

结构基因组学是继人类基因组之后又一个国际性科学大热点，主要目的是试图在生物体的整体水平上（如全基因组、全细胞或完整的生物体）测定出（以实验为主、包括理论预测）全部蛋白质分子、蛋白质—蛋白质、蛋白质—核酸、蛋白质—多糖、蛋白质—蛋白质—核酸—多糖、蛋白质与其它生物分子复合体的精细三维结构，以获得一幅完整的、能够在细胞中定位以及在各种生物学代谢途径、生理途径、信号传导途径中全部蛋白质在原子水平的三维结构全息图。在此基础上，使人们有可能在基因组学、蛋白质组学、分子细胞生物学以致生物体整体水平上理解生命的原理。同时，对疾病机理的阐明和疾病的防治也都有重要的应用意义。

这一学科的起源可以追溯到二十世纪九十年代中后期加拿大、日本和美国等国出色的航天科学技术，而后大量基因组信息的发现、蛋白质表达的研究、计算方法的建立、生物分子核磁共振和X射线结晶的发明，使得结构基因组学发展成为一门独立的学科。

可以这样概括国际结构基因组计划的内容：选择目的基因、构建表达质粒、规模化地表达纯化蛋白质、用X-射线晶体衍射、核磁共振波谱（NMR）系统测定蛋白质的三维结构，特别是空间结构类型未知（无序列同源性）的蛋白质，进而对蛋白质分类，根据蛋白质的一级结构预测其空间结构、功能。

结构基因组学的研究，将成为基于蛋白质空间结构合理设计药物的基础，同时有助于开展结构生物学的方法学研究。

八

光学显微镜观察较厚样品不再是难题

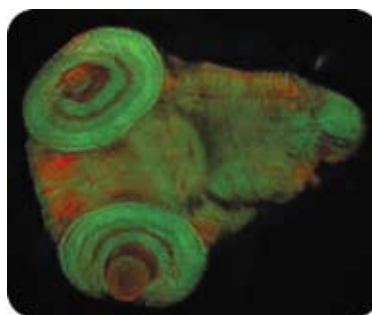
随着对较厚样品光学成像能力的增强，使用光学成像技术来观察活体内的生物过程正逐渐成为可能。

生物体都是三维结构的，即使活体状态下的细胞也很少会像它们在培养皿中那样呈现出单独的单层状态。不过，在进行活体研究时历来就存在技术困难，尤其是在活体成像技术方面更是没有什么突破。

生物组织大部分都是不透光的，而且对光的散射能力特别强，因此，观察较厚组织时很难获得质量较好的图像。例如，使用传统的共聚焦显微镜就无法观察厚度超过数百微米的样品，但果蝇幼虫（fruitfly larva）、哺乳动物的胚胎（mammalian embryo）或者组织切片等样品的厚度通常都要远远超过这个范围。另一方面，研究人员也希望能获得这些样品的整体图像，从而能对这些样品的组织结构和基因表达情况有个整体了解，不过这些要求对于传统的光学成像技术来说都难以达到。尽管现在有了核磁共振成像技术（magnetic resonance imaging, MRI），在观察的深度方面有了一定的提高，但图像的分辨率还远远达不到要求。

因此，在类似共聚焦显微镜（confocal microscopy）这类高分辨率的成像技术和能进行活体观察但分辨率较低的成像技术（如MRI）之间就出现了一道分水岭。不过，最近几年间出现的几种新的光学成像技术有望消除这道鸿沟。

单层光显微技术（light sheet microscopy）这项最近获得改进的传统技术能对厚达数毫米的样品进行观察，并能进行荧光成像。该技术已经成功用于观察细小生物体和胚胎组织。去年，有科研工作者使用改进的单层光显微技术观察斑马鱼胚胎在24小时内的发育状况，并获得了数千个细胞的整体图像。



图片说明：鳞胚胎（Medaka embryo）的光学图像。

图片来源：Nat. Methods 4, 311-313; 2007.

相比之下,诸如光学投影层析成像技术(optical projection tomography, OPT)这类层析成像技术就需要先对样品进行多角度观察,然后再使用数字技术重建,才能获得三维图像。OPT可以对厚度达到10毫米的样品进行成像。去年,有人将OPT技术和体外器官培养技术结合起来,获得了发育中的小鼠肢芽(limb bud)组织迁移以及基因表达情况的图像。

虽然上述三维成像技术和其它的一些三维成像技术还没有被大众广泛接受,但人们相信,随着这些技术的不断改进,随着大家对这些技术的不断了解,它们很快就会得到广泛应用的。

原文检索: *Nature Methods* Published online: 17 December 2008; doi: 10.1038/ Nmeth.f. 241



九 试验验证miRNA靶基因



图片说明: 现在人们有了更多的办法来预测miRNA靶基因。

图片来源: Katie Ris-Vicari

尽管现在人们可以越来越准确地预测microRNA的沉默效果,但还是需要高通量而且准确的直接验证技术来验证microRNA的沉默效果。

microRNA这个在生物学史上具有重要意义的小分子,在2008年又一次成为了世人瞩目的焦点。microRNA通过与目标mRNA的3' UTR区域结合来阻止其翻译,具体作用机制可分为两种:一种是降解目标mRNA从而达到阻止其翻译的目的,另一种则是直接抑制mRNA的翻译过程。

为了解细胞中基因的真正生物学意义,研究人员往往会使用很多microRNA分子来沉默细胞中大量的mRNA表达,有时候这些被沉默基因的数目甚至比所使用的microRNA数目还要多。而现在使用的计算机预测靶基因技术还不够成熟,非常容易出错。鉴于此,去年人们开始使用一种新型的大规模验证方法,即在硅片上进行microRNA靶基因验证的“湿试验(真正的试验而不是用计算机模拟的“干”试验)”。

由于采用了这种方法,研究人员在2008年取得了一系列的成果。Nikolaus Rajewsky小组和David Bartel小组都各自独立地将蛋白质组学与分子生物技术结合在一起,使用定量质谱检测技术检测了细胞里蛋白质组水平的蛋白表达变化情况,然后将这些蛋白表达的改变情况与特定microRNA分子的多少联系起来进行分析,以此来验证microRNA的靶基因沉默效果。因为microRNA作用的结果就是导致某些蛋白表达量的减少,因此在蛋白质组水平上进行定量的检测是应该可以检测到这些蛋白表达量下降的。因此,使用该技术从理论上说是能够准确判断microRNA分子是否能够有效沉默靶基因的。

另一种从整体水平上来检测microRNA靶基因沉默效果的办法就是降解组测序法(degradome sequencing)(降解组,见文后小词典)。Pamela Green小组和Michael Axtell小组曾经在植物研究中使用过这一种新方法。在研究microRNA靶基因沉默效果时科研人员对microRNA介导的mRNA降解产物进行了测序,然后再使用这些被测出的序列与microRNA数据库进行比对就能发现是哪些microRNA分子导致了这一种mRNA分子降解。这一技术在植物microRNA研究中应用得非常成功,能非常准确地预测出microRNA针对的靶基因。不过,在其它以前还未能很好进行预测的物种