

中药基因组学研究的 内容和策略

□ 晁 志* (第一军医大学 广东 广州 510515)

摘 要 中药基因组学的研究将是近期的重要研究领域。本文回顾了国际上以 *Arabidopsis thaliana* 为例的植物基因组研究的概况, 阐述了中药基因组学研究应注意的重点内容和发展策略。

关键词 中药 基因组学

1 中药基因组学研究的内容

中药必须现代化, 已成为中医药工作人员的共识。围绕这个中心问题, 广大科技工作者, 提出了不少跨世纪规划, 极大地推动了中药领域的研究活动和整个事业的发展。最近, 一个新的名词“中药基因组学”或“中药基因组计划”频见于报端和期刊杂志, 成为热门话题。关于中药基因组学的概念和研究内容, 也有两种不同观点。

一种认为, “中药基因组计划”的根本点在于从基因组学的高度, 从分子水平上来发现、研究中草药的基因, 寻找有效成分的功能基因, 开展中药基因制药及转基因; 发现、克隆、表达次生代谢产

物的酶基因, 利用代谢工程在实验室生产中草药的有效成分, 改良和培育新的品种及保存中草药的种质资源和基因资源^[1]。另一种则认为, “中药基因组学”是将中草药的药性理论、功能与主治与某种特定疾病的基因联系起来, 研究中草药对此类基因表达的影响, 以达到阐明中草药的性味归经等基本理论的目的^[2]。哪种观点比较符合基因组学的内容和概念呢? 只要稍微了解人类基因组计划及其内容, 就可以明白后一观点实际上是将人类基因组研究的内容和成果与中草药研究互相联系, 即在基因水平探讨中草药作用的机制和原理。毋庸置疑, 这是中草药研究的一个重要方向, 但称之为“中

药基因组学”, 未免张冠李戴了。

开展中草药基因组的研究, 我们不妨借鉴美国的“植物基因组研究计划 (PGRP)”的成果和经验。美国的植物基因组研究大约始于上世纪八十年代末、九十年代初, 1998 年美国科学基因正式设立 PGRP, 资助强度甚大。在此期间, 植物基因组研究领域的国际合作蓬勃兴起。进行基因组测序和分析的第一种高等植物是十字花科的 *Arabidopsis thaliana* (拟南芥)。水稻是进行基因组研究的第一种单子叶植物。现在, 一些与人类生活密切相关的农作物和经济作物如玉米、高粱、大豆、西红柿、马铃薯等基因组研究正如火如荼地开展, 而 *Arabidopsis* 的基因组测序已于 2000 年底基本完成^[3,4] (现已完

* 作者简介 晁 志, 男, 医学博士。参加国家、部省级课题多项, 研究方向为中草药资源与质量。

成)。

为什么选择 *Arabidopsis* 作为第一个研究对象呢? *Arabidopsis* 的染色体基数为 5, 整个基因组大小仅约 120Mb, 这是主要原因; 另外, 它是一种模式植物, 有多个领域的研究基础, 特别是有详细的遗传图谱, 使之成为理想的研究材料。从其研究来看, 植物 (包括中药) 基因组学主要包括三个方面的内容: 结构基因组学、功能基因组学和生物信息学。

1.1 结构基因组学 结构基因组学研究基因组的核苷酸全序列, 包括基因序列和基因间隔的序列, 以及它们在染色体上的位置。具体内容包括测序和基因作图以及分析基因组是如何组织的。

基因组图谱是基因组分析的基础, 这种图谱可以是一幅遗传图谱, 也可以是物理图谱。遗传图谱包含基因或 DNA 标志在染色体上的相对位置与遗传距离的信息, 基于宏观的性状标记或分子标记。物理图谱可通过将 DNA 克隆到 YACs (yeast artificial clones, 酵母人工克隆) 和 BACs (bacterial artificial clones, 细菌人工克隆) 文库中, 进行测序, 然后将这些克隆或连续克隆 (continuous clones, contigs) 标定于染色体得到, 相当于把庞大的基因组切割成较小片段, 确定每个片段间的位置关系, 再拼接综合为全序列。

相对于全序列而言, 我们更感兴趣的是基因组的转录区。这就需要构建 cDNA 文库, 从中随机挑选克隆进行测序, 所得到的序列称为 ESTs (expressed sequence tags, 表

达序列标志)。ESTs 是寻找基因的源泉。迄今从 *Arabidopsis* 已经筛选出 11, 3000 多个 EST。目前, 在中药方面, 韩国报告了人参的 21 个 EST, 其它品种尚未见报道。

在完成测序和图谱构建后, 即可明了基因组的组成, 如基因序列所占比例、在染色体上的分布状况、有多少重复序列、重复频率如何等。

1.2 功能基因组学 功能基因组学研究基因的表达和功能。这是基因组研究的最终目的。此研究包括二方面内容, 其一是检测基因的表达。某个特定的基因在何时表达、在何处表达, 可预示其编码蛋白的生物功能。传统的 Northern 杂交只能研究单个基因, 对于基因组研究中的大量数据而言, 必须有与之水平相应的新策略。DNA 微阵列亦即基因芯片是近年出现的解决之道。从本质上讲, 这种技术是一种反相的 Northern 杂交, 其杂交信号反映了相应的 mRNA 的丰度; 优点在于它的缩微化, 能够同时分析大量克隆, 并可自动定量。关于基因芯片有很多参考资料, 此外的检测方法尚有差异显示、cDNA-AFLP 等。

其二是基因变异的研究, 即造成基因突变体来观察基因的功能。这是基因功能研究的重要手段。研究基因功能更好的方法是基因敲出, 但在植物中还没有完善的敲出系统, 成功的例子很罕见, 因而多采用引发基因变异的方法。一是采用致突变原如 X 射线和一些化学药物, 一是采用往基因组中随机插入一段外源 DNA 的方法。虽然技

术上的进步已经可以加快筛选过程, 但前者仍无异于大海捞针式的工作, 因而更多采用后一方法。因为插入的序列是已知的, 我们能够用 PCR 等方法检测到外源 DNA 是否插入到了目标基因中。常用的载体是农杆菌 (*Agrobacterium*) 的 T-DNA 以及一些转换因子。

1.3 生物信息学 基因组研究产生巨量的原始数据, 其分析处理工作人力无法完成, 并且我们还需要把这些数据转换成其他研究者能解读的信息。因此, 必须把计算机技术引入到这项研究中来, 生物信息学由此应运而生。其主要内容有两个: 一是收集管理基因组或蛋白质组数据, 一是分析、解释基因组和蛋白质组的内涵。其研究的对象是生物信息数据, 包括蛋白质和核酸序列, 方法是数据库、矩库和信息编码, 手段是计算机和网络。

当前, 各研究机构建立了许多数据库, 发明了多种分析软件, 用来寻找基因和进行基因解析。基因的寻找一般有三个步骤: 首先用基因找软件对 BAC 序列进行分析, 然后将序列与蛋白质和 EST 数据库中的数据进行比对, 最后确定基因的功能。针对每一步都有不同的软件。如分析 BAC 序列的有 Genescan、GeneMark.hmm、Xgrail、GlimmerA 等, 接合点的探测可以用 NetGene2、Splice Predictor 等, 序列对比则有 DDS/GAP2 或 BLASTN。

通过以上方面的研究, 科学家们历经十年, 从 *Arabidopsis* 基因组中发现了 2, 5498 个基因, 这是迄今最完整、最大规模的基因库,

为进行其它植物基因组研究奠定了良好的基础。

2 中药基因组学研究的发展策略

中药作为我们国家的特色商品和产业,对其进行基因组研究的重要性和迫切性是不言而喻的。如何着手呢?首先要选择适宜的品种。当务之急是对那些常用的、名贵的、珍稀的、资源紧缺的药材如人参、黄芪、甘草、柴胡、虫草等进行研究,同时还要考虑基因组的大小。另外,有没有必要进行全序列的测定?只有 5 对染色体,基因组约 120Mb 的 *Arabidopsis* 一种植物,就花费了几个国家的科研人员 10 年时间和上亿美元的资金。我们应本着“有所为,有所不为”的原则,主要从功能基因组学出发,考虑与中药有效成分、药材的生长及抗性等有关基因,充分利用比较基因组学的方法和技术,多快好省地迅速开展中药基因组学的研究。

目前,国内有关植物基因组学的研究已经起步,除了参加国际水稻基因组合作项目外,还开展了白菜等经济作物的基因组研究。在中药方面,有一项薏苡与玉米的比较基因组研究正在进行。我们应该充分认识到,中药基因组学研究是一项浩大的综合工程,牵涉面广,工作量大,不是某几个实验室、某几个单位所能承担得了的。国家一定要下大力气,有关部门严格要求,精心组织,合理安排,尽快实施,力争将我国的中药研究水平提高到新的层次!

参考文献

[1] 肖乐义,薛歧庚,董建军,等.开展“中药基因组计划”的研究.中草药,2001,

32(1):1.

[2] 王升启.试论“中药基因组学”与“中药化学组学”.世界科学技术,2000,1:18.

[3] Nancy Terryn, Pierre Rouze, Marc Van Montagu. Plant genomics. *FEBS Letters*, 1999,

452:3-6.

[4] Michael Bevan, Klaus Mayer, Owen White, et al. Sequence and analysis of the *Arabidopsis* genome. *Current Opinion in Plant Biology*, 2001, 4: 105-110.

稿 约

《中医药通报》杂志是中华中医药学会、厦门市中医药学会主办,中医药通报杂志社编辑出版,国内外公开发行的综合性中医药学术期刊。中国标准刊号 CN35-1250/R, ISSN1671-2749。

本刊的办刊方针和任务:全面报道我国中医、中西医结合、中药研究在临床、预防、科研、教学等方面的最新进展、成果和诊疗经验,探讨中医药学术提高的思路和方法,介绍国内外中医药研究动态,开展学术争鸣,反映中医药市场现状与开拓前景,发布临床治疗新方法、新药研究开发成果。

1 本刊的主要栏目:

论坛、述评、研究快报、获奖成果介绍、专题笔谈、理论研究、临床论著、临床报道、诊法研究、理法研究、针灸经络、中药研究、方剂研究、新药介绍与评价、药物不良反应、实验研究、医史研究、名医精华、学术动态、综述、思路与方法、诊余心悟、病例讨论、护理研究等。

2 稿件要求

2.1 文稿应具有科学性、实用性、创新性。论点明确、资料真实、文字精炼、层次清楚、数据准确。

2.2 文题:力求简明确切、醒目,反映出文章的主题。中文文题一般不超过 20 字,并附英文文题。

2.3 摘要:论著、综述须附中、英文摘要,中英文摘要内容要包含摘要的四个要素,即目的、方法、结果、结论。中文摘要 200 字左右,英文摘要 400 个实词左右。

2.4 关键词:标引 2-5 个关键词(表示全文主题内容信息款目的单词或术语)。

2.5 专业术语及符号:以科学出版社出版的《医学名词》和相关学科(国家标准及行业标准)的名词为准,未公布者以人民卫生出版社编的《英汉医学词汇》为准。中文药物名称应使用 1995 年版药典或卫生部药典委员会编辑的《药名词汇》中的名称。缩略语应在首次出现时,用括号注明全名。

2.6 计量单位:实行国务院颁布的《中华人民共和国法定计量单位》,并以单位符号表示。

2.7 统计学符号:按国家标准 GB3358-82《统计学名词及符号》规定书写。

2.8 参考文献:按国家标准 GB7714-87《文后参考文献著录规则》,采用顺序编码制著录,并将序号标入正文相应部位。

3 投稿须知

凡投本刊稿件均为首次正式发表文稿,请勿一稿两投。来稿须署真实姓名和工作单位及第一作者简介,临床及实验类文章请附单位介绍信。本刊对来稿有删改权。本刊对刊登稿件拥有版权。最好用打印稿,来稿应一式二份。请注明联系电话、传真号。欢迎软盘投稿及网上投稿。

4 稿件请直接寄本刊编辑部。(地址及 E-mail 见版权页)