
新一代高效多重荧光原位杂交技术研制成功

作者：writer 来源：科学网

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/22130.html>

本文仅供学习交流之用，版权归原作者所有，请勿用于商业用途！

新一代高效多重荧光原位杂交技术研制成功

。近日，华中农业大学教授曹罡、副研究员戴金霞团队在《自然—通讯》发表新一代效率高、特异性强、信号强和背景噪音低的荧光原位杂交方法—p-FISH rainbow，突破了现有的技术壁垒，克服了目前荧光原位杂交技术领域的缺陷和不足，可广泛应用于动物、植物和病原微生物中多种生物分子的高效检测、细胞亚群和空间图谱的原位注释、染色体变异原位验证、多重蛋白共同检测和短核酸序列的检测，为生命科学研究和临床诊断提供了有力的工具。

π -FISH rainbow技术可同时检测多种生物分子，实现一网打尽。华中农大供图

生命体的细胞功能多样性源于细胞的异质性和组织环境的复杂性，确定组织环境中细胞类型和分子特性对于解析细胞—细胞相互作用和组织的功能机制尤为重要。近年来，尽管单细胞RNA测序(scRNA-seq)促进了细胞异质性的解析，却伴随着组织微环境和细胞空间信息的缺失，限制了对生命信息的深度解读。荧光原位杂交技术(FISH, fluorescence in situ hybridization)通过特异性杂交解析生物分子的表达水平和空间位置，极大地促进了细胞中基因空间表达信息的探究，加速了我们对组织微环境和功能机制的深入理解。

尽管目前荧光原位杂交技术经过不断地改进已经取得了巨大的进步，但仍存在一些挑战：当前方法通常需要大约1kb或更长的核酸序列用于多个靶标探针的杂交，才能产生足够的信号强度，限制了对短核酸序的检测；只能单独检测DNA、RNA和蛋白质，或共同检测RNA和蛋白质，还没有有效方法同时检测DNA、RNA和蛋白质；如何在实现高杂交效率和高信号强度的同时，保证低背景噪音仍然是原位杂交技术的一个关键挑战。

针对当前荧光原位杂交技术面临的挑战，该团队开发了杂交效率高、信号放大能力强、背景噪音低、特异性好、检测通量高、应用范围广的新型荧光原位杂交方法— π -FISH rainbow。

该方法具备高度创新性和优越性。新型 π 型靶探针(含2-4个互补碱基对)和U形放大探针的设计使该方法比目前主流的FISH方法，如smFISH和HCR等，杂交效率更高、背景噪音更低和信号放大能力更强。

该方法可以实现DNA、RNA和蛋白质多重分子的共同检测，这一突破对破译生物大分子复合物参与生命活动调控机制的研究具有十分重要的意义。

目前的荧光原位杂交技术方法还无法克服短序列的限制，难以实现对短序列RNA(如microRNA)、短序列DNA(如DNA突变、倒位、异位)以及可变剪接等分子的检测。 π -FISH rainbow方法可以高效检测上述短核酸序列分子的空间信息

该方法应用范围非常广泛，可用于动物、植物和微生物(细菌，病毒和寄生虫等)样品的检测，并且不拘泥于样本制备的限制，可适用于冰冻样本、石蜡样本和整体胚胎样本的检测。

该研究利用 π -FISH rainbow方法探究了重要的生物学问题并获得了新的发现。

他们成功鉴定了前列腺癌患者循环肿瘤细胞中雄激素治疗抵抗标志物雄激素受体剪接变体7 (AR V7)，解决了前列腺癌治疗中缺乏精准诊断的难题，为前列腺癌患者雄激素耐药性治疗提供了重要的临床指导。

该方法通过4个荧光通道组合编码，每轮可同时实现15个基因的检测，从而在同一张小鼠初级感觉皮层(S1)组织切片上通过两轮杂交检测了21个神经元的标记基因，不仅再现了小鼠S1皮层不同亚层神经元的空间分布，而且绘制了小鼠S1皮层中13个抑制性神经元亚群的空间图谱

由于 π -FISH rainbow的高灵敏度，该研究首次发现肿瘤细胞周期关键调控因子lncRNA MALAT1具有三种不同的亚细胞定位模式。其中，MALAT1的核聚集模式显示与miR145-5p的高度共定位。

这些研究展现了 π -FISH rainbow技术在基础科学研究和临床诊断中的巨大应用潜力。

曹罡、戴金霞为共同通讯作者，博士研究生陶影峰和周小六为共同第一作者。该研究得到了国家自然科学基金、广东省重点研发计划、中央高校基本科研业务费专项资金项目的资助。(来源：中国科学报 李晨)

相关论文信息：<https://doi.org/10.1038/s41467-023-36137-4>

作者：曹罡等 来源：《自然—通讯》

更多 科学进展 请访问 <https://www.iikx.com/news/progress/>

本文版权归原作者所有，请勿用于商业用途，[爱科学iikx.com](https://www.iikx.com)转发