA连接酶（ligase）连接，产生有功能的HAC1 mRNA。

- HAC1 mRNA 通过核孔运输到细胞质，合成 HAC1 蛋白，然后运回细胞核发挥作用
- HAC1 能够激活编码内质网伴侣蛋白和其他酶的基因，从而使这些伴侣蛋白和酶的表达量增加。以上过程称为未折叠蛋白反应（unfolded-protein response）

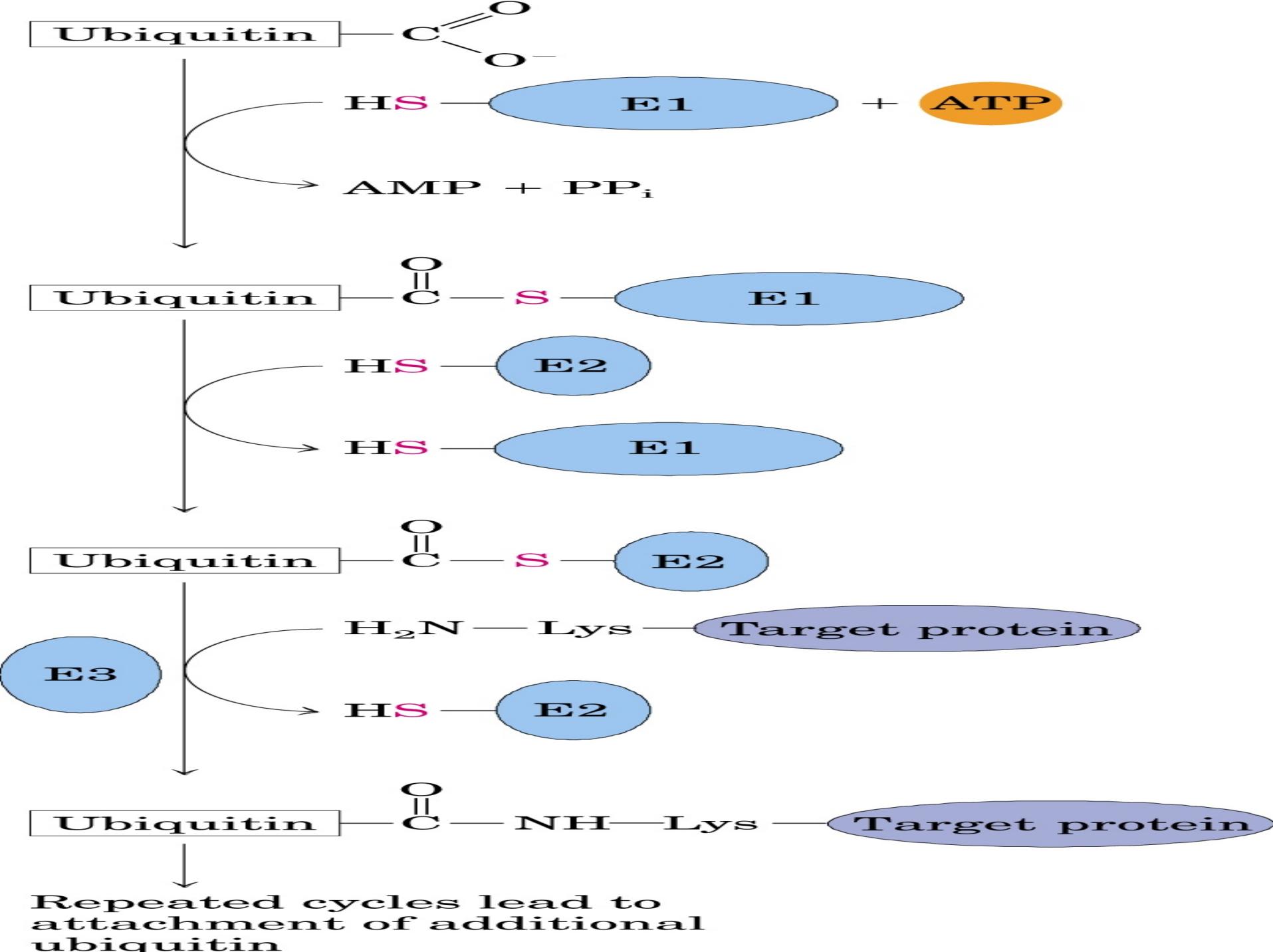
未折叠蛋白反应



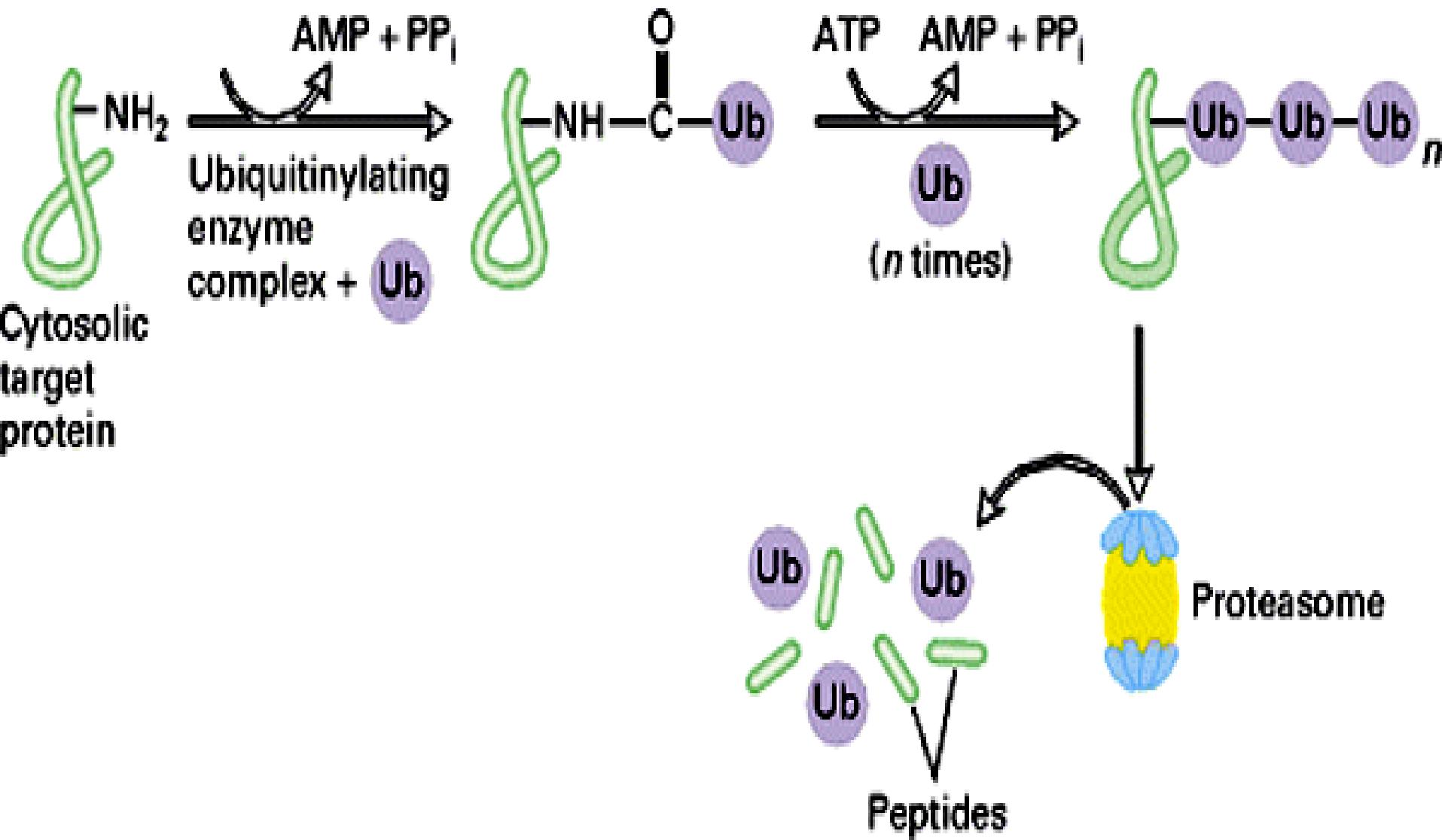
3、泛素介导的蛋白酶解

- 泛素 / 泛蛋白 (ubiquitin) 是含有 76 个氨基酸残基的碱性蛋白质，广泛存在于真核细胞，在进化中高度保守
- 泛素 C -terminal Gly 的羧基能与蛋白质中 Lys 残基的 ϵ 氨基形成肽键，使泛素与蛋白质共价结合。结合分 3 步进行，需要两个带有巯基的酶

- 泛素第 48 位是 Lys 残基，它的 ϵ 氨基可作为泛素受体与另一泛素 C terminus 共价结合。这种泛素连接反应可进行多次，使蛋白质接上一串多聚泛素链
- 连接多聚泛素链的蛋白质进入胞质中的蛋白体（proteosome），然后被其中的蛋白酶降解。需要 ATP 供能



泛素介导的蛋白酶解

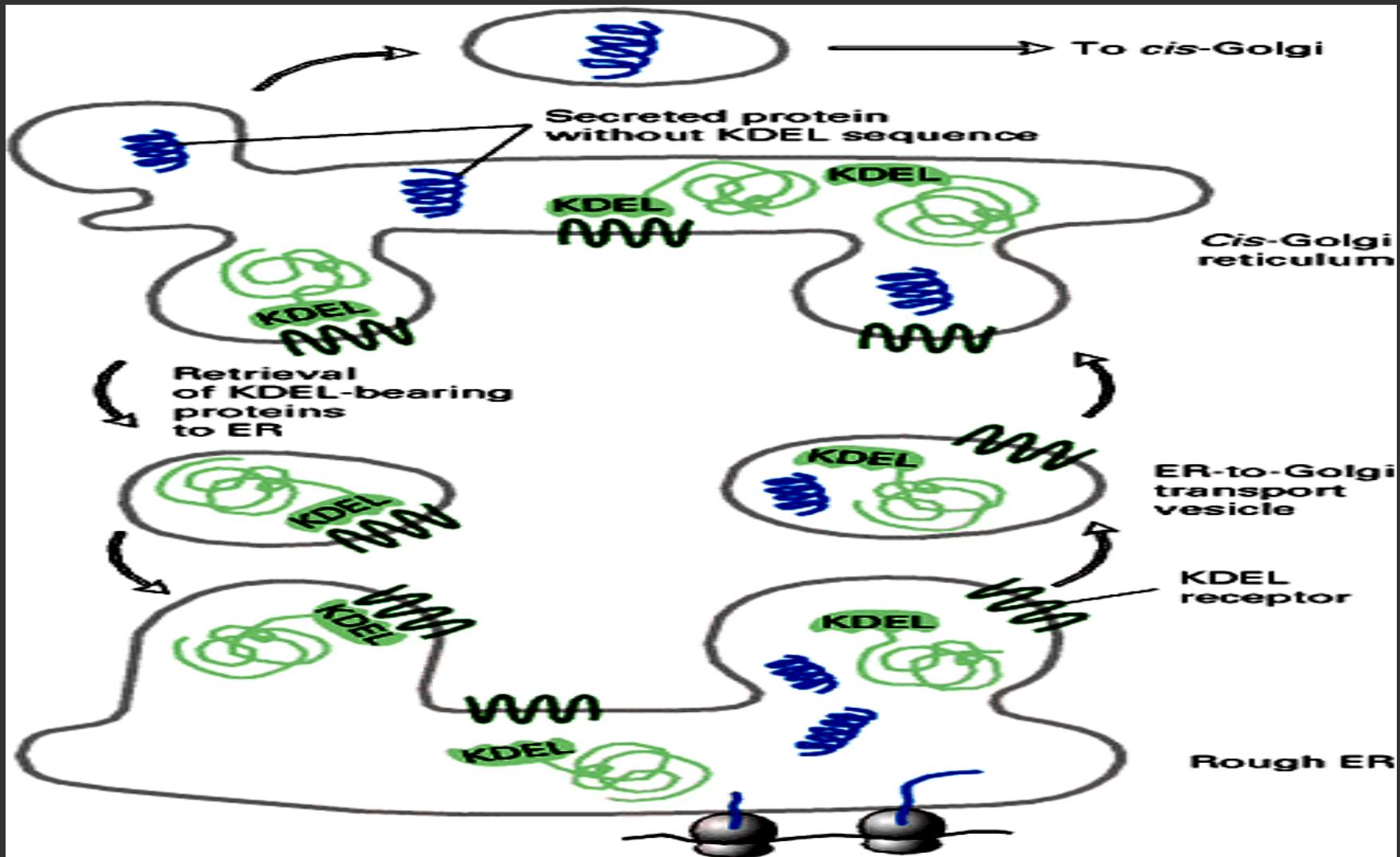


4、内质网蛋白从内侧高尔基体 运回内质网

- 内质网蛋白的**寡糖链**是在内侧高尔基体或内侧高尔基体网络中由酶催化形成的，而且这些酶只存在于内侧高尔基体和内侧高尔基体网络。

- 内质网蛋白含有特异的 **C terminus** 分拣信号 **Lys-Asp-Glu-Leu (KDEL)**，其受体识别内质网蛋白的 **KDEL** 序列，然后把它们运回内质网；而没有 **KDEL** 序列的蛋白质则顺着高尔基体继续运输。

内质网蛋白从内侧高尔基体 运回内质网的机制



三、蛋白质的共价修饰

1、氨基酸残基的修饰

2、蛋白质与膜中脂类共价结合

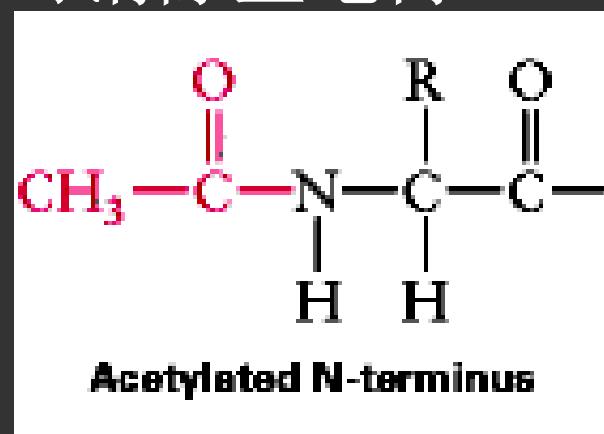
3、肽链中 L 氨基酸的 D 构型化

1、氨基酸残基的修饰

- 细胞内几乎所有的蛋白质在核糖体合成后都要经过共价修饰
- 蛋白质的共价修饰发生在肽链 **N terminus** 、 **C-terminus** 或内部残基侧链的活性基团上
- 蛋白质的这种修饰作用能改变其活性、寿命及细胞内定位

① 氨基的甲基化和乙酰化

蛋白质中氨基甲基化的例子不多。已知有肌动蛋白中 His 残基 N₃ 位的甲基化；组蛋白中 Lys 残基的 ε 氨基甲基化；细胞色素 c、钙调蛋白（calmodulin, CaM）的甲基化等。Lys 残基甲基化可消除正电荷。



蛋白质乙酰化十分普遍，估计体内 80% 的蛋白质有末端氨基的乙酰化

蛋白质乙酰化能延长蛋白质在细胞内存在的时间，而组蛋白的乙酰化与染色质活化、染色质复制与组装、细胞分化和细胞癌变等有关

② 羧基末端的酰胺化

蛋白质羧基末端酰胺化能保护蛋白质免受羧肽酶降解

C terminus 是 Gly 的蛋白质常被酰胺化。分两步进行：先是Gly 羟基化，然后脱去一分子乙醛酸并产生新的酰胺化 C –terminus.



肽链 N- terminus 的 Glu 残基可通过氨基与 γ 羧基脱水形成吡咯酮羧酸 (PCA)，以消除 N terminus 氨基

③ 磷酸化

蛋白质磷酸化是由蛋白激酶催化 ATP 中的磷酸基团转移到氨基酸残基的功能基团上。常见的磷酸化修饰基团是 Ser、Thr 和 Tyr 羟基

蛋白激酶可分为三类：

- ①丝/苏氨酸蛋白激酶，如 PKA、PKC、癌基因产物 Raf 等
- ②Tyr 蛋白激酶（TPK），如生长因子受体、胰岛素受体、Src 蛋白等
- ③双功能蛋白激酶，如促分裂原活化蛋白激酶激酶（MAPKK）

蛋白质磷酸化修饰及其对生理过程调控作用的特点

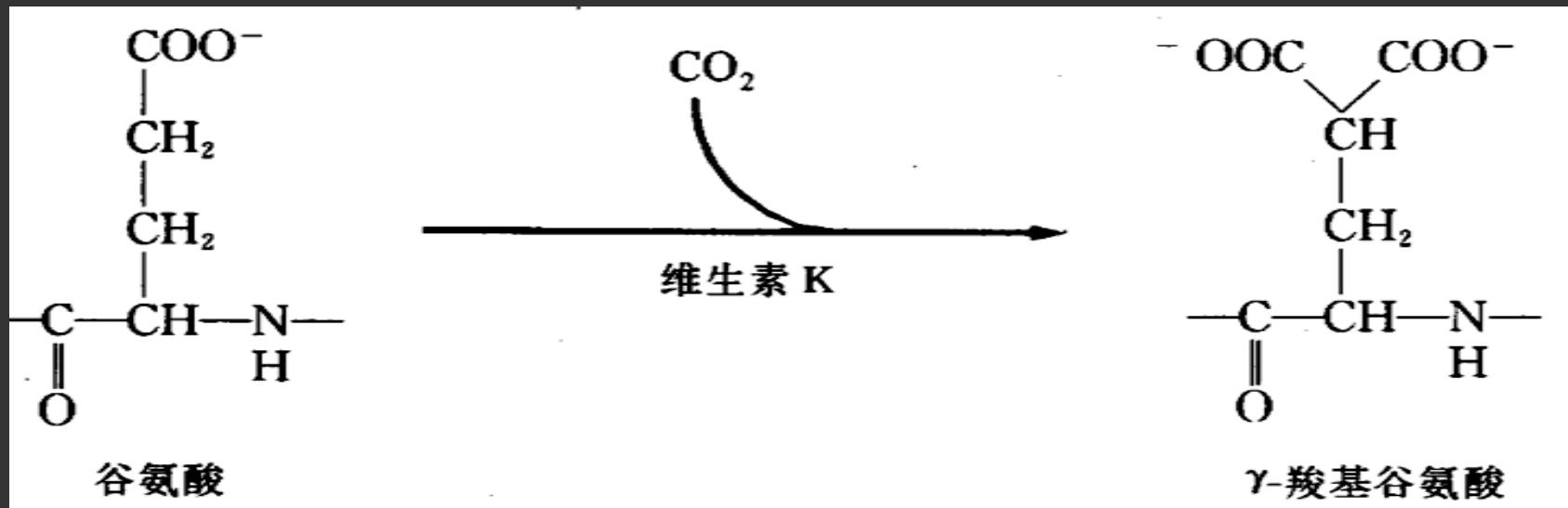
- 可逆性。蛋白质磷酸化后可被磷酸酶水解出去磷酸基团而恢复原状，所以磷酸化既有活化又有抑制效应
- 快速高效。但若磷酸化涉及转录因子及基因表达则效应产生较慢但较持久
- 级联式反应。物质代谢途径和信号转导途径中往往有一连串的蛋白质磷酸化，构成级联反应，从而产生放大效应，同时各级反应都有可调控性

变构效应和易位。变构效应能调控酶的活性，而位又使酶能到达底物分布的亚细胞区域发挥其催化作用

广泛存在与时空分布。蛋白质磷酸化就整体而言泛存在于几乎一切生命活动中，但就个别蛋白质的磷酸化修饰有细胞周期特异性、发育阶段特异性、组织特异性而呈现时空特异的分布。二者结合在一起对生命活动进行更精确更有效的调控

④ 谷氨酸残基的 γ 羧基化修饰

- 修饰在内质网中进行，由依赖于维生素 K 的羧化酶在 Glu 残基的 γ 碳原子上添加羧基，生成 γ -羧基谷氨酸（Gla）
- γ Gla 的 γ 碳原子有两个羧基，能螯合钙离子，在凝血过程中起重要作用

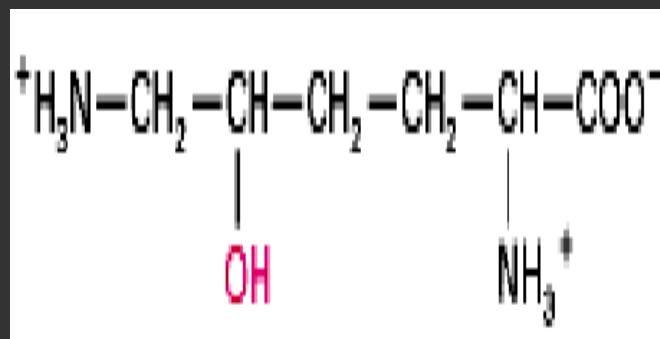


⑤ 脯氨酸和赖氨酸残基的羟基化与蛋白质分子内和分子间的共价交联

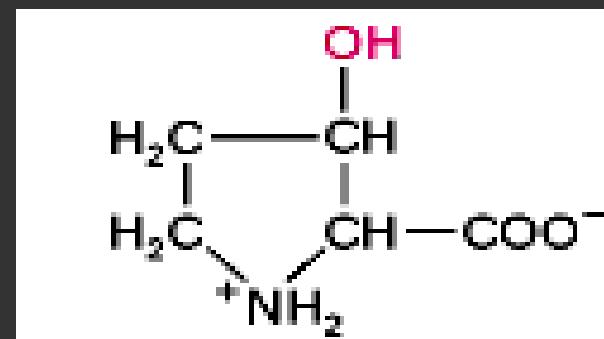
Pro 和 Lys 在羟化酶的作用下分别生成羟脯氨酸 (Hyp) 和羟赖氨酸 (Hyl)

对蛋白质进行分子内和分子间的共价交联

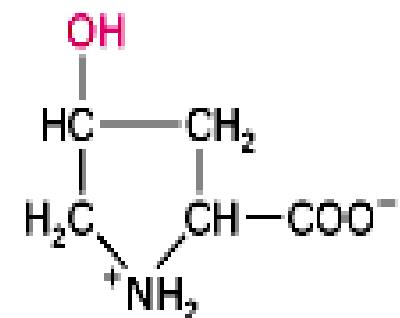
羟化酶的活力依赖于维生素 C



5-羟赖氨酸



3-羟脯氨酸



5-羟脯氨酸

⑥ ADP 核糖基化

存在单ADP核糖基化和多聚ADP核糖基化，哺乳动物核外蛋白以单ADP核糖基化修饰为主。

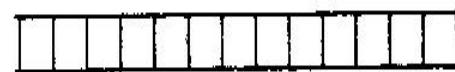
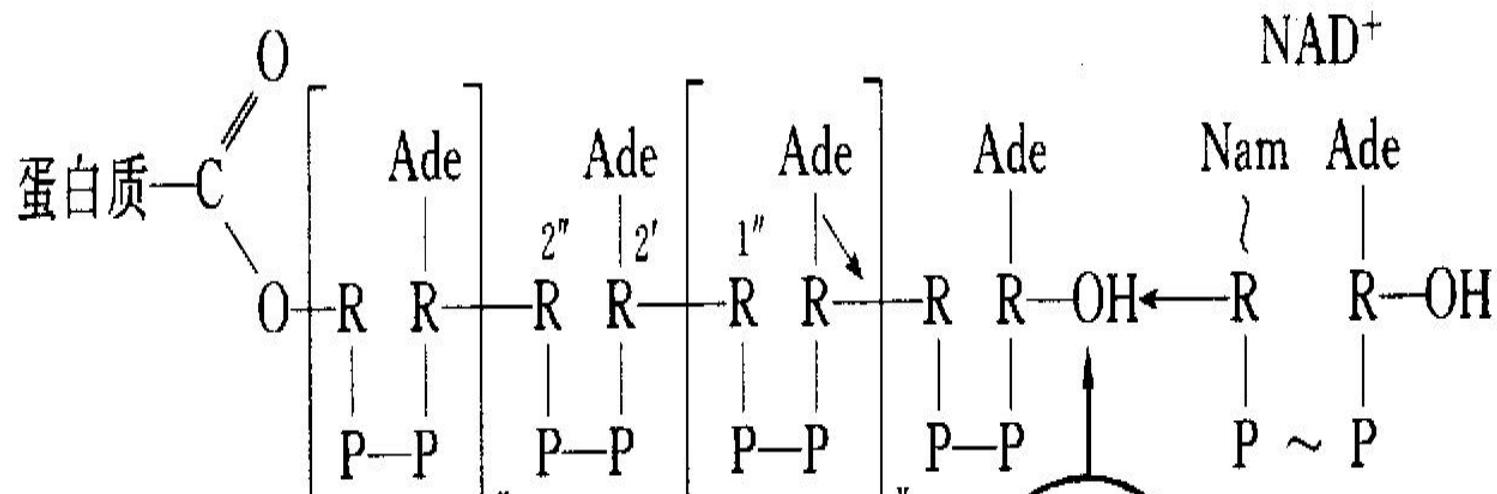
单ADP核糖基化：ADP核糖基转移酶将NAD⁺中的ADP核糖基转移到肽链Arg、Asn或白喉酰胺(修饰组氨酸)的N原子上，生成N-糖苷。



多聚ADP核糖基化：发生在细胞核，
PARP将NAD⁺中的ADP核糖基转移
到底物蛋白(或PARP本身)的Glu残
基侧链的羧基上， 两者以O-糖苷键
相连， ADP核糖基单位可达数百个。

功能：与DNA损伤的修复有关

ADP核糖基聚合酶合成多聚ADP核糖

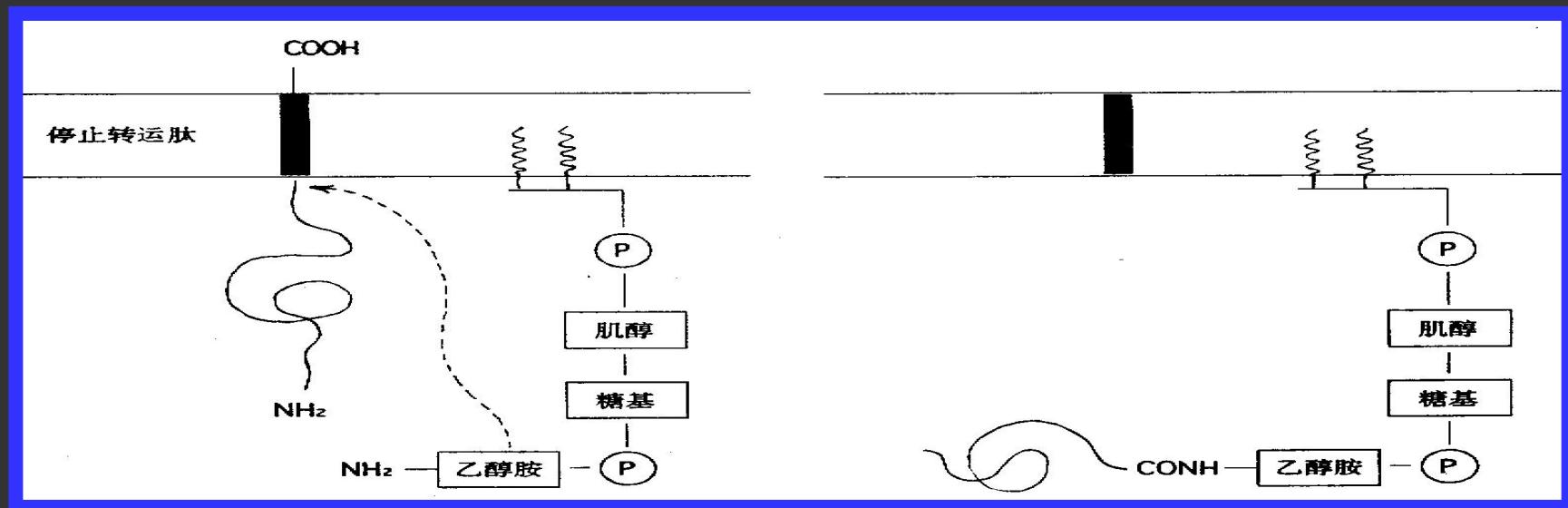


ADE: 腺嘌呤; R: 核糖; P: 磷酸; Nam: 烟酰胺;
PARP:ADP核糖基聚合酶, X=20; Y=40—50

(2) 蛋白质与膜中脂类共价结合

一些膜周边蛋白质通过共价修饰与膜中脂类结合。这些蛋白质定位于膜的方式有两种：

蛋白质与糖基磷脂酰肌醇（GPI）共价结合定位于膜：已发现50多种蛋白通过GPI与膜结合



书 胞液中可溶性蛋白质通过脂肪酰化或异戊烯基化与膜共价结合：

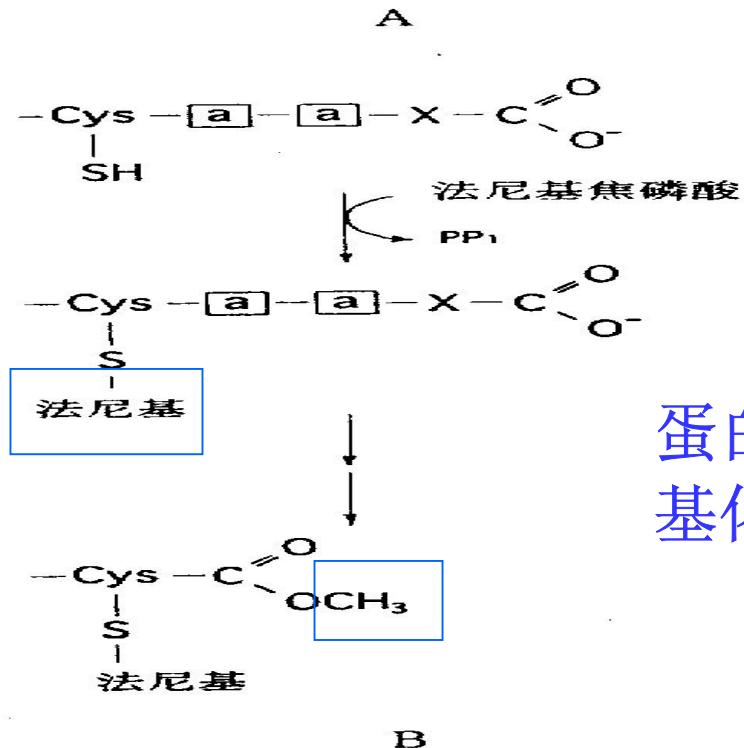
这一类膜蛋白是在胞液中游离的核糖体中合成的，在合成的同时或合成完毕之后进行 N terminus 或 C terminus 脂肪酰化或异戊烯基化，然后定位于膜。

如 N -terminus 豆蔻酰化、棕榈酰化、 C -terminus 法尼基化（farnesylation）和龙牛儿龙牛儿基化（geranylgerenylation）等

蛋白质C端的法尼基化



法尼基焦磷酸



蛋白质C端法尼基化和甲基化

细胞质中合成的肽C端为**CaaX**(C:Cys; a:脂肪族AA;

X:Ser, Met or Gln)的蛋白质,能被法尼基转移酶识别;

使疏水C端插入膜中。

(3) 肽链中 L 氨基酸的 D 构型化

D型氨基酸是在酶促合成肽链的过程中由L型氨基酸转变而来的，在微生物、无脊椎动物和脊椎动物中都存在，如南美树栖蛙(*phyllomedusa sauvagii*)皮肤分泌的具有吗啡样镇痛作用的七肽—皮啡肽(**dermorphin**)和皮脑啡肽(**dermenkephalin**)分别含有**D-Met**和**D-Ala**。

这些小肽是从多蛋白体加工产生的，其中关键部位的氨基酸D构型化后它们才有生物活性

皮啡肽 **Tyr-D-Met-Phe-His-Leu-Met-Asp-(NH₂)**

皮脑啡肽 **Tyr-D-Ala-Phe-Gly-Tyr-Pro-Ser-(NH₂)**

4. 蛋白质前体的加工

在内质网中，一些小的分泌性蛋白质和病毒膜蛋白的信号序列被蛋白酶切除后就成为成熟形式。但一部分质膜蛋白和大多数分泌性蛋白开始合成的是相对较长、无活性的前体，称为蛋白原（proprotein）。蛋白原需要进一步加工才能产生成熟、有活性的蛋白质

蛋白原的加工一般发生在小泡从外侧高尔基体到质膜的运输过程中。正常情况下，成熟小泡的形成融合多种不成熟的小泡，而这些不成熟的小泡就含有蛋白原

哺乳细胞含有一大类内切蛋白酶(endopeptidases) , 如弗林蛋白酶 (furin) , 前激素转换酶(prohormone convertases) PC1、PC2、PC3 等。这些酶能识别蛋白质前体中 ArgArg、LysArg、LysLys 等双碱性氨基酸残基序列, 在该序列的 C terminus 切断肽链

内切蛋白酶的功能相同, 但有不同的分工。弗林蛋白种类型的细胞中, 负责组成型表达的蛋白细胞中, 负责组成型表达的蛋白 (proalbumin) ; 前激素 (proalbumin) : 前激素

白蛋白原的加工

Constitutive secretory proteins

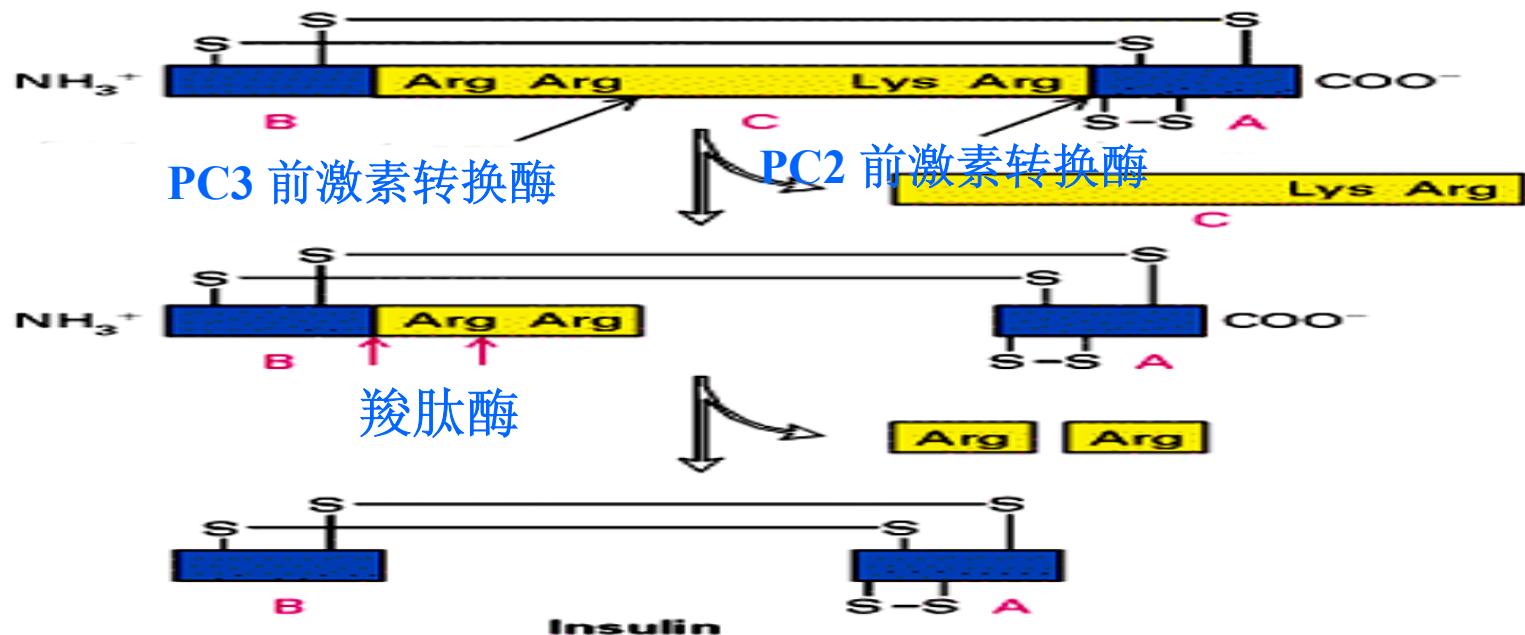
Proalbumin



胰岛素原的加工

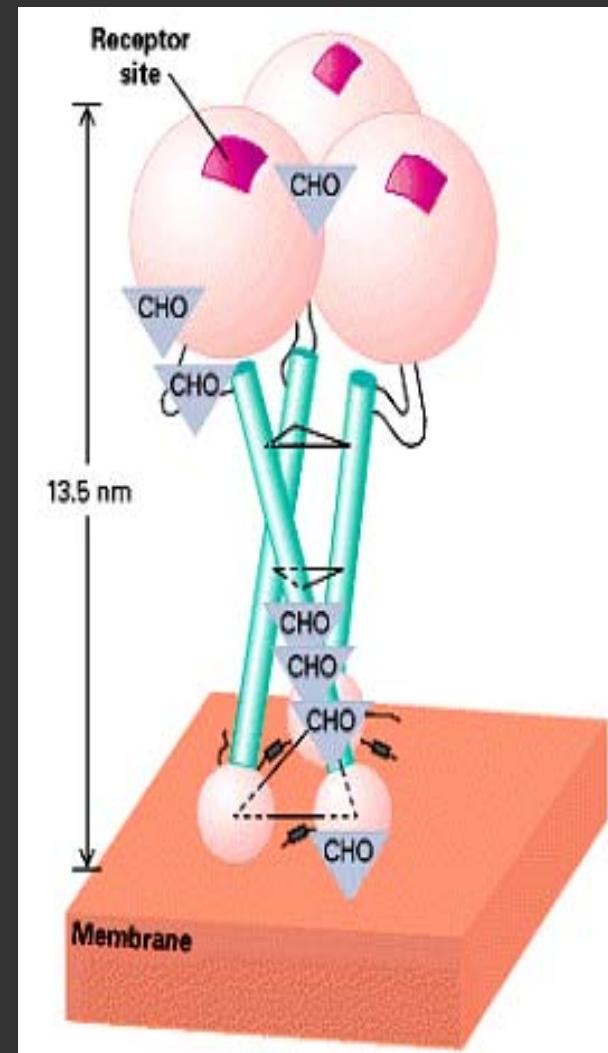
Regulated secretory proteins

Proinsulin



5. 多亚基蛋白的组装

许多重要的分泌性蛋白质及膜蛋白是由两条或两条以上的肽链组成的寡聚体。寡聚体蛋白是在内质网中形成的，如血凝素血凝素由 3 个相同的亚基聚合而成。其亚基是一种 I 型膜蛋白，N **terminus** 位于内质网腔，折叠成球状并有二硫键稳定其结构。跨膜区紧靠 C **terminus**，在膜中形成单个 α -helix。3 个亚基过跨膜 α helix 的蛋白质-蛋白质相互作用结合在一起



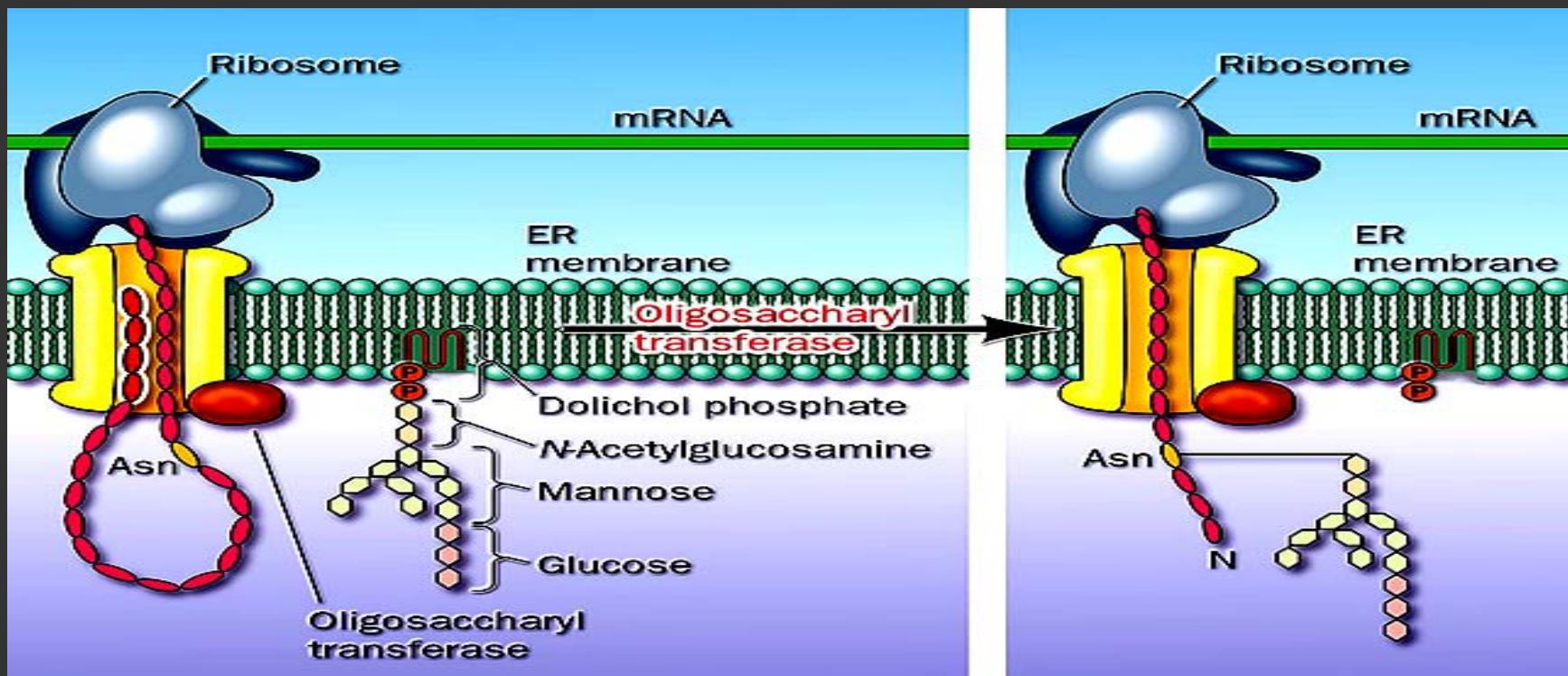
血凝素

6. 蛋白质糖基化

- 糖蛋白中糖基或糖链和蛋白质的连接方式可分为两类
即 O-连接糖基或糖链和 N-连接糖基或糖链
- O-连接糖基或糖链是指糖基或糖链与蛋白质中的 Ser、Thr 或 Hyl（羟赖氨酸）连接，仅在高尔基体中形成
- N-连接糖基或糖链指的是糖基或糖链与蛋白质中的 Asn 连接，其中 Asn 存在于信号序列 Asn-X-Ser 或 Asn-X-Thr 内。N-连接糖基或糖链的形成起始于内质网，然后在高尔基体中完成

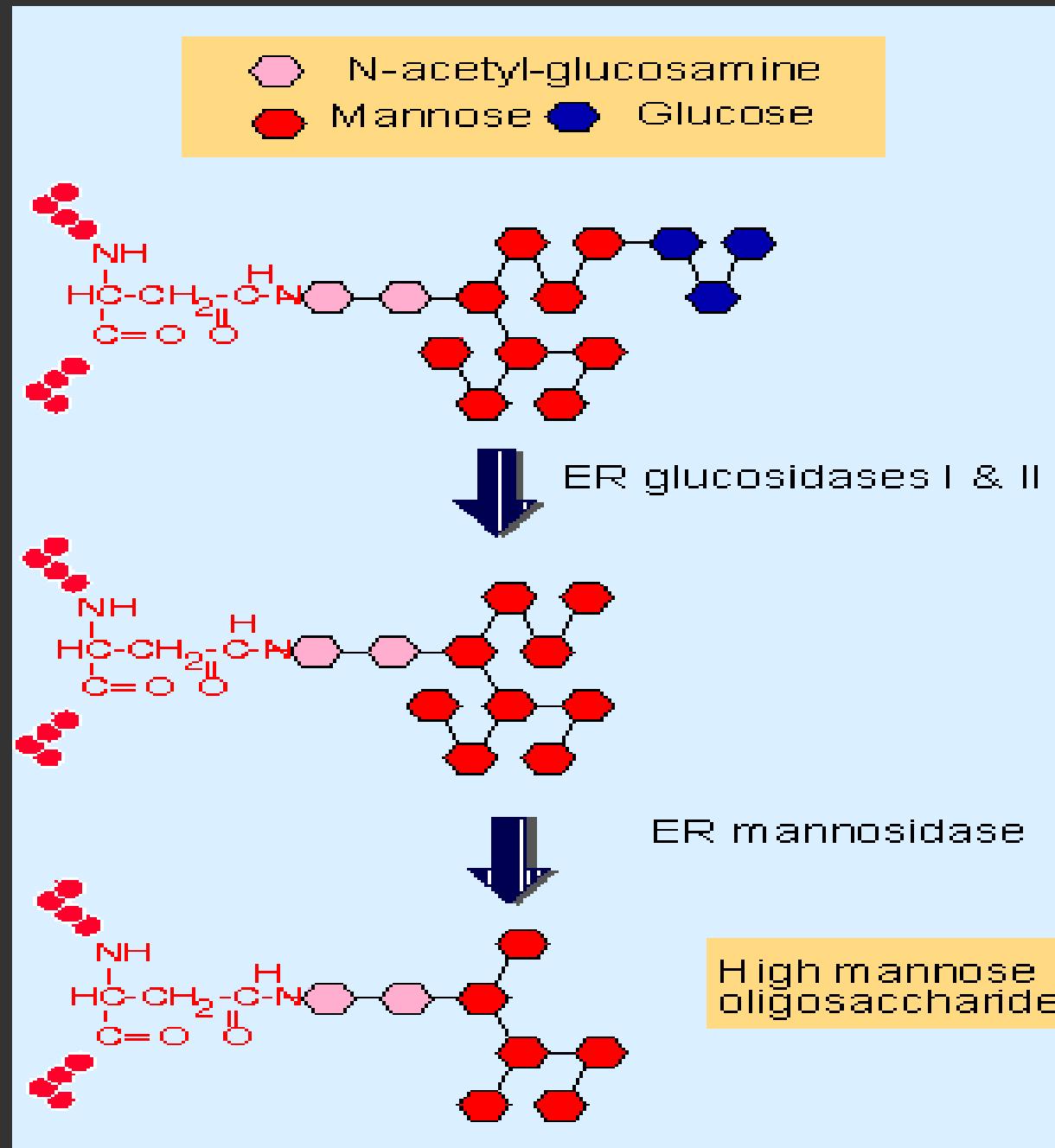
N-聚糖的合成

首先在内质网中合成连接在长萜醇（dolichol）焦磷酸上的十四糖。这个十四糖是一切 N-聚糖的前身。在糖基转移酶的作用下，十四糖被转移到新生肽链信号序列 Asn-X-Ser 或 Asn-X-Thr 的 Asn 上



N-聚糖的合成

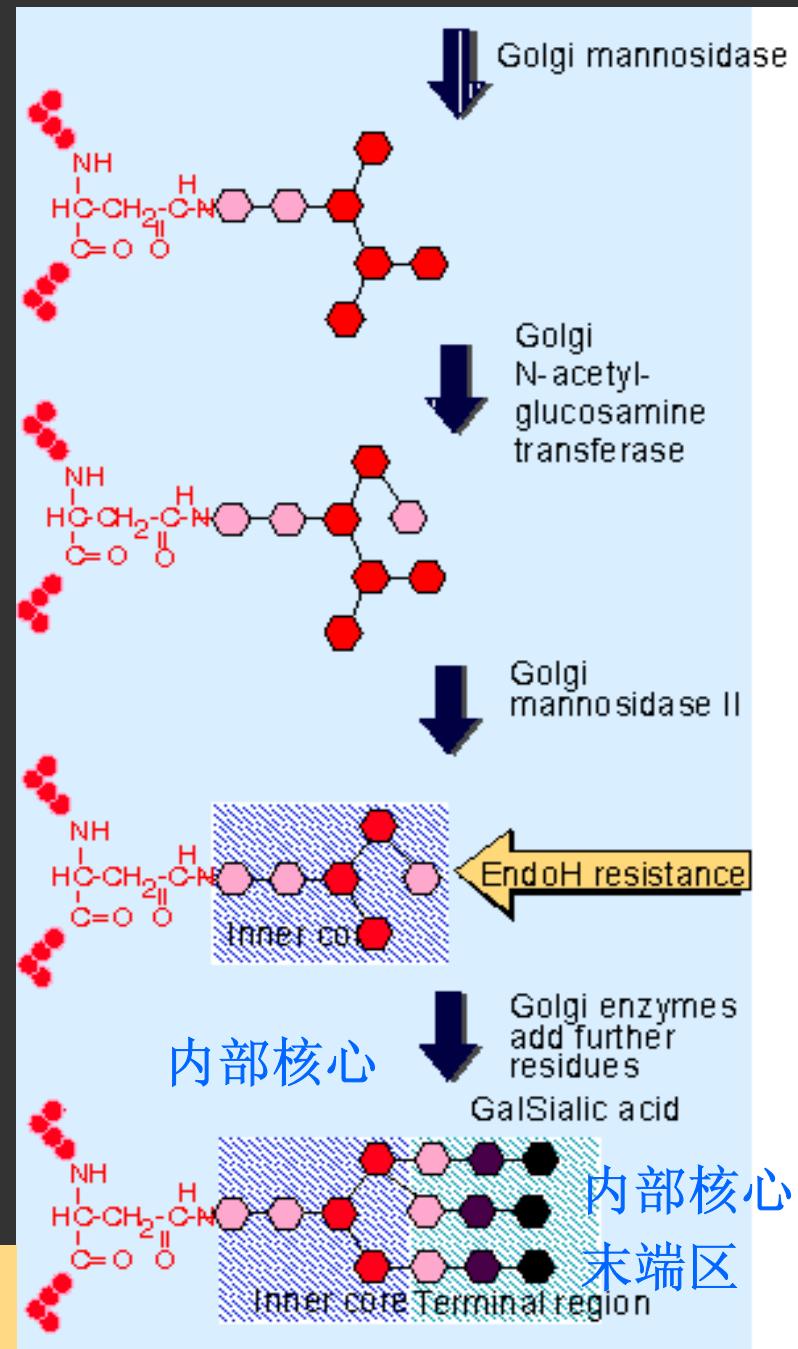
肽链上的十四糖被内质网葡萄糖昔酶 I 和 II 切掉 3 个葡萄糖，然后由内质网甘露糖昔酶切掉几个甘露糖，形成高甘露糖寡糖链



N-聚糖的合成

进入高尔基体后，由甘露糖苷酶 I 切掉 1 个甘露糖，然后由 N-乙酰葡萄糖转移酶催化下加上 1 个 N-乙酰葡萄糖。这样就产生了一个 **内部核心** (inner core)，能抵抗内切糖苷酶 H (Endo H) 的降解最后在内部核心上再加上 N-乙酰葡萄糖、半乳糖 (galactose) 及唾液酸 (sialic acid) 等，形成 **内部核心末端区** (terminal region)

● N-acetyl-glucosamine
● Mannose ● Glucose

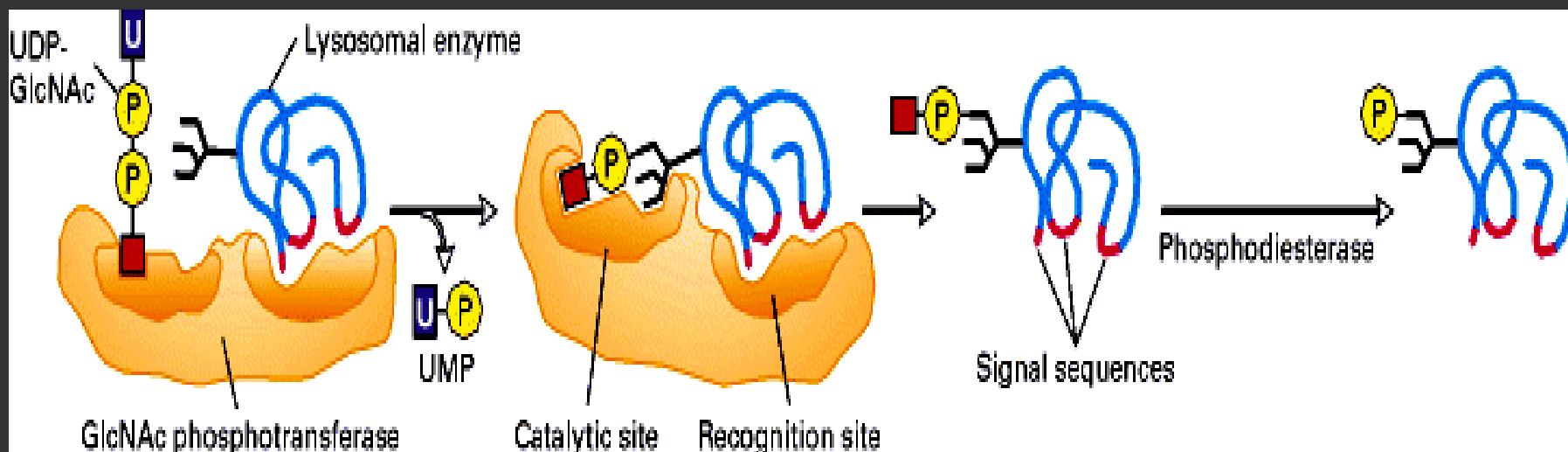


Media Connections

蛋白质糖基化

溶酶体分拣信号— 甘露糖 6-磷酸 (M6P)

溶酶体酶在内质网中部分糖基化后被非网格蛋白包被的小泡运输到内侧高尔基体。在内侧高尔基体内首先由 N-乙酰葡萄糖转移酶在甘露糖 6-OH 上添加磷酸- N-乙酰葡萄糖，然后磷酸二脂酶水解除去 N-乙酰葡萄糖，产生分拣信号 M6P



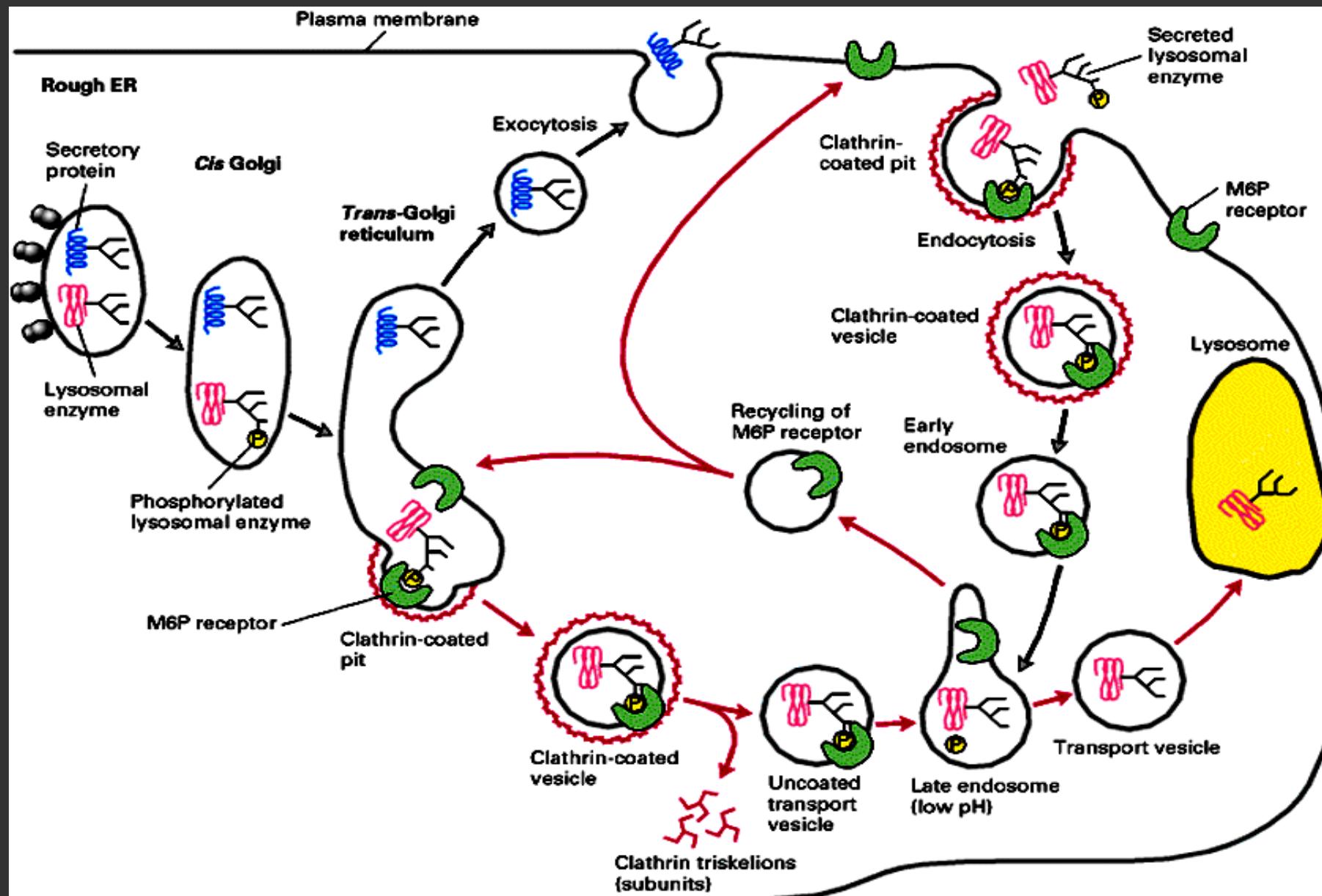
溶酶体酶的甘露糖磷酸化

【M6P】M6P 受体位于外侧高尔基体内。含有溶酶体酶的小泡与晚期内体融合后，在低 pH 环境下受体与溶酶体酶解离

【晚期内体】晚期内体能形成两种小泡：一种含有溶酶体酶但不含 M6P 受体，与溶酶体融合，把溶酶体酶释放到溶酶体中；另一种含有 M6P 受体，运往外侧高尔基体，有时运输到细胞表面

【以上所提到的溶酶体酶】以上所提到的溶酶体酶实际上是溶酶体酶原（proenzyme）。溶酶体酶原需要在晚期内体或溶酶体内进行蛋白酶切割才能形成有活性的成熟溶酶体酶。这样就避免了溶酶体酶在分泌途径早期水解蛋白质

M6P 分拣途径



Media Connections

M6P 分拣途径