



图片来源:BD Biosciences

打破疫苗研制的“天花板”

可辨别细胞特征的先进工具助力科学家研发

疫苗是科学对抗感染的胜利。它们击败了世界卫生组织在1980年宣布已被彻底根除的天花,并且大幅减少了很多其他传染病的死亡人数。但这并非全部。美国国立卫生研究院疫苗研究中心免疫学家 Mario Roederer 表示,寻找对抗诸如艾滋病和疟疾等疾病的疫苗,一直因研究人员对人类免疫系统的了解不够充分而受到阻碍。

Roederer 说,研究人员大体上知道一种成功的疫苗会帮助启动抗体生产和其他防线。不过,他们并不清楚免疫系统中千种或更多发挥作用的细胞类型中有哪些指挥着对抗单个病原体的反应。Roederer 表示,如果研究人员能确认这些细胞类型,那么他们就可以设计出使这些细胞的生产最大化的疫苗。

确认这些细胞的最好方法之一是流式细胞术。它能根据细胞的显著特征(通常是外表面的蛋白)分析并分类细胞,同时显示很多关于一个细胞在免疫系统中的功能和位置的信息。不过,当前一代流式细胞术还不够详细,只能将细胞进行宽泛的分类,类似于把某种东西简单地确认为鱼而不是大白鲨。

辨别特定细胞的能力或许还有助于增进研究人员对诸如多发性硬化症、转移性癌症等疾病的理解。在多发性硬化症中,免疫系统会攻击受体的自身组织,而在转移性癌症中,来自原始肿瘤的危险细胞会迁移到其他组织中。

这样的可能性激发研究人员开发出两种新的方法,而每种都有望到2016年使传统技术的限度增加两倍甚至三倍。一种方法是对标准流式细胞术的变通,利用一种新型的荧光染料并且能确认27种蛋白。斯坦福大学免疫学家 Garry Nolan 介绍说,另一种叫作大量细胞计数法,能记录诸如细胞表面蛋白或蛋白组成分等50种参数。

研发出新型染料

像免疫系统一样,流式细胞术利用抗体寻找蛋白。首先,研究人员为其想要研究的每种蛋白创建抗体,然后用能吸收光并发出特定颜色荧光的染料分子为抗体作标记。

随后,要研究的样品被“浸入”得到标记的抗体中,而这些抗体能黏附在承载相应蛋白的细胞上。被抗体装饰的细胞被指挥着一个一个地穿越狭窄的通道。当它们通过时,光脉冲触发染料发光,并显示哪种蛋白存在于细胞表

面。来自每种染料的光以不同的波长呈扇形散开,从而产生看上去像山峰的读出器。

目前,流式细胞术一次能处理不超过18种荧光染料,因为当超过这个数量的染料同时发出荧光时,一些光谱的肩状突起部分将和其他的波峰重叠,使波峰无法被识别。

一个并发因素是每种蛋白的丰度在不同细胞之间变化很大。在其表面拥有上千个某种特定蛋白的细胞,会吸引很多标记相同的抗体,而它们会结合起来产生很亮的荧光。数量较少的蛋白则产生相对微弱的信号,使其可能被来自更加丰富的蛋白的信号淹没。

Roederer 介绍说,研究人员可以通过使用较亮的染料标记那些靶向不太常见蛋白的抗体进行补偿,但通常无法提前知道蛋白的相对丰度。因此,他们可能不得不花费数周,依靠反复试验确定哪种抗体用哪种染料。

不过,这很快将被彻底改变,因为研究人员已开发出一种新型染料。它们由导电的塑料聚合物制成,能像微型天线一样在共同发出荧光的多个点吸收来自光脉冲的能量,从而产生更加强烈的信号。Roederer 表示,当被用于流式细胞术,强烈的信号会淹没来自其他染料的任何重叠,即使是对于低丰度的蛋白而言。这意味着更多的染料可被同时使用。Roederer 小组已利用染料调查了30种通常在免疫细胞表面存在的蛋白,尽管研究结果尚未发表。

其他研究团队正在利用两家位于加利福尼亚州的公司提供的染料。这两家公司一个是位于圣何塞的 BD Biosciences,一个是位于圣地亚哥的 BioLegend。不过,Roederer 还未听说有其他人成功地同时测量出超过18种参数。

目前,Roederer 计划利用这些染料研究对抗包括埃博拉、疟疾、肺结核和艾滋病等在内的多种疾病的候选疫苗。一种正在人类志愿者身上进行测试的埃博拉疫苗成为首要任务。Roederer 加入了一个由同样来自疫苗研究中心的免疫学家 Nancy Sullivan 领导的团队。他们缩小了保护猴子免受埃博拉感染的细胞范围。通过使用更多染料,Roederer 希望查明赋予猴子免疫力的细胞群。之后,Sullivan 和 Roederer 希望调整疫苗剂量和注射时间表,从而使人类免疫系统产生并支持这些细胞。

利用稀土金属替代非荧光染料

当 Roederer 在新型染料方面取得进展时,

位于加利福尼亚州森尼韦尔市的 DVS Sciences 公司正在从另一个方向使用流式细胞术。这家公司如今已改名为 Fluidigm 的公司在2009年首次引进商业化的质谱流式细胞技术,并在2013年第一次推出其下一代机器 CyTOF 2。

像流式细胞术一样,质谱流式细胞技术也是将细胞浸入得到标记的抗体中,然后将其塞进一个狭窄的通道中并逐个筛选。不过,这就是两种技术的相似性结束的地方。质谱流式细胞技术利用在生命系统中“缺席”的稀土金属替代荧光染料标记蛋白。同时,它不是通过细胞发出荧光来显示蛋白的存在,而是利用等离子体将细胞分解成构成它们的原子。随后,这些包含了稀土标记物的原子被送到质谱仪中,以测量每种金属的质量和丰度。每种相应蛋白的身份和丰度也因此被测量出来,荧光染料存在的信号重叠问题也不复存在。

由 Nolan 领导的小组利用该技术在从膝关节置换手术中恢复的病人中寻找特定的免疫细胞群。该团队采集了每位病人在术前和术后不同阶段的血液,并且利用质谱流式细胞技术追踪了31种蛋白。在那些很快就恢复了的病人体内,研究人员发现了被称为单核细胞的独特免疫细胞类型。斯坦福大学病理学家、该研究参与者 Sean Bendall 介绍说,目前他们正在研究能否利用这些细胞预测哪位病人有可能出现延迟恢复,从而提供可改进其恢复时间的干预措施。

质谱流式细胞技术和荧光流式细胞术在一些相同的研究应用上出现了竞争,而研究人员往往拥有一种首选技术。Roederer 认为,质谱流式细胞术会破坏细胞,而荧光流式细胞术能保护细胞,甚至能将其同时分离和分类。

不过,Bendall 并未有同样的担忧。他满腔热情地支持质谱流式细胞技术,但表示自己经常听到关于细胞被破坏的反对意见。Bendall 解释说,很多人只是因为这一点便不予考虑该技术,但细胞被破坏“从来不是我们想做的任何事情的路障”。如果利用质谱流式细胞术开展的试验能辨别出一种令人关注的细胞类型,那么研究人员就能永远利用这一信息在传统流式细胞术的帮助下分离活细胞。

勾勒完美画面

Nolan, Bendall 和 Roederer 都同意一件事情:金属标记物最有前途的应用是其有望改进

“每次我们达到一个新的“天花板”,便会在几年内打破它。”

未受损伤的组织切片的图像。而这均无法利用荧光流式细胞术和质谱流式细胞技术完成,因为两种技术要求细胞被分散到液流中。

一种被称为复合离子束成像的类似应用,将金属标记物应用到组织切片中,然后往里通入大量氧离子。氧离子同金属标志物发生反应,并将其从随行的抗体中去除。随后,当金属原子从组织中弹跳出来时,质谱仪便会测量金属原子。

斯坦福大学病理学家 Michael Angelo 表示,他利用该技术测量出每个细胞的45种参数。同时,该方法还记录细胞在诸如肿瘤中的位置。“这些是传统成像或基于流式细胞术的技术永远无法做到的。”Roederer 表示。

去年,Nolan 小组将该技术用于来自乳腺癌患者的组织样本,并采用10种被贴上金属标记物的抗体。该技术产生了随后以不同颜色呈现的组织样本的高清晰画面,以显示单个蛋白的位置。

在一项相关研究中,瑞士苏黎世大学免疫学家 Bernd Bodenmiller 和瑞士联邦理工学院化学家 Detlef Günther 及其同事开发出一种配套仪器。它能记录细胞位置,并指挥组织中的紫外线激光有条不紊地去除被标记的细胞,然后将它们送入大规模血细胞计数器中进行分析。Bodenmiller 表示,该仪器能分析多达40种标记物。不过,Fluidigm 公司首席技术官 Scott Tanner 介绍说,目前已有更多可用的金属标记物,因此研究人员或许很快便能开展可得到更多参数的试验。

该技术产生的图像能阐明细胞如何对肿瘤中诸如低氧环境等局部条件作出反应。“它会为你提供更多关于样品本质的信息。”Tanner 说。

他同时表示,对质谱流式细胞术进行成像的应用不只限于癌症。神经生物学家告诉他,他们希望用其研究神经元是如何在大脑或脊髓中分布的。分析多种蛋白的能力则有助于研究人员破译神经细胞的功能及其如何同细胞在由关联神经网络中的位置关联起来。

Roederer 和 Nolan 在不断地突破界限,但 Roederer 表示,他经常碰到关于这些改善有何用途的怀疑。当他获得8个参数时,研究人员会质疑这么多参数是否真的有必要。“当我获得12个时,人们又说‘这足够了’吗?‘你已经做完了吗?’”Roederer 回忆说。

他并未停下脚步。Roederer 希望明年能达到40个参数,并在此后获得更多。“每次我们达到一个新的‘天花板’,便会在几年内打破它。”(宗华)

科学线人

全球科技政策新闻与解析

美杜兰大学因危险细菌逃逸暂停风险性研究



一项关于病原体逃出美国杜兰大学某研究室的调查,导致该实验室涉及调节生物制剂的研究全部暂停。图片来源:TULANE PUBLIC RELATIONS

在一种危险的细菌从美国一个戒备森严的实验室逃逸之后,联邦官员上个月停止了杜兰大学相关风险性病原体研究,此次事件留下的问题是正在进行的调查进展如何?是否存在广泛风险?

根据《今日美国》3月1日的一则长篇报道,路易斯安那州杜兰国立灵长目研究中心(TNPRC)的两只去年11月底染病的恒河猴经测试类鼻疽伯克氏菌阳性,这类细菌存在于东南亚和澳大利亚北部的自然土壤和水中。该中心研究人员一直在利用啮齿类动物研究这种杆菌的疫苗,该细菌可以在人和动物之间产生一种叫作“类鼻疽”的严重疾病。这两只最后应被施以安乐死的恒河猴和另外两只在该中心医院接受治疗后经测试呈阳性的恒河猴,可能都曾接触过这种细菌。

令人担心的是,美国农业部(USDA)一位调查员在今年1月底参观完该研究中心后,第二天就发生严重疾病,经测试类鼻疽伯克氏菌呈阳性。疾控中心在2月份公布称,目前尚不清楚这名调查员是在杜兰大学染病,还是早些时候在国外旅行时染病。该机构表示,已经停止该中心与特殊管制病原体——被特殊监管的系列病毒、细菌和有毒物质——相关的一切研究,共包括10项研究。

杜兰大学治疗恒河猴的医院与进行疫苗研究的生物安全三级实验室之间有相当长的距离。根据这篇报道,联邦官员仍在调查细菌的扩散来源。在该中心医院的土壤和水样中并未发现细菌,但《今日美国》援引其他机构和资料表示,这些样本并没有按规范操作。

杜兰大学3月2日在声明中说:“由于USDA的调查员在访问TNPRC之后生病,我们关于管制病原体的研究已在2月份被终止。最初的血液样本检测表明,这位已经恢复的调查员并未在TNPRC接触到类鼻疽伯克氏菌,目前,没有证据表明TNPRC有任何人或非人类灵长类动物感染了类鼻疽伯克氏菌。”

此次杜兰大学事件紧随去年美国高级别控制实验室发生的若干起危险病原体事故之后,这些事故引起了对于双重用途的研究或是药剂的忧虑,一些专家担心它们可能被用作生物武器。去年夏天,美联邦政府要求在由联邦政府资助的实验室中搜寻遗忘的病原体样本,并对安全程序进行审查。(鲁捷)

研究显示 欧洲须采取更多环保措施



一项新环境报告发现,经济衰退给欧洲发展踩了刹车,但是私家车使用依然活跃。图片来源:百度图片

欧洲最新环境现状宏观分析发现,尽管欧洲在能源有效性方面取得了一些进展,但在保护生物多样性及自然资源方面的工作却仍然不够。该报告警告称,在一些区域,财政衰退会带来改善的趋势,但是收获可能只是暂时的。

从1995年开始,欧洲环境总署(EEA)每5年就会提供一份发展趋势的简报评估。英国东安格利亚大学环境政策分析专家 Andrew Jordan 对这些评估很熟悉。“它们在反复强调同样的事情:我们在可持续发展方面的进展没有达到我们应该达到的水平。”

负面的消息包括:生物多样性依然在减少——60%受保护物种的保护现状都不良好。2014年地中海91%的鱼类评估存在过量捕捞问题。空气污染每年导致40万人过早死亡。

但也有积极的一面。水质正在转好。拥有良好或优质生态状况的湖泊和河流从2009年的43%增加到2015年初的53%。欧洲21个国家骑自行车人数的比例从2004年的22%增长到2012年的29%。人均消耗资源总量在2007~2012年间下降了19%,人均年消耗量达到13.7吨。

一些趋势受到2008年开始的金融危机的强烈影响。例如,建筑业急速发展末期使资源消耗大幅下降;在爱尔兰,建筑材料如水泥的消费下降了70%。同样减少的还有来自交通行业的污染和二氧化碳排放。但该报告同时指出,经济衰退并非全都是有益于环境,因为很多国家都缺少资金执行环境标准或提高能源效率。而且尽管从2009年到2012年,私家车用量在欧盟有所减少,但是与公共汽车和火车等更加环保的出行方式相比,私家车依然是更普遍的交通方式。(红枫)

水荒阴云笼罩巴西

专家呼吁立即采取措施应对干旱危机

“欢迎来到坎塔雷拉沙漠。”一辆锈迹斑斑的掀背车上的喷漆涂鸦写道。不久前,这辆车还完全沉没在 Atubainha 水库中。Atubainha 水库是巴西最大城市圣保罗附近的坎塔雷拉水系的一部分。不过,受神秘的大气异常的驱动,一场持续了两年的干旱使这辆被逐渐腐蚀的车的残骸暴露在恶劣的天气中,并使拥有8500万人口的巴西东南部所有地区陷入极其严重的水危机。

“这是一个非常严重的情况。我们并不只是在讨论水资源短缺。”位于卡舒埃拉保利斯塔的巴西国家空间研究院(INPE)天气预报和气候研究中心资深气象学家 Paulo Nobre 表示,“我们讨论的是这个巴西最重要的供水体系可能出现的崩溃。”一些地区正在准备应对骚乱。“真的有可能出现社会动乱的风险。”巴西科学院水文学家 José Galizia Tundisi 警告说。他在上周举行的一场新闻发布会上指责政府没有马上采取更大的行动,并且对于形势的严峻性缺乏透明度。“政府需要立即行动起来,避免出现最坏的结果。”

圣保罗政府已经减小了农场里的水压,而这经常使得龙头无水可流。目前,当地政府正在对用水采取“胡萝卜加大棒”的做法,在财政上奖励那些节约用水的农场,同时从上个月起开始对浪费水的农场进行处罚。除了寄希望于这场气象上的不幸突然出现逆转,



已经干枯的坎塔雷拉水库系统 图片来源:REUTERS

政府官员也正在考虑实行严格的用水量配额。不过,这会让几百万个家庭每周有5天的时间无水可用。在几个月后马上到来的巴西旱季期间,Tundisi 说,水资源短缺将成为一件“残酷”的事情。

Tundisi 和其他巴西科学家将此次气候异常现象归咎于降水缺乏以及对随之而来的困境的

管理不力。“每个人都需要作好应对日趋极端的气候事件的准备。”来自巴西科学院的15位天气和水资源专家在去年12月11日的一封公开信中表示。他们呼吁巴西各州政府开展快速和大量的投资,以开发新的水资源并且扩展用于清洁目前因污染严重而没有任何用途的地表水源的卫生系统。通常情况下,南半球的夏天是巴西东南部的雨季,一种被称为南大西洋合带的天气模式会带来充沛的降水。不过,在连续两年的时间里,持续的高压使得辐合带无法在此站稳脚跟,并且阻碍了来自亚马逊河的水汽向南移动。为此,Paulo Nobre 的弟弟 Antonio Nobre 和一位来自 INPE 的研究伙伴将持续的高压称为“厚脸皮的大气”。“强有力的证据表明,巴西东南部的很大一部分降水来自亚马逊流域。”Antonio 介绍说。结果,在该地区最湿润的两个月——12月和1月的降水量,只有2014~2015年度平均降水量的一半。

高压系统难倒了科学家。它看上去同海洋温度或其他大规模的天气现象并无关联。“我们以前从未见过这种现象。”位于卡舒埃拉保利斯塔的巴西国家自然灾害监控和早期预警中心主管 Marcelo Seluchi 表示。很多专家认为这是人为导致的全球变暖下的“黑手”。“在我看来,这将被作为另一个同气候变化相关的极端天气事件写进书里。”Paulo Nobre 说。无论原因是什么,这种异常现象已经使

巴西绝大部分供水系统陷入混乱之中。为880万人口提供用水的坎塔雷拉水系几乎被耗尽,以至于当地政府正在开发剩下8%的水量,尽管它们几乎是污浊的泥水。同样濒临崩溃的还有位于圣保罗的坎塔雷拉水系。它为约350万人口服务,但如今只剩下15%的水量。

在邻近的里约热内卢和米纳斯吉拉斯州,水库水位也处于非常艰难的情形,向整个以工业为主的东南部发出了危险信号,而该地区为巴西贡献了55%的国内生产总值。在紧急情况期间从南帕拉伊巴河流域抽取用水的系统至少到明年才能投入使用。“在我们开车行驶时,油箱里的油量很少了,但前面还有一大片沙漠要穿越。我们并不知道沿途是否会有任何加油站。”Paulo Nobre 说。

即使降水量回归正常,“也需要好几年才能重建这些水库。”帮助起草上述公开信的 Tundisi 表示。他说,这场干旱造成的普遍影响将是巨大的,会使工农业严重受损,并妨碍诸如医院、学校、监狱等的正常运转。他还担心在圣保罗以西100公里处的伊图发生的事情会再次上演。去年9月10日,那里因水资源短缺引发的抗议最终演变成暴力事件,造成故意破坏行为和警察之间的冲突。Tundisi 说,你能想象得出,如果一座2000万人口的大都市没有水会发生什么状况。(宗华)