



活细胞转录组测序技术 只需微创提取，即可看清细胞“前世今生”

◎刁雯蕙 本报记者 刘传书

细胞是生命的基本单位，了解它的过去、现在和未来不仅有助于我们了解正常的发育过程，也对理解疾病的产生和发展至关重要。然而，想要看清细胞的“前世今生”仍然面临很大的技术困难。

8月17日，中国科学院深圳先进技术研究院合成生物学研究所研究员陈万泽以共同第一作者身份在国际顶级期刊《自然》杂志上发表长文，介绍了他们研究团队在国际首创的活细胞转录

组测序技术(Live-seq)，该技术首次让单细胞进行转录测序后，依然能保持细胞存活，首次实现了活细胞全基因表达的连续观测。

“该研究实现了使用活细胞转录组测序技术对同一个活细胞多次分离部分细胞质进行多次转录组测序，表明这一技术有望在将来用于构建单个活细胞的转录组系列变化动态模型。该研究为单细胞转录组测序提供了全新的研究策略，为我们理解生命过程的动态变化提供了强有力的手段，是这一领域的又一重大突破。”北京大学生命科学学院教授汤富刚评论道。

不杀死细胞就能进行测序

为什么人类体内的细胞拥有的基因组几乎一样，但是每个人却各不相同呢？基因组中数万个基因表达与否和表达程度高低，很大程度上决定了细胞的种类和功能。

因此，如果知道细胞不同时间的基因表达的变化，就能够了解细胞的过去、现在和未来。当前，单细胞转录组测序技术是了解细胞状态的重要手段，通过单细胞转录组测序能够看清细胞现在所有基因的表达状态。但是该技术在理解细胞的动态变化方面却面临很大挑战。“利用单细胞转录组测序技术来观测细胞状态的前提，是需要将细胞裂解，提取其中的RNA来测定每个基因表达量的高低，但这样就不可避免地杀死了细胞。”陈万泽说道，“使用单细胞转

录组测序技术，也只能了解到一个细胞当下的状态，却不能了解它的过去，也无法知晓它将来的功能。”

通过近7年的努力，陈万泽与合作者开发了活细胞转录组测序技术，其核心是通过对话细胞中的部分细胞质进行微创提取，并对极其微量的细胞质RNA进行扩增，实现在进行单细胞转录组测序后，依旧保持细胞的存活和功能，从而可以跟踪细胞的动态变化。

论文通讯作者、瑞士洛桑联邦理工学院教授巴特·普朗克(Bart Deplancke)表示，该技术兼具全基因表达分辨率和动态解析能力，是目前对单细胞转录组直接动态测量、偶联细胞现有状态和其后续表型的唯一解决方案。

历经两次碰壁终于“吸”出RNA

如何在不杀死细胞的前提下，看到细胞的动态变化？

“我们首先想到的是外泌体，它是细胞向外面吐出来的小泡，里面有蛋白质、RNA等物质。如果我们把单个细胞的外泌体都收集起来，再对其中的RNA进行测量，或许就可以在一定程度反映细胞状态而又不杀死细胞。”陈万泽说道。

单个细胞中仅有10皮克的RNA，这相当于一克的一千分之一的重量，而细胞分泌的外泌体中的RNA更是少之又少。研究团队设计了一种微流控技术用以完成单细胞捕获、外泌体收集等，但他们发现由于外泌体中的RNA数量太少，根本无法实现单细胞分子水平的观测。

转运分子机制被揭示

葫芦素护瓜不只有“苦肉计”这一招

◎本报记者 赵汉斌

植物无法移动，因此在长期演化过程中，形成了一类三萜化合物，其在植物与环境互作过程中，发挥着吸引虫媒、防御病虫害以及信号传递等重要作用。目前已发现的植物三萜化合物超过2万种。对人类而言，它们是药物、保健品及化妆品的重要来源。

近日，云南师范大学、中国农业科学院农业基因组研究所、华南农业大学等多家单位共同完成的一项研究，解析了葫芦科瓜类作物中的一种三萜化合物——葫芦素的转运分子机制。同时，还发现植物通过从根表皮细胞外排葫芦素，来改变根际微生物群落组成，进而提高对植物枯萎病的抗性。相关研究论文在线发表于著名国际期刊《自然·植物》。

高价值葫芦素原料获取难度大

在吃黄瓜时，人们常在瓜的两头尝到一股难言的苦意，这就是葫芦素在“作怪”。

在前期研究中，团队针对葫芦素生物合成、调控、驯化及结构多样性等方面展开了系统性研究，在葫芦科瓜类作物——黄瓜、甜瓜、西瓜中发现了3个葫芦素合成基因簇，共涉及21个基因。

团队还发现了直接调控葫芦素合成基因簇的6个转录因子，其中发生在果实葫芦素调控基因Bt启动子上的突变，是人类驯化葫芦科瓜类作物果实苦味性状的关键。

一方面，葫芦素可以有效抵御昆虫和其他动物的啃食，在维持植物的生存、繁衍中发挥着不可或缺的作用；另一方面，此前的研究表明，葫芦素具有很好的抗虫、保肝、消炎、抗癌等功效。

“但由于葫芦素获取难度大，制约了它的广泛应用。”论文共同通讯作者之一的云南师范大学马铃薯科学研究院教授尚轶告诉科技日报记者。因此，阐明其合成、调控及运输机理，不仅将为作物品质与抗性育种提供分子靶标，也是利用合成生物学技术开发这些植物天然产物商业价值的前提。

目前，绝大多数研究集中于解析植物三萜化合物的合成及调控机制，而关于植物三萜化合物转运机制的研究较少，相关转运蛋白也未见报道。

葫芦素“借刀杀人”对付有害菌

与人的肠道微生物群类似，根际微生物组往往被称为植物的“第二基因组”，可影响其根系生长发育、根系对生物和非生物的抗性以及与根系对营养的摄取等过程。

近年来，人们发现植物根系产生的次生代谢

产物在选择性塑造根际微生物组方面发挥着重要作用，然而这些代谢产物从根系转运到根际土壤及其调控根际微生物组的作用机制并不清楚。

“甜瓜、西瓜中的葫芦素首先在根表皮细胞的细胞质中合成。”尚轶说。随后，葫芦素被锚定在细胞膜上的MATE转运蛋白捕获，并被转运至植物“体外”，最后进入土壤中。尚轶说，研究团队首先利用水培方式，发现甜瓜和西瓜根部可以向营养液中分泌葫芦素B和葫芦素E；在土壤种植瓜类作物，其根际土壤中也检测到大量的葫芦素。

“瓜类作物的根部合成葫芦素等三萜化合物，需要消耗很多能量，但合成后却将其外排到土壤中，看起来是一种资源‘浪费’，但这其中必有道理。”尚轶说，深入研究后，他们发现，实际上甜瓜向土壤中外排葫芦素B，是为了提高自身的抗性。

镰刀菌广布自然界，是一种能引起小麦、水稻和蔬菜病害的真菌。研究团队研究发现，葫芦素B对土传病原菌——镰刀菌并没有直接杀伤力，因此他们推测葫芦素B可能间接影响了根际镰刀菌丰度。

“通过分析根际微生物及宏基因组测序数据，并结合体外生化实验验证，我们发现甜瓜根系分泌的葫芦素B可作为碳源诱导根际肠杆菌生长，而肠杆菌又可促进拮抗细菌——芽孢杆菌

富集，芽孢杆菌可以对镰刀菌产生抗性，从而建立起植物的防御机制。”论文共同第一作者、南京农业大学资源与环境学院副教授荀卫兵说。

新发现带来作物选育新思路

研究人员对瓜类植物天然产物转运机制，以及转运蛋白如何调控植物根际微生物组的研究，为深入开发利用瓜类植物的潜能，提供了新的思路。

“此前，对葫芦素调控机制的解析，为利用葫芦素类物质的特性培育优质新品种提供了分子靶标。”尚轶说，黄瓜育种专家已利用这一机制培育出“叶苦抗虫、果实不苦”的优质新品种，解决我国华南地区黄瓜易变苦的难题，相关成果获得了2018年度国家自然科学基金二等奖。

此外，葫芦素合成机制的解析，为利用合成生物学技术异源高效合成葫芦素提供了先决条件。在此基础上，葫芦素转运蛋白的发现，将进一步加速葫芦素合成生物学研究。“通过转运蛋白实现或加速葫芦素定向胞外运输，从而降低其对细胞生长的负担或毒性，有利于提高葫芦素产量，同时也可以简化葫芦素的纯化流程。”尚轶说。

此项研究，也有助于提高葫芦素在有害生物综合治理中的应用前景。

研究进展

微生物助盐碱荒滩长出青纱帐

◎本报记者 王迎霞

一片未开垦的盐碱荒滩地，在没有经过任何改良的情况下种上玉米，不仅出了苗，还长得比人高。这是啥情况？

“秘笈”就是三个字：微生物。

近日，科技日报记者在宁夏农垦暖泉农场采访时看到，试验田里，绿油油的玉米长势喜人，密密织起一片一望无际的青纱帐。在场的众人纷纷表示：“谁能想到它们是在盐碱严重的荒滩地上长起来的？还是科技给力！”

“5年前我带领团队分离筛选了成千上万的微生物，最终获得一批优良菌株，可以显著提高玉米的抗盐碱能力。”北方民族大学生物科学与工程学院教授杨国平说。

盐碱地里种植作物很难出苗，但是经过微生物技术处理，出苗率能达到85%左右。

杨国平团队的研究以微生物诱导植物抗盐碱技术为核心，以微生物液体有机肥为载体，将玉米抗盐碱微生物施入土壤，在玉米根际形成优势菌群，让玉米在盐碱地里成功生长。

针对宁夏本地土地盐碱化严重的实际情况，杨国平团队开发了玉米抗盐碱微生物技术。2021年，该技术获得了农业农村部颁发的玉米抗盐碱微生物产品登记证。目前，该技术已在宁夏、内蒙古等地示范试验20多万亩。

“我们通过应用微生物刺激植物抗盐碱研究成果，激活了农场部分贫瘠的土地，提高了土地利用效率，把‘荒沙滩’真正变成了‘金沙滩’。”宁夏农垦暖泉农场三队三片区负责人王金福说。

今年，在银川市科技局的立项支持下，玉米抗盐碱微生物技术在宁夏农垦暖泉农场50亩盐碱沙荒地进行实地应用。

该技术利用微生物提高植物的抗盐碱能力，在不改变盐碱地原有性状的情况下，让植物能够正常生长，一边种植一边改良土地。“这一新技术开启了盐碱地利用的新纪元。”银川市科技局相关负责人表示。

连续使用该技术种植作物3年后，抗盐碱微生物菌群将在盐碱地全面定植，从而改善盐碱地土壤结构，而且该方法具有成本低、方法简单、效果持久、可与现有农艺栽培措施无缝衔接等优点。

“我希望将前人总结出的盐碱地治理技术与微生物技术相结合，并快速扩大推广，使宁夏的中重度盐碱地长出更多粮食。”杨国平信心满满。



现代玉米杂种优势群 遗传演化的基因组学基础被发现

科技日报讯(记者马爱平)近日，中国农业科学院作物科学研究所玉米优异种质资源发掘与创新利用团队联合国内高校及科研机构共同研究，揭示了玉米父、母本杂种优势群趋同与趋异选择的遗传规律，解析了玉米基因组分化特征及其对杂种优势的贡献，为新时期玉米自交系选育和杂种优势利用提供理论指导。相关研究成果发表在《自然·植物》上。

玉米单产水平的提升主要取决于父、母本杂种优势群的持续改良和配组方式的优化。然而，现代育种过程中父、母本杂种优势群的遗传改良规律及其基因组学基础尚不清楚。

该研究收集整理了1604份国内外不同育种时期、不同杂种优势群的代表性玉米自交系，覆盖了全球主要玉米主产区育种应用的父本群和母本群，并针对21个农艺性状开展了多环境、多角度的表型精准鉴定和基于重测序的基因组精准鉴定。通过对超过305万个表型数据点和2.2亿个遗传变异位点分析发现，父本群和母本群的农艺性状改良既存在趋同选择，也存在趋异选择。趋同选择性状多与耐密高产育种目标相关，表现为父、母本群均向花期更早熟、籽粒更大、产量更高等方向改良；而趋异选择性状可能与母本及其杂交种的成熟期和籽粒脱水速率相关，表现为穗粗、穗行数、轴重在母本群中降低，而在父本群中增加。在此基础上，研究团队挖掘出一批相关的重要基因和等位基因，并进一步验证了部分基因的功能。该研究为玉米杂交种父、母本群的遗传改良、强优势杂交种的选育及全基因组选择育种技术的开发提供了理论基础与基因资源。

新型拉曼成像系统 可清晰捕捉细胞器时空演变信息

科技日报讯(记者吴长锋)科技日报记者从中国科学技术大学了解到，该校工程科学学院储·扎克·史密斯(Zachary J. Smith)教授团队联合国内科研团队，提出了一种基于线扫描拉曼成像系统和偶氮增强拉曼探针相结合的快速生物成像方法，实现了对细胞器动态过程的高分辨率、低功耗成像。相关研究成果日前在线发表于学术期刊《美国化学学会杂志》。

拉曼成像是一种无标记的单细胞分析技术，能够从分子水平获得细胞的结构和组成信息，广泛应用于生物医学研究领域。然而，研究人员通常需要在高激光照射下历经数小时才能获得一幅细胞拉曼图像，无法捕捉到细胞器的时空演变信息。拉曼探针作为另一种拉曼信号增强方法，具有细胞可透过性、靶向性、低毒性等特点，但是常见的炔烃标记的拉曼探针还无法满足高分辨率的快速细胞动态成像。

为此，研究人员设计了一种动态偶氮增强拉曼成像系统，能够实现对细胞器动态过程的高分辨率、低功耗快速拉曼成像。研究人员采用了一种新型的超灵敏共振拉曼探针，即偶氮增强拉曼探针，在极大提高拉曼信号的同时，能够抑制荧光背景，相对拉曼强度提高了3—4个数量级。结合自身设计的线扫描拉曼成像系统，可实现对偶氮增强拉曼探针标记后的活细胞中多种细胞器的快速拉曼成像，并且能够获得全拉曼光谱信息。

该动态偶氮增强拉曼成像系统可用多种偶氮增强拉曼探针同时对细胞进行同时标记，实现了线粒体、溶酶体和脂滴的同步成像，并且能够对细胞器动态过程进行定量且多元的成像，将为生物医学研究提供助力。