

## 特约评述

DOI: 10.12211/2096-8280.2024-086

## 细胞质浓度：细胞生物学的老问题、新参数

李倩<sup>1</sup>, FERRELL JR. James E.<sup>2, 3</sup>, 陈于平<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 中国科学院深圳先进技术研究院, 定量合成生物学全国重点实验室, 深圳合成生物学创新研究院, 广东 深圳 518055;

<sup>2</sup> 斯坦福大学医学院化学与系统生物学系, 美国 加利福尼亚州 斯坦福 94305; <sup>3</sup> 斯坦福大学医学院生物化学系, 美国 加利福尼亚州 斯坦福 94305)

**摘要:** 细胞质浓度是细胞生理的重要参数, 影响几乎所有生化反应, 参与调节细胞生物学过程。近年来, 随着显微技术、微流控技术以及合成生物学的发展, 研究细胞质浓度的工具不断涌现, 促进了对细胞质浓度稳态的调控机理及细胞质生物学的探索, 增强了对细胞质浓度参与细胞生理调控的理解。本文介绍了监测细胞质浓度的新方法、新数据, 归纳了细胞质浓度稳态调控机制, 总结了细胞质浓度在生理生化过程中发挥的作用, 从理论和实验角度探讨了细胞质浓度异质性的功能和调控机制, 介绍并扩充了细胞质浓度在反应速率、稳态调节中的理论研究。目前对于细胞质浓度的研究在稳态决定机制、与其他生理过程的相互作用及合成生物学中的应用方面还有诸多难题亟待突破。细胞质浓度的探究正逐渐形成一个活跃的研究领域, 在多学科交叉、理解生命、人类健康、合成细胞等方面将有重大进展。

**关键词:** 细胞质浓度; 稳态调控; 蛋白质合成; 生物质; 反应速率; 负反馈调节; 扩散受限

中图分类号: Q816 文献标志码: A

## Cytoplasmic concentration: an old question and a new parameter in cell biology

LI Qian<sup>1</sup>, FERRELL JR. James E.<sup>2, 3</sup>, CHEN Yuping<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>State Key Laboratory of Quantitative Synthetic Biology, Shenzhen Institute of Synthetic Biology, Shenzhen Institutes of Advanced Technology, Chinese Academy of Sciences, Shenzhen 518055, Guangdong, China; <sup>2</sup>Department of Chemical and Systems Biology, School of Medicine, Stanford University, Stanford 94305, California, USA; <sup>3</sup>Department of Biochemistry, School of Medicine, Stanford University, Stanford 94305, California, USA)

**Abstract:** Cytoplasmic concentration is an important parameter in cell physiology, influencing almost all biochemical reactions, playing key roles in regulating various cellular biological processes. However, studying cytoplasmic concentration has been particularly challenging due to its inherent complexity, the difficulty of direct manipulation, and the lack of precise measurement techniques for intact cells. In recent years, advances in microscopy,

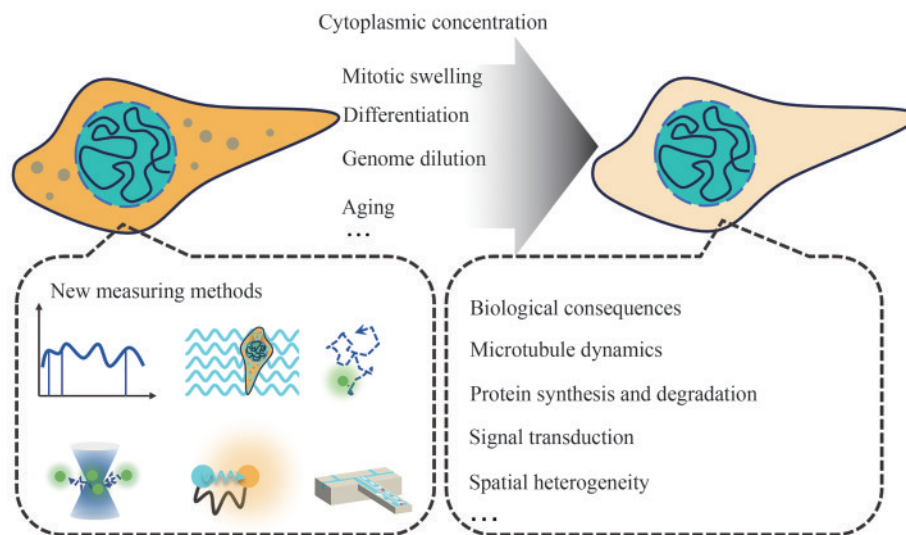
收稿日期: 2024-12-02 修回日期: 2025-03-04

基金项目: 国家重点研发计划“合成生物学”重点专项(2024YFA0919600); 深圳合成生物学研究所启动经费项目(HSE49901)

引用本文: 李倩, FERRELL JR. James E., 陈于平. 细胞质浓度: 细胞生物学的老问题、新参数[J]. 合成生物学, 2025, 6(3): 497-515

Citation: LI Qian, FERRELL JR. James E., CHEN Yuping. Cytoplasmic concentration: an old question and a new parameter in cell biology[J]. Synthetic Biology Journal, 2025, 6(3): 497-515

microfluidics, and synthetic biology have led to the development of novel tools for studying cytoplasmic concentration, such as Quantitative Phase Microscopy, Stimulated Raman Scattering Microscopy, and Genetically Encoded Multimers for single-particle tracking, *etc.* These advanced tools have enabled researchers to explore the regulation of cytoplasmic concentration, mechanism of the concentration homeostasis, and their influences on cellular physiology, providing deeper insights into their roles in physiological regulations. In this review, we explore both historical and recent advances in methods and overview data regarding cytoplasmic concentration, summarize the molecular and systematic mechanisms that govern its homeostatic regulation, and highlight its roles in physiological and biochemical processes. Specifically, we discuss the key biological processes that influence cytoplasmic concentration, including mitotic swelling, genome dilution, protein synthesis and degradation, and importantly, the heterogeneity of cytoplasmic concentration that arises from local subcellular structure and thermodynamic fluctuation. Furthermore, we expand on connections between cytoplasmic concentration, cellular aging, signal transduction, cellular differentiation, and microtubule assembly dynamics. Additionally, we explore the theoretical interpretation of cytoplasmic concentration in reaction kinetics and its homeostatic regulation, providing evidence from both experimental and theoretical studies on the prevalence of diffusion-limited reactions in biological systems. Despite these advances, significant challenges remain in fully understanding underlying mechanisms of cytoplasmic concentration homeostasis, its complex interactions with other physiological processes, and its potential applications in synthetic biology. Research on cytoplasmic concentration is rapidly evolving into an active field of study, promising major breakthroughs in understanding fundamentals of cellular life, improvement of human health, and engineering of synthetic cells.



**Keywords:** cytoplasmic concentration; homeostatic control; protein synthesis; biomass; reaction rate; negative feedback regulation; diffusion limit

一百多年前，埃德蒙·威尔逊在他所著的现代生物学史上里程碑式的教科书《细胞》<sup>[1]</sup>中写道：“从物理化学的角度出发，细胞是一个由胶体组成的复杂系统……是一个具有异质性的多相系统……作为胶体系统，原生质体从形态学、生理学乃至物理化学的角度来说，都是一个极其复杂

的问题。”这段话点出了当时生物学研究的困境：人们可以从整体观察细胞，但对其中的分子机理和细节却几乎一无所知。

一百多年间，我们对细胞的探索不断更新迭代：在认识细胞的过程中，发展出了一系列研究思路和技术方法。细胞生物学也从对细胞形态和

行为的描述, 发展出对组成细胞的元件的描述<sup>[2]</sup>。生物研究领域中的一个研究分支受到微生物中的分子机器<sup>[3]</sup>和遗传相关的酶促反应<sup>[4]</sup>的启发, 发展出了理解细胞分子功能和机制的分子生物学<sup>[5]</sup>。在过去四十年间, 分子生物学和体外重构的生物化学承担了大部分解析细胞元件的使命: 从基因元件的刻画<sup>[6]</sup>、基因产物的解析<sup>[7]</sup>、基因编辑和改造<sup>[8]</sup>, 到调控模块规律的探究<sup>[9-11]</sup>。

在研究进程中, 我们对于组成细胞的分子做了深入的探索, 但似乎又陷入了另一个困境——由于生物系统的复杂性, 我们往往不得不把分子从细胞质的物理环境中剥离出来: 例如利用纯化的重组蛋白研究分子之间的相互作用<sup>[12]</sup>。由于客观条件的限制, 这类研究在一定程度上忽略了细胞内分子所处的物理环境对分子的影响。然而, 越来越多的证据表明, 细胞质的物理环境对分子功能有至关重要的影响<sup>[13-24]</sup>。这提醒我们, 需要重新审视生物学研究, 从系统角度看待问题。

体外重构系统忽略的一个重要物理参数是细胞质浓度<sup>[25-27]</sup>, 即单位体积内参与生命活动的分子的数量。通常情况下, 我们指生物大分子(如蛋白质、脂类、核酸、多糖等)、代谢产物(如糖类、氨基酸等)、离子(如钾离子、氯离子等)浓度的总和。细胞质浓度能够修饰、改变诸多细胞功能和性质, 使之能发挥其生物学功能: 从细胞生长和代谢的角度来说, 细胞质浓度是物质合成和降解平衡作用的产物<sup>[13]</sup>; 从跨膜运输的角度来说, 细胞质浓度是物质内吞外排、水分子进出的综合结果<sup>[28-30]</sup>; 与此同时, 细胞质浓度参与改变生物化学反应速率和平衡<sup>[31]</sup>, 也参与影响细胞核和其他细胞器的生理调控<sup>[32]</sup>。

然而细胞质浓度的研究也面临挑战。首先, 包裹细胞质的细胞膜限制了物质进出, 使我们难以对细胞质浓度进行直接操控<sup>[13]</sup>; 其次, 由于细胞质浓度是一个衍生量, 需要通过定量其他物理量后计算获得, 因此细胞质浓度难以精确测量。近年来, 随着光学系统和微流控技术的发展, 我们对细胞质浓度的测量有了新的方法和策略(图1)。

本文中, 我们将从细胞质浓度的测量方法, 细胞质浓度和细胞生理, 细胞质浓度的理论三个

方面来探讨, 力图归纳近年来关于细胞质浓度研究的重要突破和进展。

## 1 细胞质浓度的测量方法

### 1.1 密度梯度离心法

在单细胞测量方法发展之前, 最广泛应用的细胞浓度的测量或筛选方法是利用浮力和离心力平衡实现的密度梯度离心法。1970年, Leland Hartwell<sup>[33]</sup>利用酵母细胞在细胞周期中密度的差异, 使用密度梯度离心, 实现了对有丝分裂期酵母细胞的分离。在血液研究中, 密度梯度离心也作为常用的分离以及诊断方法, 用于获得不同类型的血细胞<sup>[34-35]</sup>。在密度梯度离心的前期, 细胞会按照其相对沉降系数(与细胞尺寸有关)进行分离, 经历速率区带离心分离<sup>[36]</sup>, 随着离心时间推移, 被分离的细胞会突破速率区带离心阶段, 最终到达其等密度点[图1(a)]。密度梯度离心的优势在于可以一次性对大量细胞按其浮力密度进行分离, 但可能存在以下问题: ①梯度材料的选择会影响分离的效果; ②离心时间过长, 细胞可能会因为对梯度材料产生应激反应, 或吸收梯度材料(如蔗糖等)而产生密度变化<sup>[33]</sup>。

### 1.2 细胞裂解法

利用细胞裂解法测定细胞内容物的浓度是最直接的手段。通过物理或化学方法裂解细胞, 释放细胞内容物, 或通过细胞固定, 对胞内物质进行特异性染色, 从而计算得到胞内分子的含量。对生物分子浓度的测量方法主要包括 Bradford 染色<sup>[37-38]</sup>、FITC 染色<sup>[39]</sup>(蛋白质)、碘化丙啶染色<sup>[40]</sup>(RNA)、SYTOX Green 染色<sup>[41]</sup>(DNA)等。

获得细胞内各类物质的含量后, 物质的浓度( $C$ )可根据式(1)求得:

$$C = A/V \quad (1)$$

式中,  $A$ 为单个细胞的内物质含量;  $V$ 为细胞体积。

常用的测量细胞体积的方法包括: ①库尔特粒度计<sup>[42]</sup>; ②流式细胞术<sup>[43]</sup>(哺乳动物细胞: 前

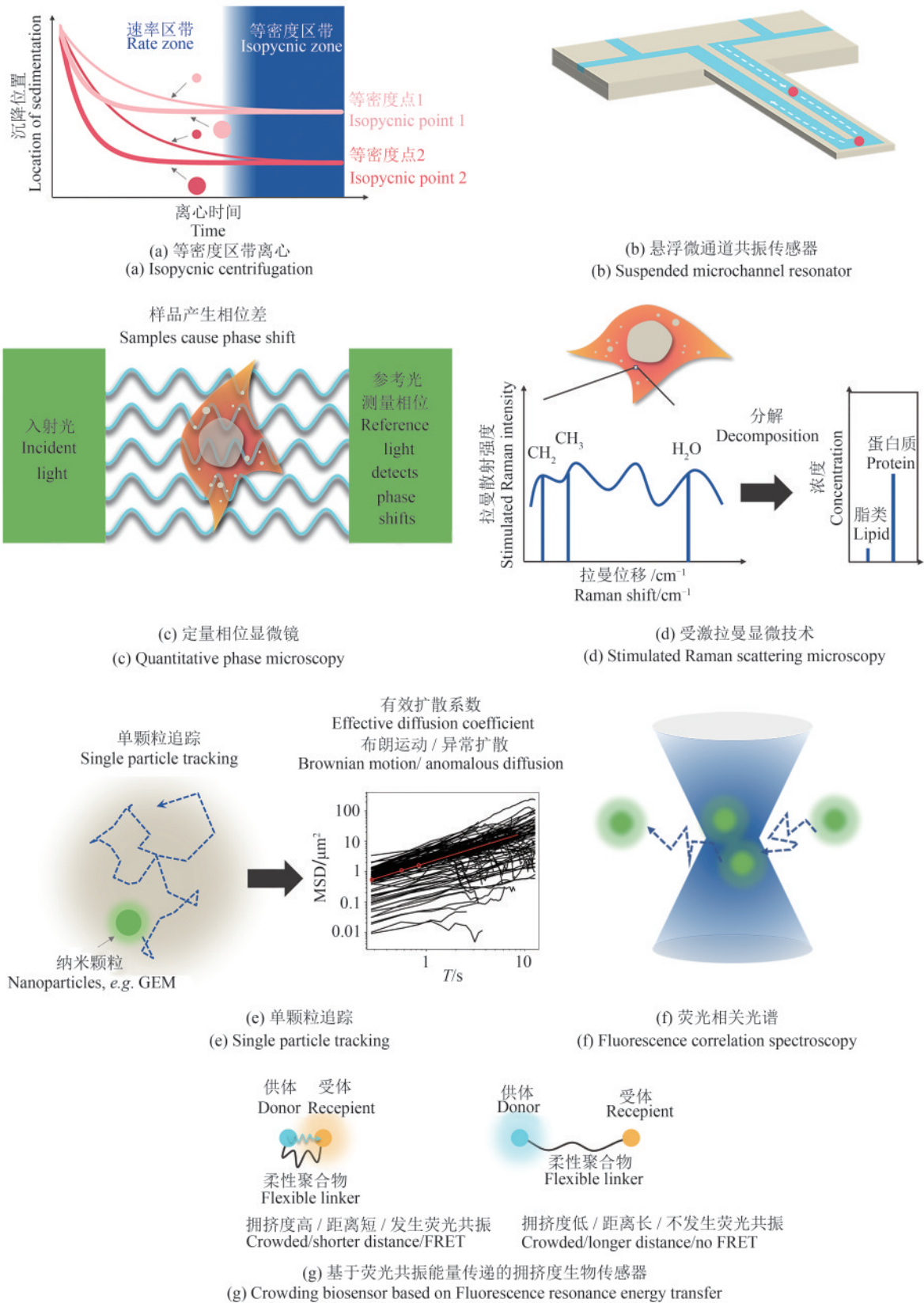


图1 细胞质浓度的测量方法

Fig. 1 Methods for measuring cytoplasmic concentration

向散射；酵母：侧向散射）；③显微方法（如光学切片的3D重构<sup>[44-45]</sup>和荧光排斥法<sup>[46]</sup>等）。

细胞裂解法的主要缺点是需要破坏细胞，因而不能对细胞进行进一步培养和检测。此外，目前的检测手段大多只能满足细胞群体水平的研究（流式细胞术除外），不能进行单细胞水平的检测，不能获得不同细胞之间的异质性。

### 1.3 悬浮微通道共振传感器

随着微流控技术的进步，对多层微流控系统的开发日益成熟。由于这类系统能与光、声、电等系统耦合，使得许多此前难以实现的微观操作成为可能。Scott Manalis的研究团队基于此进一步发展出了悬浮微通道共振传感系统<sup>[47-48]</sup>。该系统的核心原理在于微机械结构的固有共振频率随其负载质量变化而变化，因此可以通过测量加载细胞后固有共振频率的变化来计算细胞密度。具体而言，这种系统配备了带有内置微通道的微型悬臂传感器，细胞或颗粒物进入微通道时，悬臂的质量分布改变，悬臂的共振频率发生变化[图1(b)]。这种变化能够被极其精确地测量出来，以此计算出细胞的质量<sup>[47]</sup>。

此外，通过替换两种具有已知密度差异的悬浮液，并结合阿基米德原理，可以进一步测量出细胞的体积<sup>[47]</sup>。根据密度定义式 $\rho = m/V$ 将测得的质量和体积相除，获得单个细胞的密度。这种方法具有极高的精确性和灵敏度，能够检测单个细胞的微小质量变化（精度达到飞克级别），并应用于研究细胞生物学特性，例如细胞生长、代谢变化、疾病诊断（如按密度区分癌细胞与正常细胞）等。

### 1.4 定量相位显微镜

近年来，对精确测量单细胞细胞内容物的需求促进发展出了一系列研究细胞质浓度的单细胞技术手段。这些方法中，显微成像技术能够尽可能地保留细胞内部的空间信息，成为最常用的一类方法。显微成像过程中，对比度是成像清晰度的关键，在实验过程中可以通过染色来增强对比度，但是染色过程会引入实验操作产生的噪声，并且活细胞的荧光成像受到光漂白、光毒性等多

种因素影响<sup>[49-50]</sup>，限制了对细胞内容物的进一步解析<sup>[51]</sup>。

定量相位成像（quantitative phase imaging, QPI）技术[图1(c)]使我们可以不破坏细胞的前提下，通过显微镜直接观察未染色活细胞的内部细节，获得形态、厚度、细胞内复杂程度等信息<sup>[52-53]</sup>。

当入射光通过样品发生散射时，其相位发生变化。相位信息与样品的厚度、折射率、三维结构等物理性质有关，此时引入参考光使其与散射光发生干涉，就能够放大相位差信号[图1(c)]，捕捉到精准的细节<sup>[54]</sup>。在明场条件下，对普通显微镜进行改装即可获得具备基础功能的定量相位显微镜。利用干涉原理，可以避免使用染色、加标记等可能破坏细胞活性的操作来测量细胞的物理性质，在活细胞培养过程中实现对细胞内部活动，如囊泡运输、染色质浓缩、细胞质浓度局部变化等动态监测，以及对细胞周期性变化、细胞-细胞之间通信活动的动态追踪<sup>[52-54]</sup>。

### 1.5 受激拉曼散射显微镜

拉曼散射技术使我们在不染色的前提下对细胞内各组分的浓度做出解析，而不局限于对胞内物理性质总体的描述。当入射光照射到物质上时，光子与物质中的原子相互作用并向四周散射。在该过程中，若光子的能量不发生变化，称为弹性散射或瑞利散射；若光子与原子间发生了能量交换，光子的频率和波长发生变化，称为拉曼散射<sup>[55]</sup>。

受激拉曼散射显微技术（stimulated Raman scattering microscopy, SRS microscopy）利用外部激光光束（即泵浦光）与原子发生非弹性相互作用，对产生的散射光进行监测。如果散射光的频率降低，称为斯托克斯光；反之，如果频率增加，则称为反斯托克斯光<sup>[56]</sup>。由于不同原子在其局部化学键环境中拥有特定的振动频率，因此不同物质能够通过受激拉曼散射区分开来：当泵浦光与原子碰撞产生斯托克斯光，若产生的频率差正好匹配被检测原子的固有振动频率就会产生共振现象，并与光路中的斯托克斯激光叠加，从而被放

大检出 [图1(d)]<sup>[57]</sup>。通过调节不同频率的泵浦光或斯托克斯激光,可以检测出被照射分子的拉曼光谱。由于每种分子都有独一无二的拉曼光谱,所以可以通过检测细胞各部分的拉曼光谱来绘制细胞内部不同物质的分布图 [图1(d)]。

样品内部的光散射会导致普通受激拉曼散射显微镜出现异质性信号衰减,这限制了其在精确测量单细胞质量及细胞质浓度方面的应用<sup>[58]</sup>。为了突破这一限制,2022年Oh Seungeun等发明了归一化拉曼成像技术(normalized Raman imaging, NoRI),这种方法通过归一化的数据处理手段有效解决了样品内部光散射引起的问题,精确测量脂质、蛋白质和水的浓度<sup>[57, 59-60]</sup>。

具体来说,为了将拉曼散射强度的变化转换成物质浓度,研究人员利用SRS显微镜对已知浓度的蛋白质、脂质和水的标准样品进行测量,获得了3×3分解矩阵。随后,将分解矩阵应用于平场校正后的样品图像,获得蛋白质、脂质和水的原始浓度,再将每个体素除以三者的总和以实现数据的归一化处理 [图1(d)]。通过这种方式, NoRI技术不仅能够修正因样品内部光散射导致的强度变化,还能将受激拉曼散射显微图像转化为绝对浓度值,从而实现对单细胞内细胞质浓度的高分辨率测量,并揭示蛋白质、脂质和水的空间分布特性<sup>[60]</sup>。

## 1.6 通过分子扩散推断

在非理想溶液中,分子间的相互作用(如吸引力、排斥力、静电力等)会导致扩散系数成为浓度的函数,见式(2):

$$DC = D_0 f(C) \quad (2)$$

式中, $C$ 为溶液浓度; $D_0$ 为溶液浓度为0时探针分子的扩散系数; $f(C)$ 为溶液浓度为 $C$ 时的修正数。如果修正数 $f(C)$ 与溶液浓度 $C$ 呈单调关系,易通过扩散系数求得溶液浓度。

细胞质是多尺度混合的复杂系统,浓度和扩散系数的关系并不简单,并且细胞质内的分子扩散往往表现出空间限制或具有黏弹性的特性。一般地,分子运动的均方距离( $\langle r^2 \rangle$ )与时间 $t$ 具有以下关系 [见式(3)]:

$$\langle r^2 \rangle = 2dDt^\alpha \quad (3)$$

式中, $d$ 为扩散的维度; $D$ 为扩散系数。在简单的布朗运动中,指数 $\alpha=1$ ;而细胞质中的扩散并非简单的布朗运动<sup>[13, 32, 61-62]</sup>,其有效扩散系数(已知均方距离和时间并假设 $\alpha=1$ 时,通过上式计算获得的扩散系数)具有时间尺度依赖性,被称为异常扩散。大多数游离的生物大分子表现出亚扩散的运动模式(即 $\alpha<1$ ),而主动运输的生物大分子又表现出超扩散的运动模式(即 $\alpha>1$ )。因此,并不能进行简单的有效扩散系数-细胞质浓度换算<sup>[63]</sup>。

尽管如此,细胞质浓度和分子扩散关系密切,而细胞质浓度导致的细胞生理变化也往往通过分子扩散变化来实现。因此,对细胞质中分子扩散的研究具有重要意义。下面我们将展开介绍几种细胞质研究中分子扩散的实验手段。

### 1.6.1 单颗粒追踪

最直接的分子扩散测量方式是对单个分子进行追踪。然而,由于游离的生物大分子运动速度过快,并且在活体内,单个荧光蛋白分子往往亮度太低难以和背景荧光区分开来,目前的成像系统很难同时达到足够帧频和检测灵敏度来实现对活细胞内单个分子的追踪实验。

2018年,Liam Holt课题组<sup>[64]</sup>利用能在胞内自组织形成具有固定单体数量的蛋白复合体颗粒,发明了“遗传学编码的多聚体复合物”技术(genetically encoded multimer),简称GEM。该技术将蛋白质单体与荧光蛋白在胞内融合表达,并自组装成具有固定大小的荧光纳米颗粒 [图1(e)]。GEM的发明解决了多个技术上的问题:

首先,GEM具有理想的单颗粒追踪的尺寸。GEM选取具有固定单体数量、形状和尺寸的蛋白质复合体作为模板,其中包括*Pyrococcus furiosus*包壳体蛋白复合体和*Aquifex aeolicus*荧光素合成酶复合体。这两种融合蛋白在胞内分别形成由120个或60个单体组成的直径为40 nm或20 nm的颗粒。在这个尺寸下,细胞质内GEM的有效扩散系数(1 s)约为0.1~1  $\mu\text{m/s}$ ,即1 s位移1  $\mu\text{m}$ 左右,适合现代荧光共聚焦显微镜拍摄。其次,由于每一个GEM包含几十至上百个荧光蛋白分子,单个GEM纳米颗粒的亮度比普通荧光蛋白高约两个数量级,使得帧/毫秒的显微拍摄成为可能。此外,荧光分子数量众多,GEM的荧光漂白效应很低,

适合长时拍摄。最后，由于GEM可以在宿主细胞内表达并自组装，免去了其他纳米颗粒递送技术上的困难及被内吞小体包裹等导致的测量偏差。

除了细胞质GEM以外，目前还有细胞器及细胞核特殊定位的GEM系统，可在不同亚细胞定位中测量分子扩散速率<sup>[65]</sup>。

### 1.6.2 荧光相关光谱

荧光相关光谱技术也是常见的分子扩散测量方法。该技术精确测量一个极小体积内荧光分子的数量，并通过测量该荧光分子数量随时间的自相关性来研究分子运动[图1(f)]<sup>[66]</sup>。简单来说，如果分子运动快，分子在检测体积快速进出，自相关性衰减得快；如果分子运动得慢，自相关性衰减得慢。为了精确测量荧光分子数量，该检测体积的长度尺度通常在衍射极限附近；且荧光分子的浓度在皮摩尔/升到纳摩尔/升范围。

荧光相关光谱可以检测微秒到毫秒的时间尺度，因此相比单颗粒追踪技术可以测量尺寸更小、运动更快的荧光分子，例如荧光标记的蛋白甚至小分子的运动行为。荧光相关光谱可以实现亚细胞水平的测量，定量检测特定亚细胞空间，甚至进行膜表面的测量<sup>[67]</sup>，也可以通过同一亚细胞定位进行多次反复的时序性检测<sup>[62]</sup>。

### 1.6.3 荧光漂白后恢复

荧光漂白后恢复技术利用了荧光分子在高强度光辐照后发生光漂白的现象，监测漂白区域荧光水平的恢复，来探究分子扩散的速率。由于荧光漂白是不可逆的过程，光漂白区域的荧光恢复只能通过该区域外的荧光分子扩散补充至该区域来实现<sup>[68]</sup>。通过将荧光恢复动态拟合至扩散恢复模型，可以求得扩散速率。但由于荧光漂白后恢复蕴含多种假设，例如在光漂白区域附近的扩散是均质化的，以及分子以布朗运动的方式进出光漂白区域等等，在理解其结果时需要格外小心。

## 1.7 拥挤度生物传感器

生物大分子及其结合水等会形成相当的排除体积，在生物大分子浓度高的体积内产生分子拥挤，因此细胞内拥挤度亦反映细胞质浓度。分子拥挤影响着分子扩散速率以及大分子之间的结合<sup>[27]</sup>，同时还影响着蛋白质、核酸的折叠和构象

变化等过程<sup>[69]</sup>。生物大分子的扩散系数<sup>[70]</sup>，或者荧光探针的结合<sup>[71]</sup>都一定程度上反映细胞内拥挤度，但是这两种方法都受到细胞内黏度或者分子间相互作用的影响，不依赖分子扩散的拥挤度生物传感器则可以排除黏度的干扰。

一类拥挤度生物传感器利用了荧光共振能量转移（fluorescence resonance energy transfer, FRET）原理。荧光分子（供体）的轨道电子吸收光之后从基态跃迁到激发态再回到基态时，会发出特定波长的荧光，此时如果存在一个邻近的荧光分子（受体），且其吸收光谱与供体的发射光谱有重叠，那么供体激发态的能量会以非辐射的偶极子-偶极子耦合方式转移到受体分子上，导致受体分子从基态跃迁到激发态并回到基态，发射与供体荧光波长不同的荧光<sup>[72]</sup>。荧光共振能量转移的发生与两个荧光分子之间距离的6次方成反比，因此对微小距离的变化十分敏感。利用可旋转、折叠的柔性聚合物如聚乙二醇（PEG）或非结构蛋白等连接两个荧光分子，可以形成一个拥挤度生物传感器[图1(g)]。当拥挤度变高时，两个荧光分子的距离变短，FRET发生，此时供体的荧光衰减，受体的荧光激发，供体与受体荧光的比例可以反映细胞质内拥挤程度。拥挤度生物传感器的两个荧光分子一般不自缔合，不与细胞内的化学成分发生反应，也不受细胞内渗透压的影响，是研究细胞质结构的有效工具<sup>[73]</sup>。

## 2 细胞质浓度和细胞生理

在大多数情况下，特定细胞种类的细胞质浓度是稳定的<sup>[74]</sup>。在一些自然状态或人为干预下，细胞质浓度会发生变化（表1）。细胞质浓度的改变可能导致全局生化行为和细胞生理的变化。下面总结导致细胞质浓度改变的原因及其带来的细胞生理学后果。

### 2.1 有丝分裂肿胀

尽管细胞质浓度在同一类型的细胞间差异很小<sup>[74]</sup>，但对于单个细胞来说细胞质浓度在时间维度上会有一些的浮动<sup>[81]</sup>。一个著名的例子是，在细胞周期的有丝分裂期，细胞的体积会迅速增大

表1 引起细胞质浓度变化的生理过程

Table 1 Physiological processes affecting cytoplasmic concentration

细胞生理	细胞质浓度 (变化前为100%)	浓度变化原因	后果	参考文献
有丝分裂肿胀	80%~90%	未知	未知	[46]
配子成熟	增加	排水	配子抗逆性增加	[75-76]
血细胞成熟	增加或减少; 红细胞细胞质浓度最大; 单核细胞其次	红细胞: 血红蛋白大量合成	红细胞携氧量增加	[34,47,77]
成骨细胞成熟	50%	细胞分化, 体积增加	骨骼发育	[78]
渗透压	64%~155%	渗透压改变	微管聚合速率变化范围64%~477%; 微管解聚速率变化范围42%~645%	[15]
翻译/降解	10%~200%	人工浓缩、稀释	翻译速度先增加后降低, 降解速度增加	[13]
基因组稀释	cdc28-13 突变体: 66%	限制温度培养, 细胞周期停滞, 细胞体积增加	基因表达激活停滞; 基因组稳定性降低	[79]
衰老	hTERT-RPE1 细胞: 降低(体积增至588%); MCF7 细胞: 降低(体积增至262%)	Palbociclib 处理, 细胞体积增加	激活 p53-p21 信号传导; 53BP1 不再修复 DNA 损伤; 有丝分裂失败; 基因组不稳定性; 细胞周期永久退出	[80]

Note: This table describes physiological processes that affect cytoplasmic concentration. It also includes the causes for the concentration changes, causes for the physiological consequences, and relevant references.

10%~30%，而细胞质浓度也会相应降低 10%~30%，细胞质浓度变稀；随着有丝分裂期结束，细胞体积和细胞质浓度恢复成有丝分裂期之前的状态。该现象被称为有丝分裂肿胀<sup>[46]</sup>。有丝分裂肿胀的成因可能与细胞膜上离子泵的活性有关，其功能可能与染色体在分配过程中的力学有关，目前尚无定论，但却是一个在各类哺乳动物细胞中保守的生理过程<sup>[46]</sup>。

## 2.2 基因组稀释

在 DNA 复制期之前，随着细胞生长，细胞体积和胞内蛋白质含量都增加，但 DNA 含量不变，导致 DNA 浓度降低，并且 DNA-蛋白质的比例发生变化。Zhurinsky 等<sup>[82]</sup> 研究 DNA-蛋白质的比例对裂殖酵母转录水平的影响发现，当细胞体积较小时，转录速率随着蛋白质含量的增加而增加，并与 RNA 聚合酶 II (RNAP II) 对基因组的占有率保持一致。一旦细胞体积超过一个阈值，转录速率的增量减缓，直至为零；与此同时蛋白质浓度也因此下降，细胞质内生物大分子浓度总体降低；而此时，如果给予额外的 DNA，转录速率会再次上升，这意味着在细胞过大时，DNA 是限制转录速率和细胞质浓度的因素<sup>[82]</sup>。

在 DNA 成为转录速率的限制因素之前是什么

限制转录速率？研究者们认为可能是 RNAP II 或者一类随细胞生长而浓度降低的转录抑制因子决定转录速率，影响细胞生长<sup>[82]</sup> [图 2(a)]。Swaffer 等<sup>[83]</sup> 在 2023 年的研究证实了 RNAP II 含量是决定转录速率的主要限制因素，在细胞体积增长的过程中，由于总蛋白和 RNAP II 的含量与细胞体积增长保持一致，RNAP II 对基因组的占有率持续增加，转录速率稳定提升；当 RNAP II 的浓度降低或定位改变时，转录水平便不再与细胞体积增长保持一致。

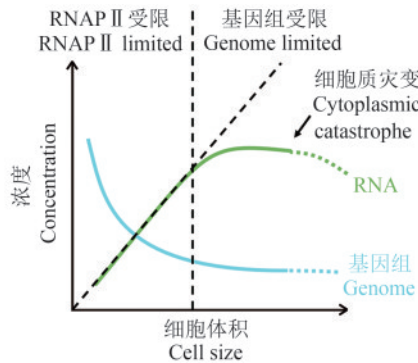
与 Zhurinsky 的发现相似的是，Neurohr 等<sup>[79]</sup> 在出芽酵母和哺乳动物细胞中也发现 DNA-蛋白质比例需要维持在特定的范围，如果细胞长得过大，基因组稀释超出界限，RNA 与蛋白质浓度下降，此时蛋白质合成不再能满足大细胞的需求，导致细胞质稀释，细胞功能与增殖均会受到影响，细胞进入衰老阶段。该研究提出基因组稀释是导致细胞质浓度在衰老细胞中变稀的重要因素。

在细胞衰老过程中，细胞质稀释伴随着细胞体积增大。Chen 等<sup>[84]</sup> 在 2020 年提出细胞体积的稳态调控机制：在细胞生长过程中，除了总转录水平随细胞体积增加之外，不同基因的表达对细胞体积的响应有差异。值得注意的是，在有差异响应的基因中，细胞周期激活因子的 mRNA 和蛋白质浓度上升，细胞周期抑制因子的 mRNA 和蛋

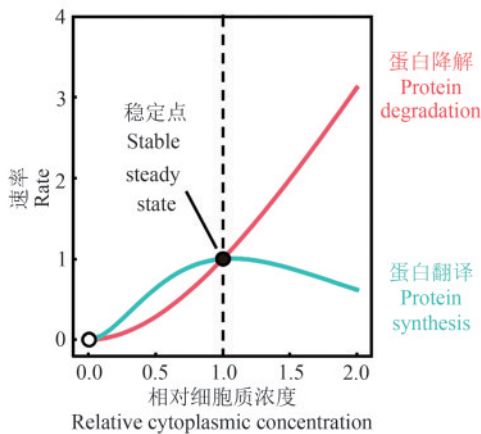
白质浓度下降。细胞周期激活因子和抑制因子的差异性表达实现了细胞对其体积的感知，决定了触发细胞周期的最小细胞体积，维持了细胞体积的稳定性。Lanz等<sup>[85]</sup>将这一发现拓展至蛋白质组水平。他们发现在基因组不断稀释的过程中，不同蛋白质的表达水平出现了差异。当基因组稀释超过一定范围时，与衰老相关的蛋白质表达上升、浓度增加，而与染色质相关的组蛋白表达下降、浓度降低，这种表达水平的不同使体积大的细胞更容易遭受复制性衰老以及DNA损伤，从而退出细胞周期进入衰老 [图2(a)]。

### 2.3 蛋白质的翻译和降解

合成生物大分子是细胞重要的生物学功能之一，而蛋白质翻译是生物大分子合成的重要一环。



(a) 基因组稀释影响生物大分子合成  
(a) Genome dilution controls macromolecular synthesis

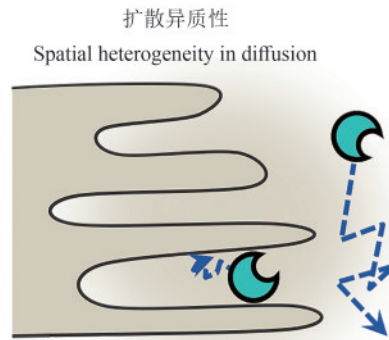


(b) 细胞质浓度决定蛋白质合成降解速率  
(b) Cytoplasmic concentration controls protein synthesis and degradation rates

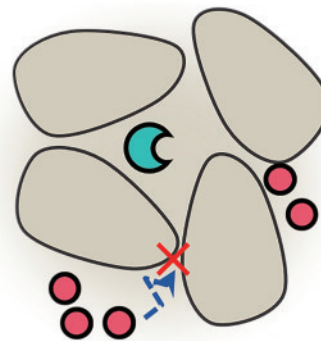
2024年Chen、Huang等<sup>[13]</sup>发现蛋白质合成本身也受到细胞质浓度的调控。这意味着蛋白质合成与降解不但参与细胞质浓度的调节，也受到细胞质浓度的调控。他们发现蛋白质翻译是一个扩散受限的生物化学反应，即反应随着细胞质黏度的增加而降低。相反，蛋白质降解对细胞质黏度则不那么敏感 [图2(b)]。当细胞质浓度增加时，细胞质黏度上升，蛋白质的净合成速率（蛋白质翻译速率-蛋白质降解速率）下降，这意味着蛋白质浓度有可能通过扩散受限的方式来实现负反馈调节，实现稳态<sup>[13]</sup>。

### 2.4 细胞质浓度的空间异质性

由于存在热力学驱动产生的自组织现象及局部结构和热力学的涨落，细胞质不是均质的。



扩散异质性  
Spatial heterogeneity in diffusion



浓度异质性  
Spatial heterogeneity in concentration  
(c) 扩散和细胞质浓度的异质性  
(c) Spatial heterogeneity in molecular diffusion and concentration

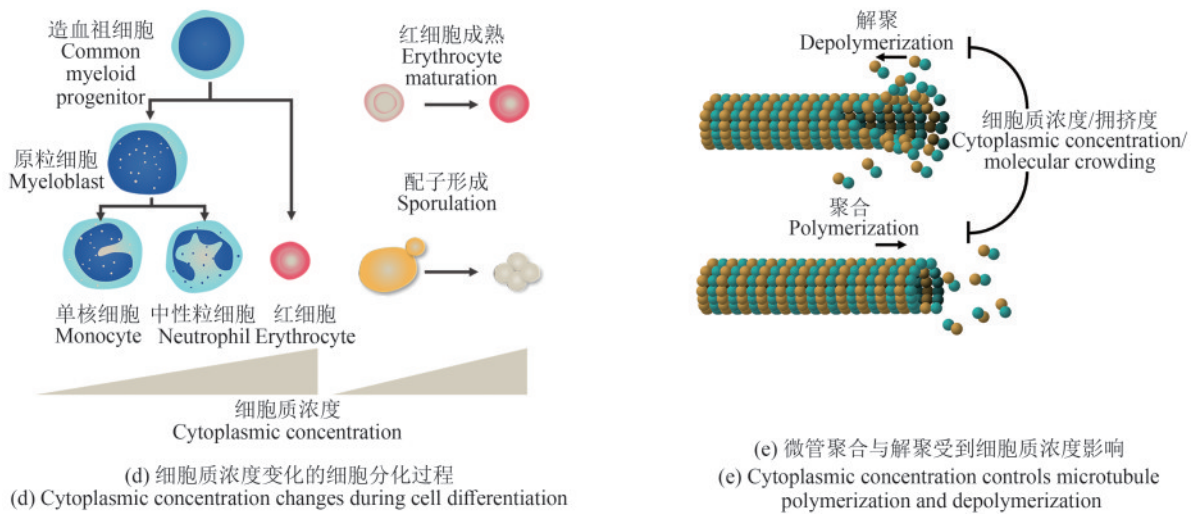


图2 细胞质浓度相关的生物学过程

Fig. 2 Biological processes related to cytoplasmic concentration

近十多年来有许多研究报道阐释细胞中生物大分子可以自发地组织成异质性结构，发生相分离，如p颗粒<sup>[86]</sup>、压力颗粒<sup>[87]</sup>、处理小体<sup>[88]</sup>、核仁<sup>[89]</sup>、转录热点<sup>[90]</sup>等等。相分离的过程通常是由多价低亲和力生物大分子介导的，与形成凝聚相的单体浓度相关<sup>[91-92]</sup>，且与单体所处环境中的拥挤剂（或称体积排挤剂）浓度有关<sup>[93]</sup>。提高单体的浓度、增加拥挤剂的浓度都有助于凝聚相形成。在胞内环境中，存在大量不与单体发生相互作用的生物大分子，这些大分子在一定程度上可以被认为是惰性的拥挤剂。由于生物大分子的相分离现象已有许多综述报道<sup>[92]</sup>，这里不再赘述。值得注意的是，细胞质浓度可以影响相分离，反过来，相分离也可能帮助稳定细胞质浓度。Klosin等<sup>[94]</sup>利用可以发生相分离的人造蛋白质发现，稀释相中蛋白质浓度的噪声会随着凝聚相的生成而降低，并随着凝聚相的消失而增加。

除了相分离现象以外，细胞质还存在其他异质性。Garner等<sup>[61]</sup>发现在不同细胞内定位的分子扩散速率不同，其扩散系数的差异可达百倍；Chen、Huang等<sup>[13]</sup>在非洲爪蟾细胞质中也发现了类似水平的差异。Garner等<sup>[61]</sup>发现这种空间上的异质性并不来源于细胞骨架、细胞周期或温度，然而，增加细胞外的渗透势会导致异质性水平增加。他们猜测细胞器片层之间的间隙、无膜细胞器的阻碍或者局部的活性搅拌都可能会增加扩散速率在亚细胞空间中的异质性 [图2(c)]。细胞内

大分子浓度异质性可能导致局部有效浓度上升，促进原本难以发生的化学反应在局部高浓度区内发生 [图2(c)]，这个效应对于低浓度的反应物或者酶来说尤为显著<sup>[31, 95-96]</sup>。

## 2.5 衰老

细胞质浓度调控细胞的生理功能。当细胞体积超出正常范围时，细胞内蛋白质供应跟不上细胞体积的增长速度，细胞质稀释，这类细胞表现出与衰老细胞一致的性状，包括细胞分裂速率减慢、DNA损伤增加、对信息素敏感性降低和转录激活停滞等<sup>[97-98]</sup>。

细胞质浓度降低导致细胞衰老有三个原因：

首先，由于细胞内DNA含量有限，随着细胞体积增加，DNA结合蛋白含量增加，当细胞超过一定体积时，与DNA结合的蛋白质逐渐饱和，DNA的含量成为了转录水平的限制因素。在DNA稀释的细胞中，DNA被其他DNA结合蛋白占据，转录因子不能结合到DNA上行使其转录功能，转录激活困难，引起基因表达失调，细胞不再分裂，细胞衰老发生<sup>[99]</sup>。

其次，当细胞体积增加与蛋白质合成不再协同时，合成蛋白质的速率降低，不稳定蛋白质比稳定蛋白质降解速率更快，使得不稳定蛋白质比稳定蛋白质浓度更低，导致细胞对细胞分裂与基因调控的能力降低<sup>[79]</sup>。

最后, 细胞衰老与调控因子的浓度及其引起的基因组不稳定性有关。研究发现在细胞衰老过程中, G1/S 期抑制因子 Whi5 的积累, 染色体外 rDNA 环积累导致的 G1/S 细胞周期蛋白表达缺陷, 引起细胞 G1 期延迟、持续性 DNA 损伤和染色体错误分离, 导致基因组不稳定, 最终细胞衰老死亡<sup>[98]</sup>。此外, 这个过程会激活 p53-p21 信号通路, 但是此时细胞对 p53 的信号不敏感, 当 DNA 损伤时, 53BP1 无法到达 DNA 断裂部位进行修复, 最终致使细胞有丝分裂失败以及细胞周期的永久性退出<sup>[80]</sup>。

## 2.6 信号转导

细胞质浓度也参与细胞信号转导的调控。在丝裂原活化蛋白 (MAP) 激酶信号通路中, Aoki 等<sup>[100]</sup> 利用与生理浓度相当的拥挤剂, 发现当体外体系中拥挤度增加时, MAP 激酶对 MAP 激酶的磷酸化速率降低, 这意味着在细胞内, MAP 激酶磷酸化的反应也可能是扩散受限的。

细胞有丝分裂周期过程中的信号也受到细胞质浓度的影响。有丝分裂的周期性振荡主要受到关键调控因子 Cdk 活性的调控。具体来说, Cdk 与周期素结合, 生成具有激酶活性的 Cdk-周期素复合物, 磷酸化一系列蛋白质底物, 从而激活或抑制细胞周期相关因子, 推动细胞周期向前进行。2024 年 Huang、Chen 等<sup>[101]</sup> 在非洲爪蟾卵细胞质提取物中发现, 细胞周期反应中 Cdk 对其下游因子的激活速率常数也受细胞质浓度调控, 随着细胞质浓度的增加而降低。

细胞凋亡过程主要由调节型凋亡蛋白酶 Caspase 9 通过自催化形成正向激活回路, 从而介导效应子凋亡蛋白酶 Caspase 3/7 执行凋亡功能。此外, 该回路也接受包括线粒体表面一系列受体和通道形成的正反馈回路, 以及细胞色素 C 激活因子的信号等等。Huang、Chen 等<sup>[101]</sup> 将整个回路简化成一个拨动开关模型, 利用产生荧光的 Caspase 底物, 发现拨动开关的激活速率常数随着细胞质浓度增加而降低。

值得注意的是, 在 Huang、Chen 等<sup>[101]</sup> 的研究中, 反应速率、反应物浓度和扩散速率三者均参

与影响 Cdk 活性触发波以及细胞凋亡触发波波速, 但这些因素的综合效应使得触发波速在生理范围内保持稳定, 仅在当细胞质浓度超过生理浓度时, 波速才缓慢下降。

由于参与 MAP 激酶回路、细胞周期以及细胞凋亡反应等信号转导过程中的酶和底物各不相同, 参与反应的单元尺寸不同, 其机制原理也相差甚远, 可以推断在细胞内存在其他生化反应也是扩散受限的, 并受到细胞质浓度的调控。

## 2.7 细胞分化

在减数分裂之后, 不论是同形配子 [图 2(d)] (如酵母的四分体孢子<sup>[75, 102]</sup>) 还是异形配子 (尤其是精子<sup>[76]</sup>), 都会经历剧烈的形态和生理变化。在这个时期, 对于孢子来说是为了抵御潜在的外界刺激, 对于精子来说则是为了增加游动性, 细胞质的体积会被急剧压缩。出芽酵母孢子的细胞质在透射电镜下呈现更高的电子密度, 微观流变学反映出更高的黏滞性, 并且细胞质 pH 降低, 且具有更强的高温耐受性<sup>[75]</sup>。

除了配子以外, 血细胞在发育过程中也会发生密度变化: 在血细胞发育终末, 血红细胞的密度最大, 嗜中性白细胞居中, 单核细胞和其他白细胞的密度最小 [图 2(d)]。成熟的血红细胞具有更高的血红蛋白浓度及细胞密度 [图 2(d)]。在发生疾病时, 例如地中海贫血症, 血红蛋白浓度及细胞密度都会下降<sup>[34, 47, 77]</sup>。此外, 成骨细胞体积也会在发育过程中增加将近 10 倍, 而其细胞质浓度减半<sup>[78]</sup>。

## 2.8 微管动态

细胞质浓度影响胞内蛋白质复合物组装的动态过程。微管作为一种高动态聚合物, 参与了胞内细胞器运输、染色体分离等细胞过程, 对于真核细胞功能的实现至关重要, 它通过不断进行微管蛋白的聚合与解聚来实现其生长与收缩<sup>[103]</sup>。研究表明, 微管蛋白浓度的局部增加有利于加速微管聚合, 同时减缓微管解聚<sup>[104]</sup> [图 2(e)]。除了参与微管聚合的局部微管蛋白浓度的改变会对微管聚合与解聚产生影响之外, Arthur Molines 等<sup>[15]</sup>

在其2022年的文章中提出细胞质浓度整体的变化也会对微管的动态组装产生影响。研究者通过改变细胞外渗透压,使细胞失水或吸水,调节细胞质浓度,当细胞质浓度增加时,微管聚合与解聚速率成比例地减缓;当细胞质浓度变低时,微管聚合与解聚速率成比例变快,并且在这些过程中,聚合与解聚速率保持一致。他们证明当细胞质浓度改变时,细胞质黏度的变化决定了微管聚合与解聚速率,并且这个相关性在真核生物中保守<sup>[15]</sup>。这意味着微管聚合与解聚在细胞内均为扩散受限反应。

### 3 理论

如前文所述,细胞质浓度与细胞生理相互影响,一方面细胞质浓度能够改变细胞质的理化性质,影响分子运动、化学反应速率;另一方面,细胞生理也能反过来参与调控细胞质浓度稳态。本节我们将从三个角度对这两个方面进行理论探讨。首先,直接受到细胞质分子浓度调控的参数包括细胞质黏度和分子拥挤度,下文将着重归纳和阐释细胞质浓度调控黏度和拥挤度的理论研究(3.1节)。其次,分子浓度改变细胞质内生物化学反应系统的动力学和平衡,经典体外生物化学实验研究忽略了细胞质浓度在其中的作用,下文将梳理产生这些错误认识的原因并提出修正(3.2节)。最后,细胞也会通过其物理性质产生负反馈稳态调节实现细胞质浓度稳态,下文将对该调控机制进行理论阐述(3.3节)。

#### 3.1 细胞质浓度、黏度和拥挤度

水溶液中的生物大分子往往与水分子结合,使之形成稳定的网状结构,称之为结合水<sup>[105]</sup>。Cameron等<sup>[106]</sup>测量得知每克牛血清白蛋白大约能结合4克水分子,并使之不参与渗透响应。这就意味着随着蛋白质浓度的增加,结合水在总水分子中的占比逐渐增加,而游离水的含量会迅速降低,使得蛋白质或与蛋白质大小相当的分子运动变得困难,溶液黏度增加。

细胞干重的主要成分包括蛋白质、脂类、核

酸和各种离子。活细胞中,蛋白质自身所占体积大约为6%~25%,若考虑结合水所占体积则会更多。由于空间排斥效应,生物大分子难以穿透分子及结合水所占的空间,形成排除体积。排除体积增加了细胞质的拥挤度,与此同时提高了活动体积中有效分子浓度,在热力学上帮助大分子结合,促进反应发生<sup>[96]</sup>。

#### 3.2 反应速率

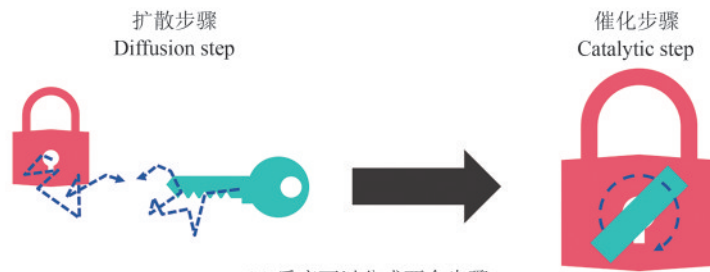
化学反应的速率主要由两个参数决定,一是参与反应的反应物浓度(根据质量作用定律),二是反应速率常数。在细胞中,如果反应物浓度随着细胞质浓度变化,那么当细胞质浓度增加时,反应速率会如何变化?

为了讨论这个问题,可以将反应过程分成两个步骤:①扩散步骤,反应物通过分子扩散相遇,形成过渡态复合体;②催化步骤,旧键断裂、新键形成反应发生[图3(a)]。这两个部分的限速步骤决定反应发生的速率。

传统的生化研究通过纯化蛋白质来测量反应发生的速率。一些研究认为,大多数酶促反应中扩散步骤对反应速率的影响不大<sup>[107]</sup>。扩散步骤对反应过程影响显著的前提是催化步骤花费的时间足够短,即酶的特异性常数( $k_{cat}/k_M$ )足够大。假设分子各向均可参与反应,根据斯莫卢霍夫斯基凝聚理论,保守的反应速率上限为 $10^8 \sim 10^9 \text{ L}/(\text{mol}\cdot\text{s})$ (即反应速率完全由扩散过程支配)。然而,在体外重构系统中测得大多数酶促反应的特异性常数约为 $10^6 \text{ L}/(\text{mol}\cdot\text{s})$ <sup>[107]</sup>,比反应速率上限约低2~3个数量级。根据这些测量值,一些研究认为催化步骤才是限速步骤——这类反应属于催化受限反应,而非扩散受限反应。

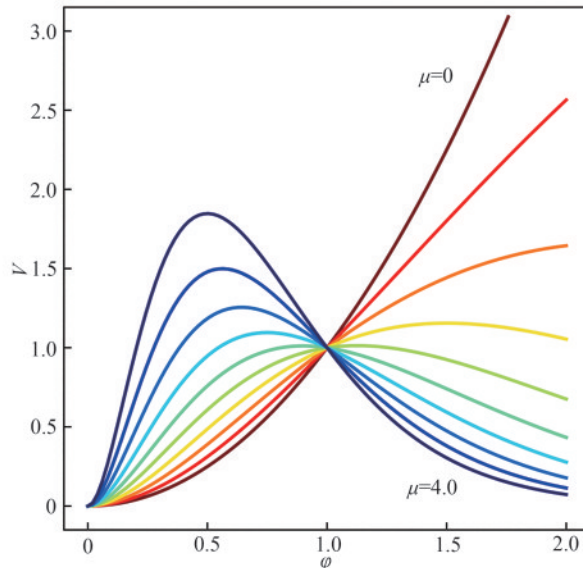
然而,越来越多的体内实验证据得到相反的结论,即不少生化反应在细胞内表现出扩散受限的特性<sup>[13, 15, 100-101]</sup>。到目前为止,该矛盾并未得到合理解释。为了化解这一矛盾,我们从理论的前提出发结合了生物系统的复杂性,提出以下七种可能的解释:

①计算催化速率上限的模型中“分子各向均可参与反应”的假设并不正确。在酶促反应中,



(a) 反应可以分成两个步骤

(a) Reactions can be viewed as two separate steps



(b) 反应速率随细胞质浓度变化

(b) Reaction rate as a function of cytoplasmic concentration

图3 反应可被拆解成扩散步骤和催化步骤

Fig. 3 Reaction can be treated as a two-step process with diffusion and catalytic steps, respectively

由于反应界面往往仅占酶表面积的一小部分，反应物首次碰撞并不意味着反应发生（与斯莫卢霍夫斯基凝聚理论的假设不同）。如果酶促反应发生在蛋白质与小分子之间，经过修正，得到的理论反应速率最快为  $6 \times 10^6 \sim 2 \times 10^8 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{s})$  [108]。对于蛋白质-蛋白质或蛋白质复合物分子之间的反应，需要更强的修正，理论反应速率最高值会更低，因此生化反应会比经典模型的预测更容易表现出扩散受限的特性。

② 计算反应速率上限仅考虑反应物从时间 0 点  $t_0$  到初次相遇所花的时间，若参与反应的分子需要经过多次相互作用才可形成有效的反应复合物，则扩散步骤用时需要考虑多次相互作用所花的时间之和。许多经典的生化反应，如己糖激酶与葡萄糖的结合过程 [109]，符合诱导契合结合理论。酶

和底物需在构象上多次调整匹配，从而形成稳定的酶-底物复合物 [110]。该过程本质上涉及酶与底物之间的多次短暂相互作用。

③ 与②相似的是，过渡态复合物也许并不稳定，容易解聚，造成参与反应的分子需要多次相遇并形成稳定的过渡态复合物才能发生反应，增加了扩散步骤在总反应时间的占比。经典的实例包括动态校正过程中的每一步反应过程 [111]，如蛋白质翻译过程中 tRNA 与密码子的配对过程。

④ 反过来，反应表现出扩散受限的特征（如对扩散敏感），反应不一定扩散受限。一种可能性是反应的催化步骤速率，即  $k_{\text{cat}}$  也受到细胞质浓度的影响，并随着浓度增加而降低——例如酶促反应所在环境黏度升高时，产生催化作用的分子构象变化受阻，过渡态复合物存在时间增加 [69, 96]。

⑤在蛋白质翻译这类多步反应中, 出现扩散步骤为限速步骤的概率比简单的双分子反应要高。

⑥由于细胞系统的复杂性, 对于细胞中的反应过程来说, 参与反应的分子可能以巨大的复合物形式存在, 且弱相互作用、静电作用、氢键、自由水的缺乏或反应物自身半衰期极短等, 都可能导致分子有效扩散速率远小于单个蛋白质分子的扩散系数(用于计算斯莫卢霍夫斯基的反应速率极限), 反应更趋向于扩散受限<sup>[112-113]</sup>。

⑦反应区室化造成局部反应物耗竭, 细胞质浓度上升后, 消耗的底物更难通过扩散补充进局部反应区室中, 使底物浓度依赖性呈现出扩散受限的特征<sup>[114]</sup>。

这七种解释并不互斥。根据上述讨论, 细胞内的生化反应可能具有扩散受限特征, 即扩散速率本身对反应产生影响。根据斯莫卢霍夫斯基凝聚理论及Phillips定律, 形成反应过渡态复合体的速率和扩散系数及反应物浓度相关, 见式(4):

$$V[\varphi] = k[\varphi]\varphi^2 = \varphi^2 k[0]e^{-\mu\varphi} \quad (4)$$

式中,  $\varphi$  为细胞质浓度;  $V[\varphi]$  和  $k[\varphi]$  为当细胞质浓度为  $\varphi$  时的反应速率及反应速率常数;  $\mu$  为受限系数, 在  $0 \sim \infty$  之间取值。由于细胞质浓度  $\varphi$  为 0 时反应速率不可测, 因此我们将上述关系式写成与细胞质浓度为生理状态下 ( $\varphi = 1$ ) 速率常数  $k[1]$  有关的表达式, 即式(5):

$$V[\varphi] = \varphi^2 k[1]e^{-\mu(\varphi-1)} \quad (5)$$

式中,  $\mu$  值根据反应的具体性质而取得不同的值, 从而产生一系列不同形状的反应速率-细胞质浓度函数曲线 [图 3(b)]。  $\mu$  值越大, 反应越趋向于扩散受限过程。

### 3.3 细胞质浓度的负反馈调节

前文描述了细胞质浓度上升时, 蛋白质翻译速率呈现先上升后下降的趋势, 它与蛋白质降解的综合效果是: 在细胞质浓度小于  $1 \times$  生理浓度时, 蛋白质浓度上升; 而当细胞质浓度大于  $1 \times$  生理浓度时, 蛋白质浓度下降。这形成了一个负反馈调节稳态系统: 其中,  $1 \times$  细胞质浓度为稳定点, 当浓度偏离稳定点时, 系统产生与偏离方向相反的作用, 具有向稳定点恢复的趋势<sup>[13]</sup>。

其他扩散受限过程也可能产生负反馈稳态调节, 尤其是大尺寸复合物参与的扩散速率慢的反应。由于参与 mRNA 转录过程的 RNA 聚合酶及 DNA 尺寸巨大, 转录过程也很可能是一个扩散受限的过程。不难想象在细胞核内也发生负反馈调节, 即 mRNA 的转录会通过影响核质空间中的 mRNA 浓度, 或者通过影响细胞质内生物大分子浓度, 对转录过程自身产生负反馈稳态调节, 从而达到转录速率稳态。

其他负反馈稳态调节可能来自掌管物质进出的细胞膜通道。这些蛋白质组成的通道内侧随时接受来自细胞质的浓度信号, 也许细胞跨膜运输的过程也会通过对细胞质物理信号的监测, 实现对物质的选择性通过以及对胞内浓度稳态的调节。上述这两个可能性仍需实验支持。

## 4 总结和展望

细胞质承载几乎所有生理生化过程, 其浓度影响几乎所有生物化学反应。从分子层面上看, 改变细胞质浓度不但影响生物大分子的浓度, 还影响其空间分布(区室化、相分离、排除体积)、扩散速率、反应速率等等。并且由于细胞质包含各种尺寸、不同性质的分子以及复合物, 它的浓缩或稀释会对不同分子有差异性的影响<sup>[13]</sup>。从生物学功能上看, 细胞质浓度调控基因表达、决定细胞衰老、影响细胞抗逆性, 可能参与调节细胞周期、细胞分化和细胞运动。

细胞质浓度是重要的细胞生理参数, 长期以来对它的研究却进展缓慢。一部分原因来自细胞质浓度本身的复杂性: 对于任一生化反应, 不直接参与反应的惰性分子也会改变其反应的表型; 一部分原因来自细胞质浓度的保守性: 对于大部分细胞来说, 细胞质浓度稳定, 改变细胞质浓度相对困难; 还有一部分原因来自技术的限制: 长期以来缺乏精确测量细胞质浓度的有效手段。

近年来, 由于微流控、光学技术和合成生物学的进步, 我们首次获得了高效、精确测量细胞质浓度的手段<sup>[54, 60, 64, 74, 81]</sup>, 得以探索这一困扰百年而仍未能解决的问题。

细胞质浓度研究尚未解决的问题包括:

(1) 细胞质浓度是如何决定的 尽管细胞质浓度高度保守,但我们尚不明确细胞质浓度感受器是否存在。另外,我们尚不了解当细胞获得细胞质浓度信息之后,哪些机制参与细胞质浓度调节,这些机制又如何去调控细胞质浓度。根据现有的实验证据,我们可以得到一些猜想:细胞质的浓度调节可能与多个生理过程有关,其中包括生物大分子合成、代谢反应和跨膜运输<sup>[13, 30, 46]</sup>。细胞质浓度调节很可能不是单一机制,而是多重调节下的综合结果。

(2) 细胞质浓度与其他生理过程的相互作用

①信号转导。上文中提到,MAP激酶激酶对MAP激酶的调节属于扩散受限过程,那么,还有哪些参与信号转导的分子或者调控也可能受到细胞质浓度影响?

②细胞质浓度与代谢网络。细胞质浓度如何调控代谢过程,代谢网络的动态变化又如何反过来影响细胞质浓度?

③细胞骨架和物质运输。Fred Chang课题组等发现细胞质浓度影响细胞骨架的组装和动态,那么浓度变化对胞内运输(如囊泡运输或扩散)是否有直接或间接的作用?

④相分离。理论和实验结果都证实拥挤剂参与相分离的行为。细胞质的局部浓度变化是否影响相分离行为?相反,相分离形成的凝聚相又如何改变局部浓度环境?

⑤应激响应。在酵母孢子形成过程中,细胞质浓度增加,热激蛋白浓度上升。细胞如何通过调节细胞质浓度来应对外部环境变化?

⑥空间和时间上的异质性。有越来越多的证据表明细胞质在局部并不均一,并且随着时间浮动,存在异质性。局部异质性如何影响细胞的整体行为?

⑦疾病。在许多血液疾病中,细胞质浓度发生变化;在神经退行性疾病中也存在类似现象;癌症细胞的机械强度也有所变化<sup>[115-117]</sup>。细胞质浓度异常在这些疾病中是否起到关键作用?我们是否能利用细胞质浓度调控或者治疗这些疾病?

(3) 如何利用细胞质浓度 在合成细胞的研究中,一个不可忽略的难点是如何保持细胞长期稳定的合成与分裂。稳态维持是一个系统涌现的

问题,并不能通过研究单个元件的合成组装来实现。通过对细胞质浓度稳态调节机制的探索,也许能够获得稳态形成的系统水平逻辑,从而指导解决合成细胞的稳态维持,实现和优化合成细胞。

综上,细胞质浓度稳态是一个长期以来未被解决的老问题,在新技术的加持下,终于有机会对它进行更全面的探索,并逐渐形成一个活跃的研究领域。对细胞质浓度稳态的研究将帮助理解细胞的基本生理过程、辅助合成细胞科学和工程研究,与此同时,这些探索也将帮助了解和解决一些疾病状态下产生的细胞质浓度问题,最终找到治疗疾病的突破口,为人类健康做贡献。

## 参 考 文 献

- [1] WILSON E B. The Cell in development and inheritance[M]. New York: The MacMillan Company, 1896.
- [2] MILO R, PHILLIPS R. Cell biology by the numbers[M/OL]. New York: Garland Science, 2015. (2015-12-07)[2024-12-01]. <https://doi.org/10.1201/9780429258770>.
- [3] NATHANS D, SMITH H O. Restriction endonucleases in the analysis and restructuring of DNA molecules[J]. Annual Review of Biochemistry, 1975, 44: 273-293.
- [4] CHIEN A, EDGAR D B, TRELA J M. Deoxyribonucleic acid polymerase from the extreme thermophile *Thermus aquaticus* [J]. Journal of Bacteriology, 1976, 127(3): 1550-1557.
- [5] ALBERTS B. Molecular biology of the cell[M/OL]. New York: Garland Science, 2017. (2017-08-07)[2024-12-01]. <https://doi.org/10.1201/9781315735368>.
- [6] JACKSON D A, SYMONS R H, BERG P. Biochemical method for inserting new genetic information into DNA of Simian virus 40: circular SV40 DNA molecules containing lambda phage genes and the galactose operon of *Escherichia coli*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1972, 69(10): 2904-2909
- [7] PRASHER D C, ECKENRODE V K, WARD W W, et al. Primary structure of the *Aequorea victoria* green-fluorescent protein[J]. Gene, 1992, 111(2): 229-233.
- [8] JINEK M, CHYLINSKI K, FONFARA I, et al. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity[J]. Science, 2012, 337(6096): 816-821.
- [9] ELOWITZ M B, LEIBLER S. A synthetic oscillatory network of transcriptional regulators[J]. Nature, 2000, 403(6767): 335-338.
- [10] TRUNNELL N B, POON A C, KIM S Y, et al. Ultrasensitivity in the regulation of Cdc25C by Cdk1[J]. Molecular Cell, 2011, 41(3): 263-274.

- [11] PARDEE A B, JACOB F, MONOD J. The genetic control and cytoplasmic expression of "Inducibility" in the synthesis of  $\beta$ -galactosidase by *E. coli*[J]. *Journal of Molecular Biology*, 1959, 1(2): 165-178.
- [12] KANEHISA M. Enzyme annotation and metabolic reconstruction using KEGG[J]. *Methods in Molecular Biology*, 2017, 1611: 135-145.
- [13] CHEN Y P, HUANG J H, PHONG C, et al. Viscosity-dependent control of protein synthesis and degradation[J]. *Nature Communications*, 2024, 15(1): 2149.
- [14] ALRIC B, FORMOSA-DAGUE C, DAGUE E, et al. Macromolecular crowding limits growth under pressure[J]. *Nature Physics*, 2022, 18(4): 411-416.
- [15] MOLINES A T, LEMIÈRE J, GAZZOLA M, et al. Physical properties of the cytoplasm modulate the rates of microtubule polymerization and depolymerization[J]. *Developmental Cell*, 2022, 57(4): 466-479.e6.
- [16] WEBB B A, CHIMENTI M, JACOBSON M P, et al. Dysregulated pH: a perfect storm for cancer progression[J]. *Nature Reviews Cancer*, 2011, 11(9): 671-677.
- [17] ELOWITZ M B, SURETTE M G, WOLF P E, et al. Protein mobility in the cytoplasm of *Escherichia coli*[J]. *Journal of Bacteriology*, 1999, 181(1): 197-203.
- [18] BEGASSE M L, LEAVER M, VAZQUEZ F, et al. Temperature dependence of cell division timing accounts for a shift in the thermal limits of *C. elegans* and *C. briggsae*[J]. *Cell Reports*, 2015, 10(5): 647-653.
- [19] PERSSON L B, AMBATI V S, BRANDMAN O. Cellular control of viscosity counters changes in temperature and energy availability[J]. *Cell*, 2020, 183(6): 1572-1585.e16.
- [20] MINTON A P. Implications of macromolecular crowding for protein assembly[J]. *Current Opinion in Structural Biology*, 2000, 10(1): 34-39.
- [21] HARRIS R F. Effect of water potential on microbial growth and activity[M/OL]/PARR J F, GARDNER W R, ELLIOTT L F. *Water potential relations in soil microbiology*. New York: Wiley, 2015: 23-95. (2015-10-25)[2024-12-01]. <https://doi.org/10.2136/sssaspepub9.c2>.
- [22] CHAKRABARTI B, RACHH M, SHVARTSMAN S Y, et al. Cytoplasmic stirring by active carpets[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2024, 121(30): e2405114121.
- [23] BRANGWYNNE C P, KOENDERINK G H, MACKINTOSH F C, et al. Cytoplasmic diffusion: molecular motors mix it up[J]. *The Journal of Cell Biology*, 2008, 183(4): 583-587.
- [24] BRANGWYNNE C P, KOENDERINK G H, MACKINTOSH F C, et al. Intracellular transport by active diffusion[J]. *Trends in Cell Biology*, 2009, 19(9): 423-427.
- [25] NEUROHR G E, AMON A. Relevance and regulation of cell density[J]. *Trends in Cell Biology*, 2020, 30(3): 213-225.
- [26] DILL K A, GHOSH K, SCHMIT J D. Physical limits of cells and proteomes[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(44): 17876-17882.
- [27] ELLIS R J. Macromolecular crowding: obvious but underappreciated[J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 2001, 26(10): 597-604.
- [28] GUO M, PEGORARO A F, MAO A, et al. Cell volume change through water efflux impacts cell stiffness and stem cell fate[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2017, 114(41): E8618-E8627.
- [29] CADART C, BARTZ J, OAKS G, et al. Polyploidy in *Xenopus* lowers metabolic rate by decreasing total cell surface area[J]. *Current Biology*, 2023, 33(9): 1744-1752.e7.
- [30] CADART C, VENKOVA L, RECHO P, et al. The physics of cell-size regulation across timescales[J]. *Nature Physics*, 2019, 15(10): 993-1004.
- [31] MINTON A P. The influence of macromolecular crowding and macromolecular confinement on biochemical reactions in physiological media[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2001, 276(14): 10577-10580.
- [32] LEMIÈRE J, REAL-CALDERON P, HOLT L J, et al. Control of nuclear size by osmotic forces in *Schizosaccharomyces pombe*[J]. *eLife*, 2022, 11: e76075.
- [33] HARTWELL L H. Periodic density fluctuation during the yeast cell cycle and the selection of synchronous cultures[J]. *Journal of Bacteriology*, 1970, 104(3): 1280-1285.
- [34] RAHMAN Y E, ELSON D L, CERNY E A. Studies on the mechanism of erythrocyte aging and destruction. I. Separation of rat erythrocytes according to age by Ficoll gradient centrifugation [J]. *Mechanisms of Ageing and Development*, 1973, 2(2): 141-150.
- [35] SEGAL A W, FORTUNATO A, HERD T. A rapid single centrifugation step method for the separation of erythrocytes, granulocytes and mononuclear cells on continuous density gradients of percoll[J]. *Journal of Immunological Methods*, 1980, 32(3): 209-214.
- [36] CATSIMPOOLAS N. *Methods of cell separation*[M/OL]. New York: Springer Science & Business Media, 2012. (2012-12-06)[2024-12-01]. <https://doi.org/10.1007/978-1-4684-0820-1>.
- [37] KRUGER N J. The Bradford method for protein quantitation [M/OL]/WALKER J M. *The protein protocols handbook*. Springer protocols handbooks. Totowa, NJ: Humana Press, 2009: 17-24[2024-12-01]. [https://doi.org/10.1007/978-1-59745-198-7\\_4](https://doi.org/10.1007/978-1-59745-198-7_4).
- [38] NOBLE J E, BAILEY M J A. Chapter 8 quantitation of protein [M/OL]/BURGESS R R, DEUTSCHER M P. *Methods in enzymology*. New York: Academic Press, 2009, 463(C): 73-95. (2009-11-03)[2024-12-01]. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(09\)63008-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(09)63008-1).
- [39] PETERSON M S, PATKAR A Y, SEO J H. Flow cytometric analysis of total protein content and size distributions of recombinant *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Biotechnology Techniques*, 1992, 6(3): 203-206.
- [40] CRISSMAN H A, STEINKAMP J A. Rapid, simultaneous

- measurement of DNA, protein, and cell volume in single cells from large mammalian cell populations[J]. *The Journal of Cell Biology*, 1973, 59(3): 766-771.
- [41] ROTH B L, POOT M, YUE S T, et al. Bacterial viability and antibiotic susceptibility testing with SYTOX green nucleic acid stain[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63(6): 2421-2431.
- [42] NASH R, TOKIWA G, ANAND S, et al. The WHI1+gene of *Saccharomyces cerevisiae* tethers cell division to cell size and is a cyclin homolog[J]. *EMBO Journal*, 1988, 7(13): 4335-4346.
- [43] ROSEBROCK A P. Analysis of the budding yeast cell cycle by flow cytometry[J]. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2017, 2017(1): pdb.prot088740.
- [44] BLATTER L A. Cell volume measurements by fluorescence confocal microscopy: theoretical and practical aspects[M/OL]// *Methods in enzymology*. New York: Academic Press, 1999, 307: 274-295[2024-12-01]. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)07018-4](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)07018-4).
- [45] XIE S C, SKOTHEIM J M. A G1 sizer coordinates growth and division in the mouse epidermis[J]. *Current Biology*, 2020, 30(5): 916-924.e2.
- [46] ZLOTEK-ZLOTKIEWICZ E, MONNIER S, CAPPELLO G, et al. Optical volume and mass measurements show that mammalian cells swell during mitosis[J]. *Journal of Cell Biology*, 2015, 211(4): 765-774.
- [47] GROVER W H, BRYAN A K, DIEZ-SILVA M, et al. Measuring single-cell density[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(27): 10992-10996.
- [48] SON S M, KANG J H, OH S E, et al. Resonant microchannel volume and mass measurements show that suspended cells swell during mitosis[J]. *Journal of Cell Biology*, 2015, 211(4): 757-763.
- [49] ICHA J, WEBER M, WATERS J C, et al. Phototoxicity in live fluorescence microscopy, and how to avoid it[J]. *BioEssays*, 2017, 39(8): 1700003.
- [50] DEMCHENKO A P. Photobleaching of organic fluorophores: quantitative characterization, mechanisms, protection[J]. *Methods and Applications in Fluorescence*, 2020, 8(2): 022001.
- [51] PARK Y, DEPEURSINGE C, POPESCU G. Quantitative phase imaging in biomedicine[J]. *Nature Photonics*, 2018, 12(10): 578-589.
- [52] CURL C L, BELLAIR C J, HARRIS T, et al. Refractive index measurement in viable cells using quantitative phase-amplitude microscopy and confocal microscopy[J]. *Cytometry Part A*, 2005, 65A(1): 88-92.
- [53] BON P, MAUCORT G, WATTELLIER B, et al. Quadriwave lateral shearing interferometry for quantitative phase microscopy of living cells[J]. *Optics Express*, 2009, 17(15): 13080-13094.
- [54] CREATH K, GOLDSTEIN G. Dynamic quantitative phase imaging for biological objects using a pixelated phase mask[J]. *Biomedical Optics Express*, 2012, 3(11): 2866-2880.
- [55] GARDINER D J. Introduction to Raman scattering[M/OL]// *Practical Raman spectroscopy*. Berlin, Heidelberg: Springer, 1989: 1-12[2024-12-01]. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-74040-4>.
- [56] FREUDIGER C W, MIN W, SAAR B G, et al. Label-free biomedical imaging with high sensitivity by stimulated Raman scattering microscopy[J]. *Science*, 2008, 322(5909): 1857-1861.
- [57] CHENG J X, XIE X S. Vibrational spectroscopic imaging of living systems: an emerging platform for biology and medicine [J]. *Science*, 2015, 350(6264): aaa8870.
- [58] HILL A H, MANIFOLD B, FU D. Tissue imaging depth limit of stimulated Raman scattering microscopy[J]. *Biomedical Optics Express*, 2020, 11(2): 762-774.
- [59] FU D, LU F K, ZHANG X, et al. Quantitative chemical imaging with multiplex stimulated Raman scattering microscopy[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2012, 134(8): 3623-3626.
- [60] OH S E, LEE C H, YANG W L, et al. Protein and lipid mass concentration measurement in tissues by stimulated Raman scattering microscopy[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2022, 119(17): e2117938119.
- [61] GARNER R M, MOLINES A T, THERIOT J A, et al. Vast heterogeneity in cytoplasmic diffusion rates revealed by nanorheology and Doppelgänger simulations[J]. *Biophysical Journal*, 2023, 122(5): 767-783.
- [62] HUANG W Y C, CHENG X R, FERRELL J E JR. Cytoplasmic organization promotes protein diffusion in *Xenopus* extracts[J]. *Nature Communications*, 2022, 13(1): 5599.
- [63] PHILLIPS R, KONDEV J, THERIOT J, et al. Physical biology of the cell[M/OL]. 2nd Edition. New York: Garland Science, 2012. (2012-10-29)[2024-12-01]. <https://doi.org/10.1201/978113411589>.
- [64] DELARUE M, BRITTINGHAM G P, PFEFFER S, et al. mTORC1 controls phase separation and the biophysical properties of the cytoplasm by tuning crowding[J]. *Cell*, 2018, 174(2): 338-349.e20.
- [65] SHU T, MITRA G, ALBERTS J, et al. Mesoscale molecular assembly is favored by the active, crowded cytoplasm[EB/OL]. *bioRxiv*, 2023: 2023.09.19.558334. (2023-09-21)[2024-12-01]. <https://doi.org/10.1101/2023.09.19.558334>.
- [66] KRICHEVSKY O, BONNET G. Fluorescence correlation spectroscopy: the technique and its applications[J]. *Reports on Progress in Physics*, 2002, 65(2): 251-297.
- [67] HUANG W Y C, BOXER S G, FERRELL J E JR. Membrane localization accelerates association under conditions relevant to cellular signaling[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2024, 121(10): e2319491121.
- [68] AXELROD D, KOPPEL D E, SCHLESSINGER J, et al. Mobility measurement by analysis of fluorescence photobleaching recovery kinetics[J]. *Biophysical Journal*, 1976, 16(9): 1055-1069.
- [69] ZHOU H X, RIVAS G, MINTON A P. Macromolecular

- crowding and confinement: biochemical, biophysical, and potential physiological consequences[J]. *Annual Review of Biophysics*, 2008, 37: 375-397.
- [70] WEISS M, ELSNER M, KARTBERG F, et al. Anomalous subdiffusion is a measure for cytoplasmic crowding in living cells[J]. *Biophysical Journal*, 2004, 87(5): 3518-3524.
- [71] RIVAS G, MINTON A P. Macromolecular crowding *in vitro*, *in vivo*, and in between[J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 2016, 41(11): 970-981.
- [72] ALGAR W R, HILDEBRANDT N, VOGEL S S, et al. FRET as a biomolecular research tool: understanding its potential while avoiding pitfalls[J]. *Nature Methods*, 2019, 16(9): 815-829.
- [73] BOERSMA A J, ZUHORN I S, POOLMAN B. A sensor for quantification of macromolecular crowding in living cells[J]. *Nature Methods*, 2015, 12(3): 227-229.
- [74] LIU X L, OH S E, KIRSCHNER M W. The uniformity and stability of cellular mass density in mammalian cell culture[J]. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2022, 10: 1017499.
- [75] PLANTE S, MOON K M, LEMIEUX P, et al. Breaking spore dormancy in budding yeast transforms the cytoplasm and the solubility of the proteome[J]. *PLoS Biology*, 2023, 21(4): e3002042.
- [76] SHARMA R, AGARWAL A. Spermatogenesis: an overview [M/OL]/ZINI A, AGARWAL A. *Sperm chromatin*. New York: Springer New York, 2011: 19-44. (2011-06-30)[2024-12-01]. [https://doi.org/10.1007/978-1-4419-6857-9\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-6857-9_2).
- [77] MAURER F, JOHN T, MAKHRO A, et al. Continuous percoll gradient centrifugation of erythrocytes-explanation of cellular bands and compromised age separation[J]. *Cells*, 2022, 11(8): 1296.
- [78] COOPER K L, OH S E, SUNG Y J, et al. Multiple phases of chondrocyte enlargement underlie differences in skeletal proportions[J]. *Nature*, 2013, 495(7441): 375-378.
- [79] NEUROHR G E, TERRY R L, LENGEFELD J, et al. Excessive cell growth causes cytoplasm dilution and contributes to senescence [J]. *Cell*, 2019, 176(5): 1083-1097.e18.
- [80] MANOHAR S, ESTRADA M E, ULIANA F, et al. Genome homeostasis defects drive enlarged cells into senescence[J]. *Molecular Cell*, 2023, 83(22): 4032-4046.e6.
- [81] MIETTINEN T P, KANG J H, YANG L F, et al. Mammalian cell growth dynamics in mitosis[J]. *eLife*, 2019, 8: e44700.
- [82] ZHURINSKY J, LEONHARD K, WATT S, et al. A coordinated global control over cellular transcription[J]. *Current Biology*, 2010, 20(22): 2010-2015.
- [83] SWAFFER M P, MARINOV G K, ZHENG H, et al. RNA polymerase II dynamics and mRNA stability feedback scale mRNA amounts with cell size[J]. *Cell*, 2023, 186(24): 5254-5268.e26.
- [84] CHEN Y P, ZHAO G, ZAHUMENSKY J, et al. Differential scaling of gene expression with cell size may explain size control in budding yeast[J]. *Molecular Cell*, 2020, 78(2): 359-370.e6.
- [85] LANZ M C, ZATULOVSKIY E, SWAFFER M P, et al. Increasing cell size remodels the proteome and promotes senescence[J]. *Molecular Cell*, 2022, 82(17): 3255-3269.e8.
- [86] BRANGWYNNE C P, ECKMANN C R, COURSON D S, et al. Germline P granules are liquid droplets that localize by controlled dissolution/condensation[J]. *Science*, 2009, 324(5935): 1729-1732.
- [87] MOLLIEUX A, TEMIROV J, LEE J H, et al. Phase separation by low complexity domains promotes stress granule assembly and drives pathological fibrillization[J]. *Cell*, 2015, 163(1): 123-133.
- [88] LUO Y, NA Z K, SLAVOFF S A. P-bodies: composition, properties, and functions[J]. *Biochemistry*, 2018, 57(17): 2424-2431.
- [89] LAFONTAINE D L J, RIBACK J A, BASCETIN R, et al. The nucleolus as a multiphase liquid condensate[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2021, 22(3): 165-182.
- [90] HE J N, HUO X R, PEI G F, et al. Dual-role transcription factors stabilize intermediate expression levels[J]. *Cell*, 2024, 187(11): 2746-2766.e25.
- [91] CHEN Y P, FERRELL J E JR. *C. elegans* colony formation as a condensation phenomenon[J]. *Nature Communications*, 2021, 12(1): 4947.
- [92] ALBERTI S, HYMAN A A. Biomolecular condensates at the nexus of cellular stress, protein aggregation disease and ageing[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2021, 22(3): 196-213.
- [93] MINTON A P. The effect of volume occupancy upon the thermodynamic activity of proteins: some biochemical consequences[J]. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 1983, 55(2): 119-140.
- [94] KLOSIN A, OLTSCHE F, HARMON T, et al. Phase separation provides a mechanism to reduce noise in cells[J]. *Science*, 2020, 367(6476): 464-468.
- [95] LUBY - PHELPS K. Cytoarchitecture and physical properties of cytoplasm: volume, viscosity, diffusion, intracellular surface area [M/OL]/International review of cytology: microcompartmentation and phase separation in cytoplasm. New York: Academic Press, 1999(192): 189-221[2024-12-01]. [https://doi.org/10.1016/S0074-7696\(08\)60527-6](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(08)60527-6).
- [96] MINTON A P. Influence of excluded volume upon macromolecular structure and associations in "crowded" media [J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 1997, 8(1): 65-69.
- [97] HU Z, CHEN K F, XIA Z, et al. Nucleosome loss leads to global transcriptional up-regulation and genomic instability during yeast aging[J]. *Genes & Development*, 2014, 28(4): 396-408.
- [98] NEUROHR G E, TERRY R L, SANDIKCI A, et al. Dereglulation of the G1/S-phase transition is the proximal cause of mortality in old yeast mother cells[J]. *Genes & Development*, 2018, 32(15-16): 1075-1084.
- [99] CHEN Y P, FUTCHER B. Scaling gene expression for cell size control and senescence in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Current Genetics*, 2021, 67(1): 41-47.
- [100] AOKI K, TAKAHASHI K, KAIZU K, et al. A quantitative model of ERK MAP kinase phosphorylation in crowded media [J]. *Scientific Reports*, 2013, 3: 1541.

- [101] HUANG J H, CHEN Y P, HUANG W Y C, et al. Robust trigger wave speed in *Xenopus* cytoplasmic extracts[J]. Nature Communications, 2024, 15(1): 5782.
- [102] JIANG H D, SONG C Y, CHEN C C, et al. Quantitative 3D imaging of whole, unstained cells by using X-ray diffraction microscopy[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2010, 107(25): 11234-11239.
- [103] BROUHARD G J, RICE L M. Microtubule dynamics: an interplay of biochemistry and mechanics[J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2018, 19(7): 451-463.
- [104] MIESCH J, WIMBISH R T, VELLUZ M C, et al. Phase separation of +TIP networks regulates microtubule dynamics [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2023, 120(35): e2301457120.
- [105] FULTON A B. How crowded is the cytoplasm?[J]. Cell, 1982, 30(2): 345-347.
- [106] CAMERON I L, KANAL K M, KEENER C R, et al. A mechanistic view of the non-ideal osmotic and motional behavior of intracellular water[J]. Cell Biology International, 1997, 21(2): 99-113.
- [107] BAR-EVEN A, NOOR E, SAVIR Y, et al. The moderately efficient enzyme: evolutionary and physicochemical trends shaping enzyme parameters[J]. Biochemistry, 2011, 50(21): 4402-4410.
- [108] MAVROVOUNIOTIS M L, STEPHANOPOULOS G, STEPHANOPOULOS G. Estimation of upper bounds for the rates of enzymatic reactions[J]. Chemical Engineering Communications, 1990, 93(1): 211-236.
- [109] STEITZ T A, SHOHAM M, BENNETT W S JR. Structural dynamics of yeast hexokinase during catalysis[J]. Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences, 1981, 293(1063): 43-52.
- [110] KOSHLAND D E JR. The key-lock theory and the induced fit theory[J]. Angewandte Chemie International Edition in English, 1995, 33(23-24): 2375-2378.
- [111] HOPFIELD J J. Kinetic proofreading: a new mechanism for reducing errors in biosynthetic processes requiring high specificity [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1974, 71(10): 4135-4139.
- [112] CHOI A A, XU K. Single-molecule diffusivity quantification unveils ubiquitous net charge-driven protein-protein interaction [J]. Journal of the American Chemical Society, 2024, 146(15): 10973-10978.
- [113] CHOI A A, ZHOU C Y, TABO A, et al. Single-molecule diffusivity quantification in *Xenopus* egg extracts elucidates physicochemical properties of the cytoplasm[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2024, 121(50): e2411402121.
- [114] AN S, KUMAR R, SHEETS E D, et al. Reversible compartmentalization of *de novo* purine biosynthetic complexes in living cells[J]. Science, 2008, 320(5872): 103-106.
- [115] CHAUDHURI P K, LOW B C, LIM C T. Mechanobiology of tumor growth[J]. Chemical Reviews, 2018, 118(14): 6499-6515.
- [116] ALIBERT C, GOUD B, MANNEVILLE J B. Are cancer cells really softer than normal cells?[J]. Biology of the Cell, 2017, 109(5): 167-189.
- [117] DESSARD M, MANNEVILLE J B, BERRET J F. Cytoplasmic viscosity is a potential biomarker for metastatic breast cancer cells [J]. Nanoscale Advances, 2024, 6(6): 1727-1738.



**通讯作者：**陈于平(1990—)，男，副研究员，博士生导师。研究方向为细胞质稳态调控。

E-mail: yp.chen3@siat.ac.cn



**第一作者：**李倩(1998—)，女，科研助理。研究方向为细胞质浓度稳态调控。

E-mail: qian.li2@siat.ac.cn