

DOI: 10.13376/j.cblls/2024099

文章编号: 1004-0374(2024)07-0971-10

生命科学protocol类文献资源梳理及其发展趋势

董佳[#], 俎岑璇[#], 张悦, 刘纯溪, 张瑶, 邹少兰*, 范晓彬*

(天津大学化工学院, 天津 300350)

摘要: 研究结果公开发表与开放共享交流机制推动了近现代科学的快速发展, 信息技术为更好地存储和传播信息提供了技术条件。生命科学是一门实验科学, 生命内在的复杂性使得获取数据、支撑研究结果的方法的充分公开变得更加必要和迫切。针对出版物中方法细节报告通常不全、实验重现率低的局面, 以 reproducible step-by-step 方式撰写为特征的 protocol 得以快速发展。本文首次系统梳理了 protocol 文献资源; 从期刊中的单篇论文到期刊专栏、整刊, 再到专门网站和预印本存储数据库, protocol 出版方式的这些变化, 具体折射了实验方法逐渐独立于研究结果而开放共享的探索历程; 最后展望了发展趋势。

关键词: 生命科学; 开放共享; 实验方法; protocol; 文献资源; 可重复性; 存储; 数据库

中图分类号: Q-3 文献标志码: A

Review and trend of protocol literature resources in life sciences

DONG Jia[#], ZU Cen-Xuan[#], ZHANG Yue, LIU Chun-Xi, ZHANG Yao, ZOU Shao-Lan*, FAN Xiao-Bin*

(School of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, Tianjin 300350, China)

Abstract: The public publication and further opening and sharing of research results have promoted the rapid development of modern science, and information technology has provided technical conditions for better information storage and dissemination. Life science is an experimental science, and the inherent complexity of life makes the full disclosure of methods for obtaining data and supporting research results more necessary and urgent. In response to the situation that detailed reports on research methods are often incomplete and experimental reproducibility is low, protocols characterized by reproducible step by step fashion have been developed rapidly. This article provides the first systematic review of protocol literature resources. The changes in protocol publishing mode, from individual papers in journals to journal columns, whole journals, specialized websites, and preprint storage databases, specifically reflect the exploration process of experimental methods gradually becoming independent of research results and open for sharing. Finally, the development trend is predicted.

Key words: life science; opening and sharing; experimental method; protocol; literature resources; reproducibility; repository

近现代科学的快速发展很大程度上得益于科学的开放式探索, 自 17 世纪第一批科学期刊面世以来逐渐确立形成的研究结果公开发表与开放交流机制, 使得科学具备强大的自我修正与承继向前能力^[1]。而研究结果的获得离不开研究方法, 研究结果的公开和交流也必然包含了方法信息; 研究方法反过来也成为重复科学实验、确保研究结果和结论真实可靠的检验基础。

在生命科学领域, 生物体内在的复杂性导致科

研成果难以重现、难以转化的问题更为突出^[2-5], 研究更迫切需要方法的充分公开、交流和传承。一

收稿日期: 2024-03-11; 修回日期: 2024-04-16

基金项目: 2023年天津大学研究生院研究生创新人才培养项目(YCX2023015); 2023年天津市高等学校研究生教育改革研究计划项目重点课题(TJYGZ47)

[#]共同第一作者

*通信作者: E-mail: slzhou@tju.edu.cn (邹少兰); xiaobinfan@tju.edu.cn (范晓彬)

些出版商敏锐地意识到这一点,很早就启动了生命科学实验方法类纸版连续出版物的建设^[6-9],并延续至今。而在期刊论文方面,发表研究结果的文献中对方法的相关说明,长期以来一直仅限于“材料和方法(materials and methods)”部分,或再加上“辅助材料(supplementary material)”部分,实验细节展示往往不充分。而随着全球科研数据开放共享管理的推进^[1,10]及应对生命科学可重复性危机的需要^[2-5],更由于信息技术的飞速发展,打破了之前纸版期刊媒介及传播技术的限制,方法开放(open methods)进度越来越滞后于开放科学(open science)其他方面,如开放获取(open access)、开放数据(open data)和开放代码(open code)^[1,5,10]。

在解决上述问题、推进实验方法透明化和共享的进程中,protocol作为一种文献资源类型,被越来越多的出版机构应用到生命科学领域期刊、网站和数据库建设中,且亦随着信息技术的发展而不断升级实验方法信息存储的方式和容量。如今,生命科学技术发展是如此之迅速、protocol类文献资源是如此之普及,所有生命科学科研工作者,有意无意间,都会与它不期而遇。但另一方面,目前知名数据库如CNKI、CSCD、Web of Science、PubMed等,都没有对它全面和系统的介绍。因此,本文在介绍protocol定义的基础上,试图梳理出当前生命科学protocol文献资源的概貌,并对其应用和发展趋势进行总结和展望。

1 Protocol定义

“Protocol”一词最早于1541年出现在美国韦氏(Merriam-Webster)词典中,解释为“an original draft, minute, or record of a document or transaction”,而当前则共有四条释义^[11],第4条为“a detailed plan of a scientific or medical experiment, treatment, or procedure”,即“科学或医学实验、治疗或程序的详细方案”。

在生命科学领域,Springer出版社通过系列丛书Methods in Molecular Biology(中文名称《分子生物学方法》)的出版,形成了自己的protocol标志性特征^[8,12],并由该丛书主编、亦即数据库Springer Protocols的主编John M. Walker博士制定为protocol标准:“Protocols in Springer Protocols are written in a readily reproducible step-by-step fashion, opening with an introductory overview of the procedure, a comprehensive list of the materials and reagents needed to complete the experiment, and

followed by a detailed procedure that is supported with a helpful notes section with tips and tricks as well as troubleshooting advice”^[13-14]。随着该丛书中的研究方案和方法广受科研工作者好评并被器重,该protocol标准也成为全球生物医学和生命科学领域出版物中protocol建设和发布参考的基本标准。

在由欧盟主办,包括Nature、Cell、EMBO在内的全球多家权威出版机构共同发起,于2023年6月8日发布的倡议书PRO-MaP(Promoting Reusable and Open Methods and Protocols)^[5]中,protocol被界定为:“reusable step-by-step instructions describing how to implement a method”;“A sequence of operations that have to be executed to complete a scientific procedure. A well-written protocol is very detailed, with step-by-step instructions to allow others to reproduce or implement the method. Protocols often include references to equipment and equipment settings, software, reagents, chemicals and critical steps”。此含义在John M. Walker博士以可重复性reproducibility为目标的标准基础上,突出了“method”和“protocol”的关联,增加了参考文献。

下文对protocol文献资源的梳理也基于前述类似的protocol定义^[13-14];但为了同时兼容和囊括不同来源文献的不同格式和特色^[5],本文界定protocol基本特征为:以分步方式(step-by-step)编写的一种标准化的、可在实验室再现的“配方”或“方法”,至少包括操作步骤、用品清单及注释和提醒。事实上“protocol”找不到完全对应的准确的中文词汇,在英文protocol文献资源对应的中文翻译材料里,译词包括“实验室指南”“实验指南”“方法”“实验方案”“协议”等。

需要特别说明的是:在期刊论文出版物里,“method”往往泛指研究论文里的方法部分即“materials and methods”或“experimental procedures”的内容,其往往限于篇幅而极度精简、方法细节交代不全;与之对应,按照step-by-step规范补充实验细节、更充分公开方法信息、使更易重复和使用而独立成篇者,为“protocol”,但也偶有仍命名“method”亦或“manual”者。而一些书名中含“method”“manual”的方法类专著或连续出版物,也具备前述step-by-step、可重复性特征,因此,本文收集的文献范围,除了直接标注“protocol”类期刊论文、网站和数据库,书籍上也收录了protocol创始丛书Methods in Molecular Biology^[8,12-14]和另外三个出版

社影响巨大的系列图书出版物^[6-7,9]。

2 Protocol类文献资源梳理及发展

经过大量调研,发现按类别,如图书、网站、以JCR收录为重点的期刊和视频等来梳理protocol文献资源比较困难,这里改为按出版机构来介绍。选择在protocol题材、容量和格式、媒介等各方面建设上有代表性、创新性的出版机构,并综合protocol文献资源的出版年限、质量、数量和影响力等因素综合排序,结果见表1。

事实上,表1以外还有很多出版物、网站含有protocol专栏或论文,限于篇幅,仅在“2.7节”中简要介绍了中国的情况,其余资源则简单提及或省略。

2.1 Springer Nature Group

施普林格·自然集团在2015年5月由施普林格科学与商业媒体(Springer Science + Business Media)、自然出版集团(Nature Publishing Group)、帕尔格雷夫·麦克米伦(Palgrave Macmillan)及麦克米伦教育

(Macmillan Education)合并而成,是一家全球领先的科研、教育和专业出版的机构;旗下四家机构分别成立于1842年、1869年(首次出版*Nature*的年份)、1849年和1843年^[15]。2020年起旗下的自然出版集团业务板块称为Nature Portfolio,它是多学科研究和综述*Nature*期刊的合集。

2.1.1 Springer Nature Experiments

Springer Nature Experiments是全球最大、经同行权威认证的在线生命科学实验指南数据库,2018年7月由Springer Protocols数据库和三个Nature子刊整合而成。其收录的文献自1981年至今,覆盖范围极其广泛,涉及生物科学、分子医学、环境科学、化学和农业5个应用领域的15个学科;收集了65 847条“protocols & methods”(截至2023年底),且与时俱进、不断更新。网站方便用户对原Springer和Nature相关实验室指南内容进行一站式检索,增加了检索内容,提高了检索效率。

2.1.1.1 Springer Protocols数据库

亦可从<https://www.springernature.com/>下的相

表1 重要protocol文献资源

出版机构/文献资源	网址	类别/起始年份
Springer Nature Group施普林格·自然集团		
1.Springer Nature Experiments	https://experiments.springernature.com	JCR期刊、图书、数据库(含视频), 1981
2.Protocol Exchange	https://protocolexchange.researchsquare.com	数据库(含视频), 2011
Cold Spring Harbor Lab Press (CSHL Press) 冷泉港实验室出版社		
3.Cold Spring Harbor Protocols	http://cshprotocols.cshlp.org	期刊, 2006
4.Books about laboratory manual	http://molecularcloning.com	图书, 1982
John Wiley & Sons, Inc.约翰威利国际出版集团		
5.Current Protocols	http://www.currentprotocols.com/WileyCDA	期刊, 2021
6.Short Protocols in Molecular Biology	—	图书, 1989(1rd ed) -2002(5rd ed)
MyJoVE Corporation		
7.JoVE-Journal of Visualized Experiments	https://www.jove.com/	JCR期刊/视频类, 2006
Bio-protocol LLC		
8.Bio-protocol	https://bio-protocol.org/en (英文界面) https://bio-protocol.org/cn (中文界面) https://cn.bio-protocol.org/bio101/default.aspx	JCR期刊、图书、数据库(含视频), 2011
Elsevier Science荷兰爱思唯尔科学出版公司		
9.STAR Protocols	https://www.cell.com/star-protocols/home	期刊, 2019
10.Science Direct	https://www.sciencedirect.com	期刊数据库, 1999
Oxford University Press牛津大学出版社		
11.Biology Methods & Protocols	https://academic.oup.com/biomethods?login=true	JCR期刊, 2016
Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI)多学科数字出版机构		
12.Methods and Protocols	https://www.mdpi.com/journal/mps	JCR期刊, 2017
JMIR Publications医学互联网研究杂志出版社		
13.JMIR Research Protocols	https://www.researchprotocols.org	JCR期刊, 2012

关链接访问和使用。该数据库由 Springer 出版社于 2008 年推出, 文献覆盖范围为 1981 年至今, protocol 格式上包括四个部分: 介绍 (introduction); 材料 (materials), 包括仪器 (equipment)、试剂 (ingredients); 方法 (methods); 注释 (notes)。收录 60 000 余篇, 占总库 protocol 总量的 95% 左右; 涉及物种 200 个, 数量最多是人类、鼠、酿酒酵母和大肠杆菌, 合计占比 42.62% (截至 2023 年底)。

此库 80% 以上 protocol 来自 *Methods in Molecular Biology* 丛书系列。此丛书自 1984 年至今共出版了 2 754 卷^[14]; 它是 Springer 出版社最早认识到生命科学领域迫切需要实验室指南而出版的第一份专门现代实验室指南出版物^[2]; 它率先提出了生命科学的最佳实践和标准, 并形成了开创性系列 Springer Protocols 的核心, 其发展的标准化 protocol 分步方案方法撰写格式^[8,12-14] 不仅为 Springer Protocols 所用, 亦为世界所公认和接受。其中部分图书如 *Basic DNA and RNA Protocols*、*Plant proteomics: methods and protocols*、*Biological aging: methods and protocols* 和 *Metagenomics: methods and protocols* 等已被译为中文, 由科学出版社出版。

此库 protocol 还录自如下丛书: (1) *Springer Protocols Handbooks*: protocol 占总量 4% 左右, 从 2009 年至今共出版了 87 卷^[16], 含 *Hydrocarbon and Lipid Microbiology Protocols* 系列专题 17 卷; (2) *Methods In Biotechnology*: protocol 占总量 <1%, 从 1997 年到 2007 年停刊共出版的 24 卷中, 有 9 卷为 protocol 专题, 为农业、食品科学和医学的新方法^[17]; (3) 三个医学类丛书 *Methods In Molecular Medicine*、*Neuromethods* 和 *Methods In Pharmacology and Toxicology*; (4) 食品科学类丛书 *Methods and Protocols in Food Science*; (5) *Biological Methods*。其他非丛书来源图书被归类为 Non Series。

将实验方法类纸版出版物整合到线上数据库里, 使所有文章能更方便地被检索和查阅、下载, 极大地提高了文献资源的可发现性 (findability) 和可及性 (accessibility)。另外, 部分 protocol 增加了简短视频来展示一些关键操作步骤, 实验细节得以更充分公开^[12]。

2.1.1.2 Nature/Nature Portfolio 系列

三个子刊分别为 *Nature Methods* (自然 - 方法)、*Nature Protocols* (自然 - 实验室指南) 和 *Nature Reviews Methods Primers* (自然综述 - 方法导论), protocol 类文献占总库比例约 5%; 其中以 *Nature Protocols*

来源文献占 Nature/Nature Portfolio 出版社文献来源的 90% 以上。部分 protocol 也增加了简短视频。

Nature Methods 2004 年创刊^[18], 2005 年起改为月刊, 期刊网站亦可从 <https://www.nature.com/nmeth/> 直接访问。该刊面向实验室实践一线学术和行业研究人员, 主要涉及生命科学基础研究领域, 也与化学、物理和计算机科学领域有部分交叉; 通过如下栏目发布生物研究新方法和新工具: (1) Protocol: 标准格式包含材料 (materials) (试剂 reagents 和仪器 equipment)、程序 (procedure)、故障排除表 (troubleshooting table)、关键步骤 (critical steps)、评论 (comments), 部分有应用案例 (example of application)^[18] 或方框 (box)^[19]; 此栏目维持到 2008 年, 5 年间共发表 39 篇; (2) Classic Protocol: 对已有 protocol 方法的补充和评论, 此栏目维持到 2006 年, 共发表 40 篇; (3) 其他方法类栏目。后来随着期刊 *Nature Protocols* 出版, *Nature Methods* 定位更注重为研究人员提供发布新方法以及对生命科学领域久经考验的基础研究技术进行重大改进的讨论平台, 注重文章的原始创新性和前瞻性。

Nature Protocols 于 2006 年首次出版, 是响应 *Nature Methods* 中 protocol 部分流行趋势, 也基于出版集团对实验方案重现性、重要性有持续认识的结果^[20-21]。随着它的出版, *Nature Methods* 中的 protocol 栏目部分论文也逐渐转移到此期刊中发表, 终至 2009 年取消。*Nature Protocols* 论文格式中增加了介绍 (introduction)、时间安排 (timing)、预期结果 (anticipated results) 和数据分析 (data analysis) 等^[20]; 追求实验可重复性, 注重方法的系统性和完整性; 将已发表论文中的方法一通常对应 “materials and methods” 部分, 单独发布更详细的、带有流程图 (workflow) 的逐步实验方案—protocol 类论文 (包括 protocol 和 protocol 扩展)。以月刊形式发行, 网站亦可从 <https://www.nature.com/nprot/> 直接访问。截至 2023 年底, 该期刊共发表 protocol 文章 3 360 篇。

Nature Reviews Methods Primers 是 2021 年 1 月创刊出版的在线期刊, 网站亦可从 <https://www.nature.com/nrmp/> 直接访问。该刊发表高质量的方法导论综述文章, 关注于分析、应用、统计、理论和计算方法在生命科学和物理科学中的应用, 其中也包含了对 protocol 建设的综述。截至 2023 年底, 该期刊共发表 157 篇文章, 涉及 protocol 的有 48 篇。

2.1.2 Protocol Exchange

Protocol Exchange 是 Nature 出版社出版的另一

个用于共享科学研究 protocol 的预印本开放存储库, 亦可从网站 <https://www.nature.com/nprot/protocolexchange> 直接访问。其特点汇总于表 2^[5], 具体为: 不经过同行评审而由作者直接发布, 并免费提供给科学界使用和评论 (open access); 能通过 DOI 号被引用 (DOI citable); 版本能不断更新并升级 (versioning); 长期存储。虽未经同行审批, 但其书写规范仍然沿袭 John M. Walker 博士制定的规范^[13-14], 涉及了 100 个学科 (其中 50 个属于生命科学领域)、6 个基础科学领域 (生命科学、物理学、化学、地球科学、天文学和数学), 从 2006 年至今的总数为 1 771 篇 (截至 2023 年底), 其中部分还附带有视频。

2.1.3 Protocols.io

网址 <http://Protocols.io> 建立于 2012 年, 是面向全球用户开发和共享可重复方法的存储数据库平台, 2023 年 7 月 26 日被 Springer Nature 集团收购。该平台将 protocol 定义为 “a formal or official record of scientific experimental observations”, 主要内容包括 steps、guidelines、warnings、forks、metadate、materials、metrics; 所有 protocol 都是动态、交互式的, 可以实现多人共建 (forking), 读者可以针对方案中的某一步骤向发布者提问; 还可以通过方案克隆对其进行修改调整, 得到自己的方案并升级 (表 2)。部分文章在 step 一栏中还有视频 (video), 视频包含一些补充信息或作为数据信息的一部分, 直接展示在该网页中或在 step 中链接到外部链接。至 2023 年 7 月共约有 15 000 个公共方案, 并以每年约 2 000 个 protocol 的速度增长。

2.2 Cold Spring Harbor Laboratory Press

美国冷泉港 (Cold Spring Harbor) 实验室是一家非政府、非营利的科研与教育机构, 被誉为世界生命科学的圣地、分子生物学的摇篮, 名列世界影响最大的十大研究学院榜首, 也是国际生命科学的会议中心与培训基地。冷泉港实验室出版社 (Cold Spring Harbor Laboratory Press) 成立于 1933 年^[22], 起初主要出版《定量生物学年会》等会议论文资料,

后来在实验室工作人员经验积累和实验技术培训教材基础上开发选题、不断更新完善而成 “实验室手册” 系列图书^[23]; 2006 年开通在线资源 (表 1)。作为世界公认的科学出版机构, 冷泉港实验室出版社在生物医学出版领域形成了鲜明的特色, 出版的生物医学名著享誉全球, 对生物医学发展起到了重要的推动作用。出版的 protocol 资源分述如下。

(1) 期刊 *Cold Spring Harbor Protocols*: 中文名称《冷泉港实验室实验方案》, 是生命科学基础学科下的跨学科在线期刊, 提供细胞、发育和分子生物学、遗传学、生物信息学、蛋白质科学、计算生物学、免疫学、神经科学和成像等方面的研究方法, 为科研工作者创造了共享实用课程及指导手册所提供的最新技术方面最佳方法的网络平台。Protocol 内容都是当时最新的, 且格式一致、易于遵循^[24]; 从 2006 年首次发表 protocol, 截至 2023 年底, 共发表了 3 296 篇 protocol 文献。

(2) 实验室手册图书: 具有丰富的基础知识和易于参照的实验方案。以其中含有微生物内容且应用广泛的三本图书为例介绍如下:

Molecular Cloning: A Laboratory Manual: 中译名《分子克隆实验指南》, 1982 年出版第一版, 目前已经更新到第四版^[7,23]。它是世界上最受欢迎、最具影响力的实验室操作指南, 40 多年来, 其介绍的分子克隆技术一直是全球生命科学领域实验室专业技术的基础。该书提供了标准且详细的实验操作步骤和技术细节, 极大提高了科研结果的可重复性, 被誉为现代生物科学技术 “圣经”。内容兼顾了微生物、哺乳动物和植物等物种, 微生物中尤以大肠杆菌和酵母技术方案覆盖全面。

PCR Primer: A Laboratory Manual: 被视为《分子克隆实验指南》的姊妹篇。第一版由 Dieffenbach CW 和 Dveksler GS 著, 1995 年出版, 中译版本《PCR 技术实验指南》由黄培堂等译, 科学出版社 1998 年 8 月出版; 第二版由 Dieffenbach CW 和 Dveksler GS 等著, 于 2003 年出版。

表2 Protocol存储数据库示例

Repository存储数据库	Open Access 开放获取	Versioning 版本控制	Forking 多人共建	DOI Citable DOI引用	Long-term Preservation Strategy 长期存储策略
Protocol Exchange	√	√	×	√	√
Protocols.io	√	√	√	√	√
Bio-protocol Preprint repository	√	√	√	√	√

Methods in Yeast Genetics : 2005 年出版, 科学出版社 2009 年出版中译版本《酵母遗传学方法实验指南》, 介绍了酵母研究中最常用的 11 个实验以及 28 种技术方法。

2.3 John Wiley & Sons, Inc.

1807 年创立于美国, 是科研和教育出版领域的出版商; 2010 年推出在线平台 Wiley Online Library。出版范围涉及生物、医学、农学、理工、人文、商科等学科, 出版物尤以医学科研领域的影响力最为广泛, 包括实验室指南系列、临床指南、医学期刊、医学特刊、前沿报道等^[25]。其中最为经典的 protocol 文献来源之一是期刊 *Current Protocols*, 涵盖了生命科学所有领域基本的和先进的实验设计、科学研究方法和分析, 在 1987—2023 年期间出版的 25 000 多项循序渐进的技术、方案和实践概述中, 标准格式 protocol 共 7 691 篇, 由该领域专家撰写, 按严格标准编辑^[25-26]。该期刊鼓励对 protocol 的不断更新, 以跟上最新的发现和发展^[26]。

图书上最为经典的 protocol 文献, 一个是图书 *Short Protocols In Molecular Biology*: 是已出版并不断更新的 *Current Protocols In Molecular Biology* 的简便版本, 由原作者从该书中筛选出来的 protocol 的缩略版本的集合, 囊括了当今分子生物学的主要技术, 以及许多广泛使用的实验室操作和计算步骤; 是一本集分子生物学最新技术的基本原理和操作方法之大成的工具书。首次出版于 1989 年^[9], 目前最新版本为第五版, 出版于 2002 年; 中译版本《精编分子生物学实验指南》由金由辛、包慧中、赵丽云等译, 出版于 2008 年。早期版本已在实验室中广泛用作基准, 后续版本包含新的 protocol, 以及此前 protocol 的更新版本。本书因其独特的红色封面装帧风格, 被称为“分子生物学红皮书”, 与 *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 一书齐名, 常被西方学者并称为现代生物科学技术的“圣经”^[27]。另一个是图书 *Short Protocols in Cell Biology*: Juan S. Bonifacino 等著, 2003 年出版, 中译版本《精编细胞生物学实验指南》由章静波等译, 2007 年 1 月科学出版社出版, 是最权威的综合性的细胞实验技术操作指南。此外, *Short Protocols in Immunology*、*Culture of Human Stem Cells* 和 *Current Protocols in Protein Science* 等书也都由科学出版社出版了中译版本。

2.4 MyJoVE Corporation

世界最早使用视频展示实验方法的出版商, 也

是世界领先的科学视频制作方和提供方, 为全球数千所科研机构、院校的数百万名教育工作者和科研人员提供研究、教学和学习工具。期刊 *JoVE* 中的 protocol 包括摘要 (abstract)、介绍 (introduction)、程序 (protocol)、代表性结果 (representative results)、讨论 (discussion) 和材料 (materials) 六大部分, 网站同时提供视频和 PDF 版本。通过视频可以清晰而直观地了解生命科学实验的多方面和复杂细节, 视频没有字幕, 但页面下方会显示相应时间段对应的内容, 可搭配 PDF 版本文章一起查看^[28]。与 *Springer Nature Experiments* 数据库中的视频资料不同的是, *JoVE* 中的视频即是一篇完整的 protocol, 涵盖了一篇 protocol 的所有内容; 而后者展示的视频仅为 protocol 中的部分关键操作示范, 或实验现象展示。截至 2023 年底, 该网站共有 16 180 篇 protocol。

2.5 Bio-protocol LLC

为解决生命科学实验难重现的问题, 来自斯坦福大学的一线科研工作者于 2011 年在斯坦福大学创立 Bio-protocol LLC, 通过下述期刊、网站和服务, 致力于构建一个全球网络平台——“做生命科学的 GitHub”, 实现生命科学领域科研方法的分享、交流与合作, 提高科研的可重复性, 助力推动全球科学界的进步。目前已与 *eLife*、*Science/AAAS*、*Cell Research*、美国细胞生物学学会 (ASCB) 等国际知名学术期刊或机构合作, 致力于科研方法的透明度和共享。旗下拥有四个主要平台。

(1) 在线期刊 *Bio-protocol*: 2011 年创办, 每月 5 号和 20 号出版, 旨在打造“a platform for researchers to find, share and discuss life-science protocols”。期刊专精于遴选、发表实验方案, 注重可操作性和严谨性, 要求发表内容翔实、清晰, 经过同行评审; 除了背景 (background)、材料和试剂 (materials and reagents)、仪器 (equipment)、程序 (procedure)、数据分析 (data analysis)、一般注意事项和故障排除 (general notes and troubleshooting)^[29], 视情况还有软件和数据集 (software and datasets)、验证 (validation of protocol) 等^[30]。创刊至今已经发表了来自两万多名科研工作者的 4 800 余篇 protocol 文章。目前该期刊已被 PubMed、Web of Science、Scopus 以及 DOAJ 等数据库收录, 是全球为数不多的拥有影响因子的生物学实验方案期刊之一。

(2) 网站 Bio-101: 专注于发布高质量、能开放获取的中文生物实验方案电子手册, 亦即 eBook。由 *Bio-protocol* 中国编辑部和全国各项尖研究团队

联合推出,至今已出版9本,其中每一份实验方案都经过了同行评审,并能免费下载。

(3) Bio-protocol Exchange: 从上述两个网站下的链接进入,提供实验方法(method)和方案(protocol)的查找、分享和讨论,可以帮助读者直接从公司合作出版商及其出版期刊的任何研究文章的“materials and methods”部分索求所需的单独而详细的protocol,如*eLife*期刊2019年8月21日发布消息所述:“Our new reproducibility- focused integration with *Bio-protocol* lets you request a detailed protocol from any article on *eLife*”。目前已经拥有6 000 000余篇简要实验方法可供查找。

(4) Bio-protocol Preprint repository: 为预印本存储数据库,2023年6月份开通,可从前述网站下的链接点击进入,目前已经囊括了Bio-101上未经同行评审的实验方法2 000余篇。“BP Preprint supports versioning and forking of protocols, and provides DOIs for formal citation”,该库亦具备表2所示特征。

Bio-protocol LLC网站及其产品注重互动、交流,提供了Q&A板块,可进行提问和被回复、被解答。

2.6 Elsevier Science

中文名称为爱思唯尔。1880年现代爱思唯尔出版公司成立,经过140余年的发展,先后并购了Cell Press、Academic Press等多家出版社,爱思唯尔成为全球最大的科技与医学出版机构^[31],旗下protocol类主要文献资源介绍如下两类。

2.6.1 Cell Press出版的期刊STAR Protocols

为开放访问的、经同行评审的protocol期刊,内容为生命科学、地球科学和物理学各个基础学科领域的分步式实验和计算protocol。STAR是Structured Transparent Accessible Reproducible的首字母简称;protocol包括以下部分:概述(summary)、前言(before you begin部分)、关键资源表(key resource table)、材料及设备(materials and equipments)、逐步方法细节(step-by-step method details)、预期结果(expected outcomes)、局限性(limitations)、问题处理(troubleshooting)。截至2023年底,共刊登2 702篇文章,其中2 687篇为protocol。

事实上,Cell Press是在论文投稿方法模板STAR Methods基础上进一步升级、扩大出版物范围而于2019年出版期刊*STAR Protocols*的。STAR Methods里的STAR是“Structured Transparent Accessible Reporting”的简称;在2016年启动的旨在让研究

者实验材料和技术等信息更透明、更清晰、更容易获取的“STAR”计划^[32]里,出版社要求作者将其研究论文内有关实验方法的详细内容提交到线上发布(<http://www.cell.com/star-methods>),为此将其发表文章中原来的方法部分从“experimental procedures”修改为“STAR methods”,此模板现已通用于所有Cell Press生命科学期刊以及*iScience*。

2.6.2 Academic Press出版的图书

Academic Press出版生命科学、神经科学、食品科学与营养、环境科学等极广泛领域的参考书、连续出版物和在线产品。其中对于生命科学领域研究人员来说非常重要、影响很大的突出产品是系列丛书《酶学方法》(*Methods in Enzymology*)^[6,33]。该丛书于1955年首次出版,目前已更新至693卷,且仍在持续更新;内容覆盖微生物学、生物化学、癌症研究和遗传学等,每卷和章节不仅包括背景知识,还包括具体的研究技术、详细的实验程序和方法^[34],反映了当时的一些最新重大技术进展,如2014年出版的第546卷*The Use of CRISPR/Cas9, ZFNs, and TALENs in Generating Site-Specific Genome Alterations*。

2.7 其他protocol文献资源简介

Biology Methods & Protocols: 发布的论文主要介绍或使用生物科学、生物医学、临床前和转化研究中的新方法或改进方法^[35],还发表专门研究领域中使用的方法的评论论文。但典型格式的protocol发文章量很小,截至2023年底,共发表6篇。

Methods and Protocols: 多学科、同行评议的科学期刊,为发表解决生命科学、生物医学、化学以及其他相关科学领域问题的新方法提供了一个高级论坛,鼓励在现有技术基础上发布新的protocol,以及对尖端方法进行重大改进和发展。所有文章都必须提供背景信息(以了解基本原理)、完整的实验细节以及与现有protocol或method的比较,鼓励附带视频演示并在网上发布^[36]。检索到该刊1996—2023年间共发表254篇protocol文章。

JMIR Research Protocols: Pubmed和Scopus索引期刊,发表经过同行评审、可公开获取的研究想法和资助提案、研究和实验方案、现行研究报告、当前的方法,以及试点研究或形成性研究的初步结果^[37],文章为医疗类,不涉及微生物。

中国生物物理学会英文期刊*Biophysics Reports*(中文名称《生物物理学报》)的文章类型包括了方法(methods)、方案(protocols)、原创文章(original

articles)、评论/迷你评论 (reviews/mini-reviews) 等, 从 2015—2023 年共出版 50 期, 发表 protocol 文章 29 篇^[38], 内容覆盖生物物理学、细胞生物学、免疫学、生物化学、分子成像、生物信息学等领域和技术。

科学出版社推出的《生命科学实验指南系列》丛书, 至今已陆续出版了 42 本 (见 <http://www.sciencep.com/>), 包括了部分前述 Springer、CSH、Wiley 和 Elsevier 著名出版社经典 protocol 类图书的中译本; 另外,《现代工业微生物学实验技术》和《医学微生物学实验指南》等书, 每一个实验的撰写, 亦具备典型的分步、可重复性 protocol 风格。

国内提供实验技术和实验方案的论坛网站丁香通网址为 <https://pro.biomart.cn/lab-web/>, 收集了 10 000 多条生物学实验概况及操作方法, 其下有微生物专题、相关实验方案有 600 余条。另有小木虫网站 <https://muchong.com/bbs/> 等。这类网站的优点在于可以直接与其他科研人员互相交流实验经验、分析失败原因、寻求技术指导等; 缺点在于网站上的内容未经同行审批, 这导致其上提供的部分实验方案可信度不如专业平台, 参考时需要仔细筛选。

3 Protocol文献资源发展总结和展望

针对之前纸版学术期刊研究论文材料和方法一般仅在“materials and methods”“experimental procedures”等部分被简单介绍、信息不全也无法单独引用的情况, 如“2 Protocol 类文献资源梳理”部分所示, 从学术期刊研究论文中的方法部分 method, 到独立成篇、自成体系的 protocol 论文、专栏、专刊、网站和预印本存储数据库, protocol 类别文献资源存储和传播方式及容量上的不断升级换代, 反映的是生命科学研究方法信息被重视、逐渐剥离研究结果而被独立出版、自身发展成为科研数据一部分的整体趋势。信息技术的发展和应用使得科研方法的开放共享也发展出了独立的存储数据库管理和服务, 并通过下载链接、标识和引用方式与以期刊为主的在线出版平台的方法论文实现关联。

这个变化可视为科学开放推进共性下的生命科学开放的个性化推进的结果, 细述如下:

(1) 全球研究结果和科研数据开放共享大形势: 研究结果的公开发表与开放交流机制推动了近现代科学的快速发展, 信息技术的飞速发展则打破了之前以纸版期刊为主的媒介及传播技术在信息存储和传播上的限制, 为更充分公开作为研究结果证据的

数据信息提供了技术条件, 科学研究随之也日益表现出数据密集型和以数据为中心的特征, 推动科学研究进入大数据时代, 数据出版被视为推动科学数据开放共享的有效方式而受到重视^[1,10]。数据公开, 作为获得数据的实验方法的公开也势在必行, 如 Giraldo 等^[39]所述: “If data must be public and available, shouldn't methods be equally public and available?” 另外, 方法应该是科研人员创造的最可重复使用的输出的一部分; 更进一步, 只有理解了数据是如何生成的——包括数据收集方法以及实验设计的局限性, 我们才能充分解释和重用数据, 以生成值得信赖和有用的数据结果, 缺乏可公开获得的详细方法破坏了对已公布数据的信任, 严重限制了新方法的使用, 以及研究人员、监管机构和其他机构对由这些方法产生的数据的使用^[5];

(2) 生命具有内在的复杂性: 生命被公认是地球上最复杂的现象之一, 生命系统的遗传变异、代谢及调控的时空动态变化和生命物质的柔性等决定了生命过程的复杂性。其中, 人和动物生命体系的构造和生理活动的调控更为复杂, 单以作为常用生物学实验材料的细胞系和抗体而论, 细胞系自身容易被污染且会自发变化, 抗体特异性和选择性质量控制的批次验证难; 进一步, 在体外实验中获得的研究结论不能简单地推广到活体实验, 等等^[4]。因此, 生命体系自身复杂性及其研究方法复杂性都导致生命科学研究的实验重现率低, 尤其在生物医学、动物领域^[2-5];

(3) 生命科学研究实验可重复性危机意识及行动: 美国肿瘤生物学家 Errington 在 2013 年发起了对已经发表的生命科学研究论文进行可重复性检验的研究项目^[40], 低的实验重复率结果导致了科学共同体对可重复性验证问题的高度关注, 出版界一些期刊如 *Science*、*Nature*、*BMC* 等率先革新了期刊出版的有关政策, 要求作者投稿时公开原始支撑数据、促进数据开放共享, 另一方面也加强了研究方法开放共享, protocol 论文及其投稿的可重复性地位提升, 投稿要求实验方法的透明公开、规范, 并鼓励可视化和数字化展示手段^[2-5, 39-43]。

事实上影响实验可重复性的主客观因素相当多, 方法开放共享只是解决生命科学可重复性危机的基础一环。另外, 方法的特殊性决定了方法开放共享管理与实践的特殊性。以实验仪器和试剂耗材为例, 科技和社会的发展会导致它们不断变化, 最新实验方法被不断开发出来并使用的同时, 旧版本

的保留也很重要,有版本编号且不断升级就非常必要(表2):影响实验结果的因素是如此之多,再严格的方法类论文投稿要求也仍然可能漏掉影响实际操作效果的信息,视频展示^[43]和人员之间的直接沟通交流(forking),也是提升可重复性的有效手段。

因此,对比数据开放共享和方法开放共享,二者既紧密联系又有区别^[1-5,10,39-43]。一方面科研数据开放共享的目标、原则和实践引领和推动了科研方法开放共享,二者都沿用了科研共同体的传统知识成果发布体系,并充分利用了现代信息技术,出版物电子化,发展在线平台与存储库;都不关注创新性和引领性,而追求信息更高的发现性、引用性和重用性,使信息达到可发现、可引用、可重用、可评价及永久可访问等目标,从而推动开放共享;但另一方面,数据开放共享更追求解释性、强调观点^[1,10],方法开放共享更重视透明度(transparency)、可重复性(reproducibility)和可互操作(interoperability),通过包括视频制作、加强交流互动、互操作(forking)和不断升级版本(versioning)等方式,让研究方法细节更透明、更可靠、更可重复^[2,5,39-43]。另外,预印本方式发布protocol更加速了论文发表、同行纯粹学术交流和互操作更新的频率也有利于可重复性。

将包括protocol在内的实验方法独立出版,自身发展成为科研数据的一部分并充分公开,从而进一步推进研究结果开放共享和可重复性,还面临如下问题和挑战:(1)提高对方法公开重要性的认识 and 意识;(2)加强相关实验工作和实验方法发布的建议性标准或规范化建设;(3)开发基础设施,开发更好的工具来共享、发现和发现protocol,包括借鉴科研数据开放共享模式和实践经验,依托或利用其通用型数据存储库或数据存储与共享平台,发展与生命科学方法特征和功能相适应的、有自己特色的存储库或共享平台;(4)加强科学共同体内相关各方如科研院所机构、科研人员、出版界和政府等相互之间的协作,奖励和激励方法开放共享的行动及成果,促成方法公开的氛围和文化。

[参 考 文 献]

[1] 郭华东. 问渠哪得清如许,为有源头活水来—《中国科学数据》发刊词. 中国科学数据, 2016, 1: 2-5

[2] Springer Nature. 白皮书--生命科学研究的可重复性: 实验室指南和方法的作用[EB/OL]. <https://resource-cms.springernature.com/springer-cms/rest/v1/content/>

19886460/data/v3

[3] 吴家睿. 生物科学的内卷化困局及其破解之路. 生命科学, 2022, 34: 339-44

[4] 吴家睿. 生命科学研究面临的实验可重复性之危机. 生命科学, 2023, 35: 107-13

[5] Leite SB, Matthew B, Annamaria C, et al. Promoting reusable and open methods and protocols (PRO-MaP): draft recommendations to improve methodological clarity in life sciences publications. OSF Preprints, 2023, doi: 10.31219/osf.io/x85gh

[6] <https://booksite.elsevier.com/brochures/academicpress/>

[7] Mamiatis T, Fritsch EF, Sambrook J, et al. Molecular cloning: a laboratory manual[M]. 1ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1982

[8] Gingold EB. Yeast transformation. Methods Mol Biol, 1985, 2: 251-5

[9] Ausubel FM, Brent R, Kingston RE, et al. Short protocols in molecular biology[M]. 1ed. New York: Greene Publishing Associates and Wiley-Interscience, 1989

[10] 高瑜蔚, 朱艳华, 胡良霖, 等. 《数据论文出版元数据》国家标准研制与实践. 中国科学数据, 2024, 9: 74-83

[11] <https://www.merriam-webster.com/dictionary/protocol>

[12] Brouwer I, de Kort MAC, Lenstra TL. Measuring transcription dynamics of individual genes inside living cells. Methods Mol Biol, 2024, 2694: 235-65

[13] <https://support.nature.com/en/support/solutions/articles/6000078464-protocols-in-Springerprotocols>

[14] <https://www.springer.com/series/7651>

[15] <https://group.springernature.com/cn/group/about-us>

[16] <https://www.springer.com/series/8623>

[17] <https://www.springer.com/series/7650>

[18] Wilson C, Magliery T, Regan L. Detecting protein-protein interactions with GFP-fragment reassembly. Nat Methods, 2004, 1: 255-62

[19] Zahnd C, Amstutz P, Plückthun A. Ribosome display: selecting and evolving proteins *in vitro* that specifically bind to a target. Nat Methods, 2007, 4: 269-79

[20] Gregan J, Rabitsch P, Rumpf C, et al. High-throughput knockout screen in fission yeast. Nat Protoc, 2006, 1: 2457-64

[21] Editor. Ten years of *Nature Protocols*. Nat Protoc, 2016, 11: 1327

[22] 宋建君, 冯智勇. 学术出版机构的典范—冷泉港实验室出版社的启示. 出版参考, 2012, 9下: 144

[23] Green MR, Sambrook J. Molecular cloning: a laboratory manual[M]. 4ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2012

[24] Rosebrock AP. Analysis of the budding yeast cell cycle by flow cytometry. Cold Spring Harb Protoc, 2017, doi: 10.1101/pdb.prot088740

[25] <https://onlinelibrary.wiley.com/>

[26] <https://currentprotocols.onlinelibrary.wiley.com/hub/overview>

[27] Ausubel FM, Brent R, Kingston RE, et al. Short protocols in molecular biology[M]. 5ed. New York: John Wiley & Sons, 2002

[28] <https://www.jove.com/cn/about#>

- [29] Unk I, Daraba A. Synchronization of *Saccharomyces cerevisiae* cells in G1 phase of the cell cycle. *Bio Protoc*, 2014, 4: e1273
- [30] Hu S, Yu H, Zhang C. Development of recombinase polymerase amplification-lateral flow dipstick (RPA-LFD) as a rapid on-site detection technique for *Fusarium oxysporum*. *Bio Protoc*, 2024, 14: e4915
- [31] <https://wisdom.lib.tju.edu.cn/newwisdom/door/database/databasedetail.html?wfwfid=25111&pageId=60640&id=33952>
- [32] Editorial. A STAR is born. *Cell*, 2016, 166: 1059-60
- [33] <https://booksite.elsevier.com/brochures/academicpress/>
- [34] Posse V, Johansson E, Diffley JFX. Eukaryotic DNA replication with purified budding yeast proteins. *Methods Enzymol*, 2021, 661: 1-33
- [35] Ayora S. BIOMAP: A home for all biology methods. *Biol Methods Protoc*, 2016, 29, 1: bpv001
- [36] Albericio F. Welcome to the new journal methods and protocols. *Methods Protoc*, 2017, 1: 1
- [37] <https://www.researchprotocols.org/about-journal/focus-and-scope>
- [38] Li XW, Liu HR, Cheng LP. Symmetry-mismatch reconstruction of genomes and associated proteins within icosahedral viruses using cryo-EM. *Biophys Rep*, 2016, 2: 25-32
- [39] Giraldo O, Garcia A, Corcho O. A guideline for reporting experimental protocols in life sciences. *PeerJ*, 2018, 6: e4795
- [40] Errington TM, Denis A, Perfito N, et al. Challenges for assessing replicability in preclinical cancer biology. *Elife*, 2021, 10: e67995
- [41] Baker M. 1,500 scientists lift the lid on reproducibility. *Nature*, 2016, 533: 452-4
- [42] Wilkinson MD, Dumontier M, Aalbersberg IJ, et al. The FAIR Guiding Principles for scientific data management and stewardship. *Sci Data*, 2016, 3:160018
- [43] Tay A. Share methods through visual and digital protocols. *Nature*, 2021, doi: 10.1038/d41586-021-02015-6