

基因體學

人類生物學的應用

Genomics

Applications in Human Biology

原 著◎Sandy B. Primrose
Richard M. Twyman

審 校◎陳水田

編 譯◎謝榮峰・陳韻如・曾湘文

藝軒圖書出版社

基因體學

人類生物學的應用

Genomics

Applications in Human Biology

原著◎Sandy B. Primrose
Richard M. Twyman

審校◎陳水田

編譯◎謝榮峰・陳韻如・曾湘文

藝軒圖書出版社

基因體學—人類生物學的應用

本書譯自 Genomics—Applications in Human Biology 係經 Blackwell Science Ltd.
授權台灣藝軒圖書出版社印行中文版。

Original English Edition ©2004 by Blackwell Science Ltd.

Chinese Edition © 2004 by Taiwan Yi-Hsien Publishing Co., Ltd.

All Rights Reserved.

◎本書任何部份之文字或圖片，如未獲得本社書面同意，不得以任何方式
抄襲、節錄及翻印

新聞局出版事業登記證局版台業字第一六八七號

基因體學—人類生物學的應用

原著者：Sandy B. Primrose • Richard M. Twyman

審校者：陳 水 田

編譯者：謝榮峰 • 陳韻如 • 曾湘文

發行所：藝軒圖書出版社

發行人：彭 賽 蓮

總公司：台北縣新店市寶高路 7 巷 1 號 5 樓

電話：(02)2918-2288

傳真：(02)2917-2266

網址：www.yihscient.com.tw

E-mail:yihscient@ms17.hinet.net

總經銷：藝軒圖書文具有限公司

台北市羅斯福路三段 316 巷 3 號

(台大校門對面，捷運新店線公館站)

電話：(02)2367-6824

傳真：(02)2365-0346

郵政劃撥：0106292-8

台中門市

台中市北區五常街 178 號

(健行路 445 號宏總加州大樓)

電話：(04)2206-8119

傳真：(04)2206-8120

大夫書局

高雄市三民區十全一路 107 號

(高雄醫學大學正對面)

電話：(07)311-8228

本公司常年法律顧問／魏千峰、邱錦添律師

二〇〇四年九月第一版

ISBN 957-616-786-8

※本書如有缺頁、破損或裝訂錯誤，請寄回本公司更換。

讀者訂購諮詢專線：(02) 2367-0122

譯 序

基因體學是一門研究基因體結構、組成以及演化的學問。基因體學的研究基礎都是來自於分子生物學和生物化學，因此對於分子生物學家而言，基因體學應該不算是一門陌生的學問。自從 1993 年人類基因體計畫開始之後，花了 10 年左右的時間已完成了全部的解碼工作，這期間所收集的大筆研究資料，該如何分析並有效的應用在分子生物學上，以改善目前所遭遇到的問題，這就是基因體學所要做的事。這本書參考了之前所出版的兩本書，分別是基因操作原則 *Principles of Gene Manipulation* (POGM) 和基因體分析及基因體學的原則 *Principles of Genome Analysis and Genomics* (POGA)。簡單介紹一些基因體學的知識、技術和應用，所以可以作為大學及研究生研修基因體學所使用的書籍。

這一本書主要的目的是希望促進對於基因體的了解，並且對於重組 DNA 和基因體學在現代醫學發展上的幫助能有全面性的了解。本書開始的前二章，先簡單介紹重組 DNA 和基因體學的一些基本原則和相關技術。接下來的三章，討論重組 DNA 和基因體學在傳染性疾病、遺傳性疾病、癌症的診斷和治療上可提供的幫助。最後的三章，是討論如何將重組 DNA 和基因體學的技術及知識應用在治療方法的改進和新藥的開發上。

這本書的翻譯始於 2004 年的夏天，在衆人用心的編譯後，終於問世了。在此要非常感謝藝軒圖書公司編輯群的耐心和細心，也感謝研究室夥伴們的協助，如果沒有大家的付出，這本書也無法順利的誕生。翻譯的過程中，我們獲得許多寶貴的經驗，也增長了許多見聞，所以由衷地感謝撰寫這本書的原作者 Sandy B. Primrose 和 Richard M. Twyman 整理出這麼一本基因體學的書，使我們能夠更宏觀的了解基因體學在人類生物學上的應用，也希望這本書對於這個領域的研究人員及學生能夠有所助益。

本書的翻譯雖然已經竭盡所能的使其完善，但仍不免有所疏

漏，在此請諸位讀者不吝指正，以期使本書能夠更臻於完美。

陳水田
謝榮峰 陳韻如 曾湘文
2004 夏於台北中央研究院

原序

在五十年前，Watson 和 Crick 發現了完整的 DNA 結構，並詳細敘述 DNA 是如何在遺傳過程中複製，這個發現對製藥研究有很大的衝擊。然而，生物學家想知道基因的結構和遺傳密碼，隨著在二十五年前重組 DNA 技術的發展，生物科技的革命發展下，生物科技仍只限於生產重組分子，並在體外製造大量的人類蛋白質，因此藥學的生物科技研究也是非常狹窄的。

今天我們在發展過程中，從細菌到哺乳動物的標的序列，包括人類的完全基因體和一些生物的許多基因已經被辨識，可作為國際的帶頭先鋒，並邁向了解這些基因在健康和疾病上所扮演的角色。但結果仍幾乎沒有影響藥物的發展，舉例來說，我們現在有參與微生物致病性基因的研究以作為發展新的診斷方式，並開發新的疫苗和抗生素。同樣的，我們正在快速地分析遺傳疾病和癌症的遺傳基因，將再一次發展新的診斷和治療方法。這些新的藥學發展是基於重組 DNA 技術和一些方法來促進發展新的篩選方式。

當 Watson 和 Crick 宣佈了他們重大發現的時候，雖然其中胰島素是值得注意的例子，但幾乎所有藥物都是小分子。隨著重組 DNA 技術的到來，未來的藥物已涵蓋包括干擾素、血液、賀爾蒙和人類蛋白質。今天藥物分子已經變得多樣化，包括非天然的蛋白質、抗體和核苷酸。此外，新的醫學程序已被發展，如基因治療、細胞治療和組織治療。

上述的發展速度不是令人驚訝的，學生和研究員費盡心思仍很難看到整個發展的方向。因此這本書可提供一些必需的觀念，包含技術、應用的發展和在道德倫理上的涵義。本書分為三個部分，第一部分（第 1 和 2 章）介紹生物科技和基因體學在藥物的角色，和一些最近在醫學基礎上突破性的發展。第二部分（第 3、4 和 5 章）了解生物科技對不同種類疾病之預防和治療的影響。最後，在第三個部分（第 6、7 和 8 章）中，將敘述生物科技

在不同類型疾病治療的發展和貢獻，包括傳統藥物、重組蛋白質和基因及細胞治療。

在書中細節部份已經調整內容程度，以便讀者能抓住重點。遺傳學和分子生物學的基本理論已經被編入生物學教科書中，因此我們在本書中避開 DNA 結構等基礎的部分。除此之外，更多的重組 DNA 和技術的細節，我們會引用由 Blackwell 所出版的一些新教科書來介紹給讀者，其中有兩本書，書名分別是「基因處理的原則（*Principles of Gene Manipulation*, POGM）」和「基因體分析和基因體學的原則（*Principles of Genome Analysis and Genomics*, POGA）」，將作為書中每一章的參考，除此之外書中也加入一些參考書目。讀者也將發現本文中包含一些專欄：歷史專欄（描述起源和特別的技術或治療的發展）、分子專欄（將更詳細的描述疾病或治療方法）和倫理專欄（討論技術發展和新治療的倫理涵義）。

最後，我們想要感謝提供所有協助的人，特別是 Sue Goddard 和她在 CAMR 圖書館的小組和 York 大學生物學系的 Alistair Fitter。另外，Richard Twyman 想要把這一本書獻給他的父母親 Peter 和 Irene、他的孩子 Emily 和 Lucy 以及 Hannah、Joshua 和 Dylan。

Sandy B. Primrose and Richard M. Twyman

參考文獻

- Primrose SB, Twyman RM (2003) *Principles of Genome Analysis and Genomics*, 3rd edn. Blackwell Publishing, Oxford.
- Primrose SB, Twyman RM, Old RW (2001) *Principles of Gene Manipulation*, 6th edn. Blackwell Science, Oxford.

致 謝

許多的圖表是來自於其它的來源，我們感謝許多作者與出版社同意使用由下列來源的資料。

書中圖的部分是摘錄自下列作者的發表文獻：

Primrose SB (1991) *Molecular Biotechnology*, 2nd edn. Blackwell Science, Oxford.

Primrose SB, Twyman RM (2003) *Principles of Genome Analysis and Genomics*, 3rd edn. Blackwell Publishing, Oxford.

Primrose SB, Twyman RM, Old RW (2001) *Principles of Gene Manipulation*, 6th edn. Blackwell Science, Oxford.

特殊的圖表是由以下文獻所提供：

Fig. 2.4: Coulson A, Sulston J, Brenner S *et al.* (1986) Toward a physical map of the genome of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Proc Natl Acad Sci USA* **83**, 7821–7825.

Fig. 2.8: EnSEMBL human genome browser www.ensembl.org

Fig. 2.9: Veculescu VE *et al.* (1997) Characterization of the yeast transcriptome. *Cell* **88**, 243–251.

Fig. 2.12 inset: Görg A, Postel W, Baumer M, Weiss W (1992) Two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis, with immobilized pH gradients in the first dimension, of barley seed proteins: discrimination of cultivars with different mating grades. *Electrophoresis* **13**, 192–203.

Fig. 3.4: Courtesy of Catherine Arnold, UK Health Protection Agency.

Fig. B3.3: Behr *et al.* (1999) *Science* **284**, 1520–1523. [for Box 3.3]

Fig. 4.4: Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF (2001) *Genetics in Medicine*, WB Saunders, Philadelphia, figure 4.14. Original photograph courtesy of P. Wray, Hospital for Sick Children, Toronto.

Fig. 4.6: Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF (2001) *Genetics in Medicine*, WB Saunders, Philadelphia.

Fig. 4.7: Thomson G (2001) Mapping of disease loci. In: Kalow W, Meyer UA, Tyndale R, eds. *Pharmacogenomics*, pp 337–361. Marcel Dekker, New York.

Fig. 4.9: Judson R, Stephens JC, Windemuth A (2000) The predictive power of haplotypes in clinical response. *Pharmacogenomics* **1**, 15–26.

Fig. 4.10: Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF (2001) *Genetics in Medicine*, WB Saunders, Philadelphia, figure 4.13.

Fig. 4.11: Johnson JA, Evans WE (2002) Molecular diagnostics as a predictive tool: genetics of drug efficacy and toxicity. *Trends Mol Med* **8**, 300–305.

Fig. 5.6: Funaro A, Hovenstein AL, Santoro P *et al.* (2000) Monoclonal antibodies and therapy of human cancers. *Biotechnol Adv* **18**, 385–401, figure 2.

Fig. B6.4b: Procognia Ltd.

Fig. 7.4: Croston GE (2002) Functional cell-based uHTS in chemical genomic drug discovery. *Trends Biotechnol* **20**, 110–115, figure 2.

Fig. 7.5: Bandara, Kennedy (2002) *Drug Discovery Today* **7**, 411–418, figure 2.

Fig. 7.7: Thompson, Ellman (1996) *Chem Rev* **96**, 555, figure 10.29.

Fig. 7.8: Balkenhol F, von dem Bussche-Hunnefeld C, Lansky A *et al.* (1996) *Angew Chem Int Ed Engl* **35**, 2289, figure 10.30.

Fig. 7.12: Castle AL, Carver MP, Mendrick DL (2002) Toxicogenomics: a new revolution in drug safety. *Drug Discovery Today* **7**, 728–736, figure 4a.

Table 7.1: Croston GE (2002) Functional cell-based uHTS in chemical genomic drug discovery. *Trends Biotechnol* **20**, 110–115.

Table 7.2: DeVito JA *et al.* (2002) An array of target-specific screening strains for antibacterial discovery. *Nature Biotechnol* **20**, 478–483.

目 次

第一章 醫學上的生物技術和基因體學 1

前言	1
重組 DNA 技術	2
選殖的重要性	2
特定基因的鑑定和選殖	5
複製的基因功能特性	9
從重組 DNA 到分子藥物	10
使用 DNA 的序列作為診斷工具	11
製造治療用途蛋白質	13
基因藥物	14
疾病模式	15
基因體學在醫學上的影響	15
新的分子藥物	17
本書大綱	18
進階閱讀	19

第二章 基因體學的概論 20

前言	20
一個進展的回顧：人類基因體計畫	21
基因圖譜突破性的發展	23
生理圖譜突破性的發展	25
定序策略	28
基因註解	31
未來：功能性基因體學	35
序列比較和比較基因體學	37

轉錄體學：mRNA 的全面性分析	40
蛋白質體學：蛋白質的全面性分析	46
作為蛋白質體分離的技術平台	47
以質譜儀鑑定蛋白質	49
表現蛋白質體的應用	51
蛋白質體交互作用的技術平台	51
多突變基因體	55
進階閱讀	57

第三章 基因體學和傳染病的挑戰 60

微生物引起疾病	60
新的疾病來自哪裏呢？	63
鑑定造成疾病的因子	65
分子流行病學	68
宿主對感染的抵抗力	70
了解細菌的致病性	70
致病小島	72
比較基因體學和基因體的可塑性	73
打擊傳染病	74
新的疫苗製造方法	76
基因體學和發展新的抗細菌因子	77
打擊真菌感染	81
治療原蟲性寄生蟲疾病的進展	81
發展中的抗濾過性病毒藥物	86
進階閱讀	89

第四章 遺傳性疾病的分析和治療 90

文章中的遺傳疾病	90
偵測單一基因異常	91
治療單一基因異常	96
尋找單基因疾病和偵測基因功能	98
定位選殖	99

候選基因的研究	100
多基因遺傳異常的分析	102
無模式連鎖分析	102
連鎖不平衡圖譜	103
單套型	105
主要組織相容性複合體	106
藥物的個人反應（藥物基因體學）	109
進階閱讀	111
第五章 癌症的診斷和治療	112
前言	112
癌症的分子基礎	112
基因體學在癌症研究上的影響	116
癌症診斷的新方法	119
癌症治療的新方法	122
放射療法	122
化學療法	123
生物療法	127
新治療標的	129
進階閱讀	130
第六章 生物製藥的大規模生產	131
概論	131
單株抗體的產生	132
放射免疫治療和診斷影像	136
其他修飾的抗體	137
微生物的大規模培養	137
動物細胞的大規模培養	140
表現系統	144
下游加工	146
利用基因操作促進生技製藥的下游生產	148
生技製藥的品質	152

優良生產規範	153
可替代的生產系統	155
進階閱讀	156

第七章 基因體學和新化學實體的發展 157

前言：藥物如何被發展	157
高通量篩選	160
標的確認和動物模式	165
組合式化學	167
動態組合式資料庫	171
虛擬篩選	171
組合式生物合成和化學生物合成	172
藥物代謝	174
毒理基因體學	175
進階閱讀	177

第八章 基因和細胞治療 178

前言	178
基因治療	179
基因輸送策略	181
基因輸送機制	182
個案研究	186
核酸藥物	190
反義藥物	191
核醣酶藥物	192
小分子干擾 RNAs 的潛力	193
適合體藥物	194
感染疾病：愛滋病毒的基因藥物	194
DNA 疫苗	195
疾病模式	196
單一基因異常的模式	198
複雜性失調疾病的模式	199

細胞治療	200
幹細胞和選殖	202
器官移植	203
進階閱讀	204
索引	205

第一章

醫學上的生物技術和 基因體學

Biotechnology and genomics in medicine



編譯：陳韻如

前言 Introduction

過去 300 年來，對於人類身體在健康和疾病中運作方式的了解已經有了明顯的進步。然而，我們的知識並沒有穩定的增加。在藥物的演進史中，突然有了突破性的發展和跳躍，而如果沒有下列所提到的這些技術（**technology**），則不可能有許多重要的突破發展。

舉例來說，由 Alexander、Fleming 最早發現的兩個抗生素——1922 年發現的溶菌素（lysozyme）和 1928 年發現的青黴素（penicillin），這兩個發現都是僥倖得到的，而如果 Fleming 沒有辦法在固體培養基上培養細菌的話，則根本不可能被發現。使用瓊脂是由 Fanny Hesse 第一個提出的，在 1882 年 Robert Koch 加以實用話。以如此純熟的培養技術，Robert Koch 和 Louis Pasteur 才能夠建立細菌致病性的原則，並以此建立醫用微生物學的基礎。而 Fleming、Pasteur 和 Koch 的成就則都是仰賴 Anton van Leeuwenhoek 在 1683 年發現細菌的存在，而這個發現如果沒有顯微鏡的發明也是不可能的，Leeuwenhoek 他自己製造了一台粗糙的顯微鏡，而這個靈感則是來自於 1595 年 Flans 和 Zacharias Ianssen 的創意，相同的，以乙醚做為麻醉劑是由 Crawford Long 在 1842 年*第一個提出的，而如果不是有方法可以合成乙醚，這個方法也不會出現，乙醚的合成方法一開始是由德國的科學家 Val-

*Crawford Long 是第一個證明以乙醚（ether）作為麻醉劑的人，但是一般會認為起源是 William Morton 在 1846 年所發表的技術。

erius Cordus 在 1540 年所發表的。因此，醫學上的大突破通常都是依賴在物理、化學和生物學上的進步而來的。

自從 1970 以來，反應著對於健康和疾病分子（**molecular**）知識的逐漸增加，我們目睹了醫學上空前的進步。雖然物理、化學的知識很重要，但許多醫學上的進步主要仍是歸功於——DNA 重組和基因體學這生物學上兩個技術的演進。在這一章中，我們將簡述**重組 DNA**（**recombinant DNA revolution**）和**基因體學**（**genomics revolution**）對於醫學實務上的衝擊。

重組 DNA 技術 Recombinant DNA technology

隨著處理 *in vitro* DNA 技術和工具的進步，**DNA 重組技術**（**recombinant DNA revolution**）從 1972 年開始演進。直到 1970 年代，仍不能精確的操作 DNA，也就是說直接研究個別基因是困難的。在模範生物體中，遺傳分析可以用來間接的了解基因的結構和功能，但這個方式對於人類是不適用的。將細菌原本在正常細胞生理中使用在 DNA 上的酵素分離和定義其生物活性，可以促進 DNA 重組技術的發展（專欄 1.1）。很快的我們可以想到，如果這樣的酵素可以被純化，可以在 *in vitro* 製造不同的 DNA 片段，這樣的分子便稱為**重組 DNA**（**recombinant DNA**）片段。

選殖的重要性 The central importance of cloning

要很完整的了解一個特定的 DNA，產生足夠實驗使用的副本是必須的。重組 DNA 所提供第一個重要技術就是可以製備數

專欄 1.1 用於操作 DNA 的關鍵酵素

- 核酸內切限制酶—這是細菌所使用的酵素。會由 DNA 內部切開特定的序列，使大的 DNA 分子可以被切割成預期的片段。切口可以被切成是相反的（產生平板端）或是突出（產生懸掛端）。
- DNA 連接酶—將 DNA 片段連接在一起的酵素。有一些是連接平板端，有些是連接懸掛端。而懸掛端的相容性則是依據所使用的限制酶所決定。
- DNA 聚合酶—這是依據相對模板合成 DNA 的酵素。不同的酵素可以用於 DNA 標定、DNA 定序、聚合酶連鎖反應以及將 mRNA 反轉錄成 cDNA。
- DNA 修飾酵素—包括鹼性磷酸酶（由 DNA 片段的尾部移除磷酸基）和聚核苷酸磷酸酶（和前者進行相反的反應），這些酵素用來控制連接反應和 DNA 標定。

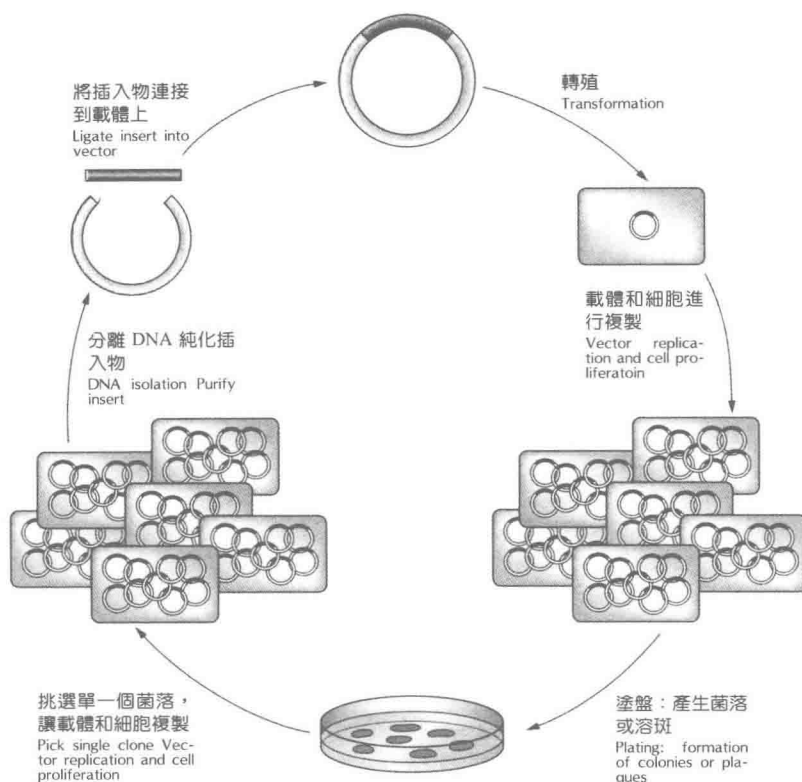


圖 1.1 以質體作為細胞分子選殖載體的原則。選用在載體上只有一個辨識位置的限制酶將質體切開，因此切開的位置是已知的。用同一個限制酶製備插入物，再利用 DNA 連接酶將插入物連接在載體上切開的位置，然後以轉殖的方式送入大腸菌中。載體上有一個選擇標記，只有轉殖成功的大腸桿菌可以在培養基上生長。當細菌散佈在含有抗生素的培養基上時，轉殖成功的細菌會形成約有 1×10^6 個細菌的菌落，而細菌上都帶有上百個載體。挑選個別的菌落進行大量培養，現在可以看到之前的插入物已經被大量表現，可以使用限制酶將目標片段切出來，這樣就能夠得到大量的標的 DNA。

以千計相同的 DNA 序列，這個技術稱為分子選殖（**molecular cloning**）。長久以來，都知道細菌有著可以自行複製的複製子（**autonomous replicons**），例如像是質體或是噬菌體這類遺傳物質可以複製到數百個。DNA 重組技術可以將人類的 DNA 序列放入這類複製子，使得人類 DNA 可以被大量的複製（**amplify**）。這也是選殖質體（**cloning vectors**）發展的原則。細胞基礎分子選殖的一般技術就像圖 1 中所畫的一樣。