

跬步集

第 16 期

封面文章 & 连载

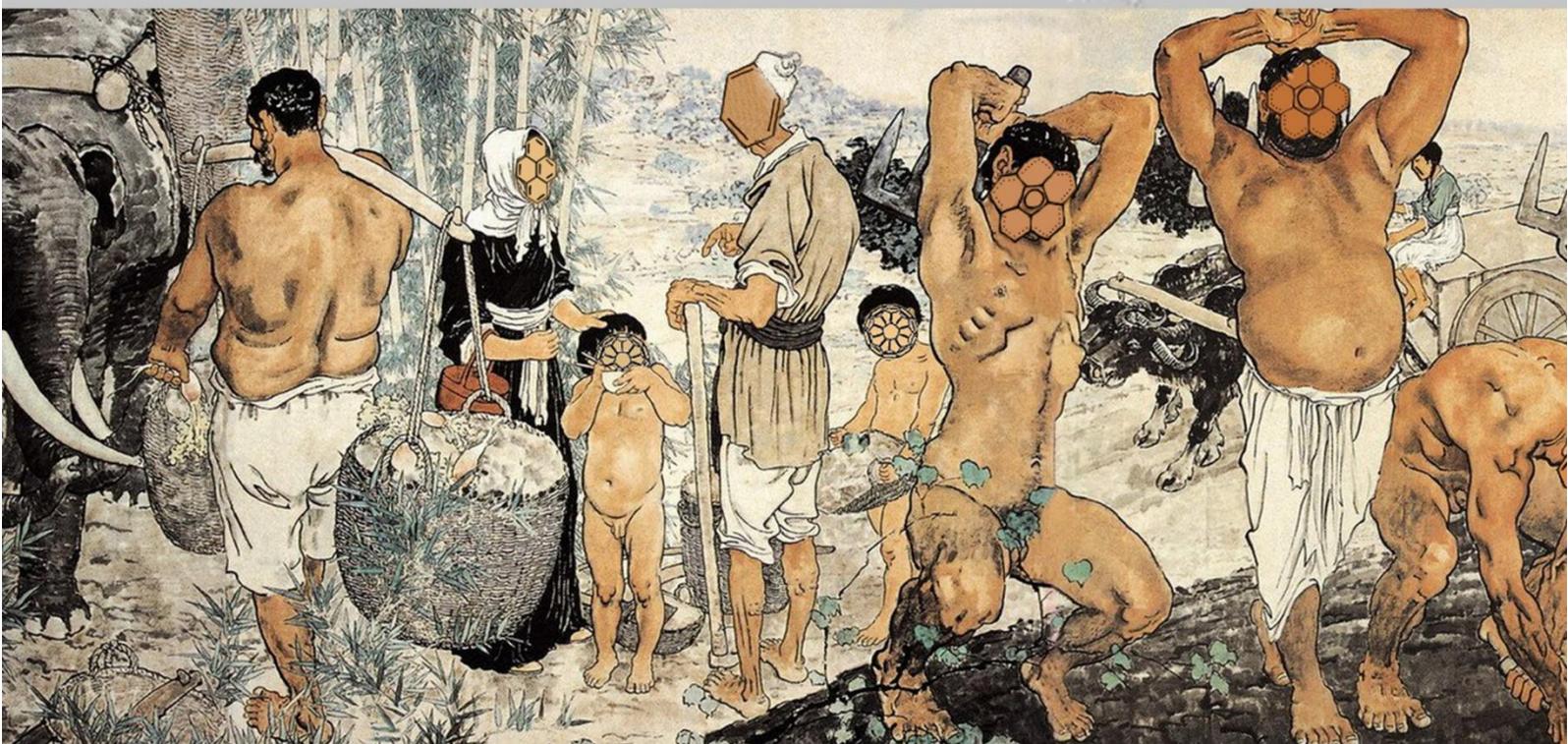
Page 1

芳香骨架的世界 (6) :
麦老师的书和SEGH-2017会上的报告

千字文

Page 7

小议DNA-SIP的数据重现性困境



Vol.16 3 July 2017

 garden-of-excellence/journal

目录

张干 芳香骨架的世界（6）：麦老师的书和 SEGH-2017 会上的报告

..... Page 1

江龙飞 小议 DNA-SIP 的数据重现性困境

李继兵

..... Page 8

钟广财 扁鹊和蔡桓公——听行家聊环境污染研究有感

..... Page 12

芳香骨架的世界（6）：麦老师的书和 SEGH-2017 会上的报告

张干

（续上期）

前段时间，在麦碧娴研究员的办公室讨论工作，一不小心，我瞭到她的书框里冷冷的角落，闲着一本《现代芳烃化学》（*Modern Arene Chemistry*），顿时眼放光芒、六神无主起来。假装很认真很亲切地听她说了一叨话后，终于，我忍不住打岔儿，问她“借书”，虽然我心里想“这么冷的书，反正你不看，我当然是不还了！”

话说，还正因为这书名，我才不得不调用脑袋里的“书呆子函数”，连查带蒙，琢磨了一下与“芳香”有关的英文表达。大概的心得，求教方家：（1）Ar=Aromatic=芳香；（2）Ar-ene=芳香烯=芳烃；（3）Aryl- =芳基；（4）Arh receptor=Aryl hydrocarbon receptor=芳烃受体，等等。

这本书是一些化学家，更多的是合成化学家写的，是《国外优秀化学著作译丛》的一本，由化学工业出版社。所以，可以说是一本“高端”著作，作者？如图（图1）。按说，这本书的立意，与我所要写的“芳香骨架的世界”的立意似乎有些远？不然。作为地球化学专业的，我当然更关心和好奇自然界的化学物质和化学过程，但人

造的世界是不是世界呢？也是呢！而这本书，正是说的人类对芳香烃的理解和对芳香烃结构、组成与功能规律的探索。故非大家不能为也（其实，在短时间、有限精力内，我也看不懂多少☺）。

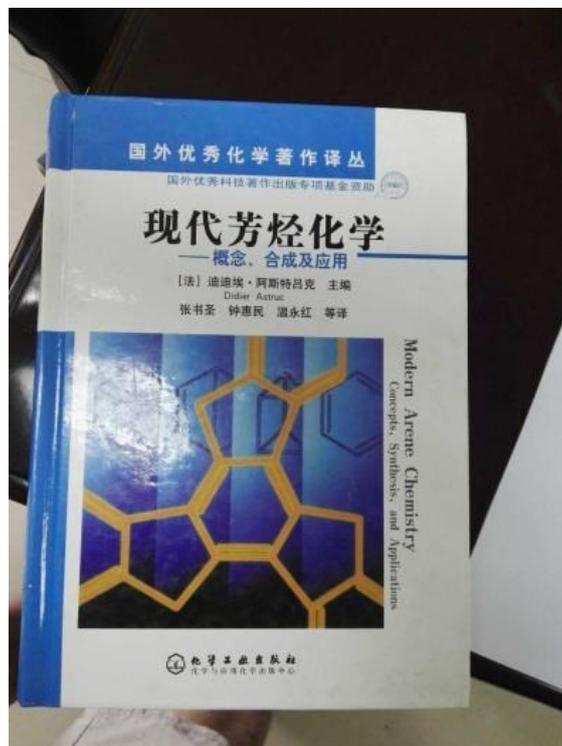


图 1 麦老师书柜里的书。

好玩的是绪论，高端到帅：“芳烃化学：从历史发展到艺术现状”！从“苯的历史”开始谈起，起首第一句话：“苯的历史是科学历史长河中最引人入胜的话题之一”，我晕～。一些“八卦”如：（1）苯（benzene）的名字的来历有争议，比较可能的说法，是来自安息香（benzoin），即从安息香树胶中提取的苯甲酸；（2）而当初也有人把苯命名为“Phene”，来自于希腊语的“Phainen”（闪光），缘于苯在燃烧时发出的明亮火光。虽然后来没人采用，但 phene 却给了酚（phenol）、菲（phenanthrene），等。

而下面的图（图2），则表明了合成化学家是多么的“无聊”，他们真是“把多环芳烃做成了花”（我师妹郑玫评价陶澍院士早期的工作：“把多环芳烃做成了一朵花”）。而 Mullen 的“第 4 代多亚苯基枝状体”（图3），却又是多象是我此前（本系列第 3 篇小文）介绍的 Yen-Mullin 沥青质模型啊！

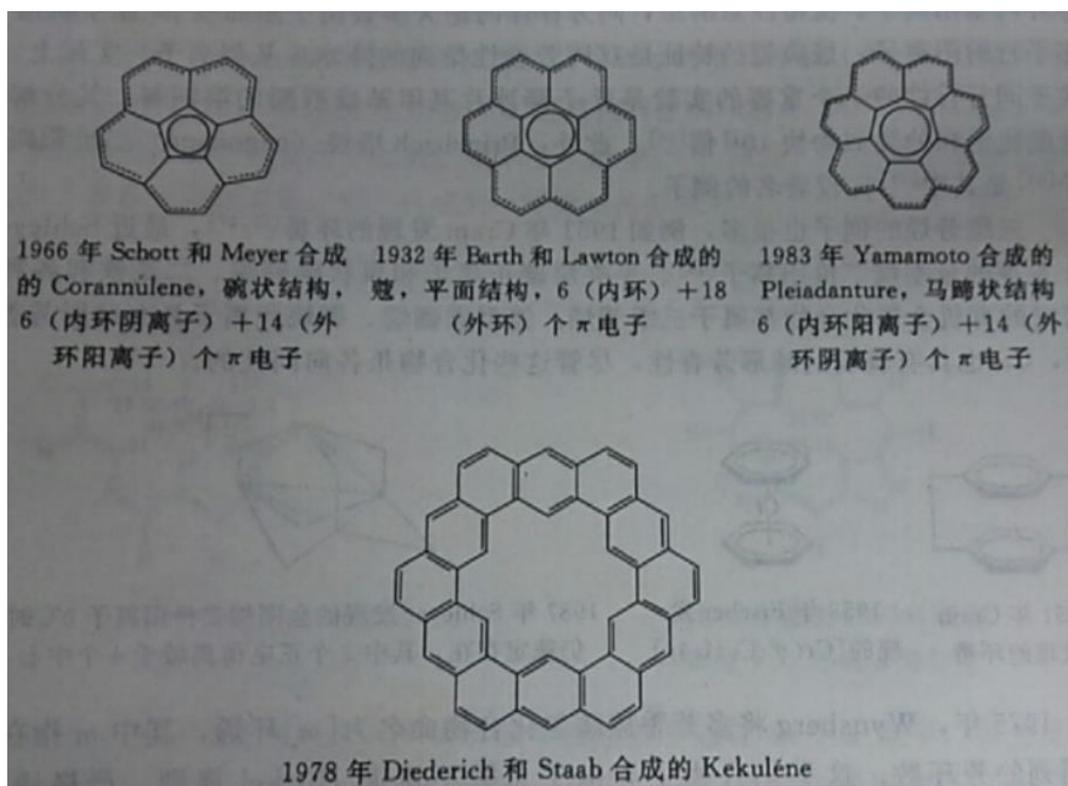


图 2 合成化学家们的多环芳烃 (PAHs) “作品”。

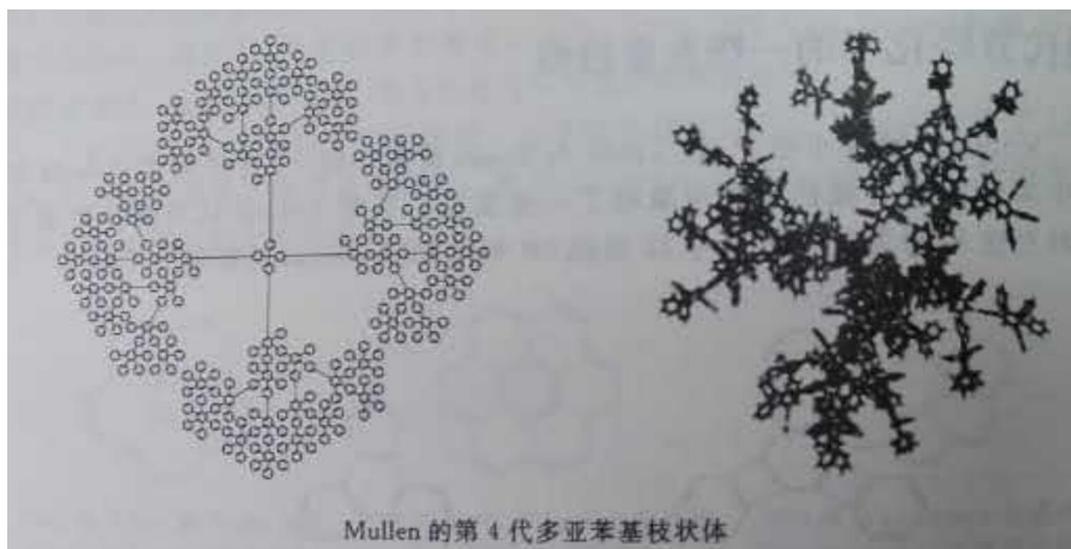


图 3 图名如图片文字©

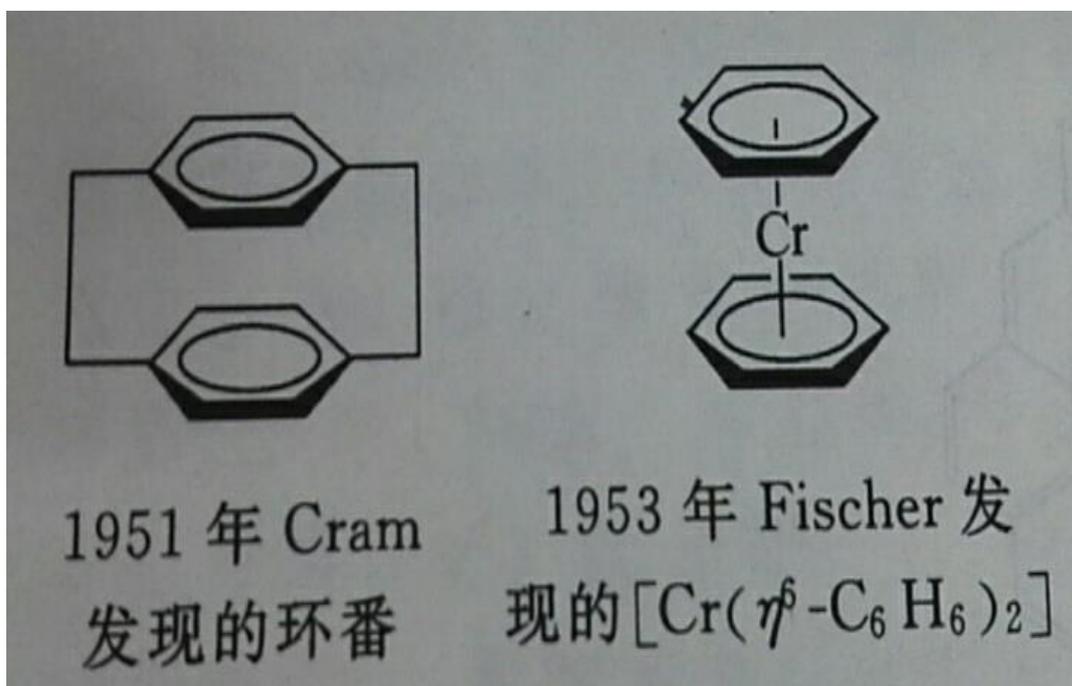


图 4 图名如图片文字©

我不厌其烦（因为值得）但又很厌其烦（因为要打字）地打下这些文字，好让自己多些印象：“除了这些经典的芳香族和多芳香族碳氢化合物，其它重要的芳烃有：卟啉、酞青、porphycens、杯芳烃、间苯二酚芳烃、枝状体（图 3）、环番（图 4 左）、金属有机芳烃配合物（如图 4 右）、元素芳烃、苯炔配合物和芳基及苄基配合

物、吡啶和多吡啶化合物、富勒烯和碳纳米管。”其中，最后出现的富勒烯和碳纳米管，当然不出意料！

今天上午，参加 SEG2017 会议，代表地化所致欢迎辞后，即在座上打起盹儿来。后来发现，除了陶澍院士小同行的长篇大论好英文让我照了些相外，最激动的，恐怕就是下图中这位老外的一张 PPT（图 5）。其中，有个“球”，C₆₀ 的富勒烯作基座，上面嫁接了氨基酸，再整个联结到磁性硅铁载体上，是一种新合成的纳米级（可见）光催化剂。这不由使我想起曾跳着看过的麦老师的书中的几处文字，说 C₆₀ 富勒烯是一种三维芳烃，在性质上，具有较弱的球形芳香性。

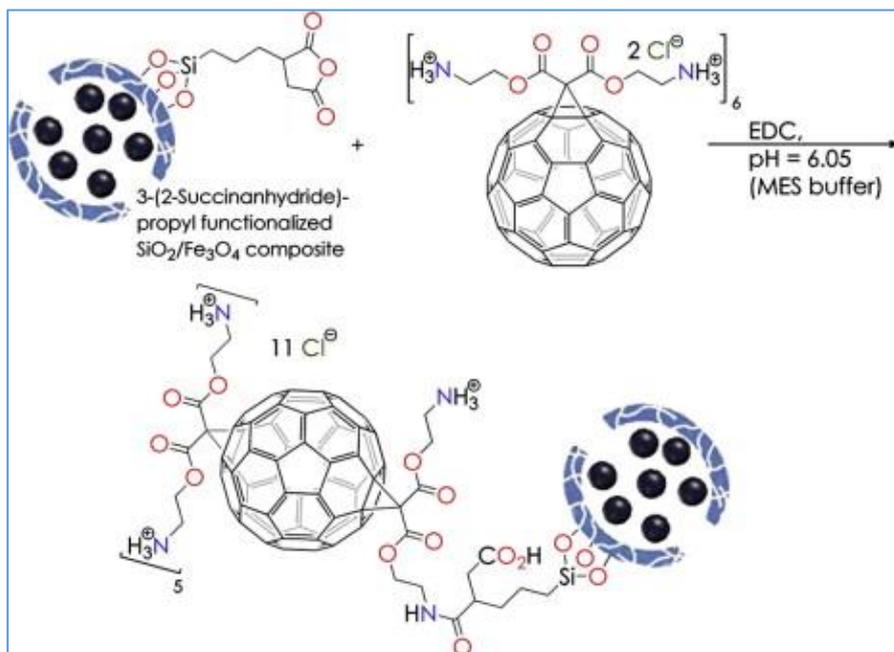
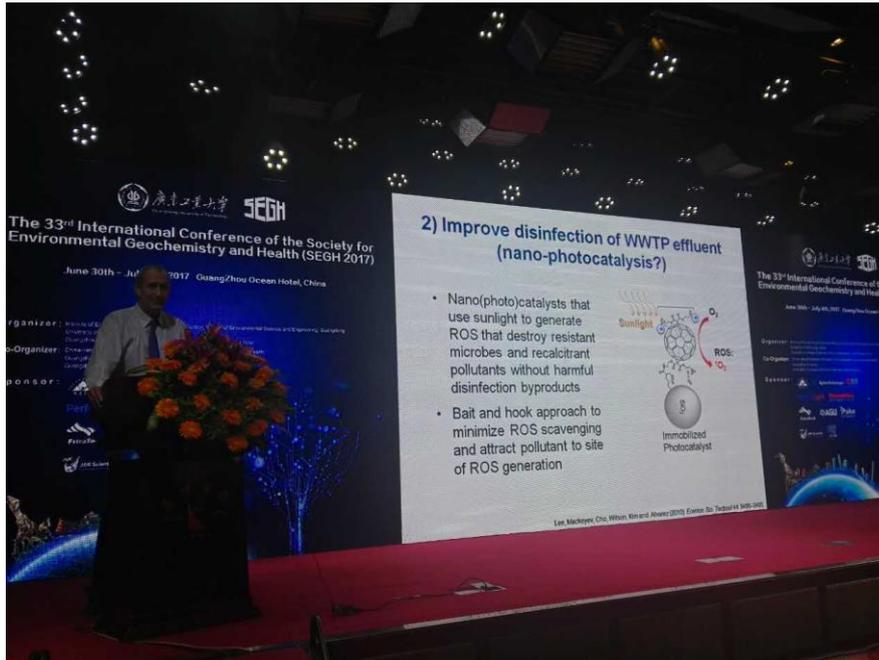


图5 这个“老外”的这张PPT上的这个“球”-C60。下图是我在其论文原文中截取的高清图。“老外”是美国Rice University的Pedro J Alvarez（这是西班牙名，佩德罗·阿瓦雷兹？），ES&T编委之一。

参考文献

1. 迪迪埃·阿斯特吕克【法】主编，《现代芳烃化学》，张书圣、钟惠民、温永红等译，化学工业出版社，2005年。
2. Jaesang Lee, Yuri Mackeyev, Min Cho, Lon J. Wilson, Jae-Hong Kim, and Pedro J. J. Alvarez. C60 Aminofullerene Immobilized on Silica as a Visible-Light-Activated Photocatalyst. Environ. Sci. Technol., 2010, 44 (24), pp 9488–9495.

小议 DNA-SIP 的数据重现性困境

江龙飞、李继兵

DNA-SIP 能够不基于纯培养，在原位条件下直接将环境中的微生物与其功能联系起来，为我们了解、探索未培养功能微生物提供了有力的技术手段。经过十多年的努力，DNA-SIP 已经在碳氮循环、污染物降解等领域得到了及其广泛的应用。目前，以“DNA stable isotope probe”作为主体关键词在 web of science 网站搜索，可查获 614 篇相关论文，在这些文献中，有一十分独特的现象，即基本上所有文献（抽取了高引用 50 篇，最新发表 50 篇粗略阅读分析）在鉴定功能微生物时未见重复数据（例外情况：部分氨氧化细菌古菌研究时 *amoA* 基因检测可见重复，但其微生物 16S rDNA 数据未见重复[1]）。数据重现性是科学研究的重要指标，表明实验结论的可靠性，在理想的条件下，假定结论正确，那么数据必定具有极高的重现性。然而，在 DNA-SIP 研究中，重复数据的缺位如此严重，达到了让人惊异的程度。在对数据重现性要求极高的当下，该现象背后必定存在着深层次的原因，本文欲对其原因进行探讨，并尝试提供一些解决思路。

实验成本限制

目前，稳定性同位素标记的化合物价格很高，而想要识别被稳定性同位素标记的生物标志物又需要达到一定的标记率，这使得标记

物这一块支出就十分高昂。在文献中，很多研究者提到会合并 3 个重复样本的 DNA 进行后续实验，同时，这些文献中也确实有电泳、定量等重复数据，从侧面反应了不少科研人员为了节约成本，采用小体系培养，导致 DNA 量不足的情况。

这一问题解决依赖于科研经费，我们能做的是将好钢用在刀刃上，在实验设计时下功夫，尽量在清晰解释科学问题的同时，降低实验量。

微生物群落形成特性

在面临环境条件选择时，随机性过程在微生物群落形成过程中扮演着十分重要的角色[2]。野外环境中，微生物体积小，具有极强的扩散能力，导致随机性过程被忽略。当进行 SIP 实验时，重复实验组之间互相隔绝，微生物的扩散能力为零，此时，微生物群落的组成由随机性过程主导。经过一段时间的培养，相同处理，不同重复之间的微生物群落极可能发生显著变化，引起功能微生物的丰度、组成发生变化，降低数据重现性。

虽然该问题目前得到直接解决，但是并不意味着科研价值的消失。我们认为，功能微生物的改变并非功能微生物不再发挥作用，而是丰度低于检测限。如果我们能够通过一定手段调控微生物群落结构，提高功能微生物丰度，便可广泛应用，不必纠结于是否能够反复检测到。我们需要做的是在鉴定到功能微生物后，进一步分析

其生理生化特性，为调控提供理论基础。这也是我们希望能够对功能微生物单细胞进行研究分析的原因。

实验技术及分析手段

扩增循环数，Taq 酶质量，引物匹配度，不同模板的扩增效率的固有差异或 PCR 后期优势模板自我退火扩增的抑制均会引起扩增产物之间的比值与模板相比发生巨大变化。研究发现，PCR 结果带有很强的随机性，重复性很差[3]。我们目前研究手段主要基于 16S 扩增子测序，这在很大程度上导致结果的不可重复。此外，目前功能微生物的鉴定没有一个准确的认知。一般来说，我们认为 ^{13}C 重层丰度比 ^{12}C 重层丰度高的微生物是功能微生物。但是高多少是高，没有准确的定义，研究者往往凭感觉，看丰度图，觉得高了就认为是。这种主观性的方法自然难以产生很好的重复性结果。

PCR 扩增引起的误差属于系统误差，除非其机理得道充分揭示，能够很好地控制该过程，否则难以消除。我们只能通过目前已报道的手段尽量降低该误差，并通过实验手段，增加实验组与对照组之间的差异，让生物学差异高于误差。至于功能微生物鉴定，通过技术重复，屏蔽随机误差，采用方差分析来判定差异可能是一个比较好的手段。

除了以上情况，DNA-SIP 还存在标记等问题，虽不会引起重复性问题，但会对结果的准确性产生影响。在目标微生物同化或者吸收底物之前，标记底物的稀释，可能会影响到目标微生物的鉴定。

如微生物在吸收被标记底物时也吸收其他形式的化合物，导致进入 DNA 的 ^{13}C 比例变小，从而导致了被同位素标记的 DNA 量的缩小，不利于研究优先利用底物的功能微生物。另外，该实验容易出现“交叉喂饲”现象， ^{13}C 标记底物经微生物代谢利用后也可能导致吸收了 ^{13}C 又变成新陈代谢的产物或中间产物。目前，尚未探明，需要吸收多少的 ^{13}C 标记的底物才可以将 ^{13}C -DNA 从 ^{12}C -DNA 中成功分离。据估计，当 20% 的 ^{13}C 标记底物进入 DNA 时，才可令 ^{13}C -DNA 从 ^{12}C -DNA 中成功分离。RNA-SIP 虽然能在一定程度上解决交叉喂饲的现象，但是 RNA 极易降解，在后期功能基因分析方面存在明显的劣势。可以考虑两种方法相结合来解决这一问题。

尽管 DNA-SIP 存有着一定的局限性，会造成结果的不确定性，但是当我们能够通过单细胞研究，确切掌握培养调控功能微生物生长时，这些问题均会迎刃而解。

参考文献

1. Xia, W.W., et al., Autotrophic growth of nitrifying community in an agricultural soil. *Isme Journal*, 2011. 5(7): p. 1226-1236.
2. Evans, S., J.B.H. Martiny, and S.D. Allison, Effects of dispersal and selection on stochastic assembly in microbial communities. *Isme Journal*, 2017. 11(1): p. 176-185.
3. Zhou, J.Z., et al., Reproducibility and quantitation of amplicon sequencing-based detection. *Isme Journal*, 2011. 5(8): p. 1303-1313.

扁鹊和蔡桓公

一听行家聊环境污染研究有感

钟广财

我喜欢看《东周列国志》。东周就是春秋战国时期。我常怀疑，春秋战国这部大戏把此后两千多年人类社会该有的故事情节都演遍了。

《扁鹊见蔡桓公》是一篇中学课文，出自《韩非子·喻老》，战国时期作品。故事讲述神医扁鹊三次遇见蔡桓公，三次指出蔡桓公患疾，桓公不信，终病入膏肓，寻扁鹊，扁鹊早知桓公神仙难救，逃走至秦国。故事传达了要防微杜渐，不要讳疾忌医的道理。

中学时的我便记住了以上道理。然而，随着年岁增长，我却发现以上故事最让人困惑的是：如果我是蔡桓公，我怎么判断扁鹊就是神医呢？如果，蔡桓公在第一次遇见扁鹊时便依照他的建议进行治疗，可仍是死掉了呢？

于是，我觉得蔡桓公真冤。近些年，我耳边时常回响着蔡桓公的控诉：“医之好治不病以为功”。意思就是医生喜欢给没病的人治“病”，把治好所谓的“病”当成他们的功劳。

时光穿越，两千多年后的今天，“环境污染研究人员”看似一个很现代的词，其实也属古已有之的一个“医”字——环境的医生。作为一名“环境污染研究人员”，我真期望自己能够足够仔细，提高专业知识水平，对施技对象的“病情”有恰当的陈述，唯恐落入蔡桓公的控诉啊。

我再细读《扁鹊见蔡桓公》，韩非子并没有明确扁鹊和蔡桓公的是与非。也许，这正是韩非子的高明，其意仅在描述医者及其施技对象（不等于病人）恒久的微妙关系，是深入思考这层关系的引子而已。