

RNA 修饰成学界热点

技术难关仍待突破

今天,表观转录组学研究正在蓬勃开展,不过相关的技术仍不够完善,还需要继续开发。例如,目前技术的灵敏性尚有不足,无法对少量稀有样本开展研究,无法对转录组修饰开展定量研究,并且无法通过一次试验发现多种不同的修饰等。而技术上的问题早在多年前就一直困扰着研究人员。

2004年,以色列特拉维夫大学肿瘤学家Gideon Rechavi和同事们将当时能找到的所有人类基因组DNA序列与对应的信使RNA(mRNA)进行了比对,希望找到mRNA序列里的腺嘌呤转换成次黄嘌呤的信号。

这种转换会改变蛋白质的编码序列,对人类而言,这是保证天然免疫系统正常功能的关键因素。Rechavi回忆道:“这项工作听起来简单,但实际上非常复杂。多个研究小组都曾尝试过,但都以失败告终。”主要因为当时的测序技术还不发达,会产生很多错误的测序结果,进而带来很大数据噪声。

但Rechavi等人使用了新的生物信息学工具,所以成功地在转录组中发现了数千个转换位点——一个有机体或细胞群中的所有mRNA,后续的研究又陆续将这些转换位点的数量增加到了数百万个。

不过,次黄嘌呤转换算得上是一种特例:科研人员只需将DNA序列与RNA序列进行比对就能发现这些位点。但在mRNA序列里,至少有1/4的核酸(A、C、G、U)是携带化学修饰物的(表观遗传学修饰),而现有的测序方法无法发现这些修饰物,科研人员也不知道这些修饰物会给RNA带来何种改变。

近年来,学界掀起了一股研究RNA表观遗传学修饰的热潮,很多课题组都将目光集中在N¹-甲基腺苷(m¹A)这个核酸分子上,研究在全转录组水平上的这种化学修饰,以及该修饰与人体健康和疾病的关系。但该研究面临的问题非常大,因为这种修饰不仅发生在mRNA分子上,也发生在其他RNA分子上,几乎涉及生命科学的所有领域,连病毒的RNA都会发生这种修饰。

其实这些修饰本身并不新奇。人们之所以如此关注这种修饰,是因为发现了与这些修饰有关的酶,并且对其有了一定的认识和理解。2010年,美国芝加哥大学化学家何川提出,这种化学修饰反应是可逆的,而且对于基因表达调控具有非常重要的作用和意义。

不久之后,何川课题组发现了mRNA化学修饰去除酶——FTO。该发现意味着m¹A不只是一个被动的修饰物,细胞也可以逆转这种修饰反应,即mRNA的化学修饰是可以由细胞来操控的。

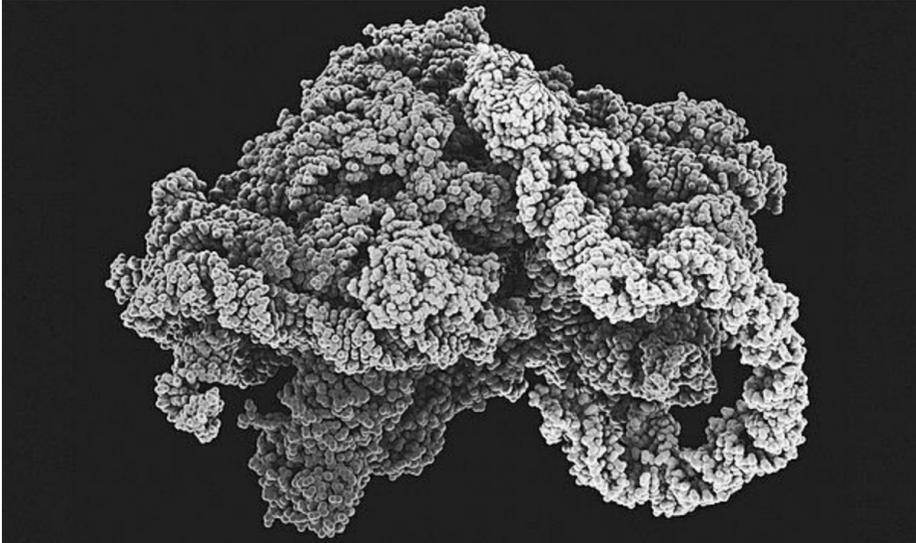
用抗体绘图

早在上世纪70年代初,科学家就发现mRNA存在化学修饰现象,当时使用的技术是对m¹A进行放射性标记。但因为这些实验都是通过mRNA 3'端多聚腺嘌呤尾高选择性技术富集mRNA分子,所以科研人员担心这会掺杂进其他种类的RNA。

美国威尔·康奈尔医学院化学生物学家Samie Jaffrey表示,“正是因为这个原因,让他们无

“我们并不清楚一个分子上有多少不同的修饰。但有一点很清楚,这个领域非常有意思,值得继续深究下去。”

这是一个与mRNA结合的细菌核糖体的分子模式图。
图片来源:Laguna Design



法确定mRNA里是否还存在其他RNA以及是否发生了“污染”,人们最终放弃了这种方案。”

另一个难题是确定mRNA里哪些位点发生了m¹A修饰。传统测序技术会用到逆转录反应,即将RNA逆转录成互补DNA(cDNA),然后再对cDNA进行扩增及测序。可是这些逆转录酶会去除mRNA上的修饰物。对此,Jaffrey指出,所以人们根本看不到m¹A。

不过虽然存在这些技术上的障碍,科学家还是在细菌的RNA上发现了一些修饰现象,这也引起了Jaffrey的兴趣,她决定看看在哺乳动物的RNA里是否存在这种修饰。

她和同事、遗传学家Chris Mason一起,首先将RNA分子切成小片段,然后用含有特异性针对m¹A的抗体对这些片段进行洗脱,最后对富集后含有m¹A修饰物的RNA分子测序。通过这种方法,她们清楚地看到了mRNA上的修饰物,而且完全没有污染。Rechavi课题组也通过类似方法发现了大量的m¹A修饰位点。目前,这些名为m¹A-seq和MeRIP-seq的研究方法已经被人们广泛采用。

多种修饰

其他RNA化学修饰也引起了科研人员的注意。2016年,由中国北京大学化学家伊成器、Rechavi与何川共同领导的两个课题组使用新抗体技术,实现了全转录组水平上N¹-甲基腺苷(m¹A)这一可逆RNA修饰的谱图鉴定,发现m¹A修饰能够促进蛋白质的翻译过程。

虽然研究人员尚不清楚m¹A的具体作用,但已经找到了一条线索,即绝大多数RNA都只含有一个m¹A位点,而且这些被修饰过的位点的翻译频率要远远高于其他未修饰的位点。Rechavi说:“这让我们非常兴奋,当然也是一个挑战,因为我们即将面对的是一套全新的mRNA翻译调控机制。”

而其他全转录组化学修饰研究策略,主要利用的就是某些RNA修饰物能够与化学标签结合的特性。当伊成器在2011年末建立自己的实验室时,人们已经非常清楚,在其他RNA里含有很多修饰过的RNA组成的核酸——假尿嘧啶,但在mRNA里还没有发现过这些核苷。

2015年,伊成器实验室发现了一种化学标记和洗脱方法,可用于富集mRNA上的化学修饰物。出乎预料的是,他们在人和小鼠的mRNA中发现了大量假尿嘧啶。于是他们开始专注于研究这些化学修饰物的功能。

伊成器认为,“mRNA里的假尿嘧啶可能具有多重功能,这取决于它们在什么时候、什么位置、如何出现,以及如何对RNA进行调控的。”目前人们也发现了很多假尿嘧啶写入因子,但还不清楚是否存在假尿嘧啶擦除因子和识别因子。

不论是抗体还是化学标记,发现RNA中化学修饰位置都是一项非常麻烦的工作。例如,使用抗体时会面临交叉反应的问题,因此,科研人员必须使用两种以上的抗体进行实验,而且还得进行交叉验证。而使用化学标记方法又有可能会更倾向于切断、结合和富集某些特定的RNA片段并带来偏向。

伊成器表示,测序深度和所使用的生物信息学软件会影响人们发现RNA修饰位点的工作。此外,细胞培养时间也会影响RNA的修饰水平。

优化工具

但无论何时,仅知道某个化学修饰是远远不够的。芝加哥大学分子生物学家Tao Pan指出,人们还需要对所有的RNA修饰进行定量分析,因为细胞也许就是依靠一定量的RNA修饰才能进行某种功能。对于那些希望通过激活

RNA修饰相关蛋白调控修饰水平的科研人员而言,这种修饰定量信息尤为重要。

2015年,Pan课题组提出了RNA修饰定量研究策略,至少可用于转录RNA(rRNA)的修饰研究。该策略采用了一种特殊的逆转录酶,能以较高的效率通读待测RNA分子,哪怕分子中有很多位点已经发生了化学修饰,也不影响该逆转录酶的效率。

但最快速了解这些化学修饰物功能的方法可能就是发现它们的识别因子、写入因子和擦除因子。一旦人们发现了能够识别某种化学修饰物的因子,那么就可以很容易地通过基因编辑技术调控该因子的表达,从而帮助科学家在全局上发现化学修饰改变的迹象。

近几年,何川课题组又发现RNA修饰是一种转录子调控机制,参与了细胞内多种不同的作用。因此,科学家迫切需要更多、更好的新技术来探索这些奥秘。

去年10月,美国国立卫生研究院给何川和Pan提供了一个为期5年、总金额为1060万美元的资助,以帮助他们建立一个新中心,用于开发与RNA修饰研究有关的新技术。

借助新影像学技术,人们有可能在肉眼看不到某个RNA分子上的修饰物。此外,科学家开发出新的RNA直接测序技术,以替代传统测序方法。比如英国牛津纳米孔技术公司成功将DNA纳米孔测序技术拓展成RNA纳米孔测序技术。

但目前仍存在其他挑战,例如在数据方面就有不小的困难,比如RNA修饰的绝对数量就是个问题。在一个RNA分子上找出所有的修饰,这需要软件进行大量严格的训练,才能够让它们准确地识别并区分每一个修饰位点的具体情况。约翰斯·霍普金斯大学生物医学工程师Winston Timp说:“我们并不清楚一个分子上有多少不同的修饰。但有一点很清楚,这个领域非常有意思,值得继续深究下去。”(张章编译)

光子集成告别蹒跚学步

光子晶体和纳米线组合产生飞跃性成果

与大量成功的电子集成故事不同,光子集成仍处于婴儿阶段。不同于电子集成,它面临的一个最严重的障碍是需要用各种材料获得不同功能。让事情进一步复杂化的是,光子集成的很多材料与硅集成技术不能共融。

到目前为止,将各种功能性纳米线置入光子电路以达到所需功能的尝试表明,纳米线过小而不能限制光。而更粗的纳米线尽管能够提高光限制和性能,却会增加能量消耗和设备的足迹,在集成方面这两点被认为是“致命”的。

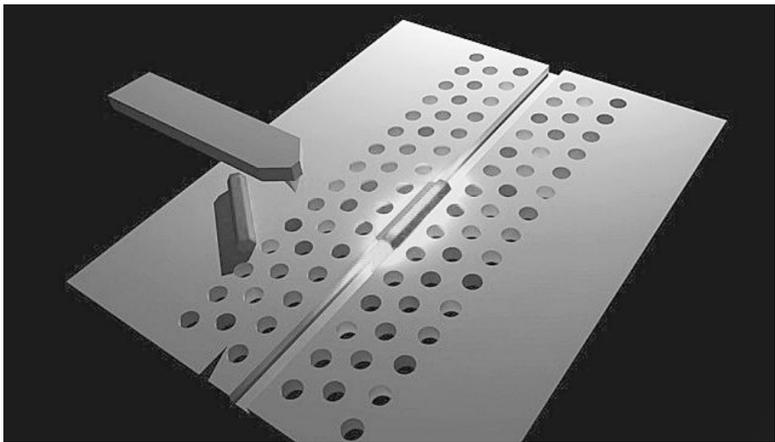
为了解决这一问题,日本电信电话株式会社(NTT)研究人员想到了一个方法,将次波长纳米线和一个光子晶体平台相连,他们近日在发表于美国物理联合会出版社的《APL光子学》期刊上报告了相关成果。

光子晶体——折光率呈现周期性调节的人工结构——是其发挥作用的关键。

“一个光子晶体的本地小折光率调节能够产生强大的光限制,形成超强质量的光学共振器。”NTT基础研究实验室高级科学家Masaya Notomi说,“我们在工作中充分利用了这种特殊性质。”

回到2014年,该团队证明可以用直径仅有100纳米的次波长纳米线较强烈地限制光,方法是将其置于一个硅光子晶体上。那时,“证明这种限制机制仍处于初步阶段,但我们的工作成功地用这种方法在一个硅平台上展示了次波长纳米线设备”,Notomi说。

换言之,当次波长纳米线自身不能成为具备强光限制的共振器时,在被置于一个光子晶体上时,它会导致折光率调节产生光限制。“对我们的工作来说,我们会精心准备一个



图片来源:美国物理联合会

拥有充分大光学增益的III-V半导体纳米线,通过使用(纳米探针操作技术)将其放置在一个硅光子晶体的狭槽内,从而形成一个光学纳米共振器。”该文章首席作者、NTT基础研究实验室Notomi团队研究人员Masato Takiguchi说:“通过一系列仔细的描述,我们证明了这种次波长纳米线能够展示出连续波激光振荡以及每秒10兆比特的超高速信号调节。”

利用纳米线激光进行光子集成需要满足3个必要条件。“首先,纳米线需要足够小并具有

充分的强光限制性能,这可以确保极小的足迹和能量消耗。”Takiguchi说,“其次,纳米线激光必须能够产生超高速信号。第三,激光波长应该大于1.2微米以避免被硅吸收,所以创建光通信波长在1.3微米至1.55微米之间的次波长纳米线激光非常重要,从而能够产生超高速信号调节。”

实际上,此前展示的基于纳米线的激光“波长均短于0.9微米,不能被用于硅光子集成电路——除了相对较粗的1.55微米的微米线激光

脉冲激光展示之外。”Notomi说。这可能是因为波长更长使其材料增益更小,从而很难让细纳米线获得激光。

此外,“任何类型纳米线的高速调节的零示范也已经实现。”他指出,这也是因为小增益量。“通过当前的工作,我们把纳米线和硅光子晶体相结合解决了这些问题。”Notomi说,“我们的结果首次通过次波长纳米线展示了连续波激光振荡,也首次展示了通过纳米线激光进行的高速信号调节。”

该团队能够实现每秒10兆比特的调节,这与传统上用于光学通信的直接调节高速激光相差无几。

“这证明了纳米线激光展示出信息处理的前景,特别是在光子集成回路中。”Notomi说。

该团队目前最具前景的工作是基于纳米线的光子集成电路,他们将利用各种不同的纳米线实现不同的功能,如激光、光子探测以及硅光子集成电路开关等。

“我们期待未来15年内将会需要装有芯片光子网络的处理器,而基于纳米线的光子合成将是一个潜在的解决办法。”Notomi说。

谈到激光,该团队的下一个目标是集成拥有输入或输出波导的纳米线激光。

“尽管这种集成对基于纳米线的设备一直是一个有难度的任务,但我们期待它会在我们的平台上更加容易实现,因为光子晶体平台在波导连接方面具有内在优势。”

科学线人

全球科技政策新闻与分析

新计划有望打破科学引文付费模式



想要知道你的文章是否比其他人引用率更高吗?要得到这些基本数据,你需要付钱。数十年来,论文作者可靠而结构化的记录均由两家订阅数据库拥有所有权:科学网(Web of Science)和高斯帕斯(Scopus)文摘和引文数据库。

只有那些有权使用这些数据平台的研究人员才能自信地跟踪学术记录中的引用模式,分析特定研究领域或研究机构的影响力。

不过,很快引文数据将可以不再收费获取。“开放引文计划”(I4OC)旨在让所有人获取科学文章的参考名单并在那些原始数据基础上建立分析服务。这一计划去年由美国加州旧金山维基媒体基金会和另外5个搭档发起,于4月6日正式宣布启动,包括全球最大的一些科学出版社在内的29个组织同意开放引文数据。

“这是历史上头一次来自最大出版商的大量学术引文数据——构成科学知识结构的数据——可以没有任何版权限制地让公众获得。”维基媒体基金会研究主任Dario Taraborelli说。

所有科学出版商已经将其引文数据储存于一家非营利机构Crossref,该机构是业界于2000年建立的。但Taraborelli说,直到最近仍仅有约1%的数据可免费获取。现在,通过I4OC,40%的数据是免费的。“我们的目标是很快达到100%覆盖,让更多出版商和开放获取组织加入这一计划。”他说。

致力于该计划的出版商包括该计划的两家创始机构:eLife和《公共科学图书馆》。其他大型出版商还有MBO出版社、威利、泰勒和弗朗西斯以及斯普林格·自然出版集团等。但目前荷兰出版巨头、占Crossref约30%引文数据的爱思唯尔集团仍未参与进来。Elsevier拥有斯高帕斯。(科学网的拥有者是Clarivate Analytics,该机构去年从汤森路透购买了该数据库。)

“我们不知道该计划,但想要在做决定是否参与之前了解更多信息。”美国纽约爱思唯尔企业关系副总裁Tom Reller说。(晋楠)

珊瑚白化危机再次袭击大堡礁



一名潜水员正在检查澳大利亚大堡礁近来的珊瑚白化情况。
图片来源:Greg Torda

澳大利亚海洋学家在调查中连续两年对大堡礁得出了令人悲观的观察结论,此次调查的目的是了解海水升温导致的广泛珊瑚白化的影响。这一轮调查结果非常严峻,根据4月9日公布的航空调查结果,2300公里长的大堡礁系统中间1/3的单个珊瑚礁出现严重白化。

科学家表示,目前珊瑚白化危机涉及1500公里范围的珊瑚。2016年,严重白化袭击大堡礁北部1/3区域。现在,大堡礁中段的大量珊瑚礁继续遭遇袭击。专家们担心,两次白化事件发生的地点很接近,这将使珊瑚很难有机会复原。汤斯维尔詹姆斯·库克大学海洋生态学家James Kerry说,生长最快的珊瑚至少也需要10年才能恢复,对于那些连续几年遭遇白化袭击的珊瑚礁来说,“恢复前景为零”。

海水温度升高让生活在珊瑚中通过光合作用为自身与宿主提供营养的五彩斑斓的藻类——黄藻被驱走,导致珊瑚白化。珊瑚白化与否取决于它在高水温下浸泡的时间,如果水温能够快速降低,那么白化的珊瑚依然可以恢复。所以只有到随后的水中观察结果出来后,今年的全部破坏程度才会摸清。但“我们预期珊瑚损失水平很高”,Kerry说。

去年,科学家发现大堡礁北部700公里的部分有67%的珊瑚白化。过去两年,大堡礁系统中仅有南部的珊瑚逃过厄运。科学家总结认为,保护这些珊瑚礁的唯一希望是逆转导致海水升温的全球变暖,其主要的措施就是减少温室气体的排放。

大堡礁位于澳大利亚东北部海岸,有着世界上最大的珊瑚礁群,包括400种珊瑚、1500种鱼类和4000种软体动物。大堡礁在1981年被联合国科教文组织列入“世界遗产名录”。(冯维维)