

课程： 细胞生物学

任课教师： 吴缅 (1/2) 姚雪彪 (1/2)

TAs: 张云娇 yunjiaoz@mail.ustc.edu.cn 13485696768

张 浩 wentian@mail.ustc.edu.cn 15855117019

总学时 60 学时

考试方式 闭卷

期末 (75%)

中间两次 (10% X2)

无故缺课3次 (5%)

- 绪论
- 细胞的基本知识
- 细胞质膜与跨膜运输
- 细胞核与染色体
- 细胞增殖与调控
- 交配型转换
- 细胞凋亡与细胞自噬

细胞生物学的主要教科书

★ 细胞生物学.

翟中和, 王喜忠, 丁明孝. 高等教育出版社. 第3版. 2008

细胞生物学.

欧阳五庆. 高等教育出版社. 第1版. 2007

细胞生物学.

何奕騏, 曾宪录. 科学出版社. 第1版. 2009

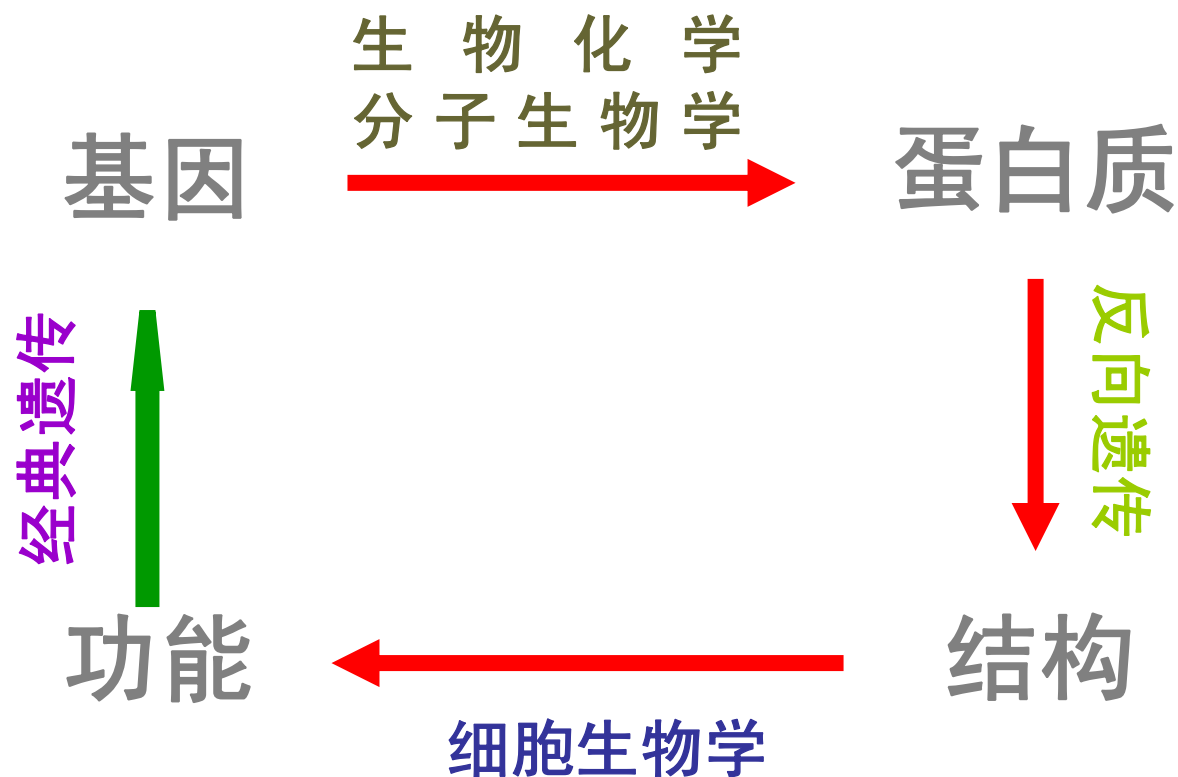
细胞生物学.

潘大仁. 科学出版社. 第1版. 2007

★ **Molecular Cell Biology** Lodish *et al.* 5th ed. Freeman. 2004

细胞生物学定义

细胞生物学是生命科学中发展迅速的重要基础学科之一。它是从细胞的**显微**、**亚显微**和**分子**3个水平对细胞的各种生命活动开展研究的学科。细胞生物学将细胞看作是生命活动的基本单位，在3个不同水平上把结构和功能结合起来，以动态的观点来探索细胞的各种生命活动的具体反应过程。对细胞生物学的深入研究，可以使人们更加精确地了解生物体的**生长、发育、分化、繁殖、运动、遗传、变异、衰老和死亡**等基本生命现象。



生物学
(Cytology)

宏观/整体
结构解剖
生理功能

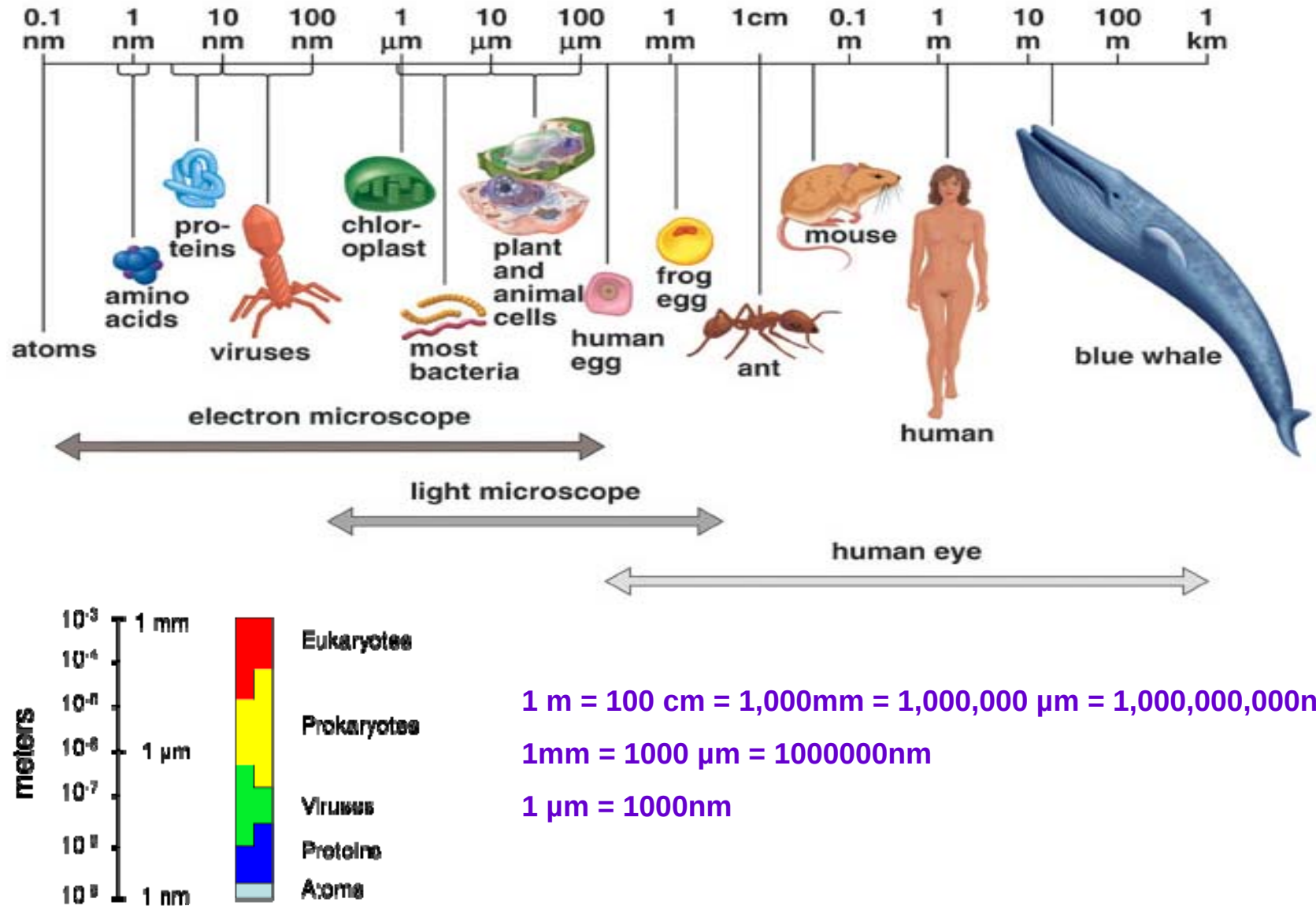
细胞生物学
(Cell Biology)

细胞水平
细胞/亚细胞结构
与细胞/亚细胞结构
之间的关系和功能

分子生物学
(Molecular Biology)

分子水平
不着重亚细胞
结构而是研究
亚细胞结构的分子基础

Size of Living Things



细胞生物学主要研究的内容：

细胞膜和细胞器结构与功能

细胞骨架体系

细胞核与基因组活动

细胞增殖, 分化, 衰老与凋亡的调控

细胞信号转导

干细胞及其应用

细胞的起源与进化

细胞工程

重点领域：

- 1， 染色体DNA与蛋白质相互作用
- 2， 细胞增殖、分化、调亡、衰老及其调控
- 3， 细胞信号转导
- 4， 细胞结构体系的装配
- 5， 蛋白质与蛋白质相互作用
- 6， 细胞内的网络调控

细胞生物学研究的一些热点问题：

功能基因组学

细胞衰老与凋亡

蛋白质组学

真核基因转录调控

干细胞研究

细胞生长与分化

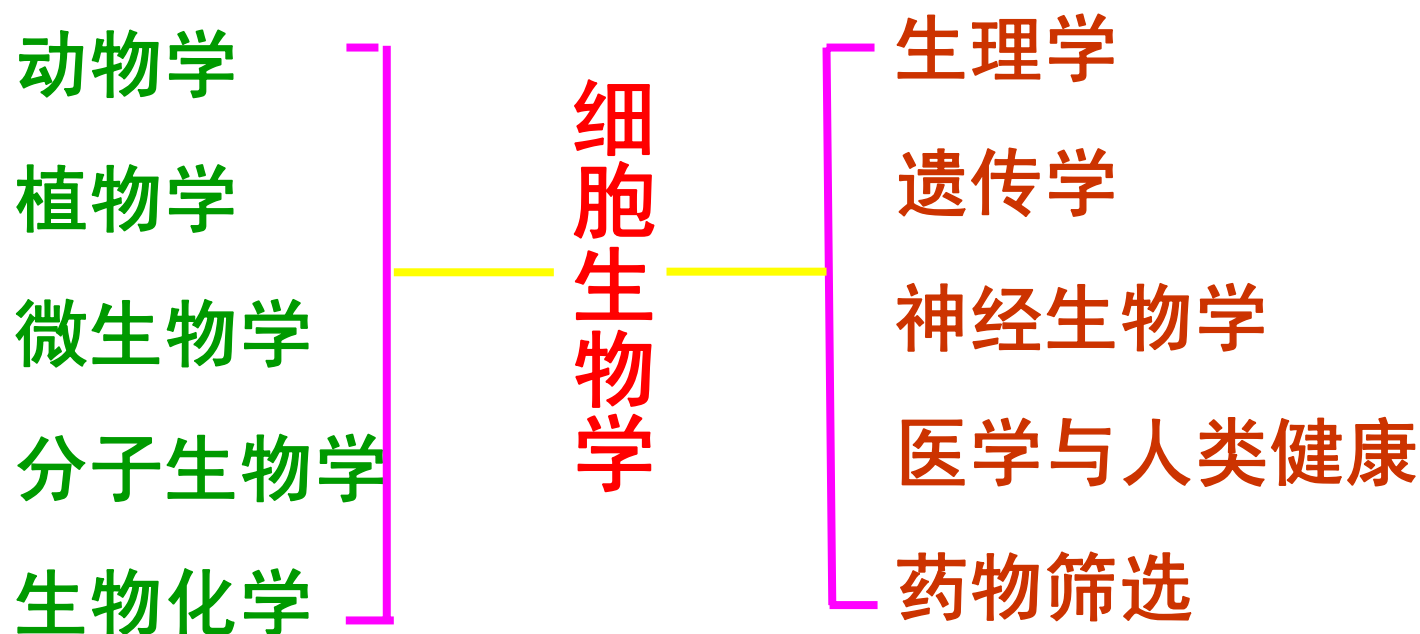
细胞的信号转导

细胞免疫和分子免疫

细胞周期调控

细胞粘附与细胞通讯

细胞生物学与其它学科的联系：



细胞生物学学科的形成与发展

20世纪50年代以来，电镜下超微结构的认识；生物化学的渗透，导致对功能的进一步了解。 结构—功能

20世纪80年代以来，分子生物学的渗透，分子细胞生物学的方向发展。细胞内生命活动的规律和机制

1953年DNA双螺旋结构的提出，1958年生物学中心法则的建立明确了细胞最本质问题是自我复制（self-replication），这些科学的发现把当时从细胞形态结构研究而引申出的“cytology - 细胞学”推向了一个更高的阶段，“细胞生物学”应运而生。几十年来、特别是近些年来，细胞生物学这门相对年轻的学科得到了极大的发展。

研究现状(1)

细胞里的生命活动主要体现为3个方面：

- ① 物质的转化，即旧物质的分解，新物质的合成。
- ② 能量的转换和流动，包括从光能转换为化学能和能量的释放与利用。
- ③ 信息的传递：

遗传信息的传递：DNA $\longrightarrow$ DNA （基因的复制）

DNA $\longrightarrow$ RNA $\longrightarrow$ 蛋白质（基因的表达）

生长发育的传递：细胞外（第一信号） $\longrightarrow$ 细胞膜（受体）
 $\longrightarrow$ 细胞质（第二信号） $\longrightarrow$ 某一化学反应或
细胞核（相应的基因被调节）。

- 神经传导也是一个信息传递过程，即接受信息（感官） 传递信息（神经）
 贮存信息（脑）  利用信息（产生反应）。
- 细胞的生命活动就是物质转化、能量流动和信息传递的统一体。

研究现状(2)

当前细胞生物学的发展有**3**个方面：

遗传和发育的关系—真核细胞发育过程中基因表达的调控；

实验方法上的突破—重组DNA技术和转基因动植物的研究等；

“反向发生遗传学”—把改造过的基因注入卵中或用基因靶

（gene targeting）技术替换某基因，研究控测其功能。

真核生物基因组结构的测定、发育调控主基因及专一同源异型基因的发现、细胞生长和编程死亡的研究是目前细胞生物学的重要进展。

细胞生物学未来的理论问题将是围绕遗传、发育和进化的统一，“遗传语言”的破译，“拓扑生物学”和“细胞社会学”的研究。

细胞生物学发展的轨迹：形态—结构—功能—调控

过去20余年细胞生物学发展的两次大飞跃：

1、在分子水平上研究细胞学的问题：

2、从分子水平研究向细胞水平回归：

Genomics, Proteomics

对未来的展望

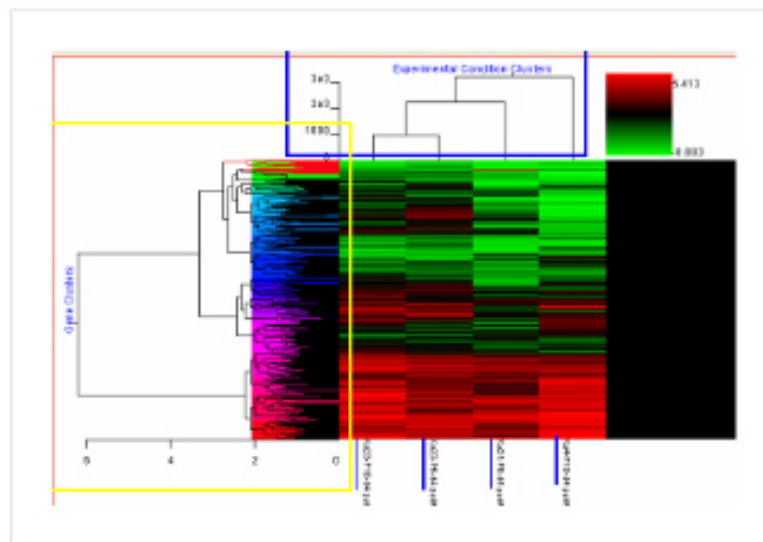
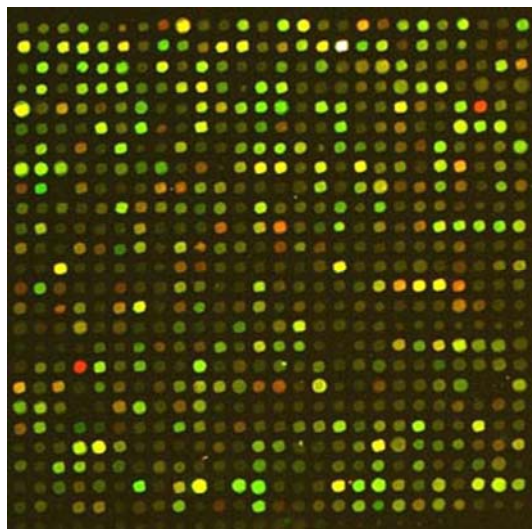
人类经历了漫长的采猎文明后，约在一万年前进入**农业经济**时代，18世纪60年代，英国率先进入**工业经济时代**，20 世纪50年代美国最早走完工业经济的历程，进入**信息时代**。据专家估计这一经济形态的“寿命”为75~80年，本世纪20年代将渐渐失去活力，届时人类迎接下一个经济时代，即**生物经济时代**的到来。

1. **基因克隆和重组技术日趋成熟**，在商业目的的驱使下，人类将大量的改造物种，开始了偏离自然进化规律的二次“创世纪”。
2. **人类基因组计划完成，进入以基因功能为主要研究内容的后人类基因组计划**。人类将解读自身大约10万个基因的含义，到时危害人类健康的5000多种遗传病，以及与遗传密切相关的癌症、心血管疾病、关节炎、糖尿病、高血压、精神病等，都可以得到早期诊断和治疗。基因工程药物将得到广泛的应用，目前人工干扰素售价高达440亿美元/Kg。

3. **克隆技术和干细胞定向分化技术**取得突破，人工创建的组织，器官将用于医学治疗的目的。从无精密计划与碰运气的育种方式，变为更加有效更容易控制。在下世纪更多的重要的经济动物和植物将被克隆，濒于绝灭的珍世稀宝如大熊猫等，有希望通过克隆技术的应用得到更快的繁衍，从而做好保护工作，免于从地球上绝灭。
4. 煤（350年）与石油天然气（30-50年）资源的枯竭指日可待，对**光合作用机理的研究**，使人工光解水成为可能。

印度人**马诺克**，仅靠水和太阳生活：“植物人”

5. **基因武器**可能成为另一种足以令人类毁灭的武器。
6. **生物芯片技术**广泛应用于科研、医疗、农业、食品、环境保护、司法鉴定等领域。计算机和网络系统为生物经济的遗传信息管理和交流提供了方便。



7. 在理论上将有重大的发展

生命的起源、原始细胞的产生、物种的形成与进化、新生命的合成等(克雷格·文特)一直为人们关心并为之奋斗而尚未解决的理论问题,在21 世纪中叶时,将会取得重大的突破,

8. 基因治疗将会以常规的方式服务于广大人民

在人类现已发现的3000 多种疾病中,大多数都直接和间接与遗传有关,就是某些传染病,外界环境引起的病,也与遗传有某些关联. 基因治疗就是将目的基因导入特定的组织细胞内,进行适时的表达来治疗与改善自身的目的. 应用基因治疗还能减弱疾病的锐气,改善人们的记忆、感觉和协调能力,甚至能对老年人已老化的脑还能得到部分改善.

细胞生物学的主要学术刊物

Cell
Science
Nature

EMBO journal

PNAS (Proceedings of National Academy of Science)

Journal of Cell Biology

Neuron

Annual Review of

Trends in Cell Biology

Plant Cell

Molecular and Cellular Biology

Molecular Biology of the Cell

Structure

Current Opinion in Structure Biology

Journal of Cell Science

Cell Death and Differentiation

Cell Growth and Differentiation

Experimental Cell Research

Journal of Cellular Biochemistry

Journal of Cellular Physiology

国内主要学术刊物

《中国科学》

《科学通报》

《实验生物学报》

《细胞生物学杂志》

Cell Research

《遗传学报》

《解剖学报》

《微生物学报》

《植物学报》

《动物学报》

细胞生物学的主要学术组织

国际细胞生物学联盟

亚太地区细胞生物学

海峡两岸细胞生物学

中国细胞生物学会

细胞生物学的发展简史

1) 1604年，荷兰眼镜制造商詹森（**Hans Janssen**）发明了世界上第一台显微镜，人类观察微观世界成为可能。

2) 英国物理学家胡克（**Robert Hooke**）设计并改善了显微镜的光源系统，制造出复合式显微镜（X40-140），首次描述了软木塞的显微结构，第一次观察到了植物的细胞，更确切地说看到了软木塞的细胞壁结构。他首次提出“**cella**”（拉丁语“小室”。因为软木塞里的小室让他想起了修道院僧侣所住的小房间）。其后，生物学家就用“**cell**”一词来描述生物体的基本结构单位，一般认为

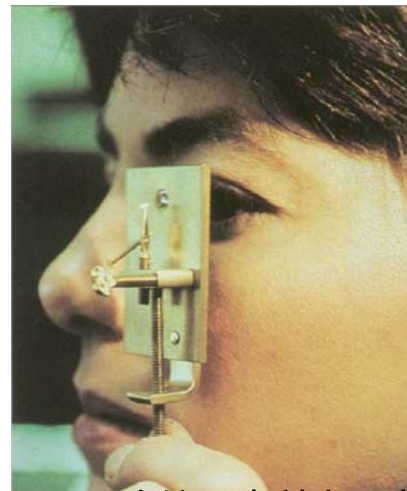
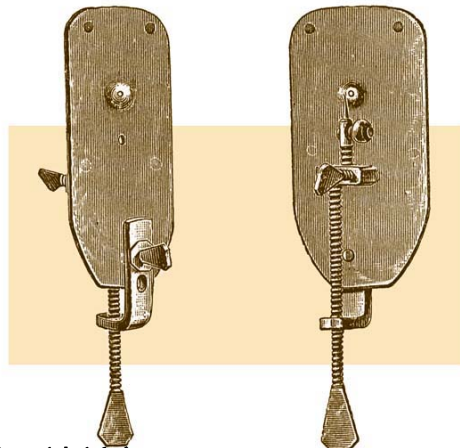
1665年发现了“**细胞**”。



Figure 1.1 The discovery of cells. Microscope used by Robert Hooke, with lamp and condensor for illumination of the object. (Inset) Hooke's drawing of a thin slice of cork, showing the honeycomb-like network of "cells." (From *The Granger Collection*; (inset) *Corbis-Bettmann*.)



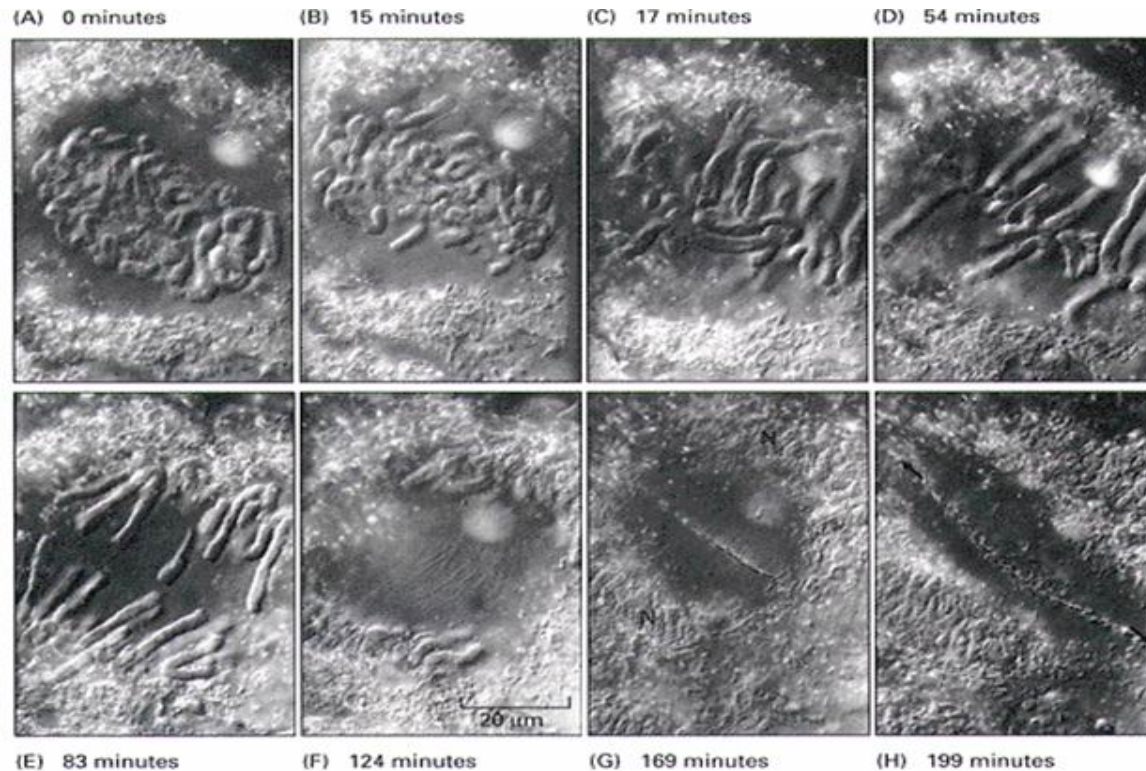
3) 1674年，荷兰布商列文虎克（Antonie van Leeuwenhoek）为了检查布的质量，亲自磨制透镜，装配了高倍显微镜（300倍左右）。同时，他观察到了血细胞、池塘水滴中的绿藻、原生动物、人类和哺乳动物活的精子，这是人类第一次观察到完整的活细胞。



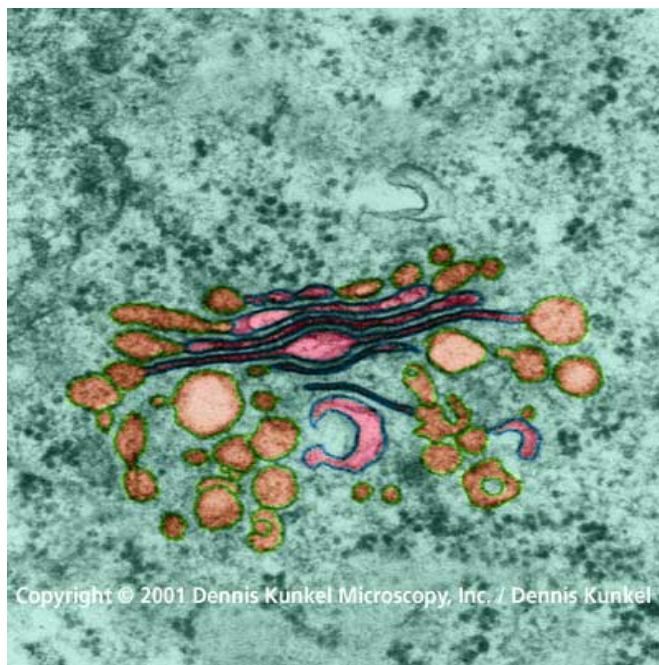
Large Student Microscope made by Charles Chevalier 1840



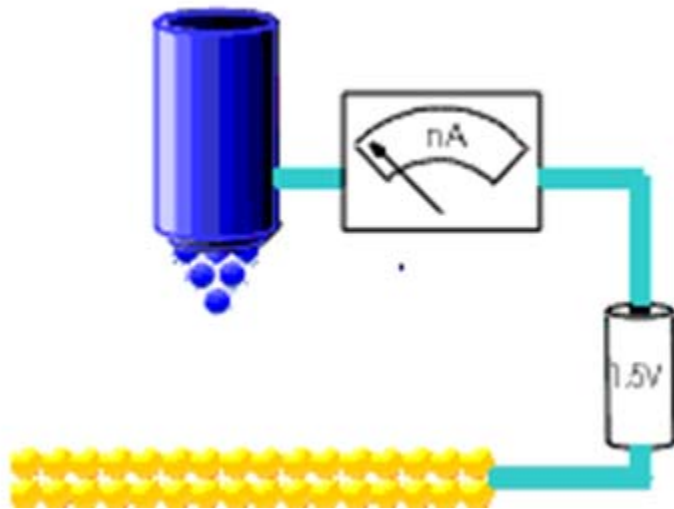
1932年，荷兰籍德国人F. Zernike成功设计了**相差显微镜**（phase contrast microscope），并因此获1953年诺贝尔物理奖。**这种显微镜最大的特点是可以观察未经染色的标本和活细胞**



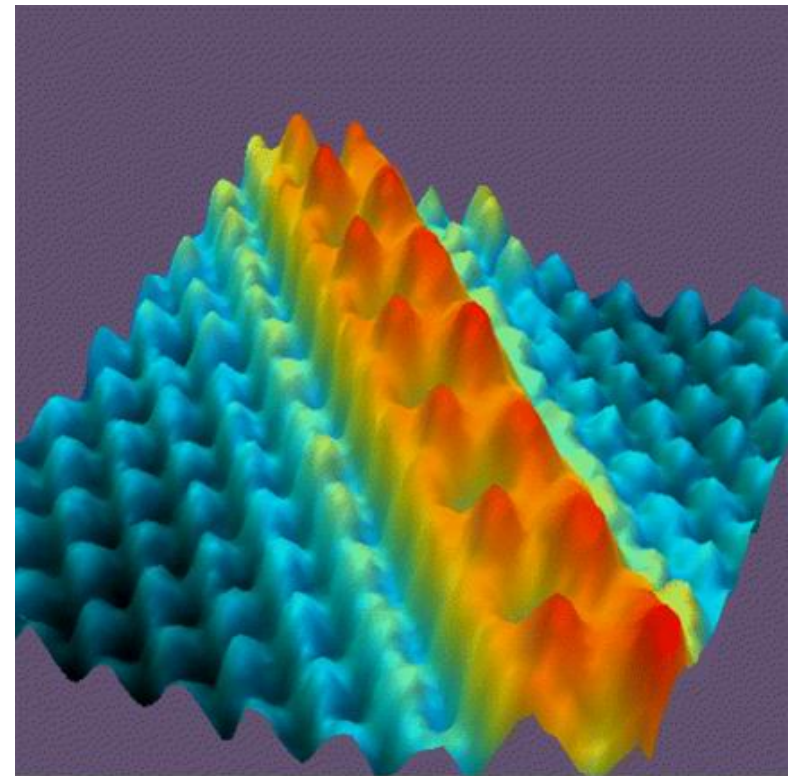
1932年，德国人M. Knoll 和 E. Ruska发明**电镜**，1940年，美、德制造出分辨力为0.2nm的商品电镜。



1981年，瑞士人G.Binnig和H.Rohrer在IBM苏黎世实验中心（Zurich Research Center）发明了**扫描隧道显微镜**而与电镜发明者Ruska同获1986年度的诺贝尔物理学奖。



Cs atoms (red) on the GaAs surface (blue).



4) 1832年，比利时人Charles J. Dumortier观察了藻类的细胞分裂，并认为细胞来源于原来存在的细胞



5) 1833年，苏格兰植物学家**Robert Brown**首次观察到植物细胞核；1835年，法国人**F. Dujardin (Félix Dujardin)**观察动物活细胞时发现细胞内充满生活物质（后来被称为原生质，**protoplasm**），即细胞是“活”的；1835年，德国人**Hugo von Mohl**仔细观察了植物的细胞分裂，发现植物根尖和芽尖细胞分裂活跃。

6) 1838年，德国植物学家施来登（Matthias J. Schleideng）发表了《植物发生论》；1839年，德国动物学家施旺（Theodor Schwann）发表了《关于动植物的结构和生长的一致性的显微研究》，提出了细胞学说的两条最重要的基本原理：①地球上的生物都是由细胞构成的；②所有的生活细胞在结构上都是类似的。大家公认二位共同提出了细胞学说（Cell theory）。恩格斯对细胞学说给予极高评价，把它与进化论和能量守恒定律（热力学第一定律，即，能量守恒定律是一个整个科学的普适定律之一。它是有迈耶、焦耳、赫尔姆霍茨等人在1840年~1851年之间建立的）并列为19世纪的三大发明。1858年，德国医生和病理学家魏尔肖（Rudolf Virchow）补充了细胞学说的第三条原理：所有的细胞都是来自已有细胞的分裂，即细胞来自细胞。

- 7) 1839年，捷克人Pukinye JE用“protoplast”这一术语描述细胞物质，“**protoplast** ([ancient Greek](#))”为神学用语，指人类始祖亚当。
- 8) 1841年，波兰人Remak R发现鸡胚血细胞的直接分裂（**无丝分裂**）。
- 9) 1842年，瑞士植物学家Karl Wilhelm von Nägeli首先观察到染色体。随后，比利时科学家Edouard van Beneden在蛔虫中也观察到染色体。40年后，德国人H. von Waldeyer 因这一结构可被碱性燃料**龙胆紫**和**醋酸洋红**着色而定名为染色体（**chromosome**）。

10) 染色体在动物细胞中的变化随后被德国的细胞学家 Walther Flemming 详细地阐述，1882 年他发现了细胞的有丝分裂。1956 年，蒋有兴 (Tjio JH) (美籍华人) 利用徐道觉发明的低渗处理技术证实了人的体细胞有 46 条染色体，而不是 48 条。



Copyright © 2006 Nature Publishing Group
Nature Reviews | Genetics

当明确了染色体就是遗传基因的载体之后，遗传学家们最感兴趣的问题之一就是人类到底有多少条染色体。但由于当时染色体制备技术的限制，在显微镜下许多染色体重叠在一起难以分辨，所以学者们所报告的人类染色体数目各不相同。

1923年，美国遗传学权威、得克萨斯大学校长Paint（1889—1969）提出人体的染色体数目为 $2n=48$ ，这被后来作为一条定论充斥于各种教科书和百科全书。1955年，华裔学者蒋有兴与瑞典学者Levan通过实验确认了人体的46条染色体，并毫不犹豫地、勇敢地向Paint的“定论”挑战，于第2年公布了这一发现。很快获得了众口一词的赞同。至此，关于人类染色体数目的探索大功告成。于是，46条人体染色体的发现权便属于这位敢于向权威挑战的华裔科学家，而不属于在他之前的发现者。（蒋有兴因此荣获了美国肯尼迪国际奖）。

徐道觉（1917—2003），浙江绍兴人。美籍华裔生物学家，现代细胞遗传学大师，人类和哺乳动物细胞遗传学的开拓者。1936—1941年就读于国立浙江大学农学院，尔后在**遗传学家谈家桢**指导下获理科硕士学位后留校任教，1948年赴美，于1951年在美国得克萨斯大学获哲学博士学位，随后在得克萨斯大学医学院从事博士后研究工作，历任得克萨斯大学助理教授、得克萨斯大学安德森医院和肿瘤研究所（后改名为安德森癌症中心）实验细胞学研究室（后改名为细胞生物学研究室）主任、副教授、教授，1980年被聘为该中心第一位首席教授。徐道觉一生的学术成就硕果累累，发表了近400篇论文，**徐道觉于1973—1974年被选为美国细胞生物学会主席。**

20世纪50年代初，徐道觉在美国得克萨斯大学取得博士学位以后，鉴于当时的处境，只得抛弃自己拿手的果蝇遗传学研究，经White教授推荐到Pomerat的实验室从事研究培养中的人和哺乳类细胞的核现象。他先用了半年的时间学习如何建立培养物，拍摄相差显微镜照片、缩时电影等技术。但当他试图观察细胞的染色体时，却发现它们拥挤在一起，如同在组织切片中一样，是没有指望“突破”这一难关的。尽管他喜欢这个实验室，却又怀念起过去研究的果蝇，甚至想再回去搞果蝇遗传学。

徐道觉曾师从我国最著名的遗传学家谈家桢先生，被欣赏为最有出息的学生。因此，事业的停顿让他感到十分失望和沮丧，但就在此时，“奇迹”发生了。一天晚上，在一些治疗性流产的胚胎组织（皮肤和脾）培养标本中，他按照常规操作步骤用盐溶液冲洗细胞时，竟然在显微镜下看到了铺展很好的染色体！他简直不敢相信自己的眼睛，到实验室外的咖啡馆里喝了一杯咖啡，清醒头脑之后再回到实验桌上，仍然观察到了同样的现象。他试图研究另一些标本并建立更多的培养物，但再也未得到分散得那样好的标本。花了大约3个月时间力图从各个因素的试验中寻找其“奥秘”——包括培养基的成分、培养条件、培养温度、秋水仙素、固定和染色等。直到1952年4月**当他改变平衡盐溶液的张力时才获得成功。**

可以肯定，在3个月之前出现的“奇迹”一定是实验室中的某一位技术人员在配制平衡盐溶液时读错了刻度标尺以致配为低渗液的缘故，使得徐道觉成功地将低渗透液技术运用到人体染色体的研究上，使染色体得以很好地铺展，不再重叠，可以清晰地进行观察。遗憾的是，迄今仍不知道这位“女英雄”的姓名，正是这位女士的粗心大意对细胞遗传学的发展做出了意外的“贡献”。由此，徐道觉确认了正确的人类染色体数目： $2n=46$ 。

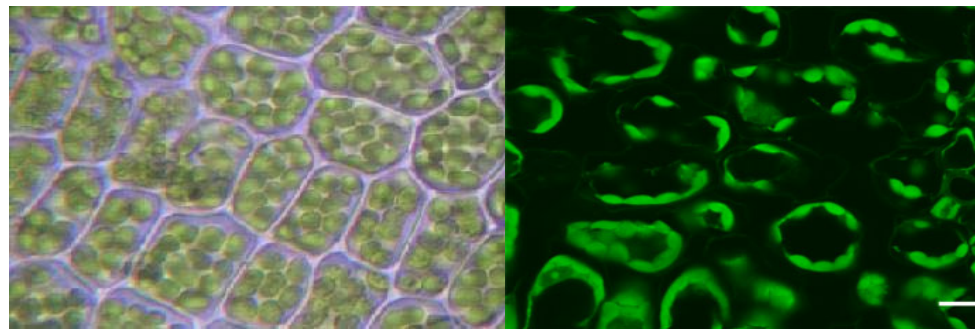
徐道觉 教授



利用低渗液处理染色体标本是人类细胞遗传学和脊椎动物细胞遗传学得以发展的一个重要转折，是染色体研究中不可缺少的一个环节。但由于受到Paint人类48条染色体结论的影响，徐道觉未能确认自己所观察到的46条染色体的事实（他确认了，可是并没有发布），也许是面对众多的权威不敢于发布，也许是认为条件未成熟不肯轻易发布，也许……总之，他终于没有发布…… **遗憾**

11) 1864年，德国人Max Schultze观察到了植物的胞间连丝。

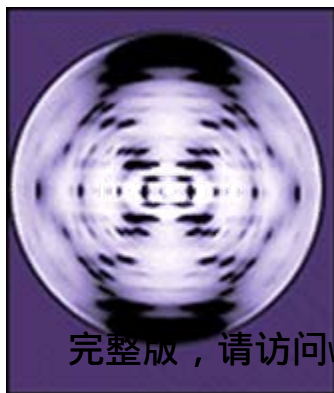
12) 1865年，德国人J. von Schs发现叶绿体。1940年，德国人Kausche GA和Ruska H发表了世界第一张叶绿体的电镜照片。



13) 1866年，奥地利人**Gregor Mendel**发表了对豌豆的杂交试验结果，提出遗传的分离规律和自由组合规律。



14) 1869年，瑞士人**Friedrich Miescher**从脓细胞中分离出核酸DNA，当时命名为“核素”。1937年，**William Astbury**制出了第一张DNA的X射线衍射图，表明DNA有很规则的结构。



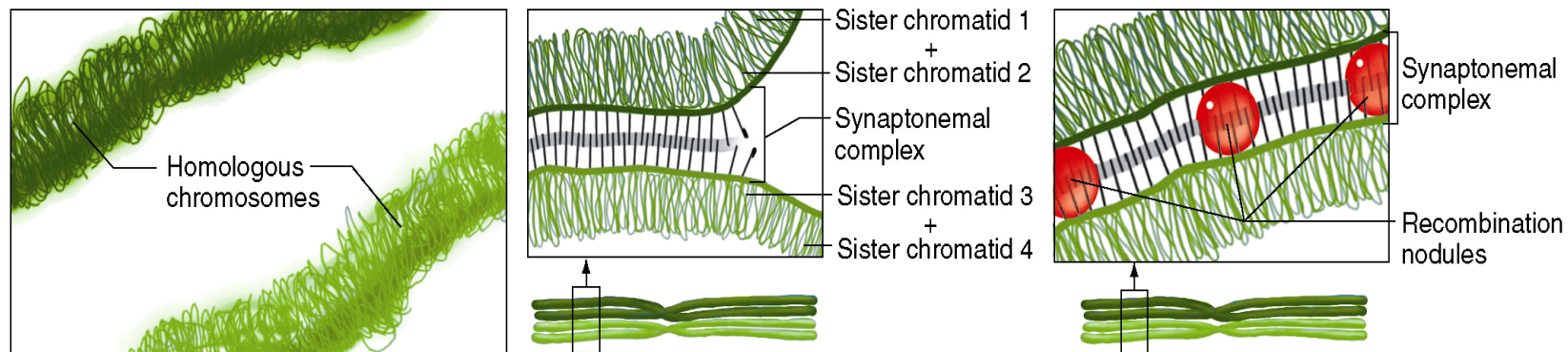
- 15) 1875年，德国人赫特维希（Oscar Hertwig）发现受精卵中两亲本核的合并，1876年，发现海胆**受精现象**，其论文题目为“Observe the Fertilization of a Sea Urchin Egg”；1877年，施特拉斯布格（Strasburger）发现动物的受精现象。



- 16) 1879年，德国人Walther Flemming观察了蝶螈细胞的有丝分裂，于1882年提出了**有丝分裂**（mitosis）术语。1882年，德国人Eduard Strasburger提出了细胞质（cytoplasm）和核质（nucleoplasm）的概念。

17) 德国人Eduard Strasburger在植物细胞中发现有丝分裂，认为有丝分裂的实质是核内丝状物（染色体）的形成及其向两个子细胞的平均分配，动植物的受精实质是父本和母本配子核的融合，提出了Prophase（前期）和Metaphase（中期）的概念。

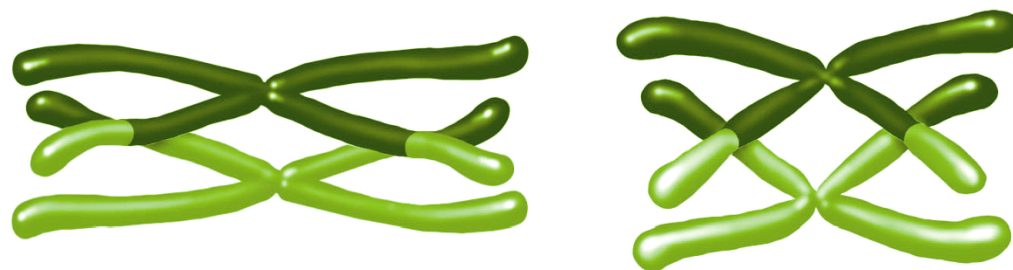
18) 1883年，范·贝内登（Edouard van Beneden）在动物，1886年，施特拉斯布格（Strasburger）在植物中发现了减数分裂现象。1892年，德国人Theodor Boveri和Oscar Hertwig研究了减数分裂的本质，并描述了染色体联会现象。



(a) Leptotene: Threadlike chromosomes begin to condense and thicken, becoming visible as discrete structures. Although the chromosomes have duplicated, the sister chromatids of each chromosome are not yet visible in the microscope.

(b) Zygotene: Chromosomes are clearly visible and begin pairing with homologous chromosomes along the synaptonemal complex to form a bivalent, or tetrad.

(c) Pachytene: Full synapsis of homologues. Recombination nodules appear along the synaptonemal complex.



(d) Diplotene: Bivalent appears to pull apart slightly but remains connected at crossover sites, called chiasmata.

(e) Diakinesis: Further condensation of chromatids. Nonsister chromatids that have exchanged parts by crossing-over remain closely associated at chiasmata.

Prophase of Meiosis

- 19) 1883年，比利时人Edouard van Beneden 证明了马蛔虫*Ascaris megalocephala*配子的染色体数目是体细胞的一半，并且在受精过程中卵子和精子贡献给合子的染色体数目相等。
- 20) 1888年，德国人博费里（Theodor Boveri）在动物细胞中发现了中心体。（中心体一般存在于动物细胞以及低等的植物细胞内，细胞有丝分裂时，中心体产生星射线在细胞分裂中期牵引染色体排列在赤道板，后期即末期将染色体拉向细胞两极，形成两个子细胞，是细胞分裂不可缺少的部分）
- 21) 1884年，德国人Oscar Hertwig和Eduard van Strasburger分别在动物和植物中提出细胞核控制遗传的论断。

22) 1890年，德国人Richard Altmann描述了线粒体的染色方法，他推测线粒体就像细胞的内共生物，并认为线粒体与能量代谢有关。他还于1889年提出了核酸的概念。

23) 1893年，德国人August Weismann提出种质论。魏斯曼于1883 年提出有名的“种质论”。种质论主张生物体由质上根本相异的两部分——种质和体质组成。认为生物体在一生中由于外界环境的影响或器官的用与不用所造成的变化只表现于体质上，而与种质无关，所以后天获得性状不能遗传。认为种质只存在于核内染色质中。

24) 1898年，意大利人Camillo Golgi使用银染法第一次在神经组织中观察到高尔基体。

25) 1900年，孟德尔在34年前发表的遗传法则（分离规律和自由组合规律）被重新发现。



摩尔根, T. H.

- 26) 1908年，美国人摩尔根（Morgan TH）
- 以果蝇*Drosophila melanogaster*为材料开始
- 著名的遗传学实验，1910年提出遗传的染色体
- 理论，1919年发表“遗传本质”（Physical
- Basis of Heredity），1926年发表“**基因学说**”
（**The Theory of the Gene**）。1944年，美国人Oswald Avery、Colin MacLeod和Maclyn McCarty等通过微生物转化试验证明DNA是遗传物质。

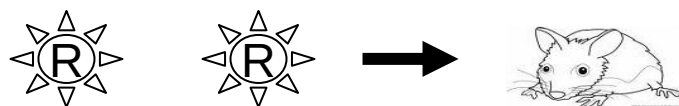
Griffith 肺炎链球菌转化实验

S=Smooth and pathogenic; R=Rough and nonpathogenic

①mouse injected with S cells



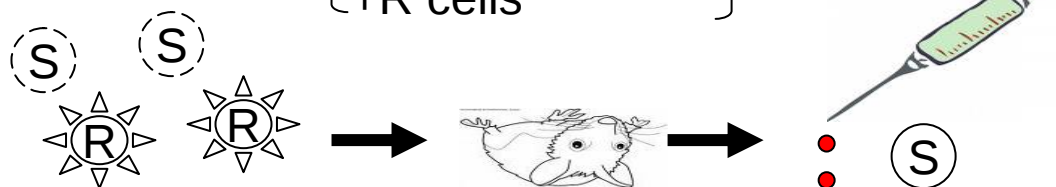
②mouse injected with R cells



③mouse injected with heat-killed S cells

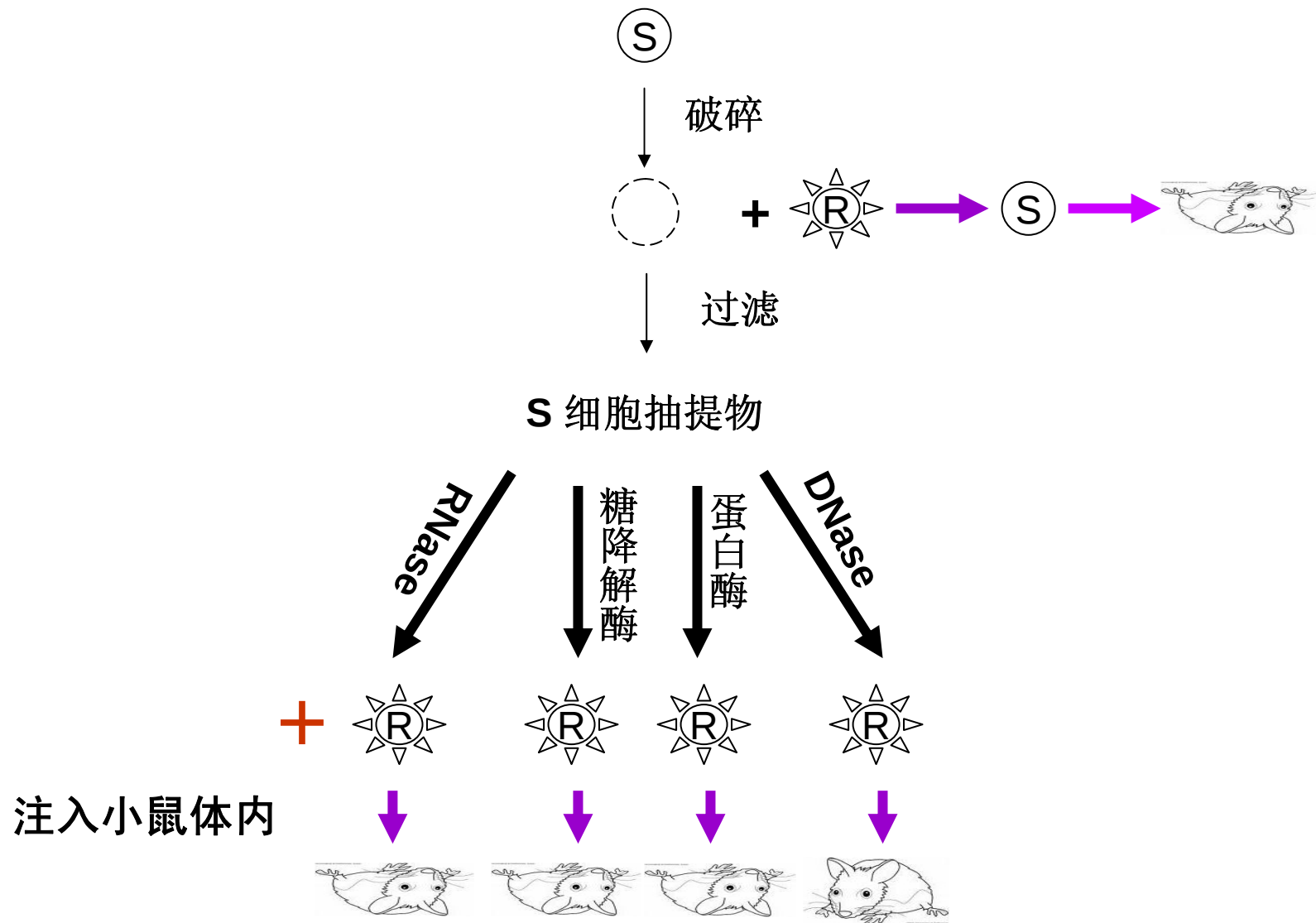


④mouse injected with [heat-killed S cells + R cells]

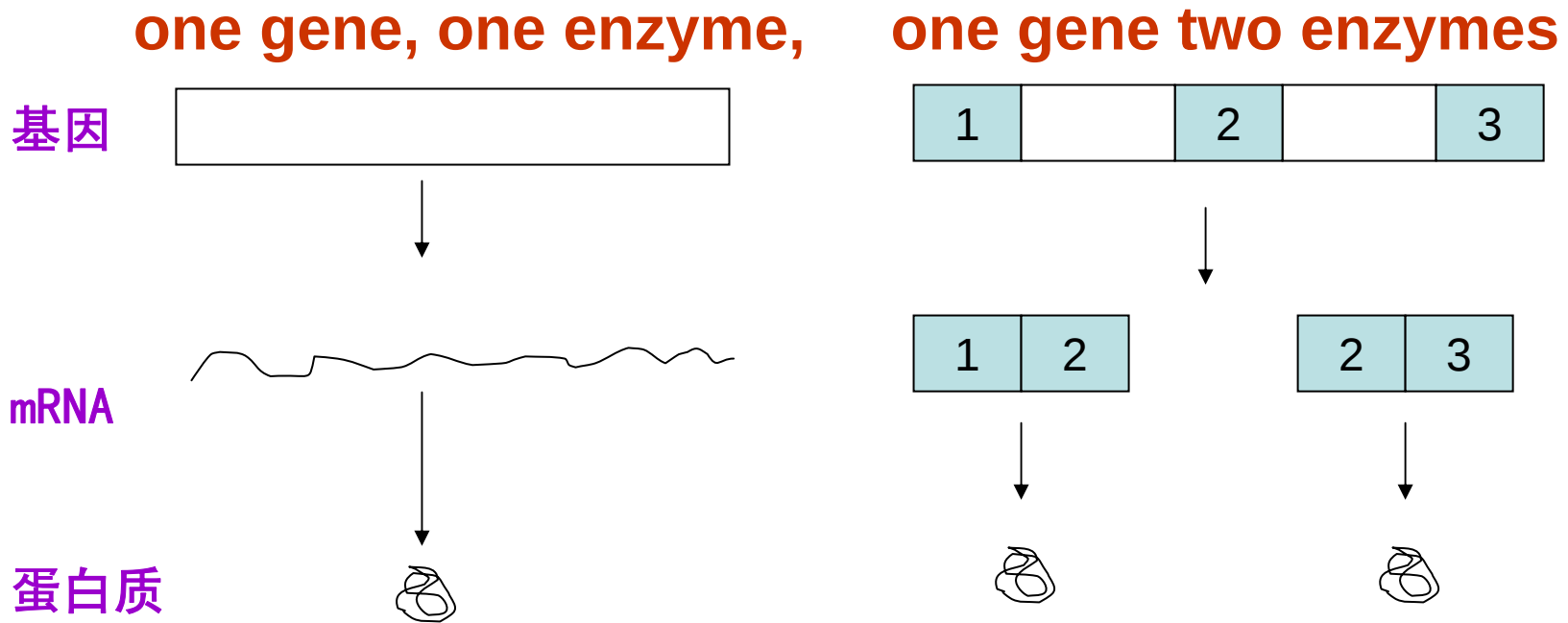


1943年，Oswald Theodore Avery等发现DNA在细菌的感染过程中起了很重要的作用。

DNA作为遗传物质的作用是Alfred Hershey和Martha Chase用T2噬菌体表明了DNA在遗传中的作用。



- 27) 1941年，美国人George W. Beadle 和Edward L. Tatum提出一个基因一个酶的概念（两人因此共同获得1958年的诺贝尔生理学或医学奖）。

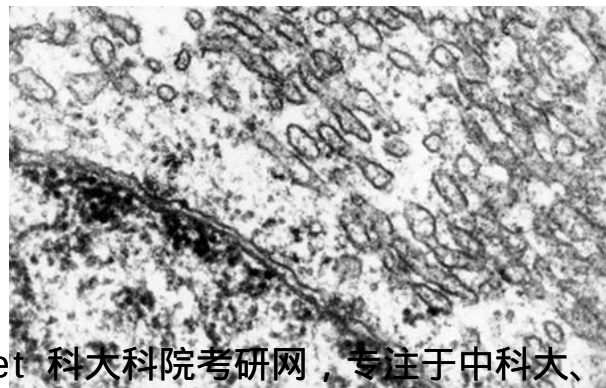


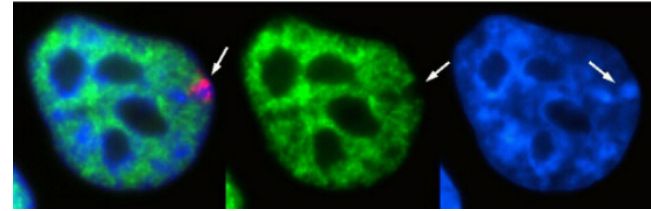
- 28) 1910年，德国人Albrecht Kossel获得诺贝尔生理学或医学奖，他首先分离出腺嘌呤、胸腺嘧啶和组氨酸。

29) 1935年，美国人Wendell M. Stanley首次得到烟草花叶病毒的结晶体。



30) 1945年，美国人Keith R. Porter、Albert Claude和Ernest F. Fullam发现小鼠成纤维细胞中的内质网。





31) 1949年，加拿大人Murray Llewellyn Barr发现了在正常的雌性体细胞细胞核中一条X染色体凝缩失活形成的巴氏小体（Barr body）。

32) 1951年，美国人James Bonner发现线粒体与细胞呼吸有关。

33) 基于Rosalind Franklin的DNA X射线衍射图和 Chargaff 的碱基配对等遗传生化信息，1953年，美国人James Watson 和英国人Francis Crick提出（遗传物质）DNA双螺旋模型。并因为对核酸的结构和核酸在生命信息传递中的作用的发现与Maurice Wilkins共获1962年诺贝尔生理学或医学奖。

34) 1955年，比利时人Christian de Duve发现溶酶体和过氧化物酶体（电子显微镜和差速离心方法的发明对细胞内部结构成分的发现和功能解析起到了巨大的促进作用，比利时人Albert Claude和美国人George Palade在这两项技术的发明和改进上作了很大贡献，后者利用这两种技术对内质网的功能和形态作了深刻阐述。三人因为对细胞结构和功能的组织发现共获1974年诺贝尔生理学或医学奖）。

35) 1957年，Robertson JD用超薄切片技术获得了清晰的细胞膜照片，显示暗-明-暗三层结构。

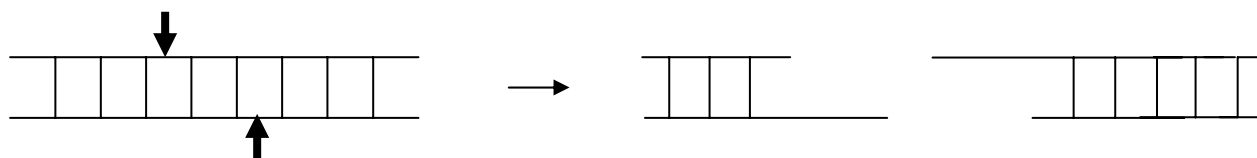
- 36) 1961年，英国人Peter D. Mitchell提出**线粒体氧化磷酸化偶联的化学渗透学说**，获1978年诺贝尔化学奖。
- 37) 1951-1964年，Marshall W. Nirenberg 和Har Gobind Khorana破译DNA遗传密码；1965年，Robert W. Holley首先解析了Ala-tRNA的结构，(**Ala-tRNA was obtained by phenol extraction of approximately 140 kg of yeast**)。三位美国人成功地阐明了遗传密码子的组成和在蛋白合成中的功能，因此共同获得了1968年诺贝尔生理学或医学奖)

38) 1968年瑞士人Werner Arber提出了细菌中存在DNA限制性内切酶和修饰酶的假说。1970年，Hamilton验证了Arber的猜测，发现了第一个限制性内切酶，并对其性质进行了详细的描述。Daniel Nathans将前两人的发现用于遗传重组。他们三人以发现了限制性内切酶并将其应用于分子遗传学而获得1978年诺贝尔生理学或医学奖。

限制性内切核酸酶（Restriction Endonuclease）

大多数微生物含有 R. E. 2个特点：

- a. 识别特定位点 b. 在DNA上make double strand cut



微生物具有R/M系统来保护自己，消灭外来DNA

对自己的DNA modify（修饰）

对foreign DNA Restricted（限制）

原始的免疫机制

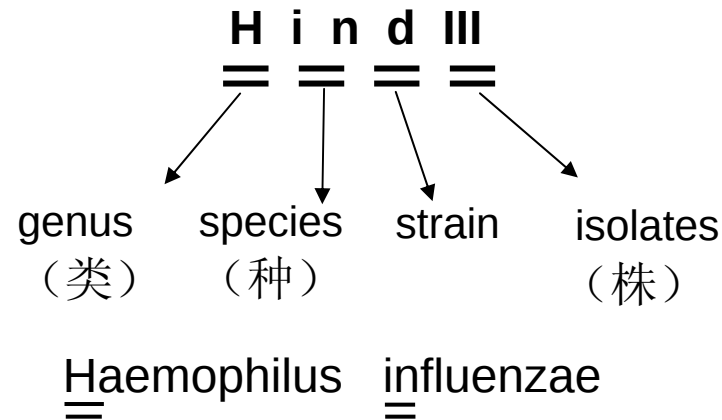
修饰和限制是同一识别位点



modify $\longrightarrow$ **methylation** (甲基化)

SAM 的 **-CH₃** 转移到 **A** (N-6) 或 **C** (C-5)

S-Adenosyl-L-**M**ethionine



1000多 R.E.已经发现. R.E分三个类型

I 和 **III** 型在基因克隆中用处不大

II 型最为有用

Type II

Type I

Type III

蛋白结构

R与M分开
R M
(二聚体) (单体)

R2M2S
(异5聚体)
双功能

R M S
双功能

识别位点

4-6 bp
(对称为主)

不对称
5-7 bp

不对称

切割位点

在识别位点之间
或与之很近

> 1000 bp
离开识别位点

24-26 bp
down stream
from 识别位点

R/M

功能分离

互相排斥

同时

ATP

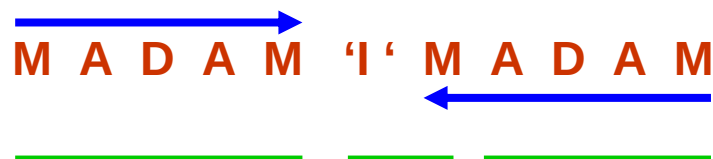
No

Yes for R

Yes
for

Restriction Enzyme Recognized site usually is polindromic(回文结构)

M A D A M 'I' M A D A M



— A A G C T T —
— T T C G A A —

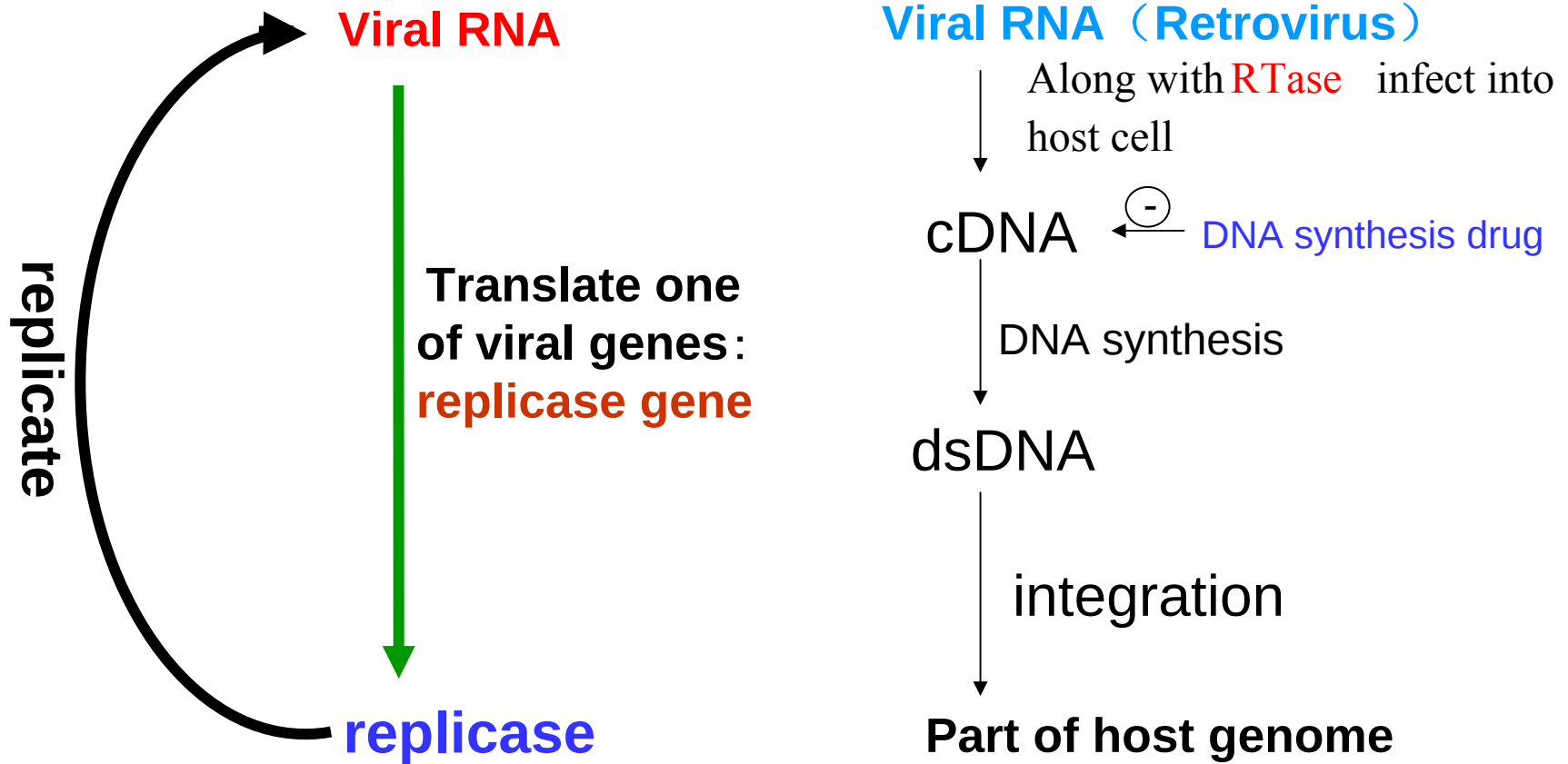


— A A G N N C T T —
— T T C N' N' G A A —

回文年：1991, 2002

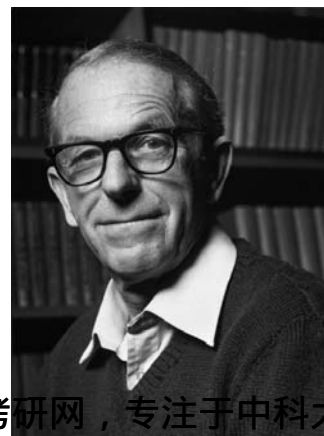
39) 1970年，美国人David Baltimore、Renato Dulbecco 和 Howard Temin由于发现在RNA肿瘤病毒中存在以RNA为模板，逆转录生成DNA的逆转录酶（并且阐明肿瘤病毒和细胞遗传物质之间的相互作用）而获1975年诺贝尔生理学或医学奖。

(RNA反转录酶) Reverse transcriptase



40) 1973年美国人**Cohen S**和**Boyer H**将外源基因拼接在质粒中，并在大肠埃希菌中表达，从而揭开基因工程的序幕。

41) 1975年，英国人**Frederick Sanger**设计出**DNA**测序的双脱氧法，于**1980年**获诺贝尔化学奖。此外**Sanger**还由于**1953年**测定了牛胰岛素的一级结构而获得**1958年**诺贝尔化学奖。



42) 1982年，美国人Stanley B. Prusiner发现蛋白质因子（prion），更新了医学感染的概念，于1997年获得诺贝尔生理学或医学奖。

Dr. Stanley B. Prusiner

University of California at San Francisco

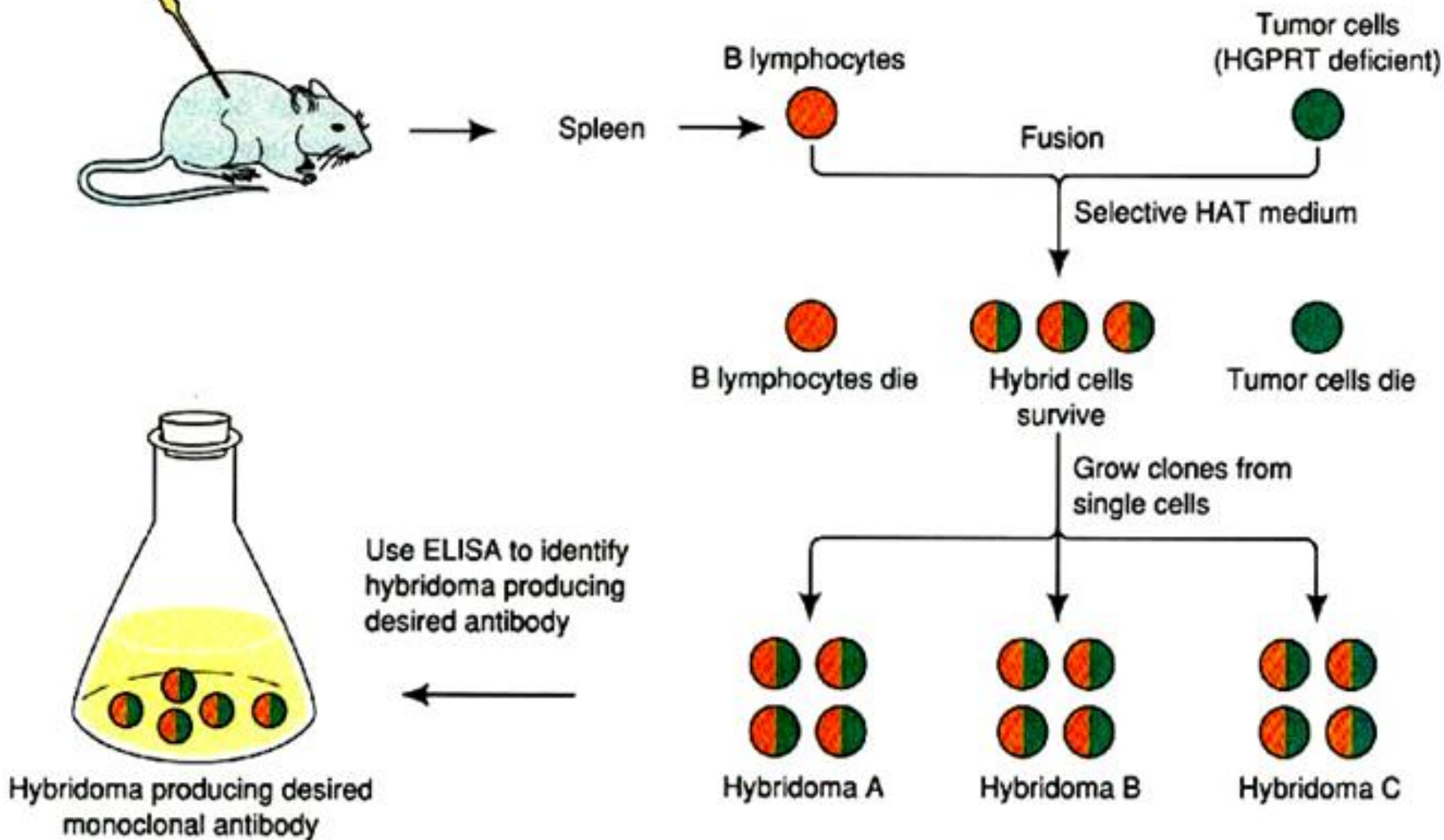
Nobel Prize in 1997

In 1982, Dr. Prusiner discovered that when normal brain proteins fold into abnormal shapes, they form abnormal prions — deformed proteins capable of distorting some of the gray matter's remaining regular proteins. In time, these rogue proteins attack the brain, leaving behind a sponge-like appearance found in sicknesses such Creutzfeldt-Jakob disease. The discovery might pave the way for drugs that could prevent such illnesses by stopping the transformation of normal proteins into prions.



- 43) 1983年，美国人Kary B. Mullis发明PCR仪，1987年发表了“**Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction**”，于1993年获诺贝尔化学奖。1988年美国Cetus公司获PCR技术专利，1990年其诊断试剂盒和仪器的销售额达2600万美元。
- 44) 1984年，德国人Georges J. F. Köhler、阿根廷人César Milstein和丹麦科学家Niels K. Jerne由于发展了单克隆抗体技术，完善了极微量蛋白质的检测技术而分享了诺贝尔生理学或医学奖。

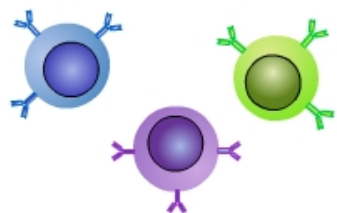
单克隆抗体技术



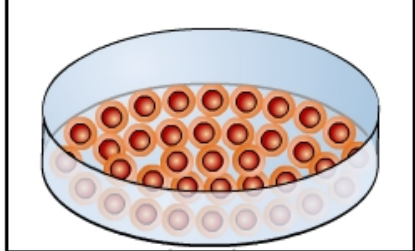
用抗原免疫小鼠



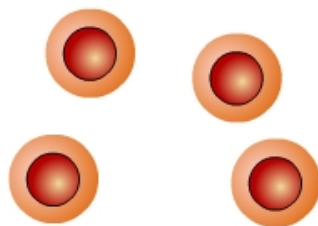
免疫脾细胞



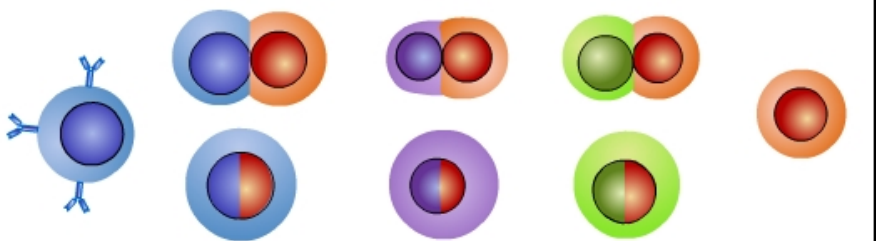
骨髓瘤细胞的培养



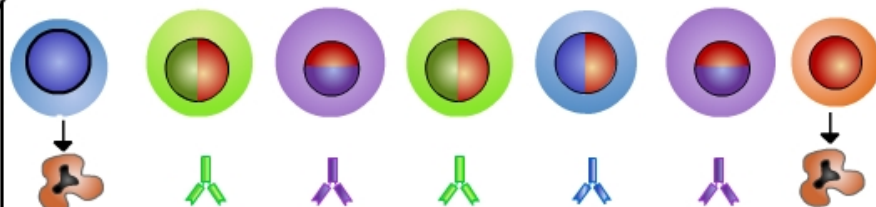
骨髓瘤细胞



在PEG作用下融合成杂交瘤细胞

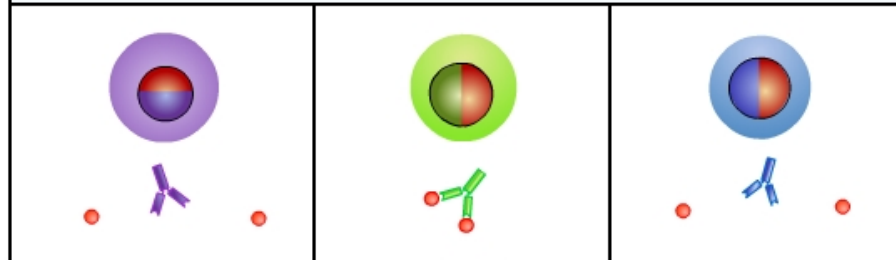


选择培养(HAT培养基)

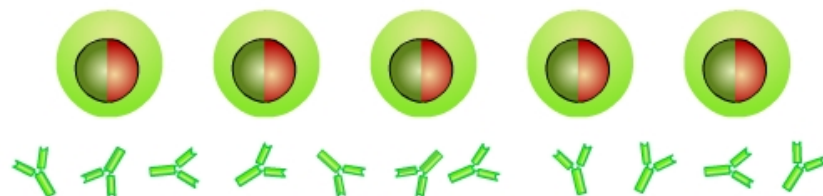


未融合细胞死亡，杂交瘤细胞存活

阳性克隆的筛选及克隆化

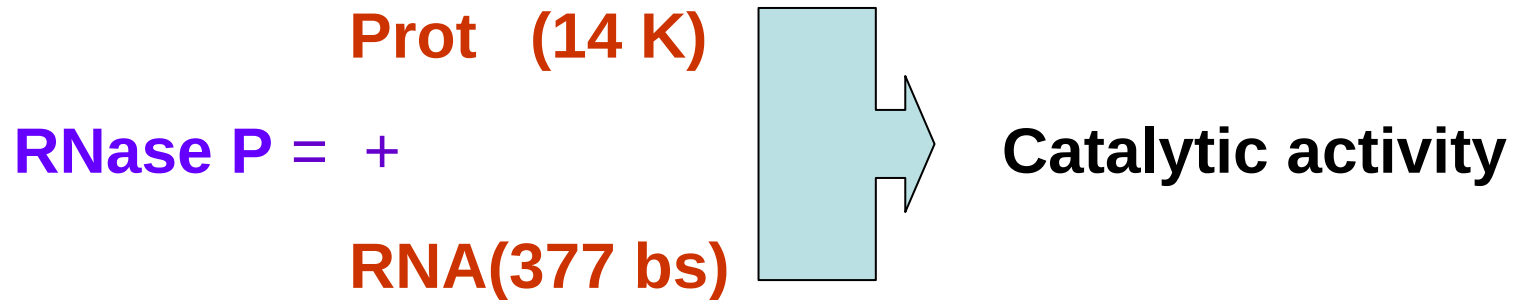


克隆扩增及大量制备McAb



45) 1989年，美国人**Sidney Altman**和**Thomas R. Cech**由于发现某些RNA具有酶的功能（称为核酶）而共享诺贝尔化学奖。**Bishop**和**Varmus**由于发现正常细胞同样带有原癌基因而共享当年的诺贝尔生理学或医学奖。

1980 (**Sidney Altman**)

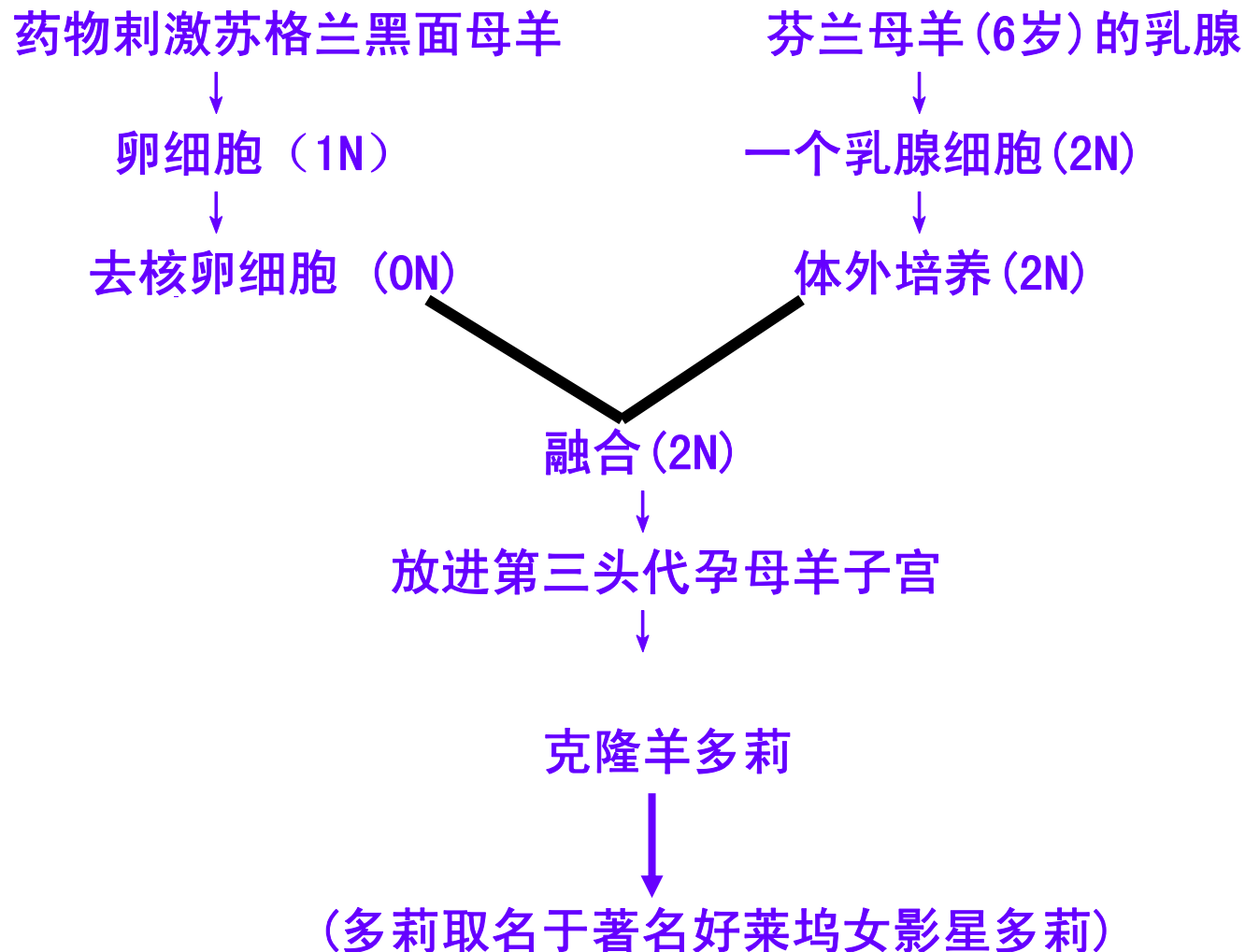


High Mg^{+2} RNA alone is OK

46) 1997年，英国人Ian Willmut和Keith Campbell领导的研究小组，成功利用体细胞克隆技术，多利羊在卢斯林研究所诞生，成为世纪末的重大新闻。



克隆羊的克隆过程

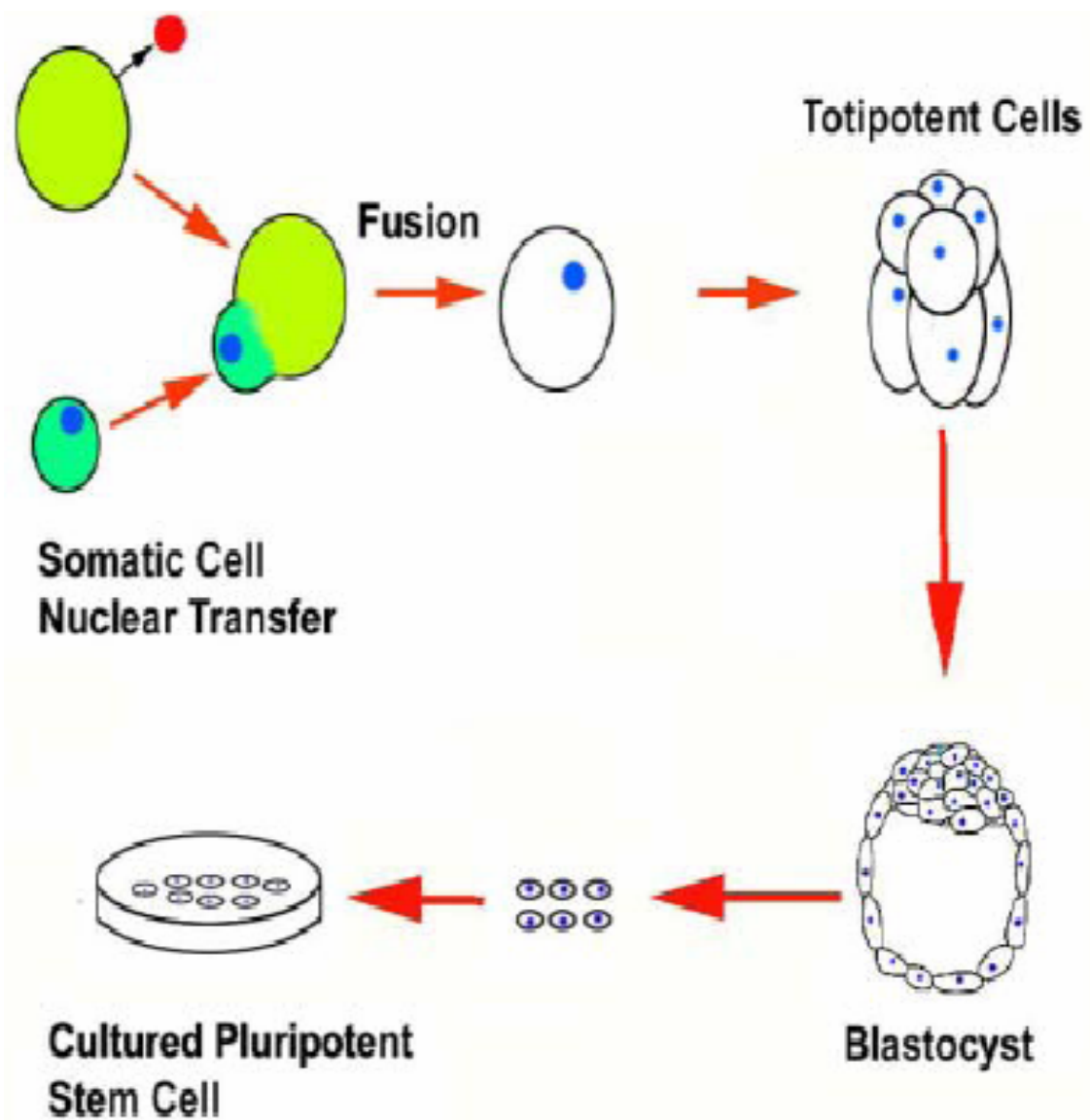








中国科学院 动物研究所 将克隆国宝 大熊猫



- 1990年，美国国会正式批准的“人类基因组计划”（**Human Genome Project**），计划在15年内投入30亿美元以上的资金进行人类基因组分析。
 - 我国于1993年加入该计划，承担其中1%的任务，即人类3号染色体短臂上约30Mb的测序任务。
 - 2000年6月28日人类基因组工作草图完成。
- 1990年，美国国立卫生研究院，给一名患有先天性重度联合免疫缺陷病的4岁女孩实施了首例基因治疗。这种疾病因腺苷脱氨酶（**ADA**）基因变异引起

GENE THERAPY

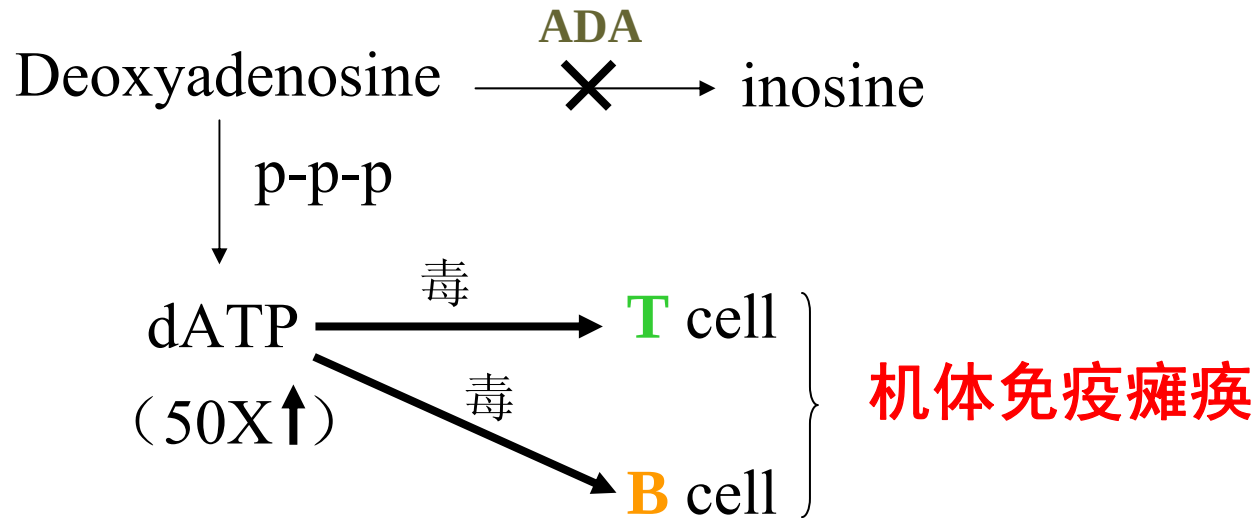


Phase II (1990—1996)

真正意义上的基因治疗起始于1990年9月14日，美国的三位医生在NIH对一名4岁的女孩进行了基因治疗，她所患的病是**SCID** (**S**evere **C**ombined **I**mmunode**f**iciency 严重的综合免疫缺乏症)

“Boy in Bubble”

Adenosine deaminase



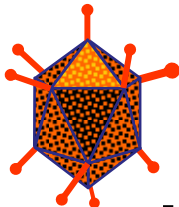
基因治疗救了 Ashanti DeSilva 一命



Gene Therapy Principles



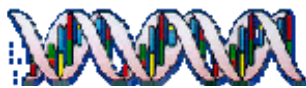
AAV



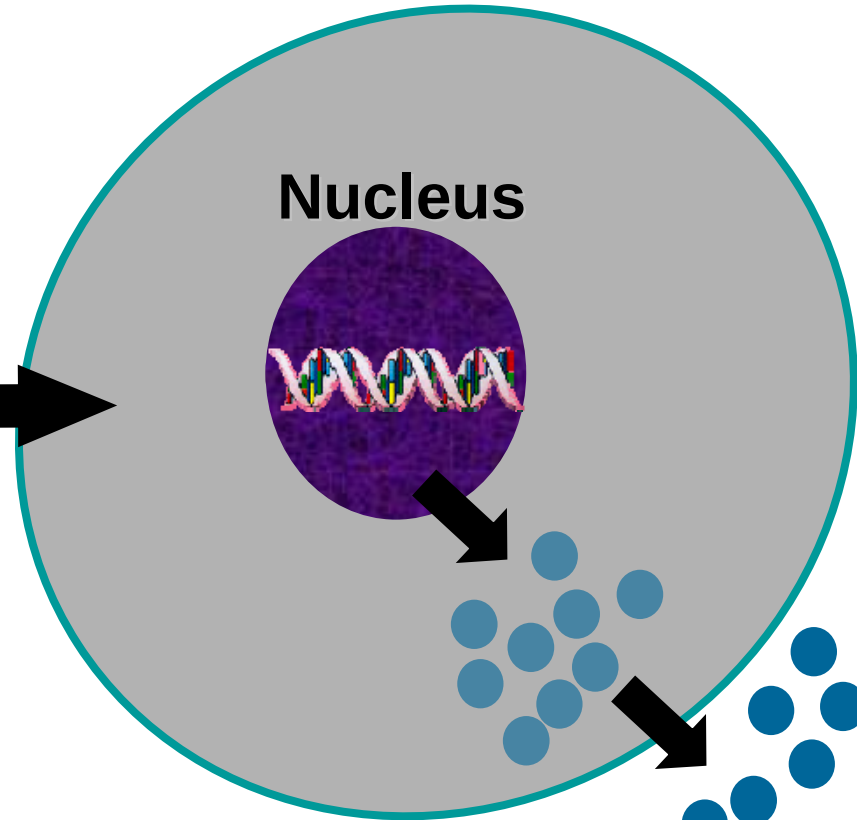
Adenovirus



Retrovirus/Lentivirus



Naked DNA



**Target
Cell**

***Therapeutic
Protein***

Adenovirus Vectors for gene therapy

The Jesse Gelsinger Story

Ornathine transcarbamyase (OTC) deficiency

Urea cycle disorder: Usually fatal.

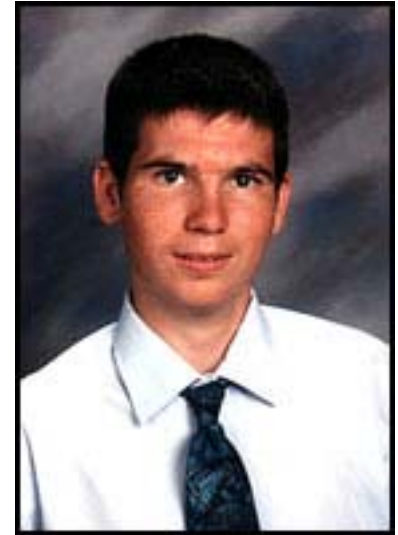
X-linked (Mother carrier, son affected). 1/40,000.

Sometimes mosaic (Jesse)

Controlled with a low protein diet and 32 pills daily

He still suffered from convulsions

Received Adenovirus expressing OTC in portal vein of liver



1980 - 9/17/99

He died from multiple organ failure 4 days after starting the treatment. His death is believed to have been triggered by a severe immune response to the adenovirus carrier.

47) 2000年，世界首例克隆猪在苏格兰诞生，是由Irina A. Polejaeva和Alan Colman领导的研究小组克隆的。



48) 1998年，日本人Wakayama T和美国人Yanagimachi R成功地用冻干精子繁殖出小鼠。

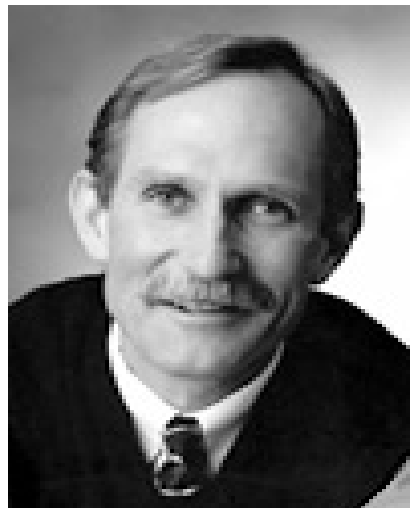
- **49) 2001年**，美国人**Leland H. Hartwell**、英国人**Sir Paul Nurse**、**Tim Hunt**因对细胞周期调控机制的研究而获诺贝尔生理学或医学奖。



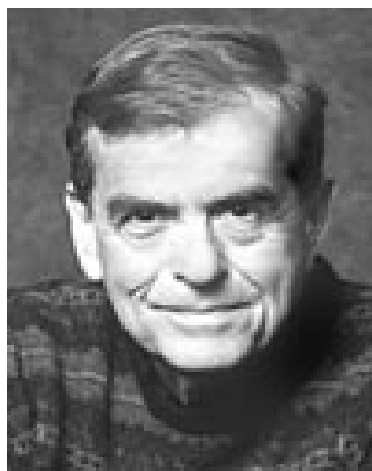
- **50) 2002年**，英国人**Sydney Brenner**、**John E. Sulston**和美国人**H. Robert Horvitz**，因在器官发育的遗传调控和细胞程序性死亡方面的研究获诺贝尔生理学或医学奖。



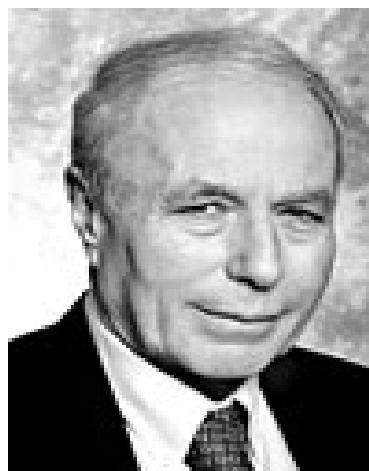
- **51) 2003年**，美国科学家**Peter Agre**和**Roderick MacKinnon**，分别因对细胞膜水通道、离子通道结构和机制研究而获诺贝尔化学奖。



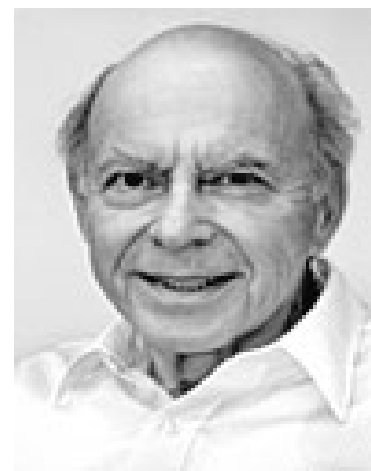
- 2004 **Nobel Prize in Chemistry**
- "for the discovery of ubiquitin-mediated protein degradation"



Aaron Ciechanover



Avram Herskho



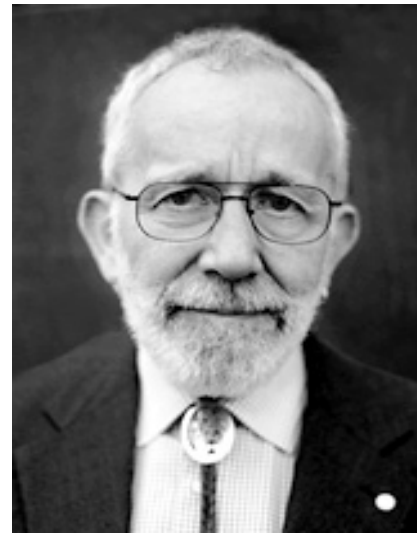
Irwin Rose

2005 Nobel Prize in Physiology or Medicine

"for their discovery of the bacterium *Helicobacter pylori* and its role in gastritis and peptic ulcer disease "



Barry J. Marshall

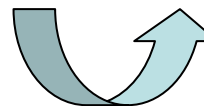


J. Robin Warren

52) 2006年的诺贝尔生理学或医学奖授予**Andrew Z. Fire**和**Craig C. Mello**，以表彰他们对RNA干扰现象，即双链RNA导致的基因沉默现象的发现。RNA干扰是控制遗传信息传递的一个基本的机制。1998年，**Andrew Fire**和**Craig Mello**发表文章指出一个特异的基因可以降解它的mRNA，继而调节基因的表达。当RNA分子以双链形式存在细胞中时，RNA干扰就被激活。双链的RNA分子激活了细胞内的生化机制，这种机制可以将携带遗传信息的、而又与双链RNA中的一条一样的mRNA降解掉，mRNA的降解导致相应基因的沉默。

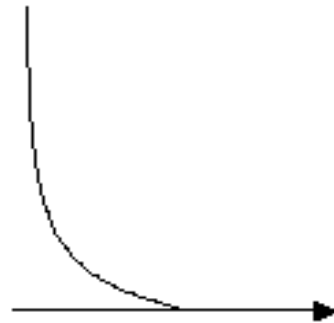


加入色素增强基因



Petunia cosuppression

CHS gene, > an enzyme in the anthocyanins pathway



Instead of causing more anthocyanins to be formed (darker flower) the introduced gene caused formation of dsRNA and



Andrew Z. Fire



Craig C. Mello

- 53) 2007年，诺贝尔生理学或医学奖授予了美国科学家马里奥·R. 卡佩奇 (Mario R. Capecchi)、奥利弗·史密西斯 (Oliver Smithies) 和英国科学家马丁·J. 埃文斯 (Sir Martin J. Evans)。这三位科学家是因为“在涉及哺乳动物的胚胎干细胞和DNA重组方面的一系列突破性发现”而获得这一殊荣。



Mario R. Capecchi



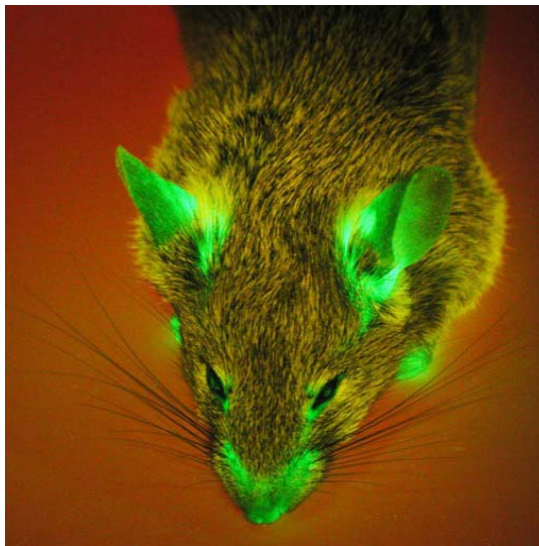
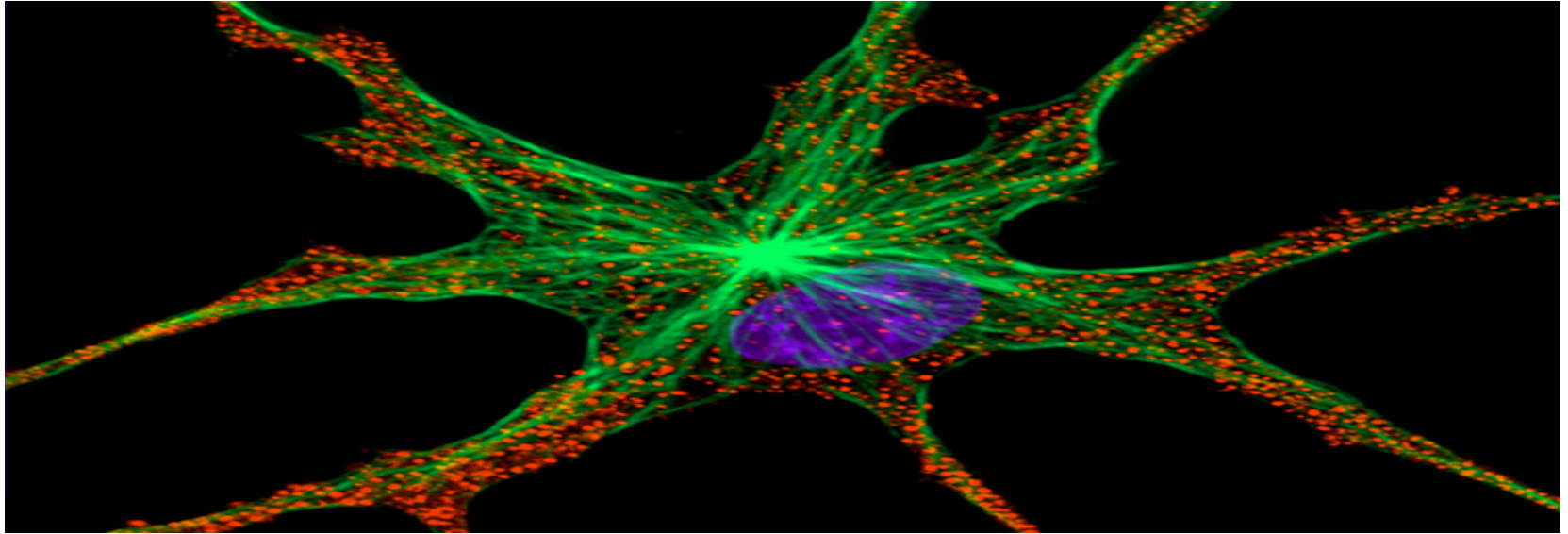
Sir Martin J. Evans



Oliver Smithies

- 54) 2008年，诺贝尔化学奖授予了美国科学家 Osamu Shimomura, Martin Chalfie 和 Roger Y. Tsien。这三位科学家因在“**GFP-绿色荧光蛋白**的发现 and 推广应用”上的贡献而获此殊荣。

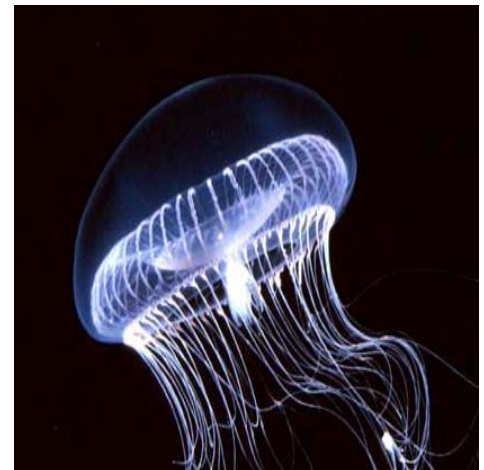
- 瑞典皇家科学院诺贝尔奖委员会于北京时间10月8日17时45分左右宣布，将2008年度诺贝尔化学奖授予日本科学家下村修、美国科学家马丁·沙尔菲，以及美国华裔科学家钱永健。他们三人因为在绿色荧光蛋白（GFP）研究和应用方面做出的突出贡献将各分得2008年度1/3的诺贝尔化学奖奖金。
- 饶毅解释说，生物学有些现象只能在打碎细胞以后才能做，所以实际上是从“死物”上来推测生物的情况。而下村修、钱永健和马丁·沙尔菲发明的用荧光分子标记其他分子的方法，使科学家们能在活细胞、活生物上直接观察一些生物现象。所以，可以说是把一些“**死物学**”变成了真正的“**生物学**”。



现在研究生物的人，几乎都知道绿色荧光蛋白（**GFP**），但常常不知或搞错其发现者。毫无争议的发现者是日裔美国科学家下村修（Osamu Shimomura，下村修(下村脩)和已故美国科学家约翰森（Frank H. Johnson）。1961到1974年发现两种发光的蛋白质：**水母素**（aequorin）和**GFP**。



下村修1961年33岁做出重要发现（1962年发表），到1974年46岁时，全部关键实验完成。但到80岁的今年，他几乎是默默无闻。他多年没有实验室，在约翰森实验室做了近20年博士后，不是为了功。他也没有当选美国科学院院士，不是为了名。GFP后来带来了相当的收益，但下村修没得，也不是为了利。



下村修和约翰森用过几种实验动物，和本故事相关的是学名为 *Aequorea victoria* 的水母。1962年，下村修和约翰森等在《细胞和比较生理学杂志》上报道，他们分离纯化了水母中发光蛋白水母素。据说下村修用水母提取发光蛋白时，有天下班要回家了，他把产物倒进水池里，临出门前关灯后，回头看一眼水池，结果见水池闪闪发光。因为养鱼缸的水也流到同一水池，他怀疑是鱼缸排出的成分影响水母素，不久他就确定钙离子增强水母素发光。1963年，他们在《科学》杂志报道钙和水母素发光的关系。1967年Ridgway和Ashley提出检测钙的新方法：用水母素。钙离子是生物体内的重要信号分子，水母素成为第一个有空间分辨能力的钙检测方法，是目前仍用的方法之一。

下村修虽然做了非常原创性的工作，很多人用他发现的**GFP**，有些生物学杂志每期都有文章用**GFP**，有些生物杂志每期20%的文章用了**GFP**，但绝大多数人并不知道发现者是下村修。下村修和约翰森1962年发现水母素的文章迄今被**377**次引用，1974年纯化**GFP**的文章被引用**169**次，Chalfie等1994年《科学》文章被引用**3349**次，Inouye 和 Tsuji的1994年文章被引用**256**次。说明大多数科学工作者并不知道所用的东西怎么来的。所以，简单重视引用率也不能代替对领域的真正了解。

钱永健是钱学森的堂侄。他家多科学家和工程师。他中学时获得过西屋天才奖第一名，大学在哈佛念化学和物理，20岁毕业，后获英国剑桥大学生理学博士。他哥哥钱永佑（Richard W Tsien）是神经生物学家，曾任Stanford大学生理系主任。两兄弟分别获Rhodes和Marshall学者奖（通常认为是美国大学生竞争性最强的两个奖学金，克林顿总统曾获Rhodes），到英国留学，九十年代双双成为美国科学院院士。



1994年，华裔美国科学家钱永健（**Roger Y Tsien**）开始改造GFP，有多项发现。世界上目前使用的荧光蛋白大多是钱永健实验室改造后的变种，有的荧光更强，有的呈黄色、蓝色，有的可激活、可变色。

