

2021 年生命科学热点回眸

蒋嘉彦^{1,2}, 朱芳^{2,3}, 李聪^{1,2}, 王呈呈^{3*}, 胡荣贵^{1,2*}

1. 中国科学院大学杭州高等研究院, 杭州 310024

2. 中国科学院大学分子细胞科学卓越创新研究中心, 上海 200032

3. 贵州大学医学院, 贵阳 550025

摘要 全球科学家在新冠病毒疫情的巨大挑战中从未停止生命科学研究的步伐, 2021 年生命科学及相关学科仍然取得了长足的进展。概述了 2021 年生命科学领域最具代表性的若干项前沿研究, 对蛋白质结构预测、膜蛋白结构解析、转录起始复合物的解析、人工合成淀粉、新冠病毒中和抗体、基因编辑与疾病治疗、体外胚胎培养、迷幻药与精神疾病治疗、新型干涉单分子定位显微镜和第二代微型化双光子显微镜的研发等研究及技术领域的突破进行梳理和回顾。

关键词 生命科学; 新冠病毒; 结构生物; 合成生物学; 神经科学

生命科学作为当今社会最具活力的学科, 日益蓬勃发展, 贯穿着社会的方方面面。生命科学与人类活动息息相关, 在食品加工、农业生产、环境保护、资源再生、卫生医疗等方面发挥着重要的作用。生命科学的发展对于人类认识和掌握疾病发生发展的规律提供了非常重要的基础。回顾 2021 年, 新冠疫苗的研发在一定程度上缓解了疫情的蔓延, 然而新冠病毒在演化过程中出现频繁变异, 表明全球新冠疫情仍处于高压态势。新冠疫情作为当今

世界各国共同面临的巨大挑战, 不仅加速了相关医疗技术的研发和应用, 也促进了生命科学其他研究的发展和产业应用。

2021 年, 随着各国加大对生命科学研发的投入以及科学家们锲而不舍的努力, 生命科学研究在多个领域取得长足的进展, 中国科学家在其中做出了重大贡献。本文选取蛋白质结构预测、膜蛋白结构解析、人工合成淀粉、新冠病毒中和抗体、基因编辑与疾病治疗、体外胚胎培养、迷幻药与精神疾病

收稿日期: 2021-12-03; 修回日期: 2021-12-31

基金项目: 科技部国家重点研发计划项目(2021ZD0203900, 2019YFA0802103); 国家自然科学基金委化学科学部项目(81525019); 浙江省重点研发计划项目(2020C03G2012037); 国家自然科学基金项目(31960179)

作者简介: 蒋嘉彦, 硕士研究生, 研究方向为蛋白质稳态与人类疾病, 电子信箱: 3083324602@qq.com; 朱芳(共同第一作者), 博士研究生, 研究方向为蛋白质稳态与人类疾病, 电子信箱: gs.fzhu21@gzu.edu.cn; 李聪, 硕士研究生(共同第一作者), 研究方向为蛋白质稳态与人类疾病, 电子信箱: lc13161726107@163.com; 王呈呈(通信作者), 讲师, 研究方向为肿瘤药理学, 电子信箱: ccwang@gzu.edu.cn; 胡荣贵(共同通信作者), 研究员, 研究方向为蛋白质稳态与人类疾病, 电子信箱: coryhu@sibcb.ac.cn

引用格式: 蒋嘉彦, 朱芳, 李聪, 等. 2021 年生命科学热点回眸[J]. 科技导报, 2022, 40(1): 96-112; doi: 10.3981/j.issn.1000-7857.2022.01.005

治疗、新型干涉单分子定位显微镜和第二代微型化双光子显微镜等研究领域,对其中在2021年取得的若干突破进行回顾性分析和总结,以飨读者。

1 结构生物学的重大突破

1.1 人工智能预测蛋白质结构

蛋白质作为生命活动的承担者,在细胞中发挥着不可替代的作用。蛋白质结构决定其功能,因此鉴定蛋白质空间结构是研究其生物学功能的重要方式。蛋白质的氨基酸链可以通过扭曲、折叠、缠绕形成复杂的结构,想要破解空间结构需要花费大量的人力物力,甚至无法攻克。在蛋白质结构鉴定的几十年历史中,X射线晶体学、核磁共振波谱学、冷冻电镜技术作为主要的3个技术做出了巨大贡献。但是这些技术资源消耗量巨大。通过大量的实验工作,目前大约10万种独特蛋白质的结构已经被确定,但这只是数十亿已知蛋白质序列的一小部分。

是否能开发一种较为精确的蛋白质结构预测技术?1972年,安芬森证明了蛋白质的氨基酸序列与其三维结构之间的联系并因此获得了诺贝尔奖。自1994年以来,科学家们已经开始参加每2年一次的结构预测临界评估(CASP)竞赛。CASP规定了一个从0到100的评分系统,反映结构预测的准确性,满分为100,通常只要选手得分超过90,就认为一道题目做对了。在前12次比赛中,参赛者得分均未超过40分。在2018年,Alpha-Fold官方发布后,拿到了CASP13的冠军,但是精确度却未达到90^[1]。

2021年7月15日,Deep Mind团队在《Nature》在线发表了一篇题为“Highly accurate protein structure prediction with Alpha-Fold”的论文,公布了Alpha-Fold模型,并首次对外分享开源代码^[1]。DeepMind开发的Alpha-Fold实现了惊人的准确性——CASP得分的中位数达到了92.4。在设计Alpha-Fold时,研究者采用的方法是生物信息学和物理相结合的方法:使用物理和几何的归纳偏差来构建从蛋白质数据库(the Protein Data)中学习的组

件,并将人工特性施加到最小程度。这使得网络能够更有效地从PDB中的有限数据中学习,并且能够处理结构数据的复杂性和多样性。特别是,Alpha-Fold能够处理缺失的物理环境生成准确的结构模型,例如,Alpha-Fold可以处理某些在未知的血红素集团存在的情况下才发生折叠的蛋白。Alpha-Fold已经在实验领域展示了它的实用性,例如在分子替换方面以及低温电子显微镜图解释方面。在网站上,他们提供了预测水平超过98%的2万个人类蛋白质的预测结构。并且还宣布,在2021年底公布约2.8亿蛋白质中约50%的预测结构。

即使这项突破性进展振奋人心,但是目前仍然存在局限性,他们只对其预测的60%的蛋白具有足够信心,并且蛋白结构依然需要实验去验证。这个预测模型在解决一小群未知蛋白质时非常准确,但这并不能保证所有预测的结构都是正确的,实验验证仍然是必要环节。

1.2 转录起始复合物的解析

真核细胞中,基因转录起始是基因表达调控的核心过程,其影响着细胞的各方面生理功能。细胞内mRNA及大多数hnRNA的合成由RNA聚合酶II(PolII)所介导,该酶的转录起始需要在启动子上组装一个转录起始复合物(PIC)^[2]。

PIC组装过程可概括为:转录因子IID(TFIID)识别核心启动子,并通过招募通用转录因子(GT-Fs)TFIIA、TFIIB、TFIIF以及PolII,逐步形成核心PIC(cPIC),接着再招募TFIIE形成中间PIC(mPIC),最终招募TFIIH形成全PIC(hPIC)^[3-4]。TFIID作为第一个被招募到启动子的GTF,它由TATA框结合蛋白(TBP)和13个TBP相关因子组成^[5-6]。

生物学领域的经典教科书——《Molecular Biology》曾指出,转录起始是以TBP结合启动子TATA框区域开始的。TBP弯曲TATA框形成马蹄状结构,帮助PIC组装在TATA启动子上。然而,一个问题一直困扰着该领域的研究,TBP-TATA系统被证明是一个特殊的非普遍的规律,因为只有15%的编码基因启动子含有TATA框^[7-8]。此外,几乎所有PolII介导的基因转录都需要TFIID的参与,其功

能不能被 TBP 取代^[9]。而 TFIID 如何在不同类型启动子上介导 PIC 组装还未有研究解释清楚。

2021年5月6日,复旦大学基础医学研究院徐彦辉课题组在《Science》杂志在线发表了题为“Structures of the human Mediator and Mediator-bound preinitiation complex”的文章^[10]。在该研究中,徐彦辉研究团队利用冷冻电镜方法鉴定了 PIC 组装过程中重要的中间体复合物的结构,分析后揭示了 PIC 的动态组装过程以及 PolIII C 端结构域磷酸化的分子机制。徐彦辉团队的这项研究成果对今后几年的真核转录起始调控研究有指导性意义,标志着转录调控领域的巨大进展,是国内分子生物学领域的又一重大突破性成果。

研究者重建并确定了基于人类 TFIID 的 PIC 冷冻电镜结构。通过鉴定在 13 个不同启动子(自然启动子、复合启动子和突变启动子)上组装的 25 个不同组成和构象状态的复杂结构,并通过结构分析揭示了 PIC 逐步组装的方式。研究发现:

1) TFIID 含有多个 DNA 结合区,其对 DNA 启动子序列有较高的包容度,可以结合多种类型的启动子。以往的研究发现单独 TBP 仅能弯折带有 TATA 框启动子 DNA,该研究则发现在 TFIID 存在的情况下,PIC 复合物既可以弯曲 TATA 框启动子 DNA,也可以弯曲不含 TATA 框的启动子 DNA。这一发现颠覆传统认知,解释了为什么 PIC 可以在几乎所有启动子上组装,并指出 TFIID 在其中起到的关键作用。

2) “双路径启动子推动”模型(two-track promoter deposition):PIC 通过 2 种方式将不同启动子序列引入 PolIII。在路径 1 上,TATA 框启动子的 cPIC、mPIC 和 hPIC 分别形成 Park、Neutral 和 Drive 构象,通过模块重组最终启动子逐步定位到 PolIII;在路径 2 上,含 TATA 框启动子和不含 TATA 框启动子直接形成 Drive 构象,并定位到 PolIII (图 1)^[10]。

3) 在 hPIC 中,TFIID 可以介导细胞周期蛋白依赖性激酶 7(CDK7)结合在 PolIII 上,CDK7 进一步介导 PolIII C 末端磷酸化,这是转录起始的关键调控步骤。

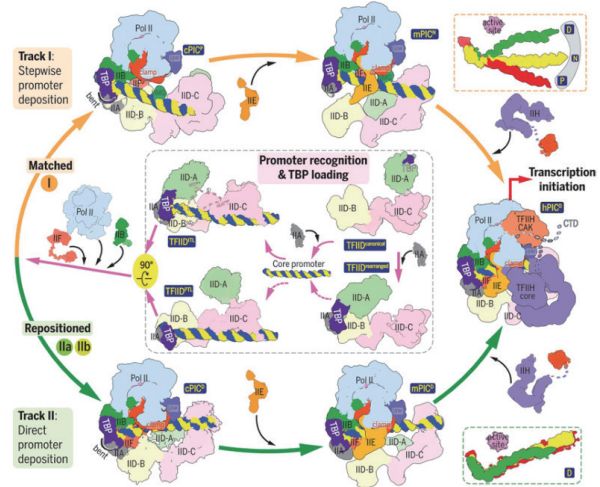


图 1 PIC 的组装模型示意

PIC 组装的结构可视化为进一步研究转录因子、共激活因子和表观遗传调控因子的转录启动提供了一个框架,为后续研究基因表达调控提供了理论基础。

1.3 膜蛋白结构解析

1.3.1 “捕捉”瞬态中间体,揭示线粒体外膜(TOM)组装机制

在原核生物和真核生物中, β 桶状外膜蛋白(β -OMP)履行各种功能,例如,细胞膜的生物合成、营养吸收以及物质运输。其中,线粒体外膜易位酶(TOM)是线粒体摄入物质的重要工具,其合成需要进化上保守的线粒体分类和组装机制(SAM)的帮助。由于组装体和底物形成的中间体具有瞬态特性,捕捉他们是一个研究挑战,所以目前仍未有报道说明这些 SAM 是如何介导 TOM 组装的。8月27日,华中农业大学殷平教授课题组在 Science 上,在线发表题为“Structural insight into the SAM-mediated assembly of mitochondrial TOM core complex”的研究论文,揭示了 SAM 介导外膜易位酶(TOM)核心复合物组装的分子机制^[11]。

首先,研究者选择了利用哺乳动物细胞来研究酵母来源 TOM 组装机制,巧妙地排除了酵母内源 SAM 会产生的干扰作用。然后,在共表达 SAM 组件的 293F 细胞体系中依次添加表达 TOM 各个组件,逐渐重现出 TOM 组装的过程,最终将一个瞬时的反应分隔开,并捕捉到多组稳定的组装中间体复

合物。由此克服了困扰蛋白质结构研究领域多年的无法捕获瞬态中间物的难题。得到中间体复合物蛋白样品后,研究者利用单颗粒低温电镜技术首次解析了两个重要中间态的高分辨三维结构,即图2所示^[11]。并以此对SAM复合体组装以及释放TOM的分子机制进行了补充:在TOM组装过程中, Tom5和Tom6促进了SAM中Tom40的形成, Tom7可能与Sam50发生冲突,并使SAM复合物脱离Tom40/Tom5/Tom6(图3)^[11]。

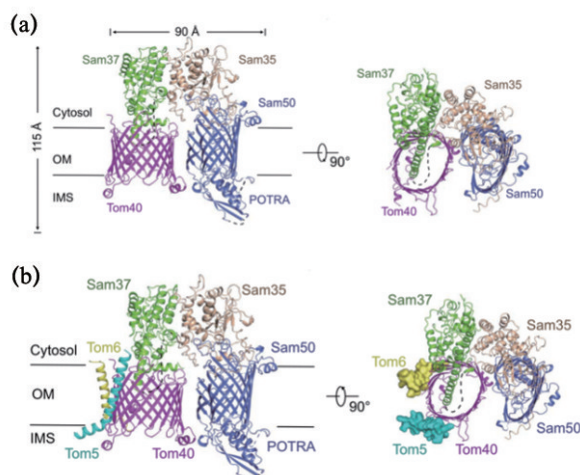


图2 TOM转位酶复合体组装中间态的三维结构

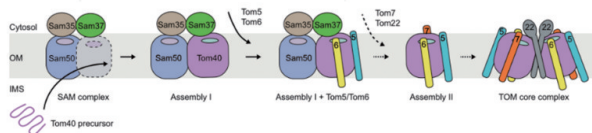


图3 TOM转位酶复合体的组装

该研究对于揭示TOM组装过程无疑是巨大进步,为线粒体蛋白生物合成提供研究基础。利用这种哺乳动物细胞系统,现在可以对TOM和SAM亚基进行其他结构导向的突变分析;未来,研究计划对SAM本身的组装和TOM-SAM超复合物的结构阐明进行研究。

1.3.2 叶绿体超分子复合体结构解析

含氧光合作用将太阳能转化为化学能并产生分子氧,这两者对于维持地球上几乎所有生命形式都不可或缺。光反应由光系统I(PSI)和光系统II(PSII)驱动,催化了2种类型的光合电子传递——

线性电子传递和循环电子传递(LET and CET)。在CET中,电子通过PSI运输到铁氧还蛋白(Fd),并返回到质体醌(PQ)池和PSI,在类囊体膜上产生质子梯度用于ATP合成,而不产生NADPH。PSI介导的CET具有平衡ATP/NADPH的需求变化以及调节光合机制应对环境变化的能力。叶绿体NADH脱氢酶样复合体(NDH)依赖PSI环式电子传递是主要的途径之一。然而,这种CET蛋白机制分子功能的确切结构基础仍不清楚。

2021年12月8日,中国科学院植物研究所与浙江大学联合,在《Nature》上发表题为“Architecture of the chloroplast PSI-NDH supercomplex in *Hordeum vulgare*”的文章^[12],报道了一个来自大麦的PSI-NDH超复合体的低温电子显微镜结构,该复合体是目前高分辨率解析的最大高等植物叶绿体超分子复合体。研究者利用低温电子显微镜(cryo-EM)对大麦叶绿体PSI-NDH超复合体的结构进行了研究,揭示了PSI-NDH超复合体在被子植物中介导CET的具体结构机制。PSI-NDH超复合物的尺寸约为 $290 \times 350 \times 140 \text{ \AA}$ (0.1nm),分子量约为1.6 MDa,包含55个亚基:25个来自NDH,30个来自两个PSI-LHCI。研究者揭示了PSI中关键亚基以及叶绿体中10个特有NDH亚基的位置和结构特点(图4为该研究解析上的蛋白结构^[12]),同时也揭示了亚基之间的相互作用部位和复合体组合机制。

基于对结构的解析,研究者提出了PSI-NDH介导的CET模型^[9]:PSI产生的电子通过Fd转移到NDH以还原质体醌;然后来自还原PQ的电子通过Cyt b6f和质体蓝素(PC)转移回PSI,完成CET通路。这在不降低NADP⁺的情况下产生质子动力,从而平衡ATP和NADPH的产生比例。由此推断,叶绿体NDH是一种Fd依赖的PQ还原酶,而不是NADH脱氢酶。

该研究对于理解被子植物进化过程中适应陆地光环境改变机制具有重要意义,对于研究如何提高农作物光合作用和CO₂固定效率,以及植物对光环境适应水平提供了一定基础。

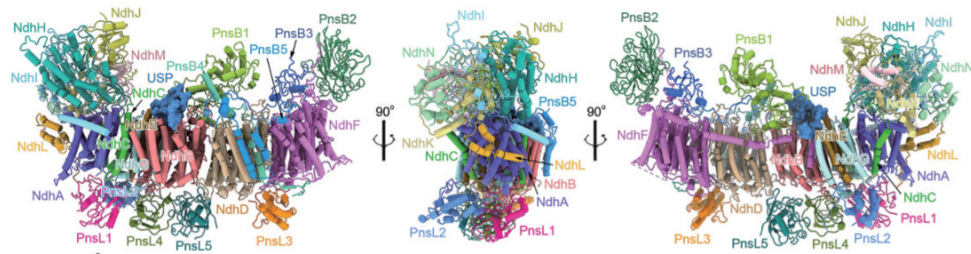


图4 大麦NDH复合体的结构

2 以CO₂为原料从头合成淀粉

1965年9月17日,世界上第一个人工合成的蛋白质——牛胰岛素在中国诞生。时隔多年,中国科学家在合成生物学方面又取得了颠覆性突破——首次用CO₂作为原料不依赖植物光合作用合成了淀粉。2021年9月24日,由中国科学院天津工业生物技术研究所主导完成的重大科技突破进展成果论文在《Science》发表,从而为从CO₂到淀粉生产的工业车间制造“打开了一扇窗”^[13]。淀粉是食品和动物饲料的主要热量成分,也是重要的工业原料。

绿色植物中的淀粉合成涉及约60个步骤和复杂的调控。尽管人们已经做了很多努力来提高植物淀粉的产量,但光合作用的低效和淀粉生物合成的复杂性仍然是提高产量的障碍。相比之下,合成生物学的长足进步使得人工固定CO₂合成淀粉成为可能。受光合作用核心原理的启发,人们开发出了特殊的化学催化剂,可以从太阳能和水中更有效地提供电子或氢,从而将CO₂转化为简单的化学物质^[14]。在这项研究中使用了一种化学CO₂还原催化剂,该催化剂可产生还原单碳(C1)单元,作为无细胞淀粉合成化学酶途径的输入。

首先,研究者利用计算机模拟算法,从甲酸或甲醇起草了2条简洁的淀粉合成路径。从原理上讲,以甲酸或甲醇为桥接中间体的CO₂可以通过9个核心反应合成淀粉(图5)^[13]。

与经过数亿年选择而进化出的兼容性自然途径相比,计算设计的途径包含了不同环境中的酶,因此往往产生不可预测的相互作用导致酶活性阻

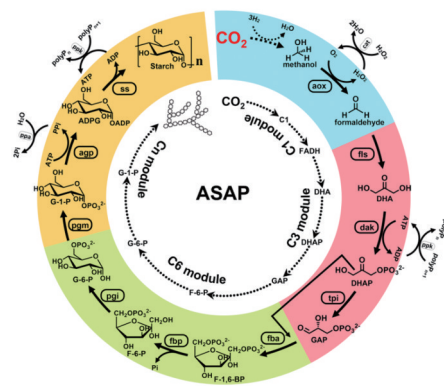


图5 人工淀粉合成代谢途径的设计和模块化组装

碍。为了克服这些问题,研究者采取了模块化组装和替代的策略。2种淀粉合成途径被分成多个易于管理的模块,包括C1模块(用于甲醛生产)、C3模块(用于甘油醛3-磷酸生产)、C6(用于葡萄糖-6-磷酸生产)和Cn(用于淀粉合成)。将模块分区确定好后,进行多次模块替代优化,使得各模块之间可以上下承接。这个过程看似简单,实则非常复杂,经过不断尝试,研究者克服了热力学困难、辅助因子的抑制效应、不同酶之间的活性不平衡等问题。最终,通过组装和替换由31个生物的62种酶构成的11个模块,建立了人工淀粉合成代谢途径ASAP 1.0,并且通过同位素标记实验检测了ASAP 1.0的主要中间体和目标产物,验证了该途径对甲醇合成淀粉的全过程。

在建立ASAP 1.0之后,研究者试图通过解决潜在的反应瓶颈来优化这条路径,以提高合成效率。一方面将通过定向进化提高聚甲醛酶以及腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶的活性,并一方面通过突变了果糖双磷酸酶AMP别构部位降低了ADP

对其的抑制效应。最终构建了具有更高生产效率 ASAP 2.0 流程。到目前为止,所构建的流程是以甲酸或甲醇为原料的。于是,在 2.0 的基础上,融合了之前所构建的 ZnO-ZrO₂ 固溶体催化剂 CO₂ 还原过程^[2],形成了以 CO₂ 为原料的淀粉合成路径。并且针对 CO₂ 加氢的不利条件,研究者在 ASAP 3.0 上开发了一种同时存在化学反应单元和酶反应单元的化学酶联反应体系。该体系满足甲醛酶对高浓度甲醛的需求,同时防止其他酶受到甲醛损伤。

天然淀粉中含有 20%~30% 直链淀粉和 70%~80% 支链淀粉,此次研究中,该团队为生产出与植物来源相似的淀粉。在 ASAP 3.1 中引入了创伤弧菌的淀粉分支酶,以合成支链淀粉。通过检测,该化学酶法合成淀粉的速率达到 22 nmol/(min·mg),比玉米卡尔文循环合成淀粉的速率高 8.5 倍。

3 新冠病毒中和抗体

3.1 SARS-CoV-2 基本结构

COVID-19 爆发以来,已在全球范围内造成大流行。SARS-CoV-2 呈颗粒状,内部为单股正链 RNA,外被 4 种结构蛋白,包膜表面最重要的是 Spike 刺突蛋白(图 6)^[15]。S 蛋白进入细胞后被胞内的蛋白酶切割成 S1 和 S2 两个亚基,S1 包含 N-端结构域(N-terminal domain,NTD)和受体结合结构域(receptor binding domain,RBD),负责识别宿主细胞表面受体,介导病毒入侵;S2 包含 1 个融合肽(fusion peptide,FP)、2 个七肽重复序列(heptad repeat region,HR)HR1 和 HR2 以及 1 个跨膜结构域(transmembrane domain,TMD),负责病毒与细胞的融合^[15]。

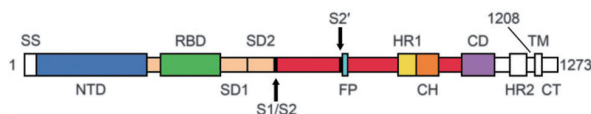


图 6 Spike 蛋白结构

3.2 SARS-CoV-2 主要变异株

SARS-CoV-2 在多个国家广泛传播,不断发生变异形成新的感染力更强的突变株,根据 WHO 的

报告,目前有 5 种新冠变异株值得关注:(1) α 变异株(B.1.1.7),其 S 蛋白在 D614G 和 N501Y 位点发生突变,传播力较原毒株显著增加^[6];(2) β 变异株(B.1.351),其 S 蛋白在 N501Y、E484K、K417N 等位点发生突变,增强了病毒的感染力、传播力和免疫逃逸能力^[7];(3) γ 变异株(P.1),突变位点与 β 变异株相似,具有相似的免疫逃逸能力和较高的二次感染概率^[8];(4) δ 变异株(B.1.617.2),新增了 3 个突变位点 L452R、T478K 和 P681R,免疫逃逸和传播能力大大增强^[9];(5) Omicron 变异株(B.1.1.529),S 蛋白上共发生了约 30 个位点突变,其中有 15 个突变发生在 S 蛋白的受体结合域 RBD(receptor-binding domain),猜测可能会增强病毒侵染力、传播力、毒力^[20]。

3.3 SARS-CoV-2 中和抗体类型

鉴于 COVID-19 的流行现状,国内外各大制药公司和研究人员通力合作,开展针对新冠病毒肺炎的药物研发。中和抗体通过竞争结合来影响 Spike 蛋白和宿主细胞膜表面受体血管紧张素转化酶 2 (ACE2) 的相互作用,能有效阻 SARS-CoV-2 侵染细胞,在临床上已经取得显著疗效^[21-22]。目前临床上常用的治疗性中和抗体主要靶向 S 蛋白 RBD 的识别表位,通过阻断 RBD 与 ACE2 的结合来发挥中和效应,实现抗病毒作用^[23]。自然状态下 S 蛋白呈三聚体结构,Barnes 团队为了确定抗体如何与刺突蛋白中的处于开放(向上)和封闭(向下)构象中的 RBD 相互作用,解析了 8 个 SARS-CoV-2 中和抗体-RBD 蛋白复合物的结构,将中和抗体分为 4 类:(1) 由 VH3-53 基因编码,带有一段短的 CDRH3 片段,只能结合 S 蛋白三聚体中向上构象的 RBD,可阻断 ACE2 的结合。(2) 能够同时结合向上和向下构象的 RBD 以及与临近的 RBD 相互作用,可通过直接竞争阻断 ACE2 和 RBD 结合。(3) 结合 ACE2 以外的位点,可在空间上干扰 ACE2 和 RBD 的相互作用,与前 2 类抗体联用可防止免疫逃逸。(4) 仅结合向上构象的 RBD 但不阻断与 ACE2 结合,这类抗体通过识别 S 蛋白保守区域的抗体表位来发挥中和效应,对病毒变异导致的免疫逃逸具有更好的耐受性^[24]。

3.4 COVID-19中和抗体药物

国内外新冠病毒中和抗体药物研发进展快速,目前已有多个产品在临床上表现出良好疗效。2021年6月,日本宣布正式批准再生元公司的抗体鸡尾酒疗法 REGN-CoV2上市,REGEN-COV2分别包含 600mg casirivimab 和 imdevimab (REGEN-COV)2个新冠病毒中和单抗,可非竞争性地结合 RBD的不同表位,屏蔽 RBD与 ACE2结合而阻止病毒进入细胞,同时降低病毒耐药。III期临床试验结果表明,REGN-CoV2可降低 70%的住院或死亡风险,并且对包括印度 Delta 变异毒株、巴西 Gamma 变异毒株及南非 Beta 变异毒株等具有显著的保护效力,且不会增加新冠病毒变异风险^[25]。

2021年1月21日,礼来制药公司公布了新冠病毒中和抗体 JS016(LY-CoV016)和 LY-CoV555 联合疗法治疗轻中度新冠肺炎患者的积极效果,这 2株 SARS-CoV-2 中和抗体分别由礼来制药与 Ab-Cellera 公司,上海君实生物与中国科学院微生物研究所从 COVID-19 康复者 B 细胞中筛选获得,经过 III 期临床发现,联合疗法降低了患者的病毒载量,减轻了症状,并降低了新冠肺炎相关住院率和急诊就诊率,美国食品药品监督管理局(FDA)为该疗法颁发了紧急使用授权^[26]。

2021年5月,葛兰素史克(GSK)与 VIR 生物技术公司联合研发的 SARS-CoV-2 中和抗体 VIR-7831 成功获得 FDA 紧急使用授权。临床数据表明,VIR-7831 同时具有阻断病毒进入健康细胞、清除受感染细胞的潜力,与安慰剂组相比,VIR-7831 治疗组患者住院或死亡减少了 85%。VIR-7831 来源于 SARS 康复患者体内分离的抗体 S309,能够与 SARS-CoV-2 和 SARS-CoV-1 共有的一个表位结合,表明该表位高度保守,这可能使免疫逃逸和抗药性的产生更加困难。VIR-7831 也被设计用于在肺部实现高浓度,以确保最佳穿透受 SARS-CoV-2 影响的气道组织,并具有延长的半衰期^[27]。

国内首个获批的 SARS-CoV-2 中和抗体药物是由腾盛博药公司联合清华大学,深圳市第三人民医院研发的联合治疗药物安巴韦单抗注射液(BR11-196)及罗米司韦单抗注射液(BR11-198)^[22]。

III 期临床试验结果显示,该抗体组合药物能够降低 78% 的住院和死亡率,且给药组在治疗 28 d 后实现零死亡,对照组 8 例死亡。随着新冠病毒变异株的不断出现,更高效、更广谱的中和抗体疗法已经成为一种研发趋势,但再生元公司的组合抗体疗法对 Omicron 变异株的测试发现失去效力,意味着需要研发出能够靶向 S 蛋白保守位点的中和抗体才能应对不断突变的毒株。

4 CRISPR 基因编辑疗法的临床应用

基因编辑技术通过对细胞 DNA 序列进行精准操作从而影响基因表达,决定细胞命运和改变生物体特征,尤其是 CRISPR 技术,自 2012 年问世以来,已经连续多年入选《Nature》年度十大突破,并在 2020 年摘得诺贝尔化学奖桂冠。经过全世界研究人员的积极探索,CRISPR 基因编辑技术取得了长足进步,从开发更有效的基因编辑工具,到治疗癌症和遗传疾病,CRISPR 开始从一个基础研究工具成功迈入临床应用。

4.1 CRISPR-Cas9 技术治疗镰状细胞病和 β -地中海贫血

输血依赖性 β -地中海贫血(Transfusion-dependent β -thalassemia, TDT)和镰状细胞病(sickle cell disease, SCD)是典型的单基因病,是由于 β 珠蛋白单基因突变而引起血红蛋白生成障碍,严重可危及生命,每年约有 6 万人确诊 TDT、30 万人确诊 SCD。TDT 是由于血红蛋白 β 亚基基因 HBB 突变导致 β 样血红蛋白合成减少、 α 和 β 样血红蛋白失衡、红细胞生成无效引起的;SCD 是由于 HBB 基因的第六位氨基酸上发生点突变,谷氨酸被缬氨酸替代引起的,其共同特点是由于 β 珠蛋白基因的缺陷使血红蛋白中的珠蛋白肽链有一种或几种合成减少或不能合成,从而产生无效的血红蛋白。TDT 和 SCD 均是由于 β 珠蛋白单基因突变所致,以往的研究发现 γ 珠蛋白与 β 珠蛋白功能相似,胎儿期血红蛋白由 α -珠蛋白和 γ -珠蛋白组成,随着 β -珠蛋白和成体血红蛋白的产生, γ -珠蛋白在产后降低,成年后就会沉默不再表达。因此,如果能够重新激活

γ -珠蛋白基因的表达,就能够弥补 β -珠蛋白的缺失,从而缓解或治愈这2种遗传性贫血症。BCL11A是红细胞 γ 珠蛋白表达的阻遏物。因此,下调BCL11A表达,激活 γ -珠蛋白可增加血红蛋白含量。如图7^[28]所示,研究人员从健康供体获取CD34⁺造血干细胞,然后通过电穿孔导入特异性靶向BCL11A增强子的CRISPR-Cas9基因编辑系统,特异性靶向沉默BCL11A基因,重新激活胎儿血红蛋白的产生。研究人员各对一名TDT和SCD患者回输经过CRISPR-Cas9编辑BCL11A增强子的自体CD34⁺细胞,治疗18个月后发现患者骨髓和血液中等位基因编辑水平仍然较高,且循环血液中99%的红细胞表达了血红蛋白,患者不再需要依赖输血治疗。David Williams团队利用慢病毒载体递送的RNAi技术治疗镰刀状细胞贫血症也在临床取得显著成效,他们利用BCH-BB694慢病毒介导的RNAi在体外特异性敲低CD34⁺细胞的BCL11A基因的mRNA,再回输到患者体内,临床试验表明治疗6个月后,6位患者的红细胞血红蛋白表达被成功诱导,SCD的临床表现减缓或消失^[29]。CRISPR-Cas9技术实现了精准靶向的基因治疗,为未来基因缺陷性疾病的成功治愈提供了可能。

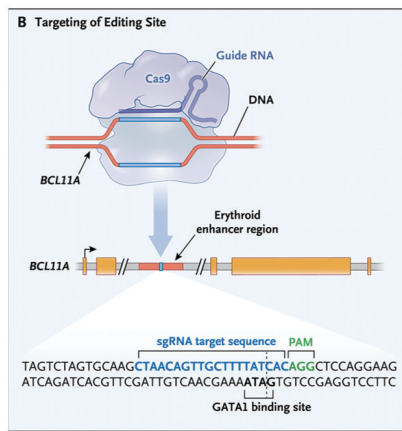


图7 将CRISPR-Cas9引导至BCL11A红系特异性增强子区域的SgRNA的靶向编辑位点^[29]

4.2 CRISPR注入血液治疗肝病

转甲状腺素蛋白淀粉样变性(又称ATTR淀粉样变性)是一种危及生命的疾病,其特征是错误折叠的转甲状腺素蛋白(transthyretin, TTR)在神经和

心脏内进行性累积。TTR是由肝脏产生的蛋白质,携带血液中的甲状腺激素和维生素A,但在ATTR患者淀粉样变性中,蛋白质变得不稳定、分解并沉积在心脏、周围神经、肾脏、胃肠道和眼睛等器官中,诱发心肌病和多发性神经病。NTLA-2001是一种体内基因编辑治疗剂,它利用脂质纳米颗粒(LNP),包装靶向TTR基因的CRISPR基因编辑系统,以静脉输注给药的方式,旨在通过降低血清TTR浓度的方式治疗ATTR淀粉样变性。临床前研究表明,单次给药可持久敲除TTR,且不良反应较轻,在第28天时,单剂量0.3 mg/kg的NTLA-2001治疗后,ATTR患者血清中的转甲状腺素蛋白水平(TTR)平均下降87%,在第28天TTR降低幅度最大可达96%,并且具有剂量依赖性反应(图8)^[30]。LNP是一种短暂表达系统,可使CRISPR/Cas9成功编辑目标基因后较快从胞内清除,减少在胞内的停留时间以及相关的安全问题,这是迄今为止最有效的CRISPR/Cas9全身递送方法。

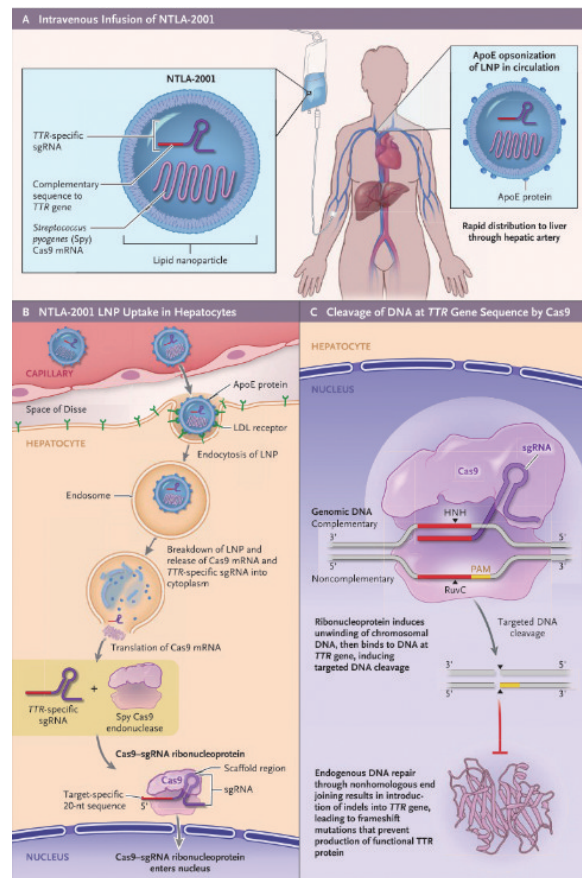


图8 NTLA-2001的作用机制

4.3 基因编辑治愈先天性失明

Leber 先天性黑蒙 10 型(LCA10)是一种常染色体隐性遗传病,由 *CEP290* 基因中的双等位基因功能丧失突变引起。通常出现在婴儿早期,患者表现出严重的视锥营养不良,而且视力低下,甚至完全丧失。由 *CEP290* 基因编码的蛋白质定位于连接纤毛的光感受器,并且是外部区段再生和光转导所必需的。最常见的 LCA10 突变位点是 IVS26,位于内含子 26 内的腺嘌呤至鸟嘌呤点突变,其突变产生新的剪接供体位点,导致转录提前终止。如图 9^[31]所示,Editas Medicin 公司开发了一种名为 ED-IT-101 的基因编辑策略,使用 AAV5 载体通过视网膜下注射将 saCas9 和 *CEP290* 特异性 gRNA 递送至感光细胞,通过双 gRNA 分别靶向突变内含子区域的上下游,直接将突变内含子区域整体删除或倒位,从而恢复 *CEP290* 基因的正常表达^[31]。临床治疗结果显示,在长达 15 个月的时间里,未观察到严重不良事件或剂量限制性毒性,受试者对这种基因编辑治疗耐受性良好,并且还可能有改善患者的视力。能够在人体内编辑基因的意义非常深远,这将为众多遗传病患者提供前所未有的新的治疗选择。

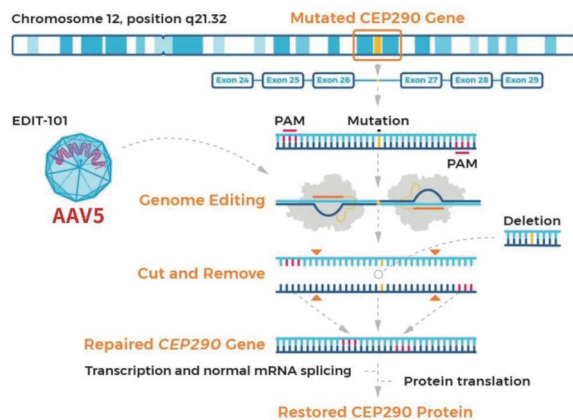


图9 EDIT-101 编辑策略示意

5 体外胚胎培养

生命的起源是一个永远不会过时的话题。其中对于人类在内的哺乳动物胚胎发育的研究和探索一直是生物学领域吸引眼球的前沿热点。哺乳动物的早期胚胎发育由具有全能性的受精卵(合

子)开始,经过早期卵裂,形成包括内细胞团和滋养层在内的囊胚。随着胚胎着床,来自内细胞团的上胚层(EPI)一部分发展成胚胎上胚层并最终分化为包括胚胎外胚层、内胚层、中胚层在内的胚胎,另一部分发育为羊膜;来自内细胞团的下胚层(原始内胚层,PE)和滋养层(TE)最终分别发育为卵黄囊和胚外组织(如胎盘)^[32]。小鼠是研究胚胎发育的常用模型,但随着研究的深入,越来越多的研究表明小鼠和人类在发育上存在许多区别,因此,构建人源胚胎模型是研究人类胚胎发育的必经之路。由于人类胚胎的获取在伦理道德、基础理论和技术手段等方面存在诸多限制,因此目前人们对于早期胚胎发育的了解非常有限。

体细胞重编程技术和体细胞核移植技术的发展和运用使得利用多能干细胞在体外构建人类胚胎模型成为可能,从而达到模拟实体胚胎发育从而突破之前受限的研究。然而,经过体细胞来源的多能干细胞此前只能构建一些简单的模型,人类胚胎模型还没有突破。2021年,该领域取得了重大突破,3月两个团队分别报道了基于人类胚胎干细胞或重新编程的成体细胞制成的胚胎模型,5月国际干细胞研究协会(International Society for Stem Cell Research, ISSCR)修改了关于“14天规则”的限制^[33-34]。可以预见,随着“14天规则”的打破,未来一段时间胚胎研究将迅速发展,同时也必将带来一些争议。

5.1 首次构建完整的人囊胚期胚胎模型

近年来,随着体细胞重编程技术的不断进步,研究者开始使用人类干细胞构建早期胚胎发育模型。然而由于人早期胚胎具有多种谱系,此前的研究仅限于上胚层细胞。由于缺乏完整的人类胚胎模型,研究者难以窥视胚胎早期发育的全貌^[35-41]。

2021年3月17日,《Nature》杂志发表了2篇同期文章,报道了世界首例人造人类胚胎样结构的构建。其中来自美国德克萨斯大学西南医学中心的吴军课题组利用人多能性干细胞(pluripotent stem cells)体外分化诱导构建人类囊胚(吴军等将其命名为 Blastoid),来自澳大利亚蒙纳士大学的 Jose M. Polo 课题组成功地将人类成纤维细胞重编程为

一种三维细胞结构(Polo 等将其命名为 iBlastoids)。此次突破的关键在于:(1) 两者都实现了干细胞分化囊胚中完整的胚层谱系;(2) 都使用了 3D 球状体培养新技术 AggreWell^[33-34]。

吴军团队在体外人造胚胎模型上深耕数年。此次类囊胚的构建基于其团队于 2019 年在《Cell》杂志上报道的首次构建小鼠类囊胚模型。吴军团队利用拓展多能干细胞(EPS)的分化潜能,通过建立一个 3D 分化系统进行谱系分裂和自组织构建囊胚样结构^[42]。尽管该领域竞争异常激烈,直达 2 年后才出现人完整胚胎模型的构建,其主要原因是人囊胚比小鼠更复杂。小鼠囊胚的谱系有 2 种,分别为外滋养层(TE)和内细胞团(ICM),而人囊胚的谱系有 3 种,可分为上胚层、滋养层和下胚层。近几年的研究表明人原始态胚胎干细胞(naive ES cells)能够同时分化出以上 3 种组成囊胚期胚胎的谱系。吴军团队选取 WIBR3 人胚胎干细胞,使用滋养层干细胞分化培养基(TSM)培养后转为下胚层分化培养基(HDM)连续培养(或先用 HDM 培养后转为 TSM)验证了 nESc 具有分化 3 种谱系的可塑性。然而将 nESc 转为 3D 培养后并没有腔体结构的产生。在将 TSM 换为滋养层分化培养基(TDM)后,该团队最终开发出一种 3D 顺序分化策略(图 10)^[43],使原始人类干细胞能够在体外自组织成囊胚样结构,从而获得人造人类胚胎模型,将其命名为 blastoid(类囊胚)。该团队使用免疫荧光和 RT-PCR 检测类囊胚分化后的谱系,表明“人类囊胚”的形态、大小、细胞数量以及不同细胞谱系的组成和分配方面与人囊胚相似,单细胞转录组测序分析表明类囊胚细胞转录组总体上类似于植入前胚胎的转录组。该工作的亮点在于只使用一种初始多能细胞,通过让其自我分化与组装,从而构建出具备 3 种细胞类型的囊胚。此外,该团队构造的类囊胚

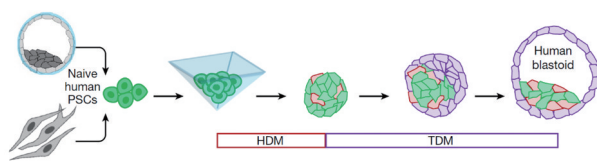


图 10 原始人 PSCs 经过 3D 顺序分化形成人类囊胚示意^[43]

是由均质化的细胞一步步发育成囊胚,而不是由不同细胞去构建,其过程接近真实胚胎发育的过程,对于研究人类早期胚胎发育具有重要的指导意义。

Polo 团队的报道同样基于之前的工作。2020 年《Nature》报道了该团队利用单细胞转录组学联合表观组学揭示人皮肤成纤维细胞重编程的细胞命运调控机制。在前期工作中,研究者发现 2D 培养的重编程后的成纤维细胞产生了类似外胚层细胞、滋养外胚层细胞和内胚层细胞转录水平特征的细胞群,随后针对关键标记的免疫染色分析证实了 2D 培养系统包含异质细胞群。研究者选取了和吴军团队相同的 AggreWell 进行 3D 培养这些混合细胞群,进一步研究各种细胞群的相互影响,意外发现具有空腔的球体结构产生。为了明确该结构的理化性质,该团队首先使用免疫组织化学染色对其进行细胞空间定位。分析结果表明该结构具有类似囊胚腔的空间,并且各胚层谱系的分布位置在空间上是一致的。接下来的单细胞转录组测序表明,与此前公开的 2 个人胚胎数据集相比,成纤维细胞诱导产生的类囊胚与人胚胎具有相似的转录组特征。上述结果表明,成纤维细胞重编程获得的空腔结构在结构和功能上与囊胚相似,因此 Polo 等将它们命名为“iBlastoids”(诱导胚状体)。该工作的亮点在于,不同于此前吴军团队使用胚胎干细胞体外分化组成囊胚的谱系来构建小鼠囊胚样模型,Polo 团队通过成体细胞重编程来构建囊胚样模型(图 11 为该研究路线图^[34])。完全由体细胞来源的囊胚模型由于不直接来源于人类胚胎,受到的限制显然会更多。此外,重编程意味着可以使用的细胞来源更为广泛,具有更大的应用前景。

上述 2 项研究是人体外胚胎构建上的重大突破,对于人类早期胚胎发育的研究具有重大意义。需要指出的是,2 个团队都强调其构建的仅仅是人类胚胎的模型,并不应该被视为真正的胚胎。尽管 2 个团队都成功构建了人类胚胎模型,但囊胚形成的诱导效率比较低,只有 20% 左右。此外,单细胞转录组分析结果提示囊胚样结构中还包括了一些在真实囊胚中并不存在的细胞类型。令人振奋的是,2021 年 12 月 2 日《Nature》报道了一个来自奥地

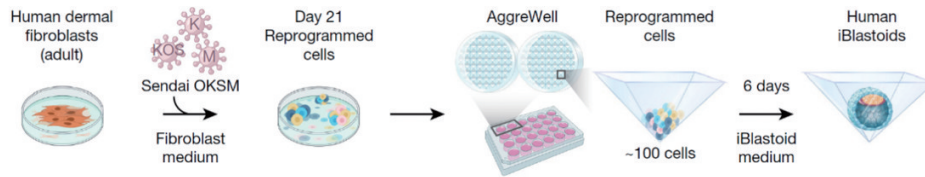


图 11 成纤维细胞重编程构建诱导类囊胚

利的团队,通过抑制原始胚胎干细胞中的TGF- β 、Hippo、ERK信号通路,形成类囊胚的成功率超过70%,同时,这种方法形成的囊胚模型与正常的人类囊胚内细胞的相似度超过97%,几乎完美地模拟了人类真实囊胚的发育过程^[43]。

5.2 体外胚胎培养突破14 d

在2021年5月年国际干细胞研究学会(ISSCR)发布新的细胞培养指南之前,该组织建议实验室饲养的胚胎不能超过14 d,受到大部分国家和地区的认可和法律保护,即广为人知的“14天准则”。然而到目前为止,利用干细胞构建的一系列人类胚胎模型,如前文提到的类囊胚没有经历体外受精的过程,因此“14天准则”不适用于这些胚胎模型。体外胚胎培养的时间接近14 d十分困难,但随着科技的发展,在技术上突破14 d逐渐变为可行。

2021年3月17日,以色列魏茨曼科学研究所的Jacob H. Hanna团队在《Nature》上在线报道通过体外构建人造子宫,在体外模拟胚胎发育,并且在胚胎培养的时间上取得了突破^[44]。该团队创建了一个“滚筒培养系统”(图12)^[44]。作为人造子宫,首次将实验室培养小鼠胚胎的时间从第5.5天延长至第11天(大致相当于人类胚胎的第13至30天),且胚胎在人造子宫培育过程中发育正常。此外,组织学、分子和单细胞RNA测序分析证实,小鼠在子宫外培养的胚胎准确重演了子宫内发育的历程^[44]。此项工作的亮点在于创造了一个前所未有的体外培养工具,能够在体外培育并观察胚胎发育的过程,完成了近百年来发育生物学核心问题之一,即如何在体外观察受精卵发育为成体做出突破性的贡献。

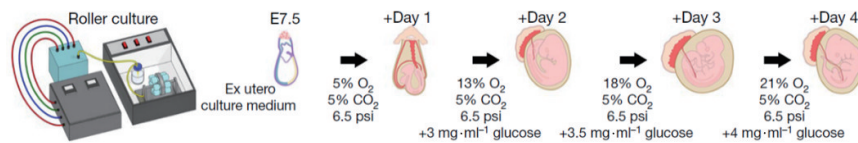


图 12 用于小鼠晚期胚胎生长至高级器官发生的子宫外培养系统

2021年5月,国际干细胞研究学会(International Society for Stem Cell Research, ISSCR)发布了新指南,放宽了实验室培养人类胚胎不超过14 d的规定,允许科学家探测在14 d之后发生的胚胎事件。但需要指出的是,ISSCR在最新的指南中指出,模型胚胎必须受到监督,培养的时间应当不超过达到实验目的最低要求^[45]。尽管“14 d准则”的打破会带来社会各界的争论,对于科学研究而言,新的干细胞指南为人类胚胎研究带来了更宽松的环境。

6 脑计划、迷幻药与精神疾病治疗

6.1 脑计划

2021年是美国脑计划的第9年和中国脑计划正式启动的元年。旨在解密人类大脑细胞图谱、神经回路和连接组、特定功能神经元和脑区的精准定位以及由此建立脑机通信,有望在理解脑——人类自身中最复杂最精细的器官的结构与功能等方面带来革命突破,为理解诸多人类神经精神类疾病的发生发展的机制和发展精准防治策略带来底层源

头助力。脑科学以及相关交叉学科的技术、研究理念等也必然随着各国脑科学的进展发生重大甚至颠覆性的变革。因为篇幅原因这里不一一涉及,但是其重要性和如何优化组织等都值得广泛深入的探讨。

与此同时,精神疾病一般称为精神障碍,是以临床显著的个体认知、情感调节或行为紊乱为特征的一种综合征,反映了个体心理、生理、发育过程中相关的精神功能障碍^[46]。多项证据表明,世界范围此起彼伏的新冠病毒疫情实际上在各种人群中都增加了精神类疾病的发病率。一项大规模全国性研究结果显示,中国精神疾病患者年患病率约为9.3%,终身患病率约为16.6%^[47]。精神疾病损害了患者自身的健康和生活,并对家庭、社区和经济等产生严重负面影响。已有临床前和临床证据表明,迷幻药如麦角酸二乙胺(LSD)、赛洛西宾(裸盖菇素)和3,4-亚基二氧甲基苯丙胺(MDMA),对于包括抑郁症、创伤后应激障碍(PTSD)在内的多种精神类疾病有一定的疗效。然而很少有大型、严格的试验表明它们是有效的^[48-49]。2021年该领域取得了重大进展,同时也带来了许多关于致幻剂药用以及商用的诸多争议^[50-51]。

6.2 PTSD 迎来突破性疗法

PTSD(创伤后应激障碍)是一种在遭遇人际暴力、战斗、危及生命的事故或自然灾害等极端创伤性事件后可能发展的创伤后心理压力紧张综合症^[46]。作为一种常见的衰弱性疾病,PTSD每年影响数亿人的生活,造成无法估量的社会和经济损失。选择性5-羟色胺再摄取抑制剂(SSRIs)是目前经过FDA批准治疗PTSD的一线疗法,然而该药物对40%~60%的患者无效^[52]。此外,作为治疗PTSD的金标准,专注于创伤的心理治疗是同样对许多参与者没有反应。因此,迫切需要新的经济有效的疗法^[53]。

MDMA是摇头丸的一种主要成分。在动物模型中,MDMA已被证明可以增强恐惧记忆的消除,调节恐惧记忆的重新巩固(可能通过催产素依赖机制)^[54-55]。此前6项MDMA辅助治疗PTSD的2期临床试验的汇总分析显示MDMA具有一定的安全性

和有效性,显示MDMA治疗PTSD具有潜在的效果^[56]。

2021年5月10日,《Nature Medicine》在线发表了Mitchell团队与FDA合作开展的一项多中心、随机、对照的3期临床研究结果,评估了重度创伤后应激障碍个体中MDMA辅助治疗的有效性和安全性。参与者在受控的临床环境中,在训练有素的治疗团队在场的情况下,被给予3剂MDMA或安慰剂。结果表明,与目前的一线药理学和行为疗法相比,MDMA辅助疗法具有显著减轻了PTSD患者的症状。MDMA辅助治疗PTSD的3期临床取得的结果是令人鼓舞的,是将迷幻药物转变为主流治疗方法的一个里程碑。

6.3 赛洛西宾与抑郁症治疗

赛洛西宾是一种活性致幻剂,此前有一些研究表明,赛洛西宾可以为心理困扰患者带来益处,改变人们在听音乐时的情绪波动^[57]。然而,直接将赛洛西宾与治疗抑郁症的一线药物进行比较的研究目前比较少见。

前文提及的SSRIs不仅是PTSD的一线疗法,也是重度抑郁障碍的一线治疗方法;然而该类药物生效时间较长,通常需要数周,并且对一些患者无效^[58]。就安全性和有效性而言,目前常用的SSRIs之一艾司西酞普兰是抗抑郁药物的代表^[58-59]。

2021年4月15日,来自英国伦敦帝国理工学院的Robin Carhart-Harris团队在《The New England Journal of Medicine》上报道其团队设计的一项比较赛洛西宾和艾司西酞普兰的抗抑郁疗效的临床2期试验^[60]。该团队选取长期中重度抑郁患者进行2期双盲随机对照试验,对赛洛西宾和选择性5-羟色胺再摄取抑制剂艾司西酞普兰进行了为期6周的比较。患者以1:1的比例被分配接受2个独立剂量的25 mg赛洛西宾,间隔3周,外加6周的每日安慰剂(赛洛西宾组),或2个独立剂量的1 mg赛洛西宾,间隔3周,外加6周的每日口服艾司西酞普兰(艾司西酞普兰组);所有患者都接受了心理支持以排除实验干扰。该试验表明,在经过选择的患者人群中,赛洛西宾和艾司西酞普兰的抗抑郁疗效无显著差异。

需要注意的是,该研究具有一定的局限性。(1) 实际招募的大多数志愿者是自荐的,而且许多人表达了对赛洛西宾的偏好(相对于艾司西酞普兰)。因此,这是一个经过选择的试验人群,限制了结果的普遍适用性。(2) 试验的患者在族群或社会经济背景方面缺乏多样性。目前已证明致幻剂使人更易受到暗示^[56],并且认为致幻剂的心理效应应具有情境依赖性。换句话说,致幻体验的内容和主观质量受到个人记忆、知觉和用药时环境支持程度的影响^[61]。这些因素的限制表明需要开展规模更大、时间更长的试验来比较赛洛西宾和现有抗抑郁疗法。

7 光学显微技术热点及突破

自然科学的发展离不开仪器设备。在悠久的生命科学研究史中,显微镜扮演了极其重要的角色。随着分子生物学的兴起,当代生命科学前沿领域逐渐将研究范围缩小到细胞范围,在微观尺度上研究细胞与细胞间以及细胞内的生命活动。这些研究的进一步发展受到显微技术发展的制约,在成像的精度、处理的速度上具有很高的要求。因此,显微技术的突破,能够帮助研究者更好地探索生命的奥秘。

2021年,中国科学家在光学显微技术上取得了一系列突破,其中徐涛团队研发的新型干涉单分子定位显微镜和程和平团队研发的第二代微型化双光子显微镜是最典型的代表。

7.1 新型干涉单分子定位显微镜

光的衍射现象限制了光学显微镜的分辨率,直到21世纪超分辨率荧光显微技术的问世打破了这一限制,从而可用于观察精细的亚细胞结构和生物大分子定位的信息^[62]。然而,在纳米尺度观察亚细胞结构乃至单个生物大分子内的结构需要分子水平的显微分辨率,这是一个巨大的难题。

2021年4月1日,中国科学院生物物理研究所徐涛院士团队在《Nature Methods》提出了一种轴向单分子定位成像新技术,并据此研制出新型干涉定位显微镜 ROSE-Z(图 13^[57]),将单分子定位成像的轴向分辨率提升到了纳米尺度^[63]。该工作完善了

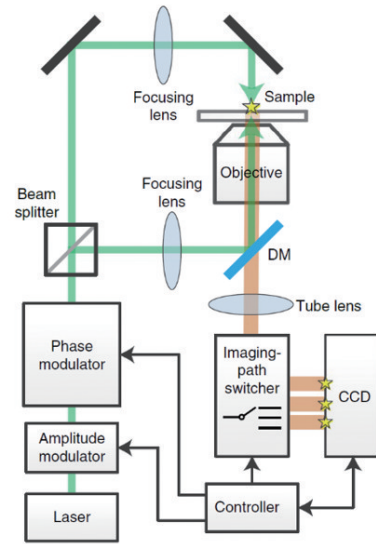


图 13 ROSE-Z 的工作原理

团队于 2019 年在《Nature Methods》首次报道的重复光学选择性曝光 (Repetitive Optical Selective Exposure, ROSE) 的方法^[64]。ROSE 可将 x, y 侧向分辨率突破 3 nm, 此次引入非对称干涉光路, 极大提升了此前方法在轴向的分辨率, 进一步突破了分辨率的极限。自此, ROSE-Z 完成了在 3 个维度上实现了纳米级别的单分子定位, 作为一种简单易用、功能强大的三维成像工具, 具有广阔的应用前景。其定位精度接近 1 nm, 可以满足对某些生物大分子内部结构和动态变化的分析, 为生命科学研究提供了更强大的观测手段。可以预见, 随着这一技术的不断发展, 具有更高时间和空间分辨率的超分辨率成像方法将被开发, 从而进一步推动光学显微镜分辨率的极限。

7.2 第二代微型化双光子显微镜

神经科学的最终目标是在分子、细胞、电路和系统水平上破译神经元信息处理的基本原理。微型荧光显微镜的问世使得对参与自主行为动物的大脑活动和结构动力学的可视化成为可能。其中微型双光子显微镜是神经科学微型荧光显微镜主流解决方案之一, 具有光学切片能力、深度穿透、高空间分辨率和对比度、减少光漂白和光毒性, 以及以单细胞精度结合光遗传学操作的独特能力, 未来将具有更广泛的适用性。然而, 在行为自由的动物中捕捉神经活动仍然是一个挑战^[65]。

2021年1月6日,程和平院士领导的北京大学多学科交叉研发团队在《Nature Methods》上报了该团队合作研发的第二代微型化双光子显微镜FHIRM-TPM 2.0,如图14所示^[66]。此前,该团队于2017年研制出第一代微型化双光子显微镜FHIRM-TPM,并在同年的《Nature Methods》上报了基于FHIRM-TPM首次获取了小鼠在自由行为过程中大脑神经元和神经突触活动的动态图像^[67]。

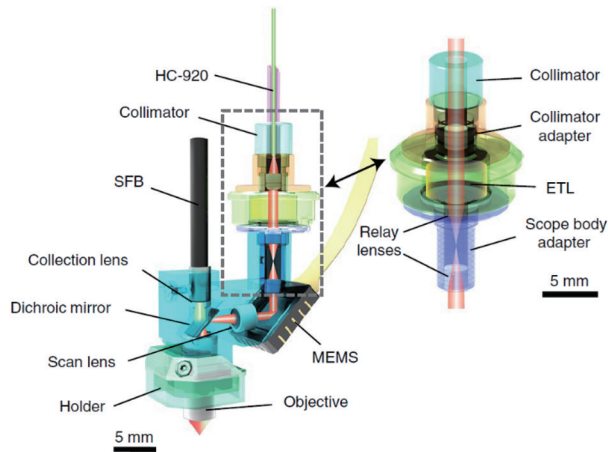


图14 FHIRM-TPM 2.0示意

4年以来,该团队重新设计了微型光学系统,使得FHIRM-TPM 2.0的成像视野相比于第一代的 $150\ \mu\text{m}\times 150\ \mu\text{m}$,扩大至 $420\ \mu\text{m}\times 420\ \mu\text{m}$,如图15^[66]所示,视场放大了7.8倍,工作距离延长到1 mm。同时,通过可拆卸的快速z轴扫描模块(ZSM),FHIRM-TPM 2.0实现了体积成像或多平面成像。另外一个重要的更新在于此次设计的头盔加入了可重复安装和拆卸,该团队通过记录长达几周的时间框架内同一大脑区域的神经元活动来展示其可靠性。

FHIRM-TPM 2.0除了获得可与常规微型单光子显微镜相媲美的视野外,还具有快速容积和多平面成像的能力,可用于探测自由行为动物的三维神经网络功能。重新设计的光学和机械系统方便了头盔的反复安装,从而扩大了微型双光子显微镜在研究学习和记忆、社会互动和恐惧条件作用等范式中的脑动力学,特别是在神经发生和再生、疾病进展和衰老等慢性过程中的适用性。

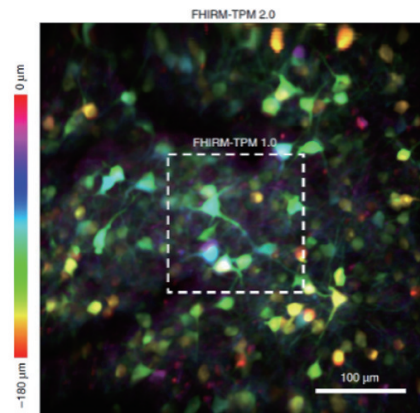


图15 FHIRM-TPM2.0与FHIRM-TPM1.0
视野大小对比

8 结论

生命科学研究的每一个重大突破,都需要长时间的积累。结构生物学、合成生物学、基因编辑、体外胚胎发育、精神类疾病药物开发等研究在近年来持续升温。新冠病毒以及新冠肺炎的治疗在当前严峻的全球疫情下得到了飞速的发展,而生命科学研究的价值在新冠疫情下格外凸显。可以预见,未来生命科学的进展将不断加深人们对自然界及自身的认识,为战胜包括新冠病毒疫情在内的各种人类健康的威胁奠定坚实的理论和物质基础。

值得一提的是,2021年中国科学家在包括结构生物学、新冠病毒、合成生物学、神经科学等领域实现了重大的突破。期待未来中国科学家在更多更广的领域为世界科学进展奉献更多精彩亮点。

参考文献(References)

- [1] Jumpe J, Evans R, Prizel A, et al. Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold[J]. Nature, 2021, 596(7873): 583-589.
- [2] Thomas M C, Chiang C M. The general transcription machinery and general cofactors[J]. Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology, 2006, 41(3): 105-178.
- [3] Buratowski S, Hahn S, Guarente L, et al. Five intermediate complexes in transcription initiation by RNA polymerase II[J]. Cell, 1989, 56(4): 549-561.
- [4] van Dyke M W, Roeder R G, Sawadogo M. Physical analy-

- sis of transcription preinitiation complex assembly on a class II gene promoter[J]. *Science*, 1988, 241(4871): 1335–1338.
- [5] Burley S K, Roeder R G. Biochemistry and structural biology of transcription factor IID (TFIID)[J]. *Annual Review of Biochemistry*, 1996, 65(1): 769–799.
- [6] Dynlacht B D, Hoey T, Tjian R. Isolation of coactivators associated with the TATA-binding protein that mediate transcriptional activation[J]. *Cell*, 1991, 66(3): 563–576.
- [7] Haberle V, Stark A. Eukaryotic core promoters and the functional basis of transcription initiation[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2018, 19(10): 621–637.
- [8] Sandelin A, Carninci P, Lenhard B, et al. Mammalian RNA polymerase II core promoters: Insights from genome-wide studies[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2007, 8(6): 424–436.
- [9] Donczew R, Hahn S. Mechanistic differences in transcription initiation at TATA-Less and TATA-containing promoters[J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2018, 38(1), doi: <https://doi.org/10.1128/MCB.00448-17>.
- [10] Chen X Z, Yin X T, Li J B, et al. Structures of the human mediator and mediator-bound preinitiation complex [J]. *Science*, 2021, 372(6546), doi: 10.1126/science.abg-0635.
- [11] Wang Q, Guan Z, Qi L, et al. Structural insight into the SAM-mediated assembly of the mitochondrial TOM core complex[J]. *Science*, 2021, 373(6561): 1377–1381.
- [12] Shen L L, Tang K L, Wang W D, et al. Architecture of the chloroplast PSI-NDH supercomplex in *Hordeum vulgare*[J]. *Nature*, 2021, doi: 10.1038/s41586-021-04277-6.
- [13] Cai T, Sun H B, Qiao J, et al. Cell-free chemoenzymatic starch synthesis from carbon dioxide[J]. *Science*, 2021, 373(6562): 1523–1527.
- [14] Kim D, Yu S, Zheng F, et al. Selective CO₂ electrocatalysis at the pseudocapacitive nanoparticle/ordered-ligand interlayer[J]. *Nature Energy*, 2020: 1–11.
- [15] Wrapp D, Wang N, Corbett K S, et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation[J]. *Science*, 2020, 367(6483): 1260–1263.
- [16] Volz E, Mishra I S, Chand M, et al. Assessing transmissibility of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 in England[J]. *Nature*, 2021, 593(7858): 266–269.
- [17] Liu Y, Liu J Y, Plante K S, et al. The N501Y spike substitution enhances SARS-CoV-2 infection and transmission[J]. *Nature*, 2021, doi: 10.1101/2021.03.08.434499.
- [18] Sabino E C, Buss L F, Carvalho M P S, et al. Resurgence of COVID-19 in Manaus, Brazil, despite high seroprevalence[J]. *Lancet*, 2021, 397(10273): 452–455.
- [19] Vaidyanathan G. Coronavirus variants are spreading in India—what scientists know so far[J]. *Nature*, 2021, 593(7859): 321–322.
- [20] Thakur V, Kanta Ratho R.OMICRON (B.1.1.529): A new SARS-CoV-2 Variant of Concern mounting worldwide fear[J]. *Journal of Medical Virology*, 2021, 18137: 846–851.
- [21] Cao Y L, Su B, Guo X H, et al. Potent neutralizing antibodies against SARS-CoV-2 identified by high-throughput single-cell sequencing of convalescent patients' B cells[J]. *Cell*, 2020, 182(1): 73–84.
- [22] Ju B, Zhang Q, Ge J W, et al. Human neutralizing antibodies elicited by SARS-CoV-2 infection[J]. *Nature*, 2020, 584(7819): 115–119.
- [23] Shi R, Shan C, Duan X M, et al. A human neutralizing antibody targets the receptor-binding site of SARS-CoV-2[J]. *Nature*, 2020, 584(7819): 120–124.
- [24] Barnes C O, Jette C A, Abernathy M E, et al. SARS-CoV-2 neutralizing antibody structures inform therapeutic strategies [J]. *Nature*, 2020, 588(7839): 682–687.
- [25] Copin R, Baum A, Wloga E, et al. The monoclonal antibody combination REGEN-COV protects against SARS-CoV-2 mutational escape in preclinical and human studies[J]. *Cell*, 2021, 184(15): 3949–3961.
- [26] Gottlieb R L, Nirula A, Chen P, et al. Effect of Bamlanivimab as monotherapy or in combination with etesevimab on viral load in patients with mild to moderate COVID-19: A randomized clinical trial[J]. *Journal of the American Medical Association*, 2021, 325(7): 632–644.
- [27] Pinto D, Park Y J, Beltramello M, et al. Cross-neutralization of SARS-CoV-2 by a human monoclonal SARS-CoV antibody[J]. *Nature*, 2020, 583(7815): 290–295.
- [28] Esrick E B, Lehmann L E, Biffi A, et al. Post-Transcriptional Genetic Silencing of BCL11A to Treat Sickle Cell Disease[J]. *The New England Journal of Medicine*, 2021, 384(3): 205–215.
- [29] Meisel R. CRISPR-cas9 gene editing for sickle cell disease and β -thalassemia [J]. *The New England Journal of Medicine*, 2021, 384(23): e91.
- [30] Gillmore J D, Gane E, Taubel J, et al. CRISPR-Cas9 in vivo gene editing for transthyretin amyloidosis [J]. *The New England Journal of Medicine*, 2021, 385(6): 493–

- 502.
- [31] Maeder M L, Stefanidakis M, Wilson C J, et al. Development of a gene-editing approach to restore vision loss in Leber congenital amaurosis type 10[J]. *Nature Medicine* 2019, 25(2): 229–233.
- [32] Roaann J, Tam P P L. New insights into early human development: Lessons for stem cell derivation and differentiation[J]. *Cell Stem Cell*, 2017, 20(1): 18–28.
- [33] Yu L Q, Wei Y L, Duan J L, et al. Blastocyst-like structures generated from human pluripotent stem cells [J]. *Nature*, 2021, 591(7851): 620–626.
- [34] Liu X D, Tan J P, Schroder J, et al. Modelling human blastocysts by reprogramming fibroblasts into iBlastoids [J]. *Nature*, 2021, 591(7851): 627–632.
- [35] Martyn I, Kanno T Y, Ruza A, et al. Author correction: Self-organization of a human organizer by combined Wnt and Nodal signalling[J]. *Nature*, 2018, 564(7735): E10.
- [36] Simunovic M, Metzger J J, Etoc F, et al. A 3D model of a human epiblast reveals BMP4-driven symmetry breaking[J]. *Nature Cell Biology*, 2019, 21(7): 900–910.
- [37] Warmflash A, Sorre B, Etoc F, et al. A method to recapitulate early embryonic spatial patterning in human embryonic stem cells[J]. *Nature Methods*, 2014, 11(8): 847–554.
- [38] Shao Y, Taniguchi K, Townshend R F, et al. A pluripotent stem cell-based model for post-implantation human amniotic sac development[J]. *Nature Communications*, 2017, 8(1): 208.
- [39] Zheng Y, Xue X, Shao Y, et al. Controlled modelling of human epiblast and amnion development using stem cells[J]. *Nature*, 2019, 573(7774): 421–425.
- [40] Xue X F, Sun Y B, Resto-irizarry A M, et al. Mechanics-guided embryonic patterning of neuroectoderm tissue from human pluripotent stem cells[J]. *Nature Materials*, 2018, 17(7): 633–641.
- [41] Moris N, Anlas K, Van Den Brink S C, et al. An in vitro model of early anteroposterior organization during human development[J]. *Nature*, 2020, 582(7812): 410–415.
- [42] Li R H, Zhong C Q, Yu Y, et al. Generation of blastocyst-like structures from mouse embryonic and adult cell cultures[J]. *Cell*, 2019, 179(3): 687–702.
- [43] Kagawa H, Javali A, Khoel H H, et al. Human blastoids model blastocyst development and implantation[J/OL]. *Nature*, 2021, 12. [2021-12-02]. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-04267-8>.
- [44] Aguilera-castrejon A, Oldak B, Shani T, et al. Ex utero mouse embryogenesis from pre-gastrulation to late organogenesis[J]. *Nature*, 2021, 593(7857): 119–124.
- [45] Lovell-badger E R, Anthony E, Barker R A, et al. ISSCR guidelines for stem cell research and clinical translation: The 2021 update [J]. *Stem Cell Reports*, 2021, 16(6): 1398–1408.
- [46] American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders[M]. 5th ed. Arlington: American Psychiatric Pub, 2013.
- [47] Huang Y Q, Wang Y, Wang H, et al. Prevalence of mental disorders in China: A cross-sectional epidemiological study[J]. *The Lancet Psychiatry*, 2019, 6(3): 211–224.
- [48] Kupferschmidt K. Can ecstasy treat the agony of PTSD? [J]. *Science*, 2014, 345(6192): 22–23.
- [49] Heifets B D, Malenka R C. Disruptive psychopharmacology[J]. *American Journal of Geriatric Psychiatry*, 2019, 27(8): 775–756.
- [50] Slomski A. MDMA-assisted therapy highly effective for PTSD[J]. *Journal of the American Medical Association*, 2021, 326(4): 299.
- [51] Halvorsen J, Naudet F, Cristea I A. Challenges with benchmarking of MDMA-assisted psychotherapy[J]. *Nature Medicine*, 2021, 27(10): 1689–1690.
- [52] Steenkamp M M, Litz B T, Hoge C W, et al. Psychotherapy for military-related PTSD: A review of randomized clinical trials[J]. *Journal of the American Medical Association*, 2015, 314(5): 489–500.
- [53] Gutner C A, Gallagher M W, Baker A S, et al. Time course of treatment dropout in cognitive-behavioral therapies for posttraumatic stress disorder[J]. *Psychological Trauma*, 2016, 8(1): 115–121.
- [54] Hake H S, Davis J K P, Wood R R, et al. 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDMA) impairs the extinction and reconsolidation of fear memory in rats[J]. *Physiology and Behavior*, 2019, 199: 343–350.
- [55] Nardou R, Lewis E M, Rothhaas R, et al. Oxytocin-dependent reopening of a social reward learning critical period with MDMA[J]. *Nature*, 2019, 569(7754): 116–120.
- [56] Mithoefer M C, Feduccia A A, Jerome L, et al. MDMA-assisted psychotherapy for treatment of PTSD: Study design and rationale for phase 3 trials based on pooled analysis of six phase 2 randomized controlled trials[J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2019, 236(9): 2735–2745.
- [57] Kaelen M, Barrett F S, Roseman L, et al. LSD enhances

- the emotional response to music[J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2015, 232(19): 3607–3614.
- [58] Cipriani A, Furukawa T A, Salanti G, et al. Comparative efficacy and acceptability of 21 antidepressant drugs for the acute treatment of adults with major depressive disorder: A systematic review and network meta-analysis[J]. *Lancet*, 2018, 391(10128): 1357–1366.
- [59] Cipriani A, Sabtilli C, Furukawa T A, et al. Escitalopram versus other antidepressive agents for depression [J]. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2009 (2): Cd006532.
- [60] Carhart-harris R, Giribaldi B, Watts R, et al. Trial of psilocybin versus escitalopram for depression [J]. *The New England Journal of Medicine*, 2021, 384(15): 1402–1411.
- [61] Carhart-harris R L, Kaelen M, Whalley M G, et al. LSD enhances suggestibility in healthy volunteers[J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2015, 232(4): 785–794.
- [62] Sigal Y M, Zhou R, Zhuang X. Visualizing and discovering cellular structures with super-resolution microscopy [J]. *Science*, 2018, 361(6405): 880–887.
- [63] Gu L S, Li Y Y, Zhang S W, et al. Molecular-scale axial localization by repetitive optical selective exposure[J]. *Nature Methods*, 2021, 18(4): 369–373.
- [64] Gu L S, Li Y Y, Zhang S W, et al. Molecular resolution imaging by repetitive optical selective exposure[J]. *Nature Methods*, 2019, 16(11): 1114–1118.
- [65] Ozbay B N, Futia G L, Ma M, et al. Three dimensional two-photon brain imaging in freely moving mice using a miniature fiber coupled microscope with active axial-scanning[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 8108.
- [66] Zong W J, Wu R L, Chen S Y, et al. Miniature two-photon microscopy for enlarged field-of-view, multi-plane and long-term brain imaging[J]. *Nature Methods*, 2021, 18(1): 46–49.
- [67] Zong W J, Wu R L, Li M L, et al. Fast high-resolution miniature two-photon microscopy for brain imaging in freely behaving mice[J]. *Nature Methods*, 2017, 14(7): 713–719.

Review of research focuses on bioscience in 2021

JIANG Jiayan^{1,2}, ZHU Fang^{2,3}, LI Cong^{1,2}, WANG Chengcheng^{3*}, HU Ronggui^{1,2*}

1. Hangzhou Institute for Advanced Study, University of Chinese Academy of Sciences, Hangzhou 310024, China
2. Center for Excellence in Molecular Cell Science, University of Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032, China
3. Medical School, Guizhou University, Guiyang 550025, China

Abstract Human activities in the broad area of sci-tech research have continued despite the still rampant global COVID-19 pandemic. In the past 2021, significant progress was made in bioscience and many related disciplines. This review highlights a few breakthroughs that directly addressed both immediate and long term needs of humans in facing those contingent and constant challenges. Specifically, we briefly present to the reader the progress made in the fields of theoretical and practical structure biology, chemical biology, COVID-19 antibody development, application of gene editing techniques, drug treatment for human mental disorders and development in imaging techniques. 2021 will be remembered for those Chinese scientists who made their particular contributions to the frontier research.

Keywords bioscience; COVID-19; structural biology; synthetic biology; neuroscience ●



(责任编辑 祝叶华)