

·学科进展与展望·

# 国家自然科学基金重大项目 “生命科学中的单分子行为研究”专题介绍 ——兼谈生物单分子研究概况

苏连芳 董尔丹 徐岩英 叶鑫生

(国家自然科学基金委员会生命科学部,北京 100085)

**[摘要]** 本文围绕国家自然科学基金重大项目“生命科学中的单分子行为研究”的立项、受理与评审以及目前国内外生命科学领域中单分子的研究现状进行了评述,并对项目的实施与科学管理提出了具体的建议,希望为发展具有中国特色的跨学科研究积累经验。

**[关键词]** 生命科学,单分子,管理

## 1 背景

生物单分子行为研究是指在单分子水平对生物分子行为(包括构象变化、相互识别、相互作用)进行实时、动态检测以及在此基础上的操纵、调控等,是分子生物学的自然延伸和必然趋势。生命科学单分子方面的研究在国际上刚刚开始,且受到广泛关注,有关研究成果被2003年12月19日出版的 *Science* 杂志评为本年度的十大科技成就之一<sup>[1]</sup>。为深入了解生命体系的复杂性和多变性,有力地推动单分子技术在生命科学研究中的应用和发展,在生命科学、物理学及化学等不同领域专家的积极建议下,经过历时半年多的研讨与积极准备,学科交叉重大项目“生命科学中的单分子行为研究”得以立项,此项目是以生命科学问题为核心,多学科、多角度交叉合作的研究项目。

项目立项后共收到来自21个单位的38份(含4份联合研究申请书)申请,项目涉及内容覆盖了生物学、医学、化学、物理学、动植物学及材料学等多个学科领域,体现了生物单分子研究的跨学科特点。项目申请多从实际出发,立足于应用单分子技术,深入研究已有一定工作基础的生命科学问题,并通过项目研究带动单分子技术平台的建立与发展。因此,大部分申请把研究目标锁定在生命科学领域中具有

重大价值,并在该领域已有良好工作基础的生命科学问题,如蛋白质的错误折叠与异常生命现象;单分子水平的生物信号转导;免疫调节中及其他配体-受体特异分子识别的单分子机制等,突出了单分子研究的科学意义。除此之外,在单分子操纵的技术方面,在已取得初步研究成果的基础上,研究者们力争改进现有的探测仪器和技术,致力于发展新的探测方法,使得项目的研究起点与国际水平接轨,具有明显的创新性和广阔的发展前景。从申请者的组成来看,既有经验丰富的老专家,又有年富力强的青年学者,此项目的实施不仅带动了交叉学科的发展,同时也为我国培养跨学科人才提供了良好的平台和空间。当然,并不是所有生命科学中的问题都可以通过单分子研究得以解决,还需要采用其他手段和方法。在此次项目的评审过程中,评审专家对项目的工作基础及可行性严格把关,在科学问题和单分子技术两个方面都具备工作基础的申请项目获得了好评,最终由综合实力较强的北京大学的韩启德院士,中国科学院的白春礼院士,中国人民解放军第二军医大学的陈宜张院士和清华大学的罗永章教授领导的4个课题组联合承担此重大项目。

## 2 生物单分子研究现状

由于近10年来科学技术的突飞猛进,人们对生

本文于2003年12月29日收到。

命现象的探知已经发展到研究单个分子的动态行为,这种研究可以揭示被大量分子集合平均而隐蔽的信息,因而单分子研究引起世界各国学者的关注。例如从1996年开始,每年在德国柏林都要举行一次“单分子探测:基础与在生命科学中的应用”的研讨会(1999年改名为“生命科学中的单分子探测与超灵敏度分析”);从1999年起,在奥地利的Linz每年也举行一次“单分子技术在生物物理学与药物释放中的应用”冬季讨论会。许多重要期刊,如 *Science*, *Nature Structural Biology*, *Journal of Biological Chemistry*, *Chemical Physics*, *Progress in Biophysics and Molecular Biology* 都在1999年或2000年出版有关生物单分子的专集,介绍生物单分子研究领域近年来所取得的成就,令人们瞩目的是2000年以专门报道单分子研究的新期刊 *Single Molecule* 创刊。2001年4月在美国San Diego召开的“美国化学会”专门介绍了单分子开始应用于活细胞研究的结果,标志着单分子研究在活细胞水平已经获得了重要进展。国际上单分子技术和研究较为突出的是德国、美国和日本。2002年2月在美国加州旧金山举行的美国生物物理学会第46届年会上,单分子生物物理学是最引人注目的领域,其发展速度之快可以下例说明:10年前该会议上仅有1篇涉及单分子操作的研究墙报而如今已发展到专题会和两个分会的规模,内容涉及核酸、蛋白相互作用等多个重大问题。2003年4月27日—5月1日由德国斯图加特大学与Volkswagenstiftung(大众汽车基金会)资助举办了活细胞单分子探测的工作会议。此外,2003年7月27日还在美国的蒙大拿州举行了单分子研究的相关会议。

国际上关于单分子研究的标志性成果主要集中在以下几个方面:

(1) 诺贝尔物理奖获得者朱棣文对核酶(ribozyme)单分子的折叠研究<sup>[2]</sup>。图1为四膜虫(*Tetrahymena*)核酶的示意图,其P1端(识别螺旋)与基质S成对结合,并以荧光供体Cy3结合于基质,荧光受体Cy5则标记在5'端。P1识别螺旋可以进入靠近Cy5处的结构(称为docking),或者从该处解离出来(undocking)。这时一对荧光供受体之间的距离就将改变,因此用spFRET就可以清楚地显示随机的docking/undocking过程,这一重要实验观察到一种核酶快速折叠中间态的存在,是单分子谱研究的一个里程碑。在众多分子聚集体的研究中是无法观察到此现象的。

(2) Nagi, Adachi等利用单分子荧光偏振(smFP)

获得关于取向的动力学过程的研究<sup>[3,4]</sup>,如图2所示将荧光标记的肌动蛋白丝作为一种标志物和 $\gamma$ 亚基结合,此 $\gamma$ 亚基位于3个 $\beta$ 与3个 $\alpha$ 亚基组成的六聚体中。 $F_1$ -ATPase和埋在膜内的 $F_0$ (质子运送单元)组成 $H^+$ -ATP合成酶,在细胞呼吸和光合作用中可逆地将跨膜质子流与ATP合成/水解偶联起来。在有ATP时,从膜上方可观察到荧光标记的肌动蛋白丝反时针方向转动100次以上。Adachi<sup>[4]</sup>等详细地分析了单个荧光基团标记于膜上的运动,进一步说明其旋转是分步进行的,每步旋转120°,证明这种分步运动是 $F_1$ -ATPase的固有性质,亦即每个ATP分子水解驱动 $\gamma$ 亚基转动,而且这种运动与 $\gamma$ 亚基上的负载无关。

(3) 图3所示为典型的高分辨近场光学成像研究<sup>[5]</sup>,在近场条件的测量不受光学衍射极的限制,可使空间分辨率达到10nm(或更小)。

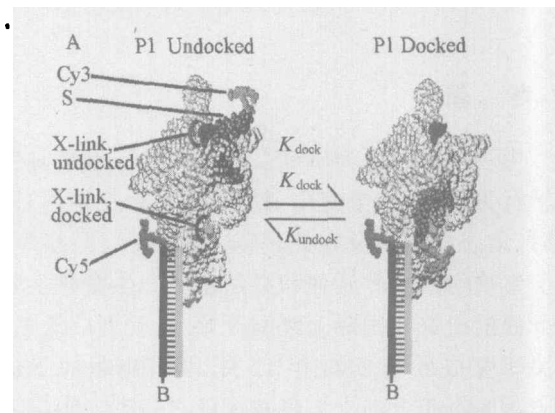


图1 四膜虫核酶P1端的识别螺旋可逆性与基质S成对结合反应模式图

(4) Seisenberger GD等在2001年的 *Science* 上报道了利用单分子检测技术研究体外标染病毒入侵活细胞的过程<sup>[6]</sup>,引起了研究者的密切关注。此研究,被看作活细胞水平单分子研究的标志性进展。

(5) 除了单分子探测和操纵研究的报道以外,科学家们也开始着手研究探索适用于活细胞探测的新的分子标记和探测技术。Tsien R Y研究小组2002年报道了利用小分子肽的标记方法<sup>[7]</sup>探测活细胞内重组蛋白的表达,该方法很快得到广泛应用。

(6) 真正深入地了解生命现象需要对活细胞进行实时、动态的观测。但由于细胞背底的干扰,标记分子的光漂白时间短,活细胞状态下的单分子研究遇到了技术上的难关,因此在活细胞水平的单分子研究报道尚少。为了更好地在活细胞上进行研究,学者们进行了不懈的努力,已有一些研究成果在

2003年出版的 *Science* 上报道<sup>[8,9]</sup>。

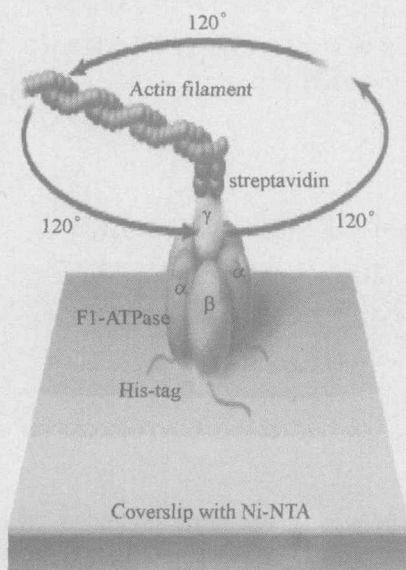


图2 F<sub>1</sub>-ATP酶γ亚基的转动

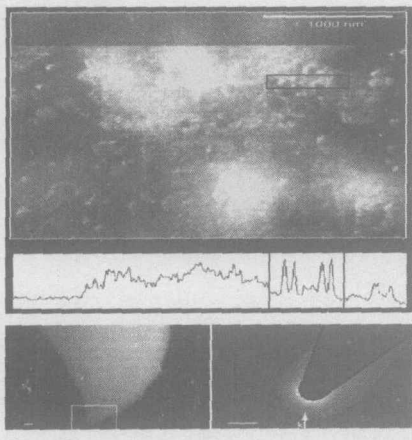


图3 单个 LHC II 复合物光合膜片的荧光图像

自1996年以来单分子技术在生命科学中的应用及不断取得的成就,促进我国的科学工作者积极投入此项研究中,尽管目前国内在单分子的探测与操纵研究方面尚处于技术平台的建设阶段,但研究工作已取得一些进展<sup>[10]</sup>,相信经过一段时间的艰苦努力,有机地结合我国在生命科学研究领域已有的工作基础,抓住时机,选准方向,很有可能使我国的单分子研究水准跻身于世界强林之列。

生物单分子的研究不是一个学科能够独立进行的,它要求生物、医学、化学、物理等多学科的科研人员协作,联合攻关才能完成这一重大课题。因此,如何能够协调好各个学科,不同单位之间的合作显得尤为重要。从此次重大项目的受理来看,不同的研

究单位有着不同的工作基础、经验和仪器资源,各具特色。因此,从管理角度出发,应积极促进各单位、各课题之间的沟通和协作,通过项目的实施,建立一套系统的协作机制,培养跨单位、跨学科通力合作的团队精神。

重大项目的实施与完成,既需要经验丰富、知识面广的老专家把关,又需要富于想像、勇于创新的年轻科学工作者的参与,应定期组织学术交流会和课题研究进展汇报会,这无疑有利于跨学科人才的培养,为项目的高质量完成创造良好的条件。

今后我们可资助与项目相关的国际研讨会,以使项目负责人及时、深入地了解该领域的国际前沿动态和发展,也使管理人员较及时和全面地掌握项目的发展方向。通过项目的合作,加快我国生物单分子研究的脚步,同时为促进项目研究的国际合作营造良好的环境。我们还将组织阶段性的研究汇报和成果总结,督促项目的进行,培养竞争性意识,促进项目的顺利完成。当然,生命科学的单分子研究是一项长期、艰苦的探索性工作,研究切忌急功近利,应鼓励脚踏实地的科研作风,在审核过程中应发掘并注重创新性的探索,以支持这样项目进行相对长期的探索过程。

相信在广大科学工作者的共同努力下,我国的单分子研究一定能够达到国际先进水平,最终为生命科学重大问题的研究提供新的线索和帮助。

### 参 考 文 献

- [1] The News and Editorial Staffs. Breakthrough of the year. *Science*, 2003, 302(5653):2039.
- [2] Zhuang X, Bartley L E, Babcock H P et al. A single-molecule study of RNA catalysis and folding. *Science*, 2000, 288(5473): 2048—2051.
- [3] Noji H, Yasuda R, Yoshida M et al. Direct observation of the rotation of F<sub>1</sub>-ATPase. *Nature*, 1997, 386(8):299—302.
- [4] Adachi K, Yasuda R, Noji H et al. Stepping rotation of F<sub>1</sub>-ATPase visualized through angle-resolved single-fluorophore imaging. *PNAS*, 2000, 97(13): 7243—7247.
- [5] Hartschuh A, Sanchez E J, Xie X S et al. High-resolution near-field Raman microscopy of single-walled carbon nanotubes. *Phys. Rev. Lett.*, 2003, 90(9): 955 033—955 034.
- [6] Seisenberger G, Ried M U, Endre T et al. Real-time single-molecule imaging of infection pathway of adeno-associated virus. *Science*, 2001, 294(30): 1929—1930.
- [7] Adams S R, Campbell R E, Tsien R Y et al. New biarsenical ligands and tetracysteine motifs for protein labeling in vitro and in vivo: Synthesis and biological applications. *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, 124(21): 6063—6076.

- [8] Knemeyer J P, Hertzen D P, Sauer M. Detection and identification of single molecules in living cells using spectrally resolved fluorescence lifetime imaging microscopy. *Anal. Chem.*, 2003, 75 (9): 2147—2153.
- [9] Lipman E A, Schuler B, Bakajin O et al. Single-molecule measurement of protein folding kinetics. *Science*, 2003, 301(5 637): 1233—1235.
- [10] 关英华, 洪莲, 赵新生等. 单个分子光学检测仪器的搭建和检验. *生命科学仪器*, 2003, 1(2): 38—39.

## INTRODUCTION OF THE MAJOR PROGRAM OF NSFC ENTITLED “RESEARCH ON SINGLE-MOLECULE BEHAVIOR IN LIFE SCIENCE” ——REVIEW OF BIOLOGICAL SINGLE-MOLECULE STUDY

Su Lianfang    Dong Erdan    Xu Yanying    Ye Xinsheng

(Life Science Department, NSFC, Beijing 100085)

**Abstract** In this paper, the initiative and evaluation process of a new major program of NSFC entitled “Research on single-molecule behavior on life science” was comprehensively reviewed. The present situation of worldwide “single molecule” study was analyzed as well. In order to achieve interdisciplinary research experience with Chinese style, the authors also present suggestions and comments on the management of the project.

**Key words** life science, single molecule, management

·资料·信息·

### 国家自然科学基金委员会-上海宝山钢铁集团公司 第二期“钢铁联合研究基金”签约

2003年12月底,国家自然科学基金委员会和上海宝钢集团公司签署了第二期“钢铁联合研究基金”合作协议,总经费1800万元,分3年安排基金项目。“钢铁联合研究基金”是第一个由我国企业与国家自然科学基金委员会共同建立的基础研究专项基金,这一为长远发展的投资行为表明,中国大型企业集团为提升自身和整个行业的持续创新能力,已经自觉地在从更长远的发展来考虑创新动力。这对推进我国技术创新和技术进步具有深远意义。

“钢铁联合研究基金”于2000年8月由国家自然科学基金委员会和上海宝钢集团公司共同出资创建。为了使联合研究基金工作高效、持续地开展下去,2001年11月,双方在人民大会堂签署了长期合作意向书。

“钢铁联合研究基金”紧密结合我国钢铁工业的重大问题和战略发展,开展前瞻性、创新性的研究,

重点资助我国钢铁工业发展所需要的冶金新技术及有关工艺、材料、能源、环境、装备、信息等具有重要科学意义和应用价值的基础和应用基础研究项目,通过创新性科技进步带动传统产业的提升,促进我国钢铁冶金科学技术的繁荣与发展。“钢铁联合基金”受到了广大冶金科技工作者的欢迎,在全国引起很大的反响。2001年“钢铁联合研究基金”开始受理项目申请,到2003年共有99个项目立项。

“钢铁联合研究基金”开创了我国大型企业以基金的形式资助基础研究和应用性基础研究的先河,起到了示范作用。“钢铁联合研究基金”设立以来,国家自然科学基金委员会先后与中国工程物理研究院、中国节能投资公司、水利部黄河水利委员会以及中国航空工业第一集团公司等建立了联合研究基金。

(工程与材料科学部 朱旺喜 供稿)