

“生物多样性汤”技术,是一种集合了高通量测序技术的新颖的生物多样性监测手段,可以同时分析大量的混合性生物样本,更为快速高效地获取高精度地面生物多样性数据。

# 监测生物多样性,用这碗“汤”就行

◎本报记者 赵汉斌

蚂蚁、蟑螂、蝗螂……在云南高黎贡山,这些小动物不但是儿时伙伴藏在盒子里引人尖叫的“玩具”,还有着不为人知的作用——监测环境中的生物多样性。

早在2012年,中国科学院昆明动物研究所俞维理研究员带领的生态学与环境中心团队研究发现,通过对一定区域内昆虫样本的混合

DNA测序,可以对该区域的生物多样性进行编目和监测。他们在国际期刊《生态学及进化方法》发表了第一篇描述“生物多样性汤”这一高通量条形码技术流程的研究论文,并成为该期刊引用下载次数最高的文章之一。

近期,俞维理团队再次在国际期刊《生态学及进化方法》上发表了《生物多样性汤II:更低错误率的高通量条形码流程》,通过优化多个技术环节,对快速监测生物多样性的条形码技术进行了改进。

标准,但要获得这样的数据需要付出高昂成本,因此保护学者和环境管理者们往往只能利用有限的信息来进行决策。”俞维理介绍,由于其浩大的采样和分类规模,研究不可避免地限制在小的区域且难以有效复制。但现实情况是,研究结论亟待在大尺度上复制和检验,所以其团队采用高通量方法,实现了更大尺度上的可操作性。

“生物多样性汤”技术正是一种集合了高通量测序技术的新颖的生物多样性监测手段,可以同时分析大量的混合性生物样本,获取高精度的地面生物多样性数据。这一技术与依赖于大量分类学专家的传统监测方法相比更为快速高效,同时可靠性高,并具有可供第三方检验的新特点。其最大的突破,在于人们可以更容易地监测环境变化和濒危物种的状况。

昆明动物研究所杨春燕博士向科技日报记者介绍。

通过与云南省林业规划院和哀牢山自然保护区管理局深度合作,研究团队借助于保护区现有分区巡逻的管理体系,利用“生物多样性汤”技术分析由护林员们采集的蚂蚱样本,通过分析其血液DNA中含有的脊椎动物信息,以此来监测哀牢山保护区内脊椎动物的多样性。这些都是俞维理团队利用“生物多样性汤”技术进行生物多样性研究和监测的成功案例。

近年来,“生物多样性汤”技术凭借其快速、高效、监测范围广的特点,逐渐被各国的自然保护区管理部门融入其日常监测工作中,针对这一技



术的科学研究也一直是相关领域的研究热点。俞维理团队通过优化多个技术环节,获得的升级版“生物多样性汤”,改进了整个实验设计和生物信息学分析流程,降低错误率的同时提高了运算速率。

“升级版‘生物多样性汤’可以更高效更准确

## 联袂卫星、遥感进行“天空地一体化”监测

我国是生物多样性最为丰富的国家之一,生物多样性保护受到我国各级政府的高度重视。

“生物多样性调查、评估与监测,旨在获取时空连续性的生物多样性数据,这是开展生物多样性保护的前提,但在目前的生物多样性保护研究中,如何快速获得大量物种信息,仍是亟待破解的难题。”杨春燕告诉记者。

目前,日新月异的技术手段使生物多样性监测正迈向一个崭新的纪元。中外科学家几乎同时提出了将多维的遥感数据和高精的地面数据连接用于监测生物多样性的体系框架。我国更是率先将“天空地一体化”监测体系明确列入《关于建立以国家公园为主体的自然保护地体系的指导意见》中。而这个体系中一项重要的内容就是,要快速高效地获取地面精细的生物多样性信息。

我国提出的“天空地一体化”监测体系可以提供研究区域多空间尺度、长时间跨度、连续性的生物多样性数据。目前,俞维理团队将“生物多样性汤”技术(地)与卫星(天)和近地遥感

地一次性分析更多样本,例如一个监测项目里采集到几百个混合的生物样本,在过去我们需要一个物种一个物种地去分析,但是借助这项技术,我们可以一次性分析这些样本。”杨春燕表示,相信这项技术将能在我国“天空地一体化”监测体系中发挥非常重要的作用。

(空)数据相结合,在哀牢山保护区成功进行了“天空地一体化”探索和应用研究。

“‘天空地一体化’有效应用于生物多样性监测,迫切需要解决两个问题:在遥感监测的区域如何快速高效地获取地面精细的生物多样性信息;如何将高通量的生物多样性信号与遥感信号衔接。”杨春燕说,解决以上问题,我国具有得天独厚的资源和技术优势。

据悉,我国的遥感技术、地理信息系统和全球定位系统,以及无人机近地遥感技术一直处于世界前沿,并已在多种环境监测中得以应用;目前我国有多个团队在研发地面高精生物多样性数据的获取技术,俞维理团队就是其中最早进行这一尝试的团队;另外,我国建设有众多的自然保护区,其中一些建设较早的保护区具有丰富的基础数据积累和设施完善的野外观测台站。

“依托这些自然保护区开展‘天空地一体化’的体系探索和应用研究,有助于尽早实现该体系对我国生物多样性的有效监测,占领生物多样性监测的前沿高地。”杨春燕说。

## 研究进展

### 碱基精度 99.9999%

### 高质量拟南芥基因组完成组装

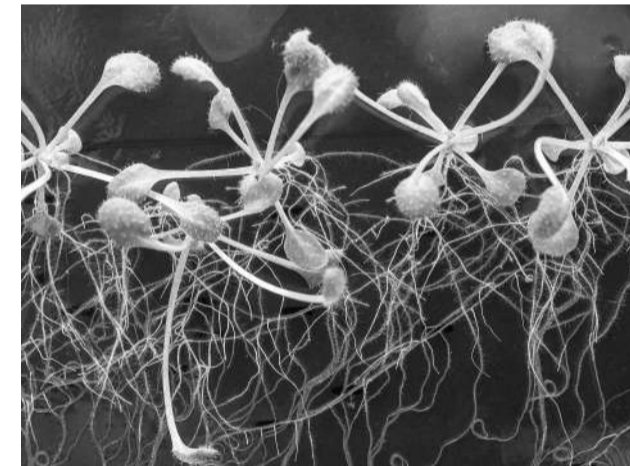
科技日报讯(记者史俊斌 通讯员刘昱晗)记者9月13日从西安交通大学获悉,该校电信学部自动化学院教授叶凯、计算机学院副教授杨晓飞带领的研究团队完整组装出拟南芥基因组,实现了仅剩两个缺口、碱基精度为99.9999%的高质量拟南芥基因组 Col-XJTU,高于目前的参考基因组。相关研究成果近日在国际期刊《基因组、蛋白质组与生物信息学报》上发表。

破译生命遗传密码的故事要从20世纪兴起的“人类基因组计划”讲起,它与曼哈顿原子弹计划、阿波罗登月计划并称为自然科学史上的“三大计划”。该计划在研究人类过程中建立起来的策略、思想与技术,构成了生命科学领域新的学科——基因组学,以研究微生物、植物及其它动物。

拟南芥的研究属于植物基因组研究范畴,拟南芥因其植株小、易繁殖、生长期短等特性,为遗传研究提供了极大的便利,在植物研究领域被誉为“植物中的果蝇”,被科学家选为模式植物。目前,全世界有一半的植物学家、近万家实验室正在对拟南芥进行遗传分析、基因克隆和功能基因组等研究,取得的研究突破为粮食增产、农作物抗逆、植物保护等作出了重要贡献。

西安交通大学信息与生物医学交叉团队以人工智能算法开发、生物医学大数据挖掘为手段,设计了综合利用不同测序技术优势的混合测序技术,提出以细菌人工染色体为锚点的序列替换新策略,实现了仅剩两个缺口的高质量拟南芥基因组 Col-XJTU。研究团队成员王博指出,拟南芥共有5条染色体,Col-XJTU基因组完成了三号、四号及五号染色体着丝粒的无缺口组装,并完成了一号和二号染色体大部分着丝粒的组装。

基因组的碱基准确性和结构准确性是评估参考基因组质量的指标。西安交通大学信息与生物医学交叉团队首席科学家叶凯告诉记者,Col-XJTU基因组以哥伦比亚生态型和西安交通大学英文缩写命名,凸显了西安交通大学科研团队在拟南芥基因组研究和世界植物基因组学研究中的重要贡献。



培养基中长大的拟南芥 视觉中国供图

### 高产、早熟、抗病性强

### 科学家育出38个百合新品种

科技日报讯(记者俞慧友)培育观赏型、食用型百合新种质、新品种38个,研制百合酱酒新产品1个,储备发明专利11项,8年累计推广应用9万余亩。记者9月13日从湖南省农科院获悉,由该院与湖南省农业环境生态研究所、湖南岳麓山中药材种业创新中心、湖南慕地生物、湖南蓝颜生物等七家单位合作研发的“百合新品种选育及百合酱酒产业开发”成果,在长沙通过了湖南省农学会组织的科技成果评价,系列成果整体达国际先进水平。特别是,团队首次从百合中克隆获得了开花调控的关键基因CRY和CO,为培育速生早花百合新品种奠定了分子育种基础。

据了解,我国现有百合品种若干,但普遍存在产量低、抗性弱、加工利用不充分等问题。为此,团队联合开展了百合早熟抗病品种选育及产后加工技术研究,选育了高产、早熟、抗病性强的系列百合新品种,在应用上研制了有特色风味的酱香型百合酒品。

38个新品种各有特色。比如,团队发现了百合同源多倍体二倍化导致的镰刀菌易感基因缺失现象,有效提升了百合抗茎腐病的薯蓣皂苷含量,培育出了抗性强的观赏型新品种“贵阳红”;通过百合远缘杂交试管授精技术,选育了速生、高抗、无斑点的异源三倍体观赏型新品种“玉兔”;培育了特早熟食用百合新品种“龙牙红”,比传统对照品种可增产50%,花期早20天,果实品质好,药用价值高。此外,该品种茎基部产生的小鳞茎还极易繁殖,有效解决了龙牙百合繁殖的技术瓶颈。



视觉中国供图

黄硕说。

通俗地说,质谱法是用生物酶将蛋白质分解成很多多肽片段,再通过质谱仪器检测,确定蛋白质片段的信息,最终将这些片段重构成蛋白质序列。而埃德曼降解法是用化学方法将蛋白质N端的一个氨基酸切下来进行鉴定,然后再进行第二轮的氨基酸切割和鉴定,多次循环操作后,确定氨基酸的序列。

但在黄硕看来,这两个方法都有局限性。“相较于DNA和RNA测序,构成蛋白质的氨基酸种类更多,质谱法的检测难度大于核酸测序。而对埃德曼降解法来说,它只能对单一的蛋白质样品序列解析,如果降解的样品纯度不够,混合有多种蛋白质样品,那么被切下来的氨基酸就会有多种,就无法确定哪个氨基酸来自哪个蛋白质,从而无法判断蛋白质的序列。另外,还有一些肽段的末端是封闭的,就不能用降解法。”黄硕介绍。

更重要的是,由于无法实现序列扩增,现有蛋白质测序技术的灵敏度较低,这意味着无法检测自然界中一些丰度很低的蛋白质样品。黄硕认为,现有技术难以对复杂环境中的蛋白质直接测序,比如体液、土壤、水体中的蛋白质样品,要先做一些纯化、富集,达到测序的样品标准,才能在质谱仪中测序。同时,蛋白质的化学修饰很丰富,这也有可能干扰蛋白质测序。

### DNA“牵手”多肽“穿行”纳米孔

能不能找到一种更微观的测序方式,只用一个分子就能为蛋白质测序?从2015年开始,纳米孔测序技术进入黄硕课题组研究视野。

纳米孔测序技术是近年来新兴的一种分子测序技术,已在DNA和RNA测序方面取得



这就相当于用绳子在井里提水桶,如果井是纳米孔的话,井绳就是DNA,水桶就是多肽。“井口”的DNA测序酶拉动DNA在纳米孔内移动,而DNA又与多肽嵌合在一起,DNA的移动,也就直接拉动了多肽的移动,从而实现了多肽的纳米孔测序。

### 黄硕

南京大学化学化工学院教授

成功,它让单链的核酸穿过纳米孔,通过纳米孔内的检测器获得核酸链的碱基信息。

“如果能在单分子水平上为蛋白质测序,我们就能对低丰度蛋白和单细胞蛋白质组学进行更加灵敏的检测。”黄硕表示,他们课题组受此启发,开始研究如何用纳米孔技术,进行蛋白质或多肽的单分子测序。

但是纳米孔测序仍面临诸多挑战,其中一个主要的困难是如何实现多肽在纳米孔中可控的

棘轮运动,而这主要缘于目前没有和肽链相匹配、有很强亲和力的多肽测序酶。

黄硕告诉记者:“棘轮运动指的是生物高分子贴着纳米孔的内壁,顺着同一个方向做匀速、定向运动,类似于附着在齿轮内壁上移动一样,这需要找到一种酶来控制多肽的运动速度。”

黄硕课题组在多轮尝试失败后提出纳米孔错位测序技术。“核酸的纳米孔识别位点和酶的反应位点,有一个固定的约14—15个碱基的错位,这就形成了一个测序窗口,可以利用这个不受酶反应限制的窗口,实现测序。”黄硕说。

纳米孔错位测序技术能否应用在多肽测序领域?在此次研究中,黄硕课题组将多肽和DNA嵌合成一条链条,嵌合链的DNA部分为“牵引链”,在拉动过程中,DNA测序酶与DNA结合,通过拉动DNA部分,牵动整条链在纳米孔中的可控棘轮运动,实现多肽的纳米孔直接读取。

黄硕解释道:“这就相当于用绳子在井里提水桶,如果井是纳米孔的话,井绳就是DNA,水桶就是多肽。”井口’的DNA测序酶拉动DNA在纳米孔内移动,而DNA又与多肽嵌合在一起,DNA的移动,也就直接拉动了多肽的移动,从而实现了多肽的纳米孔测序。”

黄硕介绍,经验证,多肽的纳米孔测序信号表现出高度的一致性和序列相关性,由单氨基酸替换引起的电流变化也能被清楚地检测到。通过将多肽的N端或C端与DNA驱动链进行偶联,实现了对多肽两端氨基酸序列信息的读取。

“这意味着,可以对蛋白质单分子进行测序,这为今后的蛋白质高通量测序及蛋白质重构,提供了一个全新的工具。”黄硕说,借助蛋白质序列研究,可以对蛋白质的功能进行预测,从而帮助理解、解释相关生命活动。

◎本报记者 金凤

蛋白质是构建生命体的基本物质之一,在合成、催化和信号传感等所有生命活动中均承担着重要的功能。开发一种可靠、高效的蛋白质测序技术对于理解生命过程、揭示疾病机理至关重要。作为构成蛋白质的组成片段——多肽成为打开蛋白质这扇大门的钥匙。

纳米孔测序技术是近年来新兴的一种分子测序技术,其中多肽纳米孔测序仍面临诸多挑战。科技日报记者9月12日从南京大学获悉,该校化学化工学院研究团队在国际知名期刊《纳米快报》杂志发表论文称,他们利用纳米孔错位测序技术,像在水井里提绳打水一样,构建了多肽-DNA嵌合链,用DNA测序酶与DNA的结合,通过DNA的移动,带动多肽分子在纳米孔内的棘轮运动,从而破解了对多肽进行纳米孔测序的技术瓶颈。

### 现有蛋白质测序技术有缺陷

蛋白质是组成人体一切细胞、组织的重要物质,可以说,没有蛋白质就没有生命。而蛋白质的功能是由蛋白质的序列决定的,序列的微小改变,可能导致蛋白质失去生物活性或者诱发疾病。

如果我们能为蛋白质测序,就可以确定蛋白质是否有序列变化,从而判断其是否会对人类健康产生影响。

与核酸检测不同,目前蛋白质测序的难点在于,缺乏有效的序列扩增方法,技术发展上停滞不前,主要靠质谱法和埃德曼降解法来测序。”该论文的通讯作者、南京大学化学化工学院教授