

# 分子与细胞生物学的一些进展<sup>\*</sup>

林其谁

(中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所 上海 200031)

**摘要** 分子以及分子间的相互作用是生命活动的基础,细胞是最小的生命单位。近年来在基因组、非编码蛋白质的 RNA 与表观遗传调控、合成生物学、活体细胞的结构与细胞内分子相互作用、胚胎干细胞的研究、纳米技术与分子细胞生物学的交叉结合等方面进展很快。本文就这些方面做一介绍并就国内今后的发展提出了建议。

**关键词** RNA、表观遗传调控、合成生物学、胚胎干细胞、活细胞结构、活细胞分子相互作用、纳米生物学



中国科学院



林其谁院士

## 1 学科意义

从分子与细胞层面来阐明医学、农学、微生物学、生态学等深层次的机制是当前生命科学研究的重要内容。分子以及分子间的相互作用是生命活动的基础,而细胞是最小的生命单位。随着研究的深度与广度的日益提升,人们发现生命的复杂性远远超乎以往的想象。基础研究需要全方位地深入,从假说出发的研究与大规模高通量的研究实际上是相互支持、相互促进的。而通过学科交叉来研究生命科学有可能导致突破性发现。

一旦自由生活的生命体被化学合成,才能说真正地了解了生命。

自从 1995 年测定了第一个自由生长的生物(溶血流感菌,1 830 137 碱基对)的全基因组序列以来,基因组的研究在过去十来年中得到飞速发展。人类与其它高等生物基因组测序的成功标志着生命科学研究进入了新的时期。一方面不少生物学问题可以从基因组结构得到理解,另一方面通过直接解读基因组而理解的问题远少于进一步提出的问题。单是从 DNA→RNA→蛋白质的问题就远比想象复杂。测出全基因组序列与读懂由序列组成的这本书还有非常大的距离。

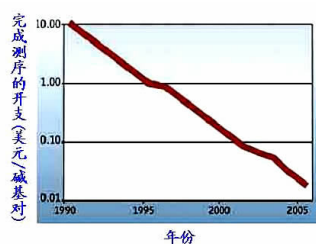
近年来分子生物学与细胞生物学进展十分迅速与显著。2006 年 Nobel 生理或医学奖与化学奖都奖给了分子与细胞生物学家就是其具体体现。本文简要地介绍其中的一部分研究进展。

## 2 国际发展现状及趋势

### 2.1 基因组、非编码蛋白质的 RNA、表观遗传调控

基因组研究促进的技术进展使测序成

<sup>\*</sup> 收稿日期:2006 年 10 月 20 日



已完成的基因组的测序成本在大幅下降

本从 20 世纪 90 年代初的平均每个碱基对 10 美元降到目前几美分。随着更多的基因组被测序,对基因组与基因表达调控的认识正在逐步深化。已初步在人与小鼠基因组分别检出 65 万与 73 万个转录起始位点,但是其中只有很小一部分是编码蛋白质的。一般认为非编码蛋白质的 RNA 在细胞内所占比例与该生物的复杂程度呈正相关。比较人与黑猩猩基因组发现,一个非编码蛋白质的 RNA 基因 HAR1F 可能在人脑进化发育中有重要作用。

在起调控作用的 RNA 中近年来与 RNA 干扰相关的双链 RNA 最引人注目。美国 Andrew Z. Fire 和 Craig C. Mello 在 1998 年发现了降解专一基因的 mRNA 的机制——RNAi。动植物与人类都存在 RNAi 机制。RNAi 的发现使人们对基因表达调控有了崭新的了解,也提供了一种简便的了解基因功能的有效研究手段,而在降低疾病基因的表达上还有治疗应用前景, RNAi 有可能成为一类新药。Zimmermann 等报道将对载脂蛋白 B(ApoB)基因专一的 siRNA 包裹在脂质体内后注射到猴的静脉中,一次注射 2.5 毫克/公斤可以使肝脏中 ApoB 的 mRNA 表达沉默 90%以上、时间达 48 小时以上,同时血清胆固醇、ApoB 与低密度脂蛋白下降达 11 天<sup>[1]</sup>。目前国外已有一些 RNAi 制剂进入临床 I—II 期试验。

表观遗传调控是一种不涉及 DNA 序列改变,可随细胞分裂稳定保持的基因表达调

控方式。与发育分化、生长、疾病、细胞重编程均密切相关。研究 80 对 3—74 岁同卵孪生子发现在年轻的孪生子之间没有多少表观遗传差别,但随着年龄增大,差别就显著了。这从而解释了为什么同卵孪生子对疾病的易感性会有不同。基因的表观遗传差别主要是 DNA 的甲基化及染色质组蛋白的化学修饰等的结果。它们的调控异常往往会导致包括肿瘤在内的许多疾病。现在已开发出一些靶向 DNA 甲基化与组蛋白去乙酰化的表观遗传药物进入了临床试验 I、II、III 期。

## 2.2 合成生物学

近年来用化学合成的手段合成生物物质的研究进展很快。有感染活力的小儿麻痹症病毒 RNA 与  $\phi$ X-174 噬菌体基因先后合成成功,它们在宿主细胞中能生成完整病毒。这是继 Wöhler 于 1828 年合成尿素,中国科学家于 1965 年合成牛胰岛素, Khorana 等于 1979 年合成酪氨酸阻遏 tRNA 基因,中国科学家于 1981 年合成酵母丙氨酸转移核糖核酸后的又一个有哲学意义的科研里程碑。化学合成的进展使合成与改造生命成为现实,这对研究生物学基本规律有很大的意义。

但是要合成自由生长的生命,单合成基因还不够,还要设计各种相互作用与代谢途径。目前有人研究只含 682 个基因、基因组总长只有 793kb 的一种细菌。希望在研究阐明的基础上能在计算机上建模,开展研究。合成生物学也开辟了设计生命的前景。一方面有可能合成模仿生命物质特点的人工化学系统。另一方面也可能重新设计微生物。Keasling 实验室向大肠杆菌中导入青蒿素与酵母的基因,使大肠杆菌能在调节下合成青蒿素,从而显示了生产有效而价廉的治疗疟疾的药物的前景。合成生物学今后甚至能生成自然界不存在的微生物。

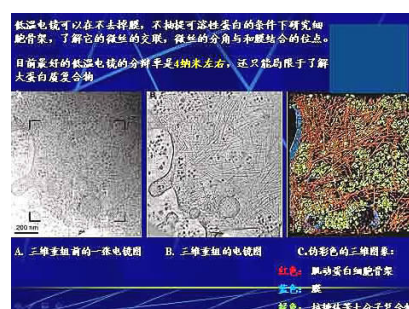
天然蛋白质由 20 种氨基酸组成。以往

分子生物学的点突变研究只能在这 20 种氨基酸中做文章(少数如硒丝氨酸等是例外)。Schultz 等研究向大肠杆菌蛋白质生物合成装置中添加新组份,使之能通过基因生成非天然的氨基酸,结果取得了成功。后来 Schultz 等报道了一种向酵母加入非天然氨基酸密码子的方法,成功地向蛋白质中导入了 5 种氨基酸。目前能参入到蛋白质的非天然氨基酸已有 80 多种。今后将可以直接向蛋白质导入顺磁标记、金属结合、光敏异构化的氨基酸等,促进蛋白质结构与功能的研究。

Benner 提出向细胞 DNA 中参入天然不存在的碱基来发展人工遗传系统,支持人工生命形式。合成生物学也将对生命起源、其它生命形式的研究做出贡献。

## 2.3 活体的细胞结构与分子相互作用

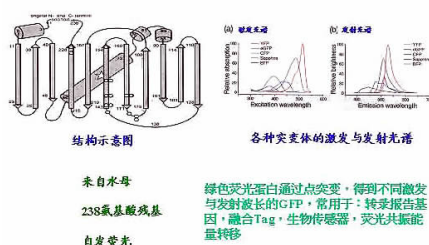
细胞内环境与试管内很不同,细胞内的膜结构还把细胞分成许多小间,试管内的研究结果虽然大体正确,但还需要得到原位检测的证实。细胞内蛋白质浓度极高,例如线粒体基质中蛋白质浓度高达 30%—40% (w/v)。高蛋白质浓度的结果是蛋白质与蛋白质相互作用更易发生,细胞内酶反应动力学不适于用米氏方程式表达(因为底物浓度往往并不远大于酶浓度),而且水浓度不应被忽视。在 20 世纪 60 年代,人们还以为细胞里有大量的二级反应:A 分子与 B 分子在细胞内自由扩散,随机碰撞而生成分子 AB。现在人们已认识到几乎细胞的每一个主要过



程都关系到 10 个或更多的蛋白质分子,整个细胞可以看作一个工厂,含有一个精心制作的互相交织的装配线,每条线都有一组蛋白质机器。在这里分子间的碰撞被限于很小的可能范围,而且反应 C 有赖于反应 B,反应 B 依赖于反应 A。例如剪接体是由 5 个小分子 RNA (snRNA) 与 50 多个蛋白质所组成,它的催化过程至少关系到 8 个依赖 RNA 的 ATP 酶蛋白与 1 个 GTP 酶。因此要真正了解细胞不单要研究细胞内的生物化学与生物物理过程,还要研究细胞的超细微结构。

一般的电子显微镜可以给出细胞结构的细节,但它的前提是细胞必须固定、脱水,这样一来可能会扭曲细胞的结构,得不到活体时的结构形态。利用电子显微断层计算机成像虽然理论上可行,但大剂量的电子轰击会使细胞碳化,一般说来细胞每平方纳米最多只可以经受 2 000—5 000 个电子。但是断层计算机成像需要数百张映象,而且映象愈多,分辨愈好。Baumeister 利用液氮冷却透射电子显微镜将一滴含细胞的水悬浮液放在栅网上,然后利用液氮将它速冻到零下 269 度。速冻的样品可以经得起真空,而且细胞仍处在天然状态。以后若将细胞融化,它们还能存活。细胞在低温下对照射的抗性也会增加。与 X 线断层不同的是,电子显微断层不是光源转动而是样品转动。样品的转动由计算机负责,保证电子束的准确重新对准与聚焦。计算机还保证了 97% 的电子能量被用于成像,而只有 3% 用于对焦。目前最好

## 绿色荧光蛋白质 (GFP)





的活体低温电镜的分辨率是4纳米左右,还只能局限于了解大蛋白质复合物。在研究细菌时,已能清楚地看到细胞膜、细胞骨架、核糖体等。此外还在细胞内发现了前所未有的呈杯形的颗粒,直径为20纳米,有5个圆角。这类发现对于蛋白质组的功能研究有很大的意义<sup>[2]</sup>。

中国台湾新竹的科学家将临床应用的X射线CT的原理扩展到纳米量级,可以研究冰冻的生物样品如细菌、酵母的结构。每张平面图象需要曝光1—3秒种,断面分辨率达到30纳米,总的收集数据大约需要5分钟,空间分辨率达到60纳米。

核磁共振激光共聚焦显微镜也是一种非损伤性成像方法的尝试。有助于观察单个细胞内代谢物的变化,了解分子与细胞活动间的联系,了解细胞膜内蛋白质构象变化的动力学以及测定细胞膜中脂质的运动。

了解活体细胞中分子或离子的定位、运动、相互作用就必须依赖一些物理手段。荧光技术是用得最广泛的。从一些离子的荧光探针的应用到对蛋白质专一的标记抗体的运用都带来了许多信息,但是用途还有限。近年来水母的绿色荧光蛋白与珊瑚虫的红色荧光蛋白得到广泛应用。它们的特点是不含辅基,通过点突变可以有激发光谱与发射光谱的变化,将它们与目标蛋白在细胞中融合表达,在多数情况下荧光蛋白与目标蛋白的行为都没有改变,因此非常适合在活体细

胞中的应用;蛋白质分子在活体细胞内的定位;蛋白质分子在活体细胞内的运动;活体细胞内的蛋白质相互作用;用荧光蛋白来设计在活体细胞内小分子(如cAMP)或离子(如Ca<sup>++</sup>)的传感器等。

## 2.4 胚胎干细胞的研究

胚胎干细胞的研究不仅对于生殖与发育的基本生物学问题的逐步阐明提供了有效的途径,而且有着诱人的应用前景。新加坡学者利用含有Matrigel和Laminin的培养基代替鼠胚成纤维细胞滋养层培养人胚胎干细胞成功,并且能维持其非分化增殖,从而免除了胚胎干细胞被鼠源性微生物污染的可能。2006年意大利学者报道他们从104个人卵细胞孤雌生成得到两个胚胎干细胞株。

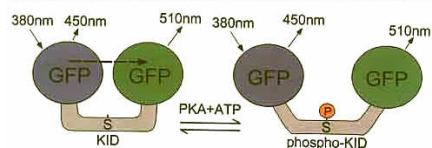
在小鼠胚胎干细胞的研究上,不同的核重编程方法都在进行研究:体细胞克隆,全能干细胞与分化细胞的融合,生殖细胞体外培养等。有报道小鼠的胚胎干细胞能生成精、卵细胞。还有报道表明成体小鼠睾丸的精子前体细胞可以重编程为具有全能性细胞。日本学者将小鼠成纤维细胞通过四步诱导,得到行为非常象小鼠细胞的多能性细胞;表达胚胎干细胞的关键基因、能形成三种(胚层)细胞类型、能自身复制。

肿瘤干细胞的研究近年来得到很大的关注。它既能生成新的肿瘤干细胞,也能分化成不同表型的肿瘤细胞。在人急性髓性白血病、乳房癌、胶质母细胞瘤中已能检出与肿瘤细胞不同的肿瘤干细胞表面标志。肿瘤干细胞可以是正常干细胞经突变生成,也可以是突变使前体细胞或分化细胞获得肿瘤干细胞的性质。对于肿瘤干细胞的研究会提高肿瘤的诊断与治疗,特别是可能有助于解决肿瘤的复发问题。

虽然美国政府由于种种原因不准将NIH经费用于获取新的人胚胎干细胞以及

### 细胞内对cAMP敏感的荧光传感器

KID, cAMP反应元件结合蛋白的激酶诱导结构域(含丝氨酸残基133)  
GFP 绿色荧光蛋白, PKA, 蛋白激酶A



图示“蓝色”(A)与“绿色”(B)的绿色荧光蛋白在KID结构域的二端,在用380纳米光激发A时,由于A与B之间距离近,产生荧光能量转移(FRET),就不出现450纳米的发射光,而有510纳米的发射光。当有cAMP时,蛋白激酶A被激活,KID中的丝氨酸被磷酸化,产生构象变化,A与B的距离拉大,FRET不复存在,在用380纳米光激发A时就出现450纳米的发射光。

利用人胚胎干细胞治疗疾病的研究,但是美国的私有基金还是大力支持干细胞的研究。加利福尼亚州建立了 30 亿美元的干细胞计划,准备 8.23 亿美元用于基础研究,8.99 亿美元用于临床前的 R&D,6.56 亿美元用于临床试验,2.95 亿美元用于培训计划,2.73 亿美元用于实验室建设。加州大学旧金山分校将积极投入到这项计划中。此外哈佛大学将开展体细胞核转移研究以发展治疗糖尿病与帕金森氏病的方法。

## 2.5 纳米科学与技术

纳米科学与技术是上世纪末以来的新兴学科,它可能的深远影响被视作堪与 18 世纪蒸气机、20 世纪电气化与当前互联网相比拟。纳米技术已开始在一些重要的应用上发挥作用,今后在医学诊断、医学映象、药物给药等方面的应用也会日益增加。有人预测到 2015 年纳米技术的市场将达到 1 万亿美元。纳米生物学的研究已深入到众多方面,包括实验研究用分子影象来进行单分子检测与活力测定,跟踪细胞内实时代谢变化,临床应用来显示肿瘤等病变,药物定向释放与缓释等。利用纳米技术可以开展生物研究的微量化,成数量级地减少样品用量、提高实验效率与降低成本。例如发展芯片上的核磁共振;基于芯片的微流动铅管网络保证在独立平行运行的 16 纳升反应器中实现半连续的悬浮生长;以及芯片上的 PCR 等。纳米材料至少有一度空间是小于 100 纳米的。物质在这样的尺度下会有许多与同样组成的一般材料不同的性质。这既打开了广

阔的应用,但也带来潜在的生物学安全性的问题。纳米毒理学作为一门必要的新兴学科正在发展。

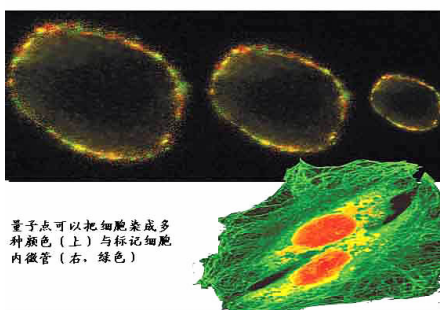
量子点<sup>[9]</sup>能使电子禁闭在很小的三度空间。用一束光激发这些电子,当它们回到较低能量水平时会重新发出特定波长的光。量子点的颜色可以很方便地通过改变它的大小来达到,而不同颜色的量子点可以用单一波长的光来激发。量子点既明亮又对光稳定,激发光谱宽广而发射光谱尖耸,是很好的生物活组织荧光映象的物质。用量子点可以用来同时显示细胞中一大批包括蛋白质与核酸在内的分子,从而显示它们的细胞内定位、活力、浓度等。它的应用很可能促进药物筛选、基因表达研究与疾病诊断等。用多光子显微镜可以探测有一定厚度的样品的影像。生物学应用上需要修饰量子点表面,制成水溶性量子点。一个使量子点与细胞相容性好的方法是将量子点包裹在脂质中。Dubertret 等发现将这种量子点注射到蛙胚胎中没有发生不良影响,蛙胚胎能够正常发育到蝌蚪,所有的子代都会分到一些量子点,从而对跟踪胚胎发育十分有利。Seydel 将红色量子点注射到活体小鼠的实验,结果可以显示出小鼠体内肿瘤的位置。今后如果能发展出被红外光激发的量子点,则对于把量子点用于整体映象会有很大促进。虽然量子点对实验动物的毒性看来比想象要低,但还需要在深入研究后仔细评估用于人体的可能性。

## 3 我国研究进展

近年来我国分子与细胞生物学发展十分迅速。我国在人类基因组,水稻基因组研究方面曾有好的贡献。在功能基因组学与其它组学如蛋白质组、代谢组等方面也都有开展。结构生物学的研究结果也很突出。两个重要膜蛋白复合物(叶绿体捕光复合物 II <LHC-II> 与线粒体呼吸链复合物 II)的原子



中国科学院



量子点可以把细胞染成多种颜色(上)与标记细胞内微管(右,绿色)

分辨率的结构阐明得到国际的重视,SARS 病毒 3CL 蛋白结构的解析是我国对 SARS 传染病研究的贡献。2004 年 5 月的香山科学会议以“生命科学中的单分子与细胞内实时检测问题”为主题,讨论了细胞内单个大分子的实时视见研究、细胞内大分子的超微量实时检测、在视见及检测中常用的光学方法及其它方法的介绍以及单分子弹性理论等,推动了我国活细胞内单个大分子研究。在人胚胎干细胞的研究与成体干细胞的研究方面近来也取得了进展。

“蛋白质研究计划”已作为《国家中长期科技发展规划纲要》基础研究问题的四项重大科学研究专项计划之一。2006 年开始启动的内容包括:重要组织和细胞的动态蛋白质组学研究、蛋白质功能的三维结构基础的研究、蛋白质质量控制翻译后修饰和动态相互作用研究、细胞分化和肿瘤发生发展过程中的转录组研究、蛋白质功能与代谢性疾病发生发展相关的代谢组学研究、模式生物与细胞等功能系统的系统生物学、蛋白质研究的新技术与新方法、人类肝脏蛋白质组重要科学问题研究、膜蛋白和蛋白质复合体的功能与结构研究等。

“发育与生殖研究”是另一个重大科学研究专项计划。内容包括:胚胎与器官发育,雄性生殖细胞发生、成熟及其重要疾病的基础研究,干细胞与体细胞重编程,母胎识别与免疫豁免的机制研究,生殖细胞健康的分子基础,发育与生殖研究的伦理学指导原则,发育研究的模式动物平台,干细胞全能性与定向分化的细胞信号网络等。在另一个专项计划“纳米研究”中,非生物纳米物质与生物体相互作用是研究的方向之一。

国家重点基础研究计划(“973”)近年来部署了一批与分子与细胞生物学有关重大项目,其中与前述国际发展现状所提及的内容有联系的有:2001 年的人类重大疾病的

蛋白质组学研究;2002 年的炎症的细胞信号转导网络及其调控机制、调控细胞增殖重要蛋白质作用网络的研究、生命科学若干前沿与交叉问题研究、基因功能预测的生物信息学理论与应用;2004 年的多基因复杂疾病的系统生物学研究、基于基因功能的创新药物研究、生物膜和膜蛋白的结构与功能研究;2005 年的肿瘤和神经系统疾病的表观遗传机制、人类非编码 RNA 及其介导的基因表达调控;2006 年的人造纳米材料的生物安全性研究及解决方案探索、分子影象关键科学技术问题的研究、蛋白质机器及分子机制、哺乳动物 PB 转座因子转座机理及分析方法研究等。表明我国在重要国际研究方向上都有相当的支持。

国家高技术研究发展计划(“863”)在生物和医药技术领域“十一五”部署的重大项目有:干细胞与组织工程、功能基因组与蛋白质组、重大疾病的分子分型和个体化诊疗、疫苗和抗体工程。还将部署重大疾病生物治疗、生物制药关键技术及其规模化制备、纳米生物技术与生物材料、特殊生物资源的开发利用等。

#### 4 学科发展建议及对策

虽然近年来我国分子与细胞生物学发展速度很快,并在该领域前沿均部署了相关项目,但与国外相比,我国的研究水平还有一定的距离,特别是与之相关的科研管理还应进一步加强。

人才是关键,机制是人才的保证。国内外人才竞争剧烈。有的地方用高薪招聘会对多数单位带来一些冲击,但这并不是影响吸引人才的主要原因。保证研究人员无后顾之忧地潜心研究是出成果、出人才的关键。管理人员主要不是管,而是服务好。一些合理的能促进科研的但尚不符合当前规定的做法要得到支持,这才是改革,才是管理人员发挥才智的地方。

科学是发展的, 人才要有进有出才行。要培养或引进帅才。课题组长不论年龄、资历、头衔都要同样被评估。资深年长的课题组长不再担任课题组长后, 根据需要还可以发挥特有的作用。一定要逐步完善人才退出机制, 这不是“淘汰”, 而是让不适应某些岗位的人到更能发挥作用的地方去。科学研究单位的行政领导必须要有献身精神, 优先为研究集体的整体发展努力。科研单位不是政府机关, 要保护年轻优秀研究人员在研究第一线工作。宜让 50 岁以上的研究人员担任行政领导。

交叉综合是创新的重要源泉, 必须是融合而不是组合。开展交叉研究不是合起来搞钱而后各自回去做自己的。美国 HHMI 建设的 Janelia Farm, 是生物医学研究的交叉实体, 他们的做法值得在充分考虑我国情况的前提下予以借鉴。

基础研究首先是要有创新的研究思路,

其次才是先进仪器与技术。对研究水平的评估万万不能以买来的仪器本身的水平做为依据。反过来对仪器也要考核使用与出成果的情况, 避免利用率不高, 过几年就过时的尴尬局面。研究平台的建设是十分必要的, 但不宜完全脱离已有研究单位另搞一套。更应该切实保证做到真正的公用, 用平台带动研究。

### 主要参考文献

- 1 Zimmermann T S, Lee A C H, Akinc A *et al.* RNAi-mediated gene silencing in non-human primates. 2006, *Nature*, 441 (7 089): 111-114.
- 2 Nickell S, Kofler C, Leis A P *et al.* A visual approach to proteomics. 2006, *Nature Review Molecular Cell Biology*, 7 (3): 225-230.
- 3 Medintz I L, Uyeda H T, Goldman E R *et al.* Quantum dot bioconjugates for imaging, labelling and sensing. 2005, *Nature Materials*, 4 (6): 435-446.

## Some Aspects of the Progresses in Molecular and Cell Biology

Lin Qishui

(Institute of Biochemistry and Cell Biology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, CAS, 200031 Shanghai)

Molecules and interactions between molecules are fundamental to life activities. Cell is the smallest unit of life. In recent years, progresses were very significant in a number of fields, e.g. genomics, non protein-coding RNA and epigenomics; synthetic biology, in vivo cell structure and molecular interaction, embryonic stem cell, nano-technology in cell biology. The present paper gives a brief overview on those fields and certain suggestions are provided for further development in China.

**Keywords** RNA, epigenomics, synthetic biology, embryonic stem cell, structure of living cells, molecular interaction in vivo, nano-biology

**林其谁** 中国科学院院士, 中科院生命科学与医学学部副主任, 中科院上海生命科学研究生物化学与细胞生物学研究所研究员。1959 年上海医科大学医疗系毕业后到中科院上海生化所工作。曾任中科院上海生物化学所所长(1984—1995); 中国生物化学会理事长(1987—1990); 亚洲大洋洲生物化学家与分子生物学家联合会秘书长(1994—1999)与理事长(2002—2004)。



中国科学院