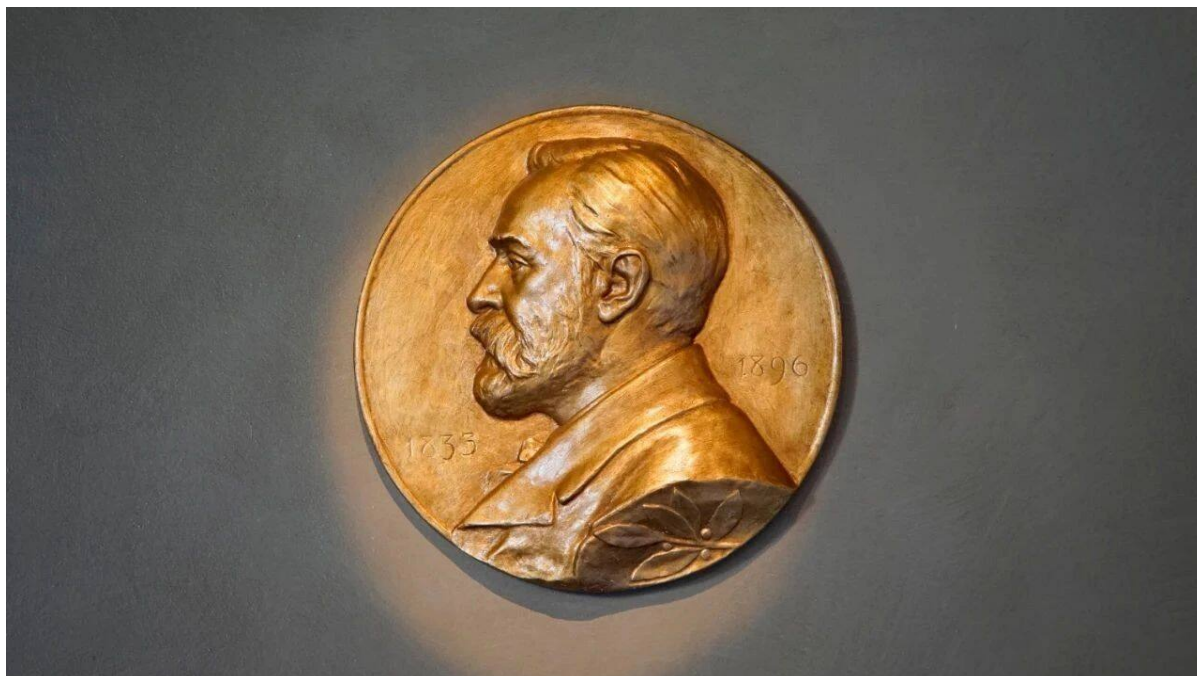


# 多少诺奖工作，才能构建一只基因修饰小鼠！

一起来回顾，到底是多少诺奖工作的铺垫，才使得构建基因编辑小鼠不再是水中月，镜中花。

从第一次被作为实验材料，到第一只基因编辑小鼠的出现，小鼠在遗传学研究中已经有百余年的历史。作为十分重要的模式生物之一，基因编辑小鼠不仅为现代生命科学基础研究做出了一系列重要贡献，更是在人类认识自身，战胜疾病的进程中功不可没。

伴随着基因编辑技术的不断发展，基因组编辑的工具也逐步更新换代。特别是CRISPR/Cas9编辑技术的出现，使得基因修饰小鼠的制备难度进一步降低，周期大大缩短。采用传统ES细胞打靶的方式，我们要花费近一年的时间才能拿到基因编辑小鼠，然而现在，最快我们半年就能拿到小鼠。而这一切，都是得益于无数诺奖工作者抽丝剥茧的辛勤付出。



接下来，我们就一起来回顾，到底是多少诺奖工作的铺垫，才使得构建基因编辑小鼠不再是水中月，镜中花。

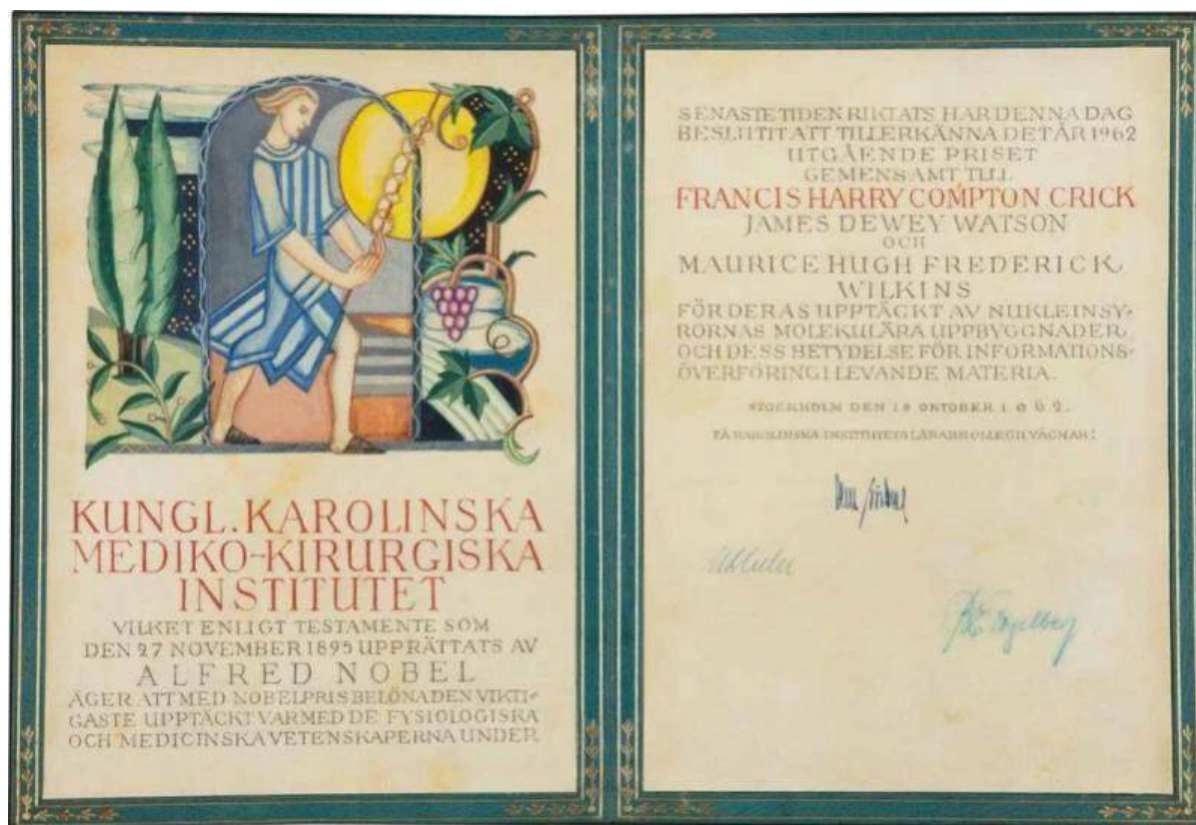
## 01 中心法则的发现

1933年，摩尔根（Thomas Hunt Morgan）因发现了染色体的遗传机制，揭示基因是组成染色体的遗传单位，获得了诺贝尔奖。摩尔根发现基因能控制遗传性状的发育，也是突变、重组、交换的基本单位。人们进而考虑通过改变基因来获得有利的可遗传的性状。但基因到底是由什么物质组成的？基因如何调控遗传性状？这在当时还是个谜。

1941年比德尔（George Wells Beadle）和塔特姆（Edward Lawrie Tatum）将红色面包霉（学名为链孢菌）作为研究对象，发现：所有生物体内的一切生物化学过程都是由基因控制，每个基因仅控制一种酶的形成，这就是著名的“一个基因一种酶”的学说，这一研究成果也为两位科学家赢得了1958年的诺贝尔奖。这一学说揭示了基因的基本功能，基因可以控制蛋白的形成，进而调控遗传性状，是分子生物学发展的重要基础之一。

1968年Robert Holly, Har Gobind Khorana 和 Marshall Nirenberg 获得了当年的诺贝尔奖，他们主要工作是破译了遗传密码，发现DNA的四种碱基形成了一套编码单个氨基酸的三字密码。人类进而明确了DNA如何调控蛋白的形成，使得通过修饰基因获得改变了的蛋白的想法成为了可能。

1953年，沃森（James Dewey Watson）和克里克（Francis Harry Compton Crick）共同提出了DNA分子的双螺旋结构，标志着生物科学的发展进入了分子生物学阶段。分子生物学由此诞生，使遗传的研究深入到分子层次，“生命之谜”被打开，人们清楚地了解遗传信息的构成和传递的途径。在以后的近70年里，分子遗传学，分子免疫学，细胞生物学等新学科如雨后春笋般出现，一个又一个生命的奥秘从分子角度得到了更清晰的阐明。1962年，沃森和克里克共享了诺贝尔生理学或医学奖。



克里克获得诺贝尔奖证书

自此，DNA如何调控遗传性状有了初步的解释，分子生物学家称之为中心法则：DNA核酸分子的序列，通过转录为RNA再翻译为蛋白，展露隐藏其中的生物遗传性状。了解了基因的本质和调控蛋白的机制后，如何改变核酸序列成为了又一难题。

## 02 DNA合成技术的进步

1955年，奥乔亚（Severo Ochoa）合成了不同于天然RNA的RNA，在天然的RNA中，四种核苷酸中的每一种都是存在的，而奥乔亚合成的RNA中是由一种核苷酸无穷尽地重复构成的。次年，科恩伯格（Arthur Kornberg）扩展了奥乔亚的工作并合成了DNA。人工合成DNA和RNA技术的建立为后续在核苷酸水平上改变DNA和RNA序列奠定了基础。两位科学家也在1959年因此获得了诺贝尔奖。

Werner Arber发现噬菌体感染大肠杆菌有其限制性，即噬菌体可以感染某个菌株，但不能感染另一个菌株，原来噬菌体中含有特定的限制性核酸内切酶，只能剪切特定菌种的基因组序列。限制性核酸内切酶的发现，为遗传工程的产生拉开了序幕。通过限制性内切酶，人类可以剪切感兴趣的基因靶点，插入需要的基因序列。Werner Arber等在1978年获得了诺贝尔奖。

1972年，Paul Berg在实验室中构筑了第一个重组的DNA分子，这意味着生物体的遗传性状从此可以人为地改造，Paul Berg也成为基因工程的开拓性人物，并且在1980年获得了诺贝尔奖。

1980年，共同分享诺贝尔奖的还有Walter Gilbert, Frederick Sanger，他们的主要工作是建立了DNA测序方法。DNA核苷酸序列从此清楚地展现在人类面前，随后小鼠的遗传信息得到全面的研究，成为人类基因组计划的范本，小鼠也成为了研究人类疾病相关基因以及人类疾病模型的模式动物。

1970年，David Baltimore和Howard Martin Temin发现了逆转录酶，证明遗传信息不仅由DNA到RNA，也可由RNA到DNA，这是中心法则的又一补充。通过逆转录酶，人类可以获得只含有编码蛋白的DNA序列，进而降低了转基因过程中基因长度的限制。1975年，两位科学奖共享了当年的诺贝尔奖。

1993年，Kary B. Mullis 因其发明了PCR技术，获得了诺贝尔奖。DNA重组技术、限制性内切酶和逆转录酶的发现使得基因表达载体的构建成为了现实，而PCR技术则使得靶向序列的克隆和扩增变得轻而易举。

解决了载体构建和检测，接下来考虑的就是如何将人工修饰后的基因精确靶向目标序列？

## 03 基因编辑技术的发展

1983年，Barbara McClintock因其发现了转座子基因独享了当年的诺贝尔奖。Barbara McClintock首先在玉米中发现了“会跳舞”的基因，她把这种会跳动的基因称为“转座子”，她发现能跳动的控制因子，可以调控玉米籽粒颜色基因的活动，这是生物学史上首次提出的基因调控模型，影响非常深远，对后来操纵子学说的提出提供了启发。通过转座子和转座酶，人类可以把目标序列随机转入到哺乳动物细胞中，并整合到基因组中，转基因动物成为了现实。

Andrew Z. Fire和Craig C. Mello发现植物、动物、人类都存在RNA干扰现象，这对于基因表达调控、参与对病毒感染的防护、控制活跃基因具有重要意义。RNA干扰作为一种强大的“基因沉默”技术而出现，对于研究基因功能起到了重要作用。2006年，两位科学家共享了诺贝尔奖。

Mario R. Capecchi, Sir Martin J. Evans 和 Oliver Smithies在1987年根据同源重组的原理，首次实现了ES的外

源基因的定点整合（胚胎干细胞：Embryonic stem cell，简称ES），这一技术称为“基因打靶”或“基因敲除”，这项开创性工作使人们可以在哺乳动物的生殖细胞中进行特定的基因改造，并繁殖出成功表达这种基因的后代，为研究某些特定基因在发育、生理以及病理等方面的作用提供了平台。这一技术避免了随机转基因转入位点、拷贝数未知的弊端，进一步优化了基因改造动物的筛选和繁育。2007年，三位科学家共享了当年的诺贝尔奖。

CRISPR/Cas9是最新出现的一种由RNA指导的Cas9核酸酶对靶向基因进行编辑的技术。2013年1月份，美国两个实验室在《Science》杂志发表了基于CRISPR/Cas9技术在细胞系中进行基因敲除的新方法，该技术与以往的技术不同，是利用靶点特异性的RNA将Cas9核酸酶带到基因组上的具体靶点，从而对特定基因位点进行切割导致突变。这项技术对生命科学产生了革命性的影响，可以高效、快捷、简便、成本便宜得进行基因功能的研究、基因修饰动物的构建和疾病的治疗。因此Emmanuelle Charpentier和Jennifer Doudna获得了2020年的诺贝尔化学奖。

随着科技的日益发展，人们对基因的理解越来越深刻，“基因”一词也广泛进入到人们的日常生活当中。很难想象，时钟往回拨100多年，当时的人们并不知晓基因的存在。作为探索生命奥秘的有力工具——小鼠基因编辑技术改变了传统的生理学和医学研究方法手段，使得人们掌握了更深入了解基因功能的钥匙，为治疗人类疾病带来了真正的希望。而百年来的诺贝尔奖，正如一面镜子，映射出人类在生理及医学史上坚定而光辉的里程。