

生物晶片

二十世紀結束之前，人類有一項偉大的成就，那就是集合眾人之力，耗費無數的金錢與物力，傾全力解開了人類的基因序列。然而在應用的領域上，聰明的人類已經先走了一大步，隨著生物晶片的發明，已經讓無釐頭地沉迷在序列上的人類，可以真正利用這個技術，來達到大量篩選基因，從基因表現的層面或是其差異之間來判別其功能。

楊子譽

一、前言

二十世紀結束之前，人類有一項偉大的成就，那就是集合眾人之力，耗費無數的金錢與物力，傾全力解開了人類的基因序列。但是，三十億個鹼基序列卻相對也給人類帶來更多的迷思。這之間就連人類基因到底有多少個是有意義的，三萬還是五萬、七萬呢？都有許多的爭議。即使到今天還是無法做最後的判定。但是聰明的人類已經在應用的領域上先走了一大步，隨著生物晶片的發明，已經讓無釐頭地沉迷在序列上的人類，可以真正利用這個技術，來達到大量篩選基因，從基因表現的層面或是其差異之間來判別其功能。

安捷倫科技 (Agilent Technologies) 於 2001 年內陸續推出第四代的 cDNA 基因微晶片工具組系列產品。這套新的工具組預計能提供給製藥、疾病及基因變異等研究人員一個可靠的基因分析工具，使其在發現和開發新藥的過程中，能儘早研究出新

楊子譽先生為國立陽明大學生物化學碩士，現任職於台灣安捷倫科技股份有限公司生命科學與化學分析事業群總經理。

藥的毒性及副作用，以及基因病變的原因，進而為病患提供個人化或更加安全的療法。該 cDNA 基因微晶片工具組包含由 Incyte Genomics 基因公司所提供、經序列驗證過的 cDNA 複製品，目前已有的 cDNA 晶片計有 Human 1、Human 2、Mouse、Rat 及 Arabidopsis 等。

新推出的 cDNA 基因微晶片加上 SurePrint 技術，可以讓研究人員在單一次的基因微晶片實驗中，針對超過 10,000 組獨特的 DNA 序列，進行所有基因的篩檢。創新的 SurePrint 技術結合了工業級的高精確度噴墨印刷技術，以及含在製程內的品質控制 (QC) 能力，可以生產出特徵極為一致的基因微晶片，從每一顆基因微晶片，到每一片、甚至每一批產品都能保持一致性。每一套方便又現成可用的工具組都包含四組微晶片、雜交緩衝液 (hybridization buffer)、使用規則，以及含有該基因微晶片所提供並可雜交的完整特徵清單的光碟片，使這種技術由不實用且繁複的操作流程漸而成為可快速、準確且大量再現分析的有效利器。

為了確保高品質的結果，Agilent 同時也提供一套雙色直接標記 (labeling) 的工具組選項，讓研究人員可以很容易地在單一次的基因微晶片實驗

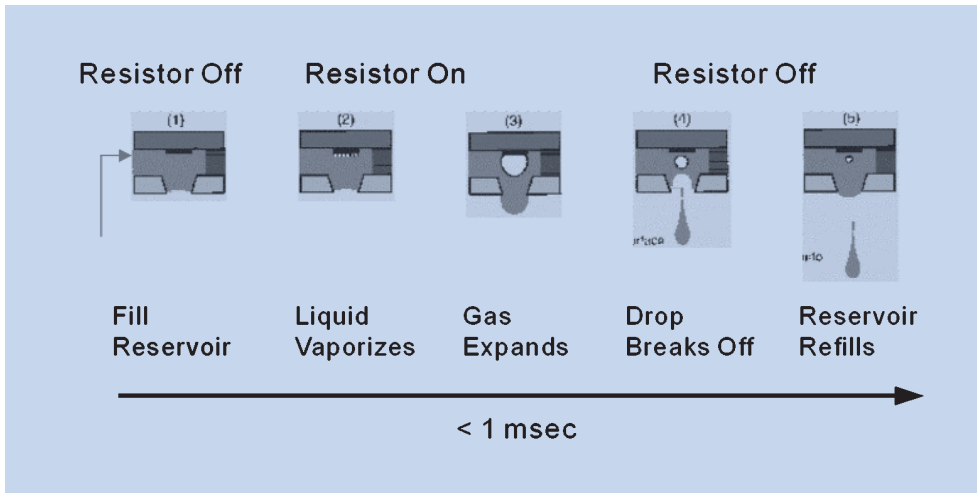


圖 2.
全自動具有電腦監控系統的晶片製造機。

中，對「實驗組」和「控制組」兩種樣本進行研究。這項功能若再搭配 Agilent 2100 Bioanalyzer 的先期基因微晶片 RNA 樣本精純度 (sample integrity) 測試功能使用的話，可以協助研究人員縮短實際動手做的時間，並降低一般基因晶片處理過程所產生的實驗誤差。

二、晶片的製造與設計 - 噴墨技術

採用噴墨列印技術來製造其 DNA 基因微晶片。這項技術在 DNA 基因微晶片的設計和製造上，具備高度的彈性、速度和品質，可讓工程師在幾天的時間內，設計和生產出訂製的 cDNA 或 oligo 晶片，每一片晶片皆可代表數以萬計的基因。

Agilent 計畫將一系列的 DNA 基因晶片商品化，包括 cDNA 基因排列法和訂製的寡核苷酸基因排列法，並提供一套完整的系統，包含自動掃描

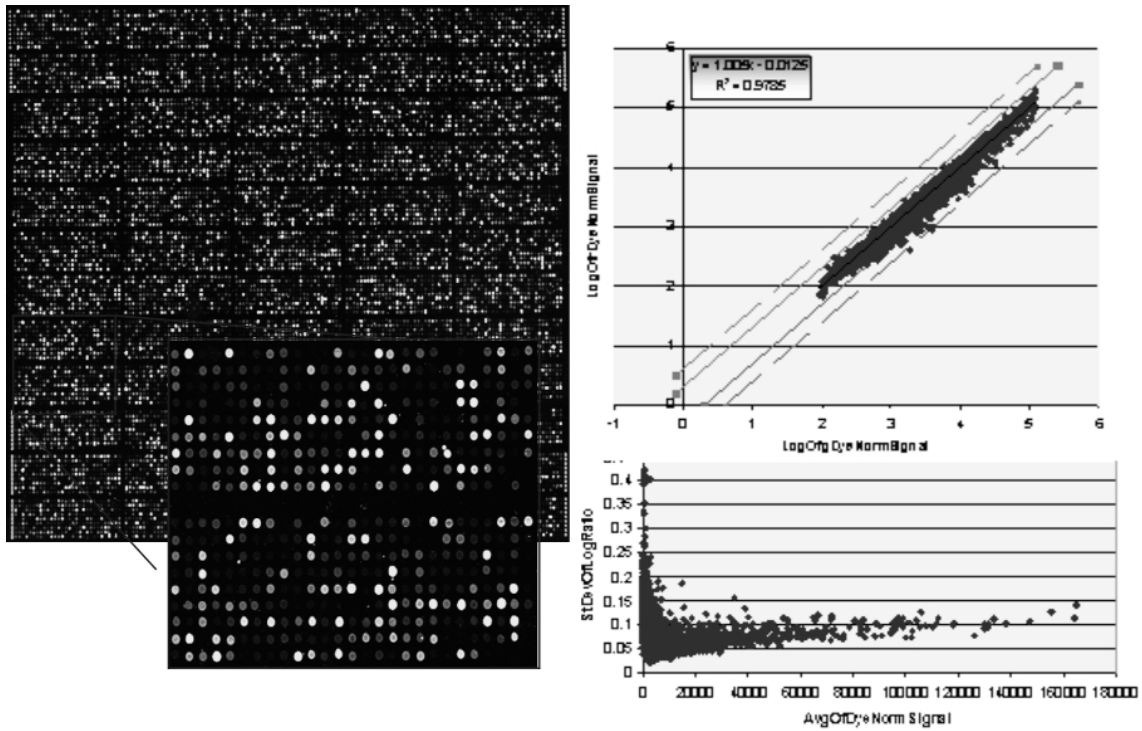


圖 3. 晶片品質測試 - self/self hybridization 相同樣品，同時用 Cy3、Cy5 處理，並應用在同 - Array 上，並分析其結果之一致性。

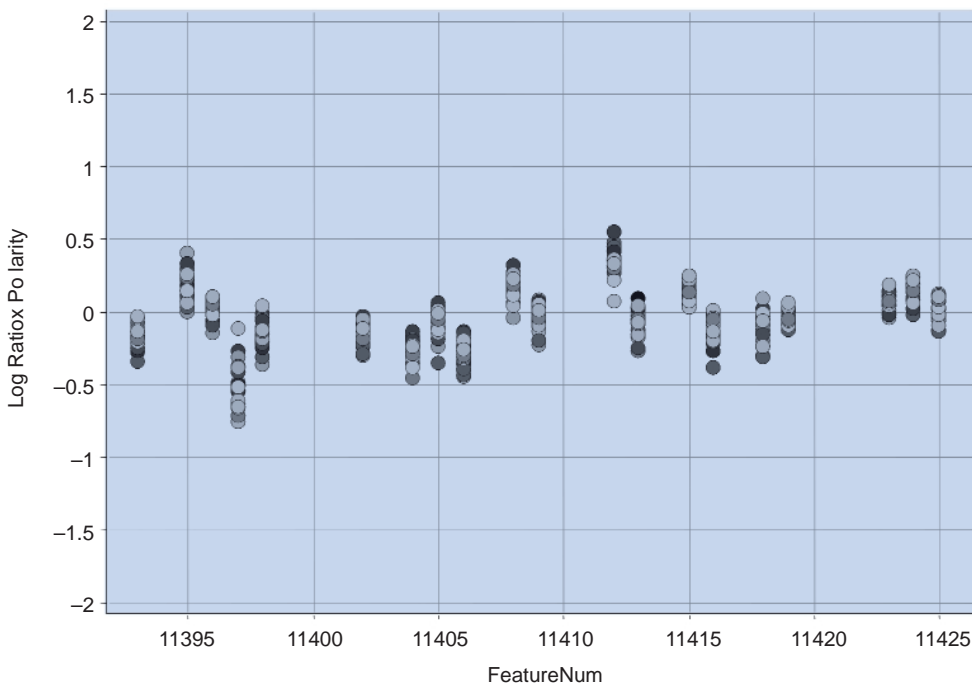


圖 4. 晶片品質測試 - inter array reproducibility。從 24 組不同的 array 經相同實驗過程，取其中相同位置之基因表現、分析其 data 之差異所得之圖表，誤差均 $< \pm 1\%$ 。

設備、整個世界通用的基因資料分析平台，以及基因實驗所需的各項設備。圖 1 係在 1 ms 內將 cDNA 或 oligo DNA 噴在玻璃上，並且分毫不差的控制

spot 大小在 $150 \mu\text{m}$ 。另圖 2 所示為全自動電腦作業監製系統。

其採用噴墨技術主要有以下的優點：

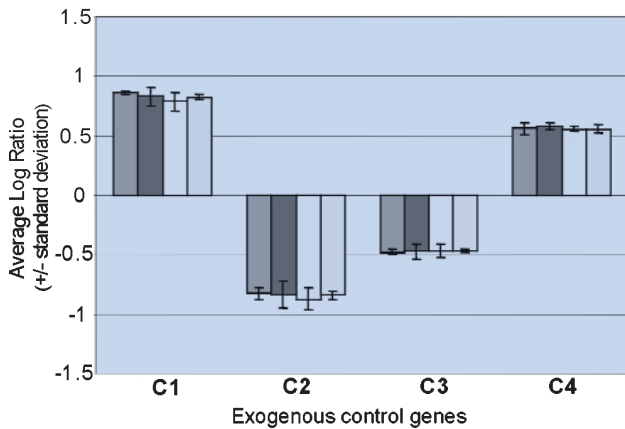


圖 5. 四批不同時間生產之晶片，對其中四個目標基因經分析後產生之 data，誤差均 $< \pm 1\%$ 。

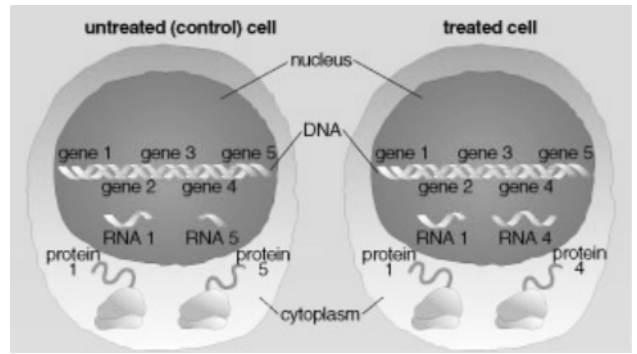
1. 快速：迅速且不直接接觸玻片表面，可避免製點過程中造成大小不一、厚薄不均的現象。
2. 彈性大：可依客戶需求來打造設計之晶片。
3. 可有效控制噴點之品質與位置。

事實上，這些優點也正關係著每一次實驗結果的再現性，而每一批晶片生產後都經過各種測試過程來證明其品質，如下：1. self/self hybridization，如圖 3 所示；2. inter-array reproducibility，如圖 4 所示；3. lot-to-lot consistency，如圖 5 所示。這些過程，都是為了保障研究人員在使用晶片時的可靠性和再現性，這也是目前晶片供應商很難做到的要求。

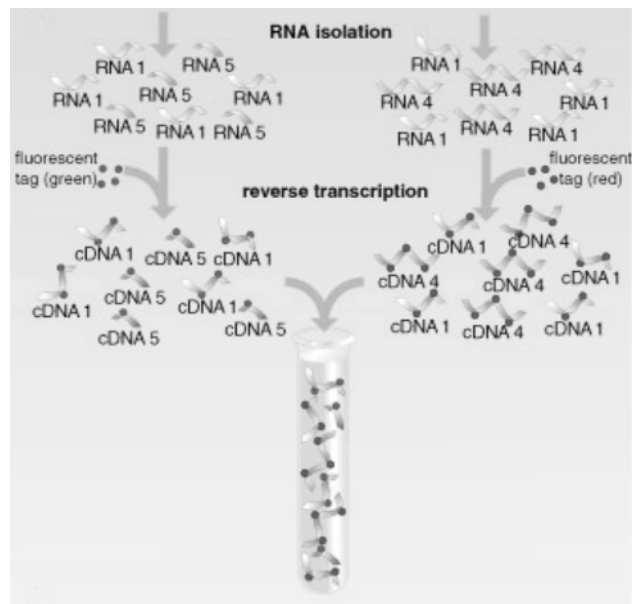
三、晶片的用途

生物晶片的種類有很多種，Agilent 目前已量產並規格化之產品有 cDNA chips、oligo chips (25 mers 及 60 mers) 以及 microfluidic chips 和儀器，每一種晶片都有其用途，而歸類如下：

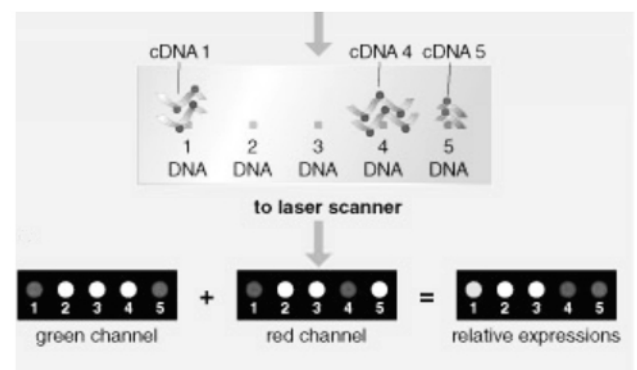
1. quantitative gene expression 基因表現之研究。
2. gene/drug discovery (pharmacogenomics) 新藥開發。
3. mutation detection 突變偵測。
4. genotyping/mapping (SNPs) 研究 SNPs。
5. disease/clinical expression profiling 病情發展之研究。



(a)



(b)



(c)

圖 6. 標準 chip hybridization 流程 - RNA 萃取純化、複製 cDNA，以螢光劑 Lable cDNA、混合並一起與 chip 上之 DNA spots 做 hybridization 再以掃描器來讀其 data。

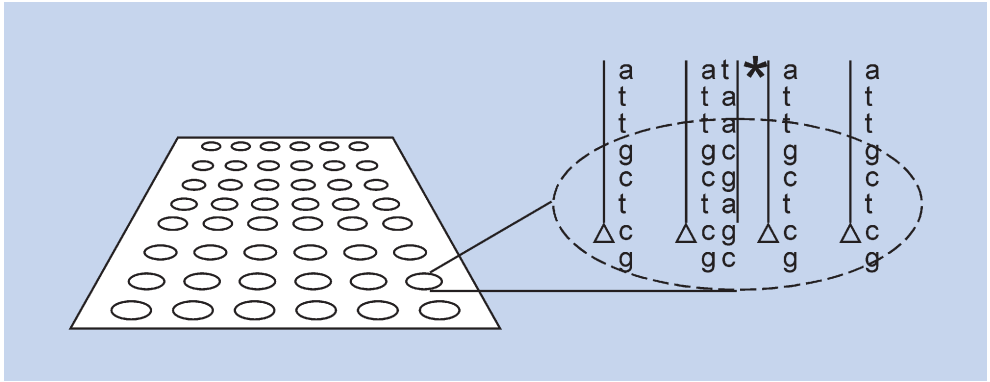


圖 7. 每一個 spot 上都有一個代表某一訊息特色之基因片段。

	Total
2001	654
2000	278
1999	83
1998	21
1997	2
1996	5
1995	3
Total	10046



圖 8. 從 1995 年起所發表之有關 microarray 之論文統計，以第一篇關於 microarray 之論文作者及其打點機。

- 6. patient monitoring 病患病情追蹤。
- 7. toxicological research : toxicogenomics/drug screening 毒理學研究。
- 8. high through-put screening 大量基因篩檢。

此外，在農業科技上它可用於：

- 1. 改良抗病品種之作物。
- 2. 了解光及環境因子對作物之影響。

- 3. 改良食用油的品質。
- 4. 生產生物可分解之塑膠，如 PHB。
- 5. 改良並控制作物之生長期及收成期。
- 6. 研究植物生理、病理及生化反應等。

其應用之原理如附圖 6 及 7 所示。其實只要能製造出高品質之生物晶片，那麼，在應用生物科技上就等於往前邁進一大步，就好比從浩瀚的基因大

Microarray Patents														
Search scope: US EP WO JP; Search scope: US EP WO JP; Full patent spec.														
	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	Add Total	Search Total		
Microarray	2	3	4	3	8	11	62	314	536	1128	2071	2078		
Microarray + DNA	0	1	0	1	2	6	55	305	518	1088	1976	1973		
Microarray + "gene expression"	0	0	0	1	0	2	47	288	462	965	1765	1777		
DNA	4666	5420	5887	6669	8457	10543	14141	15831	17793	20577	89407	134,310		
"gene expression"	818	1003	1245	1493	2202	3060	4938	6135	13092	15020	33986	84311		

圖 9. 每年有關 microarray 之專利統計表。

海中，找出跟我們研究目的相關的基因群，再從其個別表現上去尋找原因和解決方法，這比起過去的方法快上千倍！

四、結論與展望

生物晶片這個技術，自從 1995 年被首次公開至今，已經有許多的報告公諸於世。而專利案更是從 1992 年的 2 件至 2001 年的 3 千多件，累積起來也有將近 6 千件的專利是關於 MicroArray，可見此技術之精進及其市場之需求是相當可觀的（參考圖 8 與 9）。

它是一個具有同步分析大量篩檢基因表現的工具，也同時具有：

1. 減少樣品使用量，可降低成本。
2. 高靈敏度，可偵測非常低濃度的樣品。
3. 高檢測線性範圍 (from abundant to rare mRNA)。
4. 並可用於 genotyping 的鑑定。

5. 彈性大，可隨實驗之需求來設計並製造晶片。

當然我們也必須回頭來注意一些潛在的問題，例如：

1. 人類基因約有 30,000 個至 140,000 個之多，目前放到晶片上的基因數是否足以代表全部基因。
2. 在任何狀況下，細胞內約有 10 - 20% 之基因會表現。
3. 每一細胞之基因表現會因時間、條件及環境等因素而異。
4. 其中只有 1% 的基因產生量足以佔據大於 50% 之 mRNA 之量。
5. 其中又有 99% 之基因產生量非常之低。
6. 我們所製造的晶片是否可靈敏到可偵測那些非常微量的訊息，而其線性範圍可否涵蓋大量表現至微量表現的訊息。

Agilent 有高品質的晶片及高感度的掃描器 (scanner)，可以解決您的困擾，並使基因的表現無所遁形。