

# 解构蛋白质的“邻里关系”

## 绘制相互作用图了解疾病起因

1987 年,瑞士研究人员描述了两个姐妹,她们分别出生但拥有类似的畸形。她们小脑中缺失了一圈组织,心脏存在孔和裂缝。其中 1 人在心脏手术后至 3 岁去世,她的姐姐在 4 岁时也做过类似的手术,但活了下来。因为两名女孩的父母都没有这些异常,研究人员得出结论,他们的女儿继承了一种非典型基因的两个复本,导致出现此前不为人知的一种症状。

与女孩症状相关的核苷酸异常可能存在于一个单独的基因中。然而,若干其他基因随后也与这种被称为“Ritscher – Schinzel 综合征”的基因联系在一起。多年来,这些基因的功能以及它们如何与该综合征相关联一直是个谜。

今天,由于对蛋白质—蛋白质相互作用(一门被称为“相互作用组”的学科)的系统研究,这些分子基础已经成为关注的焦点。通过绘制蛋白质之间的连接网络,三个研究小组独立发现了一个叫做“指挥官”的复合物,它由突变基因产生的蛋白质组成。“指挥官”是一个重要的细胞成分,可以对蛋白质进行分类和传递,其功能失调就会导致存在严重缺陷的 Ritscher – Schinzel 综合征。

过去 3 年里,研究小组已经发表了第一批高质量人类相互作用组学图像。对这些图像的最新研究已经识别出约 9.3 万个独特的蛋白质—蛋白质相互作用。这并不容易:捕捉到所有的相互作用是一项挑战,因为一组蛋白质搭档会随着不同的组织、细胞甚至是时间而变化。相互作用组是动态的,会随着细胞对环境的响应而断开或形成。完全绘制它可能需要思考系统生物学的新方式方法。尽管如此,这个领域仍在不断产出成果。

### 数字游戏

有两种构建相互作用组图谱的主要方式。酵母双杂合化验通过把基因表达与细胞内蛋白质的相互作用相结合,测试了蛋白质对之间的相互作用。第二种方法,通过用抗体分离复合物及用质谱仪识别它们的组分绘制了直接和间接的蛋白质接触。

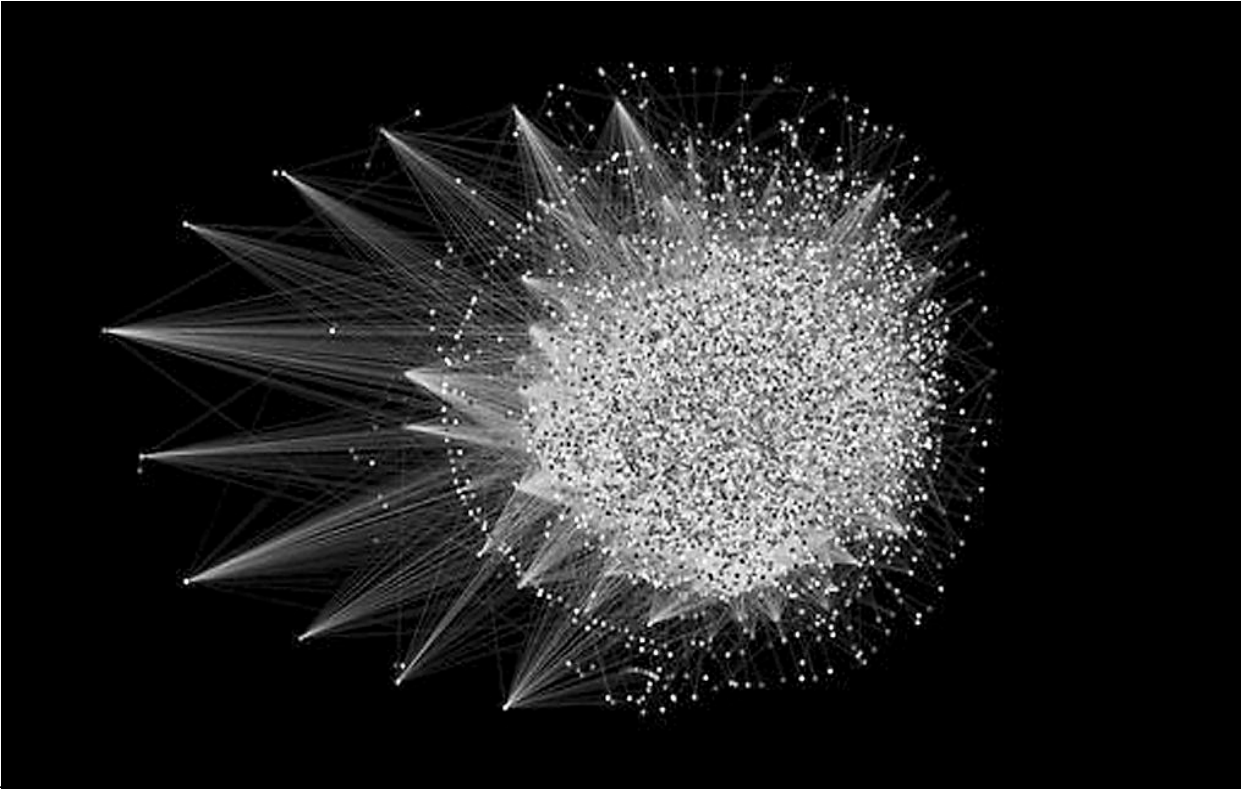
美国得克萨斯州立大学奥斯汀分校系统生物学家 Edward Marcotte 的实验室在第二种方法基础上作出了一些改变,涉及在生物化学上分离蛋白(例如用蔗糖浓度梯度),从而观察哪些分子倾向于在一起。由此产生的图像让 Marcotte 及其实验室博士后 Anna Mallam 对“指挥官”复杂的细胞角色进行了推断。那些数据和其他发现表明,“指挥官”会将特定蛋白质从细胞膜转移到被称为高尔基体的空间里,它们在那里被循环利用。

目前,最大的图谱包含了成千上万的蛋白质,与放射状的星爆相比,它们更加类似于缠结的毛球。通过解开这些基因,研究人员可以识别出区分致癌基因与“正常”基因的特征,还可以定义关键的生物学过程,如细胞分裂期间的染色体隔离。

马萨诸塞州波士顿丹娜—法伯癌症研究所计算生物学者 Katja Luck 说,即使有多种方法,相互作用组图谱“仍然是不完整的”。这是一种关于数学的问题。人类基因组包含约两万个蛋白质编码基因。如果假设一个人每种蛋白

随着相互作用组图像最终被高质量、丰富的相互作用所充实,研究人员将能开始验证那些假说。

人体相互作用组:每个点都是一个蛋白,每条线都是一种相互作用。  
图片来源:Andrew Garrow



质只有一种形式(过于简化的情况),那么大约有两亿种可能的相互作用。实际数字可能要小得多,因为许多交互都是间接的,一对一交互范围估计在 12 万到 100 万之间。

从生物化学方面看,蛋白质的多样化令人难以置信,因此它们之间的相互作用不能被每一次的试验所捕获。“我们只是刚刚开始理解不同方法的偏差。”Luck 说。

### 基因剪刀

Luck 是遗传学家 Marc Vidal 实验室的博士后,Vidal 设想的最终参考图可能只包含所有潜在的相互作用的子集。细胞和组织的变化以及改变细胞的反应累积成为全部相互作用组的许多可能的版本。对德国马普学会生物化学研究所生化学家 Matthias Mann 来说,这些变化令人畏惧。但他对用基因编辑技术的力量,如用 CRISPR – Cas9 解决这些问题表示乐观。

Mann 的绘图方法涉及表达了数百种蛋白质的细胞株库,这些蛋白质是通过一种叫作轨道阱的超高分辨率质谱仪进行测试的。诱饵蛋白质被融合到绿色荧光蛋白,产生一种光度轮廓,让研究人员能够通过活细胞成像量化相互作用。在 21 世纪头 10 年后期,创建细胞株库“相当费力”,他说,“现在,由于有了 CRISPR 基因工程技术,我们的新方法获得了双赢。”

自从 2010 年引入该量化方法以来,Mann 的团队已经绘制并量化了超过 2.8 万个相互作用的强度。一对一比率的蛋白质对的相互作用被认为是“强大”的,可能存在于稳定和复杂的复合体中。Mann 解释说,如果没有这样的信息,

“很难说这个网络的结构是怎样的”。对他所在团队绘制的图谱进行的分析显示,人类相互作用组由弱关联主导,这可能反映了低丰度调控蛋白对更稳定的蛋白质机器的作用。

### 细微调整

这一领域的普遍趋势是采用相对温和的样品制备方法,其目的是真实地捕捉细胞中所有蛋白质—蛋白质相互作用。“我们正试图找到破坏性更低的方法。”加州圣荷西市生命科学公司赛默飞世尔科技公司生物化学家 Rosa Viner 说。该公司专注于改进样品制备、工作流程和质谱技术,目的是帮助研究人员识别细胞中存在的相互作用。“这是最艰巨的挑战:找到不需要任何人工制品的情况下让我们获得最佳照片的方法。”她补充道。

人工制品包括在检测到它们的相互作用之前就分解的蛋白质复合物。为了把这些复合物凝聚在一起,Viner 与加州大学欧文分校的研究人员合作,在质谱分析之前,在化学上融合复合物,这种方法叫作交叉连接。一种名为 QMIX 的策略已被开发出来,它可以用化学标签整合交叉结合的化合物,从而使研究人员能够稳定及跟踪蛋白质复合物。

好的分析会考虑到任何给定方法的盲区。“仍有一些蛋白质种类非常具有挑战性。”波士顿哈佛医学院细胞生物学家 Wade Harper 说,“当进行高通量分析时,你会被限制在对单个蛋白质有多关注上。”这样的分析往往会为每个反应进行相同的处理,几乎没有定制化的余地。

Harper 和哈佛同事 Steven Gygi 创建了一个实验室小组调整他们的方法。“我们的团队规

模相对较小,只有 4 到 6 人,每个月可以创建 400 到 500 个细胞株。”他说。这些努力迄今为止已经通过单个通道产生了最大的人类蛋白质复合物数据集。他们的图谱名为“bioplex”,包含约 12 万个相互作用。

### 更大图景

但为了进一步看清这些相互作用,研究人员必须深入研究细胞自身的拥挤情况。加拿大多伦多大学生化学家 Anne – Claude Gingras 使用一种名为 BioID 的技术,该技术基于蛋白质的接近性将其连接到另一个蛋白质上。相关的标记蛋白会给附近的蛋白添加化学标记,留下它相互作用的证据——就像一个挥动着彩笔蹒跚学步的孩童经过房间时留下的痕迹。其结果是一幅围绕着重初始蛋白的在物理上近邻的图像。Gingras 解释说,识别一个蛋白质的更大群落可能揭示其细胞功能的细节。

近距离成像还可以让研究人员跟踪那些无法被其他实验所发现的蛋白,比如难以分离的膜嵌入蛋白。Gingras 说:“我们和其他研究人员研究了核染色质上的蛋白,绘制了中心体的组织,探测出跨越各种膜之间的相互作用。”通过使用 BioID,该小组在一个信号通路中发现了在发育过程中可调节器官大小的新组分。

Lippincott – Schwartz 说,这种相互作用组是细胞生物学家的“假说生成器”。“一旦你看到一种认识的蛋白质与一大堆你不知道其功能的蛋白质相互作用时,你就开始进行测试。”随着相互作用组图像最终被高质量、丰富的相互作用所充实,研究人员就能开始验证那些假说。

(晋楠编译)

# 别了,最“老”反应堆

## 科学家担心相关研究受阻

世界上最“老”的在役核反应堆正处于其生命的黄昏,但是依靠它做研究的科学家还没有做好温柔地对它道晚安的准备。加拿大科学家对即将关闭乔克河研究反应堆感到不安,并正在游说政府拨款两亿加元(1.62 亿美元),使他们能够继续用反应堆提供的中子束进行材料研究。

“需要一个机构在某种程度上为国家项目提供核心支持和管理工作。”安大略省乔克河加拿大中子束中心主任 John Root 说,该中心依赖于这个 60 年历史的反应堆。“如果没有这个中心枢纽,就没有一个真正的全国性项目。在美国或欧洲,有人给实验室寄去支票,而加拿大的研究人员只能依靠自己。”

今年 2 月,卡萨斯大学和汉密尔顿麦克马斯特大学的管理人员公开启动了加拿大中子计划,游说政府进行为期 10 年、耗资两亿美元的投资。这个数字听起来很庞大,但与政府每年为维持反应堆运转所花费的 1 亿美元相比显得微不足道。Root 希望看到这些基金能够在世界其他地方的中子源那里获得中子束开放时间,并在加拿大另一个潜在的大规模中子源建立之前,在该国维持一项重要的中子束研究。但到目前为止,加拿大政府对此事一直保持沉默。

乔克河反应堆正式名称是“国家研究通用”(NRU)的反应堆,在 1957 年开始运行,并且在短期内成为加拿大核研究事业的中心。NRU 位于渥太华河岸边一幢四四方方的建筑中,属于加拿大原子能公司(AECL),该公司是加拿大政府开发商业核技术的公司。

几十年来,NRU 一直是加拿大本土核技术发展发展的试验台,也是为该国持续提供大量电力的反应堆。该反应堆则是全球放射性同位素



加拿大乔克河反应堆是世界上最“老”的在役核反应堆。      图片来源:Canadian Nuclear Laboratories

的主要供应商,特别是钼-99,它是每年用于数百万次扫描的医学成像技术的主力。

上世纪 90 年代,当 AECL 的管理者开始认真讨论 NRU 的退役问题时,这样一种至关重要的物质却依赖单一来源成了问题。相关工作从两个生产钼-99 的反应堆开始,但该项目已在 2008 年停止。在同一年晚些时候,腐蚀引起的漏水意外导致 NRU 脱机,为此全球范围内的医用放射性同位素短缺随之而来。AECL 允许 NRU 颠簸前行,并让其他医疗物资的来源上线。但政府最终在 2015 年宣布,该反应堆将于

2018 年 3 月关闭。

钼-99 并非唯一将与 NRU 一起消亡的产品。作为裂变反应的副产品,核反应堆还可以产生大量的高能中子。当作为光束时,这些粒子就成了强有力的工具,它们的中性电荷使其能够穿透高密度材料,散射核子。就像 X 射线晶体学揭示复杂分子的结构一样,这种散射可以用来建立物质的图像。在物理学家 Bertram Brockhouse(1994 年因其发展了中子散射技术而获得诺贝尔物理学奖)的带领下,NRU 成为国家中子束研究中心。在 20 世纪 80 年代,高校

吸引到资金来扩展 NRU 的能力,催生了加拿大中子散射研究所(CINS)——一个代表学术利益的专业协会,并将这项技术推广为材料科学的工具。今天,CINS 吸引了来自加拿大几十所大学和政府部门以及其他 22 个国家的近 400 人。

一些科学家担心,在明年 NRU 关闭之后,这个聚集了人才并积累了经验的组织很可能会永久地消散,这将会让许多研究人员和组织处于一个重要的十字路口。不仅仅是科学家,NRU 也受到了工业客户的重视,如汽车引擎制造商,他们利用中子束检测样机深处埋藏的潜在灾难性压力。一些活动已在一个规模小得多的科研反应堆上进行,该反应堆比 NRU 年轻两岁,由麦克马斯特大学维护。但由于它提供的电力只是 NRU 的一小部分,因此无法接管这个被撤销的科研通道。用户将需要到更远的地方寻找出路,比如位于田纳西州橡树岭国家实验室的美国中子束旗舰设施——散裂中子源。然而作为外来者,在这些地方谋求科研时间注定会存在挑战。一些人还担心,相关实验设计专业会随着 NRU 的退役而消失。

“这种专业知识是循序渐进逐步成长的,而且需要持续性。”蒙特利尔麦吉尔大学物理学家 Dominic Ryan 说,他每年会在 NRU 上度过约 100 个研究日,以预测可降低风力涡轮部件和电动汽车电机成本的新材料的磁性。“我所做的事情很可能会停止。”

Ryan 曾设法在法国格伦布尔学院获得一些有限的中子源,但发现这很难。他希望能澳大利亚的 OPAL 反应堆那里碰碰运气,但“这样的通道太艰难了”。

(晋楠编译)

## 科学线人

全球科技政策新闻与解析

## 马达加斯加暴发疫情



2010 年,马达加斯加首都塔那那利佛就曾暴发腺鼠疫。      图片来源:Rafael Medina

近日,一种最致命的肺炎瘟疫袭击了马达加斯加的主要城镇,并正在迅速蔓延。10 月 7 日,马达加斯加卫生部报道,已有 343 人被感染,42 人死亡,并且相关数字正在迅速上升。

目前,相关部门正在进行大规模的应对工作,世卫组织(WHO)宣布当地处于高度戒备状态。这个贫穷的岛国经常受到鼠疫的影响,但疫情通常是相对不那么危险的淋巴腺鼠疫(黑死病),主要由跳蚤传播给人类,并发生在偏远地区。黑死病在 14 世纪杀死了大约 60% 的欧洲人。

据报道,今年暴发的鼠疫疫情以肺鼠疫病例为主,且首次暴发于以往的非流行区和人口密集的沿海地区,影响范围较广。

尤其令人担忧的是,肺鼠疫很容易通过咳嗽传播,而且疫情已经到达了人口密集的城市地区,包括首都塔那那利佛。如果不时使用抗生素治疗,肺鼠疫是 100% 致命的。

医务人员记录的首例患者是一名 31 岁的男子,他出现了类似疟疾的症状,他搭乘计程车从一处偏远地区穿过塔那那利佛。该男子于 8 月 27 日在途中死亡。

而且,大量病例开始出现在他的旅行路线上。塔那那利佛随之也出现疫情,该市政府已经关闭学校,公共活动也被取消。目前,这次疫情已经在 10 个地区的 20 个区域暴发。

9 月 11 日,一位 47 岁的女性在塔那那利佛的一所医院里死亡。之后不久,WHO 得知了这一疫情。WHO 评估称,该疫情国内传播风险高、区域传播风险温和,而国际传播风险低,但这些内容正在重新评估。

如果立即使用抗生素就可以治愈鼠疫,于是 WHO 在 10 月 6 日,为该国提供了 120 万剂抗生素,并划拨了 150 万美元。

据悉,鼠疫是由鼠疫杆菌所致的检疫传染病。肺鼠疫属于最致命的鼠疫,它可以通过空气中的飞沫和人与人之间的接触引起严重的流行,其潜伏期很短,一般不超过 24 小时。马达加斯加每年均有鼠疫疫情暴发,暴发期一般为每年的 9 月至第二年的 4 月。

(张章)

## 美濒危狼恢复计划引争议



墨西哥狼      图片来源:GNAGEL

美国鱼类和野生动物管理局(FWS)日前宣布重建一个有生活能力的种群计划草案。该恢复计划将指导 FWS 的行动,试图增加墨西哥狼的数量,以便其从《濒危物种法案》(ESA)中移除。

但这计划引起野生动物学家的不满。他们指责 FWS 设计这个计划主要是为了安抚各州政府,把政治置于以科学为基础的保护之上。

1998 年 1 月 26 日,美国联邦野生动物官员把 3 只墨西哥狼赶到了亚利桑那州东南部的一个偏远角落,在那里,它们很快成为近 30 年来第一批在该国西南部游荡的野狼。曾帮助美国南部和黄石国家公园重新引入狼群的生物学家 Mike Phillips 说,重建墨西哥狼群将是“狼保护最大的挑战”。因为这种人工饲养的狼只能在牧场周围生存下来,这增加了与牧场主发生冲突的可能性。

但 Phillips 从未想过会如此困难。他是蒙大拿州特纳濒危物种基金的负责人,这是一个长期致力于墨西哥狼保护的私人组织。

西南各州认为,该计划恰当地平衡了农场主和当地社区的关切,并制定了保护目标。但 Phillips 和其他一些野生动物科学家说,尽管几十年的努力挽救了墨西哥狼,该方案还是会让它处于危险之中。

“这个计划是绝对的浪费时间。”Phillips 说,“他们给了各州所有想要的东西。”但 FWS 官员指出,该计划是在一系列闭门研讨会上制定的,而 Phillips 也参与其中。

作为所有北美灰狼中最稀有的亚种,墨西哥狼在 1977-1980 年间被捕猎,此后它们便彻底从野外消失了。自那时起,美国和墨西哥政府一直努力通过圈养繁殖将墨西哥狼重新引入野外,重建能将基因连续传递给下一代的存活种群。1998 年,FWS 释放了第一批墨西哥狼,并依据 ESA 将其指定为“实验种群”。

(张章)