

## 【基础科研】基因工程与分子生物学的新发展 (三)

2015-08-28 11:47:00

原文网址：<http://blog.udn.com/MengyuanWang/108908769>

在对蛋白质的研究上，最近几年学术界建立了庞大的资料库，对基础科研和医疗应用都有很大的助力。说到大资料（Big Data），在此先简单评论两句：像是分子这种遵循基本物理规律的对象，大资料是极佳的研究手段，但是像是人文、社会、金融、经济、细胞或整个人体这些本身已经是高度复杂的系统，大资料的分析就必须考虑到很多隐性的因素，否则结果必然似是而非。很不幸的，一般的博士班学生和政府官员欠缺常识与经验，拿了大资料来做了天真幼稚的分析，以为论文能发表，内容就是对的。去年我和John Hopkins大学生物系的一位老教授聊起这个问题，两人有志一同，不胜唏嘘。

好了，言归正传。人体内有2万多个为蛋白质编码的基因，但是实际能产生出来的各型蛋白质至少有20多万种。再加上细菌和病毒的蛋白质，学术界必须研究的对象数目极高。以往要决定蛋白质分子自我折迭后的形状，基本上必须先大量复制，然后让它形成晶体，然后再以例如X-光散射（另一个办法是核磁共振，NMR，也是从物理借来的工具）来决定晶体的结构。这也就是为什么近年来，原本为高能物理发展的加速器被改用于同步辐射X光源。台湾刚刚在2015年完成最新一代的“台湾光子源”，从纸面上的性能指标来看，其同步辐射的强度、密集度和稳定性都与最先进的美国系统很接近，胜过大陆已有的同步辐射光源。至于大陆是否有更新更强的系统在建造中，我就知道了。

不过为蛋白质长晶的过程极为困难，有时是根本就做不到的；就算能做得到，也费时费力；而且蛋白质分子形成固态晶体后的形状并不一定和在活体环境下相同，所以研究蛋白质的圣杯（Holy Grail）就是要发展出能对单个在活体环境下的蛋白质做形状分析的手段。所有研究工具中，原本看来最合适的就是穿透式电子显微镜（Transmission Electron Microscope）；它利用量子力学里物质的波粒双重性，以电子波来代替光波。在使用典型的30万伏特系统下，电子的波长是0.02 Å（1 Å=0.1nm，一般有机分子里的原子直径大约是1-4 Å），理论上可以轻易地解析出个别原子；而可见光的波长在4000 Å以上，所以传统的显微镜当然没有看清分子结构的可能（根据光学的基本定理，亦即Rayleigh Criterion，解析的极限是波长的一半）。

但是用电子显微镜来研究单个有机分子，有两个很大的困难：首先，有机分子里的原子如碳、氢、氧等等都是很轻的元素，对电子的散射很弱，在只有单个分子的时候很难形成清晰的影像（而且是分子越小就越困难）。其次，有机分子里的原子键往往经不起高强度的电子束轰击，为了保护分子不被马上打成碎片，电子显微镜必须被限制到很低的功率，这更进一步地减弱了成像的能力。解决方案的第一步是先把有机分子和它的周遭环境急速冷冻到液氮或液氦温度，如此一来那个分子仍然保持着原本的形状，但却已是固态，可以承受较高剂量的电子辐射。这个技术叫做Cryo-Electron Microscopy（冷冻电镜，简称Cryo-EM），而Cryo-EM最大的用途就是如上所说的用来研究单个有机分子的形状，这时就叫做Single-Particle Cryo-Electron Microscopy（单粒子冷冻电镜）。

不过冷冻电镜一开始的解析度仍然在两位数的Å（2008年时是12Å），距离能真正为蛋白质分子

定形还差得很远。2008年北京清华大学的施一公教授决定全力投入冷冻电镜的发展，很快地带动了整个中国学术界对冷冻电镜的热情。经由与英国的软体研究室的合作，施一公的团队在去年把解析度提升到4 Å，然后在2015年八月终于发表了解析度达到3.4Å的研究结果，其重要性就在于3.4Å恰恰足以辨认有机分子里所有的主要结构细节。施一公这篇突破性论文的研究对象是已知是Alzheimer's关键的蛋白质，叫做γ-Secretase。这个蛋白质有几十种突变的变种，有些容易引起Alzheimer's，有些则相反；所以把它们形状确定了，对了解Alzheimer's的发生机制和治疗方法将有极大的助益。因为这个突破不但有极重要的实际应用，而且也为学术界开启了一个新的研究纪元，施一公应该可以得到诺贝尔奖；不过目前还有很多工作要做，例如这一篇论文只研究了十个比较次要的γ-Secretase变种，施一公已经宣布关于其他变种的后续论文将会很快发布，我们拭目以待。

【后注】2017的诺贝尔化学奖（其实应该是生医奖比较切题）的确给了发明冷冻电镜的三位欧美专家。施一公大概被视为后续改进者，只有在他的研究真正引领出对Alzheimer's的突破之后，才能寄望诺贝尔奖了。

---

## 12 条留言

bme2

2015-08-28 00:00:00

As I have discussed in my response to your earlier post, an important issue remains as to how critical aberrant gamma-secretase really is in contributing to Alzheimer development in human, given that most of the causality tests were performed in rodents. There are many cases of drugs developed based on rodent models that failed to treat human diseases that are seemingly caused by the same faulty genes. There is no doubt in my mind that Yi-Gong Shi's work is Nobel-prize worthy (especially the ones on RNA splicing that were just published) and will shed light on the normal biological function of gamma-secretase in neurons – an important problem in its own right, however, I am somewhat doubtful that solving the structure of gamma-secretase or having the ability to “Cripser” it will have significant impact on disease treatment. But again, this is just my view.

“

I don't think the treatment to Alzheimer's will come in the form of gene therapy, either. If you read my previous article carefully, you should notice that I expect it to come as new drugs that interrupt the chain leading to full-blown Alzheimer's. Hope you agree.

frances

2015-08-28 00:00:00

I correct my previous comment...Experts should feel free to discuss whatever here with Mr wang,,,Ignorant reader like myself should just choose to read easier to understand articles in other areas...

“

Don't worry. Writing articles like these is quite exhausting for me too. I don't think I will be doing it again anytime soon.

AFM

2015-08-28 00:00:00

由新闻照片看来施一公的设备是FEI Titan Krios cryo-electron microscope，除非原厂能开放客户修改内部检测方式，其解析度应已确定，他与英国的软体研究室的合作提升解析度，有一种方式

是由原设备的raw影像数据再经影像处理提高解析度。我曾自制过AFM(1990的博士论文), Z轴解析度可至6.7Å(由干涉讯号转12-bit ADC换算), 但XY轴解析度较差, 论文中的原始影像数据经影像处理推论提高解析度(两影像点中经interpolation加点), 但实际上我认为是artifacts。IBM的 Gerd Binnig and Heinrich Rohrer因STM获得1986年诺贝尔物理学奖, 主要以原理发明。施一公的研究结果, 其重要性在于辨认有机分子里所有的主要结构细节, 可能会有人question他3.4Å解析度。  
[www.ibtimes.co.uk](http://www.ibtimes.co.uk)

他在2008年买的第一台机器就是FEI的Titan Krios。公开的资讯都没有提到他是如何大幅提升解析度(除了软体的进步之外, 不过软体应该不够独力推进那么大的改进), 但是与厂商合作改进机器并非不可能, 台积电这样的Fab也是必须和设备供应商手牵手合作开发新制程的。

还有, Cryo-EM是Transmission Type, 和AFM这种Scanning Type的运作细节有很大的不同。研究蛋白质结构必须有分子内部的资料, 只看表面是不够的。

留言人

2015-08-28 00:00:00

新加坡在搞生物制药, 台湾按理更有条件搞, 过去几十年的人才积累还是比新加坡好的。但是却没什么这方面的报道, 难道台湾没有在这方面发力吗?

我对台湾的生化界不熟, 只知道台湾光子源这个新消息。

住台湾的圈内人请帮忙回答。

frances

2015-08-29 00:00:00

I wonder if you have any comment on the recent Taipei MRT card (yo-you card?) incident/scandal? ( used Japanese AV woman as The Face) In my view it shows how the city govt's incompetence and negligence which has created such disgrace and caused such embarrassment for all Taiwanese internationally...It's a shameless and arrogant decision to insult most people in /from Taipei...I am speechless...sorry i know this is not relevant to this article but I can't hlep it...

Maybe the article 《愚民主政下的指鹿为马》 would be a better place? At least it was about Taiwan.

I don't really care much about this kind of idiocy since it has nothing to do with living standard. The priority list I recommended for the presidential candidate is also what I observe myself.

magnetism\_ray

2015-08-29 00:00:00

似乎还有蛋白质荧光学这种手段,利用荧光分子与蛋白质某些功能基耦合,利用雷射激发荧光分子,分析得到的频谱与散射图型以"猜测"蛋白质的立体结构

我的印象是这个办法的解析度远远不能和冷冻电镜相比。

caspase

2015-08-31 00:00:00

施一公回国后的产出率远远超过他在美国的时候, 光nature, science, cell就有将近20篇。这是先生早前的文章《科技发展与美式自由无关》最好的例子。国内目前能做这种级别研究的单位还是凤毛麟角, 仅仅集中在少数国家级实验室。不过我认为这只是开端, 现在华人学者回国越来越多, 政府资金支持非常大。设备完全不成问题, 问题是要找

到能够有效利用这些设备的人才，现在两样都有了，所以我认为未来10年中国的科技成果是指数上升的。

诺贝尔奖非常偏爱结构生物学，施一公很有机会。我认为王晓东也应该得一个。

蛋白荧光技术受光学的物理限制分辨率无法与电镜相比，经过大幅优化后的超分辨率显微镜能达到20nm左右的精度。但它对样品的要求较低，甚至可以用来观察活体细胞内的蛋白动态过程，因此跟电镜技术在应用上是不一样的。两者是互补而不是取代的关系。

“

我想像施一公一回国就一口气买好几台Titan Kryos，每台400万美金，在美国学术界基本是不可能的。哪个大学能有一台就要大吹大擂了。

是的，我在John Hopkins看过他们示范荧光技术，用来观察酵母菌转化成孢子的过程，很有意思。

Kun

2015-09-12 00:00:00

王兄这三篇写得极为精彩,对于分子生物学的进展有着清楚的介绍,令人受益不少.在此分享一些个人看法:

分子生物学以及相关领域近几年进展快速,对于基础科学的研究有极大帮助,尤其对于了解疾病的状况以及诊断方面贡献很大,我不怀疑有新的爆炸性数量的蛋白质3D结构能够在未来十年被解出来,或是更进一步知道全身每一个细胞的不同分子浓度及分布,但是拥有这些资讯和知道疾病产生的机制或原因是两回事,之间当然有关联性,但是这些资讯只让你知道哪里出问题,无法告诉你出问题的原因,若进一步谈到治疗,其限制性也就更大了.就好比你知道了过去人类历史所发生的每一件事的所有细节,你也无法解决人类面临的问题.

现在世上流行的主要疾病,只有很少一部份可以归纳成单纯因素造成,比方说精神分裂症(Schizophrenia)和基因关系密切,但是一个精神分裂症患者他的同卵双生兄妹只有50%机会会有精神分裂症.这差异是由于环境造成的吗?也不尽然,因为同卵双胞胎的DNA序列并非完全一样,同一种基因的copy数目并不一定相同(中文同卵双胞胎比英文identical twins更能正确定义双胞胎)也就是说你很难在分子层面知道你需要修复的到底是什么

[www.scientificamerican.com/...](http://www.scientificamerican.com/...)

另一个例子是癌症,癌细胞的DNA序列和原宿主差异很大,而且同一个恶性肿瘤的组织,几公分的距离之遥的癌细胞DNA序列都不同,现在发现许多癌细胞共同常见的突变基因在正常组织中也非常出现,所以今天就算你有一种技术,可以100%改变你想要改变的DNA序列,还是远远不够的,因为你不知道你要改变的是哪一段序列,可能是一段基因,也可能是一段基因调控序列,甚至可能是目前人类还找不出意义的序列.这还只是DNA阶段而已,再加上其他包括RNA,蛋白质,醣类,脂肪分子,以及各种调控DNA的分子或甲基化等等.未来50年大概都很难完全弄清楚.现在有人甚至怀疑Alzheimer's可能是以蛋白分子作为媒介的传染病.

[www.nature.com/...](http://www.nature.com/...)

事实上这也是为什么基础生物学研究如此精彩有趣,这是一种对未知世界的探索.但对与只拥有部份知识就要应用在治疗疾病上,我认为是过度乐观也很危险的.看看过去几十年,所谓生物科技的发展,对于治疗疾病的贡献与投入和成果的不相称,很重要原因之一就是对于生命的知识所知太少就拼命想产业化.

生物学大概是所有自然学科中实验产生意外结果比例最高的学门,生命中的分子彼此如蜘蛛网般地互相作用,不管今天target是蛋白质或DNA,都只能假设他们并没有补偿机制,而这种假设恐怕在大部份情况下都是错的.

之前有读者提到“过去数十年来生命科学的进步吸引了无数学子投入这个领域,但这些进步却无法转换成更多的工作机会...这个学科变成可怕的泥沼,爬不出来的,只能越陷越深.”我想对于希望功成名就的人来说,确实误上贼船,但对于生命奥秘有着无穷尽好奇心的人来说,解开各式各样的生物密码是一种精神上而非物质上的满足.如果爱因斯坦或华生是以赚钱或增加工作机会的心态做研究,相对论或双股螺旋还会从他们脑中生出来吗?

“

我不像你是这方面的专业，不过我完全同意美国的一些人员和机构功利心太重，基本机制还没有搞清楚，就急着创业拿专利。这主要是美国专利制度被律师们扭曲来偏爱能雇用律师乱发申请的大公司的结果，中国必须对其有所改革，不能照抄。

RR5

2015-09-18 00:00:00

王先生您好,之前与您產生了一些价值衝突,很希望能够在这方面与您讨论,只是这两个月比较忙就一直没有来留言了  
另一方面,因为您的部落格没有专门的访客留言区,所以我只能在这个议题比较接近的文章下留言,请您谅解

在讨论我们之间的价值衝突以前,想跟您谈一个非常基本乃至老套的哲学问题  
如果一个无罪的人和一百个罪犯的命只能二择一,而且我们没有时间选择两全其美的办法,或者说两全其美的办法不存在,那应该如何抉择?  
如果我们把这个问题进一步扩大,是一个无辜者的命和全人类的命呢?

我敬佩人道主义者,不管是您或是陈真医师我都很敬佩,但理性上同时告诉我,斗争是大自然必然存在的现象,这不管我们喜不喜欢,而是必须接受,因为这是自然定律  
生物学的研究发现,当满足一定条件时,动物也会有跟人类一样的罪恶,会有自相残杀,乱伦,行为异常这不只是人类饲养的动物会发生这种情况,在大自然中也同样有概率会发生,而且是越富裕,越文明,罪恶也同时的进化  
罪恶与文明并非此消彼长,而是同时进步的,请注意这点

如果是绝对的理性主义者,最后的必然结论是虚无主义  
当然理性得到虚无主义,并不代表在价值上和感性上就必须虚无主义,所以人类依然可以为自己的生命寻找意义  
因此我也认同人道主义者,只要这个人道主义者是建立在客观承认自然定律的前提条件上

只要是建立在绝对理性的前提条件上,任何人都可以选择各种各样的价值,只要那个人知道自己所选择的道路会有怎样的后果与罪恶,并且有背负这种罪恶的觉悟

我认为道德的本质,是在于追求人类整体的和谐与发展,所以在最前面的问题上,如果两难问题涉及到人类的存续,这时候道德也是可以放弃的  
毕竟要是人类灭亡了,坚守道德也毫无意义

对我来说,国家之间的斗争是一种生物本能,自古以来,不谈游牧民族侵略中国,中国的聪明商人在面对憨厚的游牧民族也没少占便宜过  
有优势不可能不利用自己的优势,这是动物本能  
面对人口比中国少,自然禀赋比中国劣势的小国,不可能要求他们不使用些阴暗的手段  
当然不只是对小国而言,即使是我相当不喜欢的美国,"理性上"我仍然承认他们发挥自己的优势去掠夺全世界的利益是生物本能

那么在国家认同,或者战争之类的问题上,基于理性,基于虚无主义,基于我理解到各种选择的后果的前提下,我所能选择的就认同中国,认同统一,因为这是一个能够在道德良心上,歷史和文化认同上,还有现实利益与未来趋势等各种价值的总和评断后所能得到的最好结论

而我也不反对战争,良心上和价值上我希望不要有战争,人与人之间不要互相伤害,但理性上我认为这是自然定律,如果生物的斗争不可避免,那我们只能够选择一个能够得到总体最大利益的对象来作为斗争的对象,而且必要时不排除使用战争与杀人作为手段

我虽不认同绝对的人道主义者,但我尊重这些人,所以我也要求这些人必须尊重我的理性选择  
不知王先生对我的价值认同否?

“

我对你没有恶意,也欢迎你继续留言,只是请你尽量写得简洁一点。

我不是理想主义者。我或者可以算是个Humanist(一般译为人道主义者,其实我认为人本主义者比较确切)吧,不过这个标籤在英文里有很大的反宗教教条主义的意味,而我对宗教迷信一直是深恶痛绝的。

如果牺牲一条无辜的生命可以挽救更多的无辜生命,我当然是赞同的;只是这样的交换必须是确认的,以免成为为恶的藉口。

caspase

2015-10-05 00:00:00

屠呦呦得了诺贝尔医学奖了。真是惊喜。有了这个先例,以后中国的诺奖得主必然越来越多。

“

其实治疗疟疾比蛔虫重要多了,应该从研究青蒿素的许多团队中选三个人来得奖才对。  
Nobel Committee的种族歧视还是很严重的。

颁布获奖名单时念的还是“呦呦屠”，记得当年李娜夺得法网冠军时也是被称为“娜李”，到澳网夺冠时五大公开赛英文解说都已称李娜了。她退役时俄罗斯的莎拉波娃寄语中提到“一直没搞明白你到底叫什么”。带句题外话，两岸三地应该先把译音统一了，94年在香港同当地同事聊世界杯巴西前锋贝贝托（白逼度）听的一头雾水

“

我在英美媒体看到“President Jinpin”不知多少次，早已见怪不怪。

大陆正在建设上海同步辐射光源，是第三代同步辐射光源，纸面数据与台湾光源在同一水平。

另外大陆正在大力推动X射线自由电子激光的进展。

这几年来X射线自由电子激光对纳米蛋白质晶体衍射成像（Serial Femtosecond Nanocrystallography）算是突破性的进展，我有幸参与在其中。不知王先生对这方面的进展和前景有没有什么看法？

“

不是我的专业，我祇是从新闻上关注。

这似乎是台湾今年搞好的极少数建设之一，我对大陆在建类似的设备完全不感惊奇。

有了光源，还得要有工业环境，亦即用户（和SuperComputer很像）；这可能要再花几年来培养，台湾大概会在这方面失足。