

基因芯片技术及其在寄生虫学研究中的应用

杨健美 冯新港 林矫矫*

【摘要】 随着人类基因组计划(human genome project, HGP)和一些模式生物基因组计划的完成,基因序列数据正以前所未有的速度迅速增长,对基因组学的研究已从结构基因组学逐步转向了功能基因组学。由于基因芯片技术操作简便,获得的信息高度特异、稳定,在寄生虫学研究领域已得到广泛应用。随着寄生虫分子遗传学研究的进展和寄生虫基因芯片检测工具的开发应用,这一技术用于筛选寄生虫功能基因,探索寄生虫与宿主相互作用,研究寄生虫发病机制及筛选寄生虫诊断抗原、药物靶标和疫苗分子等,大大推动了寄生虫学领域的研究进程。该文主要介绍了基因芯片技术的分类,并就近年来基因芯片技术在寄生虫学研究方面的应用作一综述。

【关键词】 基因芯片;微阵列;表达谱基因芯片;功能基因;寄生虫学;应用

Gene chip technology and its application in parasitology research YANG Jian-mei, FENG Xin-gang, LIN Jiao-jiao*. Shanghai Veterinary Research Institute, the Chinese Academy of Agriculture Sciences, Shanghai 200241, China

* Corresponding author: LIN Jiao-jiao, Email: jilin@shvri.ac.cn

Supported by the National Science & Technology Major Project (2008ZX10004-011) and the National Basic Research Program (2007CB513108)

【Abstract】 With the completion of human genome project(HGP) and a number of model organism genome project, gene sequence data are rapidly growing at an unprecedented rate, the research on genomics has gradually shifted from structural genomics to functional genomics. As gene chip technology is simple, highly specific information available and stable, it has been widely used in the field of parasitology. With the progress in molecular genetics of parasites and the development and application of parasite gene chip detection tool, this technology has been used for screening parasite genes to explore the interaction between parasite and host, to study the pathogenesis and to screen parasite diagnostic antigens, drug targets and vaccine molecules, so as to greatly promote the pace of research in the field of parasitology. This paper described the classification of gene chip, and reviewed the latest progress of gene chip technology in the parasitology research.

【Key words】 Gene chip; Microarray; Gene expression profiling by microarray; Functional gene; Parasitology; Application

基因序列数据库一直处于指数增长之中,1995年第一个细菌基因组即流感嗜血杆菌(*Haemophilus influenzae*)全基因组序列发表^[1],1998年12月,第一个多细胞真核生物线虫(*Caenorhabditis elegans*)的基因组在 Science 上发表^[2]。2000年3月,为人类基因组研究发展曾作出重大贡献的果蝇(*Drosophila melanogaster*)的全基因组测序也得以实现^[3]。2001年美国宣布已完成人类基因组的序列测定,并在2001年2月 Science 上发表了人类基因组工程草图,我国科学家完成了其中1%的测定绘制工作^[4]。2009年,日本血吸虫和曼氏血吸虫基因

组序列也都完成了测定,并在 Nature 杂志上发表。血吸虫有巨大而复杂的基因组,基因组单倍体大约为400 Mb,4倍于秀丽隐杆线虫,3.4倍于果蝇,基因组中大约40%由重复片段组成,预测大约有13469个蛋白编码基因^[5-6]。迄今为止,研究者已经完成了包括大肠杆菌、酿酒酵母、疟原虫在内的十多种低等模式生物的基因组序列的测定^[7-10]。

面对浩瀚的数据,人们提出生命科学领域进入后基因组时代,即在基因组静态的碱基序列了解之后,转入对基因组动态的生物学功能研究,即功能基因组学。功能基因组学的启动使生命科学从寻找生物学上个别重要的基因到整个基因组功能活动规律的研究,实现了从局部向整体的转变,对全基因组及其产物同时展开研究,建立对生命现象的整体认识。基因组研究从结构起步,走出了结构的框架,进入了

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4122.2011.02.006

基金项目:国家科技重大专项项目(2008ZX10004-011);973课题(2007CB513108)

作者单位:200241 上海,中国农业科学院上海兽医研究所

* 通信作者:林矫矫,Email:jilin@shvri.ac.cn

功能、进化、信息的新领域,它是人类科学史上伟大的壮举之一,在生命科学史上是史无前例的。

为了得到基因表达的功能谱,在核酸层次上发展的新技术是基因芯片,在蛋白质层次上则是二维凝胶电泳和测序质谱技术。基因芯片是指将许多特定的寡核苷酸片段或基因片段有规律地排列固定于固相载体上,然后与待测标记样品按碱基配对原则进行杂交,再通过检测系统扫描,利用软件对信号进行比较和检测,得到所需的大量信息,可进行基因的高通量、大规模、平行化、集约化的信息处理和功能研究。寄生虫的基因组比较庞大,基因芯片作为一种先进的、大规模、高通量检测技术,给寄生虫基因组和功能基因组领域研究提供了较好的平台。

1 生物芯片和基因芯片的概念

生物芯片技术是 20 世纪 90 年代中期以来影响深远的重大科技进展之一,是融微电子学、生物学、物理学、化学、计算机科学为一体的高度交叉的新技术,具有重大的基础研究价值,又具有明显的产业化前景。生物芯片技术是通过缩微技术,根据分子间特异性相互作用的原理,将生命科学领域中不连续的分析过程集成于硅芯片或玻璃芯片表面的微型生物化学分析系统,以实现细胞、蛋白质、基因及其他生物组分的准确、快速、大信息量的检测。按照芯片上固化的生物材料的不同,可以将生物芯片分为基因芯片、蛋白质芯片、细胞芯片和组织芯片^[11]。由于用生物芯片技术可以将极其大量的探针同时固定于支持物上,所以一次可以对大量的生物分子进行检测分析,从而解决了传统核酸印迹杂交(Southern Blotting 和 Northern Blotting 等)技术复杂、自动化程度低、检测目的分子数量少、低通量等不足^[12]。

目前,常用的生物芯片是基因芯片,它是以基因序列为分析对象的“微阵列(microarray)”,也被称为基因芯片或 DNA 芯片。基因芯片技术是 20 世纪 90 年代迅速发展起来的一项前沿的分子生物学技术,它是在人类基因组计划的实施和发展,后基因组计划的启动,各种新技术和新方法不断涌现的背景下应运而生的。它是将成千上万种核酸探针分子有序地排列在面积不大的固相载体材料上,并与标志的样品核酸杂交,通过放射自显影或荧光扫描显示,可一次获得大量有用的生物信息。而且,通过设计不同的探针阵列、使用特定的分析方法可使该技术具有多种不同的应用价值,如基因表达谱测定、突变

检测、多态性分析、基因组文库作图及杂交测序(sequencing by hybridization, SBH)等,为“后基因组计划”时期基因功能的研究及现代医学科学及医学诊断学的发展提供了强有力的工具。基因芯片技术主要包括 4 个步骤:芯片和样品制备、杂交反应、信号检测和结果分析^[13]。

2 基因芯片的分类

2.1 按芯片用途分类

按照基因芯片的用途可分为表达谱芯片、诊断芯片、指纹图谱芯片、测序芯片、毒理芯片等,其中表达谱基因芯片应用最为广泛。

2.1.1 表达谱基因芯片

表达谱基因芯片又称为微点阵或微阵列,它是用来检测基因表达(转录水平)的芯片,是指将克隆到的成千上万个基因特异的探针或其 cDNA 片段固定在固相载体上,用于对来源于不同的个体、组织、细胞周期、发育阶段、分化阶段、病变、刺激下的细胞内 mRNA 或反转录后产生的 cDNA 进行大规模的检测,从而对这些基因表达的个体特异性、组织特异性、发育阶段特异性、分化阶段特异性、病变特异性、刺激特异性进行综合的分析和判断^[14]。

2.1.2 诊断芯片

基因芯片为诊断领域带来了新的概念,将会带动诊断产业的革命。它的优势在于一次能做多种传染病或遗传病的检测,将已知的多种传染病或遗传病的基因作为靶基因点于芯片上,就可以对一个标本同时进行多种病的检测,并且具有灵敏度高、特异性好、结果快速可靠的优点。

2.1.3 DNA 指纹图谱芯片

DNA 作为生物群体细胞中的遗传物质,具有遗传稳定性,代表了该种群的基本遗传特征。DNA 指纹技术就是利用分子标记技术开展 DNA 多态性的检测技术,例如扩增片段长度多态性、限制性片段长度多态性、随机扩增多态性、微卫星 DNA、简单重复序列、任意引物 PCR 等。微卫星 DNA 一般与限制性片段长度多态性技术结合以获得微卫星 DNA 指纹图谱,信息含量高,但它在染色体上分布不均匀;微卫星 DNA 既可作为探针获得指纹图谱,也可通过 PCR 方法进行微卫星位点多态性分析,但工作量大。DNA 指纹图谱芯片可用于开发生物战病原体

检测系统,进行血型、亲子鉴定、中药材成分研究、疾病检测及 DNA 指纹图谱分析等方面。

2.1.4 测序芯片

人类基因组计划的实施促进了更高效的、能够自动化操作的测序方法的发展,基因芯片利用固定探针与样品进行分子杂交产生的杂交图谱而排列出待测样品的序列,这种测序方法比传统的 Sanger 双脱氧链终止法快速,而且具有十分诱人的前景。1996 年, Chee 等^[15]用含 13.5 万个寡核苷酸探针的阵列测定了全长为 16.6 kb 的人线粒体基因组序列,准确率达 99%。Hacia 等^[16]用含有 4.8 万个寡核苷酸的高密度微阵列分析了黑猩猩和人 BRCA1 基因序列差异,发现在该基因外显子中的部分核苷酸序列同源性非常高(83.5%~98.2%),提示了二者在进化上的高度相似性^[17]。目前基因芯片在畜禽基因测序中的应用也越来越广泛。全世界正在建立各个畜禽品种的基因库,需要做大量的测序工作,基因芯片技术对这些畜禽品种基因库的快速建立的贡献是不可估量的。

2.1.5 毒理芯片

随着生物芯片技术在生物学领域的飞速发展,基因芯片技术已开始用于毒理学领域,包括大规模的药物毒理学研究、化合物的致突变作用、药物毒理机制的研究、毒理学中药物毒性的预测、化学物代谢特性分析与评价、化学致癌物筛选和识别以及药物临床前安全性评价等。据报道,美国国立环境卫生研究院已开发出检测环境有害物质的毒理芯片。

2.2 按 DNA 种类和制备方法分类

按照载体上点的 DNA 种类的不同,基因芯片可分为寡核苷酸芯片(oligo-microarray)和 cDNA 芯片(cDNA microarray)两大类。根据芯片制备点样方式不同,还可分为原位合成芯片、微矩阵芯片(分喷点和针点)和电定位芯片等 3 类。

2.2.1 寡核苷酸芯片

寡核苷酸芯片主要通过碱基互补配对原则进行杂交,来检测对应 mRNA 片段的的存在与基因丰度。寡聚核苷酸芯片序列选择经过优化,利用合成的一定长度(如 20、30、70-mer 等)的寡核苷酸单链探针代替全长 cDNA 点样,制成芯片。由于寡核苷酸芯片特异性强,操作方便,已逐渐成为基因芯片中的应

用主流。目前一般商业芯片公司在点制芯片的时候多用 60~70-mer 长度的探针,但其缺点是合成寡聚核苷酸长度有限,而且随长度的增加,合成错误率随之增高。寡核苷酸芯片也可通过直接点样制备,但固定率不如 cDNA 芯片高。寡核苷酸芯片主要用于点突变和测序等,也可以用于表达谱研究^[17]。

2.2.2 cDNA 芯片

cDNA 芯片是将微量 cDNA 片段在玻璃等载体上按矩阵密集排列并固化,基因点样密度虽不及原位合成寡聚核苷酸芯片高,但比用传统载体,如混合纤维素滤膜或尼龙膜的点样密度要高得多,可达到每张载玻片 6 万个基因。cDNA 芯片最大的优点是靶基因检测特异性非常好,目前许多国家实验室和大制药公司都用此类芯片。cDNA 芯片主要用于表达谱研究。

3 基因芯片技术在寄生虫学研究中的应用

寄生虫的基因组比较庞大,开展寄生虫基因组学和功能基因组学研究面临很多技术困难。基因芯片作为一种先进的、大规模、高通量检测技术,给寄生虫的基因组和功能基因组学领域研究提供了较好的平台。目前基因芯片主要用于筛选寄生虫功能基因,探索寄生虫与宿主相互作用关系,寄生虫发病机制及寄生虫诊断抗原、药物靶标和疫苗分子筛选等相关研究,都取得了预期的结果。

3.1 寄生虫的功能基因的筛选和研究

寄生虫经过多个发育阶段或不同生殖方式,生活史极为复杂,面临着环境压力和宿主的免疫压力,寄生虫可能通过控制基因水平的表达量,从而控制最终执行生物学功能的蛋白的表达量,以便适应环境压力和宿主选择压力,芯片技术对功能基因的筛选提供了良好的研究手段。

王欣之^[18]将 5 000 个日本血吸虫 cDNA 克隆(4 000 个来自 7 d 童虫消减 cDNA 文库的克隆和 1 000 个来自尾蚴、雌雄虫、成虫和虫卵消减 cDNA 文库的克隆)定制 cDNA 芯片,来分析日本血吸虫(*Schistosoma japonicum*)不同发育阶段差异表达基因状况。以 7 d 虫体 cDNA 为对照,分别和日本血吸虫 6 个不同发育阶段(7、13、18、23、32、42 d)以及 42 d 雌虫、42 d 雄虫 cDNA 进行双通道杂交,结果发现了一批不同发育阶段差异表达的基因,聚类分析表明差异基因主要归为 9 类变化趋势。对这 9 类基

因的变化进行深入分析可发现一些与虫体发育过程中生物学变化特点相关的信息或线索。

2008 年 Evans 等^[19]利用基因芯片技术,研究类圆线虫(*Strongyloides*)的性别和寄生虫特异性差异表达基因,与秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)已有基因功能注释比较,发现雌虫高表达基因主要与繁殖进程和幼虫发育相关。雄虫高表达基因主要与代谢进程相关,自由生长的虫体的差异表达基因主要与体表发育和外界应激相关。2009 年 Li 等^[20]以马来丝虫(*Brugia malayi*)三期幼虫为研究对象,分别比较了体外培养的马来丝虫、蚊虫体内马来丝虫和辐射致弱的马来丝虫的差异表达基因,研究使用 64-mer 寡核苷酸基因芯片,包含了 18 104 个基因。将以上 3 种不同来源的虫体基因表达谱两两比较,发现有 771 个差异表达基因,其中蚊虫体内马来丝虫与体外培养的马来丝虫相比较有 353 个差异表达基因;蚊虫体内马来丝虫与辐射致弱的马来丝虫相比较有 234 个差异表达基因,分析表明,差异表达基因主要为能量代谢、免疫逃避、生长发育相关基因。2009 年 Minning 等^[21]利用覆盖全基因组序列的寡核苷酸芯片技术对锥虫(*Trypanosoma cruzi*)主要发育阶段进行了差异表达基因筛选,基因覆盖率比以前使用的芯片扩大了近 50%,筛选差异表达量增加了 10%,且芯片结果与实时定量结果完全吻合。2009 年 Almeida 等^[22]将猪肉绦虫(*Taenia solium*) cDNA 文库中的表达序列标签(expressed sequence tag, EST) 1 520 个基因点制芯片,杂交试验发现有 51 个 EST 片段与其他种属抗原重叠,113 个基因与胞外粘附相关,为免疫诊断和疫苗研究提供了很好的研究基础。2010 年 Veitch 等^[23]利用基因芯片技术对布氏锥虫(*T. brucei gambiense*)生活史中两个感染性阶段的差异表达基因进行筛选,使用的基因芯片含有 7 360 个基因,覆盖了 81% 的基因序列,研究表明,上调表达的基因增加了 10 倍,筛选获得大量表膜蛋白。

2009 年 Gobert 等^[24]使用寡核苷酸芯片技术结合激光显微切割技术,对日本血吸虫雌虫的 3 种重要组织,即肠道上皮、卵巢、卵黄腺进行了差异基因表达图谱的功能聚类分析和多种基因组织定位的观察分析,分别筛选得到了 147、4 149 和 2 553 个上调表达基因,为无体腔的扁形动物门的研究提供了新的思路。2010 年 Gobert 等^[25]运用 cDNA 微阵列技术对曼氏血吸虫(*S. mansoni*)早期差异表达基因进行了研究,获得一批在刚进入宿主体内转为童虫时

期的最初阶段高表达基因,这些分子对于虫体在宿主体内的存活起到了至关重要的作用,有望筛选出作为新的疫苗或药物靶标。

3.2 寄生虫与宿主相互作用的研究

寄生虫侵入宿主后,寄生虫对宿主产生损害,同时宿主会设法清除感染的寄生虫,在长期进化中,寄生虫在宿主的选择压力下导致形态与功能的改变,宿主由于寄生虫感染产生一系列病理变化。宿主对寄生虫的先天和后天获得性免疫受到宿主和寄生虫双方遗传基因的影响,而此类基因的多样性是在宿主和寄生虫长期共进化的过程中相互适应,对双方进行选择并保存下来的。这种遗传决定的先天及后天获得性免疫应答能力的差异,在个体和群体中,都是影响感染水平和结局的最重要的因素。

2008 年 Ettinger 等^[26]将单核巨噬细胞感染恰氏利氏曼原虫(*Leishmania chagasi*)后与 T 细胞共培养后,使用基因芯片筛选其差异表达基因,研究表明,在缺失巨噬细胞激活下,利氏曼原虫感染与 Th1 型免疫应答相关,寄生虫发育的微环境可能促进初始免疫 T 细胞的发育。2009 年 Albuquerque 等^[27]将疟原虫感染肝细胞,利用芯片分析肝脏细胞基因表达情况,发现疟原虫感染初期,应激相关基因表达量升高,最终转化为宿主细胞代谢过程和细胞增殖等相关基因表达异常。2009 年 Yang 等^[28]利用宿主细胞的芯片筛选了在微小隐孢子虫(*Cryptosporidium parvum*)侵入上皮细胞过程的差异表达基因,得到 14 个差异表达基因,其中发现蛋白酶活化受体-2(protease activated receptor-2)基因在入侵细胞的滋养体表面表达。

2008 年 Waisberg 等^[29]发现在不同性别宿主体内曼氏血吸虫的生长发育存在差异,利用寡核苷酸芯片比较筛选,发现雌虫有 11 个特异上调表达基因,雄虫有 134 个特异上调表达基因,对这些基因功能的分析有助于理解血吸虫与宿主不同性别的相互关系。2009 年 You 等^[30]利用寡核苷酸芯片技术研究胰岛素的摄入对不同性别日本血吸虫生长发育的影响,使用寡核苷酸芯片对胰岛素的摄入引起的差异表达基因进行筛选,发现胰岛素的摄入可明显促进血吸虫生长发育相关基因的表达增加。2010 年 Jiang 等^[31]以血吸虫易感动物小鼠、非易感动物大鼠和对日本血吸虫具有天然抗病作用的东方田鼠作为动物模型,运用大鼠和小鼠的寡核苷酸芯片技术,对不同宿主感染日本血吸虫后的表达差异基因进行

了筛选分析,推测了 3 种动物日本血吸虫免疫应答的可能机制,为血吸虫与不同宿主之间相互作用关系的阐明提供了一些基础信息。2010 年 Friedrich 等^[32]通过芯片研究和分析,发现顶复器门寄生虫的微线蛋白家族成员在入侵宿主细胞过程中发挥重要的生物学功能。

3.3 寄生虫发病机制的研究

寄生虫侵入宿主后,摄取和利用宿主的营养物质,调节宿主的免疫系统,逃避宿主的免疫杀伤,从而完成在宿主体内寄生的目标。寄生虫感染宿主机体产生损害发病的具体机制复杂,通过基因芯片技术对寄生虫感染过程中宿主的基因表达变化的研究有利于深入探索和理解寄生虫的感染发病机制。

2009 年 Araujo 等^[33]利用微阵列技术研究了对胃肠线虫 (*Gastrointestinal nematodes*) 易感和抗性牛的免疫相关基因的表达图谱,共选取 381 个宿主免疫相关基因作为 cDNA 芯片探针,发现易感组与抗性组存在 138 个显著差异基因,结果经实时定量 PCR 进一步验证后,发现了一批易感动物和抗性动物各自的高表达基因,这些结果揭示了在易感组或抗性组中,胃肠线虫感染可能会引起各自特征性免疫应答途径。2009 年 Kim 等^[34]研究发现,华支睾吸虫 (*Clonorchis sinensis*) 感染小鼠后,小鼠肝脏表达基因出现显著变化,脂肪酸代谢相关基因如 *Peci*、*Cyp4a10*、*Acat1*、*Ehhadh*、*Gcdh* 和 *Cyp2* 家族基因表达量显著降低; *Wnt* 信号通路分子如 *Wnt7b*、*Fzd6*、*Pdgfrb* 等和细胞周期调节分子如 *cyclin-D1*、*Cdca3*、*Bcl3* 基因表达特异性增加。Yang 等^[28]利用芯片筛选隐孢子虫感染的单层细胞差异表达基因,发现隐孢子虫感染可特异性地增强糖蛋白的代谢水平,该结果用凝集素荧光标记方法得到了验证。2010 年 Zeiner 等^[35]通过芯片技术和常规的分子生物学技术研究表明,刚地弓形虫 (*Toxoplasma gondii*) 感染宿主后, *miR-17* 和 *miR-106b* 的初始转录本 (primary transcript) 的上调表达,其启动子可能驱动了其高表达,而成熟的 *miR-17* cluster 表达量未见变化。

3.4 寄生虫的抗药性与诊断研究

随着现代分子生物学技术的飞速发展和基因组学研究工作的快速推进,为寄生虫抗药性筛选和新型诊断方法的建立提供了良好条件,基于基因芯片技术方便和快捷的特点,研究人员逐渐将基因芯片应用于寄生虫抗药性机制和诊断研究中。

2010 年 Lee 等^[36]将 3 种待检测原虫小亚单位 rRNA 基因序列,设计成 21-mer 寡核苷酸探针,并结合实时定量 PCR 技术,可有效用于检测水源性原虫病原体。2010 年 Marfurt 等^[37]利用基因芯片技术,对疟原虫耐药性虫株进行单核苷酸多态性研究,研究发现基因抗药性谱主要与 *Crt*、*mdr1*、*dhfr*、*dhps*、*ATPase6* 等相关,并对药物治疗失败与突变型的关系作了分析。

4 结语

过去十多年里,随着 DNA 测序技术的进步,以及各种功能基因组学研究方法的不断创新及运用,基因组学研究正在成为一种常规的研究方法,特别是许多模式生物基因的功能被逐步阐明,对推进功能基因组学的研究具有重要的参考价值。功能基因组学包括全基因组的序列分析、功能分析和比较分析,是结构、功能和进化基因组学交织的学科,加上必要的计算机及其软件,形成了今天一个崭新而庞大的领域——生物信息学。生物信息学一方面将基因的结构、蛋白的功能、进化在基因组信息的基础上统一了起来,另一方面,为基因组信息的分析、基因功能的预测、蛋白质结构与功能关系的研究,提供了有力而可靠的工具。

寄生虫基因组较庞大,体外培养困难,加上生活史复杂,研究工作一直受到各种制约因素的阻碍。自 1989 年美国 Affymetrix 公司研制出世界上第一块基因芯片以来,基因芯片技术已经在基因的发现和表达研究、杂交测序、疾病诊断、环境保护和监测等很多领域展示了其诱人的应用前景,它的特点同样也为其在寄生虫学研究领域的应用提供了广阔前景。基因芯片应用于寄生虫基因组学与功能基因组学研究,会有效促进寄生虫功能基因的分离、鉴定,深入解析其生物学功能,加速研究寄生虫与宿主相互作用关系和探究寄生虫病发病机制的相关研究,为开展和建立新的寄生虫诊断方法,筛选新的药物和疫苗分子筛选提供有力支撑。基因芯片技术既可以用来对病原(寄生虫)的基因表达谱进行分析和功能基因进行筛选,也可以用来对寄生虫感染的宿主进行基因表达谱分析^[38],为探究病原引起宿主免疫应答过程的不同机制提供了更快、更好的方法,它的广泛应用将大大加快寄生虫学领域的研究步伐。

可以预见基因芯片技术将被更广泛地应用于:(1)基因水平的寄生虫的分类、进化、遗传多态性和寄生虫与寄生环境关系的研究;(2)通过对寄生虫

不同发育阶段差异性表达基因的检测,研究其生活史的阶段发育;(3)通过寄生虫性别特异基因的鉴定,研究其性别发育及为开发寄生虫抗生殖疫苗提供帮助;(4)从基因水平揭示寄生虫与不同宿主之间相互作用关系的研究;(5)寄生虫病的分子诊断;(6)抗寄生虫新药的开发和研制等方面。芯片技术具有高通量、大规模、平行性地分析基因表达的特点,在药物筛选方面具有巨大的优势,可以省略大量的动物试验,缩短药物筛选所用时间,提高效率,降低风险和费用。随着寄生虫体外培养技术的不断完善和多种功能基因组学方法的系统运用,将会有越来越多的寄生虫的关键性基因的功能被阐明,如在免疫逃避中起重要作用的基因、在宿主体内促进或抑制寄生虫生长发育的基因等,这些都将为发现新的药物靶标及新的疫苗候选基因开辟广阔的前景,为控制寄生虫病奠定坚实的基础。

参 考 文 献

- [1] Fleischmann RD, Adams MD, White O, et al. Whole-genome random sequencing and assembly of *Haemophilus influenzae* Rd [J]. *Science*, 1995, 269(5223):496-512.
- [2] *C. elegans* Sequencing Consortium. Genome sequence of the nematode *C. elegans*: a platform for investigating biology [J]. *Science*, 1998, 282(5396):2012-2018.
- [3] Adams MD, Celniker SE, Holt RA, et al. The genome sequence of *Drosophila melanogaster* [J]. *Science*, 2000, 287(5461):2185-2195.
- [4] Venter JC, Adams MD, Myers EW, et al. The sequence of the human genome [J]. *Science*, 2001, 291(5507):1304-1351.
- [5] *Schistosoma japonicum* Genome and Functional Analysis Consortium. The *Schistosoma japonicum* genome reveals features of host-parasite interplay [J]. *Nature*, 2009, 460(7253):345-351.
- [6] Berriman M, Haas BJ, LoVerde PT, et al. The genome of the blood fluke *Schistosoma mansoni* [J]. *Nature*, 2009, 460(7253):352-358.
- [7] Wodicka L, Dong H, Mittmann M, et al. Genome-wide expression monitoring in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Nat Biotechnol*, 1997, 15(13):1359-1367.
- [8] Blattner FR, Plunkett III G, Bloch CA, et al. The complete genome sequence of *Escherichia coli* K-12 [J]. *Science*, 1997, 277(5331):1453-1462.
- [9] Pain A, Böhme U, Berry AE, et al. The genome of the simian and human malaria parasite *Plasmodium knowlesi* [J]. *Nature*, 2008, 455(7214):799-803.
- [10] Carlton JM, Adams JH, Silva JC, et al. Comparative genomics of the neglected human malaria parasite *Plasmodium vivax* [J]. *Nature*, 2008, 455(7214):757-763.
- [11] 陈木新,陈韶红,陈家旭. 蛋白芯片在寄生虫病免疫诊断中的应用前景 [J]. 国际医学寄生虫病杂志, 2010, 37(5):272-277.
- [12] 杨蓉,程京. 生物芯片研究进展 [J]. 生物工程进展, 1999, 19(4):33-38.
- [13] 王升启. 基因芯片技术及研究进展 [J]. 生物工程进展, 1999, 19(4):45-51.
- [14] 姜海,张建中. 表达谱基因芯片在原核生物研究中的应用 [J]. 中国全科医学, 2004, 7(12):928-930.
- [15] Chee M, Yang R, Hubbell E, et al. Accessing genetic information with high-density DNA arrays [J]. *Science*, 1996, 274(5287):610-614.
- [16] Hacia JG, Makalowski W, Edgemon K, et al. Evolutionary sequence comparisons using high-density oligonucleotide arrays [J]. *Nat Genetics*, 1998, 18(3):155-158.
- [17] Watson MA, Perry A, Budhja V, et al. Gene expression profiling with oligonucleotide microarrays distinguishes World Health Organization grade of oligodendrogliomas [J]. *Cancer Res*, 2001, 61(5):1825-1829.
- [18] 王欣之. 日本血吸虫不同发育阶段虫体差异表达基因解析 [D]. 北京:中国农业科学院, 2008:44-51.
- [19] Evans H, Mello LV, Fang Y, et al. Microarray analysis of gender- and parasite-specific gene transcription in *Strongyloides ratti* [J]. *Int J Parasitol*, 2008, 38(11):1329-1341.
- [20] Li BW, Rush AC, Mitreva M, et al. Transcriptomes and pathways associated with infectivity, survival and immunogenicity in *Brugia malayi* L3 [J]. *BMC Genomics*, 2009, 10:267.
- [21] Minning TA, Weatherly DB, Atwood J 3rd, et al. The steady-state transcriptome of the four major life-cycle stages of *Trypanosoma cruzi* [J]. *BMC Genomics*, 2009, 10:370.
- [22] Almeida CR, Stoco PH, Wagner G, et al. Transcriptome analysis of *Taenia solium* cysticerci using Open Reading Frame ESTs (ORESTES) [J]. *Parasit Vectors*, 2009, 2(1):35.
- [23] Veitch NJ, Johnson PC, Trivedi U, et al. Digital gene expression analysis of two life cycle stages of the human-infective parasite, *Trypanosoma brucei gambiense* reveals differentially expressed clusters of co-regulated genes [J]. *BMC Genomics*, 2010, 11:124.
- [24] Gobert GN, McManus DP, Nawaratna S, et al. Tissue specific profiling of females of *Schistosoma japonicum* by integrated laser microdissection microscopy and microarray analysis [J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2009, 3(6):e469.
- [25] Gobert GN, Tran MH, Moertel L, et al. Transcriptional changes in *Schistosoma mansoni* during early schistosomula development and in the presence of erythrocytes [J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2010, 4(2):e600.
- [26] Eitinger NA, Wilson ME. Macrophage and T-cell gene expression in a model of early infection with the protozoan *Leishmania chagasi* [J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2008, 2(6):e252.
- [27] Albuquerque SS, Carret C, Grosso AR, et al. Host cell transcriptional profiling during malaria liver stage infection reveals a coordinated and sequential set of biological events [J]. *BMC Genomics*, 2009, 10:270.
- [28] Yang YL, Serrano MG, Sheoran AS, et al. Over-expression and localization of a host protein on the membrane of *Cryptosporidium*

- parvum* infected epithelial cells [J]. Mol Biochem Parasitol, 2009, 168(1):95-101.
- [29] Waisberg M, Lobo FP, Cerqueira GC, et al. *Schistosoma mansoni*: microarray analysis of gene expression induced by host sex [J]. Exp Parasitol, 2008, 120(4):357-363.
- [30] You H, Zhang W, Moertel L, et al. Transcriptional profiles of a-dult male and female *Schistosoma japonicum* in response to insulin reveal increased expression of genes involved in growth and development[J]. Int J Parasitol, 2009, 39(14):1551-1559.
- [31] Jiang W, Hong Y, Peng J, et al. Study on differences in the pathology, T cell subsets and gene expression in susceptible and non-susceptible hosts infected with *Schistosoma japonicum* [J]. PLoS One, 2010, 5(10): e13494.
- [32] Friedrich N, Santos JM, Liu Y, et al. Members of a novel protein family containing microneme adhesive repeat domains act as sialic acid-binding lectins during host cell invasion by apicomplexan parasites[J]. J Biol Chem, 2010, 285(3):2064-2076.
- [33] Araujo RN, Padilha T, Zarlenga D, et al. Use of a candidate gene array to delineate gene expression patterns in cattle selected for resistance or susceptibility to intestinal nematodes[J]. Vet Parasitol, 2009, 162(1-2):106-115.
- [34] Kim DM, Ko BS, Ju JW, et al. Gene expression profiling in mouse liver infected with *Clonorchis sinensis* metacercariae [J]. Parasitol Res, 2009, 106(1):269-278.
- [35] Zeiner GM, Norman KL, Thomson JM, et al. *Toxoplasma gondii* infection specifically increases the levels of key host microRNAs [J]. PLoS One, 2010, 5(1): e8742.
- [36] Lee DY, Seto P, Korczak R. DNA microarray-based detection and identification of waterborne protozoan pathogens [J]. Microbiol Methods, 2010, 80(2):129-133.
- [37] Marfurt J, Smith TA, Hastings IM, et al. *Plasmodium falciparum* resistance to anti-malarial drugs in Papua New Guinea: evaluation of a community-based approach for the molecular monitoring of resistance [J]. Malar J, 2010, 9(1):8.
- [38] 张国庆, 汤林华. 基因芯片技术在疟疾研究中的应用 [J]. 国际医学寄生虫病杂志, 2007, 34(4):180-183.

(收稿日期:2011-01-13)

(本文编辑:姬晓云)