

DNA 技术中的设计进展

张 玲, 王 武*

(江南大学 工业生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214122)

摘要: 20 世纪后半叶,随着蛋白质与核酸测序技术的问世,人类所掌握的生物大分子结构与功能的信息量暴涨,并逐渐进入了理性设计序列,以达到建构生物大分子功能性三级结构的自由王国。随着 21 世纪的到来,得益于多学科交叉集成,DNA 技术中的创新性设计智慧此起彼伏。人类成功重装了低等生命的基因组,设计基因组底盘、构建人工进化平台,推出 CRISPR 基因编辑术,发明 DNA 折纸术,精确自组装纳米级三维 DNA 材料。另外,可将设计学的立体构成原理与基于用户体验的设计方法应用于生物信息学数据库建设。

关键词: DNA 技术;设计智慧;基因组底盘;CRISPR;立体结构;DNA 折纸术

中图分类号: Q 812 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673—1689(2016)11—1121—08

Design Wisdoms in DNA Technology

ZHANG Ling, WANG Wu*

(Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: From the second half of the 20th century, the invention of the protein and nucleic acid sequence detection technologies has induced an information explosion of the structure and function of biological macromolecules and the rational design of macromolecular sequence. Consequentially, an empire has been built to construct the functional tertiary structure of bio-macromolecules. In the 21st century, the innovative design wisdom in DNA technology began to spring up benefited from the interdisciplinary integration. The genome of a simple life such as virus and *mycoplasma* has been successfully recombined. Genome chassis has been designed with the construction of artificial evolution platform. A novel gene editing technique, named CRISPR, has been used as a powerful tool for genomic rectification. The technique of DNA origami improved the precise self-assembly of 3D DNA nano-materials. Moreover, the 3D bioinformatics database system can be constructed using the principle of stereoscopic constitution combined with the design method based on user experience.

Keywords: DNA technology, design wisdom, genomic chassis, CRISPR, stereoscopic constitution, DNA origami

收稿日期: 2016-07-01

基金项目: 国家自然科学基金项目(31340027);江苏省优青基金项目(BK20160053)。

作者简介: 张 玲(1981—),女,新疆哈密人,发酵工程博士研究生,助理研究员,主要从事酶基因工程研究。

E-mail: zhangdoudou2004@aliyun.com

* 通信作者: 王 武(1952—),女,福建福州人,教授,博士研究生导师,主要从事发酵工程和基因工程研究。

E-mail: wangwu@jiangnan.edu.cn

20 世纪后半叶,随着分子生物学的发展,蛋白质与核酸测序技术的问世,人类所掌握的生物大分子结构与功能的信息量暴涨,生命科学的实验方法学发生了翻天覆地的变化,研究内涵的深度大大超乎原先的期待。生物技术本身跳出了“生物化学”、“分子生物学”的范畴,向物理学、立体几何学、拓扑学、微电子学等领域寻求交融。在探知生物大分子结构,重建新的生命功能的过程中,科学家应用了设计学理论与方法,从定位剪接、巧妙拼合 DNA 序列,到全新设计生物大分子一级序列,以达到建构大自然不存在的功能性蛋白质三级结构的自由王国,可以说 DNA 测序、DNA 人工合成、分子克隆、基因重组、人类基因组计划等技术进步的过程中,不时闪现出喜人的设计光芒。

进入 21 世纪后,生物技术更是得益于多学科的交叉集成,创新设计思维此起彼伏,其中包括了人类精心设计、重新组合序列的支原体基因组,呈现出生命机能;基因工程师可以像设计电气线路那样,重新设计基因的线路(Genetic Circuit),以期待实现代谢的功能流程。这些设计的遗传工程机器、基因组底盘等为合成生物学发展起到推进作用;发明 CRISPR 基因编辑术,构建出魔性手术刀,可用以剔除坏基因或抵制外源基因的恶性植入;发明 DNA 折纸术,自组装精确折合成叠的纳米级三维 DNA 材料;另外,可将设计学的立体构成原理与基于用户体验的设计方法应用于生物信息学数据库建设。总结设计学与生物技术的交融互动的成果,有助于从设计理论和方法学的维度,为生物技术发展开拓出更加宽阔的创新空间。

1 基因技术领域经典的设计智慧

应用物理学、立体几何学、拓扑学、逻辑学等原理,进行艺术创作是现代设计学的新手段。了解功能 DNA 分子的立体几何构象和微尺度,为精准研判 DNA 序列、结构和功能的对应关系奠定了不可或缺的基础。后续人们对 DNA 的处理,实际上就是从点、线、面、体的对应关系入手,进行巧妙的结构与重组,甚至立体构成操作。20 世纪 70 年代出现的基因工程的三大基本技术是:DNA 分子切割与链接;分子克隆与表达;DNA 序列测序。

1.1 “标记”设计带来 DNA 克隆技术的突飞猛进

除了 DNA 重组的剪接技术外,“遗传标记设计”是基因工程中最重要机巧,它涉及到重组子的直观筛选。分子克隆与表达技术的成功,在很大的程度上得益于克隆载体装入了理想的“标记”。简单的一类遗传标记是抗生素抗性基因,如分别降解氨苄青霉素、卡那霉素、四环素的水解酶基因安插入隆载体后,在抗生素平板上能够生长的可能是目的克隆子。另一个经典的遗传“标记”例子是蓝白斑筛选标记,质粒载体 DNA 中装有大肠杆菌 lac 操纵子的 lacZ' 基因,其带有人工合成的多位点插入序列,当外源基因插入此处后,用含有诱导物 IPTG 和底物类似物 X-gal (也是一种显色剂)的培养基筛选克隆子,若 lacZ' 基因中间插入一段外来的基因序列,则破坏了 lacZ' 编码的半乳糖苷酶活性,出现的克隆子菌落呈白色。若外源基因插入失败,则半乳糖苷酶活性未破坏,X-gal 被水解致使菌落呈现蓝色。还有后期开发的荧光标记等,这类“色别标记”的系统设计非常智慧,使得克隆操作者很方便地甄别阳性克隆子。

1.2 DNA 测序原理设计充满智慧

就像“0 与 1”二进制带来海阔天空的信息世界,生物基因组 DNA 的 A、T、G、C 共 4 个单元组成了卷帙浩繁的生命天书,DNA 测序技术似“芝麻开门”咒语,成为打开生命知识宝库的金钥匙。40 年来,DNA 测序的设计真正体现了多学科交叉的成功。

诺奖大师 Gilbert 抛出的 Maxam-Gilbert 化学降解法^[1],一反化学降解反应追求完全彻底的思路,尽可能将反应条件控制为,使得单个 DNA 分子序列上仅有个别的碱基断裂。将待测 DNA 序列分为 4 组,设置 4 种对应的断链反应条件,事先为 DNA 分子打上单端同位素标记后,4 组 DNA 随机断链混合物经凝胶电泳分离,呈现出长短不一的条带,4 组断链条带的接龙,就读出了 DNA 碱基排列。另一经典测序技术,是 Sanger 双脱氧核苷酸补链终止法^[2]。样品打上同位素或荧光标记,分 A、T、C、G 4 组,带引物的酶法补链体系中,加如少量分组对应的双脱氧核苷三磷酸(ddTNP)作为补链终止剂,理论上每条模板链的任何一个碱基的对侧可能补上某种 ddTNP 终止剂,4 组补链的终结果就形成了长短不一、互相接龙的条带分布。经显影后,就能读出补链片段的碱基排列顺序。Sanger 测序法得到了广泛的

应用,在此基础上诞生出核酸序列自动测定仪。

为满足高通量、低成本的 DNA 测序需求,创新设计的探针芯片测序法,如寡核苷酸微矩阵 DNA 测序法(Oligonucleotide Array)^[3-4]。如基于八聚核苷酸的全排列探针库与目标 DNA 杂交的设计思路,使每条探针定点固定于微芯片中的不同点阵,全排列的八聚核苷酸探针种类为 65 536 种。理论上能够与目标 DNA 杂交的 8 位核苷酸序列的落点代表着确定的序列信息,经过计算机接龙后,目标 DNA 中的全序很快就读出。这种方法速度快,效率高,适于测定不太长(小于 10 000 核苷酸)的片段,用于检测 DNA 序列中的变异点非常便捷,但这种方法难以应用于长序列、重复序列,乃至基因组全序的测定。

纳米孔单分子测序技术(Single Molecule Sequencing, SMS)^[5-6],无需对 DNA 进行化学或生物化学处理,基于单链 DNA 分子穿过纳米孔通道而进行测序,4 种不同的碱基穿过通道口所引起的电化学参数变化可检测,单链 DNA 的碱基序列就能快速读取(见图 1)。牛津大学科学家已经根据此原理,开发出微型 MinIon DNA 测序仪,尽管对 DNA 长链测序的准确率还有待提高,但已在很大的程度上提高了测序的速度和效率。同样的原理又被美国亚利桑那州立大学开发成肽链测序技术。DNA 测序技术在短短的 40 年内,不断设计创新,实现了从技术到效益的跨越突破,为高通量、快速读取“生命天书”的所有信息密码奠定了重要的基础。

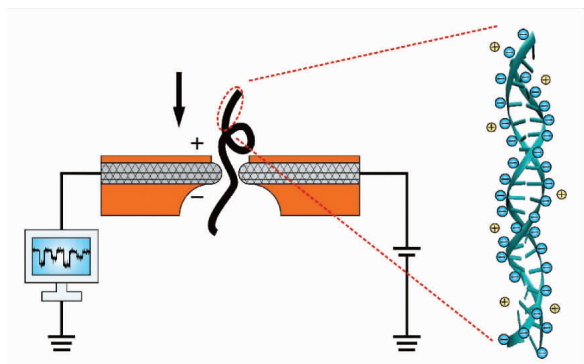


图 1 纳米孔单分子 DNA 测序法

Fig. 1 Nanopore-based DNA single-molecule detection and sequencing

2 简单生命基因组的减负和重排设计

设计生命曾是生命科学家的梦想。“如果把人

体比作一台计算机,DNA 就是其中的软件。软件被编辑好后,转录和蛋白质表达就会按照预定的编辑程序进行”。在彻底摸清生命基因组序列与基因功能,有效鉴别必须基因和非必需基因的前提下,重新整理基因组序列,压缩基因与基因之间的空档区域,调整基因位点(loci)排列顺序,设计出更合理的基因路线图,优化蛋白质表达的调控元件等,设计生命已经有了技术上的可行性。

2.1 人造细胞设计——全合成的基因组呈现生命功能

随着史上最小的生物——生殖支原体(*Mycoplasma Genitalium*)的基因组测序完成,很多科学家开始关注于比较基因组学的概念,并萌生出合成最原始、最简单、最紧凑的生物细胞基因组的理念,这是基因组装工程的起点。

2010 年 5 月,美国生物学家 J. Craig Venter 等在《Science》杂志发表了题为:“由化学合成基因组控制的细胞”的报道^[7]。该团队选择支原体作为实验对象,人工合成供体的基因组 DNA。对蕈状支原体 *Mycoplasma mycoides* 进行全基因组测序,计算机软件精密计算后,将全基因组序列信息分解成 1 078 条平均长度为 1 kb 的 DNA 片段(片段间具有 80 bp 的部分 DNA 重叠)。人工合成这一千多条基因片段并进行改造,例如去除 14 个不重要基因片段、添加插入序列和便于区分于天然序列母本的“水印”标记(Watermark)^[8]。将以上人工设计合成的 DNA 片段在酵母细胞内通过同源重组实现拼接。将拼接好的基因组转入受体细胞。基因组来源的蕈状支原体生长较慢,研究者选取生长较快的山羊支原体 *Mycoplasma capricolum* 为受体细胞,将改造后的基因组植入。细胞在分裂传代过程中,具有天然基因组的细胞在含抗生素标记的培养基中无法长出,同时生长出的即为含有人造基因组的细胞。该人造细胞“Synthia”明显表现出蕈状支原体的生长特性。这就是第一个人造细胞 JCVI-syn1.0,亲本来自电脑,却能自我复制的生物物种!

2016 年 3 月,该团队成功在 JCVI-syn1.0(含基因组 1 079 kb)的基础上,将基因组减到 531 kb,473 个基因,产生了 JCVI-syn3.0,保留了转录和翻译过程的关键基因,而且还包含 149 个功能尚未探明的基因^[9-10],这是目前人工得到的含有最简约基因组的支原体。

2.2 编排“基因线路”,设计各类遗传工程化平台

美国麻省理工学院 2003 年创办国际性学术竞赛国际遗传工程机器大赛 iGEM (International Genetically Engineered Machine Competition),是以合成生物学为核心,交叉计算机科学、数学、生物学、艺术设计等多学科的国际科技竞赛。科学家设计出单元的生物模块 BioBrick^[11],一段含有特殊酶切位点和特定功能序列的一段 DNA。由 3 部分组成:前序(prefix),主序(body)和后序(suffix)。其中主序部分是特定功能的 DNA 序列,如调控基因,蛋白质编码基因,终止子等,也可以是它们的组合。前序和后序是两个特殊的酶切位点序列,起到接头的作用。2005 年,D. Endy 等人建立了标准化的生物模块 BioBrick 登记数据库,登记收集各种各样的标准化生物零件,方便各国 iGEM 参赛者的使用。获准登记的标准化生物零件的数目目前已达几千种。有了合成生物学工程化的设计理念,又有了可利用的标准化生物模块,合成生物学设计师就能像设计电气线路那样,设计出各种各样的基因线路(Genetic Circuit)^[12]装入细胞,使之执行新的职能。

2.3 设计基因组底盘(chassis)和“有生计算机”,构建人工进化平台

基因线路设计是否成功,需要将其转入某个宿主细胞内,被称为底盘“Chassis”。理想的底盘生物基因组带着这个生命所需的最小基因组,将成为一个巨大的实验工具。自我复制的细胞代表早期、相对原始细胞生活的形式。如果添加基因和复杂的功能,可将细胞转换成更复杂的有机体,制造一系列可被利用的微生物,例如可吸收 CO₂ 和 SO₂ 的微生物,生产药物或合成疫苗的细菌,可生产生物燃料的微生物等。中国科学家建立了生物必需基因数据库 DEG(Database of Essential Genes)^[13]。从 DEG 出发,集合某种微生物的必需基因作构建底盘生物基因组,这就建立了人工进化平台。未来,生命体可能通过人工设计合成的方式跨越式地实现进化,这是非常神奇的,不过这类技术对于大自然本身的生态平衡会产生什么样的冲击,需要理性权衡。

科学家通过基因线路设计出一种细菌计算机^[14],能够解决复杂的数学难题——汉密尔顿路径问题(Hamiltonian Path Problem),速度远比硅芯片计算机运算速度快。为了测验基因线路设计的优劣,在不同的细胞个体内装上不同的基因线路,细菌计

算机的繁殖力和运算能力成正相关,在一定的培养条件下,基因路线最合理的细胞品系个体长得最快,发出最亮的黄色荧光,则代表着最佳的“汉密尔顿路径”设计。

新兴的合成生物学是一个高度的交叉学科,设计者需将生物学与工程学,特别是控制工程学和数学紧密地结合在一起,对新的生物零件进行重新设计、构建和组装,并对天然存在的生物体基因组底盘进行系统的优化设计和改造,使之执行新的生物机能,造福人类社会。

3 基因组编辑的新型魔术刀——CRISPR 编辑技术

3.1 CRISPR-Cas9 技术的诞生

CRISPR 是一种源自古细菌的自我保护不受病毒侵害的免疫防御系统。CRISPR/Cas 系统全名为“成簇、规律间隔短回文重复序列体系”,具有高超的基因组定位能力。该位点能表达与入侵病毒基因组序列相匹配的 RNA 小分子。当微生物感染了病毒, RNA 小分子就能通过相匹配的互补序列结合病毒的基因组,并表达核酸酶(即 Cas 酶),能切割病毒 DNA,阻止病毒完成其功能。

该系统起重要作用的两部分:一是 Cas 酶,用于切断靶标 DNA;另一个是能互补结合靶标 DNA 的 RNA 序列,称之为向导 RNA (Guide RNA, gRNA),与 Cas 酶形成复合体,指导 Cas 酶到达正确的剪切位点。CRISPR 系统并不复杂,将带质粒(能表达 Cas 和 gRNA)的细胞进行转染,就可完成简单的局部剪裁,CRISPR/Cas 系统誉为“基因组编辑的魔术刀”^[15-16]。

该技术的关键是设计合成特异性的 gRNA 5' 端的前 20 个核苷酸(使其对应于靶标 DNA),指导 Cas 酶成功识别靶标 DNA (见图 2)。设计要求是 gRNA 上要有一个片段,能与由任意 5' 末端两个胞嘧啶核苷酸(-NCC)的 DNA 结合。这种-NGG 序列被称为 PAM 结构(protospacer adjacent motif)。专门用于 gRNA 设计的软件使这一技术(<http://www.genome-engineering.org/>)更加便捷地应用到日常操作中^[17]。另外,专门设计改造的 Cas 蛋白也使得 CRISPR 编辑系统的脱靶率大大降低。目前这一技术进入应用阶段,可对特定基因组位点实现删除、修复、替换,成为合成生物学、基因(多重基因)定向

干扰和基因治疗等领域的颇受欢迎的技术。

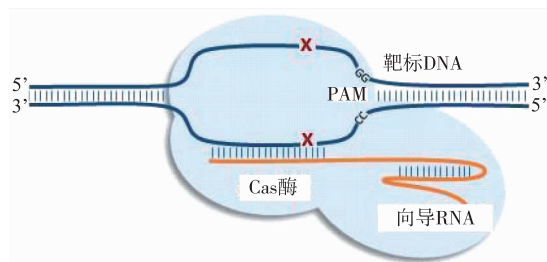


图2 CRISPR/Cas 系统工作原理示意图

Fig. 2 CRISPR-Cas system

3.2 CRISPR 彩虹标记技术可实时追踪活细胞中的染色体位点拓扑关系

科学家除了利用 CRISPR 作为基因编辑工具外,近期还利用它标记染色体位点并追踪活细胞中的染色体位点拓扑关系。

传统的细胞内基因标记技术一次最多只能够追踪活细胞中染色体的 3 个位点,对于观察染色体自身重组的拓扑结构动态变化或对外界刺激所引起的结构变动,尚不够理想。为了克服这个技术难题,研究人员对 CRISPR/Cas9 复合体进行改造,使 Cas 酶钝化,并对 gRNA 进行荧光蛋白标记。根据太阳光的色系分解原理,构建了 7 种彩虹色系荧光标记,当它们组合在一起则生成白色,该技术能同时确定多达 7 种不同的染色体 DNA 位点,每种位点对应于其中的一种荧光色系,由此诞生了 CRISPR 彩虹技术(CRISPRainbow)^[18]。采用这种技术在活细胞中追踪染色体动态拓扑变换,对于染色体组学以及生命遗传动态过程研究具有重要的意义。

3.3 第二代基因编辑器 CRISPR/Cpf1 与 NgAgo-gDNA

2015 年美国哈佛大学的科学家发现一种比 CRISPR/Cas9 更简单的系统 CRISPR/Cpf1, 该系统中酶 Cpf1 表现出双重切割活性:不仅切割 DNA,而且也切割 RNA^[19]。近期,中国科学家黄志伟教授解析出 Cpf1 复合物的晶体结构,并揭示了其运行机制^[20]。该编辑系统就像文字编辑软件“修改文档”一样来“修正”基因,甚至能让人们更加高效地对基因进行“关闭”、“恢复”和“切换”等精准“手术”,这一发现预示着未来人类可以对癌症和艾滋病等疾病的基因进行“删除”、“修改”等“编辑”,而“编辑”过的基因可以遗传到下一代,使人类彻底“消灭”癌症

和艾滋病等疾病成为可能。

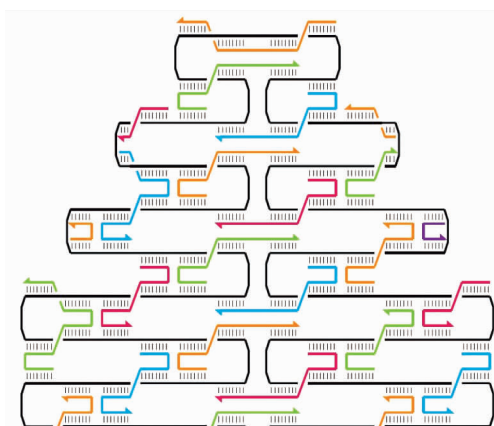
近期,韩春雨报道了一种不同于 CRISPR-Cas9 的 NgAgo-gDNA 基因编辑新技术^[21],CRISPR-Cas9 通过 RNA 寻找替换序列,而 NgAgo-gDNA 系统中,专门合成的 gDNA 能够与来自 *Natronobacterium gregoryi* 的 DNA 内切酶 Argonaute(NgAgo) 适配。当向导 DNA 寻找到编辑目标后,该酶可在基因组内任何位置引入双链断裂,进行基因编辑。该论文发表后引起国内外学界与社会的广泛关注,有关技术尚待重复试验与第三方验证。

发展迅速的基因编辑技术渐趋成熟,发展也更全面。该技术与生物工程技术相结合,可用于植物、动物和微生物的基因改造^[22-24],与临床医学相结合开展肿瘤^[25]、艾滋病^[26]、糖尿病^[27]或者一些遗传性疾病的“基因治疗”,在医药、农林业、养殖业等领域具有重要的应用价值。此处,该技术与新能源开发、环境保护等方面的结合也具有良好的应用前景。

4 通过 DNA Origami 精确设计自组装 DNA 纳米材料

折纸“Origami”这一古老技艺广为人知,以简单的一维或二维物件为基材,通过构成想象、成型设计,使之成为复杂的、美观的、甚至具有特殊用途的高维度结构。美国 NASA 人造卫星所配太阳电池板的收放,实际上是在折纸模型不断演练的基础上,逐步理想化的结果。

艾滋病毒、SARS 病毒,还有寨卡病毒等都是单链的 RNA 病毒,线状的 RNA 链通过内部的碱基局部配对,形成了千奇百怪的立体结构,而这类结构的折叠和解折叠正是病毒调控生命活动的关键和侵染人体的杀手锏。Nadrian Seeman 早在 20 世纪 80 年代就提出,可以模仿病毒的基因组结构,用单链 DNA 分子的内部碱基配对去构成二维的、甚至三维的纳米分子。2006 年,DNA 折纸(DNA Origami)出现在“Nature”杂志的封面^[28]。分子生物学家玩的 DNA 折纸术变成了新材料创新设计。加州理工学院的 Paul Rothemund 甚至设计出“分子订书钉”(Staples),帮助不同结构域之间的接合(如图 3)。精准设计的 DNA 分子可自组装成各种形状,如五角星、微笑面孔,还有比常见细菌更小的美国微型地图^[28]。



Black backbone indicates “scaffold”;
coloured lines indicates “staples”

图 3 DNA 折纸术示意图

Fig. 3 Illustration of DNA origami

DNA Origami 的操作涉及到：画出目的物构象轮廓；把目标构象演化为 DNA 分子折叠结构；按照碱基配对原则，设计一级序列，退火处理，使 DNA 序列内部自动配对成型；对关键的节点加以“订书钉”固定，即可得到预期的折纸纳米结构。对目的物成型效果的观察则需要动用先进的技术，如，超微扫描电镜、同位素显影分析、嵌合荧光指示物的荧光检测等。目前，多款 DNA 折纸术结构的软件成熟，可指导折叠出更为复杂的三维结构（如图 4）^[29-30]。

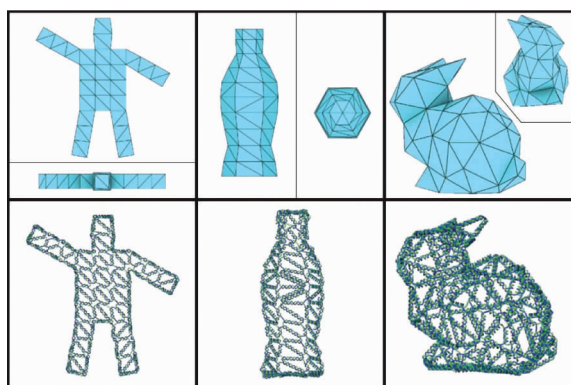


图 4 DNA 折纸术得到的复杂三维结构^[30]

Fig. 4 3D meshes rendered in DNA origami

DNA Origami 的设计过程本身具有某种艺术造型的乐趣，但寻求生物大分子纳米材料的应用更为重要：如，设计出能与药剂又与人体受体蛋白完全契合的纳米分子，将药物、抗生素等送到真正的病灶之处；设计 DNA 以转录出人工 RNA，使之折叠后成为三维结构与真实病毒基因组相似，但序列不同

的“伪基因组”，但可与带有表面抗原的病毒外壳结合，这种形似病毒粒子，实则无侵染功能的“伪病毒”是最安全的疫苗；做成荧光指示物的载体，将荧光物质送入蟑螂体内，失踪其代谢流向，从而为杀灭害虫获得第一手的生理代谢信息；制备微型的血管清淤工具，设想将 DNA Origami 技术用于设计一种纳米载体，用以携带清除粥样硬化的淤积酶剂。注入血管后，这种复合物对硬化的血管实行温和疏通，并最终自消化殆尽；制作微型的标识，防伪标签，甚至防盗保护暗码。因为这种标志物微小和特殊，只有特殊的设备和技术才能检测到；设计 DNA 三维适配体（Aptamer），使之与某些具有立体结构的大分子抗生素、农药、兽药等相适配，Aptamer 带有荧光标记，可方便地检测对食品安全造成危害的化学物质。

类似的智慧还可以辐射到新型蛋白质材料的设计。胶原蛋白是一类三股肽链扭旋而成的特殊结构，是肌腱、皮肤中关键的生物物质。它的独特结构域性能引发人们去模拟设计胶原材料。根据既定材料的性能，反推肽链的一级序列，演绎三股肽链之间的离子键与范德华力的牵拉关系，再由氨基酸序列反读出可顺畅表达的 DNA 序列，实现人工胶原蛋白材料的生物合成。

5 构建新型 3D 生物信息学数据库

随着人类基因组计划（Human Genome Project, HGP）的实施完成，生命科学进入“生物信息学时代”。基因组数据库收集生物基本的一级结构序列信息（例如 Genbank DNA 序列数据库）；生物大分子数据库，主要是蛋白质数据库（例如 PDB 数据库），收录通过 X-衍射和核磁共振得到的蛋白质三维晶体结构资料。以上资料和数据一般是世界各地的科学家由实验所得，提交到公共平台供全世界公众免费使用。这些数据库提供分子生物信息学的基本数据资源，被称一次数据库。

根据生命科学不同研究领域的实际需要，生物学家和计算机科学家合作，共同开发构建具有特殊生物学意义和专门用途的二次数据库，可在线对基因组图谱、核酸序列、蛋白质结构以及文献等数据进行分类比对、分析整理、归纳注释等功能。

2009 年，印度开始实施建立世界上最大的生物识别数据库，对本国居民进行照片、指纹、虹膜扫描

等信息数据采集,建立 DNA 身份数据库。政府试图将此数据库与个人手机、医疗、就业、社保等数据信息关联,进入全新的大数据时代。

在未来,随着大数据研究的发展,会呈现多维视角。可将视觉传达设计学的理念与大生物信息数据库相结合,为每一位顾客创造一个仿真的虚拟电子人。这些电子复制人为客户提供了舒适友好的视觉界面,使之方便地搜索包括自己的基因、外貌、体征、健康等海量医学信息,也可进行虚拟的基因组调整改造,并浏览自动生成的 3D 体貌。将整个用户的生物信息分解成了二进制的数字。通过检测服务

收集基因组中的外显子组信息,扫描比对查找出致病基因,特别是重大疾病风险关联性基因,例如糖尿病、老年痴呆症、心脏病的易感因子等,将这些潜在的疾病风险性表达成可视化 3D 图像,使我们直观了解生命未来的健康走向,为提前介入疾病防治或治疗干预提供科学依据。

DNA 技术犹如 IT 技术,设计与创新的速度呈对数激增。DNA 技术需要更深入的学科交互,更有新意的设计方法学介入。人类需要更加另类的、奇思怪想的发明创造,更加丰富多彩的、无拘无束的智慧火花,去推动生命科学与技术的新一轮发展。

参考文献:

- [1] MAXAM A M, GILBERT W. A new method for sequencing DNA [J]. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 1977, 74(2): 560-564.
- [2] SANGER F, NICKLEN S, COULSON A R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors[J]. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 1977, 74(12): 5463-5467.
- [3] WU Z J, IRIZARRY R A. Preprocessing of oligonucleotide array data[J]. **Nature Biotechnology**, 2004, 22(6): 656-658.
- [4] DUGGAN D J, BITTNER M, CHEN Y D, et al. Expression profiling using cDNA microarrays [J]. **Nature Genetics**, 1999, 21: 10-14.
- [5] HARRIS T D, BUZBY P R, BABCOCK H, et al. Single-molecule DNA sequencing of a viral genome [J]. **Science**, 2008, 320(5872): 106-109.
- [6] CLARKE J, WU H C, JAYASINGHE L, et al. Continuous base identification for single-molecule nanopore DNA sequencing[J]. **Nature Nanotechnology**, 2009, 4(4): 265-270.
- [7] GIBSON D G, GLASS J I, LARTIGUE C, et al. Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome[J]. **Science**, 2010, 329(5987): 52-56.
- [8] GIBSON D G, BENDERS G A, ANDREWS-Pfannkuch C, et al. Complete chemical synthesis, assembly, and cloning of a *Mycoplasma genitalium* genome[J]. **Science**, 2008, 319(5867): 1215-1220.
- [9] HUTCHISON C A, CHUANG R Y, NOSKOV N, et al. Design and synthesis of a minimal bacterial genome [J]. **Science**, 2016, 351(6280): aad6253.
- [10] CALLAWAY E. Race to design life heats up[J]. **Nature**, 2016, 531(7596): 557-55.
- [11] SHETTY R P, ENDY D, KNIGHT T. Engineering BioBrick vectors from BioBrick parts[J]. **Journal of Biological Engineering**, 2008(2): 5.
- [12] BROPHY J A N, VOIGT C A. Principles of genetic circuit design[J]. **Nature Methods**, 2014, 11(5): 508-520.
- [13] ZHANG R, OU H Y, ZHANG C T. DEG: a database of essential genes[J]. **Nucleic Acids Research**, 2004, 32: D271-D272.
- [14] BAUMGARDNER J, ACKER K, ADEFUYE O, et al. Solving a hamiltonian path problem with a bacterial computer[J]. **Journal of Biological Engineering**, 2009, 3: 11.
- [15] HSU P D, LANDER E S, ZHANG F. Development and applications of CRISPR-Cas9 for genome engineering[J]. **Cell**, 2014, 157(6): 1262-1278.
- [16] DOUDNA J A, CHARPENTIER E. Genome editing. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9 [J]. **Science**, 2014, 346(6213): 1077.
- [17] JINEK M, CHYLINSKI K, FONFARA I, et al. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity[J]. **Science**, 2012, 337(6096): 816-21.

- [18] MA H, TU L C, NASERI A, et al. Multiplexed labeling of genomic loci with dCas9 and engineered sgRNAs using CRISPRainbow[J]. **Nature Biotechnology**, 2016, doi: 10.1038/nbt.3526.
- [19] ZETSCHE B, GOOTENBERG J S, ABUDAYYEH O O, et al. Cpf1 Is a Single RNA-Guided Endonuclease of a Class 2 CRISPR-Cas System[J]. **Cell**, 2015, 163(3): 759-771.
- [20] DONG D, REN K, QIU X, et al. The crystal structure of Cpf1 in complex with CRISPR RNA[J]. 2016, 532(7600): 522-526.
- [21] GAO F, SHEN X Z, JIANG F, et al. DNA-guided genome editing using the *Natronobacterium gregoryi* Argonaute [J]. **Nature Biotechnology**, 2016(10): 38
- [22] XIE K, Minkenberg B, YANG Y. Targeted gene mutation in rice using a CRISPR-Cas9 system [J]. **Bio-Protocol**, 2014, 4(17): e1225.
- [23] XiIE K, Minkenberg B, YANG Y. Boosting CRISPR/Cas9 multiplex editing capability with the endogenous tRNA processing system[J]. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 2015, 112(11): 3570-3575.
- [24] NIU Y, SHEN B, CUI Y, et al. Generation of gene-modified cynomolgus monkey via Cas9/RNA-mediated gene targeting in one-cell embryos[J]. **Cell**, 2014, 156: 836-843.
- [25] DROST J, JAARSVELD R H, PONSIOEN B, et al. Sequential cancer mutations in cultured human intestinal stem cells [J]. **Nature**, 2015, 521: 43-47.
- [26] KAMINSKI R, CHEN Y L, FISCHER T, et al. Elimination of HIV-1 Genomes from Human T-lymphoid Cells by CRISPR/Cas9 Gene Editing[J]. **Nature**, 2016, doi: 10.1038/srep22555
- [27] YANG Y, WANG K, WU H. Genetically humanized pigs exclusively expressing human insulin are generated through custom endonuclease-mediated seamless engineering[J]. **Journal of Molecular Cell Biology**, 2016: 174-177.
- [28] ROTHEMUND P W. Folding DNA to create nanoscale shapes and patterns[J]. **Nature**, 2006, 440(7082): 297-302.
- [29] HAN D R, PAL S, Nangreave J, et al. DNA origami with complex curvatures in three-dimensional space [J]. **Science**, 2011, 332(6027): 342-346.
- [30] ERIK B, ABDULMELIK M, Johan G, et al. DNA rendering of polyhedral meshes at the nanoscale[J]. **Nature**, 2015, 523(7561): 441-U139.

会 议 信 息

会议名称(中文): 第二十一届全国生物固氮学术研讨会

所属学科: 动植物微生物学, 植物营养学

开始日期: 2016-12-02

结束日期: 2016-12-04

所在城市: 湖北省 武汉市

具体地点: 华中农业大学国际学术交流中心

主办单位: 农业微生物学国家重点实验室、华中农业大学生命科学技术学院、中国微生物学会农业微生物学专业委员会

联系人: 曹扬荣

联系电话: 027-62435859, 13264720378

E-MAIL: yrciao@mail.hzau.edu.cn

会议网站: <http://csm.im.ac.cn/templates/team/introduction.aspx?nodeid=9&page=ContentPage&contentid=4209>

会议背景介绍: 为了展示我国生物固氮研究的最新成果及进展, 加强与生物固氮研究领域相关科技工作者之间的交流与合作, 促进生物固氮研究在现代绿色农业中的应用。由农业微生物学国家重点实验室及华中农业大学生命科学技术学院、中国微生物学会农业微生物学专业委员会联合主办的“第二十一届全国生物固氮学术研讨会”, 将于 2016 年 12 月 2-4 日在湖北省武汉市华中农业大学举行。会议诚挚邀请全国从事生物固氮及相关研究领域的专家和学者, 就生物固氮领域的重大科学问题、实际应用中的关键技术、研究进展与合作交流开展广泛和深入讨论。会议主题: 生物固氮与现代绿色农业发展。