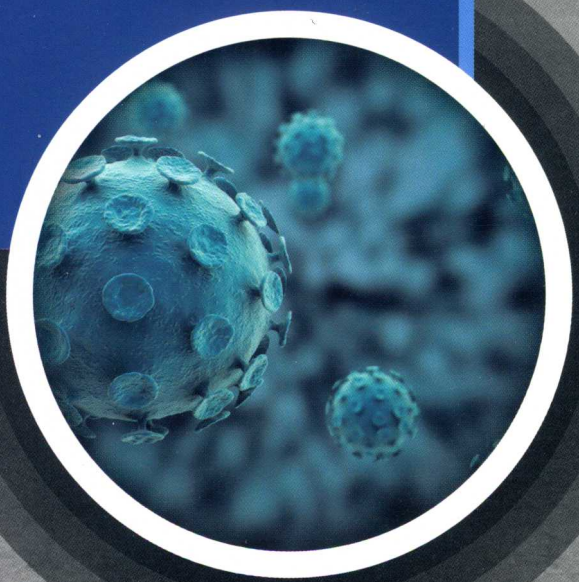


XIBAO SHENGWUXUE LILUN
JI FAZHAN YANJIU

细胞生物学理论 及发展研究

张辉 黄循吟 程爽 编著



中国水利水电出版社
www.waterpub.com.cn

细胞生物学理论 及发展研究

张 辉 黄循吟 程 爽 编著



中国水利水电出版社
www.waterpub.com.cn

内 容 提 要

本书按照细胞的结构层次和相关理论的内在联系,循序渐进地安排内容。其显著特点是内容全面、重点突出,尽可能地反映学科的最前沿进展。全书共分为 10 章,主要内容包括:细胞与细胞生物学,细胞生物学研究方法,细胞膜与跨膜运输,细胞质基质与细胞内膜系统,线粒体与叶绿体,细胞核与染色体,核糖体,细胞骨架,细胞周期和细胞分裂,细胞的分化、衰老和死亡等,适合从事相关研究工作的人员参考阅读。

图书在版编目(CIP)数据

细胞生物学理论及发展研究/张辉,黄循吟,程爽
编著. —北京:中国水利水电出版社,2015. 6
ISBN 978-7-5170-3228-1

I. ①细… II. ①张… ②黄… ③程… III. ①细胞生
物学—研究 IV. ①Q2

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2015)第 108333 号



策划编辑:杨庆川 责任编辑:陈洁 封面设计:崔蕾

书 名	细胞生物学理论及发展研究
作 者	张辉 黄循吟 程爽 编著
出版发行	中国水利水电出版社 (北京市海淀区玉渊潭南路 1 号 D 座 100038) 网址:www.waterpub.com.cn E-mail:mchannel@263.net(万水) sales@waterpub.com.cn 电话:(010)68367658(发行部)、82562819(万水)
经 售	北京科水图书销售中心(零售) 电话:(010)88383994、63202643、68545874 全国各地新华书店和相关出版物销售网点
排 版	北京厚诚则铭印刷科技有限公司
印 刷	三河市天润建兴印务有限公司
规 格	184mm×260mm 16 开本 17 印张 413 千字
版 次	2015 年 8 月第 1 版 2015 年 8 月第 1 次印刷
印 数	0001—3000 册
定 价	60.00 元

凡购买我社图书,如有缺页、倒页、脱页的,本社发行部负责调换

版权所有·侵权必究

前言

细胞生物学是在显微水平、超微水平和分子水平等不同层次上,研究细胞的结构和功能的科学,旨在探索生物体的生长发育、繁殖分化、遗传变异、运动迁徙、衰老死亡等生命活动基本规律。现代细胞生物学已经从分子水平阐明了细胞的结构与功能,这与20世纪80年代以来出现的基因组学、蛋白质组学、代谢组学、系统生物学等分子水平系统性研究的巨大进步密切相关。细胞是一切生命活动结构与功能的基本单位,几乎所有生物学关键问题都必须在细胞中找寻答案。

细胞生物学是基础生物学与生命科学各学科之间的桥梁,从这一意义上来说,细胞生物学是一门承上启下的学科,与分子生物学同是现代生命科学的基础,广泛地渗透到医学、遗传学、发育生物学、生殖生物学、神经生物学和免疫生物学等生命科学各领域的研究中。现代细胞生物学与物理学、化学、信息科学、材料科学、计算机科学等各领域间形成广泛的交叉,并与农业、医学和生物高新技术的发展密切相关。

细胞生物学又是一门发展迅速的基础学科,对生物体从宏观到微观分子的深入探索,以及从微观分子到完整生物体的系统生物学整合,细胞生物学都是最为关键的篇章。本书是作者在总结多年教学经验,参考细胞生物学文献资料的基础上完成的。

目前,有关细胞生物学的图书有很多,然而,本书也有其独到之处,具体体现在以下两个方面。

(1)内容全面,注重理论与应用的全面介绍,细胞生物学涉及的知识点均在本书有所体现,尽可能地做到没有遗漏。

(2)突出新理论,挖掘新技术,拓展新领域,基本上反映了本学科的前沿动向,其时代特征非常明显。

全书共10章,主要内容包括:细胞与细胞生物学,细胞生物学研究方法,细胞膜与跨膜运输,细胞质基质与细胞内膜系统,线粒体与叶绿体,细胞核与染色体,核糖体,细胞骨架,细胞周期和细胞分裂,细胞的分化、衰老和死亡等。

全书由张辉、黄循吟、程爽撰写,具体分工如下:

第6章、第8章~第10章:张辉(石河子大学);

第1章、第2章、第5章、第7章:黄循吟(海南师范大学);

第3章、第4章:程爽(南阳理工学院)。

作者在撰写过程中,参考了很多文献及书刊资料,受篇幅所限,恕不一一列举。同时,本书得到了学校领导的高度重视和大力支持,也得到了很多老师直接或间接的帮助和有益指导,在此一并表示衷心的感谢。此外,出版社的工作人员为本书稿的整理做了许多工作,感谢你们为本书顺利问世所做的努力。

细胞生物学研究涉及面广,知识更新速度快。虽然作者力求把工作做到尽善尽美,但因水平有限,时间仓促,书中难免会有疏漏和不妥之处,敬请广大专家、读者批评指正。

作者

2015年2月

目 录

前言	1
第 1 章 细胞与细胞生物学	1
1.1 细胞及细胞生物学概述	1
1.2 细胞生物学的主要研究内容	1
1.3 细胞生物学的发展简史	3
1.4 细胞生物学的研究进展	8
第 2 章 细胞生物学研究方法	12
2.1 细胞显微技术	12
2.2 细胞化学技术	24
2.3 细胞组分的分析方法	27
2.4 细胞培养与细胞工程技术	36
2.5 蛋白质组学技术	38
2.6 分子生物学方法	41
第 3 章 细胞膜与跨膜运输	49
3.1 细胞膜概述	49
3.2 细胞连接	65
3.3 细胞外基质	72
3.4 物质的跨膜运输	83
第 4 章 细胞质基质与细胞内膜系统	94
4.1 细胞质基质	94
4.2 内质网	98
4.3 高尔基体	104
4.4 溶酶体与过氧化物酶体	109
第 5 章 线粒体与叶绿体	119
5.1 线粒体与氧化磷酸化	119

5.2	叶绿体与光合作用	128
5.3	线粒体和叶绿体的蛋白质合成与定位	135
5.4	线粒体和叶绿体的增殖与起源	142
第6章	细胞核与染色体	144
6.1	核被膜	144
6.2	核孔复合体	145
6.3	染色质	148
6.4	染色体	156
6.5	核仁	163
6.6	核基质与核体	168
第7章	核糖体	170
7.1	核糖体的基本类型与成分	170
7.2	核糖体的形态结构与生物发生	171
7.3	核糖体的功能	176
7.4	多聚核糖体与蛋白质的合成	177
第8章	细胞骨架	184
8.1	细胞骨架概述	184
8.2	微丝	187
8.3	微管	200
8.4	中间纤维	210
第9章	细胞周期和细胞分裂	214
9.1	细胞周期概述	214
9.2	细胞周期调控	219
9.3	有丝分裂	232
9.4	减数分裂	237
第10章	细胞的分化、衰老和死亡	244
10.1	细胞分化	244
10.2	细胞衰老	253
10.3	细胞死亡	257
10.4	干细胞	264
参考文献		266

第1章 细胞与细胞生物学

1.1 细胞及细胞生物学概述

细胞(cell)是有机体结构和功能的基本单位,也是生命活动的基本单位。对细胞生命现象进行研究的科学就是细胞学(cytology),其研究方向涉及细胞的形态结构和功能、分裂和分化、遗传和变异以及衰老和病变等。随着近代物理技术、化学技术和分子生物学技术等相关科学技术的成功应用,细胞学研究从细胞整体层次和亚细胞层次深入到分子层次,以动态的观点研究细胞和细胞器结构和功能、细胞生活史和探索细胞的基本生命活动,即所谓细胞生物学(cell biology)。细胞生物学是一门正在迅速发展中的新兴学科,是现代生命科学前沿最活跃、最富有发展前景的分支学科之一。从生命结构层次上看,细胞生物学介于分子生物学和发育生物学之间,其研究内容和范畴又与二者相互衔接,相互渗透。

由此可见,细胞生物学是一门承上启下的学科,与分子生物学一道共同构成现代生命科学的基础,在遗传学、发育生物学、生殖生物学、神经生物学和免疫生物学等研究之中都可以看到它的身影,并与农业、医学、生物高新技术的发展密切相关,是当今生命科学中的前沿学科之一。

1.2 细胞生物学的主要研究内容

细胞生物学的研究面非常广,就其发展的历程来看,各个不同时期其侧重点是不相同的,并与医学有着密切的关系。现今细胞生物学研究的内容,可大致归纳为如下研究领域。

1. 细胞核、染色体以及基因表达

细胞核是遗传物质储存、复制和转录的场所,它控制着细胞的生命活动。染色体(chromosome)位于细胞核内,由核蛋白构成,是遗传物质(基因)的载体。遗传信息由 DNA→mRNA→蛋白质传递过程中,在细胞核内转录,在细胞质中翻译。真核细胞多基因表达调控的环节,赋予真核细胞更为复杂的功能。目前,对真核基因表达转录前、转录、转录后水平和翻译、翻译后水平的调控的研究正在如火如荼地进行着,对生命本质的理解程度也不断加深。

2. 细胞膜与细胞器

细胞膜(cell membrane)使细胞具有一个相对稳定的内环境,同时,在细胞与环境之间进行物质和能量交换及信息传递过程中也起着决定作用。细胞器是细胞内生物膜包被的各种功能性结构,包括线粒体、内质网、高尔基体、溶酶体、液泡、核糖体和中心体等。生命科学中的诸多重大问题,均与细胞膜和细胞器脱不了干系,对二者的研究也是细胞生物学的工作重点。

3. 细胞骨架系统

细胞骨架系统是真核细胞中由蛋白质纤维构成的复杂网络体系,包括细胞质骨架和细胞核骨架,它不是一成不变的,而是会随着机体细胞的各种生理活动状态而发生动态改变,因而,细胞骨架在时间和空间上受细胞内外因素的调控。目前,人们对细胞骨架的研究已由形态观察为主进入分子水平。细胞骨架不仅在保持细胞形态、维持细胞内各结构成分的有序性排列方面起重要作用,而且与细胞的多种生命活动如运动、分裂、增殖、分化、物质运输、信息传递、能量转换及基因表达等密切相关,可以说在细胞的一切重要生命活动中均可看到它的身影。

4. 细胞增殖及其调控

细胞正常的分裂、增殖、分化与衰老维持着有机体自身的稳定,细胞周期的异常会导致这一系列过程的紊乱。细胞的增殖是通过细胞周期来实现的,因此,想要对机体的生长和发育进行研究的话,前提条件是了解细胞增殖的基本规律及细胞周期的调控机制。目前已经发现三类细胞周期调控因子,包括细胞周期蛋白、细胞周期蛋白依赖性激酶和细胞周期蛋白依赖性激酶抑制物,它们之间的相互作用影响着细胞周期的进程。随着研究的不断进展,将有更多的调控因子被发现,对调控机制的了解程度也会不断地加深,继而使人为促使休眠细胞或不分裂细胞(终端细胞)再增殖,或者障碍细胞及增殖失控细胞恢复正常有序的增殖等成为可能,这方面的研究意义深远。

5. 细胞的生长和分化

细胞生长可以表现为细胞大小、细胞干重、蛋白质及核酸含量的增加,而细胞间质的增加也是细胞大小增加的一种形式。细胞生长受到细胞表面积与体积的比例、细胞核质比等因素的制约,当生长到达一定阶段,细胞的状态就会发生变化,会从稳定状态转变为不稳状态。细胞分化完成后并不是所有的细胞都有生长的过程。大多数的组织器官都是通过持续的细胞分裂以增加细胞数量的方式来生长,只有少数细胞(像神经元细胞)是通过增大细胞体积的方式来生长的,随着个体的不断发育,神经元胞体,特别是轴突的部分也要不断地伸长。

细胞分化是同来源的细胞逐渐发生各自特有的形态结构、生理功能和生化特征的过程,其结果是,在空间上细胞之间出现差异,在时间上同一细胞较其原来的状态不会维持原状也是会发生变化的。故细胞分化是从化学分化到形态、功能分化的过程。

6. 细胞的衰老和凋亡

细胞衰老的研究是生物体寿命研究的基础。细胞总体的衰老导致个体的老化,但细胞的衰老并不等同于有机体的衰老。目前衰老的研究更多的是集中在分子水平,如探索衰老相关基因(senescence associated gene);癌基因或抑癌基因等肿瘤相关基因与细胞衰老的关系;染色体端粒与细胞衰老的关系等。通过细胞衰老的研究,能够获知细胞衰老的规律,对认识衰老和最终找到延缓衰老的方法都有重要的意义。

细胞凋亡(apoptosis)是由一系列基因控制并受复杂信号调节的细胞自然死亡现象。细胞凋亡可能是生物体正常生理发育与病理过程中的重要平衡因素。细胞凋亡与个体生长、发育以及疾病的发生和防治密切相关,因此,细胞凋亡的关键调控基因及其作用机制研究的意义是非常重要的。

7. 细胞信号转导

细胞信号转导是指细胞外因子(配体)通过与受体(膜受体或核受体)结合,引发细胞内的一系列生物化学反应以及蛋白间相互作用,从而启动细胞生理反应所需基因的表达,直至产生各种生物学效应的过程。近年来研究发现,有多种信号转导方式和途径存在于细胞内部,而各种方式和途径间还存在着多个层次的交叉调控,构成一个十分复杂的网络系统。阐明细胞的信号转导机制对认识有机体的生命活动有极其重要意义,也为疾病机制、药物筛选及毒副作用研究等提供理论基础。

8. 干细胞及其应用

干细胞是一类具有自我复制能力的多潜能细胞,在一定条件下,在它的基础上可以进一步分化成各类细胞。干细胞分为胚胎干细胞和成体干细胞两类。胚胎干细胞为全能干细胞,而成体干细胞是多能干细胞或单能干细胞。多种内在机制和微环境因素均会对干细胞的发育造成影响,目前,人类胚胎干细胞已可以在体外培养;成体干细胞也可以诱导分化为多种类型的细胞和组织,在此基础上可以实现干细胞的广泛应用。尽管由于社会伦理学等方面的原因,人类胚胎干细胞的研究工作在全世界范围内引起了很大的争议,但作为当前生物工程领域的核心课题之一,人类胚胎干细胞将为医学的基础研究和临床应用带来广阔的前景和深远的影响。

9. 细胞工程

细胞工程是细胞生物学与遗传学的交叉领域,是生物工程的重要组成部分。细胞工程是通过细胞融合、核质移植、染色体或基因移植以及组织和细胞培养等方法,按照人们的设计蓝图改造细胞的某些生物学特性,进行细胞水平上的遗传操作以及大规模的细胞和组织培养。目前,细胞工程涉及的主要技术领域有细胞培养、细胞融合、细胞拆合、染色体操作及基因转移等。近年在世界范围兴起的用哺乳动物体细胞克隆而获得无性繁殖胚胎与个体,是细胞工程最具有创新性的工作之一。

1.3 细胞生物学的发展简史

1.3.1 细胞的发现及细胞学说的建立

1. 细胞的发现

大多数细胞的直径在 $30\mu\text{m}$ 以下,这是人类裸眼无法分辨的,因此细胞的发现与光学放大装置的发明有着密切关系。最早的一台显微镜是由荷兰的眼镜商 Janssen 父子在 1604 年组装的。就现在来看,这台显微镜的分辨率非常低,在它的帮助下可以对小型昆虫的整体结构进行观察,如跳蚤,故名“跳蚤镜”。这台显微镜的生物学价值虽然不大,与细胞的发现也无直接关系,但它将光学放大装置提高到显微镜水平的技术却为后人提供了一定参考。

半个多世纪以后,英国物理学家 Hooke 制造了第一台显微镜并用于生物样本的观察。Hooke 将他在显微镜下观察到的软木塞的蜂巢样结构汇编成《显微图谱》一书,于 1665 年发表问世。在此书中他这样描述了显微镜下的结构:“我一看到这些现象,就认为是我的发现,因为它的确是我第一次见到过的微小孔洞,也可能是历史上的第一次发现,使我理解到软木为什

么这样轻的原因。”在这部论著中,Hooke 首次使用拉丁语“*celia*”(即小室)一词描述显微镜下的微小孔洞。此后,生物学家就用细胞“*cell*”一词来描述生物体的基本结构单位并一直沿用至今。实际上 Hooke 所观察到的小室,是植物已死细胞的细胞壁,但 Hooke 的工作是人类历史上第一次看到细胞的轮廓,因此,后人将细胞的发现归功于 Hooke,他所描绘的这些蜂巢样结构成为细胞学史上第一个细胞模式图。

真正利用显微镜进行活细胞观察的是荷兰科学家 Leeuwenhoek。Leeuwenhoek 以经营布匹和纽扣生意为生,其业余爱好是磨制透镜并将其组装成简单的显微镜。利用自制的显微镜, Leeuwenhoek 首先对池塘水中的不同形态的细菌进行了观察并描述。他把观察的现象报告给英国皇家学会,得到英国皇家学会的肯定而成为会员。Leeuwenhoek 一生磨制了很多透镜,组装了上百架显微镜,至今,他所组装的显微镜还陈列在荷兰的一所大学,以纪念他对活细胞的发现。

2. 细胞学说的建立

从 19 世纪初到中期,细胞学说(the cell theory)的建立可以说是该时期的突出成就。

在 Hooke 发现细胞后的一百多年间,细胞的研究因显微镜技术未得到明显进步而受到限制。尽管如此,科学家们还是做了很多有意义的观察。1827 年,Bear 在蛙卵和几种无脊椎动物的卵中观察到了细胞核。1835 年,Dujardin 把低等动物根足虫和多孔虫细胞内的黏稠物质称为“肉样质”。1839 年,捷克著名的显微解剖学家 Pukinje 首先提出了原生质(protoplasm)的概念,随后 Von Mohl 将原生质概念应用于植物细胞。而 Schultze 发现动物细胞中的“肉样质”和植物细胞中的原生质在性质上是保持一致的,建立了“原生质学说”。自此,“细胞是有膜包围的原生质团”的基本概念得以形成。此后学者们又更明确地把围绕在核周围的原生质称为细胞质,把核内的原生质称为核质。

直到 19 世纪 30 年代,人们才意识到细胞的重要性,其中代表性的工作是由德国的两位科学家 Schleiden 和 Schwann 完成的。1838 年,德国植物学家 Schleiden 总结了关于植物细胞的工作,发表了《植物发生论》一文,提出尽管各种植物组织在结构上千差万别,但无一例外的是所有植物都是由细胞组成的,并且植物胚胎来自于一个单个的细胞。一年后,德国动物学家 Schwann 发表了关于动物细胞研究的综合工作报告《关于动植物的结构和生长一致性的显微研究》,论证了动物细胞和植物细胞在结构上的相似性,并提出了细胞学说的两点主要内容:所有的有机体都是由一个或多个细胞构成的;细胞是生物体的基本结构单位。

细胞学说的建立首次对生物界的统一性和共同起源进行了论证,对此恩格斯曾给予高度评价,把它与达尔文的进化论及爱因斯坦的能量守恒定律并列为 19 世纪的三大发现,并指出“三大发现使我们对自然过程相互联系的认识大踏步地前进了”。

然而,对于细胞起源的问题上,Schleiden 和 Schwann 都认为细胞可能来自于非细胞物质。鉴于这两位科学家在细胞领域的突出成绩,大多数的科学家都不否认该观点。直到 1855 年,德国病理学家 Virchow 根据实验观察明确指出:“细胞只能由已经存在的细胞分裂而来。”这一理论的提出对细胞学说做了重要补充,也为现代组织胚胎学的形成奠定了理论基础。

经过 Virchow 的补充,细胞学说的基本内容可以概括为以下三点:所有的有机体都是由一个或多个细胞构成的;细胞是生物体的基本结构单位;细胞只能由已经存在的细胞分裂而来。

1.3.2 细胞学的形成

细胞学说的建立把生物学的注意力引向细胞,对细胞的研究程度也不断得以加深。特别是在19世纪下半叶,对细胞的研究进入了极其繁荣的时期,研究人员相继发现了许多重要的细胞器和细胞活动现象。

首先是细胞分裂现象的揭示。由于显微技术的限制,最早对有丝分裂的认识来自对细胞核与细胞分裂的观察,并没有将染色体与细胞分裂联系起来。1841年,波兰生物学家 Remak 在其发表的论文中对鸡幼胚有核红细胞分裂成为两个带核子细胞的全过程进行了详细记载。1842年,瑞士植物学家 Von Nageli 在其出版的著作中阐明植物细胞核在分裂过程中被一群很微小、生存时间很短的微结构所替代。这一结构在1848年得到了 Hofmeister 的证实,并在1890年由 Walderyer 将其命名为染色体(chromosome)。Hofmeister 在他1849年出版的专著中精确地记载了植物有丝分裂过程,包括细胞分裂前期细胞核形态的变化、核膜的消失,细胞中期纺锤体和染色体的复合结构,细胞分裂后期两组染色体的产生,细胞分裂末期核膜的重新形成以及在两个子细胞中间出现细胞壁。1877年,德国生物学家 Flemming 在对各种蝶螈细胞有丝分裂进行了认真的研究之后,第一个提出了染色体“纵向分裂”模式。随后 Schneider 的工作也证实在细胞分裂过程中,染色体纵分为二,分别进入到两个子细胞中,他将这一过程称为核分裂。由于在分裂过程中出现染色质丝,Flemming 在他1882年出版的著作中,将其称为有丝分裂(mitosis)。随后,Strasburger 根据染色体的行为把有丝分裂期分为前期(prophase)、中期(metaphase)和后期(anaphase)。1894年,Richard 的助手提出用“telophase”一词来将有丝分裂的末期表示出来。根据染色体的形态变化,复杂的有丝分裂的过程被划分为前期、中期、后期、末期四个时期。1915年,Lundegardh 提出用“interphase”一词表示细胞分裂的间期。至此,人们在形态学上对有丝分裂的全过程有了全面的认识。

这一时期,科学家也发现染色体的数目在同一物种中是一成不变的。Strasburger 和 Flemming 分别以植物和动物为材料进行研究,提出细胞核从一代细胞传到下一代子细胞中,保持着实体的连续性。1882年,Strasburger 发现一种百合科植物的染色体数目总是12条,而一种石蒜科植物的染色体数目保持在8条。比利时动物学家 Beneden 在马蛔虫中也观察到有相同数量的染色体存在于其体内。1885年,Rabl 在蝶螈中看到24条染色体,并首次提出一个物种的染色体数目保持不变的理论。19世纪80年代末,Boveri 报道说:动物体配子在形成过程中染色体数目减少一半。不久 Strasburger 在植物细胞中也发现了这种现象。1905年,Farmer 和 Moore 把生殖细胞通过分裂使染色体数目减半的分裂方式称为减数分裂(meiosis)。这些研究阐明了生殖细胞内染色体在减数分裂过程中减少了一半,通过受精在下一代又恢复到原来数目,揭示了核物质在两代个体间保持数目恒定的机制。至此,人们对几种重要的细胞分裂方式有了全面的认识。

其次是重要细胞器的发现。这一时期,在细胞质基质中,许多细胞器相继被人们发现。例如,1887年,Boveri 和 Beneden 在细胞质中发现中心体。同年 Benda 发现了线粒体。1898年 Golgi 发现了高尔基体,这些工作代表人们对细胞结构在显微水平的细微了解。

从以上的工作可以看出,19世纪下半叶是细胞学发展的黄金时代,新的发现如雨后春笋般不断涌现,恰在此时,德国胚胎学家和解剖学家 Hertwig 发表了《细胞与组织》(Zelle and

Gewebe)这一名著,提出:“有机体的进化过程是细胞进化过程的反应”,为细胞学(cytology)作为一个新学科从生物学分离出来奠定了基础。此后,1925年,Wilson发表了《细胞——在发育和遗传中》(The cell—in Development and Heredity)一书。在该书的第二版中,Wilson绘制了一张含有核、核仁、染色质丝、中心粒、质体、高尔基体、液泡和油滴等结构的细胞模型图,代表着光学显微镜下人们对细胞的整体认识,是细胞学史上第二个具有代表意义的细胞模式图。

1.3.3 细胞学分支学科的产生

19世纪末到20世纪初,随着对细胞形态结构认识程度的不断加深,学者们对细胞的遗传现象、细胞器的功能以及细胞生化代谢和生理活动等方面的研究也相继地开展起来,于是便以细胞为中心,发展起来如细胞遗传学、细胞生理学、细胞化学和实验胚胎学等一系列新兴学科。

1. 细胞遗传学

1876年,Hertwig发现了动物的受精现象。随后 Strasburger(1888年)和 Overton(1893年)在植物细胞中也发现了受精现象。1883年,Roux提出染色体是遗传单位的携带者。1884年,Hertwig和Strasburger提出有控制遗传性状的因子存在于细胞核内。关于遗传的物质基础,人们进行了种种猜测,提出了异胞质和泛生子的概念。1885年,Weismann提出了种质学说,明确指出种质完全不同于体细胞,是遗传性的唯一携带者,并且对种质和体质进行了明确地区分,认为种质可以影响体质,而体质不能影响种质,在理论上为遗传学的发展开辟了道路。这一时期,在受精现象和细胞分裂方面的研究所取得的进展,也为理解1865年Mendel(孟德尔)的遗传定律奠定了理论基础。1900年,Mendel的工作得到荷兰的Devries、德国的Correns和奥地利的Tschermak三位从事植物杂交工作学者的重新证实,他所提出的遗传学基本理论随即获得了广泛的认可。1909年,丹麦植物生理学家和遗传学家Johansen将孟德尔式遗传中的遗传因子称为基因。而Boveri和Sutton所建立的遗传的染色体学说,将染色体的行为与孟德尔的遗传因子之间建立了关系,为遗传因子赋予了实质的内涵。1910年,Morgan在其基因学说中直接指出基因直线排列在染色体上,是决定遗传性状的基本单位。

2. 细胞生理学

在细胞生理学方面,1907年,Harrison利用淋巴液成功培养了神经细胞。在此基础上,Carrel于1912年建立了更为复杂而科学的组织培养技术,包括无菌操作、培养液的制备和专业培养器皿的选择。该技术沿用至今,只是在此基础上稍有改进。

1943年,Claude建立了差速离心技术,从细胞匀浆中分离出各种细胞器,并对其化学组成以及酶在各种细胞器中的定位进行了研究,使得人们对细胞的代谢以及某些细胞器的功能有了新的认识。

3. 细胞化学

这一时期在细胞化学方面也有很多发现。1871年,Miescher从白细胞中提取出了核素,其后,Altmann将核素纯化后分析发现,其化学组成为特定的糖和含氮碱基构成的大分子,于是他把核素更名为核酸。1915年,Feulgen创立了Feulgen染色法以显示染色体DNA的存在。

4. 实验胚胎学

实验胚胎学的研究在很大程度上促进了早期细胞学的发展,例如,His、Roux 研究了早期胚胎不同分裂球的发育能力与各个发育阶段的关系。后来 Driesch 的工作更深入发现海胆卵分裂到两个细胞和四个细胞阶段的胚胎,每个分裂球都有发育成完整幼体的能力,这就充分体现了早期胚胎分裂球具有全能性。

1.3.4 细胞生物学的形成与发展

由于光学显微镜的分辨率受可见光波长的限制难以大幅度提高,人们对细胞的细微结构的认识无法取得突破性的进展。1932年,德国科学家 Ruska 在西门子公司设计制造了世界上第一台电子显微镜,并因此获得1986年诺贝尔物理学奖。电子显微镜以电子束为光源,其波长与电场的电压成反比,通过提高电压可以使波长在很大程度上得以降低,使得分辨率有明显的提高。

电子显微镜的发明结合超薄切片技术的建立把细胞学研究从显微水平提升到了亚显微水平。电镜下的细胞世界和光镜下看到的细胞形态是完全不同的,各种已知的细胞结构,如细胞膜、细胞核、高尔基体和线粒体等以更为精细的结构呈现出来,而且电镜下也显示出光镜能力看不到的超微结构,包括内质网、核孔复合体、溶酶体和核糖体等。更为重要的是亚显微结构显示出细胞器之间的联系,如内质网囊泡向高尔基体的运输。1961年,Brachet 根据电镜下观察到的细胞的超微结构及其动态变化结构绘制了一幅细胞模式图,这是继 Hooke 和 Wilson 之后细胞学史上第三个具有代表意义的细胞模式图。

Derobetis 对这一时期的细胞学发展有以下评价:“亚显微世界的发现非常重要,因为组成它的分子或分子团、酶、激素等以及各种代谢产物之间,产生着生命现象所特有的全部化学变化和能量转化。”1965年,Derobetis 将他原著的《普通细胞学》更名为《细胞生物学》,细胞生物学这一概念被首次提出。

由于电镜的样品制备一般采用低温固定,对细胞骨架系统的观察会造成一定的影响。直到20世纪60年代,采用戊二醛常温固定,才显示出细胞质基质中微管、微丝和中等纤维的存在。至20世纪70年代,由于使用了高压电镜,能显示出细胞的立体结构,因而又发现细胞基质中除了微管、微丝外,还有网状物微梁网架的存在。至此,大家才认识到所谓细胞质基质,跟过去想象的是均匀的溶胶和凝胶是两码事,而是有一定秩序的立体结构,这些结构形成了纵横交错的骨架,总称为细胞骨架。细胞骨架同细胞器的空间分布、功能活动有着密切联系。细胞骨架的发现体现了超微结构研究方面的更大进步,1976年,Porter 绘制了细胞微梁的模式图。虽然这个模式图还称不上是细胞学史上的第四个细胞模型,但它却在细胞的结构方面刷新了过去的一些概念,如游离核糖体的空间定位,以及细胞器之间的相互关系等。

从以上发展简史可以看出,细胞生物学由细胞学发展而来,但又区别于细胞学。细胞学是在光学显微镜时代形成和发展的,其研究重点集中在细胞整体水平的形态和生理变化的研究;细胞生物学是在电镜并结合其他新技术,如超速离心法的基础上形成的,它从细胞整体水平来对生命现象进行研究,又通过分析超微结构的功能揭示细胞生命活动现象的本质。

从细胞的发现到细胞生物学的形成历经三百余年,这三百余年来每一次细胞生物学在理论上的重大突破都是在技术的重大进步基础上完成的。上面提到的四张细胞模式图作为里程

碑,代表着人们对细胞四个不同层次的认识,其中每一次理论的重大突破都和标志性技术的出现有很大关系。1953年Watson和Crick发现了DNA的双螺旋结构,为分子生物学的到来揭开了新的篇章。20世纪80年代以来,分子生物学技术的融入使得在分子水平上揭示细胞结构和功能关系成为可能,也使人们得以从更加微观地角度来看待细胞。

1.4 细胞生物学的研究进展

细胞是生命的基本单位,细胞的特殊性决定了个体的特殊性,因此,对细胞的深入研究可以说是揭开生命奥秘、改造生命和征服疾病的关键所在。20世纪50年代以来诺贝尔生理与医学奖大都授予了从事细胞生物学及其相关领域研究的科学家。现如今,对细胞的研究仍然强烈地吸引着许多生物学家和医学家,许多有关细胞生命活动的奥秘也正在被深入的探索。

1.4.1 干细胞工程及其在医学中的应用

1. “治疗性克隆”研究

在禁止生殖性克隆人研究的同时,对干细胞的治疗性克隆研究已经得到了很多国家的默许。治疗性克隆是指把患者体细胞移植到去核卵母细胞中形成早期胚胎,通过体外培养获得囊胚,然后从分离出胚胎干细胞(embryonic stem cell,ES),定向分化为所需的特定细胞类型。在合适的条件下,使可以发育成人体的任何组织和器官,包括肝组织、肌肉、血液和神经等,用于疾病的治疗。

2. 干细胞与组织再生

机体组织的再生,必须在构成机体组织细胞增殖的同时,构筑细胞的支撑组织。通过对再生机体组织的研究发现,蝾螈和水螅的身体,以及人的骨骼及肝脏等器官,同样结构的再生均可得以实现,其中干细胞起到了重要作用。

干细胞具有分裂和自我复制能力,即具有向各种机体组织分化的能力。这些干细胞包括胚胎干细胞(embryonic stem cell,ES)和成体干细胞(adult stem cell,AS)。再生医学的最终目的是保存干细胞,在某种机体组织需要的时候,将细胞增殖和分化因子添加到细胞中,于体外再生这一组织,进而用于治疗。让以治疗为目的干细胞分化的前提条件是,必须确切搞清楚相关细胞分化因子的情况。目前,对于细胞分化的深入研究还在进行,还需要对诱导细胞增殖和分化的生物因子有更多深入了解。

3. 干细胞的表现遗传调控

干细胞具有自我更新和多种分化潜能特性,其向分化细胞的转变跟基因表达模式的改变有关,即与自我更新有关的基因关闭,与细胞特化有关的基因激活。表观遗传修饰(epigenetic modification)是指非基因序列改变导致基因表达水平的变化,这种变化可通过减数分裂或/和有丝分裂遗传。表观遗传修饰主要包括三种调节机制:DNA甲基化、组蛋白翻译后修饰和微小RNA(microRNAs, miRNAs)介导基因转录与转录后调控,细胞生命过程中的基因表达在多个层面上得到控制。研究表明,细胞的生长、分化、凋亡、转化以及肿瘤发展相关基因的转录均会受到表观遗传修饰的影响。

表观遗传学的研究将有助于了解同一个细胞内的等位基因(DNA 序列完成相同)如何发生功能上的变异,以及这种变异如何在连续的细胞传代中维持下去。从一个受精卵发展成人体中两百多种不同类型细胞的过程中,DNA 的序列基本上是不会发生任何变化的,那么这一过程是如何实现的呢?这些正是表观遗传学需要回答的问题。整合细胞信号网络与表观遗传修饰、染色质重塑乃至基因表达等不同层面调控机制,在细胞层面阐明从外界信号到细胞分化、从个体生长发育和对环境适应的分子机理。

4. 诱导性多能干细胞

诱导性多能干细胞(induced pluripotent stem cells,iPS)是通过基因转染技术(gene transfection)将某些转录因子基因导入动物或人的体细胞,使体细胞直接转化成为多分化潜能的干细胞。目前,将 Oct4、Sox2、Klf4 和 c-Myc 等基因导入纤维细胞等一系列小鼠和人正常体细胞而获得自体 iPS 细胞是报道的集中点。

iPS 细胞不仅在细胞形态、生长特性、干细胞标志物表达等方面与 ES 细胞有非常高的相似度,而且在 DNA 甲基化方式、基因表达谱、染色质状态、形成嵌合体动物等方面也与 ES 细胞几乎相同。诱导得到的 iPS 细胞定向分化为有功能的造血干细胞、心肌细胞,用于生命科学的研究和人类疾病的治疗。同时 iPS 细胞技术也是打开干细胞分化过程中基因组重编程(reprogramming)之门的钥匙,因为 iPS 细胞的诱导产生过程将是我们了解基因组重编程与疾病发生关系的最理想模型。当然 iPS 细胞在应用于临床之前,还存在很多问题,例如如何避免逆转录病毒和慢病毒载体导致肿瘤发生的潜在风险,如何避免基因转染或基因转导带来的潜在风险,如何提高制备 iPS 细胞的效率等。为此,人们对 iPS 细胞研究的关注度非常高,是目前细胞生物学和分子生物学领域的研究热点。

5. 肿瘤干细胞

肿瘤干细胞是一种特殊类型的干细胞,具备高度增殖能力与自我更新能力,可以多向分化为包括肿瘤细胞在内的各种细胞,其结果是维持肿瘤干细胞数目稳定并产生肿瘤。干细胞和肿瘤细胞之间有很多相似的特征,都具有自我更新和增殖的能力,都存在相似的调节自我更新的信号转导途径(包括 wnt,notch,bmi-1 和 sonic hedgehog 通路等),都可以分化形成各种不同类型的组织。干细胞和肿瘤细胞都有着相似的表面标志物,都具有组织器官的迁移能力,有着相似的组织器官定位等。研究也证实肿瘤中确实存在肿瘤干细胞。肿瘤干细胞数目极少,却对肿瘤发生、转移有至关重要地影响。因此肿瘤干细胞的分离与分子机理的研究可能是发现肿瘤细胞恶变的根源,并为药物治疗明确了靶细胞,对临床肿瘤诊断和治疗有重要意义。但是肿瘤干细胞的研究处于起始阶段,现有的发现也没有得到人们的一致认可。

1.4.2 人造细胞

活细胞的构造机理非常复杂,它的新陈代谢由进化过程中形成的错综复杂的自控机制所决定。而人造细胞(artificial cell)可以在非常短的时间内在实验室里生产,因此成为生物学研究、药物筛选、医学治疗的新技术。目前人造细胞还只是最小限度的细胞(minimal cell),由人工制造的各种细胞成分组成。大多数现有的人工细胞已经具有了许多活细胞的功能,例如基因转录、蛋白质翻译、ATP 合成等,但是离真细胞的复杂功能差距还是相当明显的。宾夕法尼

亚大学生物工程系 Daniel Hammer 博士与匹兹堡卡耐基-梅隆大学的 Philip LeDuc 博士都成功地制作了人工细胞微囊可以携带治疗药物到靶组织而释放。

20 世纪 90 年代加拿大麦吉尔(McGill)大学医学博士 Thomas Ming Swi Chang 首先制造了人工红细胞,2005 年纽约洛克菲勒大学 Albert Libchaber 及其同事利用了一种大肠杆菌的提取物,其含有细菌的分子生物合成成分,例如核糖核酸分子和某些酶,在这种液体中生产出直径为几微米的小滴,并给它们包上了人工细胞膜成为具有一定基因转录与蛋白质翻译能力的人造细胞。

2010 年 5 月 20 日美国《科学》杂志报道了世界首例人造单细胞生命体——蕈状支原体(*Mycoplasma mycoides*)新种株。蕈状支原体是一种简单的原核生物,J. Craig Venter 博士和他的同事按照已知的基因组序列信息(GenBank:CP001668),在实验室里利用化学合成技术得到了长度为 1.08Mbp 的人造蕈状支原体基因组,命名为 JCVI-syn1.0。

JCVI-syn1.0 比野生型基因组长度稍短,19 个无害突变在合成过程中得以保存,并设计插入了 4 个特殊的水印序列(watermark)作为鉴别的标记。然后将人工合成的基因组导入彻底清除了内源基因组的山羊支原体(*Mycoplasma capricolum*),制造出完全由外源性基因组控制的蕈状支原体新种株,这个人造基因组控制的细胞不但具有设计的生命特点,而且具有自我复制的能力。尽管世界上第一个完整意义上的人造单细胞没有能够包裹上人造的细胞膜,但是它开创了前所未有的制造与操控生命的方式。

回顾从 1665 年英国科学家 Robert Hooke 第一次观察到细胞至 Venter 制造出由人工合成基因组控制的蕈状支原体细胞经历了漫长的 345 年,而人工制造出一个包裹着人造细胞膜的完整的原核细胞可能不会令我们等太久。然而高等植物和包括人类在内的哺乳动物细胞的基因组跟蕈状支原体细胞的基因组完全不在一个数量级上,细胞结构的复杂程度也远远高于蕈状支原体细胞,因此我们可以期待人工制造的高等生物与人体细胞的出现,但是可能需要等待很长的时间。

实际上,区别于人造细胞的是,人工生命是研究那些具有生命特征的人工系统,从化学结构的细胞到计算机模拟的数字细胞等许多系统可以符合这种要求,这些系统可以进行旨在表现生命系统原理以及组织的实验。同时,人工生命的许多研究重点还是集中在理解我们目前已经知道的生命形式,但又不会局限于已知的生命形式。从这种意义上讲,地球上的生命进化也仅仅代表一种特定的进化途径,应该还可以用别的物质来构造另外一些生命形式,赋予它们生命的特征,使其具有进化、遗传、变异等生命现象。

1.4.3 电子细胞

19 世纪以来,人们对细胞的研究重视程度一直很高,近几十年来,随着计算机仿真计算和可视化能力的提高,以及在数学、信号与信息处理科学领域的发展,20 世纪 90 年代中期以后诞生了电子细胞(electronic cell, E cell),亦称虚拟细胞(virtual cell)。它综合了生物学、生理学、生物化学、数学、物理学、化学和信息科学等多学科的理论知识,应用信息科学的原理和技术,通过数学的计算和分析,对细胞的结构和功能进行分析、整合和应用,使细胞和生命现象得以模拟和再现。因此,电子细胞是人工生命的重要基础部分,又是系统生物学的重要部分,也是新兴的生物信息学和生命信息学研究的最重要内容之一。