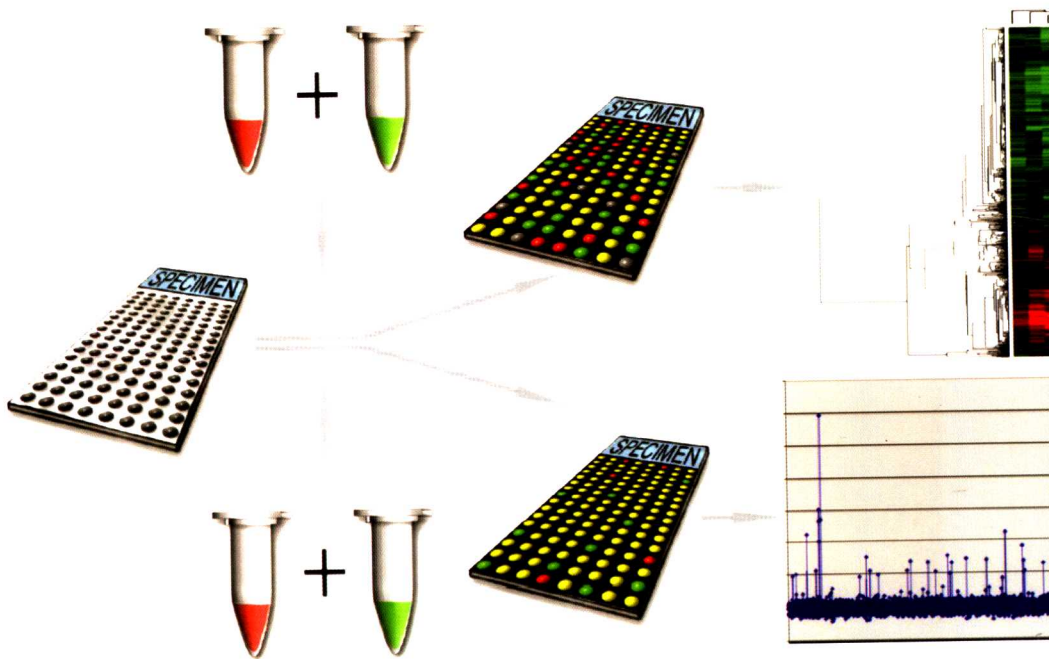
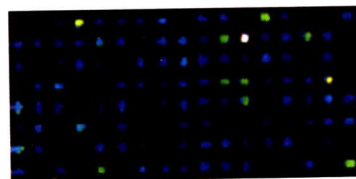


基因芯片与 功能基因组

李瑶 主编



化学工业出版社
现代生物技术与医药科技出版中心



基因芯片与功能基因组

李 瑶 主 编
裘敏燕 刘三震 裴 军 戴建凉 副主编



化学工业出版社
现代生物技术与医药科技出版中心

· 北 京 ·

(京) 新登字 039 号

图书在版编目 (CIP) 数据

基因芯片与功能基因组/李瑶主编. —北京: 化学工业出版社, 2004.7
ISBN 7-5025-5882-9

I. 基… II. 李… III. 基因-芯片-基本知识
IV. Q78

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2004) 第 077324 号

基因芯片与功能基因组

李 瑶 主 编

裘敏燕 刘三震 裴 军 戴建凉 副主编

责任编辑: 周 旭 郎红旗

文字编辑: 周 侗

责任校对: 洪雅姝

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)

发行电话: (010) 64982530

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

*

新华书店北京发行所经销

北京市彩桥印刷厂印刷

北京市彩桥印刷厂装订

开本 787mm×1092mm 1/16 印张 20½ 彩插 4 字数 505 千字

2004 年 9 月第 1 版 2004 年 9 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-5882-9/Q·108

定 价: 50.00 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

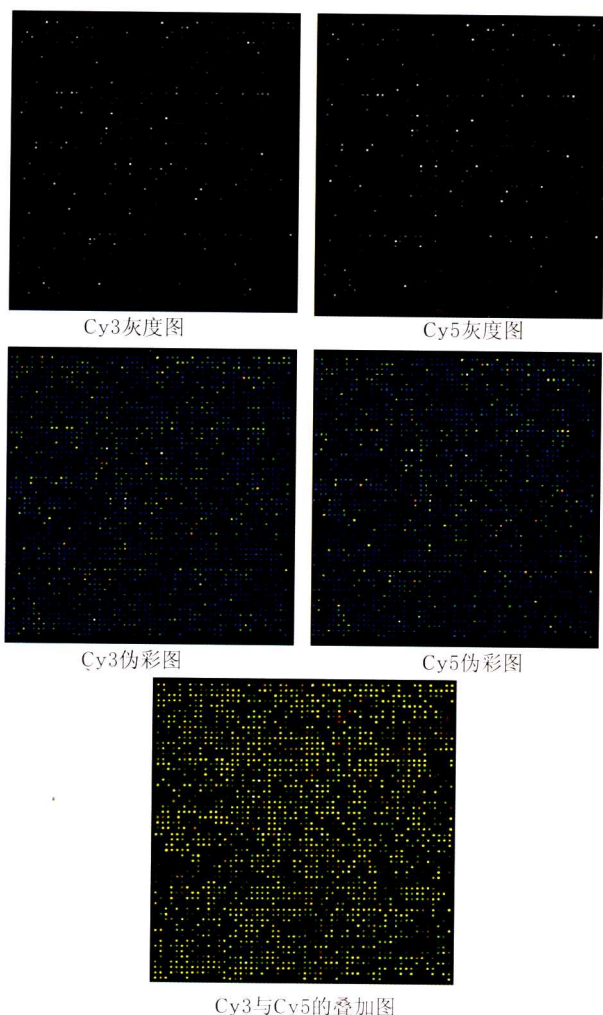


图4-5 三种基因芯片的图像显示方式

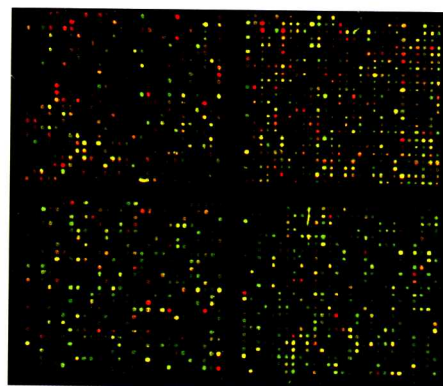
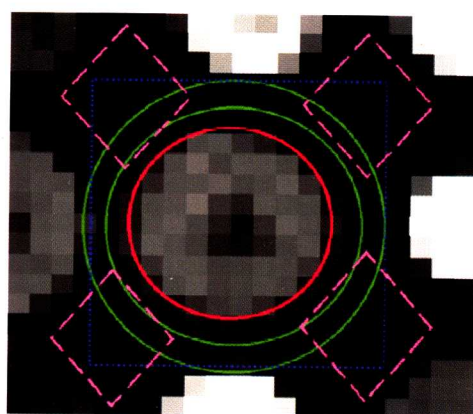


图4-6 cDNA芯片图像
(图像中有4个子格)



红色圈所围区域是信号点框，其他颜色线条表示不同软件计算背景值时所选区域不同；ScanAlyze把蓝色矩形内且不在红圈内的像素作为背景信号；QuantArray把两个同心绿色圆间的像素作为背景值；GenePix则把四个粉色区域作为背景区域，这四个区域是芯片中的低谷，与围绕的周围的四个信号点距离最远

图4-7 不同的背景值确定方法

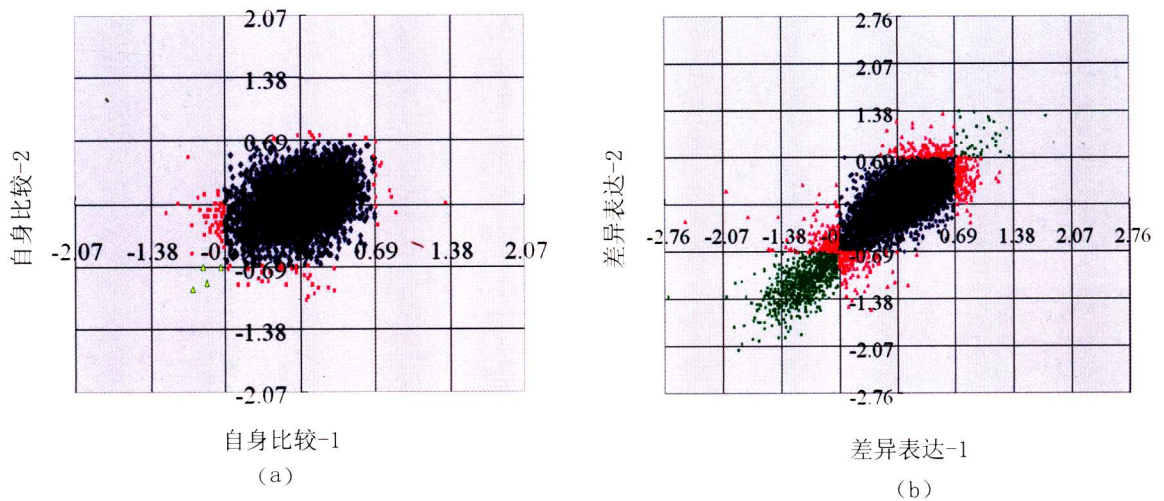


图6-5 重复实验散点图

(a) 两次重复自身比较实验的ln ratio值作散点图，横轴“自身比较-1”为第一次自身比较实验的ln ratio值，纵轴“自身比较-2”为第二次自身比较实验的ln ratio值。(b) 两次重复差异表达实验的ln ratio值作散点图，横轴“差异表达-1”为第一次差异表达实验的ln ratio值，纵轴“差异表达-2”为第二次差异表达实验的ln ratio值

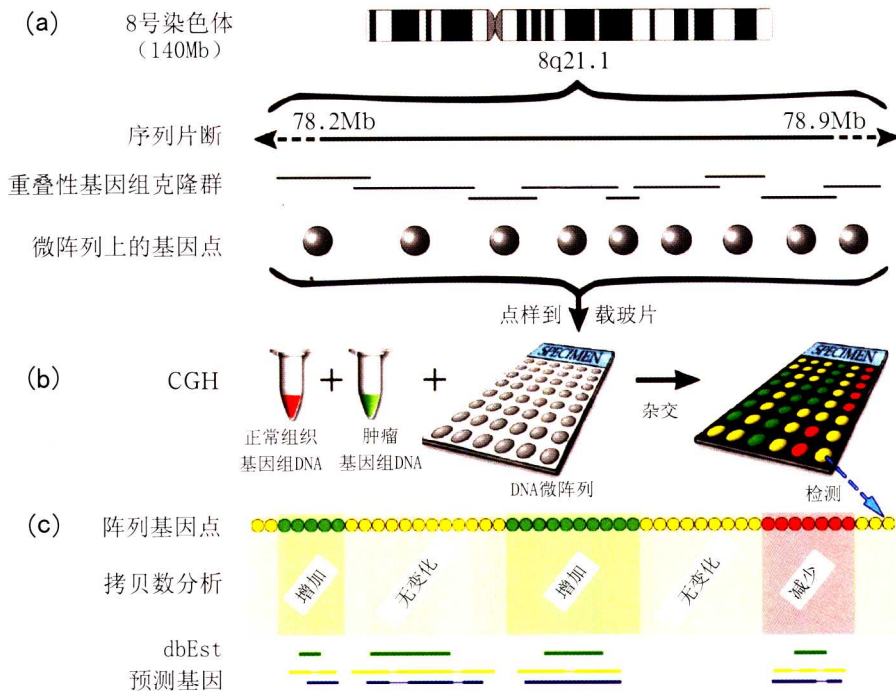


图7-1 阵列CGH示意

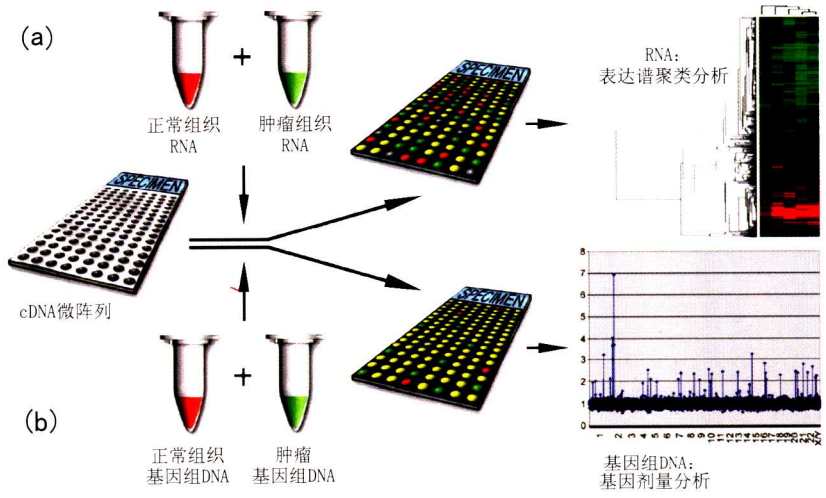


图7-2 cDNA微阵列CGH示意

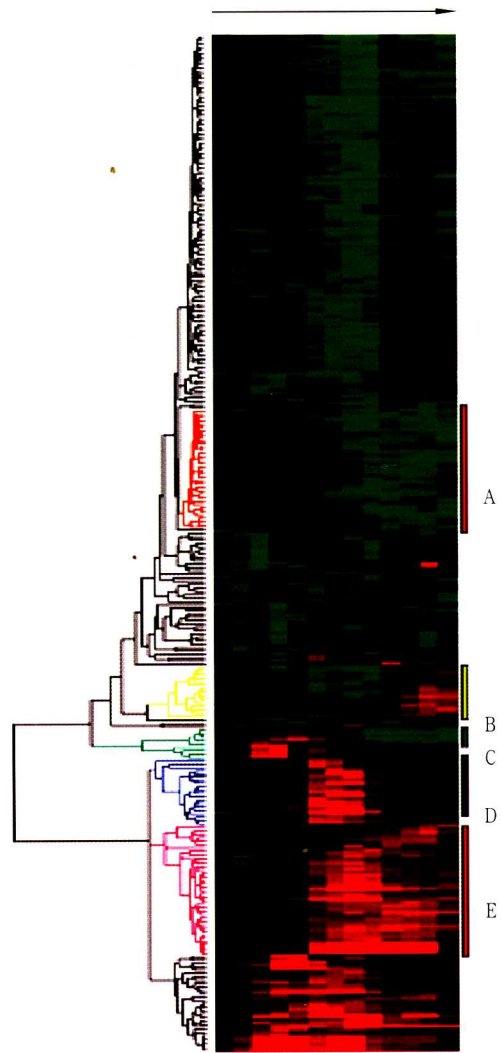


图8-1 人纤维原细胞在血清中不同时间点的芯片数据聚类分析结果

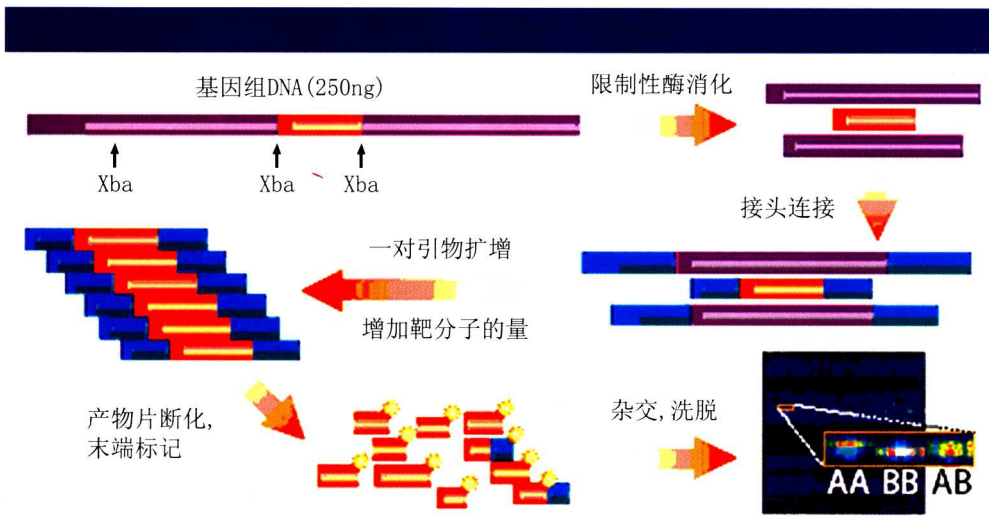


图11-5 Affymetrix公司高通量SHP检测产品

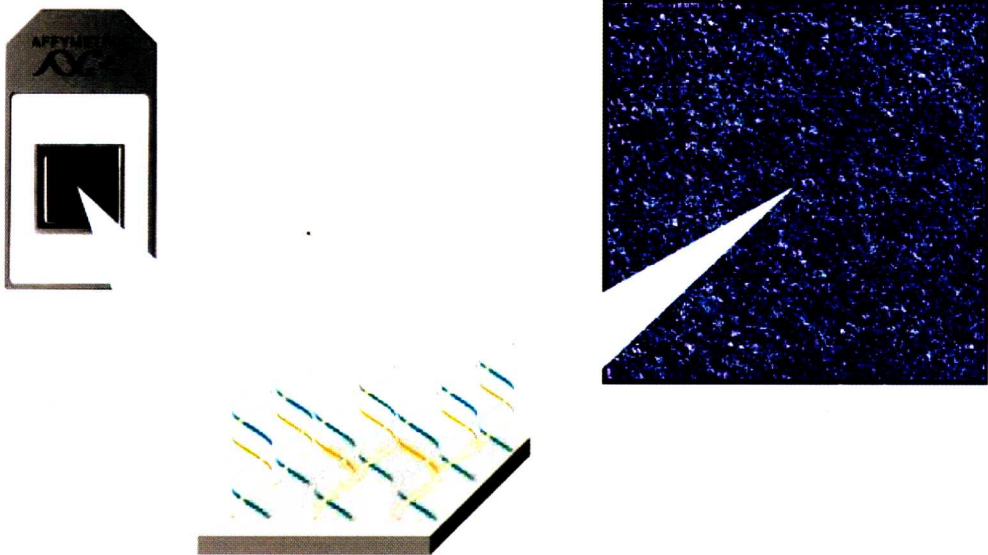


图12-3 Affymetrix 的微阵列产品GeneChip® Arrays

内 容 提 要

本书主要包括基因芯片及功能基因组相关的基本知识、基因芯片的制备和检测技术、基因芯片的检测原理和应用范围、基因芯片相关的生物信息学,其中有关基因芯片应用方面重点介绍了肿瘤基因组学、药物基因组学及临床医学方面的内容。考虑不同读者知识点的差异,本书尽可能地阐明基因芯片的基本概念、原理及如何将基因芯片应用于功能基因组研究中,引用最新的文献和网络资料,反映基因芯片当前的新进展,从实用的角度出发阐述问题。

本书适合作为生物芯片的入门教材和科研参考书,帮助读者深入了解基因芯片技术及应用。

《基因芯片与功能基因组》编写人员

主 编：李 瑶

副 主 编：裘敏燕 刘三震 裴 军 戴建凉

编 写 人 员 （以姓氏笔画排序）：

马允胜 复旦大学信息学院
付旭平 复旦大学生命学院遗传所国家重点实验室
刘三震 博星基因芯片有限责任公司
李 涛 博星基因芯片有限责任公司
李 瑶 复旦大学生命学院遗传所国家重点实验室
陈菊祥 第二军医大学附属长征医院
金杨晟 联合基因科技（集团）有限公司
郭学青 复旦大学生命学院遗传所国家重点实验室
黄 燕 联合基因科技（集团）有限公司
黄建锋 博星基因芯片有限责任公司
韩志勇 博星基因芯片有限责任公司
裘敏燕 博星基因芯片有限责任公司
裴 军 博星基因芯片有限责任公司
戴建凉 复旦大学生命学院遗传所国家重点实验室
魏 庆 复旦大学生命学院遗传所国家重点实验室

前 言

探索自然的奥秘是人类发展的重要原因和动力，当今社会生命科学的飞速发展和人类自身的命运息息相关。人们渴望了解自我，提高生命质量。毫无疑问，解码生命、揭示生命发生发展的规律是这个时代神圣使命之一。

生命现象是自然界的一大奇迹，生命里最本质的内容就是遗传，即亲代的性状在子代得到表现。从1866年遗传学之父孟德尔（Mendel）提出遗传因子开始，人类对生命的认识进入理性阶段。1953年沃森-克里克（Watson-Crick）提出核酸DNA分子的双螺旋结构，这是生命科学发展史上的一个重要里程碑，是现代遗传学的基础，生命科学也因此深入到分子研究水平。随着实验技术的不断革新和发展，生物学数据日益膨胀。以DNA序列为例，1997年的GenBank数据库有176万条序列，到2002年，数据量就增加到2232万条。量上的积累使得人们有可能从基因组的角度研究生物，这就形成了以基因组为研究对象的基因组学（genomics）。

显然，面对犹如潮水般的海量数据，传统的以杂交或电泳为基础的基因表达、测序、突变检测和多态性分析等研究方法效率太低，无法适应现代研究的要求，因此，基因芯片应运而生。

作为一门充满期待的新技术，基因芯片得到越来越多的关注，应用面也日益广泛。本书结合我们的实际工作经验，侧重介绍基因芯片技术和生命研究的关系及发展。考虑不同读者知识点的差异，本书尽可能地阐明基因芯片的基本概念、原理及如何应用于功能基因组研究中。引用最新的文献和网络资料，反映当前的新进展，并结合作者们的工作体会，从实用的角度出发讨论问题。所以本书适合作为基因芯片的入门教材和科研参考书，帮助读者深入了解基因芯片技术及应用。

由于篇幅的限制，本书着重介绍基因芯片的几个主要方面，包括基因芯片及功能基因组相关的基本知识、基因芯片的制备和检测技术、基因芯片的检测原理和应用范围、基因芯片相关的生物信息学，其中有关应用方面重点介绍了肿瘤基因组学、药物基因组学及临床医学方面的内容。由于该领域进展迅速，可能有些内容没有全部包括；同时本书的编者基本上是在基因芯片技术第一线的年轻科研工作者，在阅历和写作技巧上都有待提高，我们深知自己的水平有限，错误和疏漏在所难免，欢迎热心的读者批评指正，以便在今后的修订工作中不断改进。

在本书编写过程中得到了第二军医大学的管惟滨教授及我们的同事陈沁女士和蒋君刚先生的修订指正，在此表示衷心的感谢！

李瑶

2004年5月

目 录

第一章 基因组与功能基因组	1
第一节 基因及其功能	1
一、基因的定义.....	1
二、基因的转录和转录调控.....	3
(一) 转录起始.....	3
(二) 转录起始的调控.....	5
(三) RNA 的合成与加工.....	6
第二节 基因组与基因组学	8
一、基因组.....	8
(一) 真核生物基因组.....	8
(二) 人类基因组.....	8
(三) 原核生物基因组.....	9
二、基因组计划.....	9
(一) 基因组作图.....	9
(二) 基因组 DNA 大规模测序.....	11
(三) 基因数据库.....	11
第三节 功能基因组	12
一、基因多态性.....	12
二、转录组学.....	13
三、蛋白质组学.....	14
四、药物基因组学.....	15
五、疾病基因组学.....	15
六、基因组医学.....	16
第四节 传统核酸检测方法	16
一、核酸的光吸收特性检测方法——分光光度法.....	16
二、核酸的电泳检测法.....	17
(一) 电泳原理.....	17
(二) 电泳的介质和分辨率.....	17
三、核酸序列检测技术.....	18
四、核酸的杂交技术.....	21
(一) 核酸杂交的分子基础.....	21
(二) 核酸探针的标记和检测.....	21
参考文献	27
第二章 生物芯片概述	28
第一节 生物芯片技术简介	28

一、基本概念	28
二、生物芯片技术的产生和发展	29
三、生物芯片的主要种类	30
第二节 被动式生物芯片	31
一、基因芯片	31
二、蛋白质芯片	32
(一) 蛋白微阵列的制备	32
(二) 蛋白微阵列的使用	33
(三) 蛋白质芯片的应用	34
三、组织芯片	34
第三节 微流控芯片	37
一、微流控芯片的制作材料和制作工艺	37
(一) 制作材料	37
(二) 微结构的制作方法	38
(三) 微结构的封接	39
(四) 微流控芯片的功能元设计	39
二、微流体驱动与控制技术	40
三、微流控芯片中常用检测技术	40
(一) 光学检测	40
(二) 电化学检测	41
(三) 质谱检测	41
四、应用	41
第四节 微球在生物芯片中的应用	42
一、微球作为基于表面结合分析与检测的平台	42
二、悬浮阵列技术	42
(一) 荧光编码微球	42
(二) 量子点编码微球	43
(三) 纳米条形码编码微球	43
(四) 悬浮阵列与平面微阵列的比较	43
三、表面修饰微球的结合动力学与热学动力学研究	44
四、微球应用于微流控芯片	45
五、展望	47
参考文献	47
第三章 基因芯片的制作方法	50
第一节 概述	50
第二节 芯片基片的制作	51
一、常见的基片类型	52
二、探针分子与基片表面的作用方式	52
第三节 探针的制备	57
第四节 点样仪及点样过程	59

一、接触式点样法	59
二、非接触式点样法	63
(一) 微螺线阀 (microsolonoid valve)	64
(二) 压电元件 (piezoelectric)	64
(三) 非接触式点样的关键技术因素	66
三、点样后处理	69
第五节 原位合成法	69
一、光导原位合成	69
(一) 合成原理	69
(二) 独特的 PM-MM 探针设计	71
(三) PM-MM 探针设计的优势	71
二、无掩膜原位芯片合成技术	74
参考文献	75
第四章 基因芯片检测技术	77
第一节 基因芯片检测仪	77
一、基本原理及主要组成部分	77
(一) 发光机理——荧光染料与荧光光谱	77
(二) 芯片的照明——光源	78
(三) 光探测器	80
(四) 光路系统	82
(五) A/D 转换器	83
二、有关检测系统的重要参数及扫描过程	84
(一) 信噪比	84
(二) 光漂白现象	84
(三) 灵敏度与动态检测范围	85
(四) 像素与分辨率	85
(五) 扫描过程	86
第二节 几种商品化基因芯片扫描仪简介	87
一、激光共聚焦扫描仪	87
二、激光非共聚焦扫描仪	89
三、CCD 基因芯片检测仪	90
四、国产扫描仪	91
第三节 芯片图像处理	93
一、芯片图像的性质	94
二、芯片图像的处理	95
(一) 样点的识别和位置的确定	95
(二) 图像的分割	96
(三) 信号的各种参数值的确定	99
(四) 芯片和样点质量的评估	99
三、常用的芯片图像处理软件	100

四、结论.....	100
参考文献.....	100
第五章 基因表达谱芯片实验及数据处理.....	102
第一节 基因表达谱芯片的设计.....	102
一、表达谱基因芯片原理.....	102
二、基因芯片设计.....	103
(一) 确定研究目标	103
(二) 探针的设计	103
(三) 芯片控制系统的设计	104
(四) 样本的选择和实验设计	105
第二节 实验过程.....	107
一、样本制备.....	107
二、样本标记.....	108
(一) 直接逆转录标记法	108
(二) 间接标记法	108
(三) RNA 的扩增标记法.....	109
三、芯片杂交.....	110
第三节 数据处理.....	110
一、数据显示.....	110
二、差异表达基因的选择.....	112
三、缺失数据的处理.....	114
第四节 其他大规模检测差异表达基因的方法.....	115
一、差异显示和随机引物聚合酶链反应技术.....	115
二、cDNA RDA	116
三、SSH 技术	118
四、SAGE 技术.....	120
五、ADGE-microarray	124
六、其他一些方法.....	126
第五节 利用寡核苷酸芯片检测 mRNA 可变剪接	127
第六节 基因芯片与功能基因组学.....	128
参考文献.....	129
第六章 表达谱芯片误差分析和可靠性评估.....	132
第一节 表达谱芯片实验的重复性评价.....	132
一、杂交动力学行为.....	132
(一) 杂交原理	132
(二) 影响杂交速率和杂交双链稳定性的因素	132
(三) 表达谱 cDNA 芯片动力学	134
二、芯片实验的评估方法.....	136
(一) 生物芯片的重复性	137
(二) 结果验证	143

第二节 芯片误差来源分析	144
一、生物学上的差异	144
二、技术上的误差分析	146
(一) 基因芯片制备过程	146
(二) 样本的检测过程	147
第三节 减少误差的措施	149
一、如何从实验设计开始就减少误差?	149
二、实验过程的质控——建立商业芯片平台的质量控制	151
(一) 制备过程	151
(二) 生产过程	152
(三) 成品质控	152
三、数据处理与矫正	153
参考文献	158
第七章 用基因芯片检测基因组 DNA	160
第一节 样本 DNA 的制备和标记	160
一、样本基因组 DNA 的制备	160
二、样本基因组 DNA 的标记	160
(一) 非扩增标记法	160
(二) 扩增标记法	160
第二节 基因拷贝数的检测	161
一、将微阵列技术应用于 CGH	161
二、阵列 CGH	162
三、cDNA 阵列 CGH	163
四、CGH 检测与分析	165
第三节 DNA 测序及再测序	166
一、杂交测序	166
二、叠瓦式阵列	166
第四节 寡核苷酸芯片直接杂交法	168
一、寡核苷酸芯片检测原理	168
二、寡核苷酸检测基因多态性的一般流程	168
(一) 芯片制备	168
(二) 样本制备、标记	169
(三) 芯片杂交	169
(四) 信号扫描和图像处理	170
三、设计过程中的注意点	170
第五节 基于基因芯片的酶反应方法	172
第六节 DNA 的甲基化检测	173
一、差异甲基化杂交方法	174
二、甲基化特异性寡核苷酸芯片方法	174
三、CpG 甲基化芯片的应用	175

参考文献	175
第八章 生物信息分析与数据挖掘	179
第一节 聚类分析	179
一、相似距离	179
二、数据的聚类	180
三、常用的聚类分析软件	185
四、聚类的用途	186
五、结论	187
第二节 基因芯片与系统生物学	188
一、系统生物学	188
二、系统生物学和基因芯片	190
三、转录调控网络	190
四、通路的研究	192
五、反向技术	193
第三节 基因芯片数据库	197
一、基因芯片数据库	197
二、MIAME 规则	198
三、SMD 数据库	201
(一) 系统简介	201
(二) 主要组成部分	201
(三) 使用指南	201
第四节 基因序列生物信息分析	204
一、公共数据库查询	204
二、序列生物信息分析	210
参考文献	214
第九章 基因芯片与肿瘤基因组学	216
第一节 肿瘤基因组学	216
一、肿瘤分子遗传学	216
(一) 原癌基因及癌基因	216
(二) 抑癌基因	218
二、表观遗传学	219
三、肿瘤的表达调控研究	220
第二节 肿瘤基因组学研究与应用	223
一、肿瘤的病理诊断和分子诊断	223
二、肿瘤的分子外科与基因治疗	225
第三节 基因芯片在肿瘤基因组研究和分子诊断中的应用	227
一、DNA 芯片在肿瘤发病的分子机理研究中的应用	227
二、基因芯片与其他肿瘤相关的应用研究	229
参考文献	232
第十章 药物基因组学和基因芯片的应用	233

第一节 药物遗传学	233
一、影响药物代谢的遗传多态性	234
二、影响药物转运的遗传多态性	243
三、药靶的遗传多态性	246
第二节 表达药物基因学	251
第三节 基因芯片在药物基因组学研究中的应用	254
一、药靶的研究	254
二、药物作用机理研究	256
三、药物毒副作用研究	257
四、药物筛选	257
五、个性化诊断和用药	258
六、中药现代化研究	260
参考文献	261
第十一章 基因芯片与临床诊断与检测	263
第一节 分子诊断概述	263
一、分子诊断的应用	263
二、分子诊断的常用方法	264
第二节 基因芯片与感染性疾病诊断	267
一、细菌的检测	267
二、病毒基因分型	268
三、耐药性检测	270
第三节 基因芯片与遗传性疾病诊断	272
第四节 基因芯片与 HLA 分型	274
一、HLA 基因结构	274
二、HLA 多态性	274
三、HLA 的生物学功能	275
四、HLA 分型的实际应用	275
五、芯片和 HLA	276
第五节 基因芯片与单核苷酸多态性检测	277
一、单核苷酸多态性的应用	277
二、单核苷酸多态性和基因芯片检测技术	278
三、SNP 网络资源	279
第六节 展望	279
参考文献	280
第十二章 基因芯片技术的展望	282
第一节 基因芯片制备(和检测)的新技术	282
一、分子电子定位	283
二、微阵列的喷墨技术点样	283
三、寡核苷酸包被的微珠芯片	284
四、平行信号测序技术	284