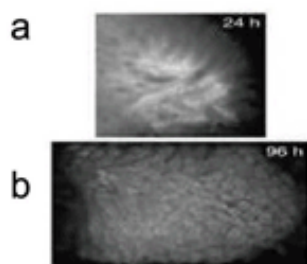


# 化学生物学：DNA合成的发光指示



高分辨率成像图

研究人员开发了一种在细胞增殖时实时检测DNA合成的新方法，摒弃了传统方法中的染料抗体，转而使用小分子荧光基团报告DNA的合成，提高了荧光信号的分辨率和强度。

## 检测DNA合成的方法可以用于测定细胞增殖、细胞周期动力学 (cell-cycle kinetics) 和细胞活力 (cell viability) 等参数，其中最常用的方法是在利用胸腺嘧啶核苷酸的类似物——5-溴-2'-脱氧尿嘧啶核苷 (5-bromo-2'-deoxyuridine, BrdU) 进行检测。

因为在细胞周期的S期即DNA进行复制时，和细胞一起温育的BrdU能插入DNA分子中，再用BrdU的抗体与嵌入DNA分子中的BrdU特异结合，就能够检测到DNA复制活跃的细胞。

哈佛医学院 (Harvard Medical School) 细胞生物学家Adrian Salic在化学方面也有涉猎，他认为在一些特定情况下用小分子取代抗体更具优势。他表示：“我希望能够用分辨率更高的显微镜观察细胞中的DNA。但令人遗憾的是，为了能够暴露出BrdU的抗原表位，必须用甲醇、乙酸或者高浓度的盐酸处理样品。”在经历了如此严格的处理后，生物体原本精巧细致的结构在显微镜下就变得惨不忍睹了。

Salic和同事Timothy Mitchison决定使用一价铜离子催化的加环生物正交反应，又被称为“点击化学”（这一概念是由Dr. Sharpless在2001年提出的，其特点是直接将小分子一次性高效高产率合成复杂分子）。他们使用这种方法合成了一种胸腺嘧啶核苷的类似物——5-乙炔基-2'-脱氧尿嘧啶核苷 (5-ethynyl-2'-deoxyuridine, EdU)，其炔基团在天然化合物中很少见。细胞增殖时，EdU取代胸腺嘧

啶核苷插入正在复制的DNA分子中。研究人员继而将细胞与荧光叠氮分子一起温育，这种荧光分子可以快速且特异地和EdU的炔基团反应，使新合成的DNA被荧光标记上。Salic特别提醒说：“和传统的免疫荧光染色不同，这一染色法可以在几分钟内完成，且不需要进行严格的样品变性处理，使组织成像更简单易行。”

与传统的BrdU免疫组织化学染色 (BrdU immunostaining) 相比，使用这种“点击化学”得到的反应产物可以加强荧光信号，方便研究人员在更低的方法倍数下观察更大范围的组织。Salic继续解释说：“荧光叠氮分子仅为抗体大小的1/500，因此更容易发生扩散。这可以帮助我们在组织甚至器官的整体水平上，实时观察细胞增殖的真实情况。”研究人员利用这一技术拍摄了来源于新鲜小鼠小肠部分组织的细胞发生增殖的图像，测定小肠绒毛的细胞更新情况。

Salic同时表示，这种检测方法非常快速，且只需简单的几个步骤，因此也可以应用于高通量实验，如在药物筛选中检测加药后细胞的活力。Salic也谨慎地指出，这一方法将不会完全取代BrdU的使用，毕竟BrdU也已经成功地应用了好长一段时间。但使用EdU肯定会在许多实验中占有优势，到底选择哪种方法取决于你要做哪种实验。

原文检索：<http://www.signaling-gateway.org>

## 参考文献

1. Salic, A. & Mitchison, T.J. A chemical method for fast and sensitive detection of DNA synthesis in vivo. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105, 2415–2420 (2008).



Sirius/编译