

生命奥义

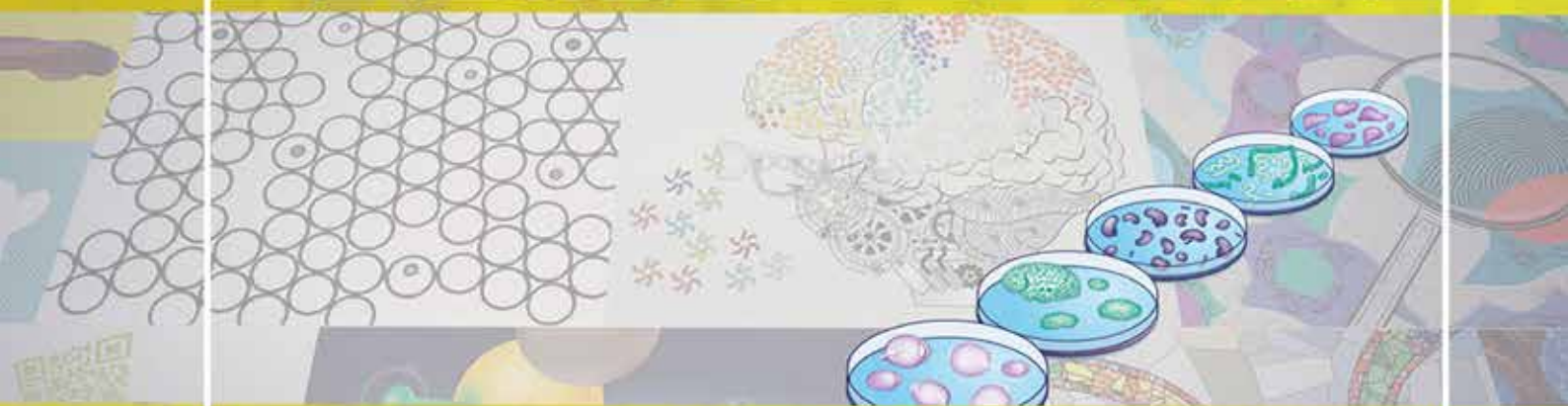
LifeOmics

2018年 4月刊 总第104期

2017年

Nature Methods

年度技术：类器官



深度学习技术在生物学方面的应用

乌贼能听到“逼近的险情”

无奇不有
生命世界
解读生命
走进科学

目录 : CONTENTS

专 题 — 2017年Nature Methods年度技术：类器官

前言	01
一、关于类器官	02
1. 类器官简介	02
2. 潜在应用——类器官：身体建筑单位	04
3. 机遇和挑战——类器官助力人类大脑发育和疾病研究	10
4. 类器官成像技术揭示类器官研究的美好未来	13
二、值得关注的重要技术与方法学领域的发展	19
1. 超分辨率荧光显微技术	19
2. 空间转录组学	20
3. 获取动态的3D基因组图谱	20
4. 转化电生理学	21
5. 质谱成像技术获得大发展	21
6. DNA条形码技术	22
7. 新型X射线自由电子激光装置（XFEL）	23
8. 神经科学中的机器学习	23

下一期（2018年5月刊）预告：癌症疗法的前沿进展

下一期《生命奥秘》将以《癌症疗法的前沿进展》为专题。尽管癌症的遗传复杂性为我们开发癌症疗法带来了许多艰巨的挑战，但研究人员不断努力，最终在四个方面取得了新进展，这四个方面包括肿瘤表观遗传学、PARP抑制剂、RAS蛋白和泛素-蛋白酶系统。

热点

深度学习技术在生物学上的应用	28
----------------------	----

百态

乌贼能听到“逼近的险情”	35
象鼻虫？那家伙太难下嘴了	38

专题

2017年 Nature Methods 年度技术：类器官

前言

每年年底，《自然方法》（*Nature Methods*）都会对过去一年中推动生物学发展的技术方法做出回顾与总结，由此评选出当年最受瞩目、影响力最大的技术。2017年，类器官（organoids）荣膺*Nature Methods*年度生命科学技术。



关于类器官

1. 类器官简介

干细胞来源的类器官简述：它们是如何制造出来的，制造面临的挑战是什么？

类器官是一种模拟相应体内器官，可用于在培养皿中研究该器官的各个方面的3D多细胞体外组织构建体。尽管3D组织培养已经有几十年的历史了，但是类器官（organoid）这个词现在最常用来描述来源于干细胞的构建体。这些干细胞可能是多潜能的（来自胚胎或被诱导的）干细胞，也可能是来自各种器官的成体干细胞。科学家们认为，体外构建类器官的过程接近自然发育或组织维持过程。初始干细胞的

发育潜力会影响类器官的复杂程度。本文主要集中讨论相对复杂的由多潜能干细胞衍生的类器官。

对由胚胎干细胞衍生的皮质组织和由成体干细胞衍生的肠组织的早期研究显示了干细胞形成复杂结构的能力。到现在大约十年的时间科学家们已经报道了模拟（但不完全）大脑、视网膜、肠胃、肾脏和肝脏等器官的类器官。

构建类器官的方法

一些使用多潜能干细胞构建类器官的方法给予细胞最少的分化信息，然后就放任这些细胞（除了提供适当的生长条件和营养素之外），利用干细胞固有的自组织特性，或者随机过程来使组织成形。例如，一种构建大脑类器官的方法是将来自人多潜能干细胞（human pluripotent stem cells, hPSC）的神经外胚层胚体置于培养基中，但不给予细胞更多的外部线索。这种方法可以形成大脑区域的许多结构，包括皮层，但也可以形成一些中胚层和内胚层的细胞谱系。另一些方法则基于已有的知识，为干细胞提供信号，诱导其定向分化成中

枢神经系统的特定区域。例如，区域特异性脑类器官是通过诱导hPSC发育成前脑背侧或腹侧结构而形成的。

利用成体干细胞构建类器官，通常需要给予在组织损伤或稳态维持中控制组织修复的信号。例如，如果想利用来自于胃肠道器官中的成体干细胞构建上皮类器官，那么就需要施加Wnt信号传导的激动剂（还有其它信号因子，包括嵌入基质胶中（Matrigel，富含多种胞外基质蛋白的培养基）），以维持细胞并形成类似体内的细胞类型。

挑战比比皆是

虽然类器官是研究人类进程和结构很有前途的模型，但距离完美还十分遥远。这些挑战来自这样一个事实：这些培养物比研究人员经常使用的体外模型更复杂，但是相对而言还不够复杂。

几种类器官包含的细胞类型很多，科学家们也在努力研究这些类器官能在多大程度上模拟真实组织。当然，许多类器官缺乏重要的组成部分。例如，类器官通常缺乏脉管系统和免疫细胞。这意味着它们在没有细胞死亡的情况下可以生长的程度是有限的，并且它们不能用于研究需要这些组分的过程。某些类型的类器官也不能完全模拟它们所模拟的器官的结构。例如，研究人员用来定位体内大脑的解剖学标记通常不能应用于大脑类器官。最后，hPSC

衍生的类器官中的细胞相对不成熟；而且在大多数情况下，它们与胚胎组织的表达谱相近。

另一方面，因为多能干细胞衍生的类器官比干细胞分化得来的2D单层培养物复杂得多，所以它们可能具有相当大的可变性。干细胞领域已经接受了这样的事实，即不同的hPSC系中倾向于分化的细胞类型有很大差异。在类器官中，可变性可以在许多水平上存在——在不同起始细胞系或基因型得到的类器官之间，在来自相同起始干细胞的多种类器官之间，在同一培养皿中的多个类器官之间，甚至在单一类器官本身的各区域之间。这些模型能被可靠地应用于体外研究细胞和分子表型的一个前提是，将这种差异性最小化，至少是可控化的。

复杂度和可控化增加

科学家们正在采取几种创造性的方法来构建更先进的类器官。一种新方法是通过“融合”已经定向分化并单独生长的类器官，来生成更复杂的构建体。几个团队报道了前脑球体类器官的构建，就是先单独培养几个部分，然后通过物理性接触将几个部分融合起来。这可能代表了一种从简单类器官开始，逐步构建复杂器官的策略。

在另一种方法中，研究人员使用成分明确的生物凝胶代替了肠道类器官培养中使用的

Matrigel。这些生物凝胶能提供干细胞增殖和类器官形成的信号传导和机械性质。精确地定义类器官的培养需求也能减小类器官的可变性。其他研究人员报道了一种“导向性自组织”（guided self-organization）策略，即在纤维支架上培养细长的类器官。据报道，这种方法得到的类组织差异性较小，且分化较好。类似的工程化方法可能是培养越来越复杂，但可控度越来越高的类器官的一种重要手段。

2. 潜在应用

——类器官：身体建筑单位

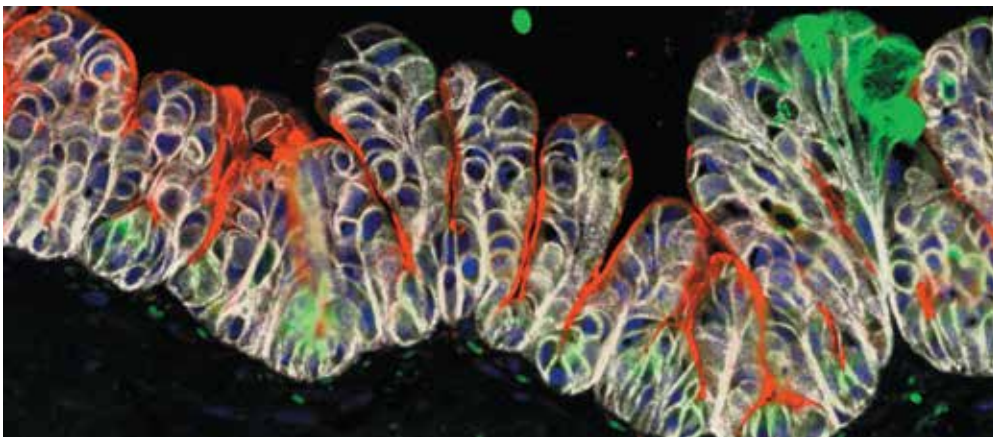
干细胞来源的类器官（organoid）正在不断地为我们提供更加精细的研究模型，以供科研人员们研究人体发育和各种疾病之用，同时，这些类器官也可以为精准医学（precision medicine）研究效力。

生物学家们早就知道，在每一个干细胞内，都隐藏着一个静待发育的器官。但是，他们直到最近才找到可以在体外培养条件下，可靠而又方便地释放干细胞这种潜能的实验方法。现在，科研人员们只需要使用非常简单的实验操作，就可以将干细胞诱导生成具有3D结构、而且能够模拟人体天然器官结构和功能的类器官。目前人们已经可以构建包括结肠、大脑等器官在内的多种类器官。荷兰Hubrecht研究所（Hubrecht Institute in the Netherlands）的Hans Clevers 是类器官研究领域的领军人物，据他介绍，人体这些干细胞已经进化了数亿年，它们发育生成器官的能力是我们难以置信的。

很多科研人员都是在偶然之间认识到干细胞的这种能力的。比如，Madeline Lancaster 获得的大脑类器官就是在一次试验中偶然得到的。当时还在奥地利分子生物学研究所（Institute of Molecular Biology in Austria）

Jürgen Knoblich 实验室从事博士后研究的Lancaster正在体外培养小鼠的神经干细胞。据她回忆，她们做实验时使用了一些试剂，这些试剂的作用就是帮助细胞更好地贴附在培养皿上，但是试剂可能出现了一点问题，所以细胞的贴壁并不是特别好。但幸运的是，这个意外让那些悬浮生长的干细胞生成了有趣的3D立体球形结构。接下来，Lancaster 将这些球形结构又转移到固体培养基中，这些细胞也就自然而然地生成了简单的大脑皮层结构了。

当然，这些原始的细胞团块还只是一个开始，从事相关研究的科研人员正在努力地让类器官变得更加精细，更能代表体内的真实器官，同时也需要让类器官的发育过程变得更加可靠。这些辛勤工作是非常有价值的，之前的研究曾指出，类器官对于发育生物学、疾病和再生医学等诸多科研领域的研究工作都具有非常重要的作用。



这就是Jason Spence 实验室利用iPS细胞培育出的小肠类器官。他们在这个模型里进行细菌培养，以了解肠道菌群的生理作用。

“DIY人体器官的发育过程”

细胞3D培养技术的诞生已经超过一百年了，Mina Bissell等该领域的领军人物已经打下了非常好的基础。最近，人们发现，体外培养的细胞可以聚集成3D立体结构，而且这些细胞团足以反映体内真实的细胞组织结构，以及行为和功能。我们如今提到的类器官就是利用成体干细胞，或者多潜能干细胞培养出来的细胞模型。该模型可以重现整个组织的发育过程，展现组织的稳态信息（tissue homeostasis），同时也可以反映来源细胞的基因组组成情况。

最近在类器官研究领域开展的很多工作主要集中在相对简单的组织结构上，比如消化道。Clevers等人在2009年发表了一篇非常重要的论文，他们利用成体干细胞培育出了具有3D立体结构的细胞团块。这种团块很好地模拟了小肠的隐窝（crypt）和绒毛（villus）结构。美国密歇根大学（University of Michigan）的Jason Spence等人则利用胚胎干细胞（embryonic stem cell）或者诱导多潜能干细胞（induced pluripotent stem cell）培育出了十二指肠（duodenum）和回肠（ileum）组织。Spence表示，这些干细胞可以分化为体内的各种细胞，而且还可以产生粘液，并能将这些粘液分泌到消化道类器官的管腔中，这样一来，这些肠上皮细胞就可以吸收管腔中的氨基酸和多肽类物质了。

发育生物学家Yoshiki Sasai也获得了一个非常重要的科研成果，他们利用小鼠的胚胎干细胞培育出了视杯样结构（optic cup-like structure）。这种视杯组织虽然从结构的角度来看非常简单，但是它们也具有非常特异性的细胞组成和排列特征（这也是所有类器官都拥有的特征），而且最终可以发育成视网膜结构。

类器官模型也可以是支气管、胆道、或胰腺导管这样复杂的系统。比如，英国剑桥大学（University of Cambridge in the UK）的Meritxell Huch等人为了模拟组织损伤，就激活了成体肝细胞的再生程序，促进类器官的形成。结果他们得到了肝内胆管系统，而且整个上皮结构非常完美。这些类器官甚至还可以再生长出肝细胞，形成一个有代谢和解毒功能的肝脏组织。

可能让我们印象最深的类器官还是那些由不同细胞、按照不同空间组织结构排列在一起所形成的类器官了。澳大利亚昆士兰大学（University of Queensland）的Melissa Little课题组就在利用iPS细胞分化出肾单位（nephron）这个领域做出了不错的成绩。我们知道这些细胞都是构成肾小球滤过屏障的重要细胞。据Little介绍，在这种类器官中，至少有10种细胞是他们能够轻易地鉴别出来的。Little等人培育出的这种肾单位具有特定的模式，能够延伸（elongating）和分裂（segmenting），而且足细胞（podocyte）也能够伸出足样突起，彼此相互交叉，形成滤过屏障。

目前，作为英国剑桥大学分子生物学实验室（Laboratory of Molecular Biology in Cambridge）主任的Lancaster正在开发一种更加精细、在解剖结构上更符合人体组织的大脑类器官。与此同时，很多实验室也都在努力复制出生物体的复杂性。美国加州大学旧金山分校（University of California at San Francisco）的Arnold Kriegstein就一直在从事大脑类器官方面的研究。据他介绍，目前，他们这个研究领域的进展非常不错，几乎可以用惊人来形容，不过离真正模拟正常大脑的发育过程，还是有一段距离的。美国哈佛大学

(Harvard University) 的Paola Arlotta等人最近发现，他们可以培育出由十几种不同细胞组成的大脑类器官，而且其中还包括了由视神经细胞组成的最基本的神经回路，能够有选择性地对外界的光刺激做出反应，更重要的是，这个试验是完全可以重复的。

大部分类器官都是通过干细胞立体培养技术获得的，这个体外立体培养系统包含了很多基质蛋白和经过精心选择的信号因子。比如，Clevers就构建了很多种上皮类器官（包括前列腺、乳腺和肝脏）的培育方法。他的方法是用Wnt信号通路的信号因子搭配一两种其它生物分子刺激成体干细胞。如果要调制出这种信号因子配方，就得仔细阅读发育生物学文献了。Spence指出，他们试图找到最简单的试验配方。可是，还有一些试验因素和误差会影响

试验，比如时机和剂量等。Little认为，试验配方存在无数种可能性，你得知道在什么时候更换哪种培养基，才能得到预计的试验结果。

一旦科研人员们发现了“神奇配方”，那么就可以更加清楚地了解器官的发育过程了。据Kriegstein介绍，动物模型并不能完美地重现人体大脑中枢的正常发育过程，Kriegstein等人对动物与人体的差异非常感兴趣。多数情况下，类器官也能够帮助我们了解器官的细胞组成情况，尤其适用于那些无法通过体内实验开展的研究。Clevers 和Alexander van Oudenaarden在2015年发表的文章就属于这种情况。据Clevers介绍，Alexander对他们构建的小鼠肠道类器官进行了单细胞测序，结果发现了两种之前从未发现的细胞，他们后来也通过体内实验验证了这一发现。

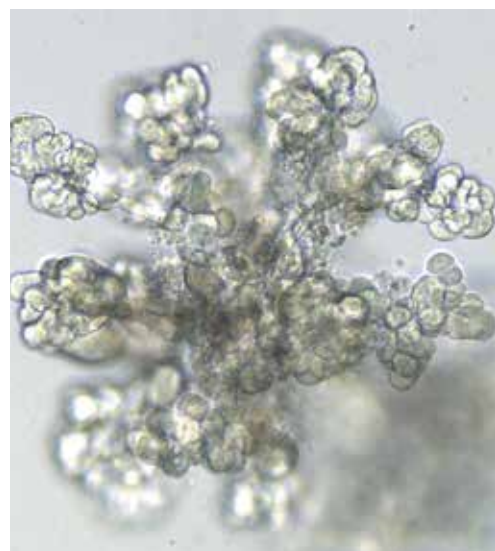
“ 构建病理模型 ”

在精确的试验条件下，由多潜能细胞分化而来的类器官的发育过程能够很好地重现胚胎器官的发育过程，虽然这个发育过程并不是完整的发育过程（会提早中断）。据Little介绍，他们通过基因表达谱技术发现，他们构建的肾脏类器官相当于3月龄人类胚胎的肾脏。其他科研人员也都有类似的发现，即现有的类器官几乎都达不到妊娠中期胚胎器官的发育水平。

这种类器官在开展遗传疾病研究方面非常得力，因为这类疾病就是在胚胎发育早期就开始发展的疾病，尤其适用于无法构建动物模型的疾病。比如，Kriegstein等人就利用iPS细胞构建了Miller-Dieker综合症类器官病理模型。Miller-Dieker综合症是一种非常严重的神经发育疾病，患有这种疾病的患者，其大脑中枢无法形成正常的皮层褶皱。Kriegstein表示，他们在外层正中胶质细胞处发现了不一样的情况，这些细胞在人体和灵长类动物中非常

丰富，在啮齿类动物中则几乎不存在。可是这些细胞正是人类大脑皮质神经元的主要来源。

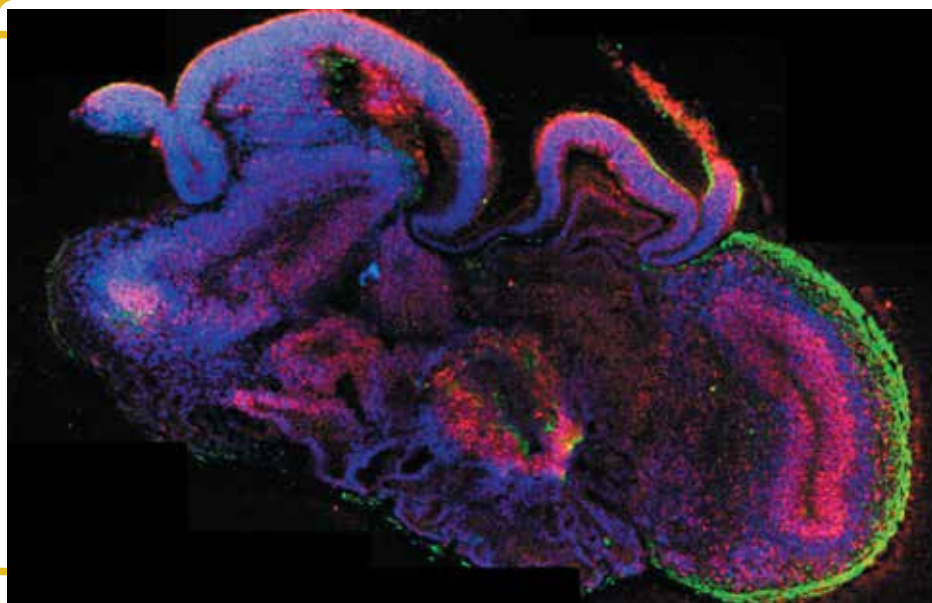
Lancaster的课题组正在使用大脑类器官开展



由肝癌患者肿瘤细胞构建的肿瘤类器官的光镜图像。

小头畸形和大头畸形方面的研究。这两种畸形分别是因为大脑皮质神经元细胞生长不足和过度生长而导致的疾病，而更深层次的原因则是基因在人体大脑进化过程中起到的作用。据

Lancaster介绍，这些基因往往都与中枢疾病有关，还与自闭症和大脑容量有关，如果这些基因出现了问题，那么就有可能会让大脑中的某些部位扩大。



由iPS细胞构建的大脑类器官，图中红色和绿色是神经元细胞。

类器官还可以用于新型药物和治疗方案的研发工作。比如，目前用于治疗多发性囊性纤维化（multiple cystic fibrosis）的药物都非常昂贵，但只对携带了某几种突变的患者有效，对于45%的患者都是无效的。Clevers等人已经证实，使用患者自身细胞来源的肠道类器官就可以用来预测药物的疗效。他们也正在荷兰开展一个全国性的项目，为每一位多发性囊性纤维化患者进行药物筛查。Clevers指出，他们已经发现了四五十名携带罕见突变的患者。类器官试验发现，这些药物对他们的治疗效果都非常好，而且在临床上也的确观察到了治疗效果，但如果不是做了类器官筛查，他们是不会使用这些药物的。美国辛辛那提儿童医院（Cincinnati Children's Hospital）的Takanori Takebe也正在与日本武田制药公司（Takeda Pharmaceuticals）等多家制药公司开展合作，利用患者自身来源的肝

脏类器官进行非酒精性肝硬化（nonalcoholic steatohepatitis）药物筛选试验，以了解药物的安全性和疗效。Takebe认为，这种试验方法已经被临床试验证实具有非常高的可信度，完全可以准确地预测药物的肝脏毒性。

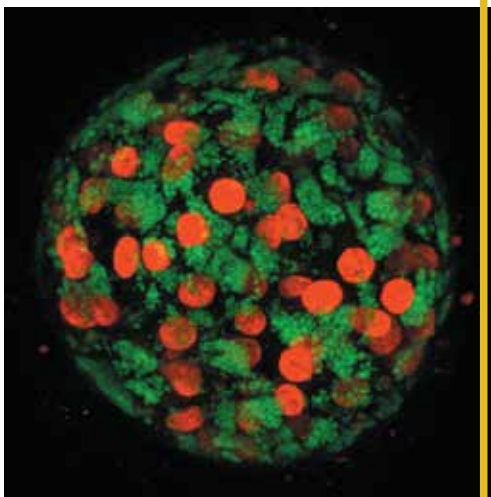
类器官可以模拟器官的自然发育过程，同时也可以再现肿瘤组织的生长过程。2017年11月，Huch团队发现，他们可以利用三种常见肝癌患者自身的肿瘤细胞来培育出肝癌类器官，而且同样具备非常高的保真度。Huch指出，拿着他们拍的肿瘤类器官照片，他可以明确地辨别来自哪位患者，因为这个类器官肿瘤组织就和患者体内的肿瘤组织一模一样，而且它们的基因突变和基因表达谱都是一样的。CRISPR-Cas9等基因编辑技术也为特异性操纵抑癌基因和癌基因提供了可能性，可以帮助科研人员确定导致肿瘤形成的信号通路和途径。Clevers表示，在一个试验里可以进行多

种不同的尝试，用一批类器官可以对四、五个，甚至六个不同的癌基因进行检测。

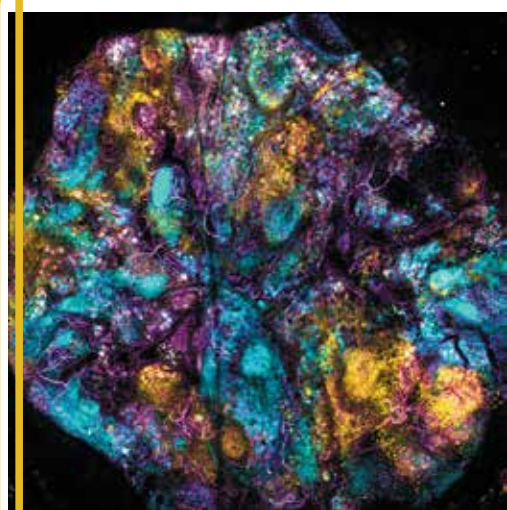
临床研究人员也可以很好地利用类器官这种新型武器，用速度更快、更简便的方法取代过去的异种移植模型（*xenograft model*）。美国波士顿Beth Israel Deaconess医学中心（Beth Israel Deaconess Medical Center in Boston）的Senthil Muthuswamy等人就正在研究胰腺癌类器官对于胰腺癌患者真实情况的预测作用，他们同时也在开发类器官乳腺癌的转移模型。据他介绍，他们已经可以在11至12周里（从拿到患者的组织开始），对10~12种不同的药物进行检测，以了解各种药物的疗效。Muthuswamy等人尤其关注高度恶性的、难治型的肿瘤，因为对于这些患者而言，时间就是生命。Clevers的团队也构建了大约6种不同的肿瘤类器官模型，并且正在积极地筹建一个“活体生物银行（Living Biobank）”，专

门用来储存患者自身来源的类器官，供科研界和制药企业开发新药使用。

类器官还可以用于传染性疾病的研究工作。在拉丁美洲爆发寨卡病毒（Zika）疫情期间，多个课题组都利用脑细胞来源的类器官明确了病毒感染与小脑畸形之间的关系。Clevers、Spence等人还利用肠道类器官构建了多种感染性疾病的模型，比如隐孢子虫（*Cryptosporidium*）和难辨梭状芽孢杆菌（*Clostridium difficile*）等。这种技术同样适用于研究肠道菌群等有益菌群。Spence就非常关注肠道菌群在婴儿期如何促进肠道健康发育这个问题。他们最近就发现，大肠杆菌对于尚未成熟的肠道具有保护性作用。据他介绍，他们给肠道类器官里加入了炎症因子，来诱发炎症反应，结果发现含有大肠杆菌的肠道类器官对免疫攻击反应更加不敏感。



脂肪肝类器官活体细胞图像，其中红色为细胞核，绿色为脂滴。



肾脏类器官（由用多种颜色标记的胚胎干细胞移植到小鼠体内培育而成）活体图像。

目前的类器官和真正有功能的器官还相去甚远。这主要是由于类器官不能充分发育的缘故，所以类器官还处于“胎儿期”的状态。缺乏循环系统的支持被认为是一个重要的原因。**Spence**表示，如果将肠道类器官移植到小鼠体内，那么就可以生长出血管，获得血管的滋养，形成更加复杂的结构，也更加接近成体的肠道组织。科研人员们还在研究如何在体外培养条件下诱导生成有功能的血管。**Takebe**等人已经发现，如果以干细胞来源的肝细胞、连接组织和上皮细胞的混合物为原料，就可以让生成的“肝芽（liver bud）”类器官中出现原始的血管结构，但要获得有功能的血管循环系统，还是要将类器官植入活体动物体内。

使用这种细胞混合物还可以构建出更加精密的、具备更多功能的类器官。比如，美国辛辛那提儿童医院的**James Wells**等人将肠道类器官与神经前体细胞混合，从而获得了具备肠道神经系统功能（比如控制肠蠕动功能）的消化道类器官。还有一些课题组正在尝试将免疫系统与类器官结合。比如**Clevers**等人就在构建免疫肿瘤模型（immuno-oncology）。多个研究团队还发现，他们可以将多个类器官整合为一套超级系统。美国斯坦福大学（Stanford University）的**Knoblich**课题组和**Sergiu Pasca**课题组就将前脑不同区域的类器官进行了融合，最后获得了能够互相联系的、更加逼真的大脑皮质结构。并没有参与这项工作的**Lancaster**表示，你真的可以看到细胞在不同的区域间转移，这说明它们之间真的有交流。

类器官还可以为患者提供“零部件”，以修补和替换他们体内出现问题的器官。虽然替换脑组织这种高度复杂的组织还不太现实，但

是替换肠道、肝脏等简单组织还是比较容易实现的。**Takebe**指出，他们培育的肝芽组织能够在植入小鼠体内一至两天内完全融入小鼠的生理系统，有效地改善小鼠的肝脏问题。**Takebe**所在的医院也已经将类器官研究的临床转化工作视作头等大事，筹建了干细胞及类器官医学中心（Center for Stem Cell & Organoid Medicine）。**Takebe**计划在近期开始类器官的人体实验。

他们计划2020年左右在日本开展类器官人体实验。

Little是美国糖尿病及消化道、肾脏疾病研究所（National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases）下属的重建肾脏项目（(Re)Building a Kidney consortium）成员之一。该项目将世界范围内的再生医学专家聚集在一起，讨论如何更好地修复和替换人体受损组织问题。尽管类器官本身并不是终极解决方案，但是**Little**认为，类器官可以为我们提供一个很好的细胞培养途径，尤其可以解决体外培养困难细胞的来源问题。

目前，类器官研究人员还继续在类器官这个研究领域里努力探索，也取得了很多可喜的成果。我们已经明确，类器官这种在实验室的培养皿里诞生的小东西可以帮助我们更好地探索人体生理学的奥秘，这是用以往传统的细胞培养和动物模型方法都无法实现的。不过专家们也指出，类器官并不能解决所有的科学问题。**Spence**认为，类器官可以帮助我们更好地了解与组织发育、组织稳态、疾病等相关的、更深层次的问题，也有助于我们将表型与活体功能进行整合。**Spence**坚信，类器官就是现有科研体系的完美补充。

3. 机遇和挑战——类器官助力人类大脑发育和疾病研究

最近人类“脑组织类器官”——可以在体外重现大脑发育过程的3D培养组织——的进展大大提高了我们研究人类大脑发育的能力。下文将着重讨论这个新模型系统的潜力和挑战。

在胚胎发育期间，器官逐渐发育并构建身体的组织和器官。这个过程是高度协调的，严格遵循由进化所决定的原则——一些原则普遍存在于多种物种，而另一些似乎是特定物种所特有的，这反映了不同的进化需求。器官发育过程非常神奇：发育过程中，所有的胚胎都会调动相同类型的细胞，形成相同的组织，最终发育成解剖和生理功能上相同的器官。这个过程宛如神迹，而且非常可靠。

几个世纪以来，发育生物学家一直痴迷于理解调节器官生长的机制，及其在进化过程中是如何变化的。这项工作主要依赖于在一系列模式生物上研究体内胚胎发育的过程。基于这些研究，科学家们对管理器官形成和功能的一些基本原则有了深刻的理解。

然而，虽然模式生物提供了很宝贵的信息，但显然人类的发育与其它生物不同，就连与人类血缘最亲近的大猩猩与人类的发育过程也有很大差别。差别最显著的，莫过于人类大脑。事实上，我们对人类大脑的发育和功能理解还非常浅薄。

为什么我们不直接研究人类大脑呢？大脑是在子宫内形成的，因此研究发育中的大脑受到严格的伦理限制。另外，与具有再生能力的

组织相比，大脑很难在体外培养皿中生长和发育。因此，即使是来自某些脑部手术中、被切除的小块脑组织也只能提供极其有限的信息。

那么究竟如何解决这个棘手的问题呢？干细胞生物学的进展与现有的大脑发育基础知识相结合，为深入研究大脑发育铺平了道路：在培养皿中培养类器官，重现人类大脑发育和功能。尽管“大脑类器官”与“大脑”不同，但它可以被认为是一种简化了的细胞系统，可以模拟大脑的细胞组成及其功能的某些方面，而且其产生过程至少遵循了早期人类胚胎大脑发育的一些步骤。

人类大脑类器官的制备方法有好几种：有些利用大脑发育初期固有的、自发组织协同的特定步骤来制备大脑类器官，而另一些则利用多种信号分子（基于我们对体内胚胎发生的了解）来促进特定脑区域（大脑皮层、海马和中脑等）发育成大脑。这些方法得到的大脑有诸多差异，例如形成的大脑的细胞组成类型不同，得到的脑区域不同，以及细胞达到的成熟水平不同。然而，很明显的是，尽管大脑类器官过于简洁，但其在构建正常人类大脑和疾病模型上具有巨大的潜力（图1）。

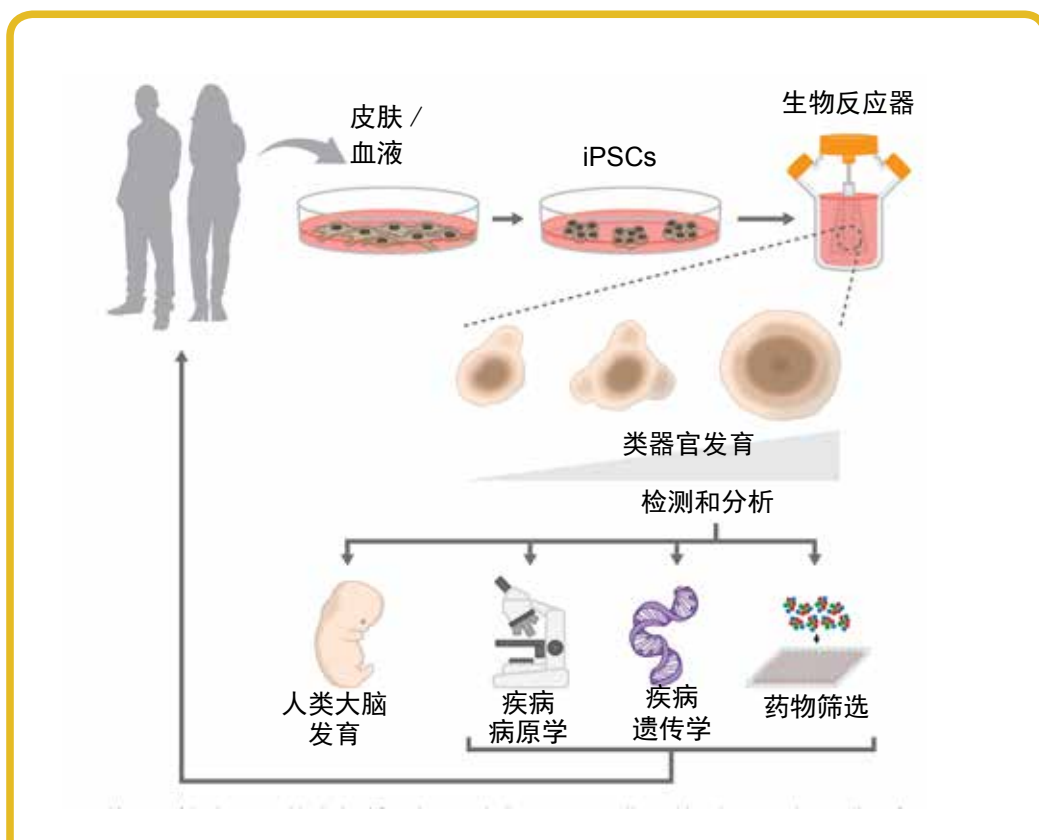


图1 来自人类多潜能干细胞的脑组织类器官能够帮助我们更好地理解人类大脑的发育以及遗传变异对大脑发育和功能的影响。将来它们可以作为化学筛选的细胞平台，加深对人类疾病的了解，并促进患者分类。

为什么目前媒体对于类器官进行各种炒作？因为这是一个年轻的领域，目前的模型，以及它们与人类大脑的关系的许多特征仍不明确。我们相信，未来这些谜题都将被解开。事实上，在激动人心的先驱研究中，类器官已经被用来模拟正常的以及有障碍的发育过程。

类器官的一个关键优势是允许科学家们了解用其它方式无法了解的人类发育过程，尤其是对于人类外层放射状神经胶质细胞（**outer radial glia**）——一种在人类中广泛存在的祖细胞，并且显示出与人类大脑的许多特征相关——的研究。对来自人、黑猩猩和猩猩诱导的多潜能干细胞（**induced pluripotent stem cells, iPSC**）的大脑类器官的种间比较发现，

尽管人类和黑猩猩的大脑类器官在细胞组成和结构上非常相似，但是人类类器官的祖细胞复制是一种具有物种特异性的特征，可能与脑容量增加有关。在疾病建模中，科学家们已经应用类器官来研究致病性感染对大脑发育早期的影响（例如寨卡病毒），并开始寻找与早期大脑形成异常相关的遗传变异。这些前期的成功是非常有意义的，提示了类器官在今后研究中很可能大有所为。

将器官模型与最新的高通量分析方法相结合，也极大地扩展了可以解决的问题类型。例如，对大量单细胞进行分子测绘的高通量技术已经开始应用于定义类器官的细胞组成、量化类器官和细胞类型之间的变异。这种方法与

最近用于标记个体谱系分叉事件的技术结合，也提供了一个追踪发育谱系和过程的机会。将这些高通量单细胞技术应用于模拟疾病的类器官，甚至可以检查疾病的细胞和分子基础，从而识别出那些受某种疾病或突变状态影响的细胞类型，以及固有的分子异常。

虽然现在的类器官可以产生活跃的神经元和功能性的神经回路，但是它们并不能模拟出内源性大脑（真实人类大脑）的解剖组织或连接模式。该领域的下一个主要障碍是对类器官发育施加更大的控制，开始标准化类器官解剖学，并减少各个类器官之间结构和细胞组成的差异。我们还必须致力于开发能发育成更成熟的大脑类器官的方法，并纳入功能相关的、现有类器官中不存在的细胞类型，如小胶质细胞。

最近的研究尝试通过从体外获得的单个神经组织来培养类器官，或通过在微丝支架上培养类器官来影响类器官结构，并降低差异性。可以想象，科学家们可以通过生物工程支架，实现外源性信号时间和空间上准确地传送，以增加在不同批次得到的类器官的稳定性。另一种确保各批次得到的类器官脑区及细胞组成类型相同的方法是使用嵌合系统，也就是使用不同方法培养得到各个脑区，然后将其嵌合在一起。这种方法已经被应用于研究前脑的迁移和神经网络整合。

改进方法，提高大脑类器官的组织成熟度，可能有利于形成成熟的神经元性状和更强大的神经网络，从而便于研究电生理功能和网络活动在细胞和神经回路发育中的作用。例如，我们最近发现，在优化的条件下大脑类器官可以支持树突棘——突触接触区域，具有更成熟的神经元的结构特征，并且在培养中很难生成——的发育。

对大脑发育的后期阶段进行建模也需要生成大脑外源细胞类型。小胶质细胞在大脑发育中有重要作用，特别是在突触修剪中。但是由于它们起源于卵黄囊，大多数iPSC衍生的大

脑类器官中缺少小胶质细胞。最近的研究已经证明将来源于人类iPSC的小胶质细胞引入体外大脑类器官具有可行性。据我们所知，这是首个可以模拟人体突触和树突棘体外修剪等事件的模型。

一旦成功应对了这些挑战，科学家们便可获得更一致、成熟和完整的大脑类器官。这将扩大类器官的适用性，以研究更复杂的现象，如神经回路功能、确定的细胞间相互作用，以及随后的发育事件，如可塑性。足够成熟的器官类型甚至可以模拟出生后的事件，如髓鞘形成。

大脑类器官模型对于阐明人类神经系统疾病、神经系统疾病的起源和基础机制具有非常重要的意义。众所周知，人类神经退行性疾病和神经精神疾病的许多性状难以在动物模型中忠实地模拟，并且在动物模型中发现的若干有希望的治疗并未能转化为临床手段。对神经精神疾病患者（如精神分裂症、双相性精神障碍和自闭症）的大规模遗传研究揭示了这些疾病的高度多基因性。这些研究表明，基因介导的神经精神疾病通常是多个基因突变的综合效应，并非一个或几个渗透性单基因突变。这些高度多基因性的状态难以用动物模型模拟，因为这需要模拟大量的人类基因组的基因。因此，我们需要可靠的人类模型来解码多基因对疾病发生和表现的作用。通过活体患者的iPSC培养而获得的类器官为科学家提供了在自然基因组背景下模拟基因介导疾病发生发展过程的机会。

这些方法也可以为患者分类提供信息，从而提高治疗效果。例如，神经发育和神经精神疾病目前主要基于临床症状进行分类。然而，不同临床定义的疾病在危险位点上显示出惊人的重叠程度，这表明不同症状的细胞和分子病理学可能相同，可能是复杂的基因相互作用的产物。未来，使用来自患者的类器官的研究可能允许该领域解析与不同复杂遗传状态相关的生理表型，并促进靶向治疗方法的开发。也

许，在未来使用来自于患者的iPSC形成类器官、表征个体疾病，并指导个性化治疗，将成为一种标准治疗方案。

总之，尽管大脑类器官仍处于初期阶段，但这些细胞系统很可能变革人类大脑发育及其疾病的研究。尽管这些模型问世不久，但相关

研究非常多，而且许多实验室正在积极改进方法，以取得更大的成就。前进的道路是漫长的，我们不可能一蹴而就。挫折是难免的，惊喜也纷至沓来。我们要始终坚信，前进的方向是正确的。

4. 类器官成像技术揭示了类器官研究的美好未来

器官形成（organogenesis）、维持组织稳态（tissue homeostasis）和发挥器官功能，所有这些体内的生理过程都离不开复杂的细胞空间组织结构（cellular organization）和组织动力学（tissue dynamics）机制。可是由于技术和伦理方面的限制，我们还很难通过体内实验或者人体实验来了解这些正常的生理机制，以及病理状态下的异常情况。不过，现在利用3D干细胞培养技术（threedimensional stem cell culture）培育出的体外迷你器官——类器官（organoids）给我们提供了一个新的窗口，可以帮助我们了解组织内部的细胞组成及作用机制。光学显微镜（light microscopy）是了解类器官内细胞组成的有力武器，因此，光学显微镜技术和类器官技术的有机结合，也促成了干细胞和肿瘤研究的融合。

早在2009年，行业内就出现了使用干细胞培育类器官的两种主流技术。Sasai等人使用多潜能干细胞（pluripotent stem cell）从视杯（optic cup）开始，培育出了多种中枢神经系统细胞。另外一种方法使用的是成体干细胞（adult-stem-cell），即来自小肠隐窝（intestinal crypt）的Lgr5⁺干细胞培育出了迷你肠道。从那时起，类器官就逐渐成为了从基础生理学研究到个体化医疗（personalized medicine）和再生医学（regenerative medicine）等多个研究领域的宠儿。类器官也逐渐发育为各种器官，比如肾脏、乳腺、肝脏和大脑等。接下来，我们将介绍利用成体干细胞培育的类器官，并将重点介绍这些器官的上

皮细胞组份。

类器官之所以这么受追捧，是因为它具有以下几个特征。首先，不论是健康者还是患者，都可以利用自身的成体细胞培育出类器官，从而方便地构建出各种模型，帮助科研人员了解人体组织的稳态机制、修复机制，以及各种病理机制。其次，这些类器官还可以在体外进行培养、扩增，并且持续保持稳定性和组织特异性，这就为科研人员们提供了无限量的试验材料，可以用于开展组织起源等多种研究。第三，所有的细胞生物学实验和分子生物学实验技术都可以应用于类器官试验。此外，由于这些类器官也可以被移植到动物体内，因此，非常适合用于各种实验室操作。

“ 类器官3D立体成像 ”

类器官作为一种研究模型，填补了2D细胞实验和活体动物实验之间的空白。类器官要比体外培养的细胞复杂得多，同时又不像活体动物实验那么难以操作。成像观察是了解这种复杂性的第一步，也是了解类器官形态学的重要途径，同时还可以真实地反映类器官是否与体内的真实情况一致。制作切片、进行免疫组织学染色，以及获取一个或多个标志物的信息，这种2D试验技术一直是科研人员们研究类器官组织结构问题的常规方法，比如研究中枢类器官（或者叫迷你脑）里是否成功分化出了神经细胞，或者大脑是否有正确的分区等问题。

但是这种2D技术并不能给我们提供一个完整的3D立体信息。不过近年来已经出现了一种类器官3D立体成像技术。借助新型显微技术，科研人员们已经可以获取从细胞至组织等不同层面的3D立体图像信息了。共聚焦成像（confocal imaging）或多光子显微镜（multiphoton microscopy）技术等非侵入式的光学断层技术（Noninvasive optical sectioning），以及最近出现的激光层照显微

镜技术（light-sheet technology）都可以帮助科研人员在获得单个组织样品详细细胞信息的同时，获得整体组织的结构信息。利用最新的免疫标记技术，我们也可以获得完整组织样品的3D立体结构信息。这些最新的成像技术也都被应用于类器官研究工作当中了。如图1a所示，人们利用3D立体成像技术发现了啮齿类动物乳腺类器官分化出了乳腺组织的所有组成细胞成份，同时也分化出了部分乳腺上皮组织的结构。

随着科研人员研究的不断深入，试图了解干细胞谱系及分化的深层机制，类器官也正变得越来越复杂。有毛的皮肤（hairy skin）、卵巢、肌肉或骨骼等非上皮组织里的上皮成份也都是很难构建体外模型的。发现干细胞分化是这些器官的关键因素，也有助于我们培育出各种类器官的工作。我们估计，立体成像技术很快就会成为类器官研究领域里必不可少的试验手段，从而帮助科研人员了解类器官的立体结构、细胞分化和定位信息，并助其构建出高度非均一化的类器官（highly compartmentalized organ）。

“ 4D活体成像技术 ”

类器官的另外一大优势就是可以进行高分辨率的“活体”观察，这样就能够获取很多动态信息了。比如，借助荧光报告因子和活细胞共聚焦显微镜技术就可以对类器官里的细胞，从空间和时间维度进行复杂的细胞，甚至是细胞器和细胞活动的观察。如图1b所示，通过荧光染色，我们可以同时获得啮齿类动物小肠类器官里细胞的核定位（nuclear positioning）信息和细胞骨架重排（cytoskeleton

rearrangement）信息，借此可以了解DNA运动对组织稳态的影响。

经过遗传工程技术改造过的人体类器官则为体外人体组织活体成像和体外人体肿瘤模型构建提供了可能。人结直肠癌（colorectal cancer, CRC）类器官的研究工作已经证实，4D活体成像技术可以用于构建病理模型，帮助我们认识因为遗传突变而导致恶变可能造成的结果。利用CRISPR-Cas9技术进行基因组

编辑操作，也可以在人体结肠类器官里按照一定的顺序引入一系列突变来构建结肠腺瘤（adenoma-carcinoma）模型。染色体失稳（Chromosome instability, CIN）和非整倍体（aneuploidy）突变都是人结直肠癌的遗传学特征，利用可表达荧光标记的H2B组蛋白的慢病毒载体，也可以对这些突变进行研究。使用4D活体成像技术，对类器官进行连续数天的观察，就可以清楚地了解染色体分离过程（chromosome segregation）的异常，比如染色体数目异常，或者有丝分裂异常等，同时也可以精确地找到致癌突变位点。毫无疑问，遗传工程技术与类器官活体成像技术的结合，将极大地促进我们对病理机制和细胞发育及稳态维持机制的认识和了解。

当然，活体细胞成像技术也不是万能的，尤其在研究原代细胞时还不太让人满意。由于光毒性（light toxicity）问题，在进行活体细

胞成像研究时，时空分辨率（spatiotemporal resolution）、信噪比（signal-to-noise ratio）和成像时间等都是重要的影响因素。只有尽快获得4D图像，才可以在获得整个类器官动态过程的同时避免改变类器官的生理状态，但这本身就是一个很大的技术挑战了。近年来，成像速度快，同时组织操作也很轻柔的激光层照显微镜的出现解决了这个问题。由于激光层照显微镜的激发光被限制在一个很窄的光层范围内，因此可以迅速地对大块组织样品进行扫描，同时又可以将曝光量（即光毒性）限制在尽可能小的范围内。Betzig等人的工作就很好地展现了栅格激光层照显微镜的优势。他们利用这种显微镜，获得了从分子至类器官等多个层面的图像，而且这些图像的时空分辨率也非常高。激光层照显微镜4D活体成像技术将成为我们研究类器官的有力武器。

“ 高通量活体成像技术 ”

类器官组织样品可以在体外“无限”扩增，这意味着需要一种高通量的研究技术，才可以完成快速检测的任务，发挥类器官的这一优势，并充分发挥其在药物筛选等方面的作用。在这方面，囊性纤维化症（cystic fibrosis）患者个体化用药筛选就是一个非常好的应用实例。利用高通量图像筛查技术（High throughput screening imaging）和荧光膨胀试验（fluorescence-based swelling assay），就可以在体外实验中，对囊性纤维化患者结肠类器官细胞的跨膜传导调控因子（cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, CFTR）进行功能测试，利用此模型就可以筛选出有效的治疗药物。Snippert等人

则对人结直肠癌类器官里荧光标记的组蛋白进行了活体成像研究，筛选出了KRAS突变体抑制剂药物。如图1c所示，有丝分裂及凋亡定量研究则发现，靶向药物可以使RAS基因发生突变的肿瘤细胞的细胞周期停滞（而不是发生凋亡），这说明，除了药物筛选之外，类器官成像技术还可以用于了解及阐明耐药机制。随着筛查纤维镜平台技术的不断进步，我们还可以对不同位置的多个荧光报告基团进行实时3D自动化成像筛查，进一步拓宽类器官成像技术的使用范围。我们估计，这种高分辨率、高通量成像技术平台一定会促进类器官内细胞形态学及功能学研究的发展，并进一步推动体外药物筛选工作的发展。

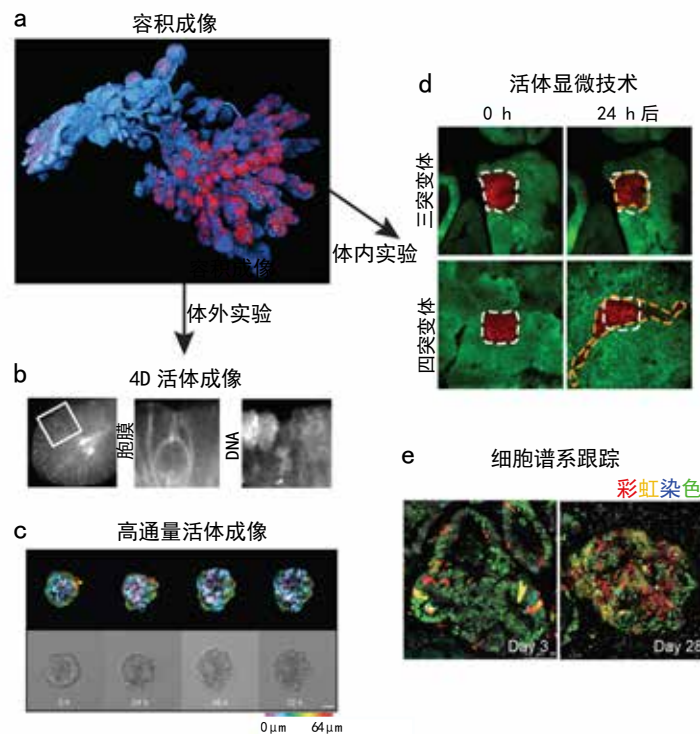


图1 成像技术在类器官研究中的应用。(a)由单个小鼠乳腺基底细胞培育而来的小鼠乳腺类器官3D共聚焦重建图像。图中蓝色表示细胞骨架肌动蛋白微丝蛋白(F-ACTIN)和DAPI,红色表示乳蛋白(milk protein)。本图片由Florijn Dekkers提供。(b)啮齿类动物小肠类器官活体4D成像图片。细胞膜用Tdtomato荧光蛋白染色,DNA用SiR-DNA染色。左图白框内图像分别在中间和右侧图中得到进一步放大。本图片由Kara L. McKinley提供。(c)结直肠癌患者细胞培育出的类器官,用RAS通路抑制剂处理后的活体细胞图像。第一排图片表示叠加了H2B-mNeonGreen荧光的图像,第二排为光镜下图像。本图片由Hugo Snippert提供。(d)由表达有Dendra2蛋白的结直肠癌患者细胞培育出的类器官活体图像。图中绿色表示未活化的Dendra2蛋白,红色表示活化时(左图)和活化24小时后(右图)的Dendra2蛋白图像。白色虚线框表示光活化区域。橙色虚线框表示24小时后的变化情况。本图片由Jacco van Rheenen提供。(e) LGR5⁺细胞遗传谱系跟踪结果。左图和右图分别为他莫昔芬(tamoxifen)诱导3天和28天的结果。彩虹报告系统中绿色为nGFP、黄色为EYFP、蓝绿色为膜CFP、红色为RFP。本图片由Toshiro Sato提供。

“ 让类器官重回体内：体内显微镜技术(intravital microscopy)及细胞追踪技术(lineage tracing) ”

类器官能够被安全地移植到动物体内，啮齿类动物小肠类器官就是第一个被移植到动物体内的类器官。而且，这些类器官被移植到动物体内之后，还可以继续保持稳定的表型。比

如，被移植到结肠部位后，小肠类器官还是会继续保持小肠的特征。这就给人类肿瘤生物学研究提供了契机，能够让我们在体内环境里，深入观察肿瘤从最开始发生到最终转移的整个演进过程。将携带了荧光标签的人体类器官移植到动物体内，还可以进行单细胞层面的体内显微观察，以追踪癌细胞从最初的癌变，直至转移这整个动态变化过程，最长的追踪时间可以达到一年。最近，van Rheenen等人发表了一篇论文，介绍了他们利用类器官移植及体内成像技术开展肿瘤研究的工作。他们研究了特定突变对人结直肠癌体内演进过程的具体作用。van Rheenen等人使用的就是我们在前文中提到的可以表达Dendra2光敏荧光蛋白的人结直肠癌类器官。将它移植到小鼠体内后，研究人员观察了肿瘤细胞在发生了特定突变的类器官里的整个转移过程。如图1d所示，他们的研究成果表明，就是这些突变让肿瘤细胞具备了转移能力，因为这些突变使肿瘤细胞不再依赖某些特定的信号通路。

使用多种荧光报告基因进行体内细胞跟踪研究的技术必将成为研究正常组织及肿瘤组织细胞动态变化过程的强大武器。目前，这些技

术主要被应用于小鼠研究，这主要是因为我们可以对小鼠进行足够复杂的遗传学改造，以培育出多种报告动物模型（reporter animal）。2017年，Sato等人介绍了一种非常精妙的荧光细胞谱系追踪技术（fluorescence lineage tracing methodology），它可以用来研究人结直肠癌细胞在体内的整个动态变化过程。Sato等人利用CRISPR-Cas9技术，在人结直肠癌细胞的LGR5位点敲入了一个可被他莫昔芬诱导的Cre基因，再结合彩虹报告因子系统（Brainbow derived reporter），对这些肿瘤细胞在结直肠癌类器官里的行为活动进行了跟踪观察，结果发现，这些LGR5⁺细胞就是肿瘤干细胞（cancer stem cell, CSC）。这是我们第一次利用细胞跟踪技术，在体内对患者自身肿瘤细胞来源的肿瘤类器官进行肿瘤干细胞研究。如图1e所示，该研究成果证实，肿瘤组织和正常的结肠上皮具有一样的组织结构（hierarchy），即（肿瘤）干细胞位于最顶端。类器官移植、荧光报告系统、体内显微观察技术和细胞跟踪技术这几大技术结合在一起，必将让人体肿瘤体内研究迎来一个新的契机。

“ 未来的发展方向 ”

类器官技术和成像技术的共同进步，彻底改变了生命科学研究工作。尤其在肿瘤类器官研究方面，CRISPR-Cas9基因编辑技术、细胞跟踪技术和体内成像技术为在体内研究人体肿瘤打开了一扇全新的大门。肿瘤细胞的可变性一直都是一个科研难题。上述这些新技术的出现也让科研人员们有机会动态观察肿瘤组织里千变万化的细胞层次关系，以及肿瘤恶变、转移背后的病理机制。

当然，类器官也是一个非常好的试验模型。目前，由于我们对血管、神经和免疫细胞

等组织微环境的了解还不够，所以类器官模型的发展受到了限制。因此，开发含有多种微环境组分的共培养系统（co-culture systems）势在必行。一旦在这方面取得了突破，就可以开展更多、更富挑战性的科研工作了。比如，对类器官里的免疫细胞进行亚型分析，就可以了解健康细胞与免疫系统之间的信息交流。肿瘤类器官在共培养系统里，还可以在体外开展CAR-T、或免疫检查点药物（immune checkpoint-based treatments）等新兴免疫疗法试验。类器官共培养技术与4D活细胞成像技

术相结合，必将成为研究肿瘤免疫攻击机制，了解哪条免疫途径具有最强抗癌效果的最佳选择。

当然，开发新型抗癌药物离不开更好的体内实验模型。人体肿瘤类器官原位移植（orthotopic transplantation，比如肝癌类器官就移植到肝脏）就能更好地模拟肿瘤的生长和转移过程，但是在构建这种模型时一直都存在一个问题，那就是只能移植到免疫缺陷的小鼠（immune deficient mice）体内，这使其失去了研究免疫系统作用的机会。如果能够解决这个问题，也必将进一步提升类器官技术的意义，使类器官应用迈上一个更高的台阶。可能的途径之一就是开发体内共培养系统（co-culture assays in vivo），即在进行原位肿瘤移植的同时，也在同一位置植入经过遗传学改造的免疫细胞，然后开展体内成像观察等研

究。通过这种方式，我们可能会观察到免疫细胞是如何在生理条件下，在体内杀死肿瘤细胞的。

成像技术和类器官培养技术的发展正不断推动着生命科学研究向前进步，让我们能够开展以前无法想象的工作，比如在分子层面、在活体动物层面进行组织观察。有了如此有力的武器，接下来的问题就是如何分析由此产生的海量数据。目前，业界已经出现了对显微图片进行细胞分析的技术，它可以明确细胞的种类、分区情况，还可以进行细胞计数，或者对细胞表型差异进行定量分析。对不同类器官里细胞间的动态关系进行准确的定量分析，这是帮助我们了解生物系统复杂性的前提条件。类器官技术和成像技术的结合还仅仅只是一个开始。

资讯 · 频道

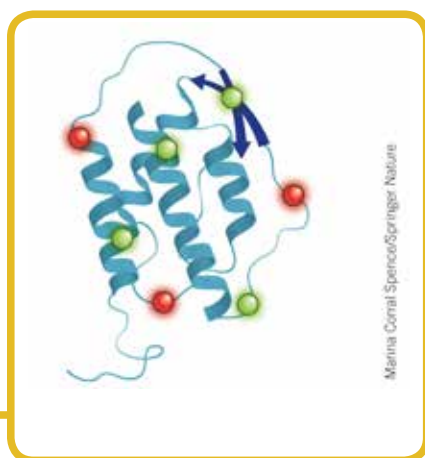
www.LifeOmics.com



二、

值得关注的重要技术与方法学领域的发展

1. 超分辨率荧光显微技术



荧光可以照亮蛋白结构。

超分辨率荧光显微技术（荧光纳米显微技术）将不断扩大它在结构生物学上的应用范围。

目前，有几个研究进展提示荧光在结构生物学方面可能有越来越多的应用可能。首先，超高分辨率技术的分辨率一直在大幅提升，甚至达到了分子水平。例如，Stefan Hell等人开发了能够实时追踪活细胞中生物分子的新型超分辨率显微镜，即极大信息发光激发探测（MinFlux）技术能够在发射更少光子的前提下，更快地获得纳米尺度分辨率下的图像（*Science* 355, 606–612, 2017）；Vahid Sandoghdar小组则指出他们在低温环境下，

采用基于单分子定位技术的超分辨显微成像（简称单分子定位显微术，single molecule localization microscopy, SMLM）技术，获得了埃分辨率的蛋白图像（*Nat. Methods* 14, 141–144, 2017）。其次，CRISPR基因编辑让超高分辨率技术能够对所有蛋白的内源性拷贝进行荧光标记。

与此同时，基于荧光数据而重建结构这一分析方法的进步，以及无需结构模板，专为获取荧光数据而设计的技术的开发，都有利于超分辨率荧光显微技术的发展。

希望超分辨率荧光显微技术能进一步在分子水平上阐明生物结构。

2. 空间转录组学



绘制细胞转录组的方法多种多样。

不久的将来，组织内基因表达定位技术将变得越来越普遍。

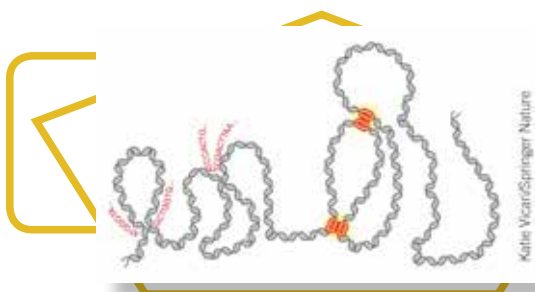
基因表达的空间特异性对于我们理解组织中的细胞特性和功能非常重要。一系列更为灵活的技术、被成像部位或三维组织的原位杂交、原位测序的高度多重化荧光成像技术，以及将基因表达投射到有限的现有空间信息上的算法，都为定位组织中的基因表达研究提供了

不同的解决方法。

如何将基因表达数据整合进空间坐标系，以及如何可视化和比较这些数据集是计算领域研究人员面临的开放性挑战，目前还没有足够的数据来解决这个问题。

希望数据生成技术和分析技术的进步能促进空间转录组学技术的发展，并最终带来一场生物研究大变革。

3. 获取动态的3D基因组图谱



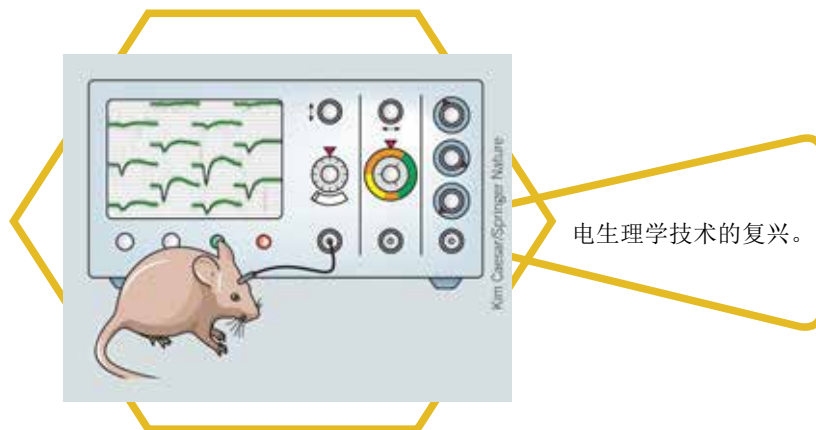
将成像和测序结合起来，有助于获得绘制更优质的3D基因组图谱。

每一个可获取基因组3D结构的技术虽然各有缺点，但它们都能获得非常重要的数据。只要将这些数据整合起来，我们就能绘制更优质的3D基因组图谱。研究人员希望能同时获得基因组不同区域实时互动的高分辨率图像，并

测定这些区域的序列信息。

我们知道，野生型或基因组结构变化会对生物过程产生一定的影响，若能将这些分子测序信息和成像数据结合起来，并综合分析，那么定能加深我们对这些影响的了解。

4. 转化电生理学



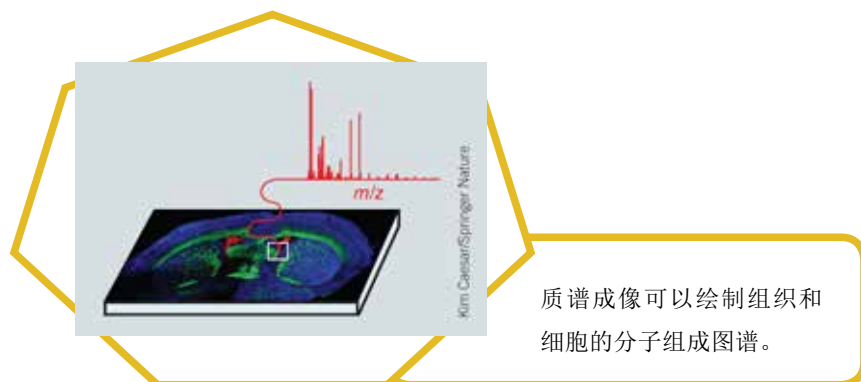
电生理学一直被广泛用于记录大脑中的神经元活动。然而，由于电生理学相关技术的通量都不高，所以面临着被光学技术替换的窘境。

幸运的是，神经像素探针技术获得了改进，而机器人膜片钳技术也被确认能提高数据

记录的通量。一旦神经像素探针与机器人膜片钳技术被应用于神经元活动记录领域，将有助于启发科学家研究以前无法解决的问题。

它们能否逆转人们目前主要采用光学技术评估神经元活动的强健势头，从而引发电生理学技术的复兴？让我们拭目以待吧！

5. 质谱成像技术获得大发展



质谱成像 (Mass Spectrometry Imaging, MSI) 是基于质谱检测技术的新型成像方法, 它常用于对组织中, 甚至单个细胞中大量分子的位置进行成像, 并确定这些分子的化学特性。需要指出的是, MSI技术无需使用任何荧光标记或抗体。

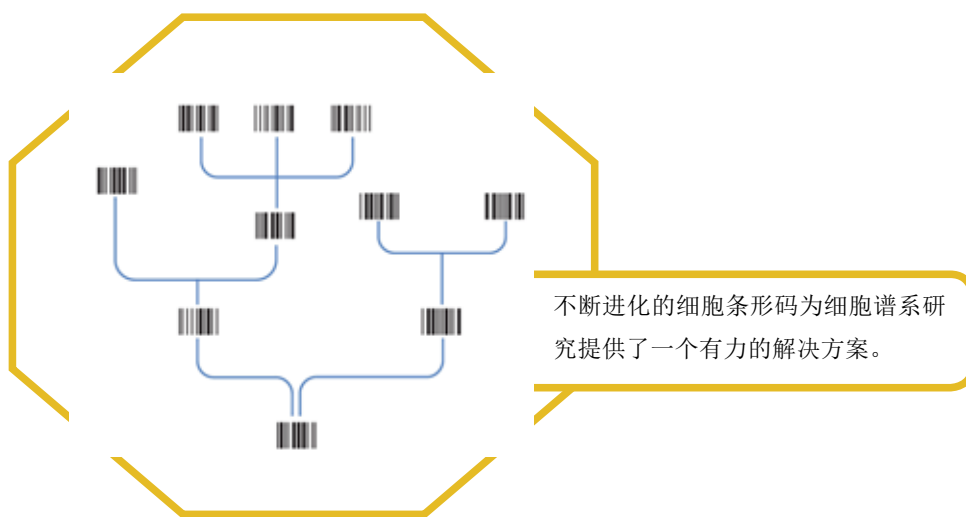
2017年, MSI技术的进步使其能够对亚细胞分子的分布进行成像 (e.g., *Nat. Methods* 14, 90–69, 2017; *Nat. Methods* 14, 1175–1183, 2017)。同时, 这些技术也被进一步开发来对3D样品中的分子进行成像 (*Nat. Methods*

14, 1175–1183, 2017), 并捕获样品拓扑结构的相关信息 (*Nat. Methods* 14, 1156–1158, 2017)。而用于评估通过MSI获取的分子特性的统计工具则进一步推进了该研究进程 (e.g., *Nat. Methods* 14, 57–60, 2017)。

然而, 质谱技术在检测低丰度的分子、量化和分子鉴定, 尤其是代谢产物的鉴定等方面的灵敏度还有待改进。

在2017年获得的进步以及近期即将取得的进展能否扩大MSI技术的应用范围? 让我们拭目以待吧!

6. DNA条形码技术



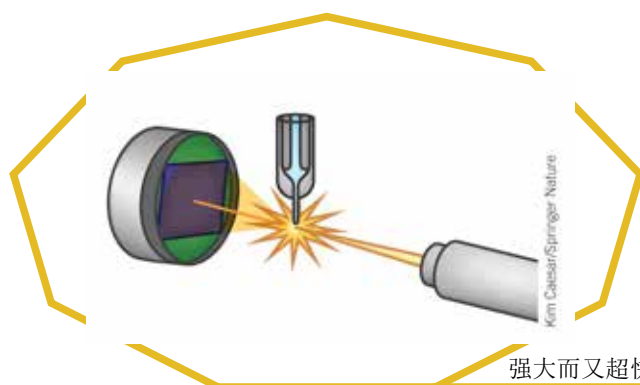
DNA条形码技术正在致力于简化细胞谱系的研究工作。

因为细胞谱系信息在我们理解诸如器官发生、细胞发育方向、细胞转移和肿瘤进化等现象中具有非常重要的作用, 所以人们开发了许多能够在体内标记、追踪细胞的技术, 并不断改进这些技术, 以推进细胞谱系的研究进程。

最近该领域诞生了一种新型技术, 即在CRISPR系统基础上开发的能在活细胞中快速演化的DNA条形码。

希望相关技术能进一步发展, 从而扩大应用范围, 例如能应用于整个有机体谱系的研究工作。

7. 新型X射线自由电子激光装置 (XFEL)



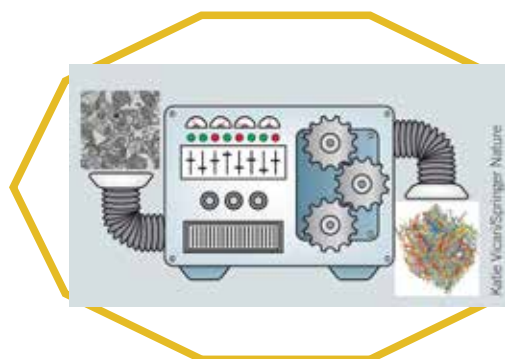
强大而又超快的XFEL技术使人们能够测定大分子结构。

X射线激光不仅可用于解开病毒和细胞原子结构之谜，而且还可以用于在纳米粒子中绘制三维图像、记录化学反应，并观察粒子内部的反应过程，从而有助于新药和新材料的研发。其中新型X射线自由电子激光装置（X-ray

free-electron, XFEL）将扩大这项技术的应用范围、促进该技术的进一步发展，并有望突破人们对结构生物学领域的认知界限。

我们期待科学家借助这种新技术，取得更多新的生物学发现。

8. 神经科学中的机器学习



通过机器学习方法来进行图像处理。

在大数据时代，神经科学研究将能从深度学习中获益。

机器学习和其它技术，尤其是深度学习技术可以帮助人们处理并分析大规模的神经科学研究数据、成像数据、需进一步注释及分类的动物行为学数据和钙成像数据等。

虽然人们已经证实这些技术潜力巨大，但是要成为主流技术，还需要进一步展示它们在各种不同条件下的稳定性和简便性。更重要的是，我们应该不遗余力地改进这种技术，使其方便易用，进而推广这种技术，扩大它的适用范围。

原文检索:

Natalie de Souza. (2018) A brief overview of stem cell-derived organoids: how they are made and what the challenges are. *Nature Methods*, 15(1): 23.

Michael Eisenstein. (2018) Organoids: the body builders. *Nature Methods*, 15(1): 19-22.

Paola Arlotta. (2018) Organoids required! A new path to understanding human brain development and disease. *Nature Methods*, 15(1): 27-29.

Anne C Rios & Hans Clevers. (2018) Imaging organoids: a bright future ahead. *Nature*, 15(1): 24-26.

Natalie de Souza. (2018) Structure via superresolution. *Nature Methods*, 15(1): 30.

Tal Nawy. (2018) Spatial transcriptomics. *Nature Methods*, 15(1): 30.

Nicole Rusk. (2018) Towards a dynamic 3D genome. *Nature Methods*, 15(1): 31.

Nina Vogt. (2018) Transformative electrophysiology. *Nature Methods*, 15(1): 31.

Allison Doerr. (2018) Mass spectrometry imaging takes off. *Nature Methods*, 15(1): 32.

Tal Nawy. (2018) Tracing cellular descent. *Nature Methods*, 15(1): 32.

Allison Doerr. (2018) The new XFELs. *Nature Methods*, 15(1): 33.

Nina Vogt. (2018) Machine learning in neuroscience. *Nature Methods*, 15(1): 33.

Eason、张洁/编译



百态 · 频道

www.LifeOmics.com

特约编辑招聘启事

为了及时收集生命科学最新资讯、提高《生命奥秘》办刊质量，现面向从事生命科学或对这学科有浓厚兴趣的科研人员、学生诚聘特约编辑（兼职）。

岗位职责：

独立完成《生命奥秘》专题的策划：对基因组学、蛋白组学、生物信息学和细胞生物学等学科的发展以及生物医学领域相关技术（例如基因诊断技术、干细胞和克隆技术、生物芯片技术等）的应用进行翻译及深入评述。

选题要求内容新颖、评述精辟、注重时效和深入浅出。尤其欢迎以自身系统研究为基础的高水平译述与评论，结合所从事的科研工作提出自己的见解、今后设想或前瞻性展望。

要求：

- 1.具备基因组学、蛋白组学、生物信息学、细胞生物学等生命科学学科背景；
- 2.具备良好的生命科学前沿触觉；
- 3.具备较高的外文文献翻译、编译水平；
- 4.具备较强的选题策划、资料搜集、组织能力，以及专业稿件撰写能力；
- 5.具有高级职称；或者拥有（正在攻读）该领域的最高学位。

有意者请将个人简历发送至 editor@lifeomics.com

OmicLink™ shRNA表达克隆

——抑制基因表达，帮您全方位了解基因功能

促销日期 2018年4月15日 - 5月15日

产品优势

■ 保证抑制效率

所有shRNA靶点序列的选取均经过准确算法计算，针对每个靶标基因可提供4个shRNA克隆，在工具细胞H1299中至少有1个克隆在mRNA水平对靶基因的表达抑制水平达到70%以上。

■ 载体类型多样

有慢病毒和哺乳动物载体可供选择，适用于各种细胞包括难转染和未分化细胞。

■ 各类筛选标签

既能用于稳定抑制效应的研究，也可用于瞬时抑制效应的研究。

■ 序列保证

载体的各部分序列已经过测序，包括启动子、编码shRNA的正义和反义链、发夹结构、终止子和其他接头序列。

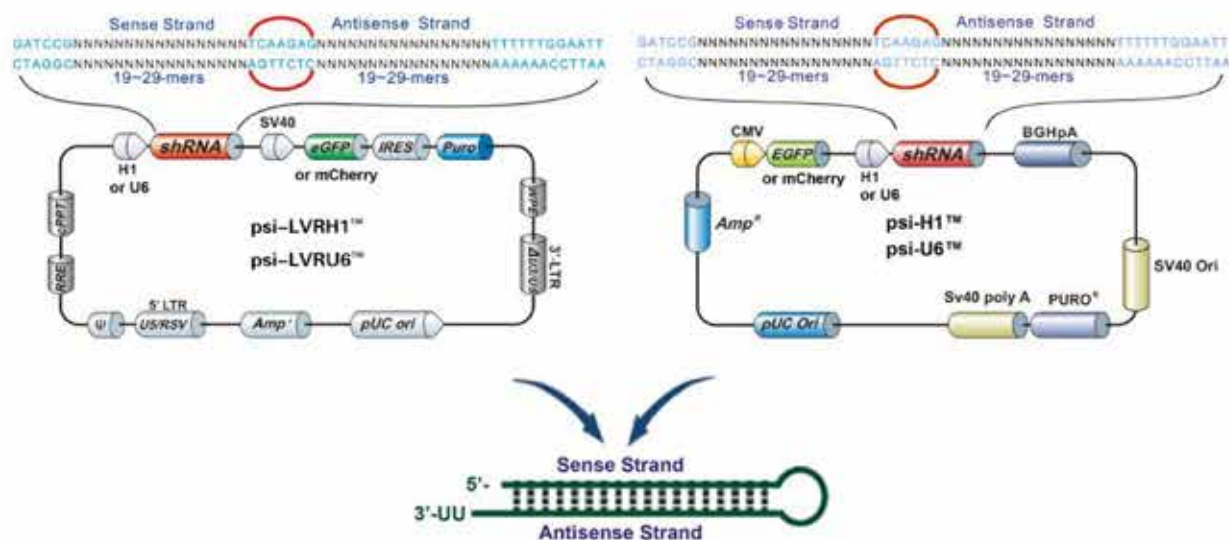


图1. 使用H1 或 U6 启动子的表达载体构建的shRNA克隆。

OmicsLink™ shRNA表达克隆载体

载体	启动子	筛选标记	报告基因	病毒类型
psi-H1	H1	Puromycin	eGFP	N/A
psi-U6	U6	Puromycin	eGFP	N/A
psi-mH1	H1	Puromycin	mCherry	N/A
psi-mU6	U6	Puromycin	mCherry	N/A
psi-nH1	H1	Puromycin	N/A	N/A
psi-nU6	U6	Puromycin	N/A	N/A
psi-LVRH1GP	H1	Puromycin	eGFP	HIV
psi-LVRU6GP	U6	Puromycin	eGFP	HIV
psi-LVRH1MP	H1	Puromycin	mCherry	HIV
psi-LVRU6MP	U6	Puromycin	mCherry	HIV
psi-LVRH1P	H1	Puromycin	N/A	HIV
psi-LVRU6P	U6	Puromycin	N/A	HIV
psi-LVRU6GH	U6	Hygromycin	EGFP	HIV
psi-LVRH1GH	H1	Hygromycin	EGFP	HIV
psi-LVRU6MH	U6	Hygromycin	mcherry	HIV
psi-LVRH1MH	H1	Hygromycin	mcherry	HIV
psi-LVRU6H	U6	Hygromycin	N/A	HIV
psi-LVRH1H	H1	Hygromycin	N/A	HIV

★ 凡购买shRNA克隆赠送qPCR引物（验证引物+内参引物）

产品名称	产品描述	产品货号	规格	目录价	送
All-in-One™ qPCR 内参引物	mRNA内参引物	各异，官网可查	20μl×100次	¥ 100	
All-in-One™ qPCR Primer	mRNA验证引物		20μl×100次	¥ 200	

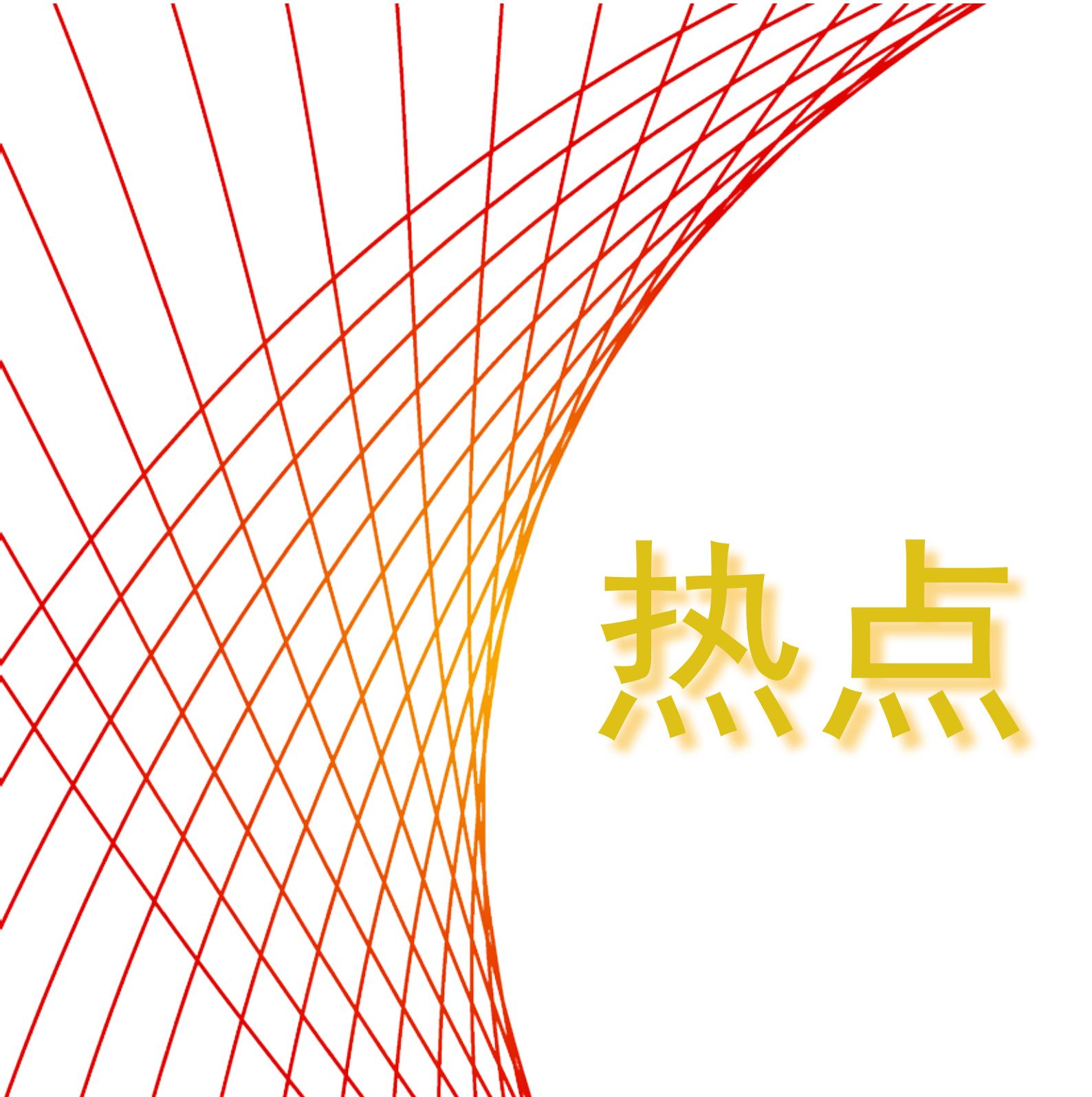
客户发表文章举例：

- ◆ UCP1-independent signaling involving SERCA2b-mediated calcium cycling regulates beige fat thermogenesis and systemic glucose homeostasis. 2017. *Nature Medicine*, IF 29.886. Lentiviral shRNA expression vectors targeting mouse Atp2a2 (CSMSH028715-33-LVRU6GH; CS-MSH028715-34-LVRU6GH-01; scrambled control, CSHCTR001-LVRU6GH).
- ◆ RasGRP3 Mediates MAPK Pathway Activation in GNAQ Mutant Uveal Melanoma. 2017. *Cancer Cell*, IF 27.407. shRNA sequence targeting human RasGRP3 or non-target shRNAs.
- ◆ Notch-Dependent Repression of miR-155 in the Bone Marrow Niche Regulates Hematopoiesis in an NF-κB-Dependent Manner. 2014. *Cell Stem Cell*, IF 23.394. mouse κB-Ras1 shRNA lentivector (MSH033073-LvU6).
- ◆ Encoding and Transducing the Synaptic or Extrasynaptic Origin of NMDA Receptor Signals to the Nucleus. 2013. *Cell*, IF 30.41. Lenti shRNA α-internexin (RSH049887-HIVH1) or scrambled shRNA (CSHCTR001-HIVH1).



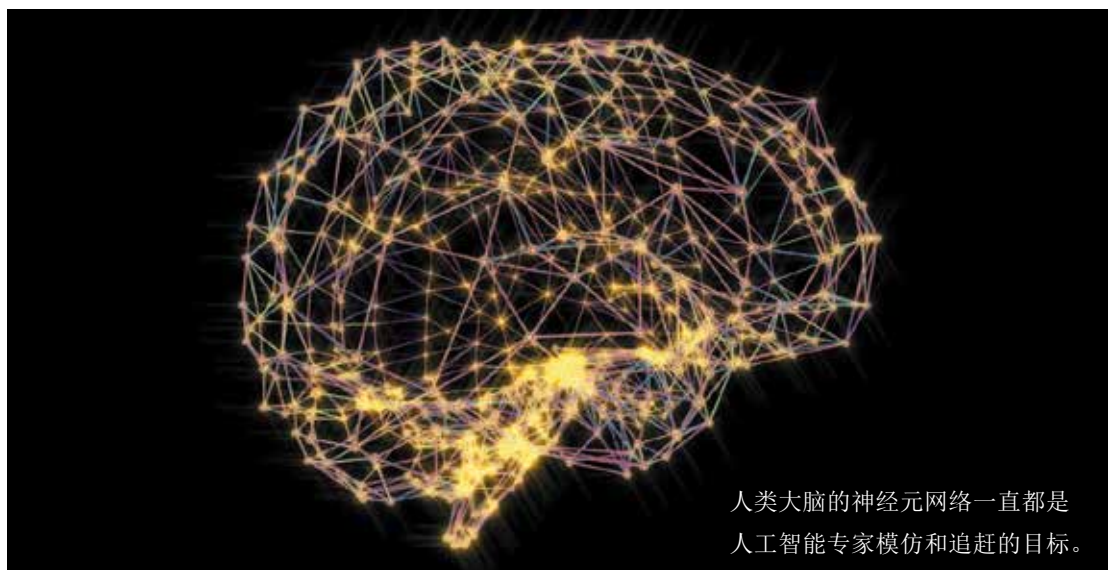
扫一扫，关注官方微信





热点

深度学习技术在生物学上的应用



人类大脑的神经网络一直都是人工智能专家模仿和追赶的目标。

深度学习这种热门的人工智能技术还可以应用到生物科学研究工作当中，以帮助我们挖掘和分类生物学数据。不过那些还不太熟悉深度学习技术的人可能会感到有点费力。

Google公司旗下有一个Google加速科技部门（Google Accelerated Science），他们的主要工作就是利用Google公司的最新科技加快科学研究的进展。4年前，这个部门的科学家登门拜访了美国加利福尼亚州旧金山市Gladstone神经疾病研究所（Gladstone Institute of Neurological Disease in San Francisco）的神经学家Steve Finkbeiner。因为他们觉得，可以利用深度学习技术帮助Finkbeiner团队处理大量的图像数据信息。

深度学习技术可以从海量的、已注释过的数据库里（比如图像数据库或基因组数据库）提取出原始特征（raw feature），然后发掘这些原始特征背后的规律，开发出一套预测工具。经过训练之后，深度学习软件还可以对其它的数据进行分析，哪怕是数据来源差别非常大的数据都不是问题。

Finkbeiner表示，深度学习技术可以解决非常困难、复杂的问题，还可以发掘数据结构。很多时候，由于数据规模太大、太复杂，人脑根本处理不了这些数据。

Finkbeiner的团队开发出了一种高通量的图像采集技术——机器人显微镜技术（robotic microscopy），并以此获得了大量的图像数据，用于脑细胞研究工作。但是他们却无法处理这么多的数据，所以对于Google专家的到访，Finkbeiner是非常欢迎的。

据Finkbeiner介绍，虽然当时他也不清楚，深度学习技术究竟可以帮多大的忙，但是他知道，他们获得数据的速度已经超出了他们处理数据的速度，至少多出了2至3倍。

今天，他们的工作已经获得了回报。Finkbeiner和Google的科学家们一起，已经用两种细胞对深度学习软件进行了训练，其中

一种细胞经过了人工标记，科研人员很容易发现其特征，另外一种细胞是未经标记的。当深度学习软件“看到”那些之前没有见过的、未经标记的细胞图像时，仍然能够给出非常准确的建议，告诉科研人员应该对这些细胞加上哪些标记。这方面的工作已经写成论文，即将发表。

Finkbeiner等人的成功预示着深度学习技术这个最有希望的人工智能技术即将进入生物学研究领域。深度学习技术已经进入了我们现代生活的方方面面，比如智能手机、智能音箱和无人驾驶汽车等。在生物学领域，深度学习技术也给我们提供了很多帮助，处理了很多

类无法处理的数据，发现了很多之前无法发现的信息。生物学家可以利用深度学习技术对细胞图像进行分类，了解基因组间的联系，加快药物研发的进度，甚至还可以发现不同类型的数据之间的关联，比如基因组信息、图像信息和电子病历档案之间的关联等。

在bioRxiv上已经有超过440篇文章在探讨深度学习问题，在PubMed上则有超过700条参考文献——这还只是2017年一年的数据。生物学家和临床科研工作者也越来越容易接触到深度学习技术。不过他们还会面临很多问题，比如深度学习技术可以帮助他们干些什么？如何避免误入歧途等。

“ 训练出更聪明的人工智能软件 ”

深度学习软件依赖的是上世纪四十年代诞生的人工神经网络计算模型。所谓人工神经网络计算模型就是将计算机当作每一个神经元，模拟构成人脑那样的网络连接系统，来像人脑那样分析数据和信息。据美国宾夕法尼亚大学（University of Pennsylvania in Philadelphia）的计算生物学家Casey Greene介绍，大约5年前，以人工神经网络计算模型为基础的机器学习软件（machine-learning algorithms）都还需要科研人员将原始数据进行初加工，然后再输入软件进行训练。但是随着智能手机和大规模基因组测序技术的普及，以及数据规模呈现爆炸性增长和软件业的创新，我们现在已经可以直接使用这些原始数据了。对于机器学习而言，就是深度学习，即让计算机自己在海量的数据中寻找有意义的关联，而不需要程序员的辅助。在人工神经网络中不同的“皮层”对数据进行分类和过滤的同时，它们彼此之间也在互相交流，让每一个“皮层”都可以从前一层那里提取运算结果。

最后，这些经过数据训练的人工智能软件

就可以正式出师，处理新的数据，并且给出非常准确的结果，比如认出一幅图画是Charles Darwin，还是一个病变的细胞。不过随着科研人员对这些软件“放任自流”，他们也失去了对整个数据处理过程的监控，因此不能够准确地解释软件的行为。这些深度学习软件的准确预测能力非常惊人，Finkbeiner表示，很多时候，他们都会感到困惑，究竟是什么原理，让这些软件变得这么神奇。很多生物学研究的子方向，比如图像研究工作已经从人工智能技术中获得了丰厚的回报。10年前，生物学图像自动处理技术还都只是关注测量一个图像参数的问题。比如在2005年，美国博大研究所（Broad Institute of MIT and Harvard in Cambridge, Massachusetts）的计算生物学家Anne Carpenter公布了一个开源软件，名为CellProfiler。该软件可以帮助生物学家对某一个参数进行定量检测，比如荧光显微镜下一个视野里有多少个荧光细胞，或者一条斑马鱼有多长等。

在深度学习技术的帮助下，Carpenter

等人取得了更大的成果。据她介绍，她们已经瞄准了很多生物学家都没意识到的地方，比如将DNA染色（DNA staining）、细胞器质地（organelle texture）和细胞内空间的质量（quality of empty spaces）等参数结合起来，就可以得到数千种细胞特征，而随便一种特征都可以揭示一个新发现。最新版本的CellProfiler已经包含了这些深度学习元素，而Carpenter等人还计划将来加入更多的、更高级的深度学习工具。

Carpenter表示，大部分人都很难理解这些“细胞特征”。然而，一个细胞就是有这么

丰富的信息。事实上包含一群细胞的一幅图像可能还会有更多信息，因为这是该细胞群的转录组群像。

这种图像分析软件让Carpenter等人能够用更自动化的方式来处理细胞图像数据，将细胞图像信息“翻译”成疾病相关信息。目前，Carpenter在美国盐湖城的Recursion制药公司（Recursion Pharmaceuticals in Salt Lake City, Utah）担任科学顾问一职，该公司就在利用她们的深度学习技术，为单基因罕见病开发新药。

“深度发掘基因组数据金矿”

在深度学习时代，并不是所有数据都可以用于训练深度学习软件的，只有那些经过详细注释的海量数据库才适合训练人工智能软件。图像数据很适合，基因组数据也同样适合。

例如Verily Life Sciences公司（原为Google母公司的Alphabet公司旗下的Google Life Sciences公司）就正在使用基因组数据开展深度学习研究。该公司的科研人员已经开发出了一种名为DeepVariant的深度学习软件。这个软件可以发现单核苷酸多态性（single-nucleotide polymorphisms, SNP）这种常见的基因组变异，而且精确度也明显优于传统方法。DeepVariant软件能够先将基因组数据转换成图像数据，然后再对这些图像数据进行分析。该软件的研发负责人Mark DePristo希望这款软件能够为研究非主流物种的科研人员提供帮助，因为这些研究人员手头并没有太多可用的参考序列，或者高质量的参考序列，所以很难通过传统的方法发现变异信息。DePristo的同事Ryan Poplin就使用DeepVariant软件对植物的基因组进行了分析，出错率仅为2%，

而传统方法的出错率则高达20%。

加拿大多伦多市Deep Genomics公司CEO Brendan Frey的关注点也是基因组数据，不过他们更侧重如何利用基因组数据来治疗疾病。Frey在加拿大多伦多大学（University of Toronto）的科研团队开发了一些深度学习软件，并且用健康细胞的基因组和转录组数据对其进行了训练。这些软件能够利用核酸数据预测RNA剪接（splicing）、RNA转录（transcription）和RNA多腺苷酸化（polyadenylation）等细胞内的各种RNA事件。如果输入临床数据，即使是之前没有见过的临床数据，这些软件都可以发现突变信号，而且还会自动标记与疾病相关的突变信号。Deep Genomics公司的科研人员正在利用同样的技术，确认发病机制，并根据这些突变的短核苷酸序列信息，开发相应的治疗药物。

药物数据库也是非常适合深度学习的数据资源。利用这种人工智能技术，可以解决分类难题（categorization challenges），找出形状或氢键（hydrogen bonding）等分子特

征，以明确药物所属类别。比如，美国加利福尼亚州旧金山市的Atomwise公司就开发了一款名为voxels的软件，它可以将分子数据转换成三维像素数据。据该公司的CEO Abraham Heifets介绍，该公司利用这款软件对蛋白质和小分子进行了原子层面的三维结构分析，并对其中碳原子的几何形状特征进行了建模。将这些数据转换成数学模型，软件就可以利用这些模型预测蛋白质都可能与哪些小分子物质发生相互作用。Heifets表示，他们开展的很多工作都是为蛋白质寻找结合物，而之前，他们一直都不知道哪些分子能够与这些蛋白质结合。

Atomwise公司已经在他们的人工智能分子筛选平台中使用了这项技术，该平台可以在含有1000万种化合物资料的药物数据库中，为

客户感兴趣的目标蛋白找到最多72种结合小分子药物。

深度学习软件还可以帮助科研人员厘清疾病类型、认识各种疾病、发现新的治疗方法和药物，以及为各种疗法和临床试验项目寻找最合适的患者等。比如有一个名为Answer ALS的组织，希望集合基因组学、转录组学、表观基因组学、蛋白质组学、影像学和干细胞生物学等诸多学科，通过分析1000名ALS患者的上述各种数据来攻克这种疑难病例。Finkbeiner也参加了这个项目，据他介绍，他们首先要做的是让深度学习软件研究一个数据库，看看它能不能从这些数据中发现隐藏的线索，从而了解这种疾病的发病机制。

深度学习软件工作流程简介

深度学习技术有多种模式。Steve Finkbeiner 实验室使用的是卷积神经网络技术 (convolutional neural network, CNN)。该技术可以从一群细胞图像中识别出死细胞的图像，准确率也非常高。

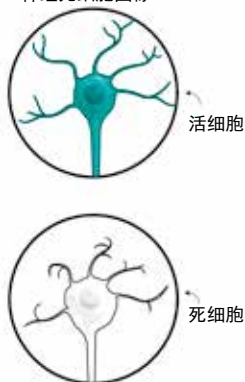
输入数据

这个网络需先经数据训练才能开始工作，这往往需要数十万已经注释过的细胞图像（包括活细胞和死细胞）进行训练。

训练 AI

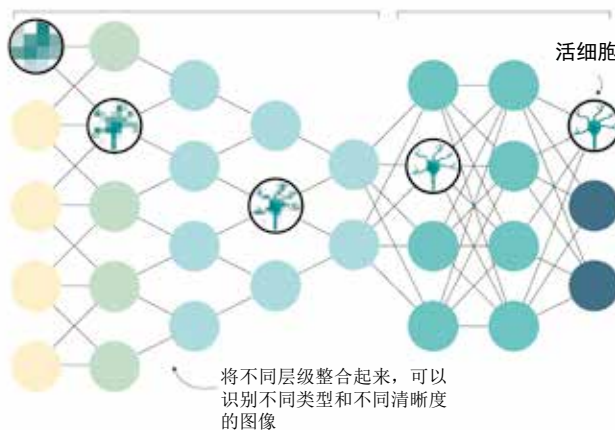
经过多次的反复训练，人工智能软件就可以发现数据的规律，识别出活细胞和死细胞的图像。首先，逐级处理过程可以判定细胞图像的结构特征，然后再进行网络处理。

神经元细胞图像



逐级处理过程

网络处理过程



实际应用

已训练好的人工智能软件能分辨出一幅未经预处理的细胞图像是活细胞，还是死细胞图像，准确率非常高。



虽然深度学习技术的前景非常美好，但也存在着很多困难和挑战。与其它计算生物学技术一样，分析结果的质量直接取决于输入数据的质量。另外也应关注过拟合（Overfitting）问题。数据的质量以及标准也是非常重要的。

深度学习技术需要以大规模、已注释的数据为训练材料。更大规模的、标注清晰的数据库，比如拥有数百万个代表不同实验条件和生理条件的数据，能够让科研人员在训练深度学习软件时拥有最大的灵活性。Finkbeiner指出，他们自己的经验表明，在样本量达到15000时，软件的训练效果有了明显的提升。不过Carpenter也承认，这种海量的、标定好的真实数据（ground truth）不是那么容易得到的。

为了解决这个问题，科研人员想出了其它一些办法来用更少的数据训练深度学习软件。随着IT技术的进步，人工神经网络技术利用数据的效率也在提高。据Carpenter介绍，在某些情况下，使用少量的图像进行软件训练就足够了。此外，我们还可以利用迁移学习技术（transfer learning），即把已经训练好的模型参数迁移到新的模型，来帮助新模型训练。比如，Finkbeiner等人就开发了一种软件，根据细胞的形态来预测细胞是否会死亡。该软件训练时采用的数据是啮齿类动物的细胞图像，在对人类细胞图像进行预测时，准确率为90%；随着经验的积累，准确率后来提高到了99%。

Google Accelerated Science公司的生物图像识别工作，有一部分使用的软件，在最开始就是利用从互联网上获取的上亿张消费者图像信息来进行训练的。后来，科研人员简缩了这个训练过程，只使用数百张与待研究目标类似的生物图像就可以达到效果。

Google Accelerated Science公司的科研

人员Michelle Dimon指出，深度学习技术面临的另一大挑战就是计算机本身是又懒又笨的。计算机不会区分什么是正常的变异，什么是有生物学意义的差异，不过它们大规模发现差异的能力的确很强。因此，获得训练深度学习软件的数据，往往也意味着对实验设计和试验控制要求严格。Google Accelerated Science公司要求科研人员在细胞培养皿上放置随机对照，以了解培养箱温度等环境因素的微小差异给试验带来的影响，使得研究者可以使用两倍的对照组。如果没有这个系统，就需要研究者自己进行操作。Dimon打趣道，他们那边的科研人员在做实验时，用移液器都很困难。

Dimon认为，这也进一步凸显出生物学家与IT专家共同合作，为深度学习软件设计实验的重要性。进行周密的实验设计已经成为Google Accelerated Science公司最重要的行为准则，其重要程度甚至超过了他们的最新项目——Contour计划。Contour计划的目标就是将细胞影像学数据按照重点特征进行归类，而不是简单地进行影像学分类。

Greene提醒，虽然深度学习软件可以全自动地分析数据，无需人工干预，但这并不意味着不会出现偏倚（biased）。训练用数据就可能存在偏倚，比如只使用了北欧人的基因组数据等。如果用这些偏倚数据来训练深度学习软件，那么在后面的工作中肯定会出现偏差，最终影响临床工作。此时，就需要人工来进行校正。在做关键性决策时尤其需要注意这个问题。Greene指出，我们应该让人工智能技术来帮助我们思考，而不是让它们来代替我们思考。

还有一个问题就是，我们还不清楚，这些人工智能软件是如何发现数据的特征，如何对数据进行分类的。据美国马里兰州巴尔的摩Insilico医学中心（Insilico Medicine

in Baltimore, Maryland) 的研究人员Polina Mamoshina介绍, 计算机专家也在尝试解决这个问题, 他们的办法就是改变或者打乱模型里的变量, 然后观察软件的运行结果。Mamoshina等人也在使用深度学习技术改进新药研发工作。不过Greene指出, 不同的深度学习软件, 即便在处理同一个问题时, 也可

能会采用不同的运行机制。科研人员越来越关注深度学习软件的预测准确性和合理性, 不过目前, 我们还是不清楚这些人工智能的运行机制。

Greene认为, 2018年肯定来不及阐明深度学习的整体运行机制, 不过他希望他是错的。

深度学习技术介绍

目前深度学习技术正在飞快地发展着。生物实验室只有配备专门的IT人员, 或者与外部的IT人员合作, 才能更好地利用这项新技术。

首先, 美国加利福尼亚州旧金山市Gladstone神经疾病研究所(Gladstone Institute of Neurological Disease in San Francisco)的神经学家Steve Finkbeiner认为, 可以和有深度学习知识背景的人吃个工作餐, 看看是否可以在生物科学研究工作中用到深度学习技术, 可以使用哪种技术。有一些数据, 比如图像数据就可以用现成的深度学习软件来处理。如果要开展更复杂的工作, 那就需要与专业的IT人员开展合作了。参加会议和讨论会也可以提供训练的机会。

在使用深度学习软件时还可以使用云计算资源, 这样就不需要自己配备计算机等硬件系统了。Google公司的TensorFlow系统就是一个开源的深度学习软件平台, 大家可以到GitHub网站上获得TensorFlow系统。DeepVariant也是一款非常好的开源深度学习软件, 可用于发现遗传变异。

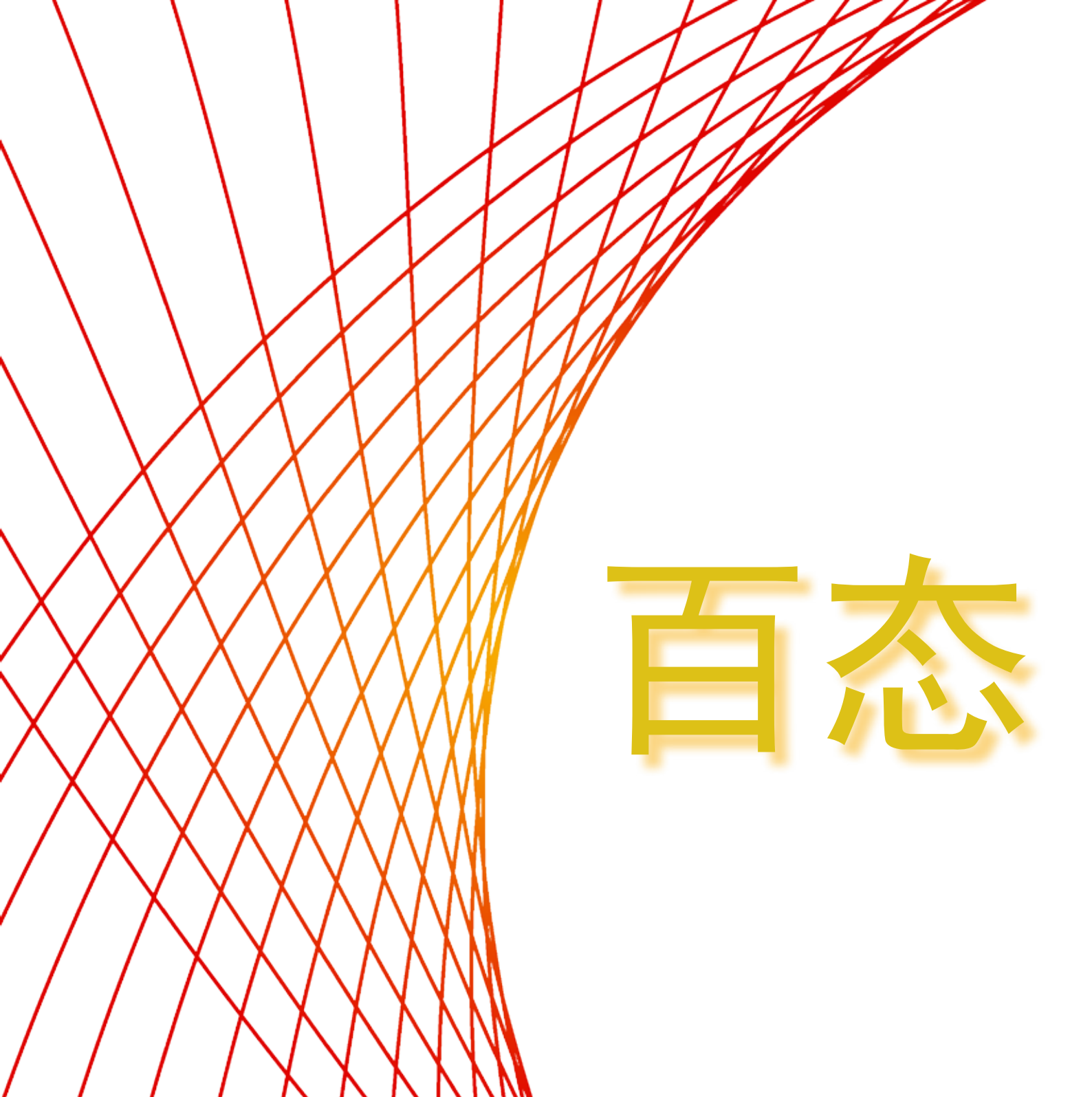
据Google Accelerated Science公司的科学家Michelle Dimon介绍, 他们也和很多生物学家开展了广泛的合作。他们研究的都是非常值得研究的生物学问题, 都需要大量的、高质量的和已注释过的数据。他们公司的机器学习专家在其中解决的也都是重大问题, 都是对机器学习界有重要贡献的问题。

那些希望加快认识深度学习技术的科学家也应该好好看看美国宾夕法尼亚大学计算生物学家Casey Greene写的一篇深度学习综述, 会很有帮助的, 详见T. Ching et al. Preprint at bioRxiv <http://doi.org/gbpvh5>; 2018。

原文检索:

Sarah Webb. (2018) DEEP LEARNING FOR BIOLOGY. *Nature*, 554: 555-557.

Eason/编译



百态

乌贼能听到“逼近的险情”

乌贼试图捕捉扣在两个培养皿中间的活虾。



让我们先想象一下捕食的场景：只有在猎物对即将到来的危险毫无意识时，狩猎者才能蹑手蹑脚地逼近自己的晚餐。这样的场景对于想要吃到一口美食的水生动物来说，是轻而易举的。对此，南丹麦大学（University of Southern Denmark）的Maria Wilson表示，在水下捕食，不可避免地会产生哪怕一点儿的水动力干扰。他还描述了表示狩猎动物正在靠近猎物的预兆——头波（bow wave），随后就是猎物最后听到的——被吃掉的声音。对此，Wilson及其同事——来自挪威奥斯陆大学（University of Oslo）的Jens Haga和Hans Erik Karlsen解释说，这是因为水波能产生低音（低频）振动。那么，对多种大型水生狩猎动物都特别敏感的乌贼（首选研究对象）是否会留心倾听即将到来的袭击？如果是，为了避开狩猎者的捕食，它们会快速游向哪个方向？

Wilson表示，乌贼的耳朵——平衡囊（statocysts）——埋藏在其头部里面，能很好地接收低音调声音。因此，哪怕在昏暗的条

件下，乌贼也能感知到预示着袭击的振动。因此，她和Karlsen决定开展一项测试——在水槽中观察乌贼对低频振动产生的反应。

另外，乌贼拥有非常敏锐的视觉和传感力，极易觉察到经过皮肤的水流变化，很容易受惊。因此，研究小组启用了—个特殊的水槽（由Karlsen设计），以确保乌贼不受其它无关事物的影响。除此之外，Wilson还设法使测试乌贼所处的周围环境保持平静，以防其在水里释放墨汁。即使这样，喷墨的情况也不能完全避免，每当此时，就只能把乌贼移走，将水槽清理干净。有一回，Wilson甚至还被喷了一脸墨汁，仿佛是那家伙故意的。

好不容易把乌贼各自单独安置在水槽中之后，Wilson、Karlsen和Haga利用放在水槽边的振动器，分别在明亮和黑暗的条件下模拟狩猎动物的靠近和即将发起的觅食攻击。当振动波通过水流漫过乌贼时，乌贼的反应被拍摄了下来，研究人员观察到它们瞬间意识到了来自外界的叨扰，马上改变了皮肤的图案。而当

模拟狩猎动物接近的水波振动被乌贼感触到之后，它们马上向头波传来的方向逃窜，无论此时有没有光照。

但是，当模拟狩猎者冲击捕食最后一瞬的压力波（**pressure wave**）惊动乌贼时，它还是会向水流来的方向转移，而这将使它们直接进入狩猎动物的血盘大口中！起初，**Wilson**对这种反常的行为难以理解，后来，她认为这种情况在现实中发生的可能性不大，因为乌贼在感知到这种迫近的危险之前，早就已经逃之夭夭了。

研究小组还尝试通过美味的小虾影像来分散饥饿的乌贼的注意力，结果……这些乌贼只

看了一遍影像，就好像被迷住了。当投影黑屏时，它们竟然还呆在那儿，等着它重现。事实上，乌贼对可能有食物的美好梦想是如此地着迷，以至研究小组不得不再次打开振动器，弄出点儿模拟攻击的动静来，才能把它们从那美梦中拉回现实。

由上可以看出，乌贼的确依赖其耳朵来帮助逃离即将到来的攻击。目前，**Wilson**关注的另一个问题是：由轮船产生的低音噪音可能会掩盖头波带来的警告信号，从而使那些本来就狡猾的狩猎者更加容易得手。届时，乌贼的处境恐怕就更为艰难了。

原文检索：

Wilson, M., Haga, J. Å. R. and Karlsen, H. E. (2018). Behavioural responses to infrasonic particle acceleration in cuttlefish. *J. Exp. Biol.* 221, doi: 10.1242/jeb.166074.

文佳/编译

象鼻虫？那家伙太难下嘴了



大圆斑球背象鼻虫（*Pachyrhynchus sarcitis kotoensis weevil*）。

早在150年前，科学家Alfred Russel Wallace就被小巧而多彩的象鼻虫（*Pachyrhynchus weevils*）迷住了。但他还不是最早的先驱，在他之前，台湾兰屿岛（Orchid Island）的达悟族人就已经知道，微不足道的象鼻虫拥有令人难以想象的坚硬外壳。对此，台湾师范大学（National Taiwan Normal University）的Chung-Ping Lin笑着说，台湾有一个传说，仅用手指就能捏碎象鼻虫的勇士能够为心上人带来幸福，可想而知这

种小动物会有多对付。当年，Wallace在东南亚旅行时遇到了这种色彩鲜丽的小动物，从此一发不可收拾。他指出，象鼻虫身上鲜明的标志性图案可能可以起到震慑作用，使狩猎动物怕它们太难吃而避开。对此Lin表示，Wallace所说的就是警戒态（警戒色），即颜色与某种有效的次级防卫策略相关。不过，此前没有人认同Wallace的猜想——象鼻虫艳丽的色彩可能具有震慑潜在狩猎动物的作用，因此Wallace的观点成为了150年以来的假说。那

么，象鼻虫到底靠什么来震慑狩猎者呢？是不是警告对方它们很难吃，会导致其嘴巴不适，或者难以下咽呢？目前仍未清楚。

为了弄清楚这件事，Lin等人到了美丽的
大圆斑球背象鼻虫（*Pachyrhynchus sarcitis kotoensis*）所在的家乡——位于台湾北部的兰屿岛，决心去发现狩猎者避开这种小动物的确切原因。Lin坦言，其中的难点在于要找到“身体柔软”的幼体象鼻虫，这个任务似乎不可能完成。直到Lin、Wen-San Huang和Lu-Yi Wang设法从茂盛的植被中采集到了六只成年象鼻虫，事情才出现了转机。当然，过程是极有挑战性的：象鼻虫幼虫躲在宿主植物里面，以其内部柔软的部分为食，极难找到。得益于来自台北市立动物园的两位工作人员Hsin-Chieh Tang和Lung-Chun Huang的耐心，他们最终有了回报，柔软的象鼻虫幼虫破蛹而出。

接着，Lin将数周大的“柔软”象鼻虫幼虫和2个月大的“坚硬”象鼻虫送到台湾龙蜥（斯文豪氏攀蜥，*Japalura swinhonis*, Taiwan *japalure lizards*）眼前，拍摄蜥蜴的反应。结果令人惊异：所有坚硬外壳的象鼻虫都毫发无损地被蜥蜴吐了出来，并且后者再也没

有试图进行掠食攻击。而那些软壳象鼻虫就没那么幸运了，蜥蜴满意地对其大嚼特嚼，恐怕连渣滓都没剩多少。那么，是因为甲虫的脚爪可能会弄伤蜥蜴的嘴巴吗？为此研究人员随后切掉了象鼻虫的脚爪，但蜥蜴仍然无法吃掉这些硬壳的家伙——看来并不是脚爪的问题。那么，还有一种可能是蜥蜴不喜欢它们的味道。于是，Wang将硬壳象鼻虫放在乙醚中浸泡，以清除其体表的某些分子物质。然而，事实证明，也不是因为象鼻虫体表存在的某种不太好吃的毒素。

Lin总结说，看来，象鼻虫是凭借其坚硬的身体避开狩猎动物的攻击，而非其它有效次级防卫策略（诸如锋利的爪子或体表的毒性物质）使其存活。也就是说，象鼻虫坚硬的外壳足以震慑外敌，保其安全。而且，只要龙蜥把徒有其表的软壳象鼻虫放到嘴里尝一尝，马上就能知道吃这个总比吃另一个（外壳坚硬的）好，就能说明问题。Lin认为，倘若Wallace知道自己的假说仍然能够激起21世纪科学家的研究热情，肯定会很高兴。毕竟，一个多世纪之后，人们还在阅读他的著作，这就足以使他含笑九泉了。

原文检索：

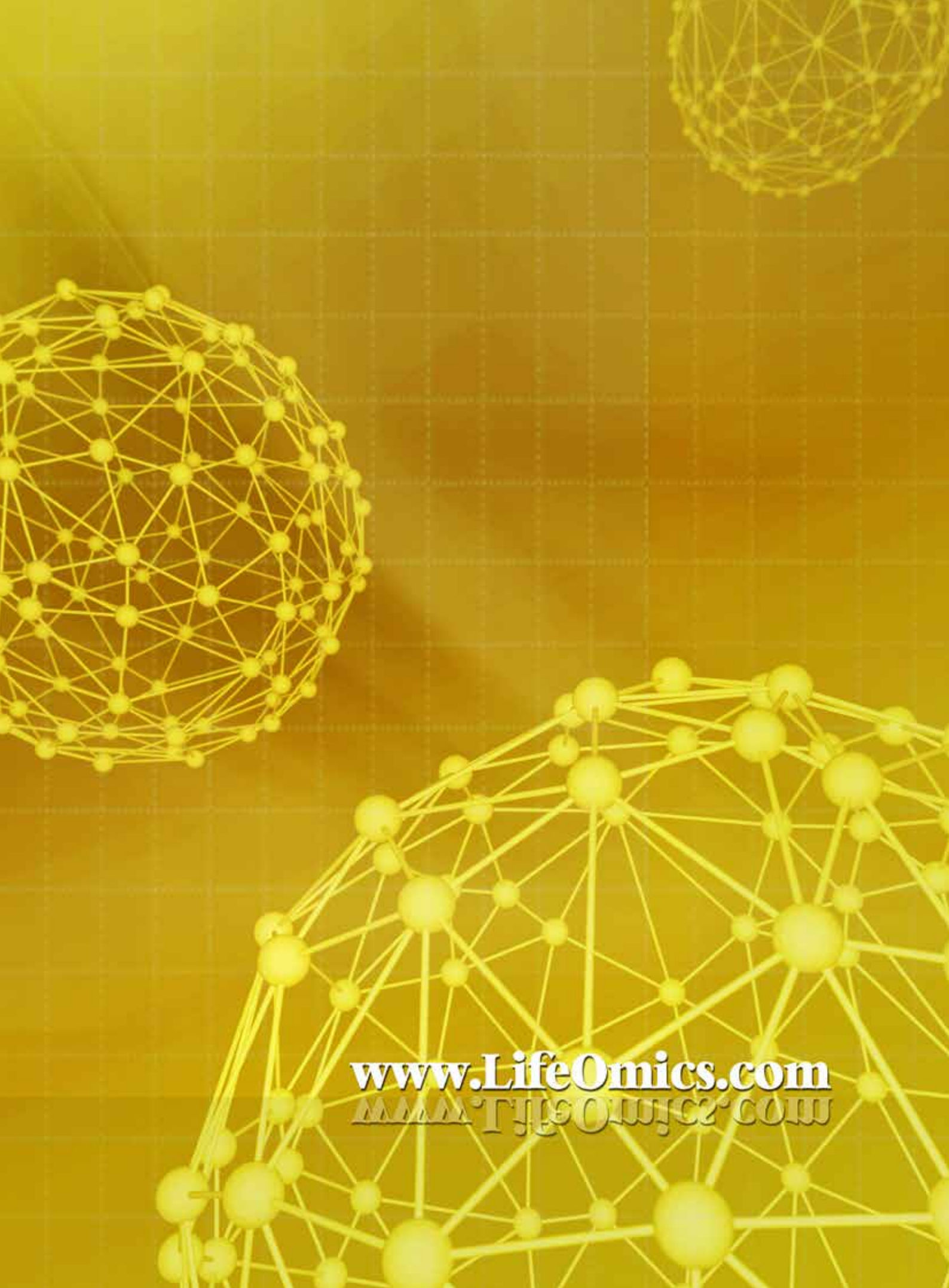
Wang, L.-Y., Huang, W.-S., Tang, H.-C., Huang, L.-C. and Lin, C.-P. (2018). Too hard to swallow: a secret secondary defence of an aposematic insect. *J. Exp. Biol.* 221, doi:10.1242/jeb.172486

文佳/编译

A group of people are standing on their hands, forming a human pyramid. The pyramid is composed of several layers, with the most people at the base and fewer people at the top. The background is a bright, cloudy sky with a large, glowing sun or moon in the upper left corner. The overall tone of the image is motivational and collaborative.

合办专题专刊
网站广告合作
邮件群发推广

请致电 (020) 32051255



www.LifeOmics.com
www.LifeOmics.com