

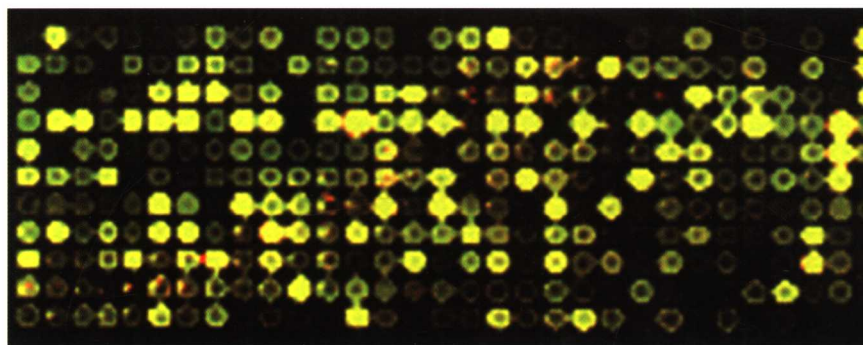
生物实验室系列

生物芯片技术与应用详解

Microarrays Methods and Applications

[美] G. 哈德曼 (Gary Hardiman) 编

陈忠斌 王升启 主译



Chemical Industry Press



化学工业出版社
现代生物技术与医药科技出版中心

生物实验室系列

生物芯片技术与应用详解

[美] G. 哈德曼 编

陈忠斌 王升启 主译



化学工业出版社

现代生物技术与医药科技出版中心

· 北 京 ·

图书在版编目 (CIP) 数据

生物芯片技术与应用详解/[美] 哈德曼 (Hardiman, G. 编); 陈忠斌, 王升启主译. —北京: 化学工业出版社, 2006. 9

(生物实验室系列)

书名原文: Microarrays Methods and Applications

ISBN 7-5025-8919-8

I. 生… II. ①哈…②陈…③王… III. 生物-芯片
IV. Q78

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2006) 第 065014 号

Microarrays Methods and Applications/by Gary Hardiman

ISBN 0-9664027-6-6

Copyright©2003 by DNA Press LLC. All rights reserved.

Authorized translation from the English language edition published by DNA Press LLC.

本书中文简体字版由 DNA Press LLC. 出版公司授权化学工业出版社独家出版发行。
未经许可, 不得以任何方式复制或抄袭本书的任何部分。

北京市版权局著作权合同登记号: 01-2004-6129

生物实验室系列 生物芯片技术与应用详解

[美] G. 哈德曼 编

陈忠斌 王升启 主译

责任编辑: 杨燕玲

文字编辑: 焦欣渝

责任校对: 陈 静 宋 夏

封面设计: 关 飞

*

化 学 工 业 出 版 社 出版发行
现代生物技术与医药科技出版中心

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

购书咨询: (010)64982530

(010)64918013

购书传真: (010)64982630

<http://www.cip.com.cn>

*

新华书店北京发行所经销
北京云浩印刷有限责任公司印刷
三河市前程装订厂装订

开本 720mm×1000mm 1/16 印张 16 彩插 2 字数 336 千字

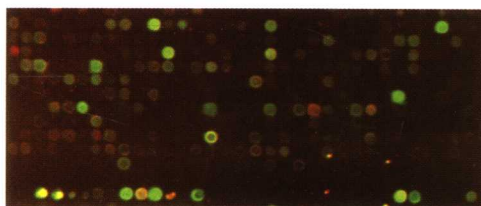
2006 年 9 月第 1 版 2006 年 9 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-8919-8

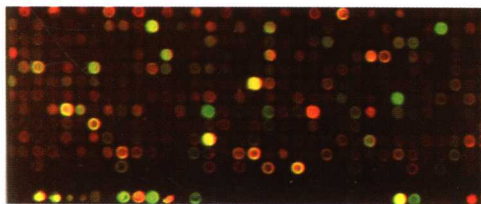
定 价: 38.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换

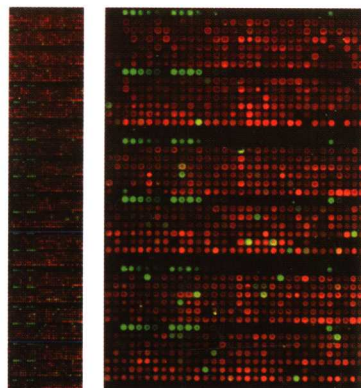


(a)



(b)

图 3-8 微阵列芯片的自动杂交



(a)

(b)

图 3-9 小鼠的10K微阵列芯片杂交图

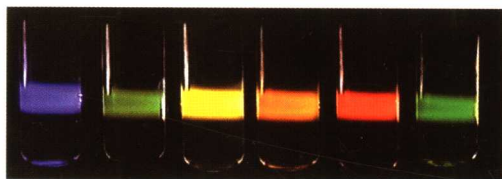
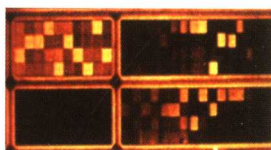
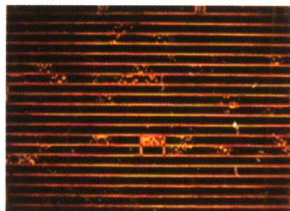
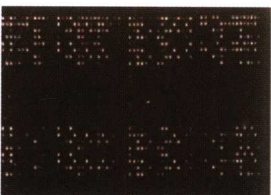
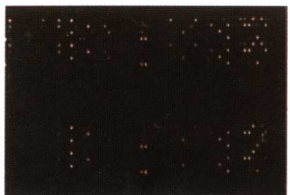


图 4-1 当一束极细的白光照射时，荧光素溶液和不同直径的金银粒子的散射光悬浮液发生的现象

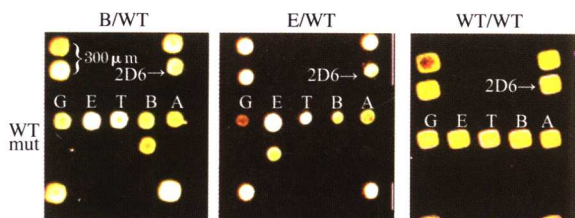


(a)



(b)

图 4-6 基因芯片



(c)

生物实验室系列图书

陆续出版的书目如下

- 发酵工程实验技术 (2004 年 3 月)
- 生物化学实验技术 (2005 年 5 月重印)
- 拟南芥实验手册 [影印] (2004 年 5 月)
- 现代生物科学仪器分析入门 (2005 年 6 月重印)
- 转基因动物技术手册 [译] (2004 年 9 月)
- RNAi——基因沉默指南 [译] (2004 年 10 月)
- PCR 最新技术原理、方法及应用 (2005 年 1 月)
- 生物安全柜应用指南 (2005 年 3 月)
- 分子生物学实验参考手册 [译] (2005 年 6 月)
- DNA 分子标记技术在植物研究中的应用 (2005 年 6 月)
- 流式细胞术原理与科研应用简明手册 [译] (2005 年 7 月)
- 医学微生物学实验技术 (2006 年 1 月)
- 小鼠胚胎操作实验手册 [译] (2006 年 1 月)
- 植物分子生物技术应用手册 (2006 年 2 月)
- 分子生物学与蛋白质化学实验方法 [译] (2006 年 3 月)
- PCR 技术实验指南 (原著第二版) [译] (2006 年 4 月)
- 生物安全实验室建设 (2006 年 4 月)
- 植物细胞工程实验技术 (2006 年 4 月)
- 人肿瘤细胞培养 [译] (2006 年 5 月)
- 组织工程方法 [译] (2006 年 5 月)
- 细胞生物学实验技术 (2006 年 6 月)
- 免疫组织化学实验技术及应用 (2006 年 6 月)
- 生物芯片技术与应用详解 [译]
- 基因表达分析手册 [译]
- 蛋白质与蛋白质组学实验指南 [译]
- 蛋白质纯化实验指南 [译]

本书翻译人员

主 译：陈忠斌 王升启

副主译：章金刚 潘品良

翻译人员名单（按姓氏笔画为序）：

马玉媛	马卓娅	仇华吉	文思远
王升启	王艳华	付俊杰	刘 楠
刘全俊	刘丽玲	吕茂民	汤 华
张 蕾	李 娜	苏 震	陆祖宏
陈忠斌	周 鑫	周华蕾	姚站馨
徐文英	高志贤	章金刚	潘品良

主审人员名单（按姓氏笔画为序）：

仇华吉	王升启	汤 华	陆祖宏
陈忠斌	高志贤	章金刚	潘品良

Gary Hardiman 博士

Gary Hardiman 是美国加利福尼亚大学圣地亚哥分校 (UCSD) 生物医学基因组学微阵列芯片实验室 (BIOGEM) 的负责人。BIOGEM 是美国加利福尼亚大学圣地亚哥分校一个有组织的研究单位和中心实验室, 致力于生物芯片技术和生物信息学等高通量基因组学方法的研究。他讲授的一门课程是“从基因到生物学功能概述”, 这是该大学 (生物科学) 药物发现和开发职业强化证书 [Extension (Bioscience) Drug Discovery and Development Professional Certificate] 的选修课程。Gary Hardiman 博士于 2002 年 3 月 13~15 日组织了 UCSD 生物芯片技术会议。他毕业于爱尔兰 (Galway) 国立大学, 获得微生物学博士学位, 他的研究方向是用基因组学方法去阐明疾病的分子机制。

联系地址:

Gary Hardiman, Ph. D.

BioMedical Genomics Microarray Facility

Division of Biology

University of California San Diego

2234 Bonner Hall

9500 Gilman Drive

La Jolla CA 92093-0349

Email: ghardiman@ucsd.edu

www.microarrays.ucsd.edu

出版者的话

21 世纪是生命科学的世纪，这已成为人们的共识。

生命科学随着人类对自身和自然的认识、探索而萌芽，随着人类生产和科学实践的进步而发展。现代生命科学包括生物学、医学、农学等传统学科领域，以及生物学、生物技术与环境科学乃至社会科学等其他学科相互渗透、交叉而产生的新型学科体系。20 世纪后叶现代生物科学尤其是分子生物学取得了一系列突破性成就，使得生命科学在自然科学体系中的位置发生了革命性的变化，成为 21 世纪的带头学科。人们对生命科学也寄予了无限的期望，希望能够解决人类社会所面临的人口膨胀、资源匮乏、疾病危害、环境污染和生态破坏等一系列重大问题。

回顾生命科学的发展历程，实验技术一直起着非常重要的促进作用。如 17 世纪 Leeuwenhoek 等人发明并应用显微镜技术，直接催生了“细胞学说”的建立和发展；1973 年 Cohn 和 Boyer 完成了 DNA 体外重组实验，标志着基因工程的肇始；1988 年 Kary Mullis 发明的 PCR 技术甚至使生命科学产生了飞跃性的发展。可以说，生命科学无时无刻离不开实验，实验是开启神奇的生命王国大门的钥匙。没有实验技术的不断进步，也就没有生命科学今天的巨大发展；同时，生命科学的发展又对实验技术提出了更高的要求，进一步刺激了后者的不断进步。生命科学正是在“实验催生和验证着基础理论，理论指导和发展的实验技术”的不断循环中从必然王国走向自由王国。

工欲善其事，必先利其器。为了有助于生命科学工作者更多地了解相关实验技术和仪器设备，更好地设计实验方案，更有效地开展实验过程，更合理地处理实验结果，化工出版社组织出版了“生物实验室系列图书”。系列图书在整体规划的基础上，本着“经典、前沿、实用，理论与技术并重”的原则组织编写，分批出版。

在题材上，系列图书涵盖综合实验技术和单项实验技术两个方面。其中综合实验技术既有以实验目的为题，如“蛋白质化学分析技术”，内容纵向覆盖多项实验技术；也有以某一生命学科领域的综合实验技术为题，如“发酵工程实验技术”、“生物化学实验技术”等。

而单项实验技术则以深入介绍某一专项技术及其应用为主，在阐述其基本原理的基础上，横向介绍该项技术在多个领域的应用，如“双向电泳技术”、“流式细胞术”等。

在内容上，系列图书主要有以下两个显著特点。一是强调先进性——除了系统介绍常用和经典实验技术以外，特别突出了当前该领域实验手段的新理论、新技术、新发展，为国内专业人员起到借鉴和引导作用。二是强调可操作性——对于每一项实验技术，系统介绍其原理方法、设备仪器和实验过程，让读者明了实验的目的、方案设计以及具体步骤和结果处理，以期起到实验指南的作用。

本系列图书坚持质量为先，开拓国内和国际两个出版资源。一方面，约请国内相关领域兼具理论造诣和丰富实验室工作经验的专家学者编著；另一方面，时刻关注国际生命科学前沿领域和先进技术的进展，及时引进（翻译或影印）国外知名出版社的权威力作。

“生物实验室系列图书”的读者对象设定为国内从事生命科学及生物技术和相关领域（如医学、药学、农学）的专业研究人员，企业或公司的生产、研发、管理技术人员，以及高校相关专业的教师、研究生等。

我们殷切希望“生物实验室系列图书”的出版能够服务于我国生命科学的发展需要，同时热忱欢迎从事和关心生命科学的广大科技人员不仅对已出版图书提供宝贵意见和建议，也能对系列图书的后续题目设计贡献良策或推荐作者，以便我们能够集思广益，将这一系列图书沿着可持续发展的方向不断丰富品种，推陈出新。

谨向所有关心和热爱生命科学，为生命科学的发展孜孜以求的科学工作者致以崇高的敬意！

祝愿我国的科技事业如生命之树根深叶茂，欣欣向荣！

化学工业出版社

现代生物技术与医药科技出版中心

中文版前言

人类基因组计划推动了各种生物基因组测序工作的进展。随着多种生物全基因组序列的公布,如何从海量的基因序列数据中发掘成千上万基因的功能,研究其在生命过程中所担负的重要角色,成为基因组时代特别是后基因组时代面临的重要课题。在这样的背景下,20世纪90年代初产生了一项新的以基因芯片为先导的生物技术——生物芯片。

生物芯片技术的出现引起了国际上的广泛关注,一段时间内对生物芯片技术的产业化前景及其对未来社会的可能影响进行了大量报道。特别是1998年《Science》杂志把生物芯片技术列为年度十大科技突破之一。此外,国际权威杂志《Nature》、《Genetics》也分别于1999年、2002年和2005年出版了系列专集(chipping forecast),系统介绍生物芯片技术取得的重大进展和发展趋势。

目前,生物芯片技术要进行产业化和投入临床应用,还有许多问题有待解决。但是学术界公认的是,生物芯片作为一种高通量和自动化的新型生物技术,在生物学和医学基础研究及科研工作中已表现出很大优势,特别是已成为在后基因组时代功能基因组学研究中的一种强有力研究工具。当前生物芯片技术的应用没有当初预想的那样美好,但是相信经过一段时间的研究和开发,将会在某些方面有所突破。

本书是国际上详细介绍生物芯片(微阵列)技术及有关实验操作的重要专著之一。内容广泛、具体,既介绍了生物芯片技术发展概况,也列出了生物芯片技术的具体操作程序。本书中文版的出版对我国生物芯片技术研究和开发将起到一定的促进和推动作用。

本书基本上涵盖了生物芯片技术的主要内容,概括起来可分四个方面:

第一个方面,介绍主要的生物芯片技术。如:第1章 生物芯片技术简介(陈忠斌、王艳华译);第12章 应用50mer寡核苷酸芯片分析线虫基因表达(高志贤、张蕾、刘楠译);第14章 寡核苷酸芯片技术在突变分析中的开发与应用(文思远、王升启译);第8章 蛋白质芯片在蛋白质组学中的应用(周华蕾、马玉媛、吕茂民译,章金剛校)。

第二个方面,介绍生物芯片实验室与相关仪器设备。如:第2章 微阵列生物芯片操作的实验室自动化(马卓娅、汤华译);第3章 DNA芯片与生物芯片中心实验室(刘全俊、潘品良译);第5章 如何评估生物芯片扫描仪(潘品良、刘全俊译)。

第三个方面,涉及生物芯片数据统计分析和数据管理知识。如:第10章 生物芯片数据管理(陆祖宏、刘全俊、潘品良译);第11章 用LFC模型

从芯片数据中鉴定差异表达基因（仇华吉、李娜 译）；第 15 章 生物芯片技术比较、统计分析和实验设计（付俊杰、苏震 译）。

第四个方面，主要介绍生物芯片技术的具体应用。如：第 4 章 生物芯片的纳米颗粒标记（刘全俊、陆祖宏、潘品良译）；第 6 章 全基因组水平 mRNA 表达谱分析在农业基因组学研究中的应用（周鑫、徐文英 译）；第 7 章 生物芯片技术在药物靶标确证和新药发现中的应用（文思远、王升启 译）；第 9 章 Span-script™：快速获取非冗余 cDNA 3'端文库用于制备微阵列芯片的方法（仇华吉、刘丽玲 译）；第 12 章 应用 50mer 寡核苷酸芯片分析线虫基因表达（高志贤、张蕾、刘楠 译，陈忠斌 校）；第 13 章 生物芯片技术检测大鼠体内药物诱导氧化酶 P450 mRNA 及其他药物代谢相关基因表达水平：在药物筛选与开发中的应用（马卓娅、汤华 译，陈忠斌 校）；第 14 章 寡核苷酸芯片技术在突变分析中的开发与应用（文思远、王升启 译）；第 16 章 INFINITI™系统：临床实验室的自动化多功能芯片平台（周华蕾、姚站馨、吕茂民 译，章金刚 校）。

此外，本书附录中列出了生物芯片技术的有关具体实验操作程序（附录 I，高志贤、张蕾、刘楠 译，陈忠斌 校）和基因芯片探针、芯片载体及其表面修饰以及相关公司等信息（附录 II，高志贤、张蕾、刘楠 译，陈忠斌 校）。

本书翻译和校对工作主要由国内从事生物芯片技术相关研究的科研人员完成。由于本书所涉及的生物芯片技术领域新，内容广，进展快，并且涉及到多学科理论和技术的融合；同时，参与译校的人员中既有多年从事生物芯片技术研究和开发的一线科研人员，又有对生物芯片技术进展密切关注和充满兴趣的年轻研究人员，在与生物芯片技术相关的生物学基础理论和科研经验上尚存在诸多不足与缺陷；加上完成本书全部翻译和校对工作的时间仓促，因此，本书中文版还存在一些不完美甚至错误之处。恳请广大专家学者和科研同仁对本书中文版提出宝贵批评和建议，以便再版时加以改进提高。

陈忠斌 王升启

2006 年 1 月

前 言

最近几年应用生物芯片技术进行基因表达谱分析已成为常用的分子生物学技术。全基因组序列信息的公布和技术的进步,促使生物芯片技术能在基因组等更广范围上进行应用,使分析生物转录组中大部分基因的表达谱成为可能。记得当我第一次看到真实的芯片时是如此的激动。这是发生在 1995 年, Synteni 公司在 Palo Alto 的 DNAX 中心演示生物芯片技术,我当时是一名博士后。1998 年,作为在上游技术领域的科研人员,我终于有机会成为这一研究领域中的一员。那时, DNA 微阵列技术已发展得相当成熟,芯片制备技术和数据分析方法也变得更复杂。写作本书的动机源于 2002 年 3 月由我在加利福尼亚大学 San Diego Bioscience Extension 组织的一门称为“微阵列技术总论”的课程。这提供了一个重要的论坛来探讨生物芯片技术的最新进展和发展趋势。该课程提供了微阵列和基因芯片技术的详细介绍,不断发展的生物芯片研究、微流路技术、设备、点印和检测方法以及成功进行基因表达谱和 SNP 分析所需方法和试剂等的技术标准。这已成为年度大事,并出版了 2003 年度会议总结。

本书各章由参与该教程工作的著名科学家、科研人员、程序员以及工程师等编写。我要感谢那些无偿提供材料的人员。作为主编,我有幸与本书的出版工作紧密相联。许多人的工作对我参与本领域的研究项目提供了极大帮助。我要感谢我的父母 Joe 和 Maureen 以及家庭成员 David、Aidan 和 Nono 给予的鼓励;感谢我的研究生导师 Frank Gannon 教授,是他引导我进入神奇的分子生物学领域;感谢 UCSD Extension Department of Bioscience 的 Sharon Wampler 博士、Derry Connolly 博士和其他同事,以及 Elizabeth Hickman 等人在将本教程统一起来所做的繁重工作;感谢 Alexander Kuklin 博士提供给我编辑本书的机会;感谢 Alex Nartea 在本书出版过程中完成手稿时表现出的耐心和所作的贡献;感谢 Scott Emr、Bill McGinnis、Geoff Rosenfeld 和 Chris Glass 等教授对微阵列生物芯片技术一直保持兴趣和支持。还要感谢 BIOGEM 实验室的成员: Katrine Verdun、Richard Rouse、Jackie Vignes 和 Ivan Wick 以及我的同事和朋友的一贯支持;感谢我的妻子 Patricia 所给予的全部关爱。

Gary Hardiman
La Jolla, CA

欢迎加入化学工业出版社读者俱乐部

您可以在我们的网站 (www.cip.com.cn) 查询、购买到数千种化学、化工、机械、电气、材料、环境、生物、医药、安全、轻工等专业图书以及各类专业教材, 并可参与专业论坛讨论, 享受专业资讯服务, 享受购书优惠。欢迎您加入我们的读者俱乐部。

两种入会途径 (免费)

- ◇ 登录化学工业出版社网上书店 (www.cip.com.cn) 注册
- ◇ 填写以下会员申请表寄回 (或传真回) 化学工业出版社

四种会员级别

- ◇ 普通会员 ◇ 银卡会员 ◇ 金卡会员 ◇ VIP 会员

化学工业出版社读者俱乐部会员申请表

姓名:	性别:	学历:
邮编:	通讯地址:	
单位名称:		部门:
您从事的专业领域:		职务:
电话:	E-mail:	

◆ 您希望出版社给您寄送哪些专业图书信息? (可多选)

☐ 化学 ☐ 化工 ☐ 生物 ☐ 医药 ☐ 环境 ☐ 材料 ☐ 机械 ☐ 电气 ☐ 安全 ☐ 能源 ☐ 农业 ☐ 轻工 (食品/印刷/纺织/造纸) ☐ 建筑 ☐ 培训 ☐ 教材 ☐ 科普 ☐ 其他 ()

◆ 您希望多长时间给您寄一次书目信息?

☐ 每月 1 次 ☐ 每季度 1 次 ☐ 半年 1 次 ☐ 一年 1 次 ☐ 不用寄

◆ 您希望我们以哪种方式给您寄送书目? ☐ 邮寄纸介质书目 ☐ E-mail 电子书目

此表可复印, 请认真填好后发传真至 **010-64982630**, 或者寄信至: 北京市朝阳区惠新里 3 号化学工业出版社发行部 读者俱乐部收 (邮编 100029)

联系方法:

网上书店 电话: 010-64982511

E-mail: cip64982511@126.com

读者俱乐部及邮购 电话: 010-64982530

E-mail: goushu999@126.com

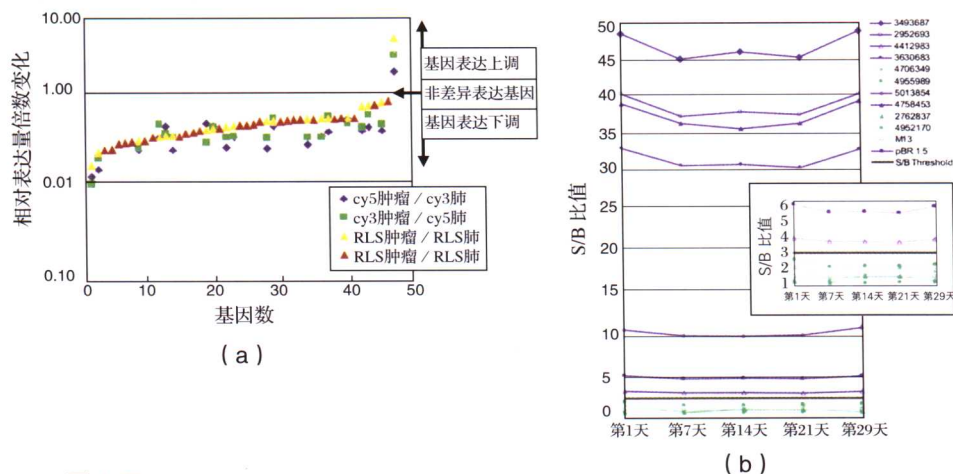


图 4-7

(a) 用单色RLS和双色荧光法测得的不同基因表达变化（三角表示用RLS测定的26个差异表达基因检测特性，但处在荧光测定法检测阈值以下）；

(b) 在29天内重复测5次时11芯片探针信号稳定性

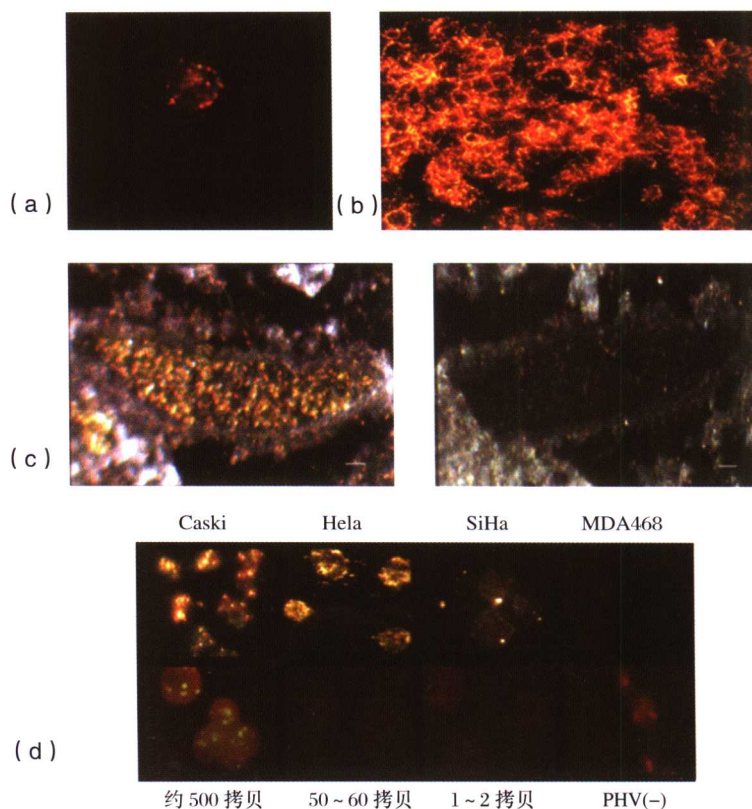


图 4-8 细胞和组织图像

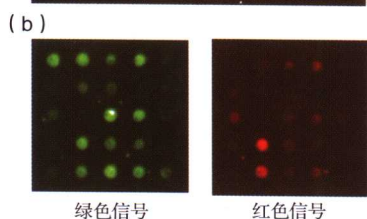
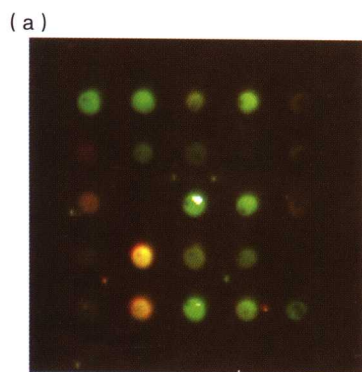


图 9-4
用Spanscript cDNA子库制备的
cDNA微阵列芯片杂交结果

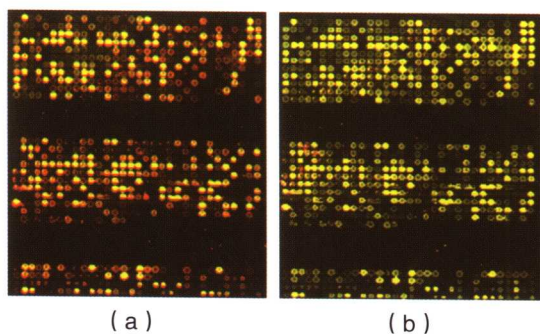


图 12-5 线虫药物诱导后的基因表达变化

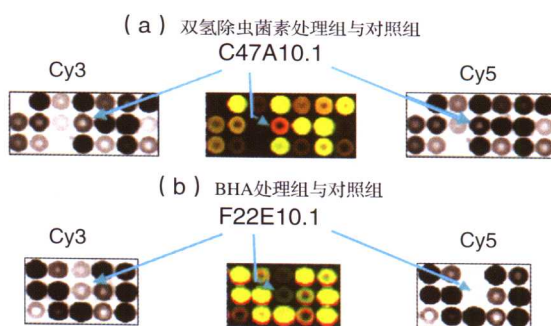


图 12-7 PGP基因的差异表达

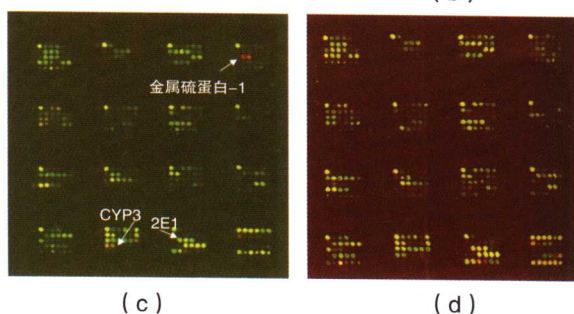
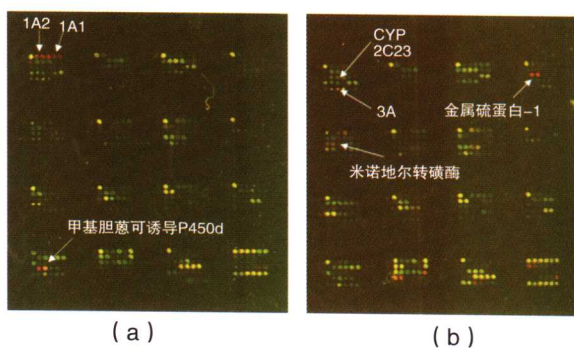


图 13-5 双色芯片原始数据

图 15-1

上右, Agilent 的双色cDNA点制芯片。

下左, Amersham的CodeLink™ 单色点制芯片。

下中, Mergen的点制寡聚核苷酸双色芯片。

下右, Agilent的双色原位合成60mer寡聚核苷酸芯片。

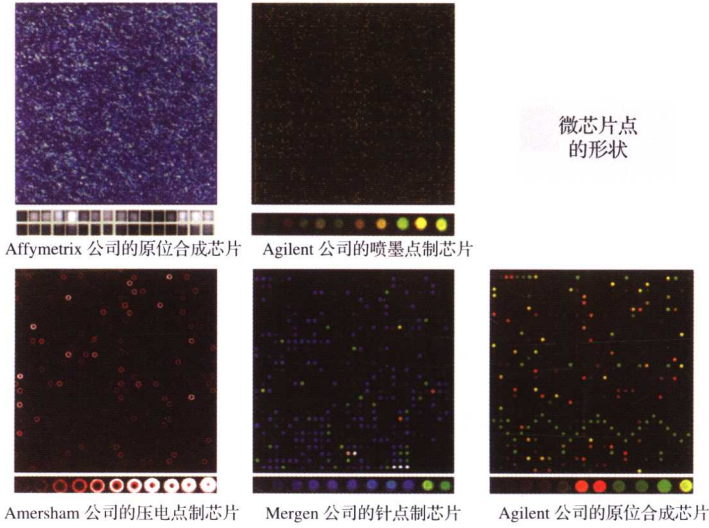


图 15-2 四种芯片平台的散点图

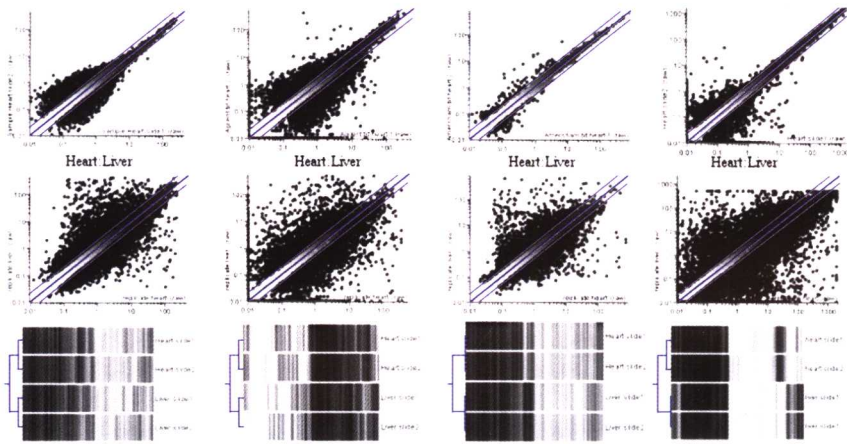
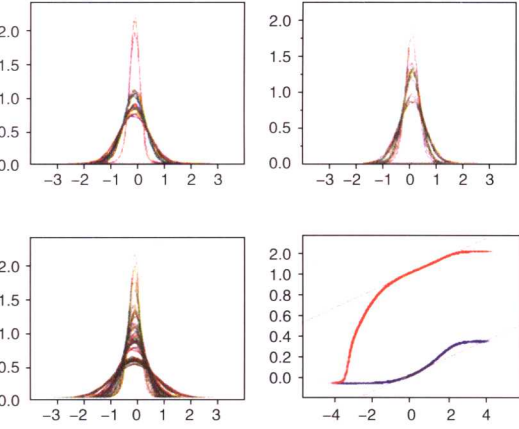


图 15-4

上排左右: 两批CodeLinkUSMI芯片中, 每批 (9张芯片) $\log_2$ 比率的分布图, x轴为倍数变化, y轴为丰度。

下排左: 在USMI两批芯片 (18张芯片) 中, 所有可能的 $\log_2$ 比率的分布图。

下排右: 分布数图表明 $\log_2$ 转化的芯片数据的比率比原始比率更符合正态分布



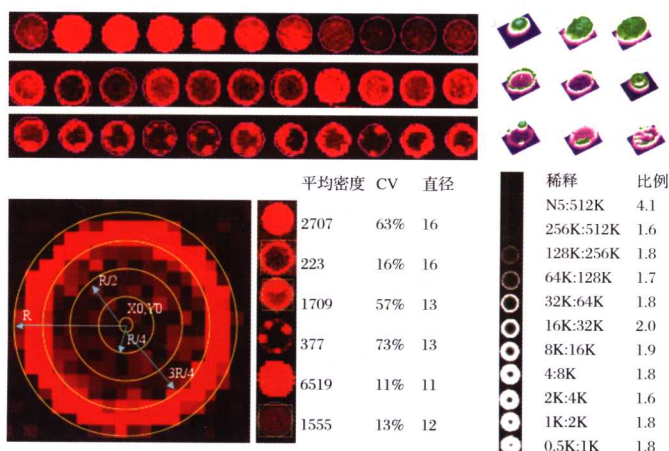


图15-6 左上, 第1排: 30mer寡聚核苷酸探针用标准针式点样技术分配。样点直径大约200 μm , 而且表现出良好的重复性。右边的图列举了所选样点表面的像素强度值, 显示出典型的中央加权的针式沉积模式。在 $R=1$ 的情况下, 通过这些样点边界像素值计算CV, 值的范围由18%~63%。左上, 第2排: CodeLink 30mer寡聚核苷酸探针在标准缓冲液中通过压电点样。样点表现为典型的环状形态, 直径大约185 μm , 具有很高的样点间重复性。样点边界像素值的CV范围16%~40%。右边的图表表明样点强度具有边缘加权的沉积模式和独立的总强度^[73]。左上, 第3排: 30mer寡聚核苷酸在挥发性缓冲液中通过压电点样, 导致高的干燥率且形态很差。圆周像素数据的CV常超过500%。左下: 图表显示样点区域, 像素的强度数据从此区域提取, R 为样点的半径, X_0 和 Y_0 为样点在芯片上的位置。下中: 选择的样点和对应的强度平均值、CV和直径, 这间接表明CV和信号强度与形态没有直接关系。右下: CodeLink和Mergen芯片的压缩比率检验。GND1和对应的GAP(DH)用于衡量压缩比率错误的稀释效果。重复样点间的强度中值, 用于计算基于外标样稀释水平的比率。在芯片荧光水平的中值附近, 样点表现出最低的压缩错误^[25]

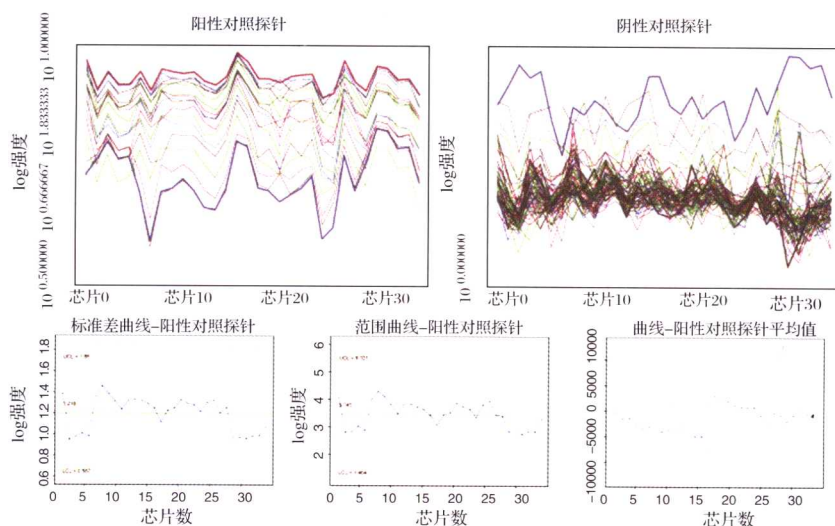


图 15-7 上部: 所有CodeLink Uniset表达微阵列芯片都含有细菌对照探针、18个正对照和50个负对照。32张连续芯片中这些探针 $\log_{10}$ 强度被分别绘出。左下: Shewhart标准差对照图(S-chart)显示正对照探针间的标准差。中下: Shewhart范围对照图(R-chart)显示正对照探针间的平均范围。右下: CUMSUM图显示在第15张芯片附近所有正对照探针的平均值的拐点, 以此阐明累积趋势的预测^[77]。x轴代表芯片, y轴代表 $\log_{10}$ 强度值