

论 坛

基因芯片在中医药研究中的应用

李劲平* 王培训*

主题词 基因表达分型法 寡核苷酸排列序列分析 @ 基因芯片

1995年,斯坦福大学的 Schena M 和 Brown PO 等在 Science 杂志上发表第一篇基因表达谱芯片以来,在世界上兴起了一股基因芯片的大浪潮,基因芯片技术的开发和利用为 AIDS 病研究、癌症研究、疾病诊断、基因治疗、中西新药开发、新食品开发以及生命科学研究提供了一种全新的手段。世界上许多科学家纷纷对基因芯片的出现进行评价,并对基因芯片的应用前景作了一些大胆的预测。1999 年 Nature Genetics 杂志出版增刊,邀请专家学者对基因芯片的发展方向进行探讨。本文就基因芯片在中医药研究中的应用作一介绍,希望能为中医药现代化提供一点有益的思考。

1 基因芯片简介

基因芯片(Gene chip)又叫 DNA 微阵列技术(DNA microarray),也称为 DNA 芯片。是 20 世纪 90 年代兴起的一项前沿生物技术,它横跨生命信息、生物物理、生命科学、化学、电子技术、计算机科学、统计学等众多学科。基因芯片是从传统的 Southern 杂交和 Northern 杂交基础上发展起来的,指在尼龙膜、玻璃、硅片或瓷片上的一微小区域内(1cm^2),将成千上万条 DNA 探针按一定的规律排列,然后与标记了的待检样品进行杂交(hybridizing),通过芯片扫描仪对芯片进行扫描,检测每一点杂交信号的有无及强弱,由相应统计软件进行统计分析,就可以检测出待检样品基因表达的种类和基因的表达量。

基因芯片有两个最大的特点:高通量和平行检测。每块基因芯片上可固定 4×10^4 个基因探针,比传统的 Southern 杂交所获得的信息多几万倍,并且一块基因芯片一次杂交就能检测成千上万个基因的表达情况。

基因芯片技术与传统的核酸印迹杂交(Southern blotting 及 Northern blotting)相比,具有非常明显的优势:传统的核酸印迹杂交操作非常繁琐,要通过扩增、电泳、转膜、杂交、洗膜等过程,时间长、工作量大、

自动化程度低等。而基因芯片技术具有传统核酸印迹杂交无可比拟的优点:基因芯片的杂交、洗膜、杂交信号的检测过程及结果分析自动化程度高,检测信息量大、工作效率高,费用相对较低等。

基因芯片技术在临床疾病诊断^[1,2]、临床用药^[3]、环境检测、军事、司法、基因功能研究^[4]、新药开发^[5]等领域具有广阔的应用前景。

目前,基因芯片已投入实际应用,国内外已有多家公司提供基因芯片商业技术服务,下面就基因芯片技术在中医药研究中的应用作一展望。

2 基因芯片在中医药研究中的应用前景

中医药学的一个最大特点是整体观和辨证论治,中医药学中的一些理论观点用现代医学很难解释清楚,基因芯片的出现为中医药学的现代化提供了一个很好的切入点,因为基因芯片的高通量和平行检测的特点与中医学的整体观点具有相似之处。基因芯片可从以下几方面用于中医学研究。

2.1 中医证的研究:中医学中的脏腑并不简单与现代医学中的脏腑相对应,中医学的某个脏腑的功能涉及到现代医学中多个脏腑的功能,因此中医学中的某个证往往涉及多个脏腑的多个证候。对中医证的研究就不能单纯以某几项生理生化指标的改变为依据,而应以联系的、全面的观点来考虑。随着人类基因组学研究的进展,发现人类的一切疾病都可以从基因水平找到答案,那么从人类基因组学的观点来看,中医中某个证的出现是由于人体内某个或某一类相关联的基因发生了异常所致。早期用分子生物学方法来研究中医药时,往往从单基因的角度来探讨中医药在基因水平的变化,而很少从多基因的角度来研究^[6~8]。出现这样一种研究状况,研究手段没有取得革命性突破是一个非常重要的原因,如果采用传统的分子生物学技术检测人类 3 万多个基因中哪些基因表达发生了变化,如大海捞针一样,不仅工作量大,而且准确率低、经费高、时间长、速度慢。如果利用表达谱基因芯片来进行检测,则能充分发挥基因芯片高通量和平行监测的优点,用 10 多块基因芯片在短时间内就能对人类表达基因进行一次检测,比传统方法省时、省力、省经费,同时可加快中医证的研究的现代化进程。中医的同一种病可分成不

* 广州中医药大学免疫学与分子生物学技术实验室,广州市机场路(510405)

收稿日期:2001-06-06

同的证,不同的证采用不同的治疗方法才能取得理想的治疗效果;同一种证可表现为不同的病,同证不同病可采用相同或相类似的治疗方法。那么,利用基因芯片检测不同证的基因表达谱的改变,根据基因表达谱的不同给予不同的治疗,从而实现中医证的临床判别的现代化,进而实现中医辨证施治的现代化。

2.2 中药治病机理的研究:中药使用在我国有几千年的历史,为中华民族的繁衍生息做出了重要贡献。中药的确切疗效是中医药能长久生存的重要原因。但中药治疗疾病的机理往往用中医理论阐述的多,而其现代机理虽然许多学者做出了很大的努力,但一直没有得到有效阐述。中药要走向国门,得到世界的认同就需要用令人信服的现代科学技术来阐明其治病机理。中药治病可从扶正与祛邪两方面考虑。我们可以设想,中药的扶正可表现为中药促进某个或某些被关闭的正常基因的表达,以及对某个或某些受损基因的修复;中药的祛邪可表现为去除体内的病毒和病菌,以及对某些过度表达基因的关闭或使其表达减弱等。不管是扶正还是祛邪,我们可以从 mRNA→cDNA 水平来检测中药使用前后基因组表达谱的变化,阐明中药防病治病的机理。要从庞大的人类基因表达谱中发现哪些基因表达发生变化,只有利用基因芯片才能快速、准确地做到这一点。

2.3 中药有效成分的筛选和中药新药的开发^[5]:不管是单味药还是复方药,中药的成分非常复杂。用物理化学方法提取出来的中药成分的药理作用不明,利用传统的药理筛选方法来筛选中药的有效成分,耗时长、工作量大、研究经费高。如果利用基因芯片的高通量、平行快速检测的特点来筛选中药的有效成分,则能大大缩短中药新药的开发周期,将会产生巨大的社会效益和经济效益。

2.4 中药材鉴定:对中药材 DNA 进行测序后,将与每种中药材的特异 DNA 序列互补的寡核苷酸探针做成芯片,可用于中药材的鉴别研究。随着我国中药材 GAP 的发展,中药材鉴别芯片可用于中药材优质品种的筛选和监测。由于中药材绝大多数是以干品的形式用于临床,药材中的 mRNA 已被降解,因此,用于中药材鉴定的基因芯片应以检测中药材 DNA 中的特异核苷酸序列为着眼点。而对中药材 DNA 的标记和特异探针的获取是目前研究中药材鉴定基因芯片的难点和突破点。用于中药材优质品种筛选和检测的基因芯片应以鲜品中药材 mRNA 作为检测对象,因为同一中药由于产地不同其表达产物的质和量有很大的差异,而这种差异可从鲜品中药材的 mRNA 检测出来。

3 基因芯片用于中医药研究所面临的问题

基因芯片的高通量、平行检测、快速的特点,使得基因芯片在中医药研究领域展示了广阔的应用前景,但基因芯片用于中医药学研究有些问题还有待解决。

3.1 靶器官和靶组织的确定:基因的表达具有器官特异性和组织特异性以及时间特异性,用基因芯片来研究中医药就会面临取什么组织器官及在什么时间取材进行检测的问题,而中医药的靶器官和靶组织问题一直没有得到解决。如果将整个动物的各组织器官取来进行检测,则所需的经费将是非常巨大的,但如果用基因芯片来寻找中医药的靶器官则是一条好的途径。

3.2 实验动物基因表达谱的研究状况:用人来做一些有损伤人体的实验是法律和伦理不容许的,因而在绝大多数情况下是用实验动物模型来进行研究,不同的中医证候必需用不同的动物模型,而现阶段一些常用实验动物的基因表达谱还没有完全研究清楚,这就使得我们的研究成果只能是阶段性的,随着实验动物基因表达谱研究的进展而发生变化。

3.3 基因—功能关系研究状况:基因芯片上每一点的基因虽然是已知的,但现阶段功能基因组学还没有将所有基因的功能研究清楚,可能会面临这样一种状况:知道某基因的表达发生了变化,但不知道这种变化的生理学和病理学意义。

尽管基因芯片技术还面临以上一些问题有待解决,但其作为一种革命性的研究手段必将在中医药研究中发挥非常重要的作用。

参考文献

- 1 Takahashi Y, Nagata T, Asai S, et al. Detection of aberrations of 17p and p53 gene in gastrointestinal cancers by dual (two-color) fluorescence in situ hybridization and Genechip p53 assay. *Cancer Genet Cytogenet*, 2000, 121(1):38-43.
- 2 侯化, 杨光彩. 基因芯片技术在临床应用的进展. *陕西医学检验*, 2000, 15(2):57-59.
- 3 郑世斌, 邹冰, 陆恒. 用药个体化. *医药导报*, 2000, 19(3):288.
- 4 Heller RA, Schena M, Chai A, et al. Discovery and analysis of inflammatory disease-related genes using cDNA microarrays. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94(6):2150-2155.
- 5 邹宗亮. 基因芯片在药物研究和开发中的应用. *国外医学·药学分册*, 1999, 26(6):332-334.
- 6 李静, 陈可冀, 张靖涛, 等. 血管通对实验性动脉粥样硬化家兔血管壁血小板衍生生长因子 A、B 及 c-myc 基因表达的影响. *中国中西医结合杂志*, 1995, 15(1):33-35.
- 7 钟历勇, 沈自尹, 蔡定芳, 等. 补肾健脾活血三类复方对下丘脑—垂体—肾上腺—胸腺轴及 CRF 基因表达的影响. *中国中西医结合杂志*, 1997, 17(1):39-41.
- 8 刘萍, 张静生, 郑菲, 等. 中药对低密度脂蛋白受体基因表达的影响. *中国中西医结合急救杂志*, 2000, 7(3):141-143.