

· 教学研究 ·

本草基因组学的学科建设现状与展望

张雪琼¹, 徐宏喜², 刘义飞³, 胡志刚^{3*}, 刘霞^{1*}

(1. 武汉理工大学 化学化工与生命科学学院, 武汉 430070;

2. 上海中医药大学 中药学院, 上海 201203; 3. 湖北中医药大学 药学院, 武汉 430065)

[摘要] 本草基因组学是中医学与基因组学的交叉学科,是涵盖药用生物多组学研究和中药与人体相互多组学研究的综合性学科。在药用模式生物、中药合成生物学、中药分子鉴定和药用植物分子育种、药物体内过程组学、中药道地性和药性研究等领域得到了广泛应用,取得了一批标志性成果。随着《中华人民共和国中医药法》《中医药发展战略规划纲要(2016—2030年)》等重要文件的发布,中医药产业进入了全新的、高水平的发展机遇期,复合创新型研究人才的培养是中医药产业发展及医药专业高校教学改革面临的关键问题,该学科的建立对于中医药现代化发展尤为重要,已有多所高等院校开设《本草基因组学》课程,初步形成了特色鲜明的本草基因组学人才培养体系。该文从本草基因组学研究进展、教学开展情况、教材编写背景、主要内容及关键技术、学科特色、学科建设展望方面进行阐述,为本草基因组学的学科建设、人才培养和科学研究提供理论依据和方法学支撑。

[关键词] 本草基因组学; 基因组学; 学科建设; DNA条形码; 关键技术; 分子辅助育种; 全产业链

[中图分类号] R22;R9;R28;G353.11;Q493 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)11-0180-10

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20190746

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20181211.1521.001.html>

[网络出版时间] 2018-12-08 13:22

Current Status and Prospect of Discipline Construction of Herbgonomics

ZHANG Xue-qiong¹, XU Hong-xi², LIU Yi-fei³, HU Zhi-gang^{3*}, LIU Xia^{1*}

(1. School of Chemistry, Chemical Engineering and Life Sciences, Wuhan University of Technology, Wuhan 430070, China;

2. School of Pharmacy, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China;

3. School of Pharmacy, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China)

[Abstract] Herbgonomics is an interdisciplinary subject between traditional Chinese medicine (TCM) and genomics. It is a comprehensive discipline covering multi-omics research in both medicinal organisms of TCM and the relationship of TCM to human body. It has been widely used in the research fields of medicinal model organisms, synthetic biology of TCM, identification of TCM molecules and breeding of medicinal plant cultivars, pharmacokinetics, and the study on the geoherbalism and medicinal of TCM. With the release of important documents, such as the *Law of the People's Republic of China on TCM* and the *Outline of TCM Development Strategy (2016—2030)*, the Chinese medicine industry has entered a new and high-level development opportunity and the herbgonomic research area has got a landmark achievement. The training of well-rounded students and researchers is a key point for the development of TCM industry and the reform of medical colleges and universities. Therefore,

[收稿日期] 20181203(045)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81130069);武汉理工大学专业学位研究生团队指导项目(201701);2018年湖北省高等学校省级教学研究项目(120);武汉理工大学2019年研究生公共实验课程建设项目(6);上海中医药大学第四期通识教育课程建设项目——本草基因组学

[第一作者] 张雪琼,副教授,从事中药学研究,E-mail:zhangxq@whut.edu.cn

[通信作者] *刘霞,副教授,从事中药资源学研究,E-mail:lr1125@126.com;

*胡志刚,副教授,从事中药资源学研究,E-mail:zghu0608@163.com

the establishment of herbgenomics is particularly important for the modernization of TCM. At present, many colleges and universities have set up the course of *Herbgenomics* among graduate students and undergraduates, and initially formed a distinctive herbal genomics talent training system. This paper introduces the herbgenomics from the progress of the research, the development of teaching courses, the background of the textbook, the main content and key technologies of the discipline and the prospect of discipline construction, in order to provide theoretical basis and methodological support for the discipline construction, personal training and scientific research of herbgenomics.

[Key words] herbgenomics; genomics; discipline construction; DNA barcoding; key technologies; molecular assisted breeding; whole industrial chain

1 本草基因组学的研究进展

本草基因组学是中药学与基因组学的交叉学科,从基因组水平研究中药及其对人体作用的一门前沿学科,利用组学技术研究中药基原物种的遗传信息及其调控网络,阐明中药防治人类疾病的分子机制^[1-2],为保障人民健康提供理论依据和技术支撑。2016 年科学出版社出版了陈士林研究员主编的专著——《本草基因组学——中药组学的发展与未来》^[3],2018 年科学出版社发行了普通高等教育“十三五”规划教材——《本草基因组学》^[4],2018 年《中国科学:生命科学》组织发表了本草基因组学专辑^[5],集中展示了本草基因组学研究的最新进展,已有多所高等院校在研究生和本科生中开设《本草基因组学》课程,初步形成了特色鲜明的本草基因组学人才培养体系。

中草药在我国的使用历史超过了 5 000 年,为人类的健康作出了巨大贡献^[6],随着中医药在世界范围内的影响力日益提升,对中药的需求量随之增加,研究技术也亟需提高。人类基因组计划的完成,为基因组学研究揭开新的一页^[7-8]。本草基因组学的学科概念最早由陈士林团队于 2009 年提出^[9],是运用生命科学领域前沿技术对中药进行研究的交叉学科。经过近十年的快速发展,通过不断夯实研究基础、持续吸收和丰富研究内容,成为涵盖中药多组学研究的综合性学科。

1.1 中草药全基因组解析研究 2012 年,CHEN 等^[10]完成了药用模式真菌灵芝的基因组解析,这是本草基因组学研究的第一项重大突破。近几年来,人参^[11]、三七^[12]、丹参^[13-14]、铁皮石斛^[15]、青蒿^[16]、菊花^[17]、卷柏^[18]、穿心莲^[19]、赤芝^[10]、紫芝^[20]、天麻^[21]、长春花^[22]等重要药用植物基因组的测序工作相继完成;基于本草基因组学的中药合成生物学研究取得显著成效,包括通过全长转录组分析获得基因元件^[14,23]、中药活性成分丹参素^[24]、基于组学

的丹参酮生物合成新基因 *SmCYP71D375* 克隆和功能研究^[25]、灯盏花素合成生物学^[26]体系成功构建。通过组学技术阐明遗传信息、鉴定基因功能、揭示药理作用机制。

1.2 首创中草药 DNA 条形码鉴定技术体系,解决物种真伪鉴定难题 通过对 1 万余种中药材及其混伪品的 48 万余份样品进行 DNA 条形码研究,提出以核糖体 DNA 第二内转录间隔区 (ITS2) 序列作为中草药通用 DNA 条形码,为中药鉴定学开启了新的方法学领域。该体系已成功应用于冬虫夏草^[27]、藏红花^[28]、肉苁蓉^[29]、人参^[30]等贵重中药材,苍耳子^[31]、何首乌^[32]、苦杏仁^[33]、天南星^[34]、半夏^[35]、白头翁^[36-37]等有毒类中药材,麦冬^[38]、川贝母^[39]、昭通天麻^[40]等道地药材,鸡骨草^[41]、鸡蛋花^[42]等民间中药材,藏族药独一味^[43]、沙棘^[44]、臭蒿^[45]、蒂达^[46]、榜嘎^[47]、壮族药金花茶、铁包金^[48]、维吾尔族药克孜力乔古鲁克^[49]、药西瓜^[50]、香青兰^[51]、苗药金铁锁^[52]、一枝黄花^[53]、艾纳香^[54]等其他少数民族中药材的鉴定中。并在中成药 DNA 条形码研究上取得突破,完成蛇胆川贝胶囊^[55]、蛇胆川贝散^[55]、如意金黄散^[56]等中成药组分的基原物种进行 DNA 序列信息分析。

出版了专著《中国药典中药材 DNA 条形码标准序列》^[57]和《中药 DNA 条形码分子鉴定》^[58],该方法被纳入《中国药典》2010 年版第三增补本^[59]和 2015 年版^[60],并建立了包含 100 多万条 DNA 序列的鉴定数据库及网站。该技术已在药品检验、海关检疫、企业制药等领域被广泛推广与应用,对中药材原料进行真伪鉴定,以保障用药安全。另外,《英国药典》委员会也将草药 DNA 鉴定纳入了《英国药典》^[61]。

1.3 进行中草药成分的化学和生物学解析、分子辅助育种研究

1.3.1 完成丹参基因组解析,研究丹参活性物质生源合成机制 通过基因组解析证实柯巴基焦磷酸合

酶/细胞色素 P450 (CPS/CYPs) (CPS/CYPs) 簇状排列参与了丹参酮的生物合成^[13]。基于丹参的基因组及转录组数据,克隆得到一个新的 CYP450 氧化酶编码基因,命名为 *SmCYP71D375*,全长 1 515 bp,编码 504 个氨基酸,实验证实其在丹参体内催化丹参酮的生物合成^[25]。对灵芝的基因组进行测序,为灵芝功能基因组研究和灵芝三萜等次生代谢产物合成及调控研究奠定了基础。构建了紫芝的 12 条染色体,从组学角度揭示了灵芝中的防御机制。证实灵芝属次生代谢产物的合成由遗传学和表观遗传学机制调控^[10,20]。通过对紫芝基因组数据的挖掘发现 2 个倍半萜合酶基因,利用逆转录-聚合酶链式反应 (RT-PCR) 扩增技术从紫芝菌丝体总 RNA 中扩增出两者的全长 cDNA 序列,并进行功能验证,为揭示真菌倍半萜合酶结构与功能的相关性及其产物多样性形成机制奠定了基础^[62]。以成熟菘蓝叶片为研究对象,对茉莉酸甲酯诱导的叶片进行转录组分析,分别获得了色氨酸代谢途径中色氨酸、吲哚乙酸、吲哚昔和萜类吲哚生物碱合成几个代谢支路中 16 个催化步骤的 38 个编码基因,通过共表达网络分析,预测转录因子 bHLH125 可能对吲哚途径具有核心调控作用,初步探讨了大青叶中吲哚类化合物的合成途径^[63]。

1.3.2 中草药分子辅助育种实现突破 Graham 等^[64]通过对黄花蒿转录组进行深度测序,发掘可用于快速育种的分子标记,构建高密度遗传图谱。SHEN 等^[16]成功培育出高产青蒿素的代谢工程青蒿新品种。董林林等^[65-67]采用简化基因组测序技术结合 PCR 验证选育得到首个三七抗病新品种——“苗乡抗七 1 号”。陈尘等^[68]通过实验证实丹参 *COI1* 基因在丹参中发挥调节抗性和次生代谢产物合成的功能,为丹参基因组辅助育种奠定了基础。

1.4 本草基因组学指导下的中药资源全产业链研究 随着本草基因组学学科的发展以及研究技术方法的成熟和整合,未来本草基因组学定会在中药资源保护、评价、发掘、利用等全产业链研究和应用中发挥重要的作用,促进资源 (resource)-研究 (research)-产品研发应用 (resolution) 3R 研究模式的形成。以药用菊花的研究为例,中国中医科学院中药研究所、湖北中医药大学等单位组成的联合研究团队完成了首个菊花的参考基因组^[17]。在此基础上,将开展广泛的资源收集,利用本草基因组学学科相关居群遗传和系统发育基因组学的方法形成有

效的资源评价和核心种质资源库构建,开展关键药用成分代谢途径的挖掘与利用,通过基因编辑技术形成大规模突变体库,促进新品种培育和新天然产物利用。而其他代表性药用品种,如人参^[69-70]、三七^[65-66]等也正在形成从源头资源到下游产品的全产业链研究和研发体系,这些都将促进中药现代化的发展。

1.5 阐明中药体内药效作用机制 中药化学成分与肠道微环境的相互作用是中药发挥疗效的一个关键环节,其相互作用研究也逐渐深入到基因水平,为中药作用机制的研究提供了新思路和新靶标^[71-72]。杜润超等^[73]研究发现大花红景天的小 RNA 和 HJT-sRNA-m7,可显著降低肺纤维化因子的表达,在细胞和动物水平上均可改善肺纤维化症状,从组学角度探究其发挥作用的机制,与杨洁^[74]通过临床研究发现大株红景天注射液可以改善肺纤维化患者症状的研究结果相一致。中药代谢组学是本草基因组学的重要组成部分,是研究中药及民族药作用机理的重要手段^[75-78]。李光等^[79]采用代谢组学手段分析傣药肾茶对于健康动物基础代谢水平的影响,该研究较为全面地阐明了肾茶对代谢的调节作用,为其他“雅解”类品种的开发提供了参考。

2 《本草基因组学》教学开展情况

本草基因组学研究成果的不断涌现,学科的快速发展,专著和教材的出版,得到相关学术界和高等院校的广泛关注,已被北京协和医学院、上海中医药大学、武汉理工大学、天津中医药大学、吉林农业大学、湖北中医药大学、成都中医药大学、云南中医学院、武汉轻工大学、鲁东大学等一批高等院校列为研究生或本科生课程,开课院校涉及综合性大学、中医药院校、科研院所等,学生们选课踊跃,对课程评价很高,见表 1。

经过多年的探索和实践,逐步完善了课程体系和教学大纲,在课程教学形式上,打破了传统教学模式,授课方式主要分为基础理论课、实验课、讨论课等。基础理论课包括结构基因组学、功能基因组学、表观遗传学、比较基因组学、非编码 RNA 研究与应用等,讨论课采用翻转课堂形式教学,围绕药用植物基因组学研究策略和技术在天然药物研究中的应用开展,实验课采用二代/三代测序技术讲解及上机演示。通过本课程的学习,提高了学生项目设计与实施能力,培养了学生独立学习、归纳总结的能力,多名学生被评为优秀毕业生,并发表了高水平论文,授权专利多项,真正起到了教学相长的作用。下一步

表 1 部分高校开设本草基因组学的情况

Table 1 Herbgenomics courses in some colleges and universities

学校	开课对象	学时数 / 个	授课方式
北京协和医学院	博士生、硕士生	40	理论课 + 实验课 + 讨论课
武汉理工大学	硕士生、本科生	36, 32	理论课 + 实验课 + 讨论课
上海中医药大学	硕士生	28	理论课 + 实验课 + 讨论课
天津中医药大学	博士生、硕士生	36	专题讲座 + 大学生作业报告 + 实验课
成都中医药大学	博士生、硕士生	54	理论课 + 讨论课
浙江中医药大学	硕士生、本科生	34	专题讲座 + 理论课 + 实验课
吉林农业大学	本科生	16	理论讲授
湖北中医药大学	博士生、硕士生	18	理论课 + 讨论课
云南中医药大学	硕士生	16	理论课
海南医学院	硕士生、本科生	18	理论课
武汉轻工大学	硕士生	32	理论课 + 讨论课
鲁东大学	硕士生	36	理论课 + 讨论课

将开展好课程教学改革和研究工作,如 PBL 教学法 (problem-based learning)^[80],启发式和参与式教学^[81],开放性实验教学^[82],申请中国大学 MOOC (慕课)^[83-84]建设,打破时间和空间的隔阂,让更多的学生能够学习前沿生命科学技术在药用植物和中药领域的应用。

3 《本草基因组学》教材编写背景

3.1 社会背景 随着现代科学技术的发展,中药现代化发展取得了许多突出成就,屠呦呦研究员团队从黄花蒿中分离纯化出具有良好抗疟疾活性的青蒿素,获得 2015 年诺贝尔生理学或医学奖,成为中药现代化进程中的里程碑性事件;人类基因组计划^[7-8]的提出和完成,对人类疾病的认识和治疗开启了全新的篇章,中药学研究也逐渐深入到基因组水平,本草基因组学应运而生。

3.2 行业背景 第 1 个物种的基因组测序由 Sanger 等^[85]于 1977 年完成,大小为 5 836 bp 的噬菌体 ϕ X174 基因组;此后美国科学家于 1985 年提出了人类基因组计划^[7-8],实施时间为 1990—2000 年,由中国、美国、日本、英国、法国、德国 6 个国家共同参与,破译了人类遗传信息。此后,药用植物的基因组学研究成为热点,拟南芥 *Arabidopsis thaliana* 作为第 1 个植物全基因组测序,于 2000 年发表^[86]。杨俏俏等^[87]检索 2000—2016 年 SCIE 数据库本草基因组学的国际研究论文共计 3 208 篇,排名前三

位的为中国、印度、美国,所占比例分别为 29.3%, 19.2% 和 10.8%,在此领域内,我国起到了领军作用。

3.3 学科背景 教材是教学活动所依据的核心资料。本课程开设之初,没有统一的规划教材,授课教师以《中国药典中药材 DNA 条形码标准序列》^[57]和《中药 DNA 条形码分子鉴定》^[58]为基础,开展自编教材的探索工作,并通过最新科研成果进行有益的补充。在《本草基因组学——中药组学的发展与未来》^[3]专著的基础上,通过广泛听取专家和读者的建议,按照教材的要求进行了编撰,于 2018 年 8 月出版了由陈士林教授主编、周宏灏院士主审的普通高等教育“十三五”规划教材、全国高等医药院校规划教材《本草基因组学》^[4]。该教材对最新发表的研究案例和前沿动态进行了跟进,加强了概念性和理论性的介绍,更全面、更完整地阐释了本草基因组学的产生、发展和应用前景,为本课程的进一步发展奠定了基础。

4 《本草基因组学》的主要内容及关键技术

4.1 主要内容 《本草基因组学》教材第一章至第十章为基础篇,包括绪论,结构基因组学(药用生物核基因组、药用生物细胞器基因组),功能基因组学(药用生物转录组研究、药用生物蛋白质组研究、药用植物代谢组研究、天然产物生物合成途径解析),表观基因组学和宏基因组学,论述了本草基因组学的核心研究内容;第十一章至第十七章为应用篇,包括药用模式生物研究、中药合成生物学研究、药用植物分子育种研究、中药分子鉴定、中药体内过程组学研究、本草基因组学关键实验技术和生物信息学及数据库,重点论述了本草基因组学的主要应用,最新发表的研究案例和前沿动态,介绍本草基因组研究的关键实验技术、生物信息学方法及可查询的相关数据库,实用性很强,见图 1。

4.2 关键技术

4.2.1 结构基因组学的关键技术 包括高通量测序技术、遗传图谱构建技术和物理图谱。

高通量测序技术包括 3 项:① Illumina 测序技术。这是目前应用最广的二代测序技术。其测序原理是边合成边测序,其独到之处是桥式扩增形成 DNA 分子簇的技术。测序原理可分为建立测序文库、桥式扩增测序文库、测序共三步,最近推出的 NovaSeq 系列测序平台,可在 2 d 内产生 200 亿条 reads,总数量高达 6 Tb。已被广泛用于全基因组测序、靶向测序、转录组测序、甲基化分析、基因表达谱

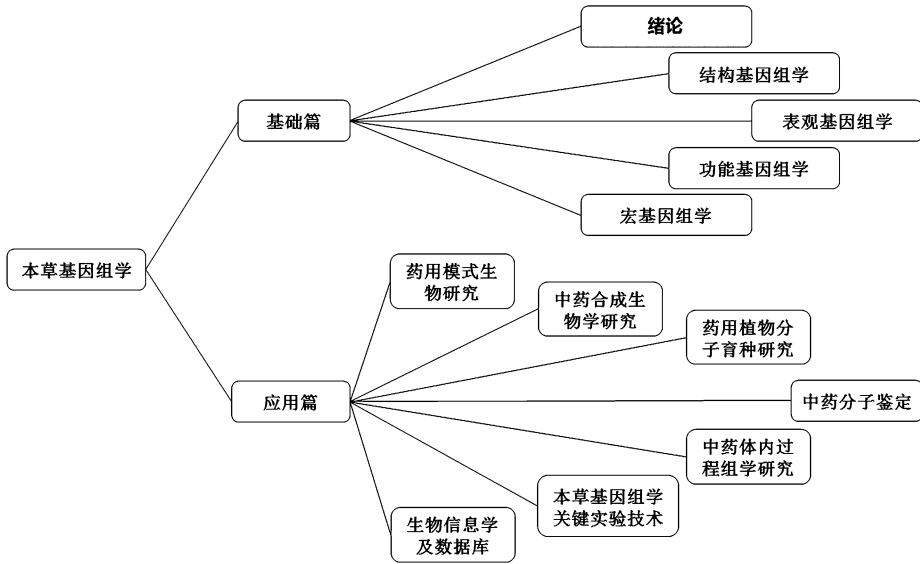


图 1 《本草基因组学》学科研究的主要内容
Fig.1 Main research content of Herbenomics

和染色质免疫共沉淀测序 (ChIP-Seq) 等领域。② PacBio 测序技术。美国 PacBio 公司于 2011 年推出第三代测序仪 PacBio RS, 升级为 Sequel II 平台, 有着更快的速度和读长。其原理是单分子实时测序 (SMRT sequencing), 当 DNA 与聚合酶形成的复合物被零模波导孔 (ZMW) 捕获后, 4 种不同荧光标记的 dNTP 通过布朗运动随机进入检测区域并与聚合酶结合, 与模板匹配的碱基生成化学键的时间远远长于其他碱基停留的时间。通过统计 4 种荧光信号与时间的关系图, 即可测定 DNA 模板序列。但该技术测序准确率偏低, 需要通过增加测序覆盖度或利用第二代数据进行校正以提高数据准确性。③ Nanopore 测序技术。英国 Oxford Nanopore 公司推出了基因纳米孔测序技术的第三代测序仪, 其原理是在充满了电解液的纳米级小孔两端加上一定电压 (100 ~ 120 mV), 测量通过此纳米孔的电流强度。纳米孔的大小只能允许 1 个核苷酸分子通过。在核苷酸通过时, 纳米孔被核苷酸阻断, 导致电流强度减弱。4 种核苷酸由于分子结构的差异, 导致电流减弱程度也有差异。长链 DNA 或 RNA 分子在电场作用下核苷酸顺序通过纳米孔, 通过记录电流强度变化, 从而实现序列读取。Nanopore 测序仪与 PacBio 测序仪相比, 具有很大的改进空间。

遗传图谱构建技术包括 3 项: ①作图群体的构建技术。遗传图谱构建的遗传材料是以分离群体为作图群体。按其遗传稳定性可分为两大类。一是非永久性的分离群体, 如 F2, F3, BC1 和三交群体等。

该类群体易于在短期内构建具充足大小的作图群体, 但群体材料无法永久保存。二是永久性作图群体, 如双单倍体 DH 群体、重组自交系 RIL 群体及近等基因系 NIL 群体。②遗传标记的选择。包括形态学标记、细胞学标记、生物化学标记和 DNA 分子标记。DNA 分子标记稳定性较好, 也最为常用, 可分为三大类, 分别为以酶切或分子杂交为核心的分子标记, 包括限制性内切酶片段长度多态性 (RFLP) 序列, 扩增片段长度多态性 (AFLP) 序列, 酶切扩增多态性序列 (CAPS) 等; 基于 PCR 反应的分子标记, 如随机扩增多态性 DNA (RAPD) 标记, 特定序列扩增 (SCAR), 简单重复序列 (SSR) 和简单重复序列间 (ISSR) 扩增等; 基于单核苷酸多态性的 DNA 分子标记, 如单核苷酸多态性 (SNP)。③药用植物遗传图谱的构建技术。近年来, 药用植物遗传图谱构建发展迅速。已有丹参、北柴胡、罗汉果、杜仲、铁皮石斛、香菇、玫瑰、油橄榄等近 20 个科属药用植物获得遗传图谱。用于重要成分数量性状位点 (QTL) 定位研究、分子标记辅助育种、目标基因定位与克隆以及基因组组装等。

物理图谱 (physical map) 是 DNA 中一些可识别标记在 DNA 上的物理位置, 图距是物理长度单位, 如染色体的带区、核苷酸对的数量等。是辅助基因组拼接和组装的重要工具, 目前用于构建物理图谱的技术主要包括光学图谱和高能量染色体构象捕获等技术, 有 OpGen Argus 光学图谱, BioNano Tris 光学图谱和 Hi-C 技术。

4.2.2 基因功能研究关键技术 包括植物突变体构建技术和植物组织培养与遗传转化技术。构建饱和和基因突变体库是目前最直接和最有效的大规模基因功能鉴定方法,对生命科学研究具有重要意义;按照产生方式的不同,可分为自发突变、物理化学诱变和 DNA 插入突变。植物组织培养与遗传转化技术分为 2 项:①植物组织培养。生产药用活性成分或进行药用植物无性快速繁殖,可以提高植物的繁殖效率,缩短植物生长周期。②植物遗传转化技术。常用的有农杆菌介导法,药用植物发状根培养已在 26 科 100 多种植物中获得了成功,在银杏、长春花、青蒿、甘草、商陆、人参、西洋参、丹参等珍贵药用植物上获得了许多有开发价值的次生代谢产物。

4.2.3 蛋白质组学关键技术 常用的蛋白质组学研究技术有蛋白质分离技术、质谱技术等。质量分析器包括傅立叶变换离子回旋共振质谱 (FTICR),线性离子阱质谱 (LIT/LTQ),四级杆离子阱质谱 (QIT) 和飞行时间质谱 (TOF) 4 种。质谱检测器有电子倍增管、离子计数器、感应电荷检测器等;蛋白质芯片包括蛋白质微阵列、微孔板蛋白质芯片、三维凝胶块芯片等;还有酵母双杂交技术、免疫共沉淀技术和 Pull-down 技术等蛋白质相互作用技术。

4.2.4 代谢组学关键技术 代谢组学研究一般包括代谢组数据的采集、数据预处理、多变量数据分析、标记物识别和途径分析等步骤,主要有 GC-MS, LC-MS, NMR 等代谢组学分析技术。GC-MS 是目前植物代谢组学研究的主要分析平台之一,大多数植物的初生代谢物适合此分析技术;LC-MS 适合复杂生物中样品不稳定、不易衍生、不易挥发或相对分子量较大的代谢物的分离和检测;NMR 可对样品实现无创性、无偏向的检测,客观性和重复性好,具有较高的通量和较低的单位样品检测成本。

4.2.5 合成生物学关键技术 主要有 DNA 分子组装技术和底盘细胞改造技术。DNA 分子组装技术包括基于内切酶的拼接方法、基于位点特异性重组的拼接方法、基于重叠序列的拼接方法和体内拼接方法等;理想的底盘细胞应该具有最小化基因组,即维持细胞的生长繁殖所必须的最少基因(必需基因),基因组的适当精简将为重要天然产物的异源生物合成提供理想的底盘细胞。采用 CRISPR-Cas9 技术、基于位点特异性重组酶的同源重组、基于转座子的同源重组等技术进行基因组编辑,能在基因组范围内对任意的多个位点进行同步修饰,实现底盘细胞的改造。

5 本草基因组学的学科特色

5.1 理论先进,实用性强

5.1.1 高度综合的理论体系 从基因组水平研究本草的九大内容,包括中草药结构基因组、中草药功能基因组、中草药转录组和蛋白质组、中草药表观基因组、中草药宏基因组、中药代谢组、中药合成生物学、中药基因组学、中药生物信息学。

5.1.2 先进的实验技术 主要包括高通量测序技术、遗传图谱构建技术、光学图谱构建技术、基因文库构建技术、突变体库构建技术、组织培养与遗传转化、蛋白质分离纯化与鉴定、四大波谱技术及联用、基因组编辑技术九大先进技术。

5.1.3 与实践结合紧密,应用性强 包括药用模式生物研究、道地药材形成机制、基因组辅助育种、中药质量评价和控制、基因资源的保护和利用、中药新药研发、指导相关学科研究七大应用方向,见图 2。

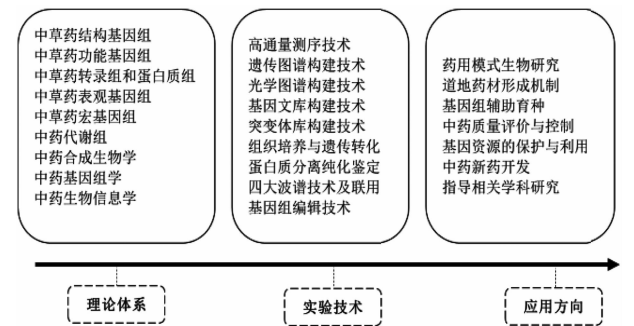


图 2 本草基因组学的学科内涵

Fig. 2 Main contents of herbogenomics

5.2 多学科交叉,研究范围广 本草基因组学与本草学、中药学、基因组学、生物信息学、分子生物学、生物化学、生药学、中药资源学、中药鉴定学、中药栽培学、中药药理学、中药化学等学科密切相关,见图 3。本草学和中药学提供候选材料,基因组学和生物信息学提供前沿理论和技术支撑,分子生物学、生物化学、中药化学提供基础理论和基本实验技术支持,生药学、中药资源学、中药鉴定学、中药栽培学与本草基因组学侧重点不同、互相支撑发展;中药药理学、中药化学提供应用技术支持。本草基因组学可促进本草学和中药学从经典走向现代、从传统走向前沿,为中医药更好地服务于大众健康提供强大知识和技术支撑,扩大了基因组学和生物信息学的研究对象及应用领域,为分子生物学、生物化学、中药化学走向实践应用提供了生动案例,推动生药学、中

药资源学、中药鉴定学、中药栽培学从基因组和分子水平开展研究,为中药药理学深入研究提供理论和技术支持。

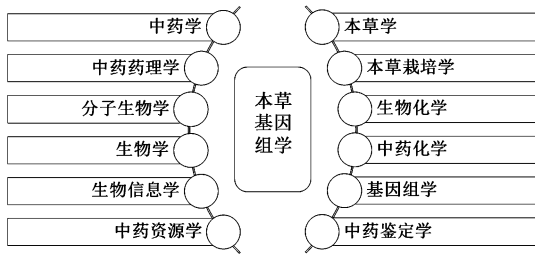


图 3 本草基因组学的学科外延

Fig. 3 Disciplines associated to herbgenomics

6 本草基因组学的学科建设展望

本草基因组学作为新兴基础学科,与中药学、中药资源学、中药化学等学科联系紧密,其发展和应用将进一步缩小中医药学与其他生命科学研究的差距。

6.1 完善理论体系,加强师资力量 ①成立本草基因组学学术组织,加强培训和学术交流,加强师资力量。本草基因组学是高度交叉的前沿综合学科,包含先进的理论和技术体系,授课教师需要良好的专业基础,其知识面的广度和深度将直接影响教学的效果,培养优秀的学科人才是学科发展的根本途径。②授课模式多元化,合理安排实验及实践环节。适时推出辅助教材,如《实验操作指南》《案例分析及思考题集》等,对提高学生对本学科广度和深度的认知,培养学生的科研设计能力,有着重要的作用。加强实践教学,培养创新型人才,创新教学评估体系,构建新形势下的创新教育体系。

6.2 加大社会和行业的宣传教育,扩大学科影响力 中医药是我国的国粹,是人们经过数千年努力累积起来的宝贵资源,《中华人民共和国中医药法》《中药材保护和发展规划(2015—2020年)》《中医药健康服务发展规划(2015—2020年)》《中医药发展战略规划纲要(2016—2030年)》的发布,对于我国中医药产业来说是机遇更是挑战,中医药行业高等研究人才的培养是产业发展的关键问题之一,开展好本草基因组学的学科建设,让越来越多有志于中药研究的学子参与到研究中来,在获取中草药基因组和基因遗传信息的基础上,通过本草基因组学相关研究来解决中药研究中面临的一系列难题,如建立用于次生代谢产物生物合成及其调控的药用模式生物体系、通过合成生物学生产的中药新药原料、

基因辅助的良种繁育、利用 DNA 条形码技术进行中药材及其混伪品的鉴定等,加强基于现代科技前沿技术的中医药基础性研究,开发和引入新技术、新方法,从源头上保障中药的有效性和安全性。

[参考文献]

- [1] CHEN S L, SONG J Y, SUN C, et al. Herbal genomics: examining the biology of traditional medicines [J]. Science, 2015, 347(6219): S27-S29.
- [2] 陈士林, 宋经元. 本草基因组学[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(21): 3881-3889.
- [3] 陈士林. 本草基因组学——中药组学的发展与未来[M]. 北京: 科学出版社, 2016.
- [4] 陈士林. 本草基因组学[M]. 北京: 科学出版社, 2018.
- [5] 宋经元, 徐志超, 陈士林. 本草基因组学专辑简介[J]. 中国科学: 生命科学, 2018, 48(4): 349-351.
- [6] 中国药材公司. 中国中药资源志要[M]. 北京: 科学出版社, 1994.
- [7] Sachidanandam R, Weissman D, Schmidt S C, et al. A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms [J]. Nature, 2001, 409(6822): 928-933.
- [8] Venter J C, Adams M D, Sutton G G, et al. Shotgun sequencing of the human genome [J]. Science, 1998, 280(5369): 1540-1542.
- [9] 陈士林, 何柳, 刘明珠, 等. 本草基因组方法学研究[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2010, 12(3): 316-324.
- [10] CHEN S L, XU J, LIU C, et al. Genome sequence of the model medicinal mushroom *Ganoderma lucidum* [J]. Nat Commun, 2012, doi:10.1038/ncomms1923.
- [11] XU J, CHU Y, LIAO B, et al. *Panax ginseng* genome examination for ginsenoside biosynthesis [J]. Gigascience, 2017, 6(11): 1-15.
- [12] ZHANG D, LI W, XIA E H, et al. The medicinal herb *Panax notoginseng* genome provides insights into ginsenoside biosynthesis and genome evolution [J]. Mol Plant, 2017, 10(6): 903-907.
- [13] XU H, SONG J, LUO H, et al. Analysis of the genome sequence of the medicinal plant *Salvia miltiorrhiza* [J]. Mol Plant, 2016, 9(6): 949-952.
- [14] XU Z, Peters R J, Weirather J, et al. Full-length transcriptome sequences and splice variants obtained by a combination of sequencing platforms applied to different root tissues of *Salvia miltiorrhiza* and tanshinone biosynthesis [J]. Plant J, 2015, 82(6): 951-961.
- [15] YAN L, WANG X, LIU H, et al. The genome of

- Dendrobium officinale* illuminates the biology of the important traditional Chinese orchid herb [J]. *Mol Plant*, 2015, 8(6):922-934.
- [16] SHEN Q, ZHANG L D, TANG K X, et al. The genome of *Artemisia annua* provides insight into the evolution of asteraceae family and artemisinin biosynthesis [J]. *Mol Plant*, 2018, 11(6):776-788.
- [17] SONG C, LIU Y F, CHEN S L, et al. The *Chrysanthemum nankingense* genome provides insights into the evolution and diversification of *Chrysanthemum* flowers and medicinal traits [J]. *Mol Plant*, doi: 10.1016/j.molp.2018.10.003.
- [18] XU Z, XIN T, Bartels D, et al. Genome analysis of the ancient tracheophyte *Selaginella tamariscina* reveals evolutionary features relevant to the acquisition of desiccation tolerance [J]. *Mol Plant*, 2018, 11(7):983-994.
- [19] SUN W, LENG L, YIN Q G, et al. The medicinal plant *Andrographis paniculata* genome provides insight into biosynthesis of the bioactive diterpenoid neoandrographolide [J]. *Plant J*, 2018, doi: 10.1111/tpj.14162.
- [20] ZHU Y, XU J, SUN C, et al. Chromosome-level genome map provides insights into diverse defense mechanisms in the medicinal fungus *Ganoderma sinense* [J]. *Sci Rep*, 2015, 5:11087.
- [21] YUAN Y, JIN X, LIU J, et al. The *Gastrodia elata* genome provides insights into plant adaptation to heterotrophy [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1):1615.
- [22] Kellner F, Kim J, Clavijo B J, et al. Genome-guided investigation of plant natural product biosynthesis [J]. *Plant J*, 2015, 82(4):680-692.
- [23] HE L, FU S, XU Z, et al. Hybrid sequencing of full-length cDNA transcripts of stems and leaves in *Dendrobium officinale* [J]. *Genes (Basel)*, 2017, 8(11):E257.
- [24] YAO Y F, WANG C S, QIAO J, et al. Metabolic engineering of *Escherichia coli* for production of salvianic acid A via an artificial biosynthetic pathway [J]. *Metab Eng*, 2013, 19:79-87.
- [25] 浦香东, 徐志超, 宋经元. 基于组学的丹参酮生物合成途径新基因 *CYP71D375* 克隆和功能研究 [J]. *中国科学: 生命科学*, 2018, 48(4):390-398.
- [26] LIU X, CHENG J, ZHANG G, et al. Engineering yeast for the production of breviscapine by genomic analysis and synthetic biology approaches [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1):448.
- [27] XIANG L, SONG J, XIN T, et al. DNA barcoding the commercial Chinese caterpillar fungus [J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2013, 347(2):156-162.
- [28] ZHAO M, SHI Y, WU L, et al. Rapid authentication of the precious herb saffron by loop-mediated isothermal amplification (LAMP) based on internal transcribed spacer 2 (ITS2) sequence [J]. *Sci Rep*, 2016, 6:25370.
- [29] 黄林芳, 郑司浩, 武拉斌, 等. 基于化学成分及分子特征中药材肉苁蓉生态型研究 [J]. *中国科学: 生命科学*, 2014, 44(3):318-328.
- [30] CHEN S L, LUO H, LI Y, et al. 454 EST analysis detects genes putatively involved in ginsenoside biosynthesis in *Panax ginseng* [J]. *Plant Cell Rep*, 2011, 30(9):1593-1601.
- [31] 王俊, 刘霞, 张雅琴, 等. 苍耳子药材及其混伪品 ITS2 序列鉴定研究 [J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2014, 16(2):329-334.
- [32] 黎洁文, 赵树进. 基于条形码 ITS2 序列的何首乌及其近缘种和混淆品的分子鉴别 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(9):80-84.
- [33] 熊超, 李景剑, 孙伟, 等. HRM 结合 DNA 条形码在苦杏仁对桃仁掺混检测中的应用 [J]. *药学报*, 2017, 52(4):647-652.
- [34] 石林春, 陈俊, 向丽, 等. 基于 ITS2 条形码的中药材天南星及其混伪品 DNA 分子鉴定 [J]. *中国中药杂志*, 2014, 39(12):2176-2179.
- [35] 张雅琴, 宋明, 孙伟, 等. 中药材半夏及其混伪品的 DNA 条形码鉴定研究 [J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2014, 16(8):1725-1729.
- [36] 王甜甜. 白头翁和翻白草 ITS 和 *trnL-F* 序列分析及鉴别方法的建立 [D]. 长春: 吉林大学, 2017.
- [37] SHI Y H, ZHAO M M, YAO H, et al. Rapidly discriminate commercial medicinal *Pulsatilla chinensis* (Bge.) Regel from its adulterants using ITS2 barcoding and specific PCR-RFLP assay [J]. *Sci Rep*, 2017, 7:40000.
- [38] 刘霞, 林韵涵, 陈士林, 等. 道地药材川麦冬和浙麦冬的生态遗传分化 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(17):27-33.
- [39] XIANG L, SU Y Y, LI X W, et al. Identification of *Fritillariae bulbus* from adulterants using ITS2 regions [J]. *Plant Gene*, 2016, 7:42-49.
- [40] 唐科民. 昭通天麻 DNA 条形码研究及药用成分分析 [D]. 昆明: 云南中医学院, 2013.
- [41] 王晓明. ITS, *rbcl* 和 *matK* 序列作为中药鸡骨草条形码的研究 [D]. 遵义: 遵义医学院, 2013.
- [42] 师玉华, 孙伟, 方广宏, 等. 凉茶药材鸡蛋花及其混伪品的 DNA 条形码鉴定 [J]. *中国中药杂志*, 2014, 39(12):2199-2203.

- [43] 潘正. 基于 ITS2 条形码和代谢组技术的藏药独一味品质评价研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2015.
- [44] 刘悦, 刘川, 谭尔, 等. 基于 DNA 条形码和¹H-NMR 代谢组学二维方法的多基原藏药沙棘鉴定[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(4): 578-585.
- [45] 任瑶瑶, 江南屏, 刘睿颖, 等. 藏药臭蒿及其近缘种药材的 ITS2 DNA 条形码鉴别[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(7): 1395-1400.
- [46] 刘川, 张雨欣, 刘悦, 等. 龙胆科藏药“蒂达”类的 DNA 条形码鉴定研究[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(4): 567-571.
- [47] 郭豪杰, 丁钰, 陈维武, 等. 藏药材榜嘎及其混伪品的 DNA 条形码鉴定研究[J]. 世界中医药, 2016, 11(5): 763-766.
- [48] 郭力城. 壮药金花茶、铁包金的 DNA 分子鉴定及毛瓣金花茶不同器官表达差异研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2017.
- [49] 马双双, 王学勇, 刘春生, 等. 基于 ITS 条形码的维药克孜力乔古鲁克药材的分子鉴定研究[J]. 环球中医药, 2017, 10(6): 587-591.
- [50] 何江, 陈波, 杨伟俊, 等. 基于 ITS2 条形码鉴定维药药西瓜及其误用品[J]. 中国现代中药, 2016, 18(10): 1261-1264.
- [51] 樊丛照, 王果平, 李晓瑾, 等. 维吾尔药材香青兰 DNA 条形码鉴定方法的研究[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2013, 15(3): 415-420.
- [52] 宋明, 张雅琴, 刘霞, 等. 基于 ITS2 序列鉴定苗药金铁锁及其混伪品[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2014, 16(8): 1730-1734.
- [53] 聂平, 肖炳燧, 罗晖明, 等. 苗药一枝黄花及其混伪品的 DNA 条形码鉴别[J]. 食品与药品, 2017, 19(2): 97-101.
- [54] 魏妮娜. 贵州苗药艾纳香 DNA 条形码的鉴定研究[D]. 遵义: 遵义医学院, 2014.
- [55] 高梓童, 王晓玥, 刘杨, 等. 基于 ITS2 序列的川贝母中成药的鉴定[J]. 中国科学: 生命科学, 2018, 48(4): 482-489.
- [56] 刘金欣, 魏妙洁, 谢丽芳, 等. 基于 DNA metabarcoding 技术的如意金黄散处方成分鉴定研究[J]. 中国科学: 生命科学, 2018, 48(4): 490-497.
- [57] 陈士林. 中国药典中药材 DNA 条形码标准序列[M]. 北京: 科学出版社, 2015.
- [58] 陈士林. 中药 DNA 条形码分子鉴定[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2012.
- [59] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 2010 年版第三增补本[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2014.
- [60] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.
- [61] British Pharmacopoeia Commission. *British Pharmacopoeia*[M]. 2017 edition. London: TSO, 2016.
- [62] 王丽芝, 王海英, 浦香东, 等. 基于紫芝基因组的倍半萜合酶基因的发掘与功能鉴定[J]. 中国科学: 生命科学, 2018, 48(4): 447-454.
- [63] 陈军峰, 李卿, 王芸, 等. 高通量测序解析大青叶有效成分的生物合成途径[J]. 中国科学: 生命科学, 2018, 48(4): 412-422.
- [64] Graham I A, Besser K, Blumer S, et al. The genetic map of *Artemisia annua* L. identifies loci affecting yield of the antimalarial drug artemisinin[J]. *Science*, 2010, 327(5963): 328-331.
- [65] 董林林, 陈中坚, 王勇, 等. 药用植物 DNA 标记辅助育种(一): 三七抗病品种选育研究[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(1): 56-62.
- [66] 陈中坚, 马小涵, 董林林, 等. 药用植物 DNA 标记辅助育种(三): 三七新品种——“苗乡抗七 1 号”的抗病性评价[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(11): 2046-2051.
- [67] 尉广飞, 董林林, 陈士林, 等. 本草基因组学在中药材新品种选育中的应用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(23): 18-28.
- [68] 陈尘, 曹晓燕, 代文平, 等. 基于丹参基因组的 CO I 1 基因抗虫与次生代谢调控功能研究[J]. 中国科学: 生命科学, 2018, 48(4): 399-411.
- [69] 初昉, 徐然, 苏贺, 等. 人参 NBS-LRR 抗病基因家族全基因组分析[J]. 中国科学: 生命科学, 2018, 48(4): 423-435.
- [70] 陈士林, 朱孝轩, 陈晓辰, 等. 现代生物技术在人参属药用植物研究中的应用[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(5): 633-639.
- [71] 糜迪, 方明月, 李德利, 等. 中药与肠道微环境相互作用研究进展[J]. 中国科学: 生命科学, 2018, 48(4): 379-389.
- [72] 刘婉菁, 张建红, 罗红梅. 中草药表观基因组学研究现状与展望[J]. 中国科学: 生命科学, 2018, 48(4): 365-378.
- [73] 杜润超, 梁竹, 许剑涛, 等. 植物来源的磷脂酰胆碱可介导抗肺纤维化小 RNA (HJT-sRNA-m7) 进入哺乳动物细胞[J]. 中国科学: 生命科学, 2018, 48(4): 469-481.
- [74] 杨洁. 大株红景天注射液治疗特发性肺纤维化的临床研究[J]. 中医临床研究, 2014, 6(17): 8-9.
- [75] 郭慧, 崔扬, 王秋红, 等. 基于代谢组学技术的中药复方研究近况[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(1): 213-219.
- [76] 尹晓月, 王维东, 钱朝菊, 等. 基于 UPLC-MS 的沙米代谢组学分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(15): 51-56.

- [77] 赵洪伟,刘树民,张宁,等. 玄参对脾虚水湿不化大鼠模型的影响及其肝脏代谢组学分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(20):82-89.
- [78] 张剑霜,喻浩,钟欣,等. 基于 GC-MS 代谢组学技术比较冬虫夏草与蝉花的质量[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(18):23-29.
- [79] 李光,李宜航,吕亚娜,等. 基于代谢组学技术探讨特色傣药肾茶的“雅解”作用机制[J]. 中国科学:生命科学,2018,48(4):455-468.
- [80] 何晓瑾,金实,周学平,等. 创新人才培养视阈下的大学教学模式变革-基于 PBL 模式的教学实践研究[J]. 江苏高教,2016(6):99-101.
- [81] 秦宣云,李军英,郑建梅,等. 融入启发式、探究式、讨论式、参与式教学方法的高等数学课程课堂教学改革的研究与实践[J]. 大学教育,2015(5):95-96.
- [82] 安永磊,高淑贞,刘南,等. 开放性创新实验教学模式优化与实践[J]. 实验技术与管理,2016,33(8):21-23.
- [83] 吴晓毅,刘长利,高伟,等.《药用植物学》慕课的学习实践与教学启示[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(16):16-19.
- [84] 刘春生. 论《药用植物学》教学改革[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(16):1-3.
- [85] Sanger F, Air G M, Barrell B G, et al. Nucleotide sequence of bacteriophage ϕ X174 DNA [J]. Nature, 1977,265(5596):687-695.
- [86] Initiative A G. Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana* [J]. Nature, 2000, 408(6814):796-815.
- [87] 杨俏俏,黄林芳. 基于文献计量学的药用植物基因组学国际研究态势分析[J]. 中国科学:生命科学, 2018,48(4):498-508.

[责任编辑 刘德文]