

动化实现。如果没有自动化、没有大规模的数据处理，那么这些研究是无法完成的。

当然这些方法投入使用后，相应的问题自然会浮出水面，但随之也必然会被加以完善。只要还有人们感兴趣的表型未被研究透彻，新方法就必然会不断涌现。

原文检索：Natalie de Souza. (2010) High-throughput phenotyping. *Nature Methods* 7(1): 36.



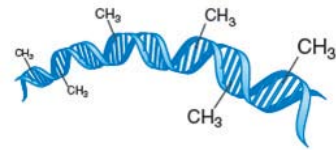
图片说明：模式生物的高通量表型分析。

董云巧/编译

## (七) 甲基化检测

单分子测序技术能否直接读出甲基胞嘧啶？

除了A、T、G、C四种碱基，人们对第五种碱基——甲基化胞嘧啶的兴趣日益增加。甲基化修饰的存在对DNA转录的调控起了重要作用。异常的甲基化会严重影响基因调控过程，并会引起多种疾病的发生。考虑到它的重要性，系统地绘制甲基化组，即全基因组范围内的甲基胞嘧啶的方法开始蓬勃发展。



图片说明：甲基化胞嘧啶的DNA双螺旋。

最近，美国Salk生物研究院的Joseph Ecker等人刚刚通过高通量测序的方法，展现了一张人胚胎干细胞中所有甲基胞嘧啶的完整图谱。这是第一张单碱基分辨率的哺乳动物甲基化图谱。尽管这些甲基化图谱的绘制方法略有不同，但都采用了亚硫酸氢盐转化，将未甲基化的胞嘧啶转化成尿嘧啶，并在随后的扩增步骤中转化成胸腺嘧啶。虽然很有效，但这种方法需要一些手工操作来确保转化的完全，并通过计算分析来绘制图谱。

今年年初，英国Oxford Nanopore Technologies公司科学家的报告指出，单分子纳米孔测序可替代这种劳动密集型的技术，测序仪能直接分辨出未修饰的胞嘧啶和甲基化胞嘧啶。当核酸外切酶消化单链DNA后，单个碱基落入孔中，它们瞬间与环式糊精相互作用，并阻碍了穿过孔中的电流。A、T、C、G以及甲基胞嘧啶都有自己特有的电流振幅，因此很容易转化成DNA序列。这样，纳米孔技术就能直接读出这第五种碱基。

目前，纳米孔测序仅限于短的寡核苷酸，离全基因组测序还有一段很长的路要走。此外，还有一些技术障碍需要克服，比如确保碱基以正确的顺序进入纳米孔，然后从另一侧离开。不过，一旦成功，第五种碱基的直接测序将会对生命科学研究产生重大影响。至于2010年会发生什么，让我们拭目以待吧。

原文检索：Nicole Rusk. (2010) A direct view of the fifth base. *Nature Methods* 7(1): 37.

董云巧/编译

注：想了解更多关于纳米孔测序技术的内容，请查看《生命奥秘》第20期专题——新一代DNA测序技术的发展现状。