

生物芯片与肿瘤研究

李潇然

(北京理工大学微电子技术实验室,北京 100081)

【摘要】 生物芯片技术是指通过微加工和微电子技术,在芯片表面构建微型生物化学分析系统,对组织细胞中的蛋白质、DNA 或者其他生物组分进行高通量检测。生物芯片广泛应用于生命科学、司法鉴定、食品及营养科学、环境科学、农林科学、军事科学等多种领域。本文重点对其在肿瘤研究和诊断治疗中的应用做一简要综述。

【关键词】 生物芯片技术;肿瘤;微电子技术

【中图分类号】 R73-3 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2012)04-0078-04

doi:10.3969/j.issn.1671.7856.2012.04.018

Biochip and Cancer Research

LI Xiao-ran

(Beijing Institute of Technology Laboratory for Microelectronics, Beijing 100081, China)

【Abstract】 The biochip technology is used to build micro-biochemical analysis systems on the chip surface, through micro-processing and micro-electronics technology. It can make high-throughput detection of tissue cells, proteins, DNA or other biological components. Biochips are widely used for life sciences, judicial expertise, food and nutritional science, environmental science, agriculture and forestry science, military science and other areas. This article makes a brief summary of the application of biochip in cancer research, diagnosis and treatment.

【Key words】 Biochip technology; Cancer; Micro-electronics technology

生物芯片技术最初源于 Edwin Southern 提出的核酸杂交理论,即利用核酸分子中碱基配对的原则,标记的核酸分子能够与被固化的、与之互补配对的核酸分子杂交^[1]。生物芯片一词早在 20 世纪 80 年代初提出,随着生命科学及其相关技术的迅速发展,目前已成为生命科学领域中有广泛应用前景的高新技术,特别是人类基因组计划(Human Genome Project, HGP)的实施和分子生物学等相关学科的突飞猛进,为生物芯片技术的应用提供了广阔空间和有利条件^[2]。除了基因检测、疾病诊断、预防医学、新药开发等生命科学相关领域,生物芯片在司法鉴定、食品安全检测及营养成分分析、环境科学、农林科学、军事科学中都起着非常重要的

作用^[3,4]。本文重点对其在肿瘤研究和诊断治疗中的应用做一简要综述。

1 生物芯片的概述

生物芯片技术是指通过微加工和微电子技术,在芯片表面构建微型生物化学分析系统,对组织细胞中的蛋白质、DNA 或者其他生物组分进行高通量检测^[5]。比如基因芯片和蛋白质芯片分别是将大量已知序列的核酸片段或多肽片段按照预先设置的排列方式,有序地固定在厘米见方的片基(基质或载体)表面,使之与带有标记物的核酸或蛋白质分子发生反应,以便检测分析出待检标本中的相应成分^[6]。生物芯片的最大特点是高通量并行分析,

[作者简介]李潇然(1989-),女,微电子技术在读硕士研究生。

借助微加工和微电子技术,将分子生物学、免疫学、化学、物理、计算机等多学科技术有机地融合,使多个单独分散的研究过程集中在芯片上,最终快速、准确、敏感、高效地完成分析^[3,4]。生物芯片技术的基本原理是分子杂交,也就是利用生物分子之间特异性亲和反应,实现对基因、配体、抗原等生物活性物质的检测分析^[7]。

2 生物芯片的分类

生物芯片的种类繁多,目前尚无统一的分类方式。常用的分类方法有以下几种:

2.1 根据用途分类

2.1.1 生物电子芯片:用于生物计算机等生物电子产品的制造。

2.1.2 生物分析芯片:用于核酸、蛋白质等各种生物大分子以及细胞、组织的生物化学和分子生物学检测。

2.2 根据作用方式分类^[6]

2.2.1 主动式芯片:又称为功能生物芯片,是生物芯片技术的高级阶段,主要包括微流体芯片(microfluidic chip)和芯片实验室(lab on chip),其主要特点是把生物样本的处理、标记、反应及检测等多个步骤均集中在芯片体系中,通过一步反应就可快速、简单地完成实验。

2.2.2 被动式芯片:即各种微阵列芯片,目前使用的大部分芯片均属于此类,包括基因芯片、蛋白芯片、细胞芯片和组织芯片。其主要特点是通过高通量的检测分析,获得大量生物信息,采用生物信息学处理后,进行数据挖掘分析,因此这类芯片又称为信息生物芯片。

2.3 根据固定在载体上的物质成分分类^[8]

2.3.1 基因芯片(gene chip):又称 DNA 芯片(DNA chip)或 DNA 微阵列(DNA microarray),是将 cDNA 或寡核苷酸按微阵列方式固定在微型载体上制成。

2.3.2 蛋白质芯片(protein chip 或 protein microarray):是将蛋白质、多肽等按微阵列方式固定在微型载体上制成。

2.3.3 细胞芯片(cell chip):是将细胞按照特定的方式固定在载体上,用来检测细胞间相互影响或相互作用。

2.3.4 组织芯片(tissue chip, tissue microarray):是将组织切片按照特定的方式固定在载体上,用来进行组织内成分差异研究。

2.3.5 其他:如芯片实验室(Lab on chip),将样品的制备、标记、反应和检测分析的全过程集约化形成微型分析系统,是生物芯片技术发展的最终目标。

2.4 根据支持介质分类^[3]

用于芯片制作的载体材料有无机材料、天然有机聚合物、人工合成的有机高分子聚合物和各种高分子聚合物制成的膜,但只有玻璃片、金属片、各种有机高分子制作的薄膜等少数几种适于制作生物芯片,所以按照载体材料可将生物芯片分为:硅晶片芯片、玻璃芯片、塑料芯片和磁珠芯片等。

3 生物芯片在肿瘤研究方面的应用

随着人类老龄化进程的不断加剧,肿瘤的发病率日益增高,已成为危害人类健康和生命安全的杀手。据流行病学调查显示,在我国恶性肿瘤是仅次于心脑血管疾病的死亡原因。以肺癌为例,2005 年我国肺癌新发病例数为 536 407 人,死亡病例数 475 768 人,通过对 10 个登记处 18 年发病死亡数据分析,登记点肺癌发病率呈现逐年上升趋势,年平均增长率为 1.63%^[9]。据美国肿瘤研究学会的最新报道,美国的二分之一男性、三分之一女性终生都存在着罹患肿瘤的危险,癌症是 85 岁以下的人群中的第二位死亡因素^[10]。根据世界卫生组织 2003 年公布的数据,2000 年全球共有恶性肿瘤患者 1000 万,其中男 530 万,女 470 万,而恶性肿瘤死亡者高达 620 万,占总死亡人数的 12%,在多数发达国家可达 25%^[11]。肿瘤患者死亡率高的主要原因是不能早期诊断,而且恶性肿瘤所需的医疗支出十分可观,美国 2010 年用于癌症的经费是 2638 亿美元,其中 1028 亿直接用于医疗费用^[10]。由此可见,肿瘤的早期发现、早期诊断和早期治疗对于降低发病率、维护人类健康、促进社会发展有着至关重要的意义。

生物芯片在肿瘤的研究、诊断和治疗中具有及其广阔的前景。因为肿瘤的发生发展是非常复杂的过程,涉及多种基因的表达失常、突变或缺失等,而生物芯片技术正是具有敏感性高、检测迅速、信息量大的特点,可以满足早期发现、早期诊断的要求^[12]。以下从基因芯片、蛋白质芯片和组织芯片三方面介绍生物芯片在肿瘤研究中的应用。

3.1 基因芯片

采用基因芯片分析患者和肿瘤高发人群的基因表达谱,并与正常对照组进行比对,为发现肿瘤

致病基因提供线索;通过检测突变基因,对具有发生肿瘤风险的个体提前预警^[13,14]。因为基因表达水平的差异,反映了不同细胞类型、不同生长环境、不同生长阶段细胞的功能信息,所以分析所有基因的表达谱对于研究基因的功能十分重要,利用基因表达谱数据可随时获取肿瘤细胞生长各阶段和肿瘤生长相关基因的表达模式,为确定肿瘤各阶段的治疗方案提供可靠的依据^[15]。黄达菁等^[16],用包含 4 096 个 cDNA 基因表达谱芯片研究一组肺癌组织样本的基因表达谱,结果共筛选出差异表达的基因 370 条,包含已知基因 146 条,未知基因 224 条,其中 107 条表达增加,263 条表达降低,认为基于 cDNA 微矩阵技术的肿瘤基因表达谱分析能够高通量筛选与肺癌发生密切相关的基因。

3.2 蛋白质芯片

肿瘤标志物检测和筛查对早期发现、早期诊断恶性肿瘤非常重要,并可以指导肿瘤的治疗,尤其是多种肿瘤标志物联合检测更为有利。因为在疾病早期,甚至在出现病理变化之前,细胞内的蛋白质成分和表达水平首先发生改变,通过动态追踪观察蛋白质的变化,可以早期发现和预警,所以检测肿瘤的标志物就是早期诊断的重要手段^[17]。而蛋白质芯片技术为肿瘤标志物的联合检测提供了理想工具,根据芯片的载体性质,又分为固相蛋白质芯片和液相蛋白质芯片,目前临床上用于肿瘤标志物检测的多为固相芯片^[18,19]。肖雪媛等采用 SELDI (surface-enhanced laser desorption/ionization) 蛋白芯片技术检测了 30 例肺癌病人血清和 12 例正常人血清中的蛋白质谱,结果显示,肺癌病人与正常人的血清中有 15 个差异蛋白(标志分子)表达,其中 6 个蛋白质在肺癌病人血清中高表达,9 个蛋白质在肺癌病人血清中低表达,证明与肺癌相关的特异性标志分子可从病人血清中检测出来,而且蛋白质芯片技术对于发现和筛选血清中的肺癌标志蛋白是一种有效、快速的工具^[20]。赵静采用多肿瘤标志物蛋白芯片检测试剂盒对 45 例卵巢癌患者(卵巢癌组)、82 例卵巢良性肿瘤患者(良性瘤组)和 36 名健康体检者(对照组)血清中 12 种肿瘤标志物水平进行检测,结果卵巢癌组糖链抗原 125 (CA125)、癌胚抗原(CEA)、糖链抗原 242 (CA242)和糖链抗原 199 (CA199)检测阳性率高于良性瘤组及对照组($P < 0.05$),且四种标志物联合检测兼顾了诊断灵敏度和特异性,诊断准确度高达 84%,表

明应用多肿瘤标志物蛋白芯片检测技术,综合分析多肿瘤标志物水平及动态变化,可提高肿瘤标志物检测在卵巢癌的诊断及治疗中的应用价值^[21]。

3.3 组织芯片

将数十至数百个不同个体的组织标本集成在一张固相载体上制成组织芯片,从而提供了一种高通量、大样本以及快速的疾病形态学分析工具。组织芯片技术与传统的病理学、免疫组织化学等技术相结合,可做 HE 染色、特殊染色、免疫组织化学染色、DNA 和 RNA 原位杂交、荧光原位杂交等。因为一次实验可获得大量的实验结果,组织芯片技术是建立疾病、特别是肿瘤生物分子文库的高效分析平台^[22]。林茂松等采集了 54 例直肠癌组织和 40 例癌旁直肠粘膜组织制成组织芯片,采用免疫组织化学染色方法检测了多种蛋白因子的表达,结果发现,p53、CyclinD1、Bcl-2 的异常表达与直肠癌的发生有关,这种表达升高可能有助于直肠癌的早期诊断^[23]。

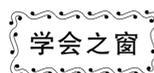
生物芯片作为 20 世纪后期逐渐发展起来的高新技术,已经在众多的领域中显示出它的重要作用。相信伴随着芯片制备所必须的微加工和微电子技术的不断进步,伴随着生命科学及其相关学科的不断发 展,生物芯片技术将具有更加广泛应用前景。

参考文献:

- [1] Hofman Paul. DNA microarray, a practical approach from a pathologist's standpoint [J]. *Nephron Physiol*, 2005, 99: 85 - 89.
- [2] Glotov AS, Nasedkina TV, Ivaschenko TE, et al. Development of a biochip for analyzing polymorphism of the biotransformation genes [J]. *Molec Biolo*, 2005, 39(3): 357 - 365.
- [3] 夏俊芳,刘箐. 生物芯片应用概述 [J]. *生物技术通报*, 2010, 7: 74 - 77.
- [4] 李敏红. 生物芯片技术及应用进展概述 [J]. *中国医学检验杂志*, 2009, 10(5): 322 - 324
- [5] Alvarez JC, Duverneuil C, Zouaoui KZ, et al. Evaluation of the first immunoassay for the semi-quantitative measurement of meprobamate in human whole blood or plasma using biochip array technology. *Clinica Chimica Acta*, 2012, 413: 273 - 277
- [6] 饶宝,肖松云,李文刚. 生物芯片技术研究进展 [J]. *中国畜牧兽医*, 2010, 37(1): 77 - 79.
- [7] Du WD, Chen G, Cao HM, et al. A simple oligonucleotide biochip capable of rapidly detecting known mitochondrial DNA mutations in Chinese patients with Leber's hereditary optic neuropathy (LHON) [J]. *Dise Markers*, 2011, 30: 181 - 190.
- [8] 赵树清,贾道山,李菲. 生物芯片技术在临床疾病诊断中的应

- 用. 中国医学检验杂志, 2006, 7(3): 218 - 219.
- [9] 陈万青, 张思维, 邹小农. 中国肺癌发病死亡的估计和流行趋势研究[J]. 中国肺癌杂志, 2010, 13(5): 87 - 90.
- [10] Cancer Facts and Figures 2011, published by the American Cancer Society
- [11] 张战, 朱波, 林治华. 生物芯片技术在肿瘤研究中的应用[J]. 重庆医学, 2011, 40(5): 493 - 495.
- [12] Savvateeva EN, Dementieva EI, Tsybulskaya MV, et al. Biological microchip for simultaneous quantitative immunoassay of tumor markers in human serum[J]. Bull Exp Biol Med, 2009, 147(6): 737 - 741.
- [13] Kriegshäuser G, Fabjani G, Ziegler B, et al. Biochip-based detection of KRAS mutation in non-small cell lung cancer[J]. Int J Mol Sci. 2011, 12(12): 8530 - 8538.
- [14] Fan B, Xiong B. Investigation of serum tumor markers in the diagnosis of gastric cancer[J]. Hepatogastroenterology. 2011, 58(105): 239 - 245.
- [15] 沈学敏, 刘德森. 生物芯片在非小细胞肺癌分子分型研究中的应用[J]. 中国癌症防治杂志, 2010, 2(1): 68 - 70.
- [16] 黄达蕾, 戴建凉, 陈菊祥, 等. 肺癌相关基因的表达谱研究[J]. 第二军医大学学报, 2000, 21(9): 827 - 830.
- [17] Tan SJ, Lakshmi RL, Chen P, et al. Versatile label free biochip for the detection of circulating tumor cells from peripheral blood in cancer patients[J]. Biosens Bioelectron, 2010, 26(4): 1701 - 1705.
- [18] 肖彦革, 周颀, 陈缙光. 蛋白芯片技术在肿瘤标志物中的研究进展[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2010, 2(1): 54 - 56.
- [19] 朱珉, 于军, 周文利, 等. 生物芯片技术在肺癌研究中的应用价值[J]. 中国肺癌杂志, 2011, 5(14): 441 - 445.
- [20] 肖雪媛, 卫秀平, 何大澄. 应用蛋白质芯片技术从血清中筛选肺癌标志蛋白[J]. 中国科学(C辑), 2003, 3(4): 323 - 328.
- [21] 赵静. 12种肿瘤标志物检测在卵巢癌诊断中的应用[J]. 山东医药, 2011, 52(30): 52 - 53.
- [22] 于颖彦. 生物芯片在胃癌药物病理学研究中的先导作用[J]. 上海交通大学学报(医学版) 2007, 27(5): 491 - 493.
- [23] 林茂松, 陈卫昌, 黄俊星, 等. 组织芯片研究直肠癌中肿瘤相关基因的表达[J]. 肿瘤防治研究, 2010, 37(2): 141 - 145.

[修回日期] 2012-02-29



欢迎加入中国实验动物学会

中国实验动物学会是我国广大实验动物科技工作者的学术组织, 经民政部批准于 1987 年成立。经过二十几年的努力, 中国实验动物学会从创建至今已取得较大发展, 很好地发挥了作为全国性学术团体的作用, 为团结广大实验动物科技工作者, 推动我国实验动物科学事业的发展做出了巨大贡献。中国实验动物学会围绕《中国实验动物学会章程》中的规定开展业务活动, 其范围包括: 开展国内外学术交流、编辑出版学术期刊、开展技能培训和岗位培训、科学普及与科技服务等。

会员是中国实验动物学会存在之本, 从事实验动物学或相关专业的科技、教育、生产、出版或管理工作的单位或个人, 均是我们的主要服务对象。各类会员都赋予基本权利和义务。学会能更好的发展, 离不开会员队伍的不断扩大, 中国实验动物学会将以服务促发展的工作理念, 不断提高服务水平和服务质量, 努力将学会建设成为中国实验动物科技工作者之家, 欢迎您加入中国实验动物学会! 登陆 <http://www.calas.org.cn> 首页, 点击“申请加入学会”。

作为中国实验动物学会的基本职能之一, 中国实验动物学会长年举办各类技能培训班, 如: “北京市实验动物从业人员岗位培训班”, 为贯彻执行国家有关政策法规, 规范动物实验的技术操作, 普及实验动物的基本理论知识发挥重要作用。为保障培训班能顺利有序进行, 现全部实现网上预约报名, 有关培训班通知请随时浏览中国实验动物学会网站: <http://www.calas.org.cn>。

中国实验动物学会秘书处洪婧供稿