

### 确定生物芯片实验研究目标

目前生物芯片尤其是基因芯片已广泛用于医学研究之中,已有很多商业化生产的生物芯片产品销售,研究者直接可以选择成型的产品使用,不需要自己制备芯片,因此如何正确使用芯片解决研究中的生物学问题是研究者更关注的。

基因芯片设计是最重要的部分,它关系到最终结果能否达到预期目标。实验设计首先要明确以下几个方面的内容。

这里讲的基因芯片研究是指基于应用上的研究,不包括基因芯片技术本身的研究,如自动化高度集成的芯片实验室(lab—on—a—chip)。因此基因芯片的设计与应用相一致,首先必须明确研究目标。基因芯片的原理是基于碱基配对的分子杂交,基因芯片技术的初衷是杂交测序(SBH),但它的高集成性以及并行处理的能力使得在众多领域的得到应用。根据基因芯片的实际检测对象,可以将研究目标归纳为两个大的方面:RNA检测和DNA检测。RNA检测主要指基因表达水平的研究,还包括基因可变剪切体的研究;DNA检测包括SNP或突变分析、基因拷贝数研究及DNA甲基化研究等。

(1)基因表达水平的研究与诊断:利用基因芯片对组织、细胞中的mRNA的量进行检测是研究基因表达的有效手段。生物体的正常生长需要基因时空特异性表达,不正常的基因表达常常与疾病的发生具有因果关系。RNA印迹是常用的检测基因表达的方法,但只能孤立地对某一条基因进行检测。基因表达水平实际上有几层含义:①同一个体在同一时间里,不同基因的表达差异;②同一个体在不同时间里,相同基因的表达差异;③不同个体的相同基因表达上的差异。鉴于人们对基因表达认识非常肤浅,加上基因之间表达的联动性,在基因芯片技术产生之前对基因表达的研究一直处于很低的水平。基因芯片的高集成性和并行处理的能力正好满足对基因表达研究的需求,因此对基因表达水平的研究及诊断是目前基因芯片应用非常广泛的一个领域。

利用双色(多色)荧光标记是基因芯片研究基因表达的最主要手段。两种荧光分别标记两批样本,竞争性与探针进行杂交,两种波长的激光扫描读取竞争杂交的结

果，可以分析两批样本间每一个基因表达的差异。

(2)基因变异的研究与诊断：遗传和变异是生物体最基本的特征之一，是生物界最普遍的现象，遗传变异的基础是基因的遗传变异，因此对基因及其变异的研究属于临床医学上的基因诊断范畴。对生物个体而言，基因变异常常是有害的，因此对这类变异的检出非常有意义。还有很多的基因变异对个体不产生危害，实际上是个体间的基因差异，在医学和非医学领域对此类变异的检测都很有意义。同样，基因芯片对病原体的基因检测将会被广泛应用，这其中包括对基因型(含亚型)的检测、对耐药突变位点的检测等，当然还包括对病原体基因表达的检测。对基因及突变的研究主要应用基因芯片的杂交技术，通过特异性探针和靶基因的结合进行检测；对突变位点的检测已发展有杂交( $T_m$  值)检测法、结合杂交的酶反应检测等。

(3)基因拷贝数的研究：基因拷贝数异常会导致疾病的产生，如唐氏综合征等；肿瘤的发生也常常伴随某类基因的扩增。借助定量探针和定量内标的设计，基因芯片在基因组水平可以对基因的拷贝数进行研究。对基因拷贝数的研究在病原体的检测过程中也非常重要。