转化医学研究（电子版）2011，1（1）：46－68
Translational Medicine Research（Electronic Edition），2011，1（1）：46－68

综　述



程京：医学生物物理学专家，中国工程院院士。从事基础医学和临床医学相关生物技术研究，在生物芯片的研究中有重要建树和创新。站在国际生物芯片研究前沿并结合国情，主持建立了国内急需的疾病预防、诊断和预后分子分型芯片技术体系，领导研制了基因、蛋白和细胞分析所需的多种生物芯片，其中部分芯片已通过国家食品药品监督管理局认证、进入临床应用，实现了生物芯片所需全线配套仪器的国产化。

按语：本文介绍清华大学转化医学与工程研究院等单位根据临床实践的需求研究开发，并已经或即将转化到临床使用的一批基于微阵列芯片技术和芯片法的诊断检测试剂盒和仪器设备，包括用于遗传性耳聋基因检测、分枝杆菌菌种鉴定、结核分枝杆菌耐药基因检测、呼吸道细菌非培养快速检测、乙型肝炎病毒耐药检测、抗核抗体检测、精子健康筛选、乳腺癌患者的远处转移风险预测以及各类生物医学仪器。其中不少已经通过国家食品药品监督管理局的批准。此外，还有部分仪器已出口到欧洲十个国家和美国。

疾病个性化诊断相关的转化医学尝试

谢兰[1,2]，郭永[1,2,3,4]，黄国亮[1,2,3,4]，邢婉丽[1,2,3,4]，高华方[4]，祝令香[4]，王东[4]，张冠斌[4]，孙义民[4]，张治位[4]，王璨[4]，荆高山[4]，秦文彦[4]，Keith Mitchelson[4]，周玉祥[1,2,3,4]，程京[1,2,3,4]*

1. 清华大学转化医学与工程研究院，北京 100084
2. 清华大学医学院生物医学工程系，北京 100084
3. 生物芯片北京国家工程研究中心，北京 102206
4. 博奥生物有限公司，北京 102206

摘要　转化医学是一种新的生物医学研究和应用模式，强调“从床旁到实验室再到床旁”的联接，通过将基础医学研究成果转化为临床应用的工具，使其在疾病预防、诊断、个体化治疗和预后等各个环节发挥重要作用。清华大学利用自身在生物芯片、系统生物学、化学、微电子工程、精密仪器等方面的学科优势，从临床医院的实际需求出发，通过实验室研究提出解决方案，再与生物医学企业合作将科研成果转化为产品，最后将产品回馈应用于临床，探索出一条从“临床需求－高校研发－企业转化－临床应用”的成功途径。经过近十年的实践，目前已有部分科研产品获得成功转化并应用到遗传病诊断、感染性疾病诊断、自身免疫性疾病诊断、肿瘤早期诊断和转移评价、辅助生殖、生物医学仪器研制等众多领域。

作者简介：谢兰，女，博士，研究方向：生物芯片。E－mail：xielan@tsinghua.edu.cn
* 通讯作者：程京　E－mail：jcheng@tsinghua.edu.cn

关键词 转化医学，临床应用，疾病诊断，生物芯片，个体化

转化医学（translational medicine）是近几年来很热门的概念，指的是将基础研究的成果转化成能为患者提供实际帮助的治疗手段，强调的是“从床旁到实验室再到床旁（Bedside to Bench and back to Bedside）”的联接。从以往的研究经验来看，基础研究和临床实践因种种原因被分隔开来，基础研究包括药物开发通常是在隔离于临床实践的实验室中完成的，缺乏和临床的沟通；而临床工作则依旧按照传统医疗模式进行，并未明显地从成果众多的基础研究中获益。为了缩短基础研究和临床医学的距离，转化医学这一新的医学模式应运而生，倡导以患者为中心，从临床工作中发现和提出问题，再由基础研究人员来制定解决问题的方案，然后再将基础研究成果快速转向临床应用，即形成一种“临床－基础－临床”的模式，来提高医学研究成果转化的效率。转化医学已在新药研发、新生物标志物发现、疾病早期诊断和预防、个性化治疗等方面发挥出越来越重要的作用。

清华大学充分利用自身在生物芯片、系统生物学、化学、微电子工程、精密仪器与机械制造等方面的优势，与临床医院紧密结合，从临床实践的重大急迫需求出发，通过实验室研究提出解决方案，再与生物医学企业合作将科研成果转化为产品，最后将产品回馈应用于临床，形成了“临床需求－高校研发－企业转化－临床应用”的合作链条。经过近几年的实践，已成功将科研成果转化并应用于遗传病诊断、感染性疾病诊断和个体化治疗、自身免疫性疾病诊断、肿瘤早期诊断和转移评价、辅助生殖技术、生物医学仪器研制等众多领域。

1 遗传性耳聋诊断和干预

1.1 临床需求

2006 年我国第二次全国残疾人抽样调查结果表明，我国听力障碍患者达 2780 万人，占全国残疾人的 33.5%，列各类残疾之首；而每年新增的听障儿童（包括新生儿听障和迟发性耳聋、药物性耳聋患者）可达 6 万多人，给国家带来造成了极大的社会负担[1]。在所有致聋原因中，遗传因素是导致聋儿出生的主要原因，比例高达 60%[2]，这样的听力障碍不局限于一代人，还将通过父母遗传给后代，危害性更加严重，而目前已知多个不同基因上的突变是导致遗传性耳聋的决定性因素。中国解放军总医院依据自身的临床实践经验，提出目前临床亟需准确、有效的基因诊断方法，以便对遗传性耳聋进行出生缺陷的早期诊断和干预。

1.2 高校研发

针对紧迫的临床需求，清华大学开始了微阵列芯片对遗传性耳聋进行快速、高效、可靠的基因检测研究。解放军总医院提供的我国遗传性耳聋的分子流行病学调查结果表明，GJB2、SLC26A4、线粒体基因突变是造成中国人耳聋的主要遗传致病因素[3-5]，清华大学李彩霞等[6]基于多重等位基因特异性 PCR 结合通用微阵列芯片技术平台设计制作了遗传性耳聋基因检测芯片，利用这款芯片可在 5 h 内完成导致遗传性耳聋的 4 个常见基因（GJB2、GJB3、SLC26A4、线粒体基因）的检测，可对药物性耳聋、先天性重度以上感音神经性耳聋、大前庭导水管综合征、后天高频音感神经性耳聋等遗传性耳聋疾病进行诊断，140 多例临床样品的芯片检测结果与测序结果完全相符。

1.3 企业转化

在此研究基础上，博奥生物有限公司联合上述两家单位开发了晶芯®“九项遗传性耳聋基因检测试剂盒（微阵列芯片法）”，该试剂盒可以快速准确地对与遗传性耳聋密切相关的 9 个基因突变位点（即 GJB2 基因的 35 del G、176 del 16、235 del C 和 299 del AT 突变，GJB3 基因的 538 C > T 突变，SLC26A4 基因的 2168 A > G 和 IVS 7－2 A > G 突变，MTRNR1 的 1555 A > G 和 1494 C > T 突变）（图 1）进行检测，经过三家临床医院 1000 多例临床样本的验证，该产品与测序法的符合率达到 100%[7,8]。2009 年 9 月，该产品获得国家食品药品监督管理局（SFDA）的批准，正式应用于临床诊断。这是迄今为止世界上首款获得批准用于临床诊断的遗传性耳聋基因检测芯片产品，与传统测序方法相比，它具有快速、高通量、低成本等特点，操作简单，易于标准化，能够满足临床耳聋基因检测的需求，可用于孕前检查、产前筛查及新生儿筛查，可以帮助父母获得自己、胎儿或新生儿的遗传信息，有效降低新生儿患遗传性耳聋的概率，或通过合理的措施来减少后天药物性耳聋的发生率。

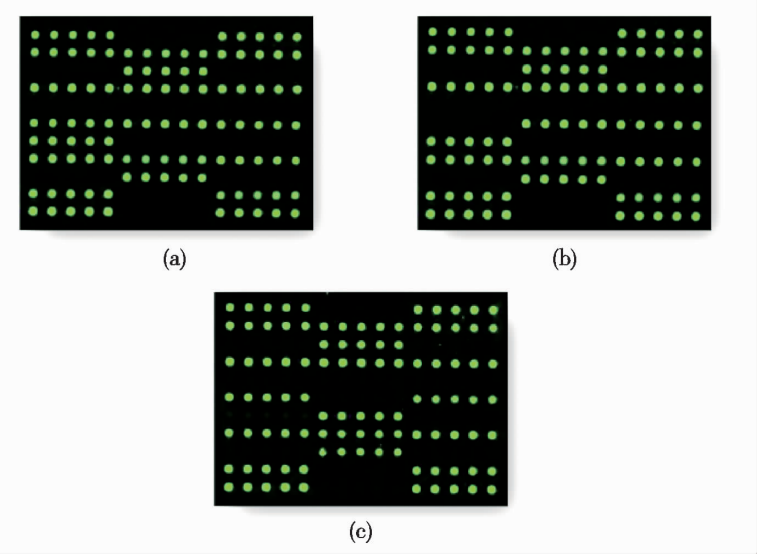


图 1　遗传性耳聋微阵列基因芯片检测结果
（a）先天性重度以上感音神经性耳聋 GJB2 基因杂合突变；（b）先天性重度以上感音神经性耳聋 GJB2 基因纯合突变；（c）导致药物性耳聋的线粒体基因 1555A＞G 突变

2 感染性疾病诊断

随着现代科学的进步，许多传染性疾病逐渐得到了控制和治疗，但一些新发传染病例如 SARS、H1N1 病毒，以及一些重新流行的古老传染病，例如结核、霍乱、疟疾，因其影响人群众多、传播迅速、危害性大等特点，依然对人类健康存在着巨大的威胁。如何及时、准确、快速地检测和鉴定病原体，指导医生针对性用药是临床面临的巨大挑战。清华大学研制开发了一系列用于传染性疾病病原体及其耐药性检测的生物芯片，并将其推向临床，帮助医生对多种传染性疾病进行早期诊断和个体化治疗。

2.1 分枝杆菌菌种鉴定

2.1.1 临床需求

结核分枝杆菌是分枝杆菌中的重要家族，也是引起结核病的病原菌。结核病是重要的传染性疾病，历史上，曾与天花、鼠疫和霍乱等传染病一样，在全世界范围内广为流行。从上世纪 50 年代起，随着抗结核药物研制成功，结核病的流行曾得到有效控制，并在一些地区绝迹。从上世纪 90 年代以来，由于世界人口数量剧增且结构改变、不少国家对结核病的忽视等多种因素，使结核病死灰复燃，再度成为严重的公共卫生问题。目前，每年死于结核病的人数超过 200 万人，新发病例 800 万人[9]。非结核分枝杆菌（NTM）是指除结核分枝杆菌复合群和麻风分枝杆菌以外的其他分枝杆菌，根据 2000 年进行的第四次全国结核病流行病学抽样调查表明，NTM 的感染率已达到 11.1%[10]，日益引起人们的关注。结核病的临床常规检测技术主要是涂片法和培养法，它们的共同缺点是灵敏度低、培养时间长，从而造成结核病临床诊断延迟[11]。中国疾病预防控制中心结核病防治临床中心提出，目前临床需要更加准确、灵敏、快速的方法对分枝杆菌进行鉴定，这对于改善我国分枝杆菌感染的现状意义重大。

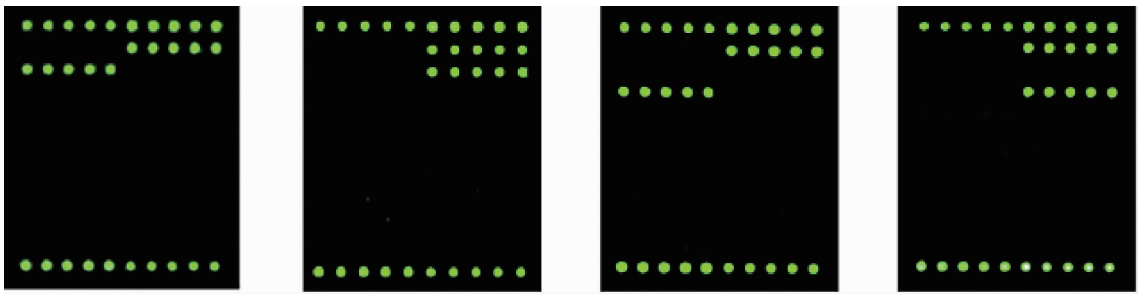
2.1.2 高校研发

清华大学祝令香等[12]研发了一款 DNA 微阵列芯片（图 2），这款芯片可以检测临床常见分枝杆菌的 17 个种或群（即结核分枝杆菌复合群、胞内分枝杆菌、鸟分枝杆菌、戈登分枝杆菌、堪萨斯分枝杆菌、偶然分枝杆菌、瘰疬分枝杆菌、浅黄分枝杆菌、土分枝杆菌、龟分枝杆菌或脓肿分枝杆菌、草分枝杆菌、不产色分枝杆菌、海分枝杆菌或溃疡分枝杆菌、金色分枝杆菌、苏尔加分枝杆菌或玛尔摩分枝杆菌、蟾蜍分枝杆菌和耻垢分枝杆菌），覆盖了临床 95% 以上常见分枝杆菌菌种/群，与配套仪器一起构成的检测系统可在 6 h 内完成从样本制备到结果报告的全过程，与传统涂片法和培养法相比节省了大量时间，检测结果与直接测序法结果比对，临床灵敏度、临床特异性及总符合率均为 100%。

2.1.3 企业转化

在此基础上，博奥生物有限公司开发了晶芯®“分枝杆菌菌种鉴定试剂盒（DNA 微阵列芯片法）”，

并于2010年5月获国家食品药品监督管理局颁发的医疗器械注册证，随后还获颁欧盟CE证书，目前已在国内数十家医院展开临床应用，为结核病的诊断提供了新的手段。



（a） （b） （c） （d）

图2 分枝杆菌鉴定芯片检测结果

（a）结核杆菌（复合群）；（b）胞内分枝杆菌；（c）鸟分枝杆菌；（d）戈登分枝杆菌[12]

2.2 结核耐药检测

2.2.1 临床需求

上个世纪五十年代，抗结核药物如利福平、异烟肼等的研制成功，为结核病患者带来了福音，经过几十年的发展，结核分枝杆菌的耐药性不断增强，给结核病的治疗增加了难度。耐多药结核分枝杆菌是指至少耐利福平和异烟肼的菌株，与高病死率密切相关[13]。传统的药物敏感性试验培养周期长，约需4～12周才能得出结果，一些快速培养系统，如生物梅里埃公司的BACTEC/BacTAlert系统，也需要约14 d的时间才能获得药敏结果[14]。中国疾病预防控制中心结核病防治临床中心提出，目前临床需要更加强大的工具来实现耐药菌株的快速检测，从而实现早期针对性治疗并控制耐药株的进一步传播。

2.2.2 高校研发

近年来，利福平和异烟肼的耐药机制研究得到了快速发展，大部分利福平耐药性是由rpoB基因上长81bp的核心区域的基因突变造成的[15]。另外，通过对大量高水平耐异烟肼菌株的研究发现，50%～95%的耐药株在KatG315位点存在突变，20%～35%的耐药株在inhA基因调节区有突变[16]，对这些耐药突变位点的认识使分子诊断方法应用于临床样本检测成为现实。基于这些耐药机制的研究，清华大学郭永等[17]开发了用于结核分枝杆菌利福平和异烟肼耐药检测的基因芯片，从样品制备到出检测结果只需6 h，极大地缩短了检验所需时间。经过1000多例临床样本的验证表明，该产品检测结果与直接测序法的符合率为100%，与传统的药敏试验结果相比，利福平耐药结果的符合率达到93%，异烟肼耐药结果的符合率达到83%以上。

2.2.3 企业转化

通过与上述两家单位合作，博奥生物有限公司开发了晶芯® “结核分枝杆菌耐药基因检测试剂盒（DNA微阵列芯片法）”，并于2010年5月获国家食品药品监督管理局颁发的三类医疗器械注册证，随后更获得了欧盟颁发的CE认证证书，目前已在国内数十家医院进入临床应用，为结核耐药检测提供及时有效的临床依据，指导临床医生为患者制定个性化的治疗方案。

2.3 呼吸道病原体检测

2.3.1 临床需求

呼吸道感染是临床常见的感染性疾病，可引起呼吸道感染的细菌种类众多，但目前临床常规的鉴别呼吸道细菌的方法，如分离培养法或以PCR核酸检查为代表的非分离培养检查法，存在检测周期长或确诊率低等亟需解决的问题。北京大学人民医院在工作中提出，更加快速、准确和高通量的呼吸道细菌鉴定手段是临床的迫切需求之一。

2.3.2 高校研发

清华大学邢婉丽等基于临床提出的上述需求研制出了呼吸道病原菌核酸检测芯片（图3）。该芯片将微流体芯片技术、核酸恒温扩增技术和共焦荧光实时检测技术等三大技术有机结合在一起，可同时对临床呼吸道样品中的12种常见病原细菌（即肺炎链球菌、金黄色葡萄球菌、大肠埃希氏菌、肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌、嗜麦芽窄食单胞菌、流感嗜血杆菌、嗜肺军团菌、肺炎支原体、肺炎衣原体、结核分枝杆菌）进行非培养的快速并行检测。其优势在于检测快速，不需温度循环，可在1 h之内完成检测过程；通量高，一次对一份呼

吸道样品同时进行 12 个病原菌指标的检测；特异性高，对非靶核酸（源自人、26 种其他常见细菌及其他病原微生物的核酸）无假阳性扩增；而且准确便捷、防污染。



图 3　呼吸道病原体检测芯片

2.3.3 企业转化

目前芯片主体结构已定型，正在解决批量生产工艺问题，与碟式微流控芯片配套的测控仪也已研制完毕，相信很快可以进入临床发挥作用。

2.4 乙肝耐药检测

2.4.1 临床需求

乙型病毒性肝炎是由乙型肝炎病毒（Hepatitis B Virus，HBV）引起，以肝脏炎性病变为主，且可引起多器官损害的一种传染病。据统计，全世界无症状 HBV 携带者超过 3.5 亿，是当前流传极广泛、危害性极重的一种传染病。我国是乙肝高流行地区，表面抗原携带率约为 10%。由于 HBV 是一个高变异的病毒，它可以在药物或自身免疫的压力下发生基因变异，从而对原来所使用的抗病毒药物失去敏感性，再加上滥用药物、擅自停药等不规范用药等原因，使得乙肝病毒耐药越来越普遍，进一步导致乙肝久治不愈、病情反复等后果。目前，SFDA 批准的一线抗乙肝药物拉米夫定和阿德福韦酯都存在不同程度的耐药情况。通过基因变异检测可以快速判断耐药与否，从而指导医生用药，实现个体化医疗。北京大学人民医院认为，临床需要灵敏、快速的手段来检测乙肝病毒对药物的敏感度，从而辅助临床医生选择最好的抗病毒药物、动态监控病毒的发展。

2.4.2 高校研发

清华大学郭永等[18]研发了一种 DNA 微阵列芯片，可以检测拉米夫定及阿德福韦的耐药相关 HBV 基因的野生型及不同突变型（图 4）。野生型包括 rtL180、rtM204、rtA181 和 rtN236 的 4 个位点的氨基酸类型；突变型包括针对拉米夫定的 rtL180M、rtM204I 和 rtM204V 的 3 种氨基酸突变类型及针对阿德福韦的 rtA181T、rtA181V 和 rtN236T 的 3 种氨基酸突变类型，检测指标覆盖了拉米夫定和阿德福韦耐药的中国常见突变类型。

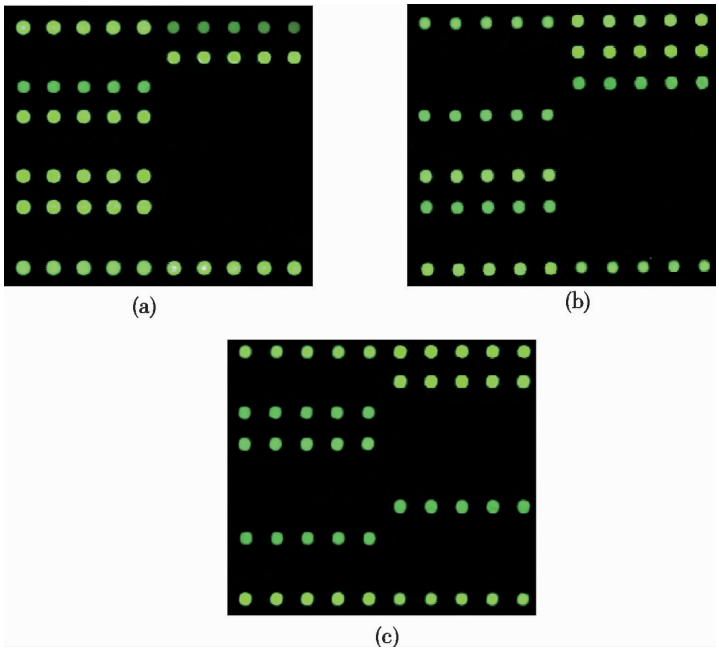


图 4　乙肝耐药检测微阵列基因芯片检测结果

（a）野生型；（b）针对拉米夫定的 rtL180M 突变型；（c）针对阿德福韦的 rtN236T 突变型

2.4.3 企业转化

博奥生物有限公司在此基础上开发了晶芯® “乙型肝炎病毒耐药检测芯片试剂盒”，这款产品的优势在于操作简单、准确快速、检测通量高、自动化程度更高，现已完成3家医院的临床试验，未来有望获准进入临床，为乙肝的有效治疗提供帮助。

3 自身免疫性疾病诊断

3.1 临床需求

自身免疫性疾病，是以体内存在多种针对自身抗原成分的自身抗体为特征的，多系统、多器官受累的一类疾病。自身抗体是自身免疫性疾病最重要的特征，相当一部分患者血清或其他体液中可以检测到一种或多种特异性或相关性自身抗体，自身抗体的检测对于自身免疫性疾病的鉴别诊断、治疗及预后评估十分关键，对于降低死亡率和致残率、改善预后和提高患者生活质量具有重要意义。北京协和医院根据自身的临床实践经验提出，目前临床检验科所使用的自身抗体检测方法多涉及繁琐的手工操作，检测程序复杂（分筛选实验和确认实验），并且通量较低，因此迫切需要一种操作简便、快速可靠、能同时检测多种自身抗体的新方法。

3.2 高校研发

北京协和医院与清华大学合作研发了一种蛋白芯片，根据间接免疫荧光反应原理，分析过程只需2 h、血清样本量只需10 μL，一次能对与系统性红斑狼疮、硬皮病、干燥结缔组织综合征等自身免疫性疾病相关的8种自身抗体（抗SSA 52、抗SSA 60、抗SSB、抗Sm、抗Scl－70、抗CENP B、抗RNP68和抗Jo－1抗体）进行快速检测，并且具有高灵敏度和针对抗核抗体谱的高特异性[19]。

3.3 企业转化

博奥生物有限公司通过与上述两家单位合作开发了晶芯® “抗核抗体（八项）检测试剂盒（芯片法）”（图5），该方法通量高、多指标并行检测、操作简单、耗时少，已于2009年获得了国家医疗器械注册证，是临床上自身免疫性疾病诊断的重要工具和动态观察病情、疗效及判断预后的必要手段。

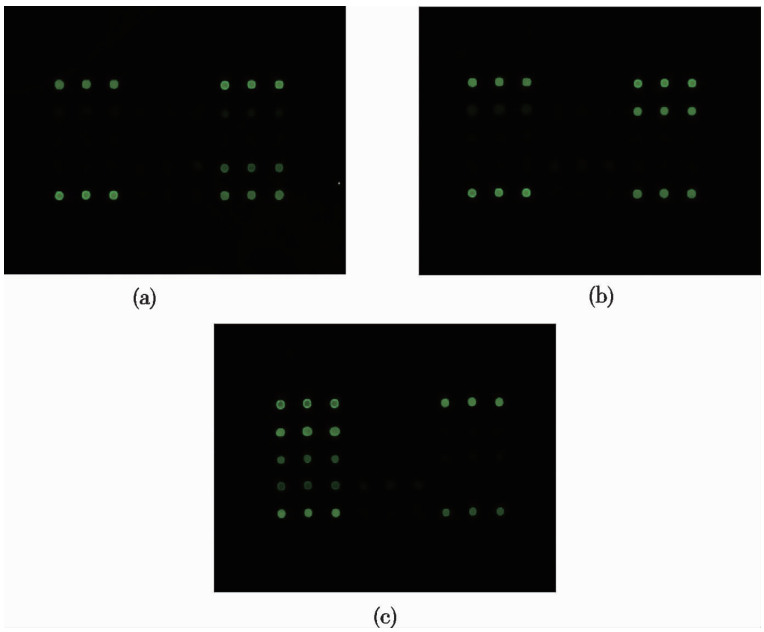


图5 抗核抗体（八项）检测试剂盒检测结果

（a）系统性红斑狼疮；（b）系统性硬皮病；（c）干燥综合征（图片来源：www.capitalbio.com）

4 肿瘤早期诊断和转移评价

4.1 宫颈癌早期诊断

4.1.1 临床需求

宫颈癌是女性第二大恶性肿瘤，并且在年轻女性中发病率高。2002年全世界的新发病例为50万人，死亡病例为27万人[20]。根据中国疾病预防与控制中心公布的数据，我国每年宫颈癌新发病例为13.15万人，约占世界总数的26%，死亡病例为5.3万人，约占世界总数的20%[20]。因此，我国的宫颈癌防治形势非常严峻。宫颈癌在世界范围内的分布很不均匀，83%的新发病例出现在发展中国家[20]。发达国

家的宫颈癌发病率低主要得益于宫颈癌的大规模筛查。目前常用的宫颈癌筛查方法主要有细胞学方法（包括传统的巴氏涂片法和改进后的液基薄层细胞学检测）和人乳头瘤病毒（HPV）DNA 检测方法，两类方法各有优缺点。新疆医科大学第一附属医院在实践中提出，临床上常将两种筛查方法联合使用，但联合使用两种方法的问题是使筛查的费用大大增加，在贫困地区难以大规模实现。因此，开发具有高灵敏度、高特异性和检测方法简单的新型宫颈癌标志物，对于防治宫颈癌具有重要意义。

4.1.2 高校研发

HPV 是目前人类癌症中唯一可以完全确认的致癌病毒，在 99.8% 的宫颈癌患者中均可检测到不同型别 HPV 的 DNA，现已发现 100 多种 HPV 亚型，HPV 持续感染是宫颈癌发生的必要条件[21]。单独的 HPV 感染不足以引起宫颈癌[22]，细胞本身必须发生相应的变化，才能最终引起宫颈癌。MicroRNA 是细胞中的小 RNA 分子，参与调控细胞生命活动的各个方面，如生长，分化，凋亡与运动等[23]。细胞内 microRNA 表达的变化与疾病的发生和发展密切相关[24]。清华大学秦文彦等与新疆医科大学第一附属医院合作，利用生物芯片平台系统地研究了宫颈癌组织中 microRNA 的表达变化，发现了 20 种 microRNA 在宫颈癌的发生和发展过程中表达量发生了改变[25]。其中 microRNA133b 在从宫颈上皮内瘤样病变到侵润癌的发展过程中，表达量逐步升高。功能学实验结果表明，这一 microRNA 具有促进宫颈癌发生和发展的作用[25]。该 microRNA 有可能作为临床早期诊断的新型宫颈癌标志物。目前，基于此标志物的实时荧光 PCR 诊断试剂正在开发中。

4.2 乳腺癌转移评价

4.2.1 临床需求

肿瘤的浸润和远处转移是乳腺癌患者治疗失败和死亡的主要原因，相同病理分型的患者有可能具有不同的预后结局。在淋巴结阳性的乳腺癌患者中，有大约 20% ~30% 的患者在 15 ~30 年中不会发生远处转移[26]。对于没有远处转移的淋巴结阳性的乳腺癌患者，可以仅实施局部的手术治疗[26]。天津医科大学附属肿瘤医院在实践中提出，目前没有很好的生物标志物来预测乳腺癌患者的预后情况，因而也很难有的放矢地对患者进行治疗。因此临床需要开发新的分子标志物，来预测乳腺癌患者的远处转移风险，进而制定个性化的治疗方案。

4.2.2 高校研发

对于原发肿瘤来说，近旁淋巴结转移是转移过程中的重要事件，淋巴转移灶中的肿瘤细胞代表了最具转移能力的那部分细胞。清华大学联合天津医科大学附属肿瘤医院，利用微阵列芯片对 26 名乳腺癌患者的原发灶及配对的近旁淋巴结转移灶的基因表达情况进行了比较分析并找到了 79 个差异表达基因[27]。利用这组基因，可以将 35 例原发肿瘤患者很好地分为高风险组和低风险组，前者 43 个月内发生远处转移的风险是后者的 4.65 倍[27]。这样的一组基因可以对淋巴结阳性的乳腺癌患者的远处转移风险进行很好的预测，未来可作为新的生物标志物来评估乳腺癌患者的预后情况并指导治疗。

5 辅助生殖领域

5.1 精子健康筛选

5.1.1 临床需求

近 20 年来，以体外受精（*in vitro* fertilization，IVF）为主体的辅助生殖技术获得突飞猛进的发展并为成千上万的家庭带来了福音。作为常规体外受精的关键步骤，精子质量的筛选是受精成功的保障。精子活力被认为是与精子质量密切相关的重要参数，安全而有效的筛选活力精子的方法对于临床应用具有极大的价值。北京大学第三附属医院辅助生殖中心提出，目前临床常用的精子筛选方法包括梯度离心法和精子上游法，这两种方法因涉及到离心步骤，都可能引发氧自由基大爆发和 DNA 的片段化，造成精子功能的损伤[28,29]；除了精子活力，决定精子健康的因素还有很多，包括精子的趋化性、趋温性等多个参数，而目前临床上仅挑选有活力的精子进行后续操作，而忽略了其他的指标。临床需要更安全的方法，以及更多的指标来对精子的健康进行评价并筛选出更适合进行人工受精的健康精子。

5.1.2 高校研发

清华大学谢兰等利用微流控芯片来实现健康精子的筛选，设计了一款 Y 型分叉管道，第一次将精子的活力以及化学趋向性筛选集成起来，首先通过一段宽度及长度经过优化的直管道对精子的活力进行筛选，继而在 Y 型分叉管道的一侧出口以原位培养的卵丘细胞作为趋化源，对精子的化学趋向性进行筛选[30]（图 6）。管道很好地模拟了正常生理结构，并且对精子伤害小、检测时间短、简单易用，未来有望转化为临床产品应用到辅助生殖技术中。

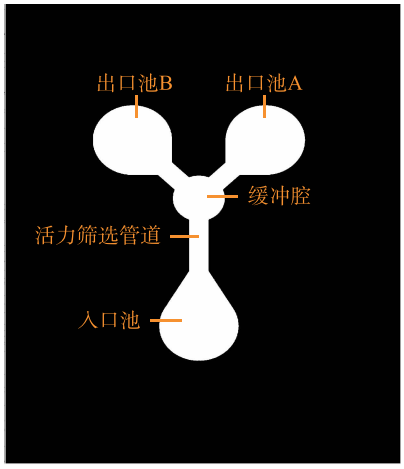


图 6　精子健康筛选芯片模式图[30]

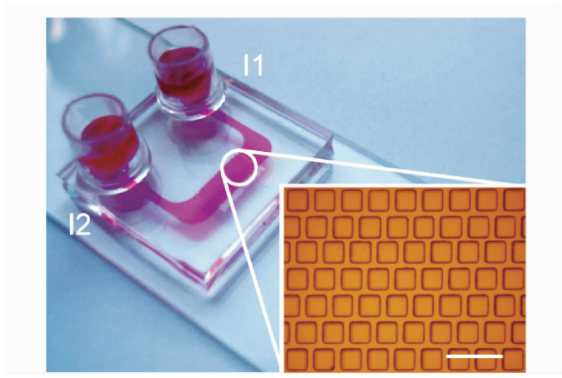
5.2 体外受精

5.2.1 临床需求

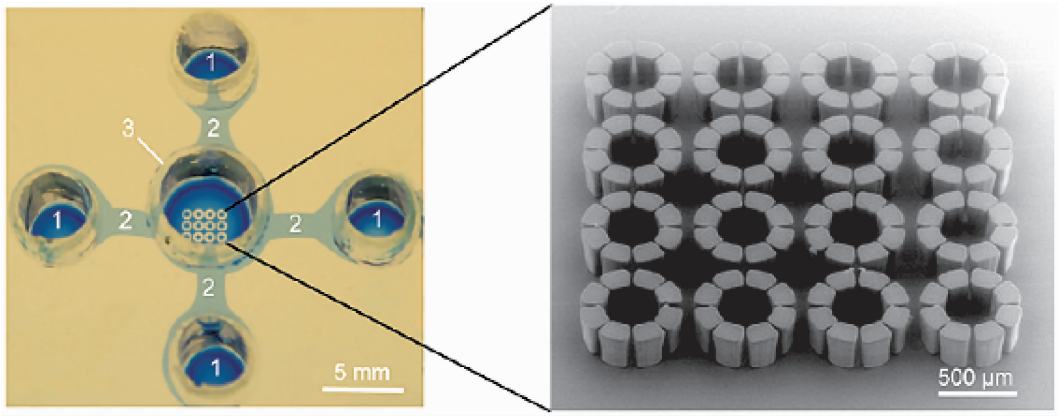
虽然体外受精技术在过去的几十年中获得了长足发展，但目前仍存在着一些技术缺陷，例如常规体外受精的主要操作，包括精卵的采集、受精、换液和胚胎培养都在培养皿中进行，与生理条件相比差异很大，由此带来的安全隐患不容忽视；另外，对精和卵的反复操作可能导致无法预估的机械力损伤[28,31]。北京大学第三附属医院辅助生殖中心提出，临床需要更安全、柔和、自动化的操作系统来实现体外受精的全过程。

5.2.2 高校研发

微流控芯片由于对样品消耗量小、便于模拟体内构造、集成度高等优势，为体外受精提供了新的解决方案。清华大学程京带领的团队联合北京大学第三附属医院利用 PDMS－硅片为材料构建了两款不同的微流控芯片来实现集成式的体外受精，这两款芯片分别利用微坑阵列和围栏阵列来定位卵细胞，并在此基础上实现受精和换液、早期胚胎培养和胚胎发育动态追踪[32,33]（图 7）。目前已成功在芯片上实现了小鼠的体外受精，并且得到了和常规体外受精相近的发育参数，未来将继续探索装置应用于临床的可行性。



（a）



（b）

图 7　体外受精芯片示意图

（a）基于微坑阵列的体外受精芯片[32]；（b）基于围栏阵列的体外受精芯片[33]

6 各类生物医学仪器

除了各类应用于临床诊断的检测芯片，一系列检测仪器也逐渐走向市场，和芯片配套或单独使用，为科研和临床提供自动化程度更高、精度更高、速度更快的解决方案。

博奥生物有限公司研发的晶芯®LuxScan™10K 微阵列芯片扫描仪是用于微阵列芯片扫描及图像数据处理的高分辨激光共聚焦芯片扫描仪。由于采用了包括光学、信号处理和运动控制系统在内的十余项独特技术，与国外同类产品相比具有更高的综合性价比、灵敏度和分辨率（最高可达 5 μm），适用于 DNA、蛋白、细胞和组织芯片，可进行高、中、低密度微阵列芯片的双色或单色荧光检测分析。2006 年，晶芯®LuxScan™10K 被中华人民共和国科学技术部、中华人民共和国商务部、中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局、国家环境保护总局认定为“国家重点新产品”，随后更获得了国内药监局和 TÜV 认证、欧盟 CE-IVD 认证和美国 FDA 备案等一系列国际认证，现已出口到美国、德国、英国、奥地利、西班牙、意大利、瑞典、瑞士、韩国等近二十个国家。

晶芯®LuxScan™ Dx24 微阵列扫描仪，在晶芯®LuxScan™10K 优质性能的基础上，提高了产品自动化和扫描通量，可一次处理 24 张芯片；配套的软件是集成芯片扫描、图像处理、数据统计和分析、结果判读、报告生成功能于一体的系统平台。这款仪器也获得了国内药监局以及国际（欧盟 CE-IVD、TÜV 北美和 TÜV 德国）的多项认证，目前已出口欧洲。

晶芯®BioMixer™ Ⅱ芯片杂交仪作为新一代芯片杂交清洗系统，通过特有的专利技术实现恒温环境下的三维持续摇动，使杂交盒中的杂交液在芯片表面自然、温和地流动而达到充分、均匀、连续的混合，使反应的信号增强、结果的一致性提高。该仪器稳定可靠，操作简便，一次可以进行 12 张芯片的杂交与控温清洗。目前已经获得欧盟 CE 认证、TÜV 北美和 TÜV 德国认证。

晶芯®SlideWasher™8 芯片洗干仪是一款用于基因或蛋白芯片温浴清洗、离心干燥的新产品。该款仪器采用实时加热、控温和离心干燥，特别设计的芯片架可重复使用，与传统手工清洗相比，提高了清洗的可靠性、重复性和信噪比，降低了荧光淬灭程度，是芯片系统平台中重要的组成部分。这款仪器已经获得了欧盟 CE 认证和 TÜV 北美认证，其稳定可靠的性能和优秀的性价比获得了罗氏公司的认可，从全球范围内数个备选同类产品中脱颖而出，目前罗氏公司已经开始批量订货。

晶芯®RT-Cycler™实时荧光定量 PCR 仪采用离心式实时荧光检测方式，通过热循环 PCR 对特异性的靶基因进行扩增并定量，具有适用范围广、准确性高、体积小巧、操作简便、性价比高等特点，可以一次完成 36 个反应，能充分满足生物医学基础研究和医学诊断的要求。目前已获得药品监督管理局颁发的医疗器械注册证书以及欧盟 CE 认证和 TÜV 北美认证（图 8）。

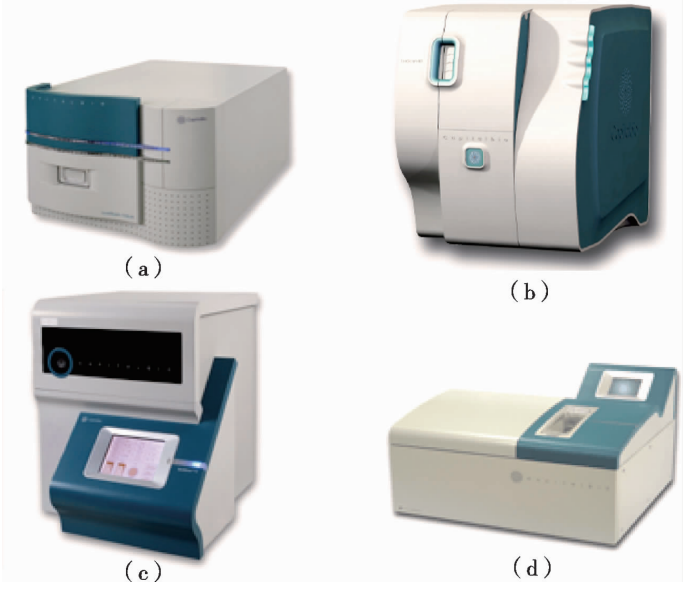


图 8　仪器外观图

（a）晶芯®LuxScan™10K 微阵列芯片扫描仪；（b）晶芯®LuxScan™Dx24 微阵列芯片扫描仪；（c）晶芯®BioMixer™ Ⅱ芯片杂交仪；（d）晶芯®SlideWasher™8 芯片洗干仪（图片来源：www. capitalbio. com）

从上述介绍中可看到，清华大学充分利用自己的优势领域和技术开展转化医学研究工作，已逐渐在疾病诊断、预防和个体化治疗领域发挥了作用，对临床实践产生了助推力，相信随着转化医学模式的成熟和深入人心，未来它将在更多的临床领域发挥作用。

参考文献

[1] 中国首届听力障碍预防与基因诊断战略峰会在京举行. http://www.chinadp.net.cn/channel_/recovery/news/2008-07/17-536.html (2008-7-17).

[2] Petit C. Genes responsible for human hereditary deafness: symphony of a thousand. Nat Gen, 1996, 43 (14): 385-391.

[3] 戴朴, 刘新, 于飞, 等. 18 个省市聋校学生非综合征性聋病分子流行病学研究 (I) -GJB2 235delC 和线粒体 DNA 12SrRNA A1555G 突变筛查报告. 中华耳科学杂志, 2006, 4 (1): 1-5.

[4] 管敏鑫, 赵立. 与氨基糖甙类抗生素耳毒性相关的线粒体 12S rRNA 突变的流行病学特征. 中华耳科学杂志, 2006, 4 (2): 98-105.

[5] 刘新, 戴朴, 黄德亮, 等. 线粒体 DNA A1555G 突变大规模筛查及其预防意义探讨. 中华医学杂志, 2006, 86 (19): 1318-1322.

[6] Li C, Pan Q, Guo Y, et al. Construction of a multiplex allele-specific PCR-based universal array (ASPUA) and its application to hearing loss screening. Hum Mut, 2008, 29 (2): 306-314.

[7] 张艳, 卞颖华, 许鹏飞, 等. 应用基因芯片技术检测非综合征型耳聋基因突变. 生物技术通讯, 2010, 22 (1): 22-26.

[8] 王国建, 戴朴, 韩东一, 等. 基因芯片技术在非综合征性耳聋快速基因诊断中应用研究. 中华耳科学杂志, 2008, 6 (1): 61-66.

[9] Harries AD, Dye C. Tuberculosis. Ann Trop Med Parasitol, 2006, 100 (5-6): 415-431.

[10] 全国结核病流行病学抽样调查技术指导组. 第四次全国结核病流行病学抽样调查报告. 中华结核和呼吸杂志, 2002, 25 (1): 3-7.

[11] 卫生部疾病控制司. 中国结核病控制项目社会评价研究报告: 2004.3-2005.3. 北京: 中国协和医科大学出版社. 2006.

[12] Zhu L, Jiang G, Wang S, et al. Biochip system for rapid and accurate identification of Mycobacteria species from isolates and sputum. J Clin Microbiol, 2010, 48 (10): 3654-3660.

[13] Aziz MA, Wright A, Laszlo A, et al. Epidemiology of antituberculosis drug resistance (the Global Project on Anti-tuberculosis Drug Resistance Surveillance): an updated analysis. Lancet, 2006, 368 (9553): 2142-2154.

[14] Piersimoni C, Olivieri A, Benacchio L, et al. Current perspectives on drug susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis complex: the automated nonradiometric systems. J Clin Microbiol, 2006, 44 (1): 20-28.

[15] Musser JM. Antimicrobial agent resistance in mycobacteria: molecular genetic insights. Clin Microbiol Rev, 1995, 8 (4): 496-514.

[16] Zhang M, Yue J, Yang YP, et al. Detection of mutations associated with isoniazid resistance in Mycobacterium tuberculosis isolates from China. J Clin Microbiol, 2005, 43 (11): 5477-5482.

[17] Guo Y, Zhou Y, Wang C, et al. Rapid and accurate determination of MDR in M. tuberculosis isolates and clinical sputum using a biochip system. Int J Tuberc Lung Dis, 2009, 13 (7): 914-920.

[18] 杨瑞锋, 杜绍财, 丛旭, 等. DNA 微阵列芯片法检测慢性乙型肝炎拉米夫定和阿德福韦酯耐药突变. 中华检验医学杂志, 2010, 33 (11): 1049-1053.

[19] 李永哲, 赵智贤, 佟大伟, 等. 蛋白芯片技术在自身抗体检测中的应用. 中华检验医学杂志, 2006, 29 (12): 1116-1119.

[20] Parkin DM, Bray F, Ferlay J, et al. Global cancer statistics, 2002. CA Cancer J Clin, 2005, 55 (2): 74-108.

[21] Elfgren K, Kalantari M, Moberger B, et al. A population-based five-year follow-up study of cervical human papillomavirus infection. Am J Obstet Gynecol 2000, 183 (3): 561-567.

[22] Burk RD. Pernicious papillomavirus infection. N Engl J Med, 1999, 341 (22): 1687-1688.

[23] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. Cell, 2004, 116 (2): 281-297.

[24] Garzon R, Calin GA, Croce CM. MicroRNAs in Cancer. Annu Rev Med, 2009, 60 (2): 167-179.

[25] Qin WY, Dong P, Ma CL, et al. MicroRNA-133b is a key promoter of cervical carcinoma development through the activation of the ERK and AKT1 pathways. Oncogene, 2011. (in press)

[26] Joensuu H, Pylkkanen L, Toikkanen S. Long-term survival in node-positive breast cancer treated by locoregional therapy alone. Br J Cancer, 1998, 78 (6): 795-799.

[27] Feng Y, Sun B, Li X, et al. Differentially expressed genes between primary cancer and paired lymph node metastases predict clinical outcome of node-positive breast cancer patients. Breast Cancer Res Treat, 2007, 103 (3): 319-329.

[28] Younglai EV, Holt D, Brown P, et al. Sperm swim-up techniques and DNA fragmentation. Hum Reprod, 2001, 16 (9): 1950-1953.

[29] Parrish JJ, Krogenaes A and Susko-Parrish JL. Effect of bovine sperm separation by either swim-up or Percoll method on success of in vitro fertilization and early embryonic development. Theriogenology, 1995, 44 (6): 859-869.

[30] Xie L, Ma R, Han C, et al. Integration of sperm motility and chemotaxis screening with a microchannel-

based device. Clin Chem，2010，56（8）：1270－1278.
[31] Eichenlaub-Ritter U，Shen Y，Tinneberg HR. Manipulation of the oocyte：possible damage to the spindle apparatus. Reprod Biomed Online，2002，5（2）：117－124.
[32] Han C，Zhang Q，Ma R，et al. Integration of single oocyte trapping，in vitro fertilization and embryo culture in a microwell-structured microfluidic device. Lab Chip，2010，10（21）：2848－2854.
[33] Ma R，Xie L，Han C，et al. In vitro fertilization on a single-oocyte positioning system integrated with motile sperm selection and early embryo development. Anal Chem，2011，83（8）：2964－2970.