

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

中，这种方法的准确率有多高还需要进一步的实验加以验证。

与此同时，生物信息学家还在不断丰富他们的数据库，希望用更多的数据加以比对，从而提高计算机预测的准确率。其中的一种比对方法就是mirWIP方法。该方法由Victor Ambros小组设计，他们使用的是已经经过免疫沉淀技术验证过的秀丽隐杆线虫（*Caenorhabditis elegans*）microRNA数据库及其相应靶mRNA数据库，希望这样能够提高计算机预测的准确率。

上述整体水平检测方法都极大提高了人们预测microRNA靶基因的准确率，也为人们进行下一步的试验验证工作提供了更准确的候选microRNA分子，不过最终还是需要高通量的“湿试验”来进行验证确认。

原文检索: *Nature Methods* Published online: 17 December 2008; doi: 10.1038/ Nmeth.f. 242



小词典

降解组 (degradome):

降解组是体内降解蛋白质的所有酶的集合，人体中有大约560种这样的蛋白酶。近来，一些科学家提出的所谓“癌降解组”（cancerdegradome）则是指这一系列蛋白酶基因、蛋白酶天然抑制剂和与蛋白酶相互作用的一些蛋白质的集合。癌降解组的阐明可为癌变分子机理的阐明，为肿瘤的诊断、治疗提供依据，因此受到人们的关注。

科研综述 研究前沿 热点话题
技术方法 专题译述 生命百态
会议展览 教学视频



www.LifeOmic.com