

项目摘要

项目名称：基于生物信息的药靶高通量筛选及功能研究

主要建议人姓名：

院 士

院 士

教 授

教 授

研究员

建议首席科学家姓名、年龄、单位：

40 岁

37 岁

经费预算金额：2800 万元

摘要正文：

疾病对人类的健康和生存构成重大威胁，是世界各国面临的最重要的社会问题之一。当前和今后相当长的时期内药物将是疾病治疗的最主要手段，但由于历史、经济及观念等原因，与发达国家相比我国在药学相关基础研究，特别是创新药物的的基础研究和开发领域比较落后，导致医药产业基础较差，药品来源长期依赖于仿制和进口，每年进口药品达 40 亿美元以上。在中国加入 WTO 以后，一方面，由于知识产权保护的限制，药品仿制不可能再成为我国医药产业的中长期目标；另一方面，由于成员国之间的低关税，国外药品将会更多地进入中国市场。这不仅严重影响到我国人民的用药和健康问题，同时也将威胁我国医药产业的生存和发展，进而影响我国医药产业对国民经济的贡献度。因而，建立和发展我国自主的创新药物基础研究和开发体系成为当务之急，缺乏疾病特异性药靶是当前新药研究和开发的瓶颈。同时，对现有药物与机体相互作用机理认识的局限性是造成药物毒副作用的主要原因。因此，药靶的研究是新药研究和开发及临床合理用药中急需解决的**重大科学问题**。

当前比较成熟的药靶仅 500 个左右，远不能满足新药研究和开发的需求。估计人类基因中应该有 3000-5000 个可以作为药物的靶标。由此看来，药物靶标的研究不仅是必须的，而且有很大的探索空间。充分利用有效的靶标发现和功能验证技术，从现有大量的基因组学等信息资源中寻找重大疾病治疗药物的关键靶分子并分析其多态性对药物疗效和毒副作用的影响，为新药研究和开发提供靶标，并为临床安全用药提供理论依据是完全可能的。药靶的研究不仅具有重大的社会

和经济效益,而且具有重要的科学意义。该项研究对保证我国人民的健康和生存、用药安全和有效、促进我国医药产业的国际竞争力、推动我国药理学、生物信息学等相关学科的发展具有重要的意义。

预期目标:

- **建立一系列药靶筛选和功能研究技术平台:** 建立以生物信息学和生物芯片、化学基因组学和病毒感染基因组学为基础的药靶高通量筛选技术平台;在分子、细胞、动物及人体水平上,建立以生物芯片、反义核酸/RNAi、转基因和基因敲除等技术为核心的系统的药靶验证技术平台。
- **建立“组合药靶”的发现策略:** 基于生命是一个复杂的过程和体系,疾病是由多个彼此之间存在着相互作用和动态变化的分子引起的这些基本生理和病理现象,提出“组合药靶”的药靶发现策略,验证并完善组合药靶策略的可行性。这一策略的核心思想是:从基因功能网络中筛选疾病特异相关的基因组合,并验证以这些特异性基因组合为靶进行药物筛选的可行性及机理,如果被证明可行,则这些特异性分子组合即称为“组合药靶”。
- **建立药靶发现的生物信息学知识系统:** 整合结构生物学和功能基因组学的信息资源,建立相应的药靶发现生物信息学知识系统,包括数据库、药靶筛选和验证的新算法、新理论等。完成具有自主知识产权的人类蛋白组电子字典 1 项(human protein dictionary)、二级数据库 3—5 个和新算法 2—3 个;
- **发现若干新型药靶:**(1)通过生物信息学手段分析,初步筛选出 1000—3000 个潜在药靶,300-500 个可供进一步实验验证的候选药靶;(2)通过系统筛选和功能验证,获得 3-5 个(组)可供抗肿瘤或抗病毒药物筛选的药靶和“组合药靶”;(3)发现 2—3 个与疗效和毒副作用有关的功能多态性 SNP。

研究内容及课题设置:

特异性和可药性(drugability)是一个药靶必须具备的最基本的性质,如何发现特异性和可药性药靶并分析其特点和作用机理是本项目要解决的关键科学问题。针对上述问题,首先拟建立一个药靶发现的技术平台,并将其应用于抗肿瘤和抗乙型肝炎病毒药靶的发现,探索特异性和可药性药靶的特点和规律,为新药靶的发现奠定技术和理论基础。

技术平台的建立拟根据药靶发现的需要,结合国际前沿及我国的研究基础、科研、人员和技术条件,首先基于现有生物信息资源,通过生物信息学、化学基因组学,结合表达谱分析等技术手段,筛选系列候选药靶,然后通过 RNAi 和反义核酸、生物芯片、酵母双杂交、转基因和基因敲除及生物信息分析等技术,结合肿瘤细胞和裸鼠移植瘤模型对发现的候选药靶进行系统的功能验证,获得特异性和可药性靶标。

就疾病特异性和可药性靶标的验证,拟采用消化系统肿瘤作为主要研究对象,采用“组合药靶”的策略进行探索。考虑到肿瘤是一个多基因相关疾病,从

单一药靶很难达到理想的效果，多靶点干预应该是肿瘤特异性治疗的发展方向。从大量的肿瘤相关基因中发现特异性和可药性的基因组合作为药物多靶点干预的靶标（组合药靶）并阐明其作用机理是本项目的核心内容。

本项目拟针对若干消化系统肿瘤，采用生物信息学和表达谱分析等先进的技术手段选择与肿瘤发生、发展及转移等相关的基因，通过正交设计等统计学方法进行实验设计，应用反义核酸或 RNAi 技术，结合基于细胞的高通量筛选，验证候选靶基因和基因组合与肿瘤细胞增殖或凋亡的相关性。对其特异性进行分析，发现具有体外特异抗癌作用的候选“组合药靶”。采用生物芯片和蛋白质组学技术，在细胞水平上分析上述“组合药靶”被抑制前后肿瘤细胞基因和蛋白质表达谱的变化，揭示多靶标干预肿瘤细胞增殖等功能表型的分子机理。最后在裸鼠原位或皮下异植瘤模型上验证“组合药靶”的抗肿瘤作用，获得特异性和可药性靶标。

此外，针对某些抗肿瘤药物作用靶标和代谢酶的多态性影响药物代谢、疗效和毒副作用的问题，本项目拟选择代表性药物，系统分析其相关基因多态性，通过药代动力学和临床疗效和毒副作用观察，阐明药靶和代谢酶多态性与药物疗效和毒副作用的关系，并通过突变分析等手段阐明其内在科学规律。

最后为了验证组合药靶发现策略在其它疾病药靶发现中的适用性，项目拟基于病毒感染基因组学的策略，以乙型肝炎病毒(HBV)为例，从宿主细胞中发现 HBV 感染性疾病治疗的特异性组合药靶。

针对上述研究内容设置以下 7 个课题：

- 课题 1：药靶发现的生物信息学研究和知识系统的建立
- 课题 2：药靶高通量筛选及其相互作用分析技术体系的建立
- 课题 3：用化学基因组学方法高通量筛选药靶及其配基
- 课题 4：用基因工程小鼠筛选和验证次级药靶
- 课题 5：“组合药靶”的高通量筛选及功能研究
- 课题 6：“组合药靶”基因的多态性分析及其功能研究
- 课题 7：用“组合药靶”的策略从宿主细胞中发现抗 HBV 药靶

创新点和特色：

- **创新的药靶发现策略：**通常人们谈到药靶都是指单一分子，但是，基于生命是一个复杂的过程和体系，疾病是由多个彼此之间存在着相互作用和动态变化的分子引起的这些基本生理和病理现象，本项目提出了“组合药靶”的药靶发现策略。这一策略的核心思想是：药物需要作用一系列疾病特异的靶分子组合才能发挥最佳的治疗效果，该靶分子组合经过筛选和验证，若具有特异性和可药性即为组合药靶。这一观点的验证和应用将给药物靶分子的发现、药物筛选及新药的研究、开发乃至临床用药提供新的理论和实验依据。
- **创新的药靶发现生物信息学知识系统：**应用自研制的算法软件，整合和挖掘

公开及自有的基因组学数据，实现与本项目内的分子生物学研究间密切的互动、查询与分析，结合基于结构的药物设计技术，形成“药物靶标发现的知识系统”，为靶标的可药性提供线索和基础。

- **综合的药靶发现技术平台：**综合运用生物信息技术、生物芯片、反义核酸和RNAi、蛋白质组学、酵母双杂交、基因敲除等技术，并将其有机的整合在一起，形成一个高效的药靶筛选和功能验证的技术平台，为发现和确证新型药靶提供有力的技术保障。

根据国家需求和项目特点，集成国内的生物信息学、基因组和蛋白质组学、生物化学和分子生物学、生物芯片、反义核酸等先进技术及药学、基础和临床医学等优势学科，联合.....等在学科、人才、科研基础和实验材料、实验室、生物信息及技术资源上优势互补的强势单位，协作攻关，争取在短期内建立起我国药靶研究的技术平台，发现若干药物筛选的新型药靶，为我国重大疾病的治疗、创新药物产业的发展及药学学科的发展做出突出贡献。

一、 立项依据

1. 疾病治疗是急需解决的社会问题，药物是疾病治疗的最主要手段，医药产业将成为 21 世纪的支柱产业

疾病依然是威胁人类生命健康的头号杀手。全球仅癌症患者就超过 4000 万人。我国目前每年新增癌症患者已超过 160 万人，现有肿瘤患者至少 300~400 万人，年死亡人数超过 130 万。预计 2005 年抗肿瘤药物市场将达 283 亿美元。据世界卫生组织统计全世界 3.5 亿以上 HBV 携带者，约 1/4 发展为肝癌和肝硬化。目前我国 HBV 携带者 1.2 亿左右，每年有 50 万人死于与 HBV 感染有关的疾病，直接医疗费用约 500 亿元。当前，药物治疗依然是疾病控制的最常用的手段，因此也是最有市场前景的产业。目前全球医药市场总额已达 3000 亿美元以上，估计 2010 年将达 6000 亿美元。此外，不同病人对同一药物的反应不同，表现为不同的药物疗效和毒副作用一直困扰着临床医疗和制药业，也是肿瘤治疗失败的重要原因。我国仅氨基糖苷类不良用药导致的耳聋病人就超过 500 万人。药物错误剂量使用使美国每年至少耗费数百亿美元。

2. 选择性药靶发现和合理用药是疾病治疗药物研究、开发及临床应用的关键环节和最亟待解决的重大科学问题

当前在药学领域有两大科学问题急需解决：一方面临床应用的大部分药物作用靶标及机理有待阐明；另一方面又有大量新型药靶亟待发现。疾病药物治疗的关键是高效率和高选择性，尤其是特异性药靶的发现及功能阐明等关键科学问题。理想的药靶应功能明确，对发病起关键作用(causative)且具有可药性(drugability)等。

3. 人类基因组计划及相关技术为理想药靶的发现及药物的研究和开发提供了良好的机遇和获得重大突破的可能

目前，已分析并公开了 600 种生物的全基因组序列，其中 170 种为真核生物。更有意义的是人类基因组全序列分析的完成，功能基因组研究在不断深入。这些成果不仅为阐明生命的本质提供了海量的生物信息资源，同时将为其它学科的发展提供极好的发展机遇。大量基因组学的研究成果和伴之而产生的大量新技术如生物信息学、化学基因组学、生物芯片、蛋白质组学、转基因和基因敲除等技术也为药靶的发现、验证及多态性分析为核心的基因组药物学研究提供了坚实的理论基础、丰富的生物信息资源及高效的技术手段。

4. 实现国家人口与健康领域科研战略目标的需要

从基因到药物再到疾病，我国已经在结构生物学和功能基因组学、蛋白质组学、微生物基因组、疾病基因组学、中药复方基础研究和药物先导化合物发现等领域部署了一系列相关课题。纵观这条人体与健康的生命科学项目战略部署链，可以发现缺了两环：一环是从基因到靶标，另一环则是从药物到临床。该项目的

部署不仅可以完善该科学战略部署链,而且可以充分利用其它项目的研究成果并同时为其它项目研究提供技术平台、筛选靶标和理论基础。

总之,开展药靶的研究是创新药物研究和开发的源泉,深入研究有望在药物的研究和开发方面获得突破性进展,实现我国的药物研究源头创新的飞跃发展,进而解决 13 亿人民治病用药的社会和经济问题。药靶筛选和功能研究是特异性高效,低毒药物发现的前提。该研究有望在药物作用的特异性这一关键科学问题上获得重大突破。

二、 内外研究现状及发展趋势

1. 研究背景

传统的药靶发现方法一般是通过有显著药理作用的药物,经过分子药理学研究,最终认识药靶。在这一过程中,发现有药理作用的药物是瓶颈。虽然也可以通过动物实验发现有药理作用的化合物,但由于规模、速度和耗费等因素的限制,这一过程很难实现大规模和高效率。

随着生物化学及分子生物学技术的发展人们对疾病认识达到了分子水平,并发现了一批新的药靶,从而使基于机理的药物发现成为可能。此时,以靶标为基础的药物筛选包括模型的建立及化合物的合成和收集,成了新药研究的瓶颈,因此大量的靶标并没有得到充分的利用。随后出现的高通量和超高通量筛选和组合化学技术很好地解决了上述难题,并确实发现了一批很好的新药。为数不多的靶标和成千上万的化合物库很快被筛了无数遍,利用价值越来越小,于是新的药靶的发现很快又成了新药研究和开发的瓶颈。科学家特别是制药公司很快把目光集中到新药靶发现这个瓶颈上。此时,也是人类基因组计划研究如火如荼的阶段,于是药物学家和分子生物学家很快就找到了共同的兴奋点—从人类基因组中寻找疾病相关基因和药靶。为实现这一目标,大量基因特别是疾病相关基因被申请专利,有的还被高价出售给制药公司等,如肥胖基因和端粒酶基因等。但并不是所有的疾病相关基因都能成为药靶,如肥胖基因目前就被人为很难成为药靶。理想的药靶不仅要在疾病的发生和发展中扮演关键(causative)的角色,而且还有具备可药性(drugability),否则只能是一个疾病标志物而已。因此,药靶的发现和功能验证成了基因组学特别是功能基因组学和药物学领域共同的研究热点,从而也产生了一门新的交叉学科,即基因组药物学。

基因组药物学在生物技术和医药工业界掀起了前所未有的高潮,很多大的制药公司与实验室看到了它的潜在商机,纷纷投入巨资。在短短几年内,已经先后有多家联合体形成,其中的 10 多家涉及基因组药物学在药物研究和开发中的应用。

2. 研究进展

基因组学及相关学科和技术的发展提供了连数学家们都感到恐惧的海量生物信息。面对如此多的信息资源,科学家们在经历了短暂的激动之后,随之而来的便

是茫然。如何利用这些宝贵的信息资源成了后基因组或者说功能基因组时代的重要科学问题，正是在这种背景下产生了生物信息学、生物芯片、酵母双杂交等一系列高通量研究新技术。这些技术不仅在基因组学特别是功能基因组学研究中发挥了重要的作用，而且也是目前药靶发现和验证的核心技术手段。

生物芯片技术经过几年的发展在特异性和灵敏度等方面已基本能够满足基因表达和 SNP 的研究的要求，并已开始应用于新药靶的寻找和基因多态性的研究。有报导利用基因芯片发现 IL-13 在 L428 及 KM H2 细胞系表达异常升高，从而提示 IL-13 及其信号转导途径，可能成为治疗何杰金氏病的重要靶标。史克公司利用生物信息学方法，发现了一个治疗骨质疏松的药靶“Cathepsin K”。通过建立 P2Y1 基因敲除模型和利用选择性 P2Y1 拮抗剂研究证实 P2Y1 受体是抗血栓药的药靶。抗体技术也是药靶发现的有效途径之一，利用该技术成功的发现了抑制血管生成的抗肿瘤药靶 KDR 和 VEGF。通过鞘内给予靶向河豚毒素抗性的钠离子通道 NaV1.8 的特异反义寡核苷酸，可以降低相应神经元的钠电流，减轻神经损伤引起的神经性疼痛，证实了 NaV1.8 可以作为治疗神经性疼痛特异的分子靶。最近发展的 RNAi 技术比 ASODN 特异性更强，已阐明大量基因功能，也可用于药靶验证。m1 受体选择性激动剂 AC-42 的发现证实了化学基因组学策略的价值。AC-42 表现出单一的受体结合作用，其结合位点不同于乙酰胆碱的结合位点，且为 AC-42 显示特异性 m1 受体激动作用所必需。这一 m1 受体特异激动剂的出现，就有可能在药理学上证实不同疾病状态下毒蕈碱 m1 受体的功能。

大量的研究发现药靶、转运蛋白及代谢酶基因的多态性是影响药物疗效和毒副作用的重要因素之一。这种多态性差异可以影响化疗药物对肿瘤患者的疗效和毒性。严重毒性常与药物代谢酶基因的突变相关。最近研究发现，亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)的 C677T 突变可能改变环磷酰胺、甲氨喋呤和 5-氟尿嘧啶伍用方案对患者的治疗效果。预计在未来 3—5 年内应用患者的遗传信息能更精确预测患者对现有一些药物严重不良反应的危险性；在未来的 5—10 年内能更精确预测患者如何从个体化治疗中获得益处。

总体看，与国际水平比较，国内基因组药物学和药靶的研究还有较大差距，处于非常初步的阶段。但在某些相关科学和技术研究领域也已有相当好的工作基础和条件，甚至有一定的国际影响。我国科学家完成了 1% 的人类基因组计划，发现了几个有国际影响的新基因；完成了若干病原微生物的全基因组测序。国内多家单位还分析了胎肝、神经及肾上腺等人类代表性组织的 cDNA 序列，获得了大量有价值的 EST 结构和功能信息。国家自然科学基金和国家 863 还启动了基因组学和功能基因组学等一系列重大课题。在肿瘤、心血管、传染病、精神和神经及衰老等重大疾病的发病机理研究方面也取得了诸多可喜的研究成果。在国家各类科研项目的资助下，已经建立了相当完善的生物信息学研究技术平台，并正在基因功能分析等领域发挥着重大作用。生物芯片技术日趋成熟，一系列用于表达谱分析、基因分型及药物筛选的基因和蛋白芯片已经开始投入使用。发现了系列抗肿瘤等生物活性的反义核酸并建立了比较成熟的用 RNAi 进行基因功能研究的技术平台。在遗传药理学领域也有多年的工作积累，取得了一系列有国际影

响的研究成果。国家自然科学基金还适时启动了药物基因组学和病毒与宿主相互作用的重点项目。此外，针对国际基因组药理学的发展，我国还举办了两次全国和国际性的专题学术研讨会。

3. 发展趋势

基因组药理学理论体系正在酝酿和形成的过程中，并有可能促进一系列相关新学科和新理论的形成，产生一个新的科学探索热点和经济增长点。未来基因组药理学的发展趋势将包括以下几个方向。

- **疾病治疗特别是多基因相关疾病的治疗将向多靶标发展：**生命和疾病是一个非常复杂的生理和病理过程，其中涉及到多基因、多通路多途径的分子功能网络相互作用的过程，如肿瘤的发生和发展就涉及到细胞增殖和凋亡、细胞周期、细胞迁移及血管生成等多个环节的交互作用，想通过单一靶标的作用实现理想的治疗效果是非常困难的。因此，针对多基因疾病相关的“分子群”寻找组合式药靶将成为未来此类疾病药物研究和开发及治疗的重要发展方向。

靶标特别是药物受体研究向亚型发展：虽然人们早已发现了药物受体存在功能有差异的不同亚型，但缺乏大规模系统研究。随着其结构和功能研究的不断深入，越来越多的靶分子亚型特别是受体亚型将会出现，如现已发现在基因水平上，5-羟色胺受体至少有14个亚型。亚型结构和功能的特异性研究对于高选择性和低副作用药物特别是手性药物的设计具有重要的指导意义。

基因多态性与药物反应差异的问题开始引起重视：药物反应个体差异是临床常见的问题。遗传药理学研究已经证明这与人类不同民族和个体的基因多态性特别是单核苷酸多态性(SNP)密切相关。人类基因组计划特别是比较基因组学的研究证明SNP存在的普遍性后，国际学术和制药界对此研究达到高潮，但是目前的研究多是把目标集中在SNP的发现上，少系统和完整的某一个或一类药物相关SNP研究的资料报导。这种研究方式很难在短期内在指导临床用药方面发挥重大的作用。未来的研究将集中在阐明同一基因和不同基因中多个功能相关的SNP之间的交互作用对药物疗效和毒副作用的综合影响。

感染性疾病特别是新型病毒感染性疾病治疗的靶标将向宿主发展：耐药是以微生物为靶的感染性疾病药物治疗面临的最严重问题，疫苗是一个重要的发展方向，但有两个关键问题：一是目前只有部分微生物可以制备有效的疫苗；二是治疗性疫苗还不太成熟。因此未来感染性疾病治疗小分子药靶标的研究和发展方向将是寻找从宿主细胞中寻找感染相关的关键分子并阐明其与病毒感染的关系。

药靶特别是高特异性药靶的选择将由胞膜向胞内转移：鉴于受体信号转导在胞内有多条通路和环节，仅将药靶的发现局限在细胞膜上的受体是很不合理的，从胞内寻找药靶不仅可以提供更多的可能性而且功能也会更特异，因为与细胞膜受体相比这些分子处于更下游，功能可能更专一。

4. 参考文献

- (1) Cao M, Kobel PA, Morshedi MM, et al. Defining the Bacillus subtilis sigma(W) regulation: a

- comparative analysis of promoter consensus search., run-off transcription/microarray analysis(ROMA), and transcriptional profiling approaches. *J Mol Biol*, 2001,313(4):903-19
- (2) Markstein M, Markstein P, Markstein V, et al. Genome-wide analysis of clustered dorsal binding sites identifies putative target genes in the Drosophila embryo. *Pro Natl Acad Sci USA*, 2002,99(2):763-8
 - (3) Kloos DU, Choi C, Wingender E. The TGF-beta- Smad network: introducing bioinformatics tools.*Trends Genet*, 2002,18(2):96-103
 - (4) Read TD, Gill SR, Tettelin H,et al. Finding drug targets in microbial genomes. *Drug Discov Today*, 2001, 6 (17): 887-892
 - (5) Innocenti F, Ratain MJ. Update on pharmacogenetics in cancer chemotherapy. *Eur J Cancer*, 2002, 38(5):639-644
 - (6) Werner T. Cluster analysis and promoter modeling as bioinformatics tools for the identification of target genes from expression array data. *Pharmacogenomics*, 2001,2(1):25-36
 - (7) Tornell J, Snaith M. Transgenic systems in drug discovery: from target identification to humanized mice. *Drug Discov Today*,2002, 7(8):461-470
 - (8) Gachet C.ADP receptors of platelets and their inhibition.Thromb *Haemost* 2001 86 (1):222-3
 - (9) Rosen LS. Clinical experience with angiogenesis signaling inhibitors: focus on vascular endothelial growth factor (VEGF) blockers. *Cancer Control*,2002, 9(2 Suppl):36-44
 - (10) Lai J, Gold MS, Kim CS, et al. Inhibition of neuropathic pain by decreased expression of the tetrodotoxin-resistant sodium channel, NaV1.8. *Pain*, 2002, 95(1-2):143-52
 - (11) Croston GE. Functional cell-based uHTS in chemical genomic drug discovery. *Trends Biotechnol*, 2002,20(3):110-115
 - (12) Huo S, Wang J, Cieplak P, et al. Dynamics and free energy analyses of cathepsin D-inhibitor interactions: insight into structure-based ligand design.*J Med Chem*, 2002 ,45(7):1412-9
 - (13) Pattabiraman N. Analysis of ligand-macromolecule contacts: computational methods. *Curr Med Chem*, 2002,9(5):609-621
 - (14) Hirono S. An introduction to the computer-aided structure-based drug design-applications of bioinformatics to drug discovery. *Rinsho Byori*, 2002,50(1):45-51
 - (15) Dahl SG, Edvardsen O, Kristiansen K, et al. Bioinformatics and receptor mechanisms of psychotropic drugs. *Biotechnol Annu Rev*, 2001,7:165-177
 - (16) Rothberg BEG. The use of animal models in expression pharmacogenomic analyses. *Pharmacogenomics J*,2001,1(1):48-58
 - (17) Bugelski PJ. Gene expression profiling for pharmaceutical toxicology screening. *Curr Opin Drug Discov Devel*, 2002, 5(1):79-89
 - (18) Los G, Yang F, Samimi G, et al. Using mRNA expression profiling to determine anticancer drug efficacy. *Cytometry*,2002, 47(1):66-71
 - (19) Zembutsu H, Ohnishi Y, Tsunoda T, et al. Genome-wide cDNA microarray screening to correlate gene expression profiles with sensitivity of 85 human cancer xenografts to anticancer drugs. *Cancer Res*, 2002, 62(2):518-27
 - (20) Raucy J L, Allen S W. Recent advances in P450 research.*Pharmacogenomics J* 2001 1Issue 3:178-86
 - (21) Adam GI. The development of pharmacogenomic models to predict drug response. *Curr Opin Drug Discov Devel*, 2001, 4(3):296-300
 - (22) Chen X, Ji ZL, Chen YZ. TTD: therapeutic target database. *Nucleic Acids Res*, 2002,30(1):412-5

三、总体目标、五年目标

1. 总体目标

通过上述研究建立我国特色的药靶发现和验证的综合性技术平台,发现若干功能明确的药靶。为创新药物的研究、开发及临床合理用药提供新型靶标和理论依据;培养一支药物基因组学研究人才队伍,为我国创新药物的研究、开发乃至临床个性化医疗打下坚实的学科、人才、理论和技术基础。

2. 五年目标

预期目标:

- **建立一系列药靶筛选和功能研究技术平台:** 建立以生物信息学和生物芯片、化学基因组学和病毒感染基因组学为基础的药靶高通量筛选技术平台;在分子、细胞、动物及人体水平上,建立以生物芯片、反义核酸/RNAi、转基因和基因敲除等技术为核心的系统的药靶验证技术平台。
- **建立“组合药靶”的发现策略:** 基于生命是一个复杂的过程和体系,疾病是由多个彼此之间存在着相互作用和动态变化的分子引起的这些基本生理和病理现象,提出“组合药靶”的药靶发现策略,验证并完善组合药靶策略的可行性。这一策略的核心思想是:从基因功能网络中筛选疾病特异相关的基因组合,并验证以这些特异性基因组合为靶进行药物筛选的可行性及机理,如果被证明可行,则这些特异性分子组合即称为“组合药靶”。
- **建立药靶发现的生物信息学知识系统:** 整合结构生物学和功能基因组学的信息资源,建立相应的药靶发现生物信息系统学知识系统,包括数据库、药靶筛选和验证的新算法、新理论等。完成具有自主知识产权的人类蛋白组电子字典 1 项(human protein dictionary)、二级数据库 3—5 个和新算法 2—3 个;
- **发现若干新型药靶:** (1) 通过生物信息学手段分析,初步筛选出 1000—3000 个潜在药靶,300-500 个可供进一步实验验证的候选药靶;(2) 通过系统筛选和功能验证,获得 3-5 个(组)可供抗肿瘤或抗病毒药物筛选的药靶和“组合药靶”; (3) 发现 2—3 个与疗效和毒副作用有关的功能多态性 SNP。

四、拟解决的关键科学问题和主要研究内容

1. 拟解决的关键科学问题

药靶的发现是新药研究和开发的瓶颈。围绕这个问题,本项研究拟解决以下三方面的科学问题:**(1) 药靶的特异性问题:** 一个功能和疾病相关基因能否成为药靶与许多因素有关,理想的药靶必须在疾病发生和发展中扮演重要角色且与其在正常细胞中的功能有明显区别。如何发现特异性药靶并阐明其作用机理是本项目要解决的核心科学问题之一;**(2) 药靶的可药性问题:** 并不是所有的疾病相关基因都能够成为药靶,只有那些即能与药物发生相互作用又能引起药物效应的基因才能成为药靶,阐明药靶的可药性特点和规律是本项目拟解决的另一关键科学

问题；(3)多态性对药物作用的影响：患同一种疾病的不同个体对药物的反应有很大差异，这是引起药物疗效不佳和不良反应的最重要原因之一。本项目拟解决的另一科学问题是药靶和药物代谢酶多态性的发现及其与药物疗效和毒副作用的关系。

2. 主要研究内容

针对上述科学问题，本项目拟开展以下7个方面的研究内容：

1) 药靶发现中的生物信息学研究和知识系统的建立

对结构和功能基因组学的数据进行整合与加工，构建实时注释的人类蛋白组电子字典，其中包括全部已知和*in silico*预测的蛋白质及其注释，为本项目的生物信息学研究奠定基础。用基因表达谱及蛋白质谱的公开及自有数据，结合二级数据库构建和包括SNPs数据在内的数据挖掘的手段，探索建立疾病中核酸和/或蛋白质相互作用的网络系统；可供对疾病的机制、规律，包括与SNPs的关联进行深入分析和理论探讨。对经分子生物学验证的关键候选靶标进行三维结构分析，为基于结构的药物设计技术铺垫技术平台，提供参考数据和可药性的线索。研制相关的新算法、新软件；建立本项目的LIMS信息管理系统，实现生物信息学与分子生物学研究的互动、查询与分析，完成“新药靶标发现的知识系统”，不仅为本项目提供*in silico*潜在靶标的来源与验证，还为经分子生物学验证的关键靶标提供三维结构信息，为进一步的药物设计奠定基础。

2) 高通量药靶筛选及其相互作用分析技术体系的建立

根据课题1所筛选的与肿瘤发生、发展及转移等环节相关基因的序列，设计并合成出相应的基因探针，制备成基因芯片。用该基因芯片分析人消化系统肿瘤组织（已经具备国际上最系统的人类消化系恶性肿瘤裸鼠原位移植瘤株库，并建立了相应的动物移植瘤模型）的基因表达谱并同时分析其蛋白质表达谱，将得到的表达谱与相应的参考组织比较，通过聚类等生物信息学分析发现肿瘤组织特异性表达的基因或蛋白分子做为候选药靶。

克隆和在酵母中表达300-500个课题1所提供的及上述实验发现的针对肿瘤等疾病的候选药物靶基因或结构域，基于酵母交配技术用酵母双杂交高通量研究候选药靶蛋白或其结构域相互作用蛋白网络，获得与肿瘤相关的差异表达蛋白相互作用的图谱和功能线索。

3) 用化学基因组学方法高通量筛选药靶及其配基

在建立并优化基于分子结构的药物虚拟筛选软件及算法的基础上，针对本项目所发现的消化系统抗肿瘤药物候选药靶，进行结构模型建立。应用高通量计算机虚拟方法发现配基，并进行组合化学合成。对合成的多样性配基依次在细胞和动物模型上进行活性评价，筛选出有功能的药靶并通过其它技术进一步验证其功能和可药性，从而获得可供抗肿瘤药物筛选的新药靶。

应用基于细胞功能的高通量筛选方法,对具有结构多样性的化合物库(包括具有抗肿瘤活性的中药有效成分或其提取物)进行筛选,根据细胞功能的变化,发现具有抗肿瘤活性的化合物并在动物水平上进行验证得到活性先导化合物。以该先导化合物为探针(配基),采用生物芯片和蛋白质组学等技术研究其对基因和蛋白表达谱的影响,发现其作用的候选靶标。通过反义核酸、RNAi、转基因或基因敲除等技术对得到的候选靶标进行功能验证,以获得确证药靶。

4) 利用基因工程小鼠寻找和验证次级药靶

病理性血管新生与恶性肿瘤的发展密切相关,血管新生过程涉及多种血管生长调控因子(包括VEGF, Angiopoetin和Jagged1等)的表达变化。这些因子分别涉及血管内皮细胞的增殖、血管通透性和稳定性、及血管重塑等过程。多数因子在肿瘤组织中表达异常,最新研究表明相关信号通路可能是潜在的抗肿瘤药靶。本研究以Angiopoetin1、Jagged1和P53基因剔除小鼠为模型,分析三种不同基因之间的协同功能,比较突变型小鼠和野生型小鼠对不同致癌物 and 不同抑癌药物的反应性,运用基因芯片比较突变型小鼠和野生型小鼠相关组织的基因表达差异,寻找这些基因的下游调控因子作为潜在的抗肿瘤药物新靶标,并进一步运用转基因和基因剔除技术分析2—3个下游因子作为药靶的可能性。建立用基因工程小鼠寻找和确认药靶的技术平台。

5) “组合药靶”的高通量筛选和功能验证

针对若干消化系统肿瘤,基于课题1—4获得的与肿瘤发生、发展及转移等相关的基因,通过正交设计等统计学方法进行实验设计,应用反义核酸和RNAi技术,结合基于细胞功能的高通量筛选验证候选靶基因和基因组合与肿瘤细胞增殖或凋亡的相关性。对其特异性进行分析,发现具有特异抗癌作用的“组合靶标”。采用生物芯片和蛋白质组学技术分析上述“组合药靶”被抑制前后肿瘤细胞基因和蛋白质表达谱的变化,揭示多靶标干预肿瘤细胞增殖的分子机理。在裸鼠原位或皮下移植瘤模型上验证“组合药靶”的抗肿瘤生长和转移作用。通过上述研究探索基于“组合药靶”的特异性药靶发现策略并建立相应的技术体系,为基于机理的特异性抗肿瘤药物的研究提供靶标和理论依据。

6) “组合药靶”基因多态性分析与功能研究

鉴于抗肿瘤化疗药物较为严重的毒副作用及基因差异导致药物反应的个体差异,以2-3种代表性肿瘤化疗药物(5-Fu, 紫杉醇等)为例,选择与其疗效、毒副作用相关的“组合药靶”,通过大规模基因筛查结合生物信息学分析,确定其多态性在中国人群中的发生频率,以体外克隆表达及临床基因型/表型分析等方法,系统研究与以上药物相关的代谢酶、靶标及转运蛋白等“组合药靶”基因的多态性与药物代谢、疗效和毒副作用等变化的关系,确定基因多态性的功能,建立基于基因分型指导抗肿瘤药物临床个体化医疗的方案,为合理用药提供理论

依据。

7) 7) “组合药靶”的策略从宿主细胞中发现抗HBV药靶

根据课题1、文献和本实验室研究发现的HBV感染差异表达基因或蛋白质信息，筛选一批候选靶基因，设计合成探针并制备成基因芯片。利用基因芯片技术和蛋白质组学技术研究乙型肝炎病毒及其编码蛋白分子作用于(或感染和非感染HBV基因)肝细胞前后细胞基因和蛋白质表达谱的变化，同时比较HBV患者和正常人肝组织基因和蛋白质(包括血清)表达谱的变化。通过芯片表达谱生物信息学分析发现差异表达的基因和蛋白质分子，寻找在乙肝病毒感染过程中宿主细胞的主要应答基因和蛋白质分子。对发现的HBV感染相关基因，采用大规模基因测序、分型和生物信息学方法，分析中国人群与乙肝病毒感染、发病有关联的候选基因多态性特点，分析其与乙型肝炎感染、发病、治疗和预后的关系，从而确定和发现一批乙型肝炎易感或抗性基因，作为抗HBV治疗的候选药靶。最后利用“组合药靶”的策略筛选和验证以上关键分子作为抗HBV药物筛选“组合药靶”的可行性。

五、总体研究方案

1. 学术思路和技术路线

特异性和可药性(drugable)是一个药靶必须具备的最基本的性质，如何发现特异性和可药性药靶并分析其特点和作用机理是本项目要解决的关键科学问题。本项目首先拟建立一个药靶发现的技术平台(见图 1)，并将该技术平台应用于抗肿瘤和抗乙型肝炎病毒药靶的研究，从该研究中发现一些特异性和可药性药靶的特点和规律，为新药靶的发现奠定技术和理论基础。

技术平台的建立，首先根据药靶发现的需要，结合国际前沿及我国的研究基础和技术条件等特色，基于现有生物信息资源，通过生物信息学、化学基因组学技术结合表达谱分析等技术，筛选系列候选药靶，然后通过 RNAi 和反义核酸、生物芯片、酵母双杂交、基因敲除再结合生物信息分析等技术结合肿瘤原位移植模型对上述发现的候选药靶进行系统地功能验证，获得特异性和可药性药靶，通过上述研究，建立药物基因组学数据库。

就疾病特异性和可药性药靶的发现问题，拟采用消化系统肿瘤作为主要研究对象，采用“组合药靶”策略进行探索。考虑到肿瘤是一个多基因相关疾病，多靶点应该是肿瘤特异性治疗药物的发展方向。如何从大量的肿瘤相关基因和可药性的基因组合作为药物多靶点是本项目的核心研究内容。

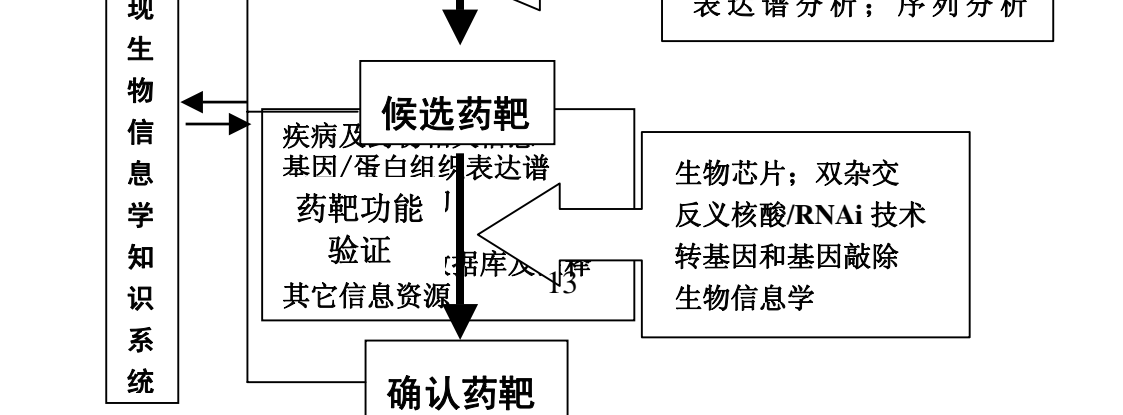


图 1. 药靶筛选和验证的总体方案

本项目拟针对若干消化系统肿瘤，采用生物信息学和表达谱分析等先进的技术手段选择与肿瘤发生、发展及转移等相关的基因，通过正交设计等统计学方法进行实验设计，应用反义核酸或 RNAi 技术，结合基于细胞的高通量筛选，验证候选靶基因和基因组合与肿瘤细胞增殖或凋亡的相关性。对其特异性进行分析，发现具有体外特异抗癌作用的候选“组合药靶”。采用生物芯片和蛋白质组学技术，在细胞水平上分析上述“组合药靶”被抑制前后肿瘤细胞基因和蛋白质表达谱的变化，揭示多靶标干预肿瘤细胞增殖等功能表型的分子机理。最后在裸鼠原位或皮下移植瘤模型上验证“组合药靶”的抗肿瘤作用，获得特异性和可药性靶标(图 2)。

此外，针对药物作用靶标和代谢酶的多态性影响药物代谢、疗效和毒副作用的问题，本项目拟选择代表性病例系统分析其多态性。通过药代动力学和临床疗效和毒副作用观察，阐明药靶和代谢酶多态性与药物疗效和毒副作用的关系，并通过突变分析等手段阐明其内在规律。

最后，为了验证组合药靶发现策略在其它疾病药靶发现中的适用性，项目拟以乙型肝炎病毒为例，从宿主细胞中发现抗 HBV 感染的特异性组合药靶。

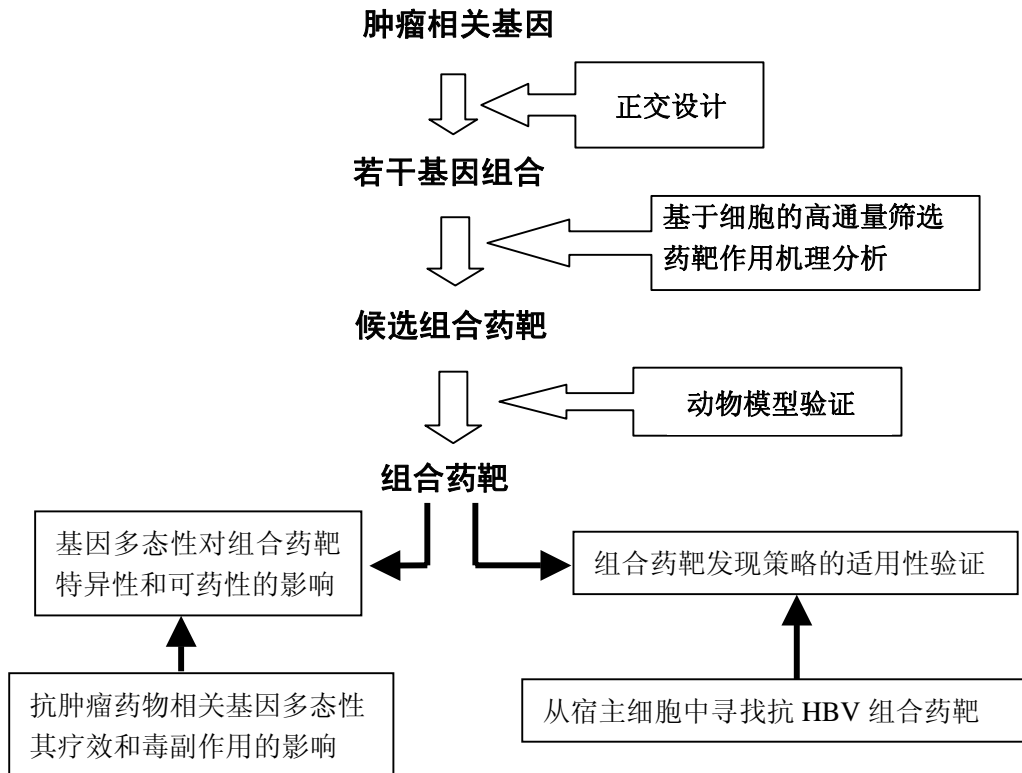


图 2.组合药靶发现的技术路线

2. 创新点与特色

- **创新的药靶发现策略：**通常人们谈到药靶都是指单一分子，但是，基于生命是一个复杂的过程和体系，疾病是由多个彼此之间存在着相互作用和动态变化的分子引起的这些基本生理和病理现象，本项目提出了“组合药靶”的药靶发现策略。这一策略的核心思想是：药物需要作用一系列疾病特异的靶分子组合才能发挥最佳的治疗效果，该靶分子组合经过筛选和验证具有特异性和可药性即为组合药靶。这一观点的验证和应用将给药物靶分子的发现、药物筛选及新药的研究、开发乃至临床用药提供新的理论和实验依据。
- **创新的药靶发现生物信息学知识系统：**应用自研制的算法软件，整合和挖掘公开及自有的基因组学数据，实现与本项目内的分子生物学研究间密切的互动、查询与分析，结合基于结构的药物设计技术，形成“药物靶标发现的知识系统”，为靶标的可药性提供线索和基础。
- **综合的药靶发现技术平台：**综合运用生物信息技术、生物芯片、反义核酸和 RNAi、蛋白质组学、酵母双杂交、基因敲除等技术，并将其有机的整合在一起，形成一个高效的药靶筛选和功能验证的技术平台，为发现和确证新型药靶提供有力的技术保障。

3. 可行性分析

- **有丰富的生物信息、疾病及遗传资源为基础：**目前，已分析并公开了 600 种生物的全基因组序列，其中 170 种为真核生物。更有意义的是人类基因组全序列分析的完成，功能基因组研究的不断深入，在为阐明生命的本质提供了海量的生物信息资源的同时也为药靶的发现提供了丰富的矿藏。估计人类基因中蕴藏着约 5000-10000 个可能作为药靶的基因，考虑到亚型，多态性及蛋白质修饰和构象等问题，实际的药靶数量还要多，而目前已经发现的药靶仅 500 个左右，这为新药靶的发现提供了非常广阔的探索空间。
- **有较优秀的学科带头人、成熟的系列技术、先进的实验室和配套设备为支撑：**“欲善其事，必先利其器”。药靶的发现是一项涉及多学科和技术的交叉性和综合性很强的项目，先进和完善的技术手段和仪器设备及综合应用这些技术手段和设备的能力是实现新靶标发现的最关键因素之一。项目核心单位及协作单位，不仅具有学科优势，而且在药靶发现和验证的关键技术和实验室及配套仪器设备方面也具有明显的优势。如在生物信息学、生物芯片、反义核酸/RNAi、蛋白质组学、基因敲除、药物高通量筛选、先导化合物发现及药物设计等技术领域已经具备国际先进水平的技术平台并均配备有先进的大型专业仪器设备及多个相应的国家和军队重点实验室或中心(参见工作基础部分)，在这些实验室和中心有多名特聘教授和国家杰出人才基金获得者

(参见研究队伍部分)。

- **在相关研究领域有良好的工作基础：**国内在基因功能研究等领域有很好的工作基础，国家自然科学基金和国家“863”和“973”还启动了基因组学和功能基因组学等一些列重大课题，发现了几个有重要功能的新基因，完成了有国际影响的 1%人类基因组测序，若干病原微生物的全基因组测序及水稻的基因草图。国内多家单位还大规模分析了胎肝、心肌、神经及肾上腺等人类代表性组织如的 cDNA 序列，获得了大量有价值的 EST 结构和功能信息。国家“973”在肿瘤、心血管、传染病、神经及衰老等重大疾病的发病机理研究方面启动的系列重大项目，也取得了诸多可喜的研究成果。在国家各类科研项目的资助下，已经建立了相当完善的生物信息学研究技术平台，并正在基因功能分析等领域发挥着重大作用。在首批启动的“973”项目“重大疾病药物先导化合物的发现”的推动下，我国药物研究综合水平有了很大的提高。研究和开发了若干有知识产权的药物设计软件并在国内外推广应用，建立了 2 个国家级药物高通量筛选中心或基地，通过上述技术平台应用发现了一些先导化合物。国内生物芯片技术日趋成熟，一系列用于表达谱分析、基因分型及药物筛选的基因和蛋白芯片已经开始投入使用。在国家自然科学基金、国家“863”等多年的资助下，发现了系列有抗肿瘤和抗病毒等生物活性的反义核酸，建立了比较成熟的用 RNAi 进行基因功能研究的技术平台。在遗传药理学领域也有多年的工作积累，取得了一系列有国际水平的研究成果，国家自然科学基金还启动了药物基因组学及病毒与宿主相互作用的重点项目。

综上，目前国内已经具备了开展以药靶发现为主的基因组药物学研究的资源、科研条件及工作基础。“万事具备，只欠东风”。在国家支持下，有效地组织国内的科研队伍，充分利用国内外生物信息资源及国内的科研基础和条件，短期内，在药靶的发现领域完全可以取得重大突破。

4. 项目的组织方式

本项目除要做到参加单位分工协作、优势互补；技术平台共用、科研资源共享；研究目标集中、长短结合及研究内容紧密衔接等组织形式外，还要采取以下几种组织管理方式：

- **课题对优秀人才开放：**考虑到本项目是所有“973”项目中涉及学科和技术范围最大的项目，有少数几个单位很难完成，但为了避免参加单位过多，在明确合作方式的基础上，加强与课题组核心单位以外的其它在学科、资源、技术及人才方面有优势的实验室协作，并吸收优秀人才以个人所在实验室身份加入到对口的课题承担单位负责或参加本课题研究，以保证科研队伍组成的最佳化。
- **研究课题滚动制：**课题实行 2+3 的滚动制，制订课题完成质量的定量考核

标准，半年和一年分别进行一次研究进度考核。完成不好的课题将减少科研经费，完成好的课题将增加科研经费。2 年完成不好的单位和个人承担的课题将被取消，重新吸收新的课题组进行本课题的研究或将经费集中到其它有望获得较大突破的课题。

- **引进企业风险投资，加速课题研究进度和成果产业化：**企业将成为未来创新药物研究和开发的主体，因此本项目将适时引进企业参与部分课题的延伸研究，加速成果转化，重点是靶标在药物筛选和临床合理用药中的应用这些市场前景明确、经济和社会效益显著的课题。
- **成立学术顾问委员会：**考虑到基因组药物学研究涉及到许多领域和学科的知识，为保证项目的顺利完成及与其它“973”项目的无缝衔接，项目将聘请国内外相关领域的著名专家，特别是“973”相关领域的首席科学家，担任本项目的学术顾问并成立相应的顾问委员会，监督本项目的实施，参与本项目的管理并提出合理化建议。

六、课题设置

围绕“基于生物信息的药靶高通量筛选及功能研究”这一主题，设置 7 个课题。

课题 1 从生物信息学途径探索和建立高通量筛选候选药靶的平台技术，并对整个项目数据进行整合和信息化管理，实现生物信息学与实验研究数据的互动分析，进而发现药靶发现的新理论、新算法，建立药靶发现知识系统，为其它课题提供生物信息学初筛和验证的潜在和候选药靶及相应的生物信息学分析平台。

课题 2-3 在课题 1 的基础上，建立基于实验的药靶高通量筛选和验证技术平台，为课题 5 提供候选药靶。

课题 4 在整体水平上进一步确证课题 2-3，7 提供的经过分子、细胞实验初步验证的候选药靶。同时为课题 5 提供候选药靶。

课题 5 利用课题 1-4 提供的候选药靶进行组合药靶的筛选和功能验证，获得抗肿瘤药物筛选的特异性和可药性组合药靶。

课题 6 探索抗肿瘤药物相关基因多态性对药物代谢、疗效和毒副作用的影响，为药靶在先导物发现、药物筛选、新药开发及临床个体给药中的应用提供科学依据。

课题 7 通过其它疾病治疗药物药靶的发现来进一步验证组合药靶发现策略和技术平台的可行性。

课题 1：药靶发现中的生物信息学研究和知识系统的建立

研究目标：为实验筛选和验证药靶提供潜在药靶，缩小研究范围，提供数据存取、信息处理和功能分析技术平台，总结并发现药靶生物信息学分析的新理论、新算法，在此基础上建立药靶发现的生物信息学知识系统。

研究内容:

- **药靶数据库的建立:** 在建立人类蛋白组实时注释及电子字典的基础上, 预测重要的药靶分子(如膜受体、酶、离子通道、核受体等), 并构建相应的数据库, 为实验研究提供靶标。
- **基因表达谱的生物信息学研究:** 提出用于肿瘤及感染性疾病相关基因芯片探针的设计方案, 对实验获得的基因表达谱及蛋白质谱数据进行疾病或药效的关联分析, 寻找潜在的药靶分子并在功能分析得基础上确定其作为药靶的可能性。
- **组合药靶发现的生物信息学研究:** 构建疾病相关核酸和/或蛋白相互作用网络系统, 提供寻找和验证药靶的新途径, 并为课题 4 “组合药靶” 的发现提供依据。
- **功能多态性发现和功能预测:** 性围绕肿瘤及感染性疾病调控网络基因的 SNP 进行动态关联分析; 对能够引起氨基酸变化的 SNP 探讨其可能导致的蛋白质的 3D 结构变化, 对与非编码区的 SNP 探讨其对基因表达调控的影响, 为课题 6 和课题 7 提供实验研究的新靶标和依据。
- 对重点靶标进行三维结构分析, 为基于结构的药物设计铺垫技术平台, 提供数据和可药性的线索。
- **药靶发现知识系统的建立:** 建立 LIMS 系统, 整合并管理实验及生物信息学数据, 实现生物信息学预测与实验结果的互动分析, 在此基础上总结并发现药靶研究的新理论、新算法并建立药靶发现知识系统。

承担单位:

负责人及科研骨干:

经费预算: 450 万

课题 2: 高通量药靶筛选及其相互作用技术体系的建立

研究目标: 建立基于生物芯片、酵母双杂交等药靶高通量筛选和验证的技术平台, 阐明分子间相互作用方式或信号传导途径。

研究内容:

- **基于生物芯片的肿瘤特异性药靶的筛选和验证:** 根据课题 1 所筛选的与肿瘤发生、发展及转移等环节相关基因的序列, 设计并合成出相应的基因探针, 制备成基因芯片。用该基因芯片分析人消化系统肿瘤组织 (已经具备系统的肿瘤组织资源) 的基因表达谱并同时分析其蛋白质表达谱, 将得到的表达谱与相应的参考组织比较, 通过聚类等生物信息学分析发现肿瘤组织特异性表达的基因或蛋白分子做为候选药靶。

- **基于酵母双杂交技术的药靶相互作用研究：**克隆和在酵母中表达 300-500 个课题 1 所提供的针对肿瘤等疾病的可能药物靶基因或结构域，基于酵母交配技术用酵母双杂交高通量研究候选药物靶蛋白或其结构域相互作用蛋白网络，获得与肿瘤相关的差异表达蛋白相互作用的图谱和功能线索。

承担单位：

负责人及科研骨干：

经费预算：400 万

课题 3：用化学基因组学方法高通量筛选药靶及其配基

研究目标：建立靶分子结构和细胞功能为基础的抗肿瘤药靶及其配基高通量筛选和验证的技术平台，发现和验证特异性及可药性抗肿瘤药物药靶。

研究内容：

- **药物分子设计为基础的药靶和配基筛选：**在建立并优化基于分子结构的药物虚拟筛选软件及算法的基础上，针对本项目所发现的消化系统抗肿瘤药物候选药靶，进行结构模型建立。应用高通量计算机虚拟方法发现配基，并进行组合化学合成。对合成的多样性配基依次在细胞和动物模型上进行活性评价，从而筛选出有功能的药靶并通过其它技术进一步验证其功能和可药性，从而获得可供抗肿瘤药物筛选的新药靶。
- **基于细胞功能的高通量配基和药靶筛选：**对具有结构多样性的化合物库（包括具有抗肿瘤活性的中药有效成分或其提取物，组合化合物库等）进行筛选，根据细胞功能的变化，发现具有抗肿瘤活性的化合物，在动物水平上进行验证，获得活性先导化合物。以该先导化合物为探针（配基），采用生物芯片和蛋白质组学等技术研究其对基因和蛋白表达谱的影响，通过生物信息学分析发现其作用的候选靶标。进一步通过反义核酸/RNAi 及基因敲除等技术对得到的候选靶标进行功能确证。

承担单位：

负责人及科研骨干：

经费预算：450 万

课题 4：用基因工程小鼠筛选和验证次级药靶

研究目标：以筛选和验证药靶的功能为目的，建立基因工程小鼠品系，深入分析药靶基因的功能，研究实验小鼠在候选药靶基因被改造和剔除后对相关药物的生理生化反应，下游信号传导系统是否激活及下游基因表达如何改变等，据此阐明药靶功能并发现新的次级药靶。

研究内容:

- 肿瘤血管生成相关次级药靶的筛选: 以 Angiopoetin1、Jagged1 和 P53 基因剔除小鼠为模型, 分析三种不同基因之间的协同功能, 比较突变型小鼠和野生型小鼠对不同致癌物 and 不同抑癌药物的反应性, 运用基因芯片比较突变型小鼠和野生型小鼠相关组织的基因表达差异, 寻找这些基因的下游调控因子作为潜在的抗肿瘤药物的次级靶标。
- 肿瘤血管生成相关次级药靶的验证: 进一步运用反义核酸/RNAi 及转基因/基因敲除技术或裸鼠接种肿瘤细胞模型分析次级靶标对血管生成的影响。

承担单位:

负责人科研骨干:

经费预算: 350 万

课题 5: “组合药靶”的高通量筛选及功能研究

研究目标: 建立基于反义核酸和 RNAi 技术的高通量寻靶技术平台, 进行“组合药靶”批量验证, 发现可用于特异性抗肿瘤药物筛选的“组合药靶”, 建立基于“组合药靶”策略的药靶发现技术和理论研究体系。

研究内容:

- **候选组合药靶的筛选:** 针对若干消化系统肿瘤, 基于课题 1—4 获得的与肿瘤发生、发展及转移等相关的基因, 通过计算机辅助结合正交设计等统计学方法进行实验设计, 应用反义核酸或 RNAi 技术结合基于细胞的高通量筛选, 验证候选靶基因和基因组合与肿瘤细胞增殖或凋亡的相关性, 并对其特异性进行分析, 发现特异性“组合药靶”。
- **组合药靶作用机理研究:** 采用生物芯片和蛋白质组学等技术分析上述“组合药靶”被抑制前后肿瘤细胞基因和蛋白质表达谱的变化及分子间相互作用模式, 揭示多靶标干预肿瘤细胞增殖的分子机理。
- **组合药靶特异性和可药性分析:** 在裸鼠原位或皮下移植瘤模型上验证“组合药靶”的抗肿瘤作用。通过上述研究探索基于“组合药靶”的特异性药靶发现策略并建立相应的技术体系, 为特异性抗肿瘤药物的研究提供科学依据。

承担单位:

负责人及科研骨干:

经费预算: 450 万

课题 6: “组合药靶”基因多态性分析及其功能研究

研究目标：以 2-3 种代表性肿瘤治疗药物（5-Fu，紫杉醇等）为例，系统研究与其相关的代谢酶、靶标及转运蛋白等基因多态性与药物代谢、疗效和毒副作用等差异的关系，确定基因多态性的功能，建立基于基因分型指导抗肿瘤药物临床个体化医疗的方案，为新药研发及合理用药提供理论依据。

研究内容：

- 针对 2-3 种代表性肿瘤治疗药物（5-Fu，紫杉醇等），结合生物信息学对现有相关资料的分析，通过大规模（2000-3000 份）基因筛查（采用 PCR-SSCP，大规模基因测序，基因芯片等技术），确定相关基因多态性在中国人群中的发生频率；
- 构建全长突变型基因克隆，并进行体外表达，研究基因多态性对相应蛋白质结构与功能的影响，确定其体外效应；
- 应用快速基因分型技术（AS-PCR，PCR-SSCP，基因芯片等技术），在大样本肿瘤患者中筛查突变型个体，研究基因多态性在体内对药物代谢、疗效及毒副作用等的影响，确定其体内效应；通过相关性分析，系统揭示以上药物相关基因多态性的功能，建立基于基因分型指导抗肿瘤药物临床个体化医疗的方案。

承担单位：

负责人及科研骨干：

经费预算：350 万

课题 7：用“组合药靶”的策略从宿主细胞中发现抗 HBV 药靶

研究目标：以 HBV 易感和细胞感染应答基因分析为切入点，建立病毒寻靶技术体系，从宿主细胞中寻找抗病毒药物作用靶标及组合靶标，阐明病毒感染的分子机理。

研究内容：

- 利用基因芯片技术和蛋白芯片技术研究乙型肝炎病毒感染细胞/组织前后细胞/组织基因表达谱和蛋白表达谱的变化，寻找在乙肝病毒感染过程中宿主细胞的主要应答基因和蛋白，结合课题 1 生物信息学研究，阐明宿主细胞在乙型肝炎病毒感染前后细胞调控网络的变化，并找出其中的关键分子。
- 对发现的 HBV 感染相关基因，采用大规模基因测序、分型和生物信息学方法，分析中国人群与乙肝病毒感染、发病有关联的候选基因多态性特点，分析其与乙型肝炎感染、发病、治疗和预后的关系，从而发现一批乙型肝炎易感或抗性基因，作为抗 HBV 治疗的候选药靶。
- 最后利用基因敲除，反义核酸和 RNAi 等技术验证以上重要分子的功能，寻找可能的药靶及“组合药靶”。

承担单位：
科研骨干：
经费预算：350 万

七、现有工作基础和条件

是由九个研究所组成的综合性医药学科研单位。学科建设系统配套、交叉融汇。在军事医学、药学和生物高技术等生命科学领域具有较强的综合研究能力和完成重大科研项目的能力。承担并完成了大量的国家等各类科研项目，目前已经获得国家各类新药证书 82 个，其中一类新药证书 17 个，是国家创新药物研究的最重要基地之一。

生物芯片：在国家自然科学基金、国家 863 目前正在深圳建立起我国第一个符合 GMP 标准的芯片产业化车间。

反义核酸技术及 RNAi 技术：在国家 863、国家自然科学基金等科研项目的资助下，10 年来，系统地开展了反义寡核苷酸合成、修饰及抗病毒和抗肿瘤研究。研制的几种有较好抗病毒和抗肿瘤活性反义寡核苷酸已逐渐进入临床前研究阶段。上述研究发表论文 100 多篇，申请专利 10 多项，获得 3 项科研成果。配备有国内最完善和国际先进的反义核酸和 RNAi 合成及纯化等仪器设备。

生物信息学：在生物信息学领域有 20 多年的研究历史，积累了深厚的工作基础，是国内最早引进，

蛋白质组学研究：已建立蛋白质组分析相关技术体系和微量蛋白质分离、分析与鉴定的配套技术体系：采用以高效液相色谱(HPLC)、高效毛细管电泳(HPCE)为代表的现代分离技术，以及氨基酸组成分析、蛋白质序列测定以及傅立叶红外等相结合的方法，先后建立了一套包括纯度、分子量、N-端序列、C-端序列、肽段全序列、二硫键、氨基酸组成、翻译后修饰、蛋白酶解与肽谱以及蛋白质二级结构测定的系统的蛋白质分离分析与鉴定的技术方法。

信息中心已经个科研组都属于蛋白质工程和植物基因工程国家重点实验室，因而可以共享该室的全部设备条件。

国家重点实验室在蛋白质设计及药物分子设计方面有长期的工作基础。

是直属国家教育部的重点综合性大学，1994 年被首批列入国家“211 工程”。1999 年被列为创建“世界高水平大学”的若干所高校之一。在生命科学领域,有生命科学院, 医药生物技术国家重点实验室, 分子医学研究所, 和模式动物遗传研究中心等研究机构,生物化学及分子生物学、植物学等是国家重点学科, 在基因的结构和功能研究、遗传工程小鼠等领域有雄厚的研究基础和实力。自 1996 年至 2001 年, 承担了生命科学领域国家级重大科研项目 120 余项, 其中, 主持国家科技部重点攻关项目 1 项、参与 2 项, 主持国家 863 高技术发展计划项目 5 项, 国家攀登计划项目 3 项, 国家杰出青年科学基金 5 项, 参与 973 计划项目 2 项。近 3 年内共发表论文 300 余篇。2000 年“ ”获国家自然科学二等奖。参加本申请的学科带头人

生物信息学和基因表达差异分析: 在运用计算机模拟进行蛋白质结构功能分析、蛋白质工程分子设计改造、药物结构设计改造、生物调控序列信息特征及进行新基因预测、建立基因转录的协同调控模型等生物学领域有良好的工作基础, 获得了包括国家 863(2 项)、攀登计划(1 项)、国家自然科学基金(6 项)在内的多项基金的支持, 获得专利 5 项, 发表 100 余篇相关论文, 其中大多数为 SCI 论文。在基因表达差异分析方面, 已建立了成熟的 mRNA 差异显示(mRNA differential display, DD)、抑制消减杂交(suppression subtractive hybridization, SSH)、基因表达连续分析(serial analysis of gene expression, SAGE)、DNA 芯片(DNA chip/DNA microarray)等方法, 同时建立了激光显微切割(laser microdissection, LMD)技术结合的基因表达谱分析技术。LMD 是目前最先进的从样本组织中高纯度地分离特定细胞的方法。该技术平台的建立, 可以解决研究对象由于组织结构的异质性造成的样本组织和对照组织来源的极大差异的问题, 有助于开展对特殊样品的特定细胞的基因表达谱的分析, 对筛选和克隆重大疾病早期诊断标志基因及致病基因有极大的促进作用已获得了包括国家 863(1 项)、国家自然科学基金“三药”重点项目(1 项)在内的多项基金的支持。

: 2001 年, 联合.....大学承担了总投资为 5000 万元的国家“十五”科技攻关重点项目“.....的建立”。新近成立的模式动物遗传研究中心占地 100 亩, 实验楼和动物房面积共 7300 平方米, 现有科研人员全职教授 4 人, 副教授 3 人, 非全职教授 4 人(均在美国拥有独立实验室, 助理教授以上职称), 所有学科带头人均有博士学位(其中 8 位获美、日等外国博士学位), 管理人员 3 人(副教授 1 人, 高工 1 人)。中心现有遗传学、发育生物学、肿瘤生物学、分子心血管学、和代谢疾病等多个研究方向, 已经建立了功能基因组研究相关的主要技术平台, 中心自 2001 年底建立以来, 已自主建立了 3 种转基因小鼠, 发表 SCI 论文 3 篇, 已取得了丰硕的研究成果。

研究所药物筛选中心长期从事药物筛选和新药开发研究,并在国内率先开展高通量药物筛选,建立了比较完整的药物筛选技术体系。在开展高通量药物筛选过程中,建立了一批适合分子、细胞水平 HTS 的筛选模型以及大量组织器官水平和整体动物模型,应用多种技术方法建立具有特定功能的细胞系筛选模型,积累了各种病理细胞,转基因细胞以及生理性细胞 40 余种,涉及人类多种疾病如:各种肿瘤,精神神经系统疾病,心脑血管系统疾病,血液系统疾病,免疫系统疾病,代谢性疾病,生殖和消化系统疾病等。积累了较丰富的建立分子、细胞水平 HTS 筛选模型的经验。该中心有一套实验室自动化工作站(Biomeck 2000, BECKMAN)、微板液闪发光计数仪(TopCount NXT, PACKARD)、Biomek Plate Reader (微板比色计)、BECKMAN Biomek SL Incubator (微板孵育器)、多功能微板光学检测仪(可见光、紫外、荧光)、PolarSTAR galaxy, BMG。

研究所是国内研究工作基础最好的遗传药理学研究单位之一,有 18 年的遗传药理学研究历史,对药物代谢和效应种族差异、遗传多态性等方面进行了系统、深入的研究。研究工作一直处于该领域的世界先进水平,在国际和国内发表有关遗传药理学和药物基因组学方面 SCI 收录论文 60 余篇,被引用 600 余次。有很好的生物标本,药物及其代谢产物的检测技术。有长期应用肝脏微粒体标本进行酶促动力学实验的经验。与多家医院建立了临床合作关系,为收集病人资料提供了基础。

大学是全国 211 工程重点建设大学。生命科学学院有蛋白质化学与发育生物学 2 个 211 工程重点建设学科,1 个教育部重点实验室和 2 个湖南省重点实验室。目前承担有国家 973 项目 2 项,国家 863 项目 4 项,九五重点攻关项目 1 项,国家杰出青年基金 2 项,国家自然科学基金重大项目 1 项,重点项目 2 项,面上项目 15 项,国家计委科技推广项目 1 项,省计委推广项目 1 项,省、部级重点项目 40 项,在研课题达 100 余项。其中国家与部级课题经费 2241 万元,省级课题经费 3276 万元,横向课题经费达 538 万元。自 1995 年以来,我院(所)获得国家级及省部级各种科研成果奖 32 项,其中一些项目达到国际先进水平并产生了巨大的社会与经济效益。发表各类论文近 800 篇,其中 SCI 收录 250 余篇。出版著作 20 余部。

取得了很好的结果。目前正在利用该技术与转基因动物相结合来鉴定人类基因的功能。目前该研究方向已获得国家自然科学基金杰出青年基金 2 项，面上项目 4 项，湖南省基金 8 项，总的在研经费近 2000 万元。曾以第一作者的身份在《Science》、《Nature》发表 5 篇论文，以及在国外 SCI 杂志发表 140 余篇论文，SCI 总引用达 1800 余次。出版专著 8 部，已申请了 2 个人类新基因的专利。

国家重点实验室长期从事病毒分子生物学和病毒基因工程的应用基础研究和应用研究，主要包括研制防治我国严重病毒病和病毒相关恶性肿瘤的新型生物技术药物和疫苗的研究，与我国严重疾病相关的重要动物病毒基因组和蛋白质的结构和功能研究以及重要病毒和相关生命体的基因组工程和基因表达研究。对病毒的致病机制研究及药物研究积累了丰富的经验，并拥有先进技术平台。曾多次承担国家 863，国家科技攻关计划，国家 973 等各种国家级研究课题 50 多项；获部级以上奖励 30 多项，其中国家科技进步一，二等奖 7 项，国家发明三等奖一项，国家自然科学四等奖一项，卫生部科技进步一等奖 10 项。建成了多民族人群的 DNA 样品库；已建成基于大规模测序的发掘未知 SNP 的技术平台；基于 TaqMan 技术、多重引物延伸(SBE)技术和 RFLP 技术的大规模 SNP 分型的技术平台；已在 32 个中国人群个体中完成了 15 个基因(包括药物代谢酶,药物转运载体和药物作用靶标)的 SNP 发掘工作，共发现 160 余个 SNPs。继而构建了每个基因的单倍型，并确立了 SNP 间的连锁不平衡模式，为今后的人群试验和功能研究奠定了基础。同时，在内部网上已建成 SNP 及其单倍型数据库。

由国家科技部批准，中心已经取得了骄人的成绩：中心在涉及核酸、蛋白的分子生物学、生物信息学、基因工程、细胞生物学等常规、新型技术方面，拥有配套的仪器设备和较为完整的学术、技术研究系统。拥有高效内联网、SGI 工作站、SUN 工作站、Linux 服务器及 60 余台品牌机。

.....

中心拥有高性能的生物信息学平台和国际一流水平的高性能计算环境，包括 2 台每秒超千亿次的曙光 3000 超级计算机，SUNT10 超级计算机，曙光 2000，50 个 CPU 的 PC 集群，100—1000 兆光纤出口，以及适时更新的比较基因组国际数据库，从 DNA 测序组装、基因预测分析到蛋白质组学研究相关的十几类数据库和相应的软件系统；蛋白质组学技术平台高通量的 2-D 电泳系统和高效率的毛细管高效液相系统，MALDI—TOP、Autoflex、1100 Series LC/MSD Trap 和

Ion-Trap ESP 高效的质谱分析能力和强大数据库比对搜索能力和计算能力。目前所承担的项目中包括 863 项目——我国常见恶性肿瘤蛋白表达谱及标志蛋白的鉴定, 信息学方法在高通量药物筛选体系建立中的应用, 大规模基因组生物信息学系统的建立; 北京市科技项目——胃癌蛋白质组学研究和基于 HGP 的生物信息学研究/药物设计导向的基因组生物信息数据分析平台的建设等, 都已经取得阶段性成果。

八、研究队伍

1. 建议首席科学家介绍

研究员, 博士, 研究室主任; 博士生导师。中心副主任; 主持或完成国家级课题 8 项, 包括: 国家自然科学基金重点课题 1 项、国家自然科学基金面上项目 3 项、国家 863 项目 3 项及国家科研条件基金 1 项。承担或完成 3 项, 包括:

主要科技成绩:

完成的科研项目

- (1) 国家自然科学基金面上项目负责。
- (2) 科委项目负责。
- (3) 创新课题基金重点项目, 负责。
- (4) “九五”重点项目负责。
- (5) 杰出人才基金项目, 负责。
- (6) 国家“863”项目负责。
- (7) 国家“863”项目负责。
- (8) 国家自然科学基金重点项, 负责。
- (9) 国家自然科学基金面上项目负责。

正在进行的项目

- (1) 国家自然科学基金面上项目负责。
- (2) 国家“863”项目, 负责。
- (3) “十五”重点项目负责。
- (4) 科委项目负责。
- (5) 负责企业资助项目 3 项:

专利:

专 著:

注: 另有参编专著 7 部

代表性论著:

: 男, 37 岁, 博士, 教授。

主要成绩:

承担的科研课题 (2001 年至今,):

1. 863 项目, 国家生物信息学基地建设,
2. 委项目
3. 863 项目, 结构基因组学,

科研和工作经历:

奖励和奖学金

专利:

代表性论著:

2. 课题负责人与科研骨干介绍

: 男, 39 岁, 博士, 教授, 博士生导师, 教育部长江奖励计划特聘教授, **代表性论著:**

: 男, 50 岁, 博士生导师, 教育部长江奖励计划特聘教授, **重要成绩:**

1. 代表性论著:

: 教授, 博士, 教育部长江奖励计划特聘教授, 家 863 计划先进个人等。

承担课题:

代表性论著:

: 43 岁, 博士,

代表性论著:

: 19 教授, 美国威斯康新医学院助理教授;

代表性论著:

刘明耀: 男, 40 岁, 教授,

代表性论著:

: 男, 1998.4-今, 副教授,

代表性论著:

(教授), 博士中心主任,

代表性论著:

: 博士, 华大基因研究中心研究员,

代表性论著:

: 男, 39 岁, 医学硕士, 研究员, 博士生导师, 研究室主任

代表性论著:

: 男, 55 岁, 教授。

代表性论著:

: 男, 岁, 博士, 等专著。

代表性论著:

: 男, 40 岁, 医学博士,

代表性论著:

代表性论著:

叶棋浓: 男, 博士,

代表性论著:

: 男, 岁, 理学博士,

代表性论著:

九、经费预算(万元)

科研人员津贴: 200.0

仪器设备费: 250.0

国际合作与学术交流费: 50.00

其他科研费用: 2100

专家委活动费: 60.00

管理费: 140.0

合 计: 2800