

引入原始文献阅读的《细胞生物学》教学改革

胡叶凡 蔡亮*

(复旦大学生命科学学院, 上海 200438)

摘要 为培养创新科研人才, 国内外都在进行教学改革; 教学改革关注知识体系由简单记忆到融会贯通的转变。笔者在《细胞生物学》的课程教学中配套设计了相关原始文献的阅读, 以期望学生在传统教学基础上, 做到融会贯通。本文以课程教学中细胞内膜系统章节为例, 介绍文献阅读时可能出现的问题, 以及针对这些问题设计的教学策略, 并分享有关创新人才培养方面的教学体会。

关键词 细胞生物学; 原始文献; 生物膜; 创新人才培养

Primary-literature-based teaching in *Cell Biology* to improve scientific teaching

Ye-fan Hu, Liang Cai*

(School of Life Sciences, Fudan University, Shanghai 200438, China)

Abstract To develop students' innovative and creative abilities, the educators over the world are practicing various approaches to facilitate students' learning. This education reform concentrates on the transformation of the cognitive system – from the knowledge-based system to the action-based system. In one chapter of the course *Cell Biology*, we selected three original research articles in the field of cellular membrane and vesicle trafficking as the reading materials. Some problems about literature reading have been identified in class. Based on these, some specific teaching strategies have been developed to facilitate literature reading. We introduce these approaches to improve scientific teaching and share our experience in achieving high level of learning.

Key words *Cell Biology*; primary literature; membrane; facilitate learning; innovation

培养拔尖创新人才被列入《国家中长期教育改革和发展规划纲要(2010-2020年)》。^[1]“创新人才”培养是高校的核心任务, 而目前培养体系不健全则是亟待解决的问题, 尽管国际上有很多案例可供借鉴, 但还需结合国内具体情况进行分析。在参考了国内外相关教学改革之后, 结合本校具体情况, 我们作了初步尝试, 视为一个系统性改革的开始。

*通讯作者。Tel: +86-21-51630726, E-mail: cail@fudan.edu.cn

*Corresponding author. Tel: +86-21-51630726, E-mail: cail@fudan.edu.cn

改革首先要分析传统教学的优与劣。传统意义上自然科学教学是以知识点记忆为核心，在生命科学教学中尤为突出，但这种教学思路有其局限性。掌握知识固然是科学研究的基础，但科学研究最终是要创造知识。传统教学在这一环节的缺失不利于培养本科生创新能力。

“科学教学（Scientific Teaching）最终要能让学生能掌握主动学习策略，并能真正理解科研过程。”^[2]

何处才是突破点？要创造知识，必须要先运用知识。教会学生如何灵活地运用知识是高校本科生教学中首先需要解决的课题。灵活地运用知识不是简单通过考试练习来体现，应该通过参与具体科研项目来体现。为了理解和分析科研项目，就要培养文献阅读能力。通过对原始文献的理解分析，促进学生对知识点的融会贯通，以推动创新人才的培养。

一、在教学中引入文献阅读

国外教育工作者早已经在自然科学的教学中引入文献阅读^[3]，以帮助各层次的学生了解科学研究的实际过程，近几年开始展开广泛讨论阅读方法^[4-6]就是为了适应高中生^[7]、本科生^[8]和研究生^[9]不同层级的教学。

根据之前小范围的尝试，直接采取国外这些策略，虽然对学生文献阅读能力有所提升，但在不同程度上存在“水土不服”的现象：

（1）研究生教学基本要求是能够读懂数据，普遍要求能够对文章内容进行进一步分析^[9]；教学目标是为了提高研究生的自主科研的能力以及批判性思维的能力^[10]，教学目标明确。

（2）本科生教学要求比研究生要低，不强制要求对文章的进一步分析。故而针对本科生，直接套用研究生教学模式显然不妥，一方面低年级本科文献阅读的能力弱，难以独立进行文献阅读，另一方面本科生的基础知识薄弱，尚不能独立理解分析数据，欠缺对文章内容进行进一步分析能力。本科生教学中，普遍采取了更加简化的策略：

（a）以问题导向（question-asking）的经典文献阅读^[7,9]，主要培养学生收集信息、整理信息和参与科学研究的能力，尤其是对于缺乏科学实验训练的学生而言，问题导向（question-asking）可以让他们较快学会科研的思考方式。但是科学研究不仅限于提出问题，在文献中更多的是如何回答问题，在文献阅读教学中，应该兼顾科学研究中“提问—回答”这两个环节；

（b）以小组讨论和展示为基本形式的 Journal Club^[11]，主要培养低年级学生文献阅读能力（相互讨论可以降低各自的阅读负担）和学生之间交流和沟通能力。但是这种形式缺点也比较明显，因为以学生为授课主体，在课堂教学中难以保证文献阅读理解和文献展示的质

量达到既定的教学目标；

近年来，也有教育工作者陆续提出以下要求较高的教学方法：

(c) Round 和 Campbell 就提出了以实验数据为核心的原始文献阅读策略 (Data-Centered Approach) [15]，这考虑到了本科生面对密集的材料、陌生的术语、实验技术细节时所处的困境，强调抓住实验数据主干以适于本科生教学。但我们认为理解实验细节存在困难并不意味着全部放弃，尤其是实验技术细节对于文献内容的理解至关重要，完全略去实在不妥；

(d) Hoskins 等人提出了本科生文献阅读的 CREATE 策略[12]，即采取思考(Consider)、阅读(Read)、理解假设(Elucidate the hypotheses)、分析并解释数据(Analyze and interpret the data)和考虑进一步实验(Think of the next Experiment)的策略，进行原始文献的阅读与学习，以培养学生多样的思维模式[13]，帮助学生树立正确的自我评价模式和科研方法[14]。这种策略很有借鉴意义。但是本科教学课堂时间有限，在进行文献阅读训练时，全面的“分析解释数据”和“思考进一步实验”就显得比较困难，我们认为现阶段低年级的本科生的教育沿袭了“宽口径，厚基础”的传统，对于具体的实验细节实际上了解的并不是很多，缺乏实验基础会严重影响 CREATE 教学法的效果。

综上，我们认为，考虑到中国现阶段的本科生教学的实际情况，既不能片面学习国外的方法，也不能简单沿用研究生的方法，应该在兼顾基础教学的同时，让学生真正学会阅读文献，注意知识运用能力的培养，并适当关注实验技术细节。为此，我们在《细胞生物学》课程中进行了一系列尝试。

二、本科生文献阅读教学的现状

我们在《细胞生物学》课程教学中引入原始文献阅读，首先要解决现有文献阅读教学中的问题。我们发现低年级本科生文献阅读教学存在以下问题：

(1) 专业英语词汇量不足。细胞及分子生物学涉及大量专业英语词汇，低年级本科生的词汇量的匮乏势必会影响对文献的理解；

(2) 相关领域背景知识不足。以《细胞生物学》课程为例，特别是涉及具体实验时，低年级本科生因相关知识了解不足，对文献理解会存在偏差。如文献中常用技术——血清饥饿法模拟细胞胁迫环境，学生无法理解仅仅是因为缺乏对细胞培养基各成分的认识；

(3) 抽象文本理解能力不足。不少学生在阅读过程中反馈如下现象：在专业词汇和背景知识足够的情况下，依然不理解文章内容，觉得思路过于跳跃，导致“每个单词都认识，

但理解句子和段落却困难重重”，这实际上是对上下文逻辑关系理解存在困难，是科研思维缺乏的表现；

(4) 实验数据解读能力不足。文献往往将多个“实验组——对照组”组合在一张小图，将多张小图组合成一张大图，用以阐明一个结论。学生会纠结在对照组的数据，而无法理清各图与对应结论之间的关系。

同时，低年级本科生在文献阅读存在以下的误区：

(1) 通篇翻译成中文，再行阅读；

(2) 文章阅读中缺乏整体性：单篇文章花几天读完，读了后面忘了前面，没有整体，理解更无从谈起；

(3) 文章阅读中忽视逻辑性：过分关注最终实验的结果和文章结论，忽略了文章中各个实验间的逻辑关联。

我们在《细胞生物学》教学过程中引入经典文献阅读，并针对上述问题提出了适合于国内学生的教学策略，下面将围绕细胞生物学教学中的具体案例分享教学时的一些心得体会。

三、文献阅读的教学策略与教学目标

3.1 文献阅读的教学策略

文献阅读不仅是一种知识的输入，更应该是知识消化之后的输出。若想要培养创新人才，就应该让学生主动从知识的接收者，变为知识的创造者。结合国内外的相关经验，针对低年级本科生教学的特点，我们在引导本科生阅读文献时关注如下几点：

(1) 让学生明确，阅读关键在于把握文章主线。这就要求学生做到“好读书，不求甚解”，不过分深究原文的字句，而是通过图表和小标题把握文章的主线，阅读后，要能将一篇文章的核心内容用中文总结成一句话。这是为了提升学生抽象文本理解能力。

(2) 让学生了解，文章中最重要的是图表。一方面，实验设计是科学研究过程中不可缺少的环节，阅读原始文献可以学习实验设计的基本方法；另一方面，对于图表的理解，有助于培养学生的数据分析和整合的能力。而在一篇研究论文中，最重要的实验结果往往可以浓缩在一两张图表之中。理解了这一两张图表，可以大致把握和理解论文最主要的实验结论。阅读后，要能将多张实验数据图中最核心的一张找出来。这是为了提升学生实验数据解读能力。

(3) 有选择地让学生理解文章中使用的实验技术。对于本科生而言，全面挖掘相关实验背景和实验技术细节是有难度的。这部分应由教师在学生阅读前进行讲授，而后学生通过阅读原始文献，对相关实验技术会有更切实的体会，弥补了课本可能存在的不足，这有利于学生感受科学研究的实际过程，激发学生投身科学研究的热情。有针对性地弥补学生对相关领域背景内容了解不足。

综上，在文献阅读教学中要重视低年级本科生对“一句话、一幅图、一种方法”的掌握。其中“一句话、一幅图”是对于学生在知识输出方面的补充，而“一种方法”是对于学生在知识输入方面有针对性的加强。这样才能让学生先学会“举一”，再逐步做到“反三”。

3.2 文献阅读的教学目标

针对低年级本科生教学的特点，我们在引导本科生阅读文献时希望能够达到以下目标：

(1) 培养批判性的思维模式，破除对知识的“迷信”。文献阅读与传统教学的不同点在于：教材的结论是完善的、严谨的，学生确实通过记忆就能完成考试、拿到高分；文献与教材不同，存在大量不完善的地方——这能够引导学生积极思考，深入理解文本，进行批判性地学习。

(2) 树立积极的科研价值观，破除“唯影响因子论”。实践是检验真理的唯一标准，而不是期刊的影响因子。正确的科研价值观，往往比科研发现本身更加重要。在本科教学中，让学生学会客观地评价研究成果，养成“实事求是”的习惯：这是万众创新所亟需的土壤。

(3) 鼓励学生实践创新的过程。科学发现不是一蹴而就，而是站在巨人肩膀上的创新，后面的创新是基于前面的铺垫。通过对历史上重要科研工作“前因后果”的回顾，引导学生思考一篇重要的科学论文“从哪里来、到哪里去”，讨论重要工作是如何从同时代已发表的工作中寻找突破，又怎样带动了相关领域的拓展。讨论一篇文章的发现并引导学生思考如何拓展后，鼓励学生去搜索之后的论文验证自己的猜测。虽然是知识的“再发现”，对于学生却是实践创新的过程。

通过对原始文献阅读和讨论，使学生了解研究人员在特定历史环境中做出科学发现的经过，加深对课堂教学知识点理解；通过对文献上下文内容因果关系的讨论，促进学生逻辑思维的养成；通过对文献中数据多角度的理解，训练学生的辩证思维，养成学生灵活运用知识的习惯。最终使得学生能够通过阅读文献进行主动学习，真正做到“举一反三”。

四、引入原始文献阅读的教学模块设计

4.1 细胞生物学课程细胞内膜系统模块概述

笔者所在的生命科学学院本科生细胞生物学课程的教学时长为 48 个学时，围绕细胞生物学技术、细胞内部结构及功能和细胞的社会环境与相互作用三个部分展开，额外增设 32 个学时文献研讨班作为选修课程，在内容上并大致吻合，但有所侧重（详见附录 A1）；例如细胞生物学技术就可略去，同时在细胞生物学课程同步提供相关文献，并鼓励没有选修文献研讨班的学生参与文献讨论。

以细胞内膜系统为例，在细胞生物学理论课的课程设计中预计用 8 个学时讲授相关知识：从生物膜的基本结构和膜结构细胞器，到跨膜运输、蛋白质分选和囊泡转运。真核生物的内膜系统相关知识点，尤其是对于膜的概念的把握一直是细胞生物学教学的重点和难点。对此，在文献研讨班上同步阅读三篇文章以促进理解：

第一篇是 Günter Blobel 小组于 1973 年发表于《The Journal of cell Biology》题为“Ribosome-Membrane Interaction: Nondestructive Disassembly of Rat Liver Rough Microsomes into Ribosomal and Membranous Components”的文章^[16]，讨论核糖体与膜的关系，解答核糖体组装的动态过程。

第二篇是 Tom A. Rapoport 小组于 1992 年发表于《Cell》题为“A Mammalian Homolog of Sec61p and SecYp Is Associated with Ribosomes and Nascent Polypeptides during Translocation”的文章^[17]。

第三篇是 James E. Rothman 小组于 1997 年发表于《Cell》题为“Bidirectional Transport by Distinct Populations of COPI-coated Vesicles”的文章^[18]，讨论蛋白质通过囊泡转运的方向。

这三篇文章都为生物膜的研究开启了新的方向，具有重大的学术价值。所选这文章中使用的实验技术相对简单，而实验设计十分巧妙。同时是对于信号肽假说、蛋白质分选、囊泡转运这三个知识点之间重要工作的补充。以下仅对第一篇文章展开阐述，附录 A2 有对三篇文章的解读和对内在关系的梳理。

4.2 从核糖体到细胞内膜——以核糖体与内膜的互作（Ribosome-membrane interaction）为例

在细胞内膜系统模块，所选择的上述第一篇文章^[16]，讨论核糖体与膜的关系，解答核糖体组装的动态过程。这一方面作为前一模块细胞质与核糖体模块的拓展，另一方面也可以看作是细胞内膜系统模块的开端。此文长达 24 页，学生通篇翻译成中文的可能性很小，可以

有效引导学生主动形成文章整体认识，重视文章的行文逻辑。

文献阅读，应抓住 **Abstract, Introduction, Methods, Results** 各个部分的核心。首先是 **Abstract** 部分。这里就提出了文章的主线，该文的核心问题是探明核糖体与内质网的连接方式，到底是什么介导了核糖体与膜的连接？教师在接下来就应该有意识的引导学生按照论文的主线展开讨论。

接着是 **Introduction** 部分，主要是文章背景的分析，教师介绍这一块主要围绕下面两点展开：

- (1) 这篇文章涉及的问题是如何提出的？
- (2) 这篇文章是建立在怎样前期工作的基础上？

该文所研究的核糖体组装是 **G. Blobel** 长期关注的问题。在其从事博士后工作时，有观点认为蛋白质分选，是依靠 **mRNA** 与不同蛋白质结合，**G. Blobel** 与 **David D. Sabatini** 使用了 **SDS-PAGE** 分析了游离核糖体和内质网结合核糖体的蛋白质组分，未见显著差异。因此，他们猜测不是 **mRNA**，而是转录初生产物决定了蛋白质的去向^[17]。1971年，二人共同提出了信号假说的基本设想，即肽链具有一段信号序列，可被内质网上的结合因子识别并结合，引导肽链与内质网膜结合^[18]。1972年，**Bernhard Dobberstein** 在 **G. Blobel** 工作基础上进一步深入研究核糖体及其上的新生肽链与膜的连接方式。1973年，该文发表以回答核糖体的动态组装。

接下来是 **Materials and Methods**，这里有关材料制备等一般实验技术可以进行快速介绍，但要挑出一个重要的技术详细展开，要求学生理解：

- (1) 实验技术是基于怎样的原理？
- (2) 为什么要使用这个实验技术，有何优劣？

该文的核心实验方法是离心，首先差速离心分离的是物理性质差别较大的核组分、线粒体组分，从而得到去线粒体上清 (**post-mitochondrial supernatant**)，再利用蔗糖密度梯度离心分离物理性质类似、密度差别较小粗面微粒体 (**rough microsomes**)、滑面微粒体 (**smooth microsomes**) 与游离核糖体。这二者的区别在于分离的范围和分离的精度：差速离心分离范围较大，但不够精细；蔗糖密度梯度离心恰巧弥补这一点。

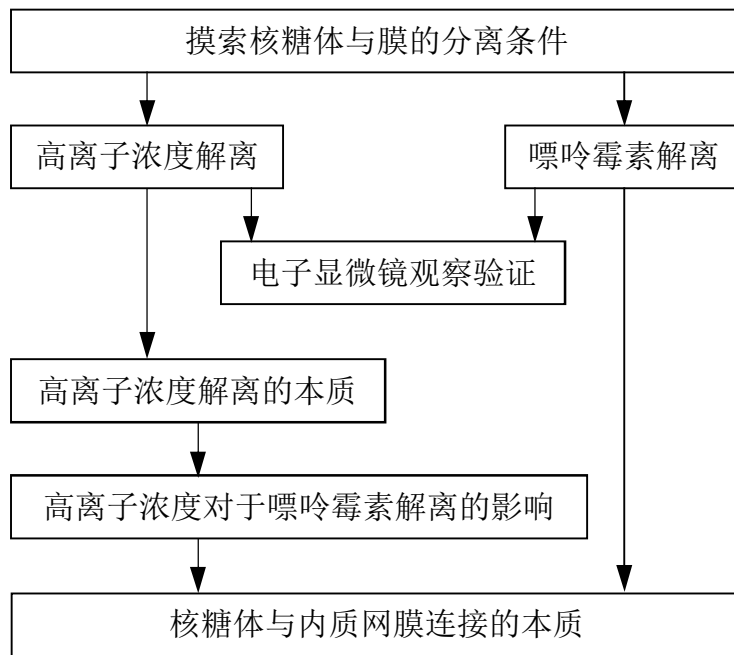


图 1 1973 年核糖体在膜上组装的论文的思路结构（修改自参考文献[16]）。

Figure 1. The framework of G. Blobel's article associated with the ribosomes assembly on the membrane published in 1973 (adapted from reference [16]).

该文 Results 部分的主线是探寻核糖体和膜分离的条件，行文思路如图 1 所示。通过这张图可以让学生抓住文章主干与核心。通过两种不同分离条件——高离子浓度以及嘌呤霉素——得出核糖体与内质网连接方式有二种：（1）大亚基与膜直接连接，（2）以新生肽链连接大小亚基与膜。为此作者设计了多组实验，验证这两种作用是否独立，实际上就是为了最终指向一个可能的假设：大小亚基与膜以新生肽链连接是可能的。

那么，这样就可让学生很快找到核心图片，针对图片，教师应该主要围绕下面两点展开。

- 1) 核心图片的结果是什么？
- 2) 该结果与主线结果之间的联系是什么？

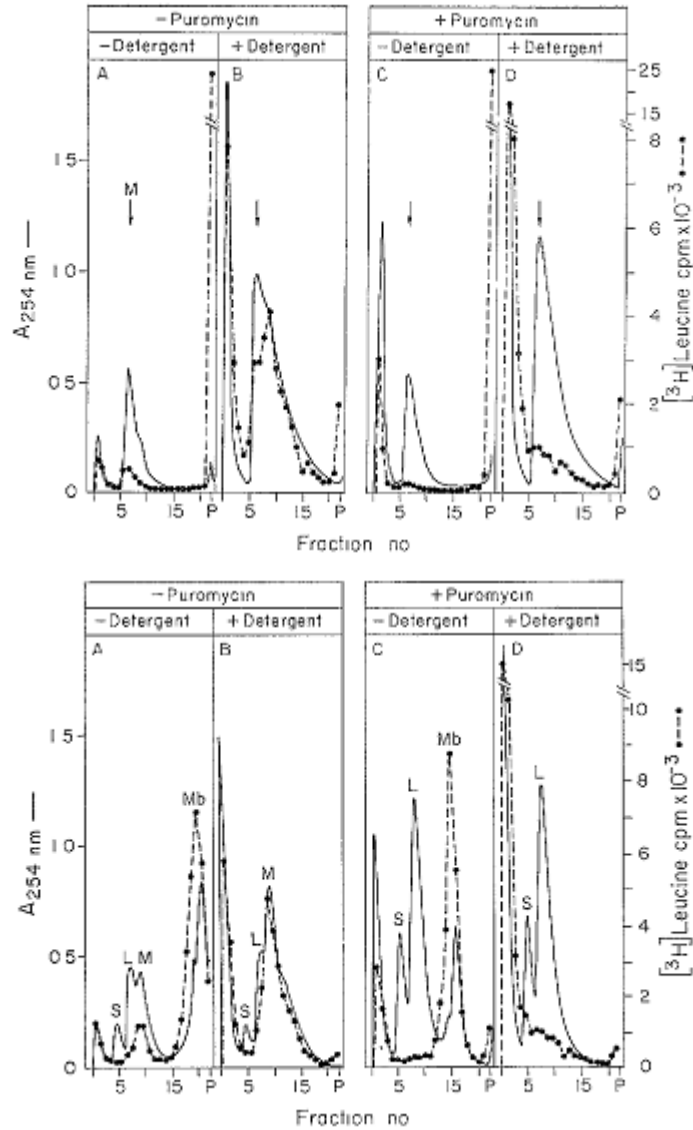


图 2 放射性同位素和吸光度来检测嘌呤霉素处理的粗面微粒体上的新生肽链的释放（见参考文献[16]中图 11 和 12）。上图示低浓度 KCl 处理，样品 C 和 D 添加嘌呤霉素。样品 B 和 D 用去污剂处理。无嘌呤霉素处理组，对比无去污剂处理组与有去污剂处理组（对比上图样品 A 和 B），发现加入去污剂核糖体组分与膜分离增加，同时新生肽链与核糖体单体共定位，证明核糖体单体与新生肽链结合。而嘌呤霉素处理组（对比上图样品 D 和 B）新生肽链不与核糖体结合，释放到上清中去，这说明嘌呤霉素使核糖体与新生肽链分离。下图示高浓度 KCl 处理，基本实验操作与上图基本相同，结果发现无嘌呤霉素处理组中，加入去污剂后（对比下图样品 B 和 A），新生肽链不再与膜组分共定位，而与核糖体共定位，同样证明核糖体与新生肽链结合。嘌呤霉素处理组中（下图样品 C 和 D），新生肽链不与核糖体的大小亚基共定位，加入去污剂后（对比下图样品 D 和 C），新生肽链自膜组分释放到上清液中去，这说明新生肽链连于膜上。综上所述，核糖体大小亚基以肽链连接在膜上。图中 P 示离心产生的微粒，箭头 M 所示为 80S 核糖体单体的位置，S 示核糖体小亚基，L 示核糖体大亚基，Mb 示膜相关组分。

Figure 2. Release of ribosomal nascent chains by treatment of rough microsomes with puromycin (cited from the Figure 11 and Figure 12 of reference [16]). The figure above was treated at low KCl. Samples C and D was treated with puromycin, while samples B and D were diluted by detergent. In puromycin-free groups, more 80S ribosomes were released from the membrane with detergent (sample B above) than without detergent (sample A above), while nascent peptides and

ribosomal monomers were co-localized in the same fractions. This indicates that the ribosomal monomers are associated with nascent peptides. In puromycin-treated group, (compared sample D to B) nascent peptides were released from ribosomes to the supernatant. This suggests that puromycin induced the separation of ribosomes and nascent peptides. The figure below was treated at high KCl. The experimental protocol was generally identical with that above. The results shows that detergent made the nascent peptides co-localized with ribosomes (sample B) instead of membranous components (sample A) in puromycin-free groups. This results prove the association between ribosomes and the nascent peptides once more. In puromycin-treated groups (samples C and D below), the nascent peptides and ribosomal subunits were localized in different fractions. Nascent peptides were released from membrane (sample C) into supernatant (sample D) with detergent. It shows that nascent peptides were bonded to the membrane. In conclusion, ribosomes are bound to the membrane by the nascent peptides. In figures, P means the pellet; the small arrow (M) shows the position of ribosomal monomer (80S), while S and L mean the small and large ribosomal subunit respectively; Mb indicates membranous components.

原文中，作者使用放射性亮氨酸标记新生肽链，观察新生肽链从核糖体的释放；未解离的核糖体存在于离心的沉淀部分，而释放的新生肽链在离心的上清。如图 2 所示，作者比较了低浓度和高浓度 KCl、有无去污剂处理时新生肽链从核糖体的释放。去污剂处理相关知识已在课程中有所提及：使用双性的去污剂分子，彻底破坏膜结构，吸附在膜上的分子全部进入上清，测量该体系内可被检测到的所有新生肽链的量。实验发现：无论是低浓度还是高浓度 KCl 溶液处理，未加入嘌呤霉素时，放射性的新生肽链始终与 mRNA 的分布相对一致；而加入嘌呤霉素后，新生肽链不因为盐浓度的不同而与 mRNA 有不同的分布。由此可知，嘌呤霉素依赖的新生肽链的释放与 KCl 的浓度无关。该结果否定了其他假设从而证明主线结果的正确。

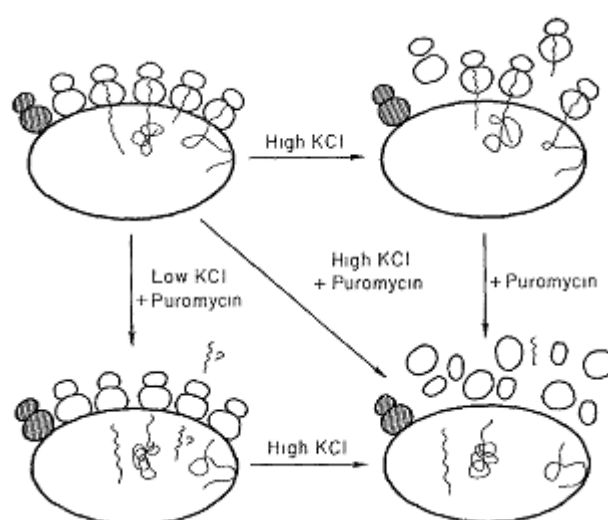


图 3 核糖体从生物膜上不同解离方式（嘌呤霉素介导解离和高浓度 KCl 介导解离）（引用自参考文献 [16]图 15）。

Figure 3. Schematic model of ribosome-membrane interaction in rat liver rough microsomes and of the mode of action of puromycin and/or high KCl (adapted from the Figure 15 of reference [16]).

引自原文的图 3 很好总结了作者当年的发现：一部分翻译不活跃或者产生肽链过短的核糖体在高浓度 KCl 下解离（无嘌呤霉素）；当加入嘌呤霉素后，拥有较长肽链的核糖体及已经完成翻译的核糖体将完全脱离，低浓度 KCl 条件下新生肽链脱离核糖体但核糖体不从内质网膜上解离，只有在高浓度 KCl 条件下失去新生肽链的核糖体才解离。从而得出全文结论：核糖体是通过新生肽链和其它较弱的作用力结合到膜上去的。

引入此文献后，很容易引发学生思考：蛋白质合成过程中核糖体是怎么连接到生物膜上去的呢？为什么要结合到膜上？自然地将教学内容从核糖体的组成及蛋白质的合成过渡到蛋白质的分选，引出了信号肽假说及其相关教学内容（相关文献解读详见附录 A2）。

五、总结

在生命科学领域，细胞生物学既是基础学科，也是研究前沿，这要求细胞生物学的教学应该同时注重基础和创新。我们在《细胞生物学》课程教学中引入原始文献阅读，对于创新能力培养进行尝试。通过介绍文章背景，引发学生兴趣；通过介绍实验技术，帮助学生巩固相关知识，并结合实验技术的具体使用，领会实验设计技巧；通过分析核心图片，引导学生理解文献的论证逻辑，学会阅读文献；通过引导讨论，引发学生进一步思考，完成对知识的“再发现”。在教师的引导下，学生主动学习，举一反三，逐步培养创新能力。据此提出了本科生阅读文献应该重视“一句话、一幅图、一种方法”的要领。

通过引入原始文献阅读，我们希望以此为改革的开始，培养学生的批判性思维，提高学生的创新能力。

参考文献 (References)

- [1] 中华人民共和国国务院. 国家中长期教育改革和发展规划纲要 (2010-2020年)[Z][D]. 2010.
- [2] Handelsman J, Ebert-May D, Beichner R, et al. Scientific teaching[J]. *Science*, 2004, 304(5670): 521-522.
- [3] Fikes L E. Advanced organic chemistry: learning from the primary literature[J]. *J. Chem. Educ*, 1989, 66(11): 920.
- [4] Murray T A. Teaching students to read the primary literature using POGIL activities[J]. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 2014, 42(2): 165-173.
- [5] Stevens C. The Cognitive Neuroscience of Sign Language: Engaging Undergraduate Students' Critical Thinking Skills Using the Primary Literature[J]. *Journal of Undergraduate Neuroscience Education*, 2015, 14(1): A66.
- [6] McDonough V. Improving journal club: Increasing student discussion and understanding of primary literature in molecular biology through the use of dialectical notes[J]. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 2012, 40(5): 330-332.
- [7] Brill G, Yarden A. Learning biology through research papers: A stimulus for question-asking by high-school students[J]. *Cell Biology Education*, 2003, 2(4): 266-274.
- [8] 赵祥强, 陈曹逸. 利用经典文献优化《遗传学》 双语教学[J]. *遗传*, 2009, 31(4): 434-438.
- [9] 马占芳, 牛焕双. 经典文献分析在研究生教学中的应用 [J]. *首都师范大学学报: 自然科学版*, 2011, 32(4): 19-22.
- [10] Abdullah C, Parris J, Lie R, et al. Critical Analysis of Primary Literature in a Master's-Level Class: Effects on Self-Efficacy and Science-Process Skills[J]. *CBE-Life Sciences Education*, 2015, 14(3): ar34.
- [11] DeBurman S K. Learning how scientists work: experiential research projects to promote cell biology learning and scientific process skills[J]. *Cell biology education*, 2002, 1(4): 154-172.
- [12] Hoskins SG, Stevens LM, Nehm RH. Selective use of the primary literature transforms the classroom into a virtual laboratory [J]. *Genetics*, 2007, 176, 1384-1389.
- [13] Hoskins S G, Lopatto D, Stevens L M. The CREATE approach to primary literature shifts undergraduates' self-assessed ability to read and analyze journal articles, attitudes about science, and epistemological beliefs[J]. *CBE-Life Sciences Education*, 2011, 10(4): 368-378.
- [14] Stevens L M, Hoskins S G. The CREATE strategy for intensive analysis of primary literature can be used effectively by newly trained faculty to produce multiple gains in diverse students[J]. *CBE-Life Sciences Education*, 2014, 13(2): 224-242.
- [15] Round J E, Campbell A M. Figure facts: encouraging undergraduates to take a data-centered approach to reading primary literature[J]. *CBE-Life Sciences Education*, 2013, 12(1): 39-46.
- [16] Adelman M R, Sabatini D D, Blobel G. RIBOSOME-MEMBRANE INTERACTION Nondestructive Disassembly of Rat Liver Rough Microsomes into Ribosomal and Membranous Components[J]. *The Journal of cell biology*, 1973, 56(1): 206-229.
- [17] Görlich D, Prehn S, Hartmann E, et al. A mammalian homolog of Sec61p and

SecYp is associated with ribosomes and nascent polypeptides during translocation[J]. Cell, 1992, 71(3): 489-503.

[18] Orci L, Stames M, Ravazzola M, et al. Bidirectional transport by distinct populations of COPI-coated vesicles[J]. Cell, 1997, 90(2): 335-349.

附录 (Appendix)

A1 细胞生物学课程设计

细胞生物学理论课主题	学时	细胞生物学文献研讨课主题	学时	研讨课讨论的文献
绪论 (Introduction)	2	如何阅读文献 (How to read a paper)	2	1958 年 Meselson M 和
细胞生物学的研究方法 (Bio-technology)	3	细胞器的分离 (Separating organelles)	2	1964 年 De Duve C 等
细胞膜 (Membrane)	4	主动运输 (Stumbling upon active transport)	2	1957 年 Skou JC 发现
细胞质与核糖体 (Cytoplasm & ribosome)	3	核糖体与内膜的互作 (Ribosome-membrane interaction)	2	1973 年 Blobel G 等人
细胞的内膜系统 (Cellular membrane systems)	8	蛋白质转运的追踪 (Following a protein out of the cell)	2	1966 年 Palade GE 等
		内膜的转运 (Membrane Trafficking)	2	1997 年 Rothman JE 等
		管状内质网的形成 (Shaping the tubular endoplasmic reticulum)	2	2006 年 Rapoport TA 等
细胞骨架 (Cytoskeleton)	3	肌肉收缩 (Looking at muscle contraction and beyond)	2	1954 年 Hanson J 等人
细胞的能量代谢 (Energy metabolism)	3	解开三羧酸循环 (Unraveling the citric acid cycle)	2	1930 年前后 Krebs 等
染色体与细胞核 (Chromosome & nucleus)	3	染色体构象 (Chromosome architecture)	2	2002 年 Dekker J 等人的工作
细胞信号转导 (Signal transduction)	4	信号转导 (The infancy of signal transduction)	2	1971 年 Krans HM 等成机制的工作
细胞分裂与细胞周期 (Cell division & cell cycle)	3	来自海洋的细胞生物学-海胆与细胞周期 (Cell biology emerges from the sea – sea urchins and cell cycle)	2	1983 年 Hunt T 等人
细胞分化和基因表达调控 (Cell differentiation & gene expression)	3	追踪细胞死亡相关基因 (Hunting down gene involved in cell death)	2	1986 年 Horvitz HR 等
细胞衰老和细胞凋亡 (Cell aging & cell death)	3	直到终点 - 端粒 (Means to an end - telomeres)	2	1982 年 Blackburn E 等
免疫系统 (Immune System)	3	癌症免疫疗法 (Cancer immunotherapy)	2	2014 年使用 CAR-T 作
癌细胞 (Cancer cell)	3	细胞转化 (Studying the transformation of cells)	2	1968 年 Dulbecco R 等

表 A1. 细胞生物学课程设计

Table A1. The schedule of *Cell Biology* course including lectures and literature-reading.

A2 细胞生物学课程细胞内膜系统模块文献分析

A2.1 核糖体在生物膜上的组装

第一篇是 Günter Blobel 小组于 1973 年发表在《The Journal of cell Biology》题为“Ribosome-Membrane Interaction: Nondestructive Disassembly of Rat Liver Rough Microsomes into Ribosomal and Membranous Components”的文章^[16]，讨论核糖体与膜的关系，解答核糖体组装的动态过程。

核糖体组装是 G. Blobel 长期关注的问题。在其从事博士后工作时，有观点认为蛋白质分选，是依靠 mRNA 与不同蛋白质结合，G. Blobel 与 David D. Sabatini 使用了 SDS-PAGE 分析了游离核糖体和内质网结合核糖体的蛋白质组分，未见显著差异。因此，他们猜测不是 mRNA，而是转录初生产物决定了蛋白质的去向。1971 年，二人共同提出了信号假说的基本设想：即肽链具有一段信号序列，可被内质网上的结合因子识别并结合，引导肽链与内质网膜结合。1972 年，Bernhard Dobberstein 在 G. Blobel 工作基础上进一步深入研究核糖体及其上的新生肽链与膜的连接方式。1973 年，该文发表以回答核糖体的动态组装。

该文的核心实验方法是离心，该技术在之前课程教学已有介绍。这里考察对于知识的运用：差速离心和密度梯度离心有什么不同？为什么要先差速离心后密度梯度离心？实验中首先差速离心分离的是物理性质差别较大的核组分、线粒体组分，从而得到去线粒体上清(post-mitochondrial supernatant)，再利用蔗糖密度梯度离心分离物理性质类似、密度差别较小粗面微粒体(rough microsome)、滑面微粒体(smooth microsome)与游离核糖体。

该文采用的实验材料是离心获得组分：微粒体。当时已经知道微粒体是粗面型内质网来源，且与蛋白质合成有关。同时也研究发现药物嘌呤霉素为氨酰 tRNA 类似物，会导致肽链过早释放，可以使核糖体从粗面内质网上分离。

该文的核心问题是探明核糖体与内质网的连接方式，mRNA 是否介导了核糖体与膜的连接？

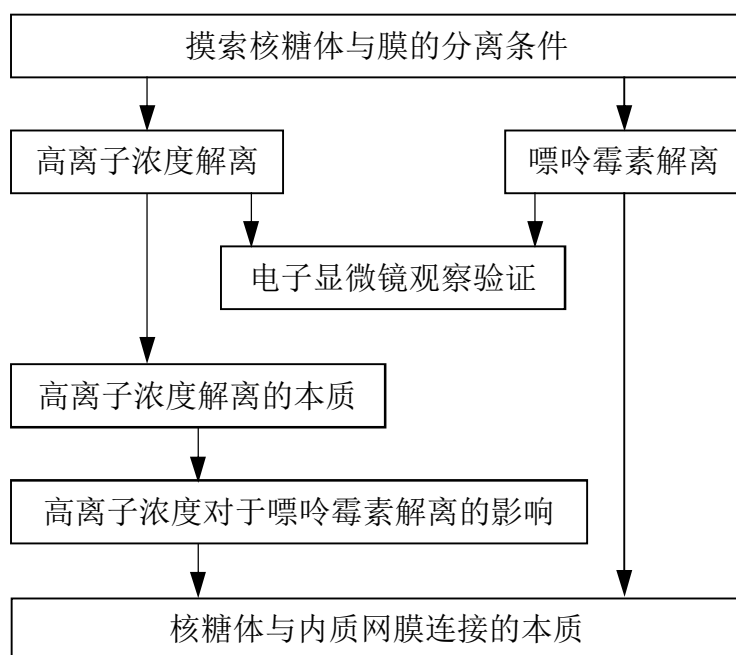


图 1 1973 年核糖体在膜上组装的论文的思路结构（修改自参考文献[16]）。

Figure 1. The framework of G. Blobel's article associated with the ribosomes assembly on the membrane published in 1973 (adapted from reference [16]).

该文主线是探寻核糖体和膜分离的条件，行文思路如图 1 所示。通过这张图可以让学生抓住文章主干与核心。通过两种不同分离条件——高离子浓度以及嘌呤霉素——得出核糖体与内质网连接方式有二种：（1）大亚基与膜直接连接，（2）以新生肽链连接大小亚基与膜。

首先，探索核糖体盐解离最适条件和不同解离方式的特点。使用一系列浓度梯度的 KCl 溶液处理粗面微粒体，鉴定出了使得核糖体大小亚基分离的最适条件；同时对照试验加入嘌呤霉素，发现嘌呤霉素有助于核糖体的分离。进一步设计实验，证明 KCl 溶液促进核糖体解离可与嘌呤霉素促进解离效果叠加。同时发现依赖 KCl 浓度的解离存在饱和效应，当浓度足够大时，继续提高浓度不能显著增加解离；在 KCl 饱和的基础上加入嘌呤霉素可使核糖体解离进一步增加。此处可以围绕如何检测核糖体的解离进行小范围的讨论：原文采用的是（1）对释放的 mRNA 的量通过吸光度进行测量，（2）使用同位素标记的氨基酸底物观察被同位素标记的新生肽链从核糖体放出。当前新技术是否有更为有效的方法？

随后，作者开始深入讨论嘌呤霉素解离与盐解离之间相互影响。按照已知的新生肽链的产生过程，作者提出了三个可能的假设：(i) 嘌呤霉素结合核糖体对盐浓度有依赖，即低浓度盐中嘌呤霉素不结合核糖体；(ii) 被嘌呤霉素作用的肽链从核糖体解离对盐浓度有依赖：嘌呤霉素在低浓度盐中结合核糖体，而新生肽链不从核糖体上解离；(iii) 肽链脱落后残留的核糖体组分从膜上解离对盐浓度有依赖，即嘌呤霉素在低浓度盐中结合新生肽链并

使之解离，但核糖体以其他形式的键结合在膜上，需要用高浓度盐才能使之解离下来。这三个假设，作者通过实验给予支持或否定，是典型的假设驱动的研究，该文应该重点讨论。

对于假设(i)：虽然之前已经证明了嘌呤霉素和解离有关，但具体机制不明：作者使用带有放射性氢标记的嘌呤霉素，检查不同盐浓度下放射性嘌呤霉素与核糖体的结合情况。发现在 KCl 浓度很低的情况下，也能够与核糖体以等摩尔比的量结合，提高 KCl 浓度能使得更多嘌呤霉素与核糖体非特异性的结合，但通过蛋白质合成阻断剂处理则无这一现象，证明了 KCl 对于嘌呤霉素特异性结合过程没有影响，假设(i)不成立。

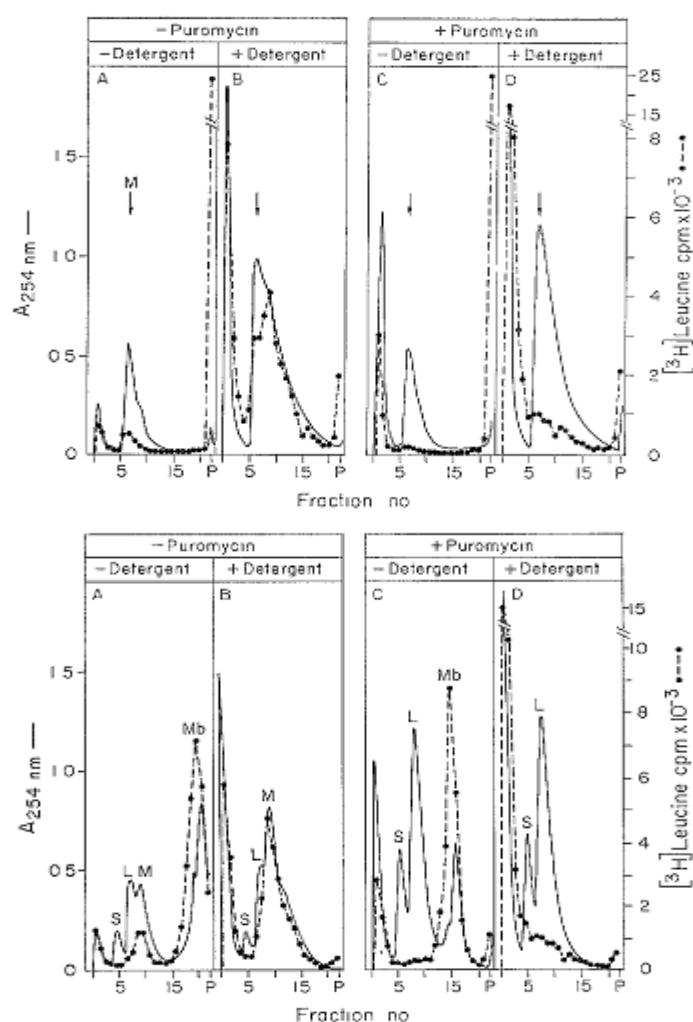


图 2 放射性同位素和吸光度来检测嘌呤霉素处理的粗面微粒体上的新生肽链的释放（见参考文献[16]中图 11 和 12）。上图示低浓度 KCl 处理，样品 C 和 D 添加嘌呤霉素。样品 B 和 D 用去污剂处理。无嘌呤霉素处理组，对比无去污剂处理组与有去污剂处理组（对比上图样品 A 和 B），发现加入去污剂核糖体组分与膜分离增加，同时新生肽链与核糖体单体共定位，证明核糖体单体与新生肽链结合。而嘌呤霉素处理组（对比上图样品 D 和 B）新生肽链不与核糖体结合，释放到上清中去，这说明嘌呤霉素使核糖体与新生肽链分离。下图示高浓度 KCl 处理，基本实验操作与上图基本相同，结果发现无嘌呤霉素处理组中，加入

去污剂后（对比下图样品 B 和 A），新生肽链不再与膜组分共定位，而与核糖体共定位，同样证明核糖体与新生肽链结合。嘌呤霉素处理组中（下图样品 C 和 D），新生肽链不与核糖体的大小亚基共定位，加入去污剂后（对比下图样品 D 和 C），新生肽链自膜组分释放到上清液中去，这说明新生肽链连于膜上。综上所述可知，核糖体大小亚基以肽链连接在膜上。图中 P 示离心产生的微粒，箭头 M 所示为 80S 核糖体单体的位置，S 示核糖体小亚基，L 示核糖体大亚基，Mb 示膜相关组分。

Figure 2. Release of ribosomal nascent chains by treatment of rough microsomes with puromycin (cited from the Figure 11 and Figure 12 of reference [16]). The figure above was treated at low KCl. Samples C and D was treated with puromycin, while samples B and D were diluted by detergent. In puromycin-free groups, more 80S ribosomes were released from the membrane with detergent (sample B above) than without detergent (sample A above), while nascent peptides and ribosomal monomers were co-localized in the same fractions. This indicates that the ribosomal monomers are associated with nascent peptides. In puromycin-treated group, (compared sample D to B) nascent peptides were released from ribosomes to the supernatant. This suggests that puromycin induced the separation of ribosomes and nascent peptides. The figure below was treated at high KCl. The experimental protocol was generally identical with that above. The results shows that detergent made the nascent peptides co-localized with ribosomes (sample B) instead of membranous components (sample A) in puromycin-free groups. This results prove the association between ribosomes and the nascent peptides once more. In puromycin-treated groups (samples C and D below), the nascent peptides and ribosomal subunits were localized in different fractions. Nascent peptides were released from membrane (sample C) into supernatant (sample D) with detergent. It shows that nascent peptides were bonded to the membrane. In conclusion, ribosomes are bound to the membrane by the nascent peptides. In figures, P means the pellet; the small arrow (M) shows the position of ribosomal monomer (80S), while S and L mean the small and large ribosomal subunit respectively; Mb indicates membranous components.

对于假设(ii)，作者使用放射性亮氨酸标记新生肽链，观察新生肽链从核糖体的释放；未解离的核糖体存在于离心的沉淀部分，而释放的新生肽链在离心的上清。如图 2 所示，作者比较了低浓度和高浓度 KCl、有无去污剂处理时新生肽链从核糖体的释放。去污剂处理相关知识已在课程中有所提及：使用双性的去污剂分子，彻底破坏膜结构，吸附在膜上的分子全部进入上清，测量该体系内可被检测到的所有新生肽链的量。实验发现：无论是低浓度还是高浓度 KCl 溶液处理，未加入嘌呤霉素时，放射性的新生肽链始终与 mRNA 的分布相对一致；而加入嘌呤霉素后，新生肽链不因为盐浓度的不同而与 mRNA 有不同的分布。由此可知，嘌呤霉素依赖的新生肽链的释放与 KCl 的浓度无关；否定了假设(ii)。

于是，只有假设(iii)可能成立，即：肽链脱落后核糖体组分（包括 mRNA）仍连在膜上，该核糖体组分从膜上解离有盐浓度的依赖。通过对图 2 的再分析，无嘌呤霉素处理有去污剂处理对比有嘌呤霉素处理无去污剂处理，低盐体系对比高盐体系有着完全不同的新生肽链的分布，这支持假设(iii)。

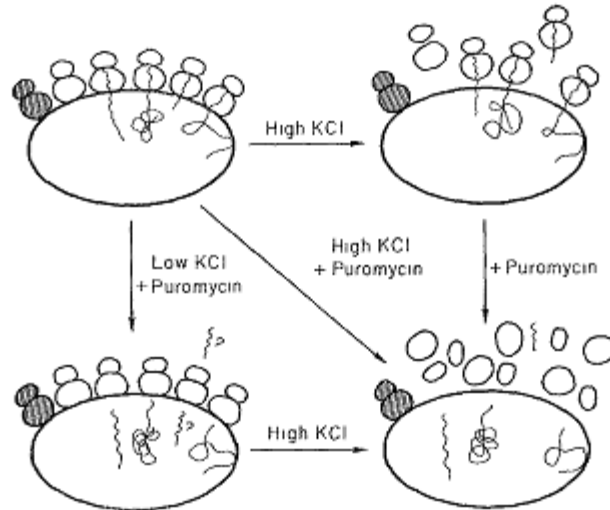


图 3 核糖体从生物膜上不同解离方式（嘌呤霉素介导解离和高浓度 KCl 介导解离）（引用自参考文献 [16]图 15）。

Figure 3. Schematic model of ribosome-membrane interaction in rat liver rough microsomes and of the mode of action of puromycin and/or high KCl (adapted from the Figure 15 of reference [16]).

引自原文的图 3 很好总结了作者当年的发现：一部分翻译不活跃或者产生肽链过短的核糖体在高浓度 KCl 下解离（无嘌呤霉素）；当加入嘌呤霉素后，拥有较长肽链的核糖体及已经完成翻译的核糖体将完全脱离，低浓度 KCl 条件下新生肽链脱离核糖体但核糖体不从内质网膜上解离，只有在高浓度 KCl 条件下失去新生肽链的核糖体才解离。从而得出全文结论：核糖体是通过新生肽链和其它较弱的作用力结合到膜上去的。

在《细胞生物学》教学中引入此文献后，很容易引发学生们的思考：蛋白质合成过程中核糖体是怎么连接到生物膜上去的呢？为什么要结合到膜上？自然地将教学内容从核糖体的组成及蛋白质的合成过渡到蛋白质的分选，引出了信号肽假说及其相关教学内容。

A2.2 新生肽链在生物膜上的转位

第二篇是 Tom A. Rapoport 小组于 1992 年发表在《Cell》上题为“A Mammalian Homolog of Sec61p and SecYp Is Associated with Ribosomes and Nascent Polypeptides during Translocation”的文章^[17]，关注核糖体新生肽链的转位。Sec61p 在蛋白质在内质网膜转位的过程中起重要作用，本论文研究的是 Sec61p 在哺乳动物中的同源蛋白质。课程教学中已经介绍到了的“信号假说”。

该文的核心技术是蛋白质鉴定与体外体系重建。蛋白质鉴定相关知识已有介绍，此处着重介绍的是细胞生物学的一种经典的研究方法——体外体系重建：分离纯化感兴趣的蛋白

质，构建与该蛋白质功能可能相关的体外体系，在该体外体系中去除或添加感兴趣的蛋白质及突变体，观察体外体系的产物的变化，从而判断对该蛋白质功能的理解是否正确。

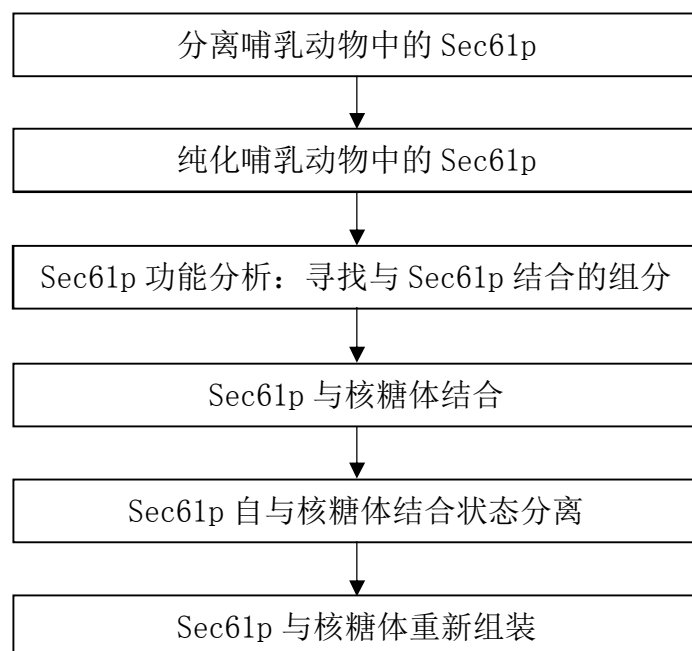


图 4 新生肽链转位论文思路结构示意图 (修改自参考文献[17])。

Figure 4. The framework of the article about the translocation of nascent polypeptides (adapted from reference [17]).

第一步，作者寻找 Sec61p 在哺乳动物细胞中存在的类似同源蛋白质。因为同源蛋白质也参与新生肽链的膜转位过程。作者用两种蛋白质（pro- α -factor 和 prolactin）的新生肽链的片段与微粒体反应，通过光交联捕获到膜上与肽链跨膜转位相关的蛋白质，获得了与 Sec61p 同源的哺乳动物来源蛋白质。

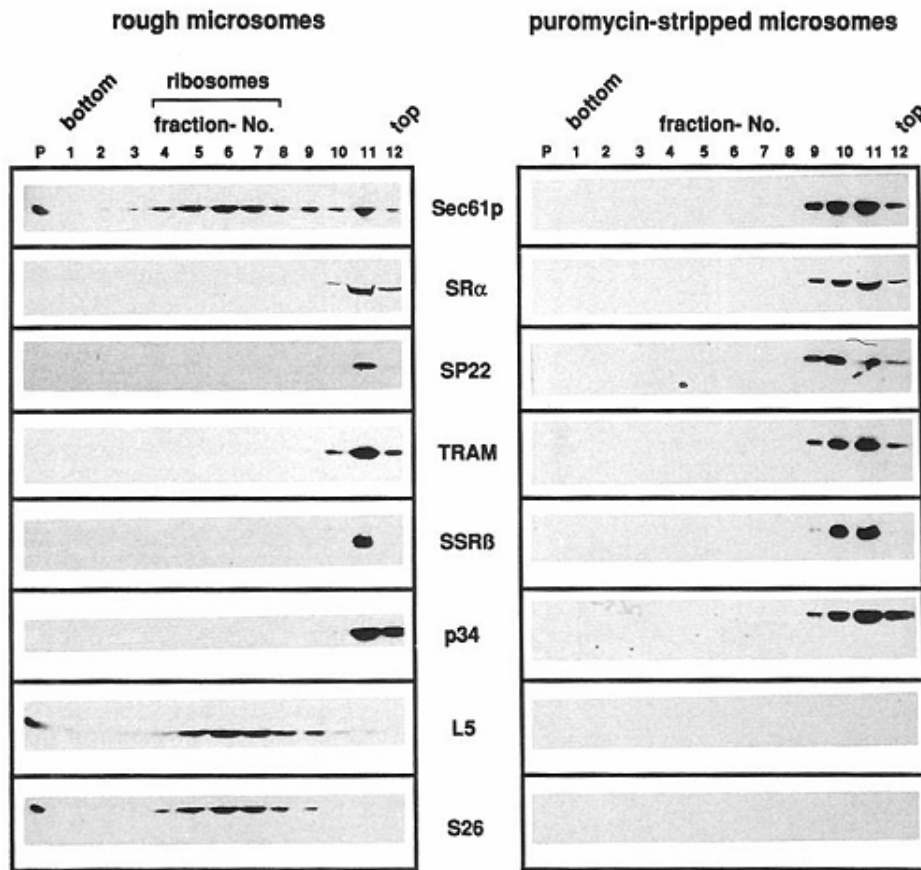


图 6 Sec61p 与核糖体的结合（引自参考文献[17]图 7）。粗面微粒体或无核糖体微粒体（嘌呤霉素处理产生）的离心所得组分先以 SDS-PAGE 分离，随后进行免疫印迹分析，这里使用了多种抗体：Sec61p 的 N 端、信号识别颗粒受体 α 亚基（记为 SR α ）、22 kd 信号肽酶亚基（记为 SP22）、膜连转位肽链的 C 端（记为 TRAM）、信号序列受体的 N 端（记为 SSR β ）、可能核糖体受体 p34、核糖体蛋白质 L6 和 S26。P 表示离心小颗粒组分。未加入嘌呤霉素时沉淀和组分 4-8 与 Sec61p 抗体和核糖体组分抗体有免疫反应，组分 10-12 则与 Sec61p 抗体和核糖体受体、信号肽酶抗体有反应，这说明了 Sec61p 既与核糖体结合，又和信号肽结合。接下来加入嘌呤霉素，结果显示只有组分 9-12 与 Sec61p 抗体和与核糖体受体、信号肽酶抗体有反应，而与核糖体组分没有反应。上述实验，说明 Sec61p 可以通过与信号肽结合进而与核糖体形成了复合体，也可以与核糖体直接结合。

Figure 6. Association of Sec61p with Ribosomes (cited from the Figure 7 of reference [17]). The fractions of rough microsomes or microsomes stripped of ribosomes by puromycin treatment were analyzed by SDS-PAGE and subsequent immunoblotting using various antibodies (Sec61p [N-terminus], SR α , 22 kd subunit of the signal peptidase [SP22], TRAM [C-terminus], SSR β [N-terminus], the putative ribosome receptor p34, the ribosomal proteins L6 and S26). P indicates the pellet fraction. Without puromycin, fractions 3-9 bound to antibodies of Sec61p and ribosomal proteins, and fractions 10-12 bound antibodies of Sec61p, ribosome receptor and signal peptidase. These results show that Sec61p is associated with ribosome, as well as signal peptide. With puromycin, fractions 10-12 bound to antibodies of Sec61p, ribosome receptor and signal peptidase instead of ribosomes. These results show that Sec61p may be associated with ribosome directly or indirectly (via binding to signal peptide).

接下来应鉴定 Sec61p 的其他功能。Sec61p 与新生肽链的连接已经证明，紧接着证明下 Sec61p 与核糖体之间的联系。

第四步，如图 6 所示，用免疫印迹的方法证明了 Sec61p 与核糖体可以通过新生肽链（信号肽）相连，也可以直接与核糖体相连。进一步使用嘌呤霉素的实验验证了这一点。

对于上述发现功能，作者又通过体外重建进行了验证，先通过嘌呤霉素和高浓度盐溶液处理，把 Sec61p 从微粒体膜上分离出来，接下来再把核糖体和 Sec61p 孵育在一起，发现无嘌呤霉素处理，Sec61p 和核糖体在离心的同一组分中，嘌呤霉素处理则使之不在同一离心组分中，从而说明 Sec61p 与核糖体的结合是非共价的可逆结合。随后，通过利用 Sec61p 的抗体检验，发现：高浓度盐溶液使得微粒体上的核糖体解离，从而使 Sec61p 与微粒体解离；再重建带有核糖体的微粒体的体系，发现 Sec61p 和核糖体的结合形成的复合物可以连接在微粒体上，这种连接是盐浓度敏感的，而同时带有新生肽链的核糖体连接在微粒体上。同时，还发现 Sec61p 与核糖体的相结合是发生在转录并且新生肽链与 SRP 结合之后。

这篇文章通过体外重建实验证明了哺乳动物细胞内蛋白质在内质网上膜上通过 Sec61p 进行转位，从而使学生对蛋白质在内质网上的转位和“信号假说”有了更加全面的了解，这有利于学生加深对于“信号假说”的理解。

A2.3 蛋白质通过囊泡的转运

第三篇是 James E. Rothman 小组于 1997 年发表在《Cell》上题为“Bidirectional Transport by Distinct Populations of COPI-coated Vesicles”的文章，讨论的是蛋白质通过囊泡转运的方向。该文的阅读被安排在课程教学囊泡转运部分，课堂上在介绍三种不同类型的有被囊泡时，强调 COPII 囊泡负责顺向转运，COPI 囊泡负责反向转运，该文的核心问题是：同一类型有被囊泡的转运方向是否相同？该文有利于培养学生的批判性思维。

该文的实验技术主要是电子显微镜和胶体金标记。对于体内和体外的实验，作者都进行了定性和定量的证明。

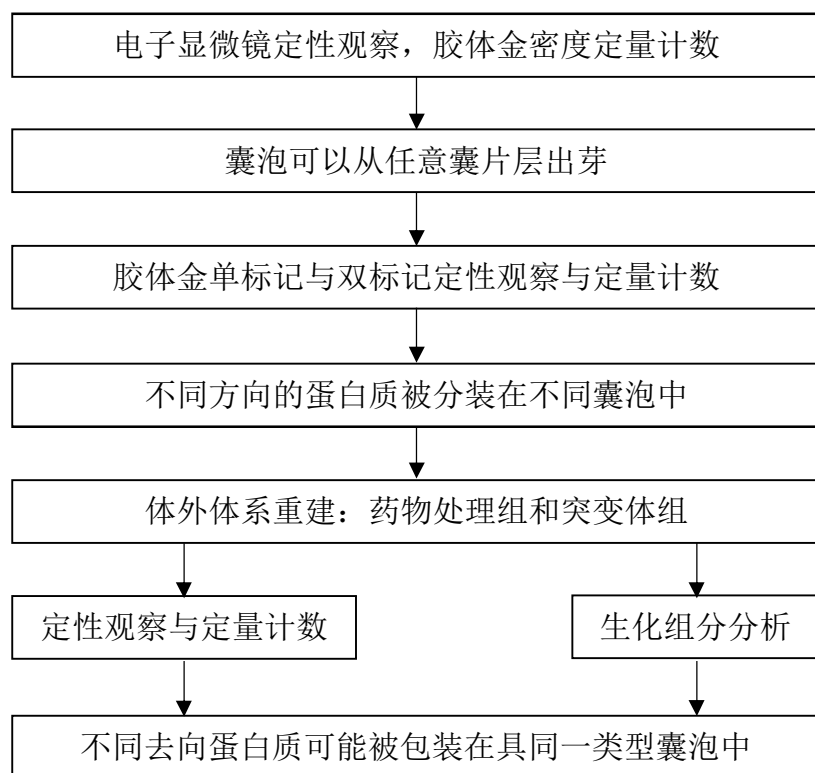


图 7 囊泡转运论文的思路结构（修改自参考文献[18]）。

Figure 7. The framework of the article about vesicles transport (adapted from reference [18]).

文章结论显然要先描述体内实验现象，但在此之前要先验证实验体系的正确性。第一部分关注 COPI 囊泡从高尔基体上出芽的过程，以此证明胶体金法的有效性：对比电子显微镜的结果和胶体金免疫法标记包被蛋白质的结果，发现产生胰岛素的有被小泡与包被蛋白质的胶体金有共定位。对于包被蛋白质不同亚基和囊泡转运的不同货物在囊泡、出芽小泡和高尔基体囊上标记情况的进一步定量，验证了药物 NEM（N-乙酰马来酰胺，N-ethylmaleimide）的作用：抑制 NSF（N-乙酰马来酰胺敏感因子，N-ethylmaleimide-sensitive factor）导致无被小泡的形成。同时，作者发现囊泡可以从高尔基体的任意片层出芽。

接下来第二部分，发现顺行和逆行的货物是用同一类型的囊泡分开转运的。首先胶体金单标记电子显微镜检查，结果显示胰岛素及胰岛素原分别位于成熟分泌泡及非成熟分泌泡，同时单标记镜检示 KDEL 受体多于顺面。如图 8 所示，用不同尺寸的胶体金颗粒分别标记 KDEL 受体及胰岛素原后镜检，结果显示这两种蛋白质位于不同区域，而且似乎以不同包被蛋白质包被。

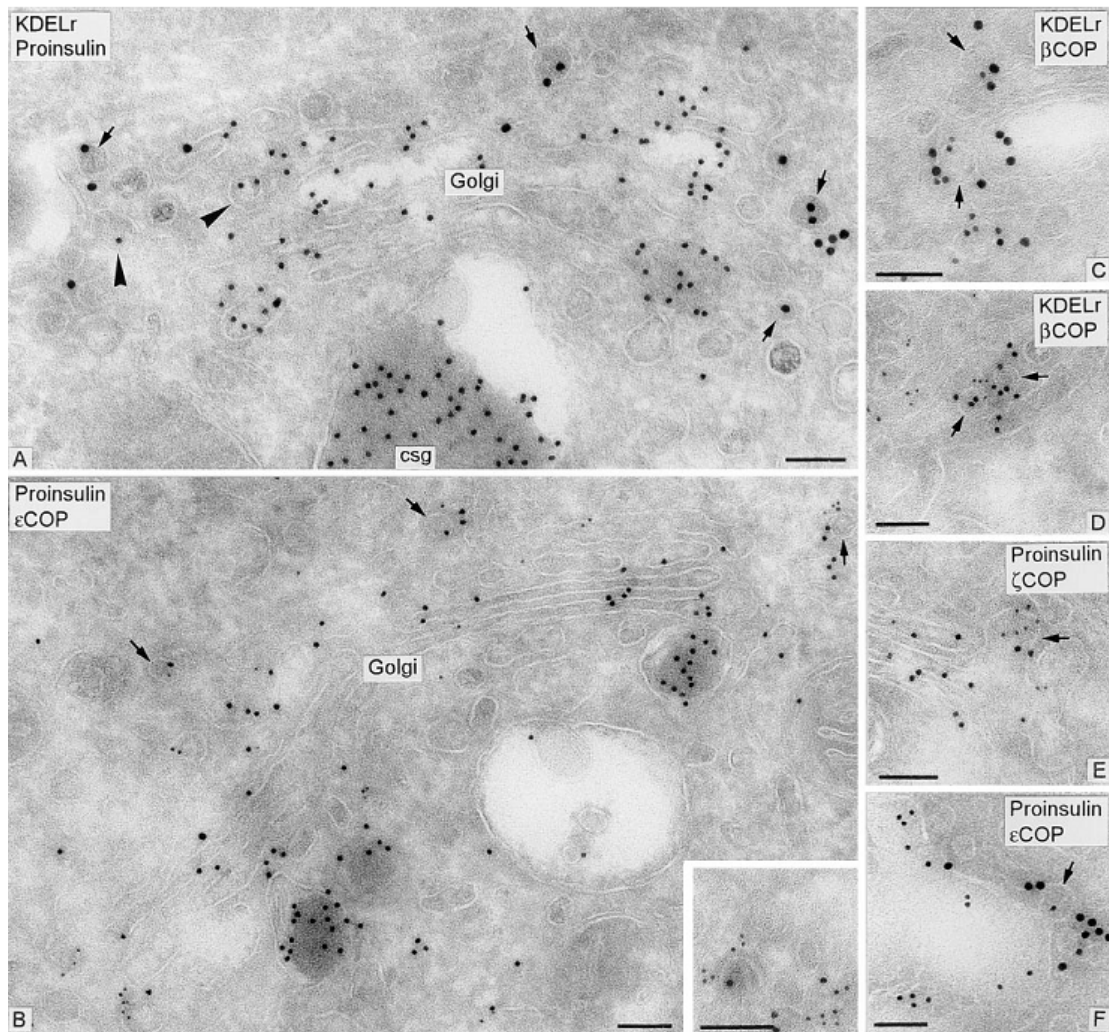


图 8 胰岛素分泌细胞的 KDEL 受体、包被蛋白质亚基和顺向转运货物蛋白质（胰岛素原）共定位的冷冻切片（引用自参考文献[18]图 3）。 (A)、(B)、(E)和(F)中胰岛素原以 10nm 胶体金标记。KDEL 受体（记为 KDELr）在(A)和(C)中以 15nm 胶体金标记，在(D)中是 6nm。在(C)和(D)中， β -COP 以 10nm 胶体金标记。 ϵ -COP 在(B)中为 6nm 胶体金，在(F)中为 15nm 胶体金。 ζ -COP 在(E)中以 6nm 胶体金标记。(A)示胰岛素原和 KDEL 受体不共定位在同一囊泡中，而后面的实验证明转运胰岛素原和 KDEL 受体的囊泡是被不同的包被蛋白质包被的：KDEL 受体主要是 β -COP，胰岛素原是 ζ -COP 和 ϵ -COP。比例尺为 100nm。

Figure 8. Colocalization of KDEL Receptor, Coatamer Subunits, and Anterograde-Directed Cargo Protein (Proinsulin) on Frozen Thin Sections of Insulin-Containing Cells (cited from the Figure 3 of reference [18]). In (A), (B), (E) and (F), proinsulin was labeled with 10 nm gold. KDEL receptor (KDELr) was labeled with 15 nm gold in (A) and (C), as well as 6 nm gold in (D). In (C) and (D), β -COP was marked with 10 nm gold. ϵ -COP was marked with 6 nm gold in (B) and 15 nm gold in (F). ζ -COP was marked with 6 nm gold in (E). (A) shows KDEL receptor and proinsulin are less likely to be transported in the same vesicle. The vesicles with proinsulin and KDEL receptor are coated by distinct coatamers: the vesicle with KDEL receptor was coated by β -COP while the coatamers of proinsulin were ζ -COP and ϵ -COP. The scale bars represent 100 nm.

接着是定量证明上面结论，通过对于囊泡和芽泡的区域胶体金计数，发现 KDEL 受体

及胰岛素原确实在不同区域，并且在使用 NEM 去除了包被蛋白质之后，依然无共定位，这很能说明转运的特异性不仅仅是由包被蛋白质决定的；另一方面， β -COP 与 KDEL 受体有部分共定位， ϵ -COP 和 ζ -COP 与胰岛素原有部分共定位，说明了包被蛋白质是参与了转运特异性决定的。

按照文章思路，应该体外体系重建证明体内现象，最后一部分，将胞内实验发现同一类型有被囊泡双向转运的现象在体外重建。如表 1 所示，体外重建与体内一致， ζ -COP 参与了 VSV G 蛋白质转运， β -COP 参与 KDEL 受体转运。

Table 5. Colocalization of Coatamer, KDEL Receptor, and VSV G Protein in the 70–90 nm vesicles and Buds in Golgi Areas of VSV-Infected Insulin-Secreting Cells and in Vesicles and Buds Forming in Cell-Free Systems

Experiment	Material	Structure	Vesicles or Buds (% [Mean \pm SEM])			Summary
			ζ -COP Only	VSV G Only	Both Proteins	
(1)	VSV-infected insulin cells	Vesicles	37 \pm 4	18 \pm 4	9 \pm 3	39% \pm 11% of VSV G-positive vesicles also stain for ζ -COP
		Buds	35 \pm 9	18 \pm 4	18 \pm 6	32% \pm 11% of VSV G-positive buds also stain for ζ -COP

Experiment	Material	Structure	Vesicles or Buds (% [Mean \pm SEM])				Summary		
			β -COP Only	ζ -COP Only	KDEL Receptor Only	VSV G Only		Both Proteins	
(2)	Cell-free transport Golgi + cytosol + GTP γ S	Vesicles		27 \pm 2		25 \pm 2	8 \pm 1	25% \pm 3% of VSV G-positive vesicles also stain for ζ -COP	
(3)	"	Vesicles	20 \pm 3		14 \pm 2		6 \pm 2	30% \pm 6% of KDELr-positive vesicles also stain for β -COP	
		Buds	18 \pm 4		15 \pm 3		3 \pm 1	16% \pm 7% of KDELr-positive buds also stain for β -COP	
(4)	"	Vesicles			13 \pm 1		17 \pm 2	1 \pm 0.3	No significant colocalization ($p < 0.008$).
		Buds			13 \pm 1		22 \pm 2	1 \pm 0.3	No significant colocalization ($p < 0.0003$).

表 1 细胞内实验与细胞外实验对于囊泡转运方向的验证（自参考文献[18]表 5，上表为引用原文，下表为教学中为便于学生理解进行的修改）。(1) VSV-感染胰岛素分泌细胞发现 VSV G 蛋白质与 ζ -COP 有部分共定位，体内验证了 ζ -COP 参与了 VSV G 蛋白质转运。(2)-(4) 体外重建高尔基体、细胞质与 GTP γ S 混合，显示 β -COP 与 KDEL 受体有部分共定位， ζ -COP 与 VSV G 蛋白质有部分共定位，而 KDEL 受体与 VSV G 蛋白质无共定位，体外实验证明 COPI 参与不同方向囊泡转运。

Table 1. Identification of vesicle transport direction by cellular and extracellular experiments (from the Table 5 of reference [18]; the table above from the primary literature and the table below adapted for the comprehension in teaching). (1) shows that in the vesicles of VSV-infected insulin cell, VSV G protein was partially co-labeled with ζ -COP. This indicates that the transport of VSV G protein was associated with ζ -COP in the cell. (2)-(4) show that in the cell-free system (cell-free transport Golgi + cytosol + GTP γ S), KDEL receptor was partially co-labeled with β -COP, while VSV G protein was partially co-labeled with ζ -COP.

作者还使用了生化方法进一步验证，按照会不会受到 VSV G 蛋白质抗体影响，有被小泡可以分成 VSV G 蛋白质小泡和 KDEL 受体小泡。上述结果有力地说明了蛋白质囊泡的转

运方向与包被蛋白质有关，但不是完全由包被蛋白质决定方向，也与囊泡转运的货物有关。

这篇文献在教学中很好地引入到囊泡转运这一部分，通过文章将这些内容串联起来，有助于学生进一步理解蛋白质分选与囊泡转运的过程。同时，该文强调的批判性思维也是十分重要的：课堂上介绍的内容是一般性的理论，但是在实际科研中，例外总是存在，这种例外很有可能就是完善理论的基础，这对于基础研究而言意义重大。这种批判性思维的培养，很大程度上要依赖对于原始工作的了解，比如对于实验设计的理解：当学生了解了实验是如何设计，实验是如何进行，才能了解到验证这个假设的关键——核心问题是什么？从而引发批判性思考——验证假设的实验设计缺陷在何处？而这正是创新能力培养的关键，即通过已有知识“举一反三”，这样才能够切实提高创新能力和水平。