

最近,中国农业大学国家玉米改良中心田丰教授团队与杨小红教授团队合作研究,以368份玉米自交系未成熟籽粒为实验材料,定位玉米种全基因组水平QTL(数量性状位点),全面解析了其可变剪接的调控机制,并为研究表型变异提供了重要线索。相关论文近日发表在《植物细胞》杂志上。



视觉中国

可变剪接,这个早在上世纪就被提出的概念,在近几年的研究中,又“火”了起来。科学家们发现,可变剪接不仅丰富蛋白质组多样性,还在生物体内起着重要的调控作用。

可变剪接是什么?这项研究有了什么新发现?是怎样得出来的?实验中的难点是什么?对之后的研究有怎样的借鉴意义?科技日报就此采访了该研究团队。

玉米变异丰富,比人猿间差异还大

可变剪接,又称选择性剪接。其过程是未成熟的mRNA(信使RNA)分子通过选择不同的剪切位点,切除掉其部分片段,将剩余片段以多样化组合方式重新连接在一起,形成多种不同结构的成熟mRNA分子。

“简单来说,就是一个前体mRNA分子可以经过不同的加工方式,形成不同的成熟mRNA产物。”该论文第一作者、中国农业大学玉米改良中心陈秋月博士解释道,这就像用剪刀去剪绳子,再把剪下来的绳段重新打结一样,剪哪里、剪几刀、留下哪些绳段、以什么顺序打结,这些都会产生不同的新绳。

成熟mRNA分子可翻译表达各种不同的蛋白质,因此,可变剪接自上世纪被提出以来,就被认为是丰富蛋白质组多样性的主要机制。近几年,随着科学家们通过实验发现可变剪接在细胞内还起着重要的调控作用,以及高通量测序技术及生物信息学的飞速发展,可变剪接的相关研究又“火热”起来,这些研究分别从不同环境下对单个基因和个别品种可变

剪接变化的角度展开。而这次实验所采用的全基因组水平QTL定位方法,在植物学领域是一次创新尝试。

QTL是指控制数量性状的基因在基因组中的位置。全基因组水平QTL定位,通俗地讲,就是在全基因组范围内,把控制株高、籽粒重等变异连续性状的各基因,在基因组中的位置给找出来。

为更接近玉米群体真实转录水平,研究团队采用自然群体,以368份玉米自交系未成熟籽粒为实验材料,对转录本组,即一个基因通过可变剪接转录形成的多种成熟mRNA,进行重新组装,获得了以往未被研究的新转录本。

“玉米遗传多样性高,基因组变异和表型变异都非常丰富。任何两颗玉米之间的差异,都比人和猩猩之间的差异大。”论文共同第一作者、华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室博士后刘海军说,“并且玉米是异交作物,连锁不平衡衰减很快,定位精度高,非常适合用来研究可变剪接的遗传机理。”

喝绿茶品红酒 把有毒蛋白“中和”掉

第二看台

实习记者 代小佩

日前,以色列特拉维夫大学领导的一个国际研究团队称,绿茶和红酒中的某些成分可阻止有毒代谢物形成,未来有望用于治疗苯丙酮尿症等遗传代谢性疾病。

该团队用绿茶中的多酚类活性成分(EGCG)和红酒中的丹宁酸测试了苯丙酮尿症等遗传代谢性疾病中的代谢物,这些代谢物与毒性淀粉样蛋白的形成有关。结果显示,EGCG和丹宁酸都能有效阻断此类蛋白形成。“与源头治疗不同,绿茶和红酒中的成分中和掉了被检测到的旁路代谢产物。如果提炼出这些成分并将其变成药物,前景很值得期待。”北京友谊医院儿科副主任医师丁瑛雪对科技日报实习记者解释称。

基因突变引起蛋白质结构改变

1908年,英国阿奇博尔德·加洛德首次提出遗传代谢性疾病。该疾病因基因突变引起

蛋白质分子结构和功能的改变,导致酶、受体或载体等缺陷,使机体的生化反应和代谢出现异常,反应底物或者中间代谢产物大量蓄积,引起一系列临床症状。这类疾病包括氨基酸、有机酸、脂肪酸、糖和激素等物质的代谢异常。

“我国每年新生儿数量约为1500万至2500万,目前遗传代谢性疾病的总发病率为千分之三左右。这只是估算数据,不同区域发病率有差异。”丁瑛雪称。

上世纪80年代以前,人们对遗传代谢病的认识寥寥无几,一些稀奇古怪的病名很难被记住。1981年我国开始进行苯丙酮尿症筛查,加之串联质谱和气相色谱-质谱检测技术在我国的应用,甲基丙二酸血症、枫糖尿症、丙酸血症等疾病相继被筛查和诊断。

南京医科大学附属南京儿童医院消化科郭红梅指出,当遇到原因不明的运动、智力发育落后、抽搐等神经系统表现,或者有黄疸、呕吐、喂养困难等多脏器损害的症状特征,应考虑遗传代谢性疾病的可能。丁瑛雪对记者说道:“当新生儿出现呕吐、腹泻、贫血、拒食等消

化系统非特异性症状或者因肝功能受累及出现黄疸、转氨酶增高等症状。除肝病体征外,早期喂养困难、发育迟缓、易激惹、惊厥、昏迷等神经系统症状并伴有严重内环境紊乱时,临床医生会考虑要不要做遗传代谢病筛查。但遗传代谢病总体发病率还是非常低的,大多数遗传代谢病被认为是罕见病。”

基因检测提供更多疾病信息

苯丙酮尿症系因肝脏苯丙氨酸羟化酶先天性缺陷或突变而导致的常染色体隐性遗传性疾病,由挪威科学家佛伦于1934年首次发现,1937年被命名为PKU。由于苯丙氨酸代谢存在障碍,患者无法将摄入的苯丙氨酸分解为酪氨酸等生理活性物质,导致苯丙氨酸在患者体内蓄积从而损害大脑。旁路代谢产物苯丙酮酸等则大部分通过尿液排出体外,导致患者尿液中此类代谢产物是正常儿的几十或几百倍。PKU临床表现为智力低下、自闭症、癫痫等。

“苯丙酮尿症和甲状腺功能减退症,这两种

疾病在遗传代谢性疾病中发病率较高,同时筛查技术较简单,发现后及时治疗,一般都能很好控制,减少不良预后,提高生存质量。”丁瑛雪解释道。2018年5月,国家卫健委、科技部等五部门联合下发通知,将苯丙酮尿症等纳入首批国家版罕见病目录。

据悉,常规的PKU筛查方法有两种:测定血清中苯丙氨酸和酪氨酸的浓度;测定尿液中苯丙氨酸的旁路代谢产物。前一种最常用的是串联质谱法,但质谱仪价格难以普及。“串联质谱技术可以查出好几百种遗传代谢病,但筛查项目越多费用越高。”

目前,PKU疗法主要有饮食疗法、糖巨肽法、补充四氢生物蝶呤法等,还有酶替代疗法和基因疗法。牛瑞青等人指出,限制苯丙氨酸摄入的疗法结合新方法取得了巨大进展,但研究安全有效的治疗方法仍任重道远。丁瑛雪认为,基因检测相比以往单一的生物筛查技术令人憧憬,会给遗传代谢病筛查和治疗带来颠覆性影响,“通过大量的基因数据可以得到更多疾病信息,但数据量太大分析起来会很困难。”

调控玉米性状 可变剪接“火”起来

实习生 刘雨亭

对实验材料的转录本组取样是项繁重的工作。368份玉米自交系,每份自交系种植15株,再选3到5株做自交,在成功收获的每根玉米棒上用手术刀取15颗完整籽粒。算下来,一共需要人工剥取2万多颗玉米粒,这仅是取样的第一步。科研团队还需将玉米粒在零下190摄氏度液氮环境下磨碎,再进行RNA提取工作。

“双手磨出泡是常有的事儿。担心唾液淀粉酶降解RNA,我们必须戴双层口罩,不能说话,一天下来耳朵那儿被绳子勒得很疼。”陈秋月讲述道,“这次实验涉及1万多个基因,SNP标记有125万个,数据分析工作量很大。而且实验室服务器的容量不够,我那会儿经常到别的实验室借机器用,还去过武汉借华中农大的超级计算机跑程序。”

不同QTL,功能定位各负其责

该项研究发现,可变剪接能通过与不同层次的分子调控机制频繁偶联,进而广泛参与细胞转录及转录后水平调控。

其中一类调控机制是小RNA介导的转录调控。小RNA,一种非编码单链RNA分子,会识别与之序列相匹配的转录本,并和其他蛋白一起将其降解。“但如果因为可变剪接表达出不含相应识别位点的转录本,则不会受此影响。”刘海军说。

还有一类是无义介导的mRNA降解机制。“通过内含子保留形成的转录本中,保留下来的这段内含子上如果含有终止密码子,就会导致翻译提前终止,这样的mRNA序列就会被细胞降解掉。”刘海军解释道。

除此之外,可变剪接也对小干扰多肽起着调控作用。转录因子在此过程中扮演着核心角色。转录因子是基因表达调控研究领域的“明星”——一个转录因子可以影响一系列下游的基因在何时何地表达,甚至表达量的多少。有一类转录因子,由于其上存在一段多聚化功能区域,需通过形成二聚体才能发

挥作用。刘海军将这样的功能区域形象比喻为转录因子的“手”,并进一步解释:“如果可变剪接,比如外显子跳跃,使得转录出的转录因子丢掉了发挥识别功能的区域,但是其他的功能域特别是‘手’还被保留下来,那些因不能识别DNA而无法正常行使功能的转录因子片段,就会死缠烂打地牵拉着功能正常的蛋白质,大量消耗正常转录因子,使其也无法行使调控作用了。”

该实验通过对玉米全基因组QTL进行定位,发现sQTL(控制可变剪接变异的QTL)与eQTL(控制基因表达的QTL)共定位的情况占比很小。由此看来,基因表达总量的多少和其转录本的比例构成,二者关系并不密切。

“就像在家庭关系中老公挣钱交给老婆,老婆操心分配这些钱该怎么花,挣钱的总量和分配下去的比例这两个过程是相对独立的,或者说由不同角色来负责的。”刘海军对科技日报讲解道,“当然也有同一个人说了算的情况,但是这种情况的比例比较低。”

指挥“千军万马”的“司令官”

有一个小家伙引起了研究人员的特别注意。实验发现,一条叫做ZmGRP1的基因可以调控高达一千多个下游基因的可变剪接。陈秋月表示,由于此前已有研究发现,ZmGRP1在拟南芥中的同源蛋白AtGRP7和AtGRP8可以调控许多基因的可变剪接,由此她推测ZmGRP1也有类似的功能。

为证实这一设想,她利用CRISPR/Cas9基因编辑技术,敲除该基因编码区,被破坏掉编码区的ZmGRP1就无法正常表达。将经过此处理的植株和正常植株进行对比,发现有一千多个基因的可变剪接受到影响。ZmGRP1

就如司令官指挥千军万马一般,调控着这些基因的可变剪接。

此外,根据此次QTL定位图谱中的一些sQTL与eQTL共定位现象,科学家们推测,可变剪接变异可能直接影响表型变异,但具体的调控过程仍有待探索。

“在这方面我们的结果更重要的是提供了一个资源,可以让玉米界其他研究具体性状或者具体基因的同仁参考、借鉴。”刘海军表示。可以展望的是,在今后的研究中,或可在不影响基因表达的情况下,人为改变其转录本构成,可以对玉米性状进行更精细的调控。

封面故事

向临床迈进一大步 移植人工肺

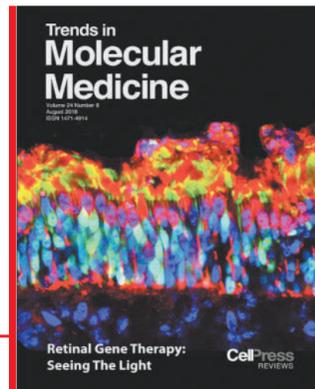
《科学·转化医学》
2018.8.1



肺是复杂的器官,其细胞外基质中含有多种特殊的细胞类型,具有独特的结构,必须在呼吸的过程中保持顺应性。美国德克萨斯大学医学部的尼克拉斯等研究人员,以构建的猪模型为研究对象,解决了肺移植中的血管灌注、再生和组织工程挑战。纳米颗粒和水凝胶生长因子促进细胞黏附到肺支架上;自体细胞植入的生物工程肺在移植后2周内开始侧支循环,显示血管功能完全具备;移植的生物工程肺通气正常并发展出原生的肺微生物。这项研究工作使组织工程肺向临床更进一步,代表了肺移植领域的巨大进步。

遗传性致盲带来曙光 基因治疗为

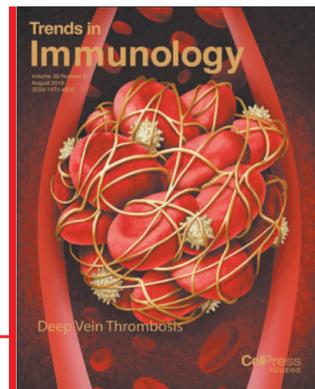
《分子医学》
2018.8



遗传性视网膜变性疾病是导致失明的主要原因,全世界患者深受其害。现在,基因疗法恢复视力已经在大型动物试验中获证,2017年底,首个针对遗传性失明的基因疗法也获得批准。但随着越来越多临床试验的开展,基因的传递、功能的消失突变、基因如何安全递送到病变视网膜等,仍是需要面对和解决的挑战。意大利那不勒斯菲里德里克第二大学转化医学系的伊凡娜·特拉帕尼和高级生物医学系的阿尔贝托·奥瑞秋,在封面文章中讨论了视网膜基因治疗的进展,认为载体设计的进步,递送途径的改进以及干预最佳时机的选择,将有助于视网膜变性疾病基因治疗的成功,并扩展到其他遗传性致盲病患,让更多患者获得重见光明的机会。

免疫调节风险更低 预防深静脉血栓

《免疫学》
2018.8



深静脉血栓形成(DVT)和它的主要并发症肺栓塞(PE)一起被称为静脉血栓栓塞(VTE),它们是世界范围内导致残疾和死亡的主要原因之一。虽然深静脉血栓形成一直被认为是一种凝固性血栓,但最近的一些证据表明,免疫细胞和炎症过程与这种疾病的形成有关。俄罗斯莫斯科第一国立医科大学病理生理学系的伊凡·巴德尼克和亚历山大·布里尔,研究了免疫细胞在内皮细胞激活中的作用,以及免疫级联反应导致黏附受体在内皮细胞上的表达。他们分析了肥大细胞和白细胞等不同免疫细胞,在深静脉血栓形成中的特异性聚集和功能,结果发现,免疫调节可以用来预防深静脉血栓形成,并且比传统方法具有更低的出血并发症风险。

(本栏目主持人:陆成宽)

(本版图片除标注外来源于网络)

扫一扫
欢迎关注
生物圈1号
微信公众号

