

# 抛砖引玉: Affymetrix 芯片应用案例



全基因组关联 (GWA) 研究是一种鉴定与常见人类疾病相关基因的有效方法。WTCCC 采用了 500K 芯片在英国人群中进行联合 GWA 研究, 检测了七种主要疾病 (每种疾病 2, 000 个病人) 和 3, 000 个共享正常对照个体。病例-对照对比后鉴定了 24 个独立的关联性信号 ( $P < 5 \times 10^{-7}$ ); 双极抑郁症 1 个, 冠心病 1 个, 克罗恩病 9 个, 风湿性关节炎 3 个, I 型糖尿病 7 个, II 型糖尿病 3 个。基于先前的研究发现和目前已经完成的重复性研究, 显示几乎所有的这些信号都反映了真实的易感性效应。在大多数已鉴定的位点处观察到的适度效应大小说明拥有一批适当规模的样品是非常重要的。该研究是至今完成的最大的 GWA 研究和对 GWA 方法的一种全面验证。

Redon 等用两种不同的芯片平台 (昂飞 500K 芯片和 Whole Genome TilePath) 分析了 270 个正常个体内的拷贝数变异, 研究发现 CNV 在人类多样化和进化中非常重要。CNV 区域比 SNP 包含更多的核苷酸内容。在 HapMap 人群中已识别 1447 个 CNV 区域, 这些区域覆盖了 12% 的人类基因组 (360MB)。CNV 在人类生物学和病症中非常重要。CNV 区域包含成百上千的基因、功能要素和分段重复序列。CNV 在遗传研究中非常有价值, 可作为 SNP 的补充信息。HapMap 人群中的许多 CNV 中存在大量的 CNV 型变异和明显的连锁不平衡。

Smyth 等采用了全基因组非同义 SNP (nsSNP) 扫描方法研究了剩下的 I 型糖尿病 (T1D) 易感性位点, 该方法使用了高度多元化、高通量的分子倒置探针 (MIP) 技术。研究以有说服力的统计学支持, 表明在染色体 2q24.3 先天免疫病毒 RNA 受体基因区域 IFIH1 (又被称为 mda-5 或 Helicard) 存在第六个 I 型糖尿病 (T1D) 相关位点。在对全基因组非同义 SNP (nsSNP) 扫描的期中分析中, 研究发现了这一相关性, 并在病例-对照群体中对其进行了确证, 最后还在一个独立

的家系群体中进行了重复性实验。对 4, 253 个病例, 5, 842 个对照和 2, 134 个父母-孩子的三口之家的基因型进行检测发现, nsSNP rs1990760 A-G(A946T) 的次要等位基因的风险率是 0.86 (95% 置信区间  $= 0.82-1.90$ ),  $P = 1.42 \times 10^{-10}$ 。

线粒体的体细胞性突变在人类的癌症中较为常见, 所以可以将它用途检测早期癌症的工具。Maitra 等开发了一种线粒体客户定制的 ReseqTM 芯片, 将其作为基于芯片的测序平台, 快速且高通量地分析线粒体 DNA。该研究对多个个体总计超过 200 万碱基对的线粒体 DNA 进行测序, 成功地读取了 96.0% 的核苷位置, 重复实验显示了 >99.99% 的重现性。在 5 个膀胱癌患者和 4 个胰腺癌患者的配对流体取样样品中 (分别用尿液和胰液), MitoChip 在 9 个样本的 6 个中 (66%) 检测到了至少一个癌症相关的线粒体突变。

MitoChip 是一款高通量的测序工具, 可以从一些临床样本的主要肿瘤中可靠地鉴定线粒体 DNA 突变。

在癌症分子分型研究方面, 早在 1999 年, Golub 在 Science 杂志的文章中表明, 他的研

究小组使用昂飞生物芯片,在鉴定癌症种类以及肿瘤分型方面取得了重大进展。Golub 等在没有获得白血病病倒背景信息的条件下,通过昂飞表达谱生物芯片,针对急性巨核细胞白血病 (acute myeloid leukemia) 和急性淋巴细胞性白血病 (acute myeloid leukemia) 的可能性进行了预测性分析。研究结果表明,单纯依赖基因表达芯片生物检测来对癌症进行分型是具有可行性的。这类研究提出了一条不依靠早期生物学一表型的癌症类型预测和鉴定的策略。T. R. Golub, et al., Molecular Classification of Cancer; Class Discovery and Class Prediction by Gene Expression Monitoring. Science 15 October 1999: Vo1. 286. no. 5439, pp. 531-537.

Kimchi 等学者使用人类基因组 U133A 芯片发现了与停产癌发病机理相关的一个新通路。他们对正常食道上皮、巴瑞特组织 (Barret) 变形和食道腺癌所采样本进行评测,发现有 214 个基因标记可用于区分三种样品型。他们的数据显示从巴瑞特氏食道转化为腺癌与表皮分化复合物相关的基因抵制有联系。对于在巴瑞特氏食道和腺癌中都有表达的基因进行相关分析可进一步发现 21 个可代表潜在遗传标记和治疗干扰的药物靶标的基因。

在植物学基因组研究方面,昂飞芯片也有

广泛的使用。Plant cell 杂志曾经报道过

Caldo 等研究人员利用昂飞公司含有 22,000 个大麦基因的表达谱芯片对植殊基因型、小麦白粉菌 (Bgh) 及时间之间 36 个组合的相互作用进行了基因表达谱分析,深入研究了植物抗病病原体感染的分子机制。通过比较植物通用感染抗性和特定感染抗性之间的关系,作者诊断在病原体相关的通用识别和特定识别之前存在着联系,并且提出证据支持下面这个假说:病原体对植物基本防御的抵制这一善能被宿主识别和防止,并从这个基础进化出了宿主特异性抗性。

在应用全转录本表达谱芯片的研究中,虽然此类新型芯片推出的时间还不长,但是有很多科学家利用其得到了许多激动人心的成果。荷兰 Erasmus 医疗中心 French 等研究者最近使用人类 Exon 1.0 芯片对两种不同类型的神经胶质癌症进行了了剪接异构体表达特征分析,已得到了突破性的结果。他们发现肿瘤中大约有 20% 的突变引起了外显子跳跃;在不同的个体中会观测到外显子跳跃这一现象的发生;那些相关基因的测序结果表明存在着同外显子跳跃现象相关的突变。这些发现指明了一个新的研究方向;导致疾病相关剪接异构体发生的基因可能会成为癌症治疗的药靶目标。