

## (四) 单细胞技术

针对单细胞的研究将深化我们对细胞异质性的理解。

细胞个体之间，甚至具有相同遗传背景的体外培养细胞个体之间也是不尽相同的，不同细胞之间在酶活性、基因表达和细胞信号转导方面有很大的差异。例如干细胞和祖细胞等具有细胞分化特点的细胞之间就有很大分别，其它哺乳动物原代细胞、培养的细胞系、原核细胞以及酵母尤为如此。

为了更好地解析细胞生物学特性，开发用于研究单个细胞功能的技术势在必行。而诸如“组”的分析技术，从基因组分析技术（如RNA-Seq）到蛋白质组分析或代谢物组学图谱分析等技术在宏观上展示了细胞间的差别以及这些差别对细胞功能的影响，所以这些技术在单细胞研究上极具潜力。同时，一些基础的实验方法，例如RT-PCR或用于蛋白检测的扩增法等，如果应用于单细胞水平也能使我们对细胞水平的变化有深入了解。这些方法中，如单细胞RNA-Seq分析已崭露头角，而其它方法，诸如单细胞蛋白质组分析目前似乎仍然遥不可及。这些方法的发展对解决检测材料有限这一问题是非常有用的。

成像技术作为单细胞研究的最终方法一说，人们颇有争论，而其瓶颈主要源自影像的获取和分析方法——它们能否在足够大的范围内获取高信息量的数据以及可作出合理的解释而最终获得有意义的结论。当各种已知技术延伸至体内、外单细胞范围之时，当我们能利用生物信息学和模型构建方法分析可检测的变异对细胞功能有何影响之时，也就是我们能获得更多动力学解释、更加细致的生物学细微差别图谱之时。

原文检索：Natalie de Souza. (2010)Single-cell methods. *Nature Methods* 7(1): 35.



图片说明：单细胞测量。

董云巧/编译

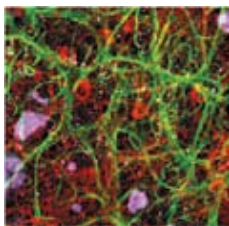
## (五) 无标记成像技术

采用新方法“哄骗”非标记生物分子发出信号可能最终可以实现特异分子的无标记成像。

谁都无法否认，近年来荧光探针技术的发展——尤其是荧光蛋白的快速发展——让光学显微镜在生命科学中的应用上了一个大台阶。但是，这些用于观察生物分子位点以及动力学状态的探针并不完美，因为它们需要与目标生物分子结合才能发挥效用。如果是要对活体分子成像，那么这种结合根本无法实现。此外，标记会干扰生物分子，尤其是某些小分子的功能。

无标记显微镜技术已存在多年，它依赖多个不同的光物理过程诱导生物分子产生光信号。双光子荧光显微镜可以检测某些自体荧光物种。二次谐波和三次谐波方法能够分辨纤维结构和脂质体。拉曼显微镜可以检测特定类型的化学键，还能确定化学组成和脂质的丰度，但其背景强的缺点限制了它的使用范围。

大约十年前，哈佛大学（Harvard University）Sunney Xie领导的小组开发出了CARS（相干反斯托克拉曼散射）显微镜，大大扩展了拉曼显微镜的应用范围，但它在鉴定特定分子方面仍具有不足之处——相对较强的与波长无关的非共振背景，这会导致测量的谱型与拉曼光谱有所区别，因而限制了探测灵敏度。过去两年，Xie等人一直在改进CARS方法。



图片说明：由旧式技术——双光子显微镜、二次谐波和三次谐波显微镜技术所获得的无标记成像。

2008年底，Xie等人报道了一种新的基于拉曼成像的方法——受激拉曼散射（SRS）。这种方法克服了CARS显微镜的某些缺点。SRS显微镜让特定目标分子的鉴定更容易，且灵敏度非常高。一般来说，无标记方法与荧光标记相比，分子特异性相对较差，这是主要缺陷之一。SRS就有望缩小这个差距，它尤其适用于脂类这种很难进行荧光标记的小分子。2009年，研究小组又开发出另一种基于受激发射的新型显微镜用于获取非荧光分子信号。

尽管目前还没有方法能完全取代荧光显微镜，或满足每个无标记成像实验的需求，但我们毕竟看到了无标记显微镜的转折点，对未来应该充满信心。

原文检索：Daniel Evanko. (2010) Label-free microscopy. *Nature Methods* 7(1): 36.

董云巧/编译

## （六）高通量表型分析

自动化评估模式生物表型方法的不断发展将会使探索生物学领域未开发之处成为可能。

如果你测出感兴趣的生物的全基因组序列，发展出研究基因组的新技术并构建出功能获得或功能缺失的基因突变体文库，那么下一步该做什么呢？尤其是如果你倾向于进行全基因组层面的研究，或进行经典突变和正向遗传性研究，你就需要一个更精确、更快速、更可靠的方法来鉴定靶基因调节或敲除后表型的改变。

过去十多年，许多大规模研究工作都是通过复杂的手工操作完成的，这都归功于精巧的表型检测实验设计和科学家的勤奋敬业。毫无疑问，自动或半自动化的表型研究方法的不断发展将使以前不可能的任务成为可能。

事实上，一些研究人员正致力于将其它领域的相关技术引入模式生物表型研究。单单在《自然-方法》（*Nature Methods*）杂志上就发表了数篇相关的新方法，这些方法使基于计算机进行表型判断成为现实，而这些细微的表型改变过去是无法被人眼发现的。

研究活体内细胞位置、细胞谱系、荧光报告基因表达等在光学显微镜下的变化也可以通过自