

现代生物技术前沿

MICROARRAY ANALYSIS

〔美〕M. 谢纳 著
张亮 等译

生物芯片分析



科学出版社
www.sciencep.com

Q563
XN
C.1

现代生物技术前沿

MICROARRAY ANALYSIS

〔美〕M. 谢纳 著
张亮 等译

生物芯片分析



SBA21/04

科学出版社

北京

图字:01-2003-5895

内 容 简 介

本书是对生物芯片(微阵列)技术进行全面论述的专业著作,对概念及理论基础进行了较为透彻的阐释,涵盖范围从生物化学原理一直到方法学的讨论以及研究中所用的基因数据的分析,内容包括生物芯片技术相关信息、基因表达、遗传聚类以及新创建的芯片技术,芯片的商品化应用和芯片技术在临床诊断中的应用也有涉及。本书由生物芯片北京国家工程研究中心翻译,忠实于原文,最大限度地反映原书的风格和韵味。

本书内容较为全面,使相关研究领域的研究者对相关知识容易领会并应用,兼具理论性和实用性。适于从事生物芯片研发应用以及分子生物学、生物化学、细胞生物学、免疫学、细胞生物学、生物信息学、生物技术、生物工程、蛋白质组学、基因组学等生命科学相关研究领域的教学科研人员参考使用,也可用作教材和教辅读物。

书名原文:Microarray Analysis

Copyright © 2003 by John Wiley & Sons, Inc.

All Rights Reserved. Authorized translation from the English language edition published by John Wiley & Sons, Inc.

图书在版编目(CIP)数据

生物芯片分析/(美)谢纳(Schena, M.)著;张亮等译. —北京:科学出版社, 2004

(现代生物技术前沿)

ISBN 7-03-013661-6

I. 生… II. ①谢…②张… III. 生物-芯片-分析 IV. Q78

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2004)第 065813 号

责任编辑:马学海 莫结胜 丁顺华 卢庆陶 / 责任校对:包志虹

责任印制:钱玉芬 / 封面设计:王 浩 陈 敬

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

源海印刷有限责任公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2004年10月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2004年10月第一次印刷 印张:37 1/4 插页 8

印数:1—3 500

字数:863 000

定价:88.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换(环伟))

译者序

随着人们对生命活动本质的深入认识,特别是人类基因组计划的提前完成,生物芯片技术已被越来越多的人所熟知,并成为国际生命科学前沿领域的研究热点。

对生物芯片技术有所了解的研究者都知道,本书作者谢纳(Mark Schena)是生物芯片技术的创始人之一。1995年秋天,在斯坦福大学做博士后的 Mark Schena 等人在 *Science* 杂志上发表论文,第一次成功地应用了此项技术对拟南芥的基因表达进行了分析。时隔 7 年后,Mark Schena 系统地整理了生物芯片技术所涉及的各个技术细节及最新发展趋势,花费 18 个月时间编写了《生物芯片分析》这本书。Mark Schena 本着自己对该领域的深刻理解和多年来积累的经验,在本书中对生物芯片技术做了一个全面的介绍,特别列举了一些翔实的事例来解释生物芯片技术在现代生命科学和医学中所发挥的作用,并且把他自己在实验室中获得的宝贵经验毫无保留地一一写出。

国内一些高校院所已经开展了生物芯片技术的研究和应用,并且有更多的研究者准备把这项技术应用到自己的工作中来。已经接触过生物芯片技术或即将使用生物芯片的研究者是否能回答出以下的一些问题呢?

- ① 如果要用人类的基因芯片来检测大猩猩样品中差异表达的基因,如何进行实验?
- ② DNA 固定到氨基化玻片上、蛋白质固定到醛基化玻片上的化学原理各是什么?
- ③ 为什么碱可以降解 RNA 而不降解 DNA?
- ④ 在做 1 000 个基因的 DNA 芯片之前,你是否计划进行小规模,例如 50~100 个基因的预备性实验呢? 生物芯片实验是否有规律可循?
- ⑤ 芯片上发生杂交反应时,当同源性达到多少时就可能发生交叉杂交的现象?
- ⑥ 为什么添加表面活性剂等物质可以使芯片点样时的样点直径增加?
- ⑦

这些问题平时我们可能没有去追根刨底寻求清晰的答案,但它们可能就是实验失败的原因所在。读完这本书,你对以上的问题直至生物芯片技术原理的理解和具体实验操作技能的掌握将会大大向前跨进一步。

生物芯片北京国家工程研究中心接受了科学出版社的稿约。在翻译《生物芯片分析》的过程中,译者强烈感觉到生物芯片技术在生命科学发展历史上的独特性,因为还没有其他的技术能把如此多的学科,如生物学、光学、化学、精密仪器、微加工、计算机科学等学科结合在一起,并且能对生物体系提供定量和系统的分析。也正由于生物芯片北京国家工程研究中心在生物芯片技术以上的各个环节中都有相关的专家正在进行研究,我们才有可能汇集不同领域的专家,及时地相互交流,在 6 个月内共同完成了此书的翻译。尽管如此,由于本书涉及的专业领域极为广泛,又限于译、校者水平,译文疏漏不当之处恳请专家和读者批评指正。

本书序言、第一章、第十二章由张亮翻译,第二章、附录由乔继英翻译,第三章由尹鸿英翻译,第四章、第十五章由郭永翻译,第五章由杨文军翻译,第六章、第十四章由张岩翻

译,第七章由王东翻译,第八章由王宪华翻译,第九章由周一鸣翻译,第十章由任永红翻译,第十一章由王从之翻译,第十三章、第十六章由陶生策翻译。

我们相信本书在中国的出版,一定能够促进生物芯片技术在中国的发展和成熟。

译 者

2004年4月

生物芯片北京国家工程研究中心
北京博奥生物芯片有限责任公司

序 言

一些画家把太阳画成一个黄色的点,而另外一些画家把黄色的点画成了太阳。

——Pablo Picasso

事物只要不至于让我自身毁灭,都会使我变得更加强大。

——Friedrich Nietzsche

我们为什么存在?生命是什么?生命死亡时会发生什么?上帝是否存在?本书并不能对以上的基本问题马上做出回答,它所做的不过是要对微阵列技术做一个较为广泛的介绍。在阅读此书时,您将感觉是在接受一种处罚,而并非是在读一本初级课本。更要紧的是,请您理解,和一位作家相比,让一位科学家花 18 个月来完成一本教科书的编写,而不是让他在实验室中花 18 个月来完成试验,会更让科学家感到捉襟见肘。此序言尽量给读者一个直接的引导,不过在最具挑战性项目的描述上难免还是存在一些因极度兴奋而产生的谰语。

在我离开加利福尼亚大学圣弗朗西斯科分校去斯坦福大学之前,我常听到 Ron Davis 的谆谆箴言,我一直在遵循这些教导,但几年后我并没有取得成功。在许多情况下,生物学问题最终的解决都源于技术上的突破。此书也着重于技术上的发展。1990 年在斯坦福大学的一家咖啡馆里,经过一次简短的谈话,Ron 不很确定地(就如法国占卜家预言时那样)说我应该发展一种新技术,在此后几年里,我能回想的全部经过就是这样,当时我们两人都没有想像过是什么具体的技术。在长期从事开花植物拟南芥转录因子功能的研究中,Ron 和我逐渐认识到基于固体表面的一种基因表达分析技术将给医学和农业科学带来一场技术上的革命。我当时并没有意识到所进行工作的重要性。我们两人也都没有意识到随着此项技术的进步所带来的广阔前景。

在科学研究过程中总是有“找到了”的惊喜一刻。“找到了”这个词汇在本书中是很合适的,因为它也是加利福尼亚的格言。在 Ron 办公室的一次讨论中,Ron 告诉我他们在加州 Santa Clara 成立了一家公司,正在运用高密度寡聚核苷酸阵列进行基因测序。在查阅了 Affymetrix 公司出版的一些资料后,我突然有了一个用微阵列来研究基因表达的想法。与 Affymetrix 公司通过用短的寡聚核苷酸杂交测序方法不同,我认为用长的寡聚核苷酸来研究基因表达更合适。“找到了”!

在还没有证据显示生物学实验能在玻璃片上进行之前,我们开始在微阵列芯片上进行实验。微阵列的概念是 1994 年夏天我在 Holland 看电影时在观众爆发的笑声中想到的。在那种场合中,我大致勾画了微阵列分析实验的基本途径(图 P. 1)。同时我也想到了首次用于微阵列分析的酶学标记方法,实验证明了采用此方法从酵母和植物 mRNA 来制备荧光标记探针的合理性(图 P. 2)。

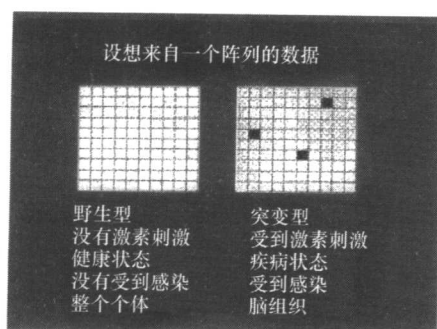


图 P.1 微阵列分析的基本概念。把标记的对照样品(左边)和实验样品(右边)混合后,用微阵列技术,就能分析这些样品的基因表达谱,从而得到基因型、激素作用、疾病状态、感染状态和组织特异性的基因表达信息。[经允许复制于 M. Schena (1994)。数据由斯坦福大学 M. Schena 和 R. Davis 提供。]

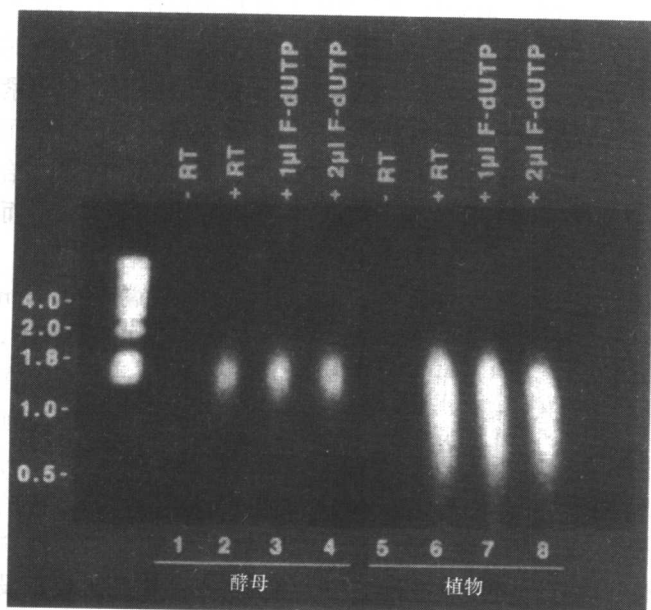


图 P.2 第一次微阵列实验中的标记结果。提取酵母和拟南芥的 mRNA 用 Oligo dT 做引物进行反转录,反转录反应体系中掺入 fluorescein-dUTP。反转录产物进行琼脂糖凝胶电泳,溴化乙锭染色。[经允许复制于 M. Schena (1994)。数据由斯坦福大学 M. Schena 和 R. Davis 提供。]

作为原理性的实验,我们和 Affymetrix 公司合作制备了第一块微阵列芯片,使用荧光素标记的寡聚核苷酸探针证明了微阵列分析的特异性(图 P. 3)。利用此微阵列芯片与标记的基因表达产物进行杂交我们获得了一些令人满意的结果,但是由于探针制备过程还不很完善导致了一些非特异性杂交(图 P. 4)。第二次实验是和斯坦福大学的 Dari Shalon 和 Patrick Brown 合作的,这次我们用 cDNA 微阵列,并获得了较好的特异性(图 P. 5)。在 cDNA 微阵列构建过程中用到了微阵列点样用的机械手。正如事先预料的那样,实验获得了不同拟南芥植株清晰的基因表达信息。在 1995 年夏天威斯康星大学麦迪逊分校,我们公布了这些实验结果(图 P. 6)。点制的方式也被用来和加州 Palo Alto 的 Synteni 合作制备第一张人类基因的微阵列芯片。尽管当时有些专家提出警告说人类基因组上的重复序列会妨碍用微阵列芯片来研究人类基因的表达,但是这项工作仍得以开展起来。1995 年 10 月在斯坦福 Sierra Retreat 公布了人类第一个微阵列芯片(图 P. 7)。

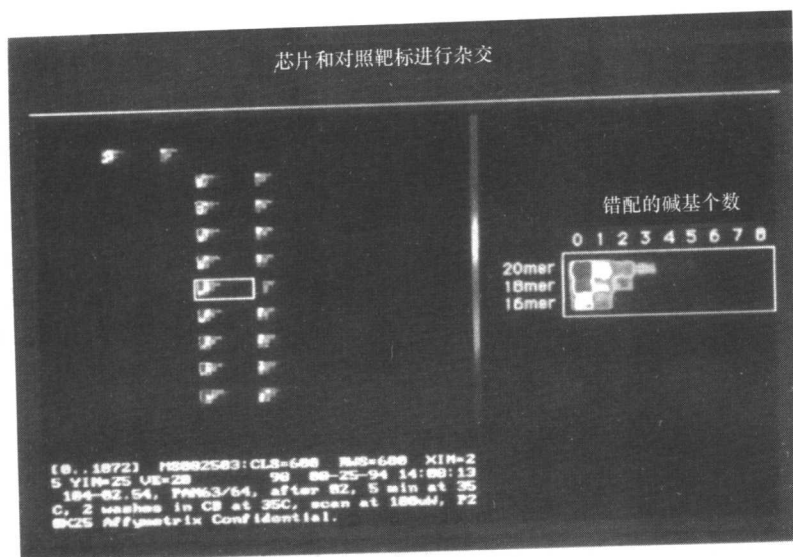


图 P.3 Affymetrix 公司用大规模固相聚合技术制备的第一张微阵列芯片。芯片和两个荧光素标记的寡聚核苷酸(PAN63 和 PAN64)杂交以评估分析的特异性和检测的灵敏度。图的右边是为了方便观测而放大的一部分。[经允许复制于 M. Schena 和 D. Shalon(1994)。数据由斯坦福大学 M. Schena 和 R. Davis 提供。]

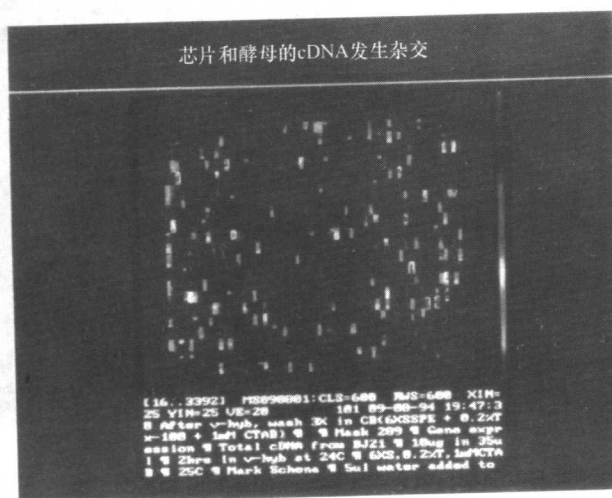


图 P.4 第一次微阵列芯片分析实验结果。酵母寡聚核苷酸微阵列芯片由 Affymetrix 公司用固相聚合技术制成。酵母的 mRNA 通过反转录标记上荧光素作为探针, 和芯片在盖玻片下进行杂交。资料由 Schena 在 1994 年 9 月 9 日实验得到, 并且于同年 10 月 5 日在斯坦福 Sierra Camp 公布。(数据由斯坦福大学 M. Schena 和 Ron Davis 提供。)

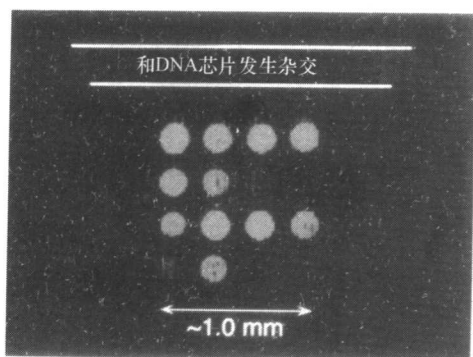


图 P.5 第一张点制的 cDNA 芯片。此 cDNA 芯片由斯坦福大学 P. Brown 实验室用挤压点样方式的点样仪点制。把经过扩增的拟南芥基因 cDNA 以小液滴方式点制到经过化学修饰的玻璃片上。然后此微阵列芯片和荧光素标记的 cDNA 进行杂交来评估杂交的特异性和检测的灵敏度。[经允许复制于 M. Schena 和 D. Shalon(1995)。数据由斯坦福大学 M. Schena 和 Ron Davis 提供。]

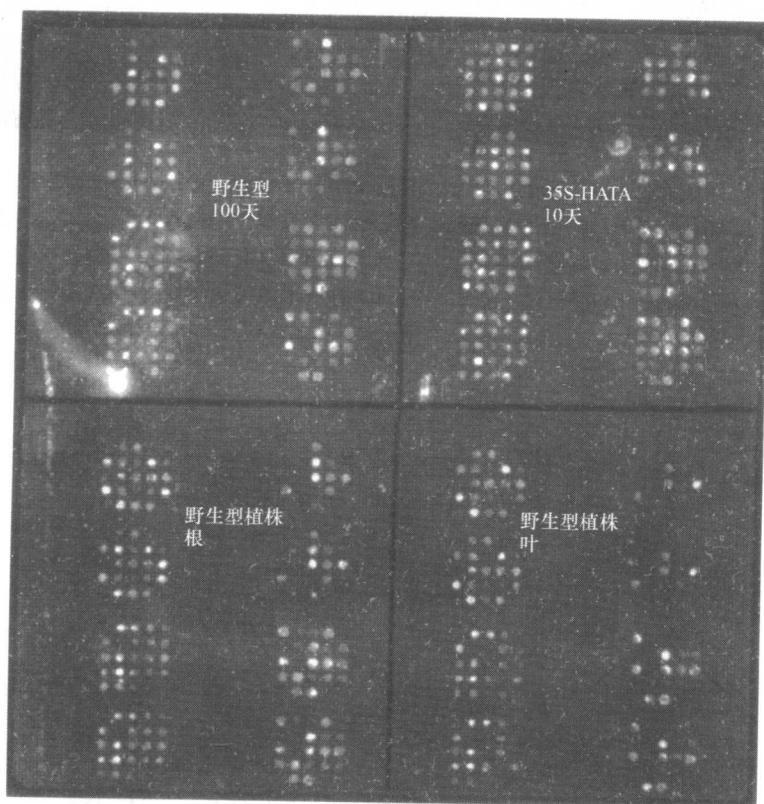


图 P.6 第一个 cDNA 芯片实验, 拟南芥 cDNA 微阵列芯片和由不同来源的拟南芥 mRNA 制备的荧光标记的 cDNA 进行杂交。此实验可用来分析野生型植株、转基因 HATA 植株、植株根、叶中基因的表达情况。[经允许复制于斯坦福大学 M. Schena 和 D. Shalon(1995)。数据由 M. Schena 和 Ron Davis 提供。]

自第一篇有关微阵列技术的论文于 1995 年秋季在 *Science* 杂志上发表后 (Schena *et al.*, 1995), 微阵列技术领域的研究迅速发展起来。现在用微阵列技术分析的物种包括人、酵母、小鼠、大鼠、黑猩猩、大猩猩、果蝇、线虫、玉米、水稻和细菌。同时微阵列技术已经应用于多种研究中, 包括基因型分析、组织分析和蛋白质研究等。目前有超过 300 篇的

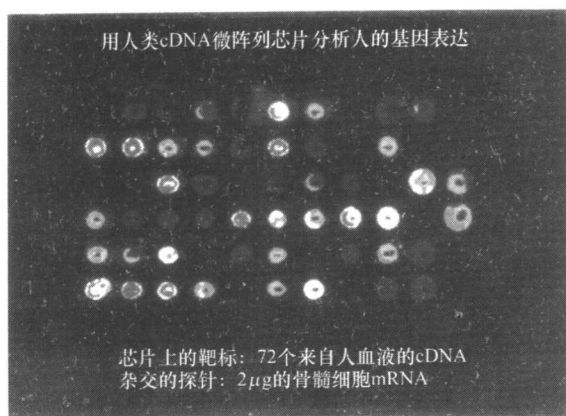


图 P.7 第一张人类基因的微阵列芯片。扩增人类血液 cDNA 文库中的 72 个克隆, 点制到玻璃片上制成芯片。把来自骨髓的 mRNA 标记上荧光素和芯片进行杂交。杂交图片用彩虹模式来显现。[经允许复制于斯坦福大学 M. Schena (1995)。数据由 M. Schena 和 Ron Davis 提供。]

论文与微阵列分析有关(见参考文献)。这些论文从不同的角度表明了微阵列技术的多样性、不同研究单位的研究侧重点以及此技术领域商业化产品的多样性。

微阵列技术爆炸式的发展速度、微阵列技术高科技的特性以及青年科学家对微阵列技术越来越高的要求,这些是促使我编写《生物芯片分析》这本书的原因;我认为把微阵列技术领域有关的专业书籍和科学论文进行系统整理的必要性和朋友 Tom Tisone 对我的鼓励是促使我编写此书的动力。这些年,在微阵列技术方面的专长使我获得了很多报酬。我觉得现在我对科研界做出一些回报是我的义务,逻辑上也是行得通的,虽然可能有些迟了。

因此当 John Wiley & Sons 出版社的生命科学和医学编辑 Luna Han 和我的出版代理人 Paul Haje 联系我写《生物芯片分析》的时候,我很快同意了。我本来安排 6 个月来写作此书,但实际上我花了 3 倍的时间。对一个生化博士来说预计的 6 个月太少了。我敢说在美国最有名的大学生化系里的导师也不能在 6 个月里写完 1 500 页的科学论文手稿,这就算给我自己的一个自我辩护吧。有几次我和 Luna 开玩笑说我成了 Wiley 出版社的罪人了,但也不能这么说,因为即使我作为 Wiley 出版社的罪人也还是较其他教科书的写作者得到了 Wiley 出版社更多的照顾。不管是不是玩笑,要是没有 Luna 坚持不懈的支持和引导,这本书可能不会完成。因此我要向 Luna 和 Wiley 出版社的各位员工致以最衷心的感谢,是他们促成了《生物芯片分析》的成功出版。

《生物芯片分析》这本书适合于广大不同的读者,包括大学、医院、政府机关和非营利组织中的大学生、研究生、博士后、教师、研究工作者、临床大夫、投资家、律师以及商人。此书打算对现代微阵列技术所有范畴提供一个概念上、实验设计上和方法学上的基本描述。第一章简单介绍了微阵列技术;第二到第四章阐述了与微阵列技术相关的化学、生化、基因组学的基本概念;第五到第九章描述了微阵列芯片表面化学、靶标、探针、芯片制备、检测、数据分析和建模的方法;第十到第十三章解释了微阵列技术的方法学、超净工作间技术、基因表达谱、基因型检测和诊断技术。其他各自的章节讲述了微阵列技术新的进展(第十四章)、商业化的产品(第十五章)和微阵列技术未来发展趋势(第十六章)。每一章节中也包括一些问题,目的是想在大学课堂、技术工作室和成人教育课程中对教学起到辅助作用。微阵列技术领域未来的发展仍取决于受过高等教育的学生和科学家们。我也

希望《生物芯片分析》这本书能在培养新一代微阵列技术人员(包括我们年青的、理解能力强、悟性高的学生,见图 P. 8)中发挥作用。

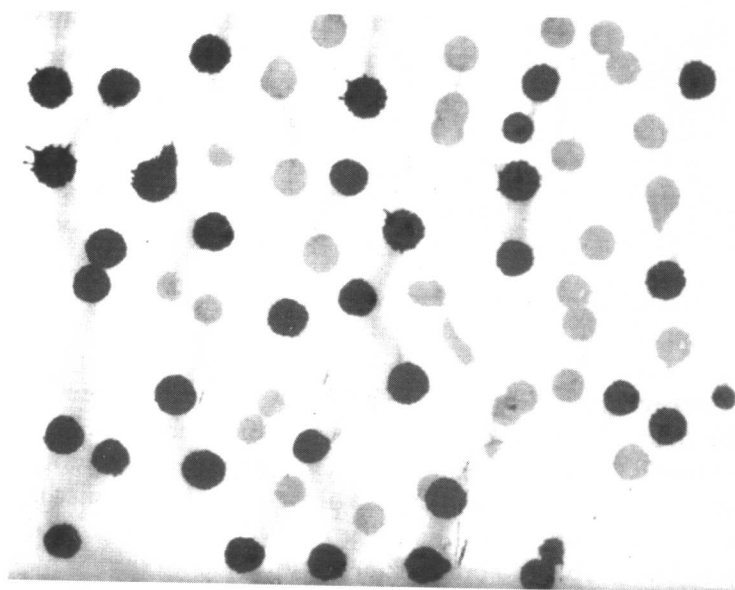


图 P. 8 已知最小的微阵列技术人员制备微阵列芯片的第一次尝试。
(数据来源于加州 San Carlos 5 岁的 Julia Kaplan。)

人类是否已经到了文明的转折点? 自从我们最早的祖先出现在非洲大陆上, 遗传和传染性疾病就一直在人类社会肆虐。疾病是什么? 疾病不过是正常细胞的基因功能受到破坏的一种表现; 而微阵列技术能够通过分析基因表达模式、序列变化和其他生化过程来快速了解疾病的状态。50 年之后以及人类疾病根除很长时间以后, 那时我们以一种不轻信的眼光回过头来看人类新纪元的开端时, 我们就想知道人类曾经是如何受到癌症、心脏病、艾滋病和成千上万种其他疾病威胁的。这只不过是那时的想法, 现在我们还努力地工作。

M. 谢纳 (Mark Schena)

目 录

译者序	
序 言	
第一章 微阵列分析导论	(1)
第二章 化学导论	(24)
第三章 生物化学基础	(49)
第四章 基因和基因组	(68)
第五章 微阵列芯片表面	(86)
第六章 靶标和探针	(108)
第七章 微阵列制备	(140)
第八章 微阵列芯片检测	(175)
第九章 微阵列信息学	(229)
第十章 方法论结构	(296)
第十一章 超净间技术	(312)
第十二章 基因表达谱分析	(329)
第十三章 遗传筛选和诊断	(350)
第十四章 微阵列新技术	(367)
第十五章 商业机会 A 到 Z	(376)
第十六章 未来趋势:生物芯片用于临床	(399)
附录 A 前缀	(407)
附录 B 单位缩写	(408)
附录 C 缩略词表	(409)
附录 D 转换	(413)
附录 E 核酸分子质量计算	(414)
附录 F 微阵列点面积计算	(415)
附录 G 微阵列荧光密度计算	(416)
附录 H 微阵列靶标密度计算	(417)
附录 I 微阵列网站	(418)
参考文献	(420)
术语解释	(518)
答案	(547)
索引	(555)

第一章 微阵列分析导论

1

任何足够先进的技术就如同施了魔法。

——Arthur C. Clarke

微阵列分析的强大力量正在席卷农业、医学领域。它用含有成千上万种 DNA 和蛋白序列的小型玻璃芯片取代了传统生物分析中所用的凝胶、滤器和纯化柱。微阵列技术的作用就像生物微处理器,能够在基因组规模上对**基因表达谱**、患者基因型、药物代谢、疾病的发生和进展过程进行快速和定量的分析。这一章节主要介绍微阵列技术的定义、起源、从实验技巧方面着眼的历史基础,并且讨论了此技术是如何在生命科学和医学研究领域引起革命的。

微阵列分析(microarray analysis):利用微阵列芯片通过五个实验步骤来研究生物、化学及物理方面的问题。

基因表达(gene expression):遗传信息从基因传递到信使 RNA 再传递到蛋白质的细胞活动过程。

什么是微阵列?

微阵列是一种小型的分析装置,能够快速和精确地研究生物基因组信息,这是史无前例的。来自细胞、组织和其他来源的生物样品的**信使 RNA** 经反转录得到荧光染料标记的 cDNA,然后与含有成千上万个基因的**玻璃微阵列芯片**进行杂交(见图 1.1)。荧光

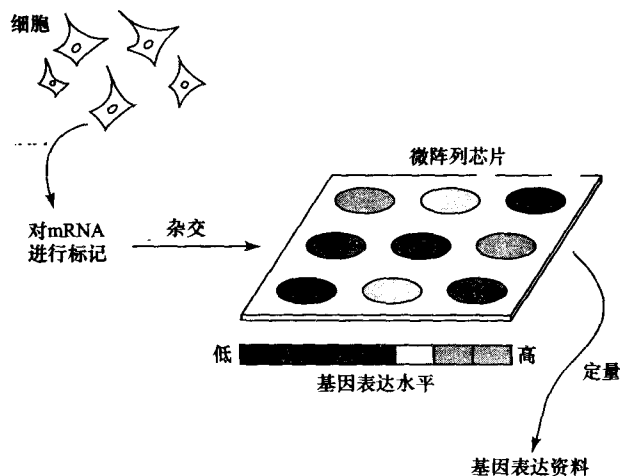


图 1.1 在微阵列分析中,从细胞中抽提得到 mRNA,把 mRNA 进行荧光标记,然后和含有基因序列的玻璃芯片进行杂交。芯片上每个点能和杂交液中荧光标记的特异性 cDNA 发生杂交结合,使得每个点的荧光信号和基因表达的丰度成正相关。荧光信号的强弱能以彩色模式来显示(水平的条块)。然后基因表达可以通过芯片上每个位置的荧光信号强度来定量。

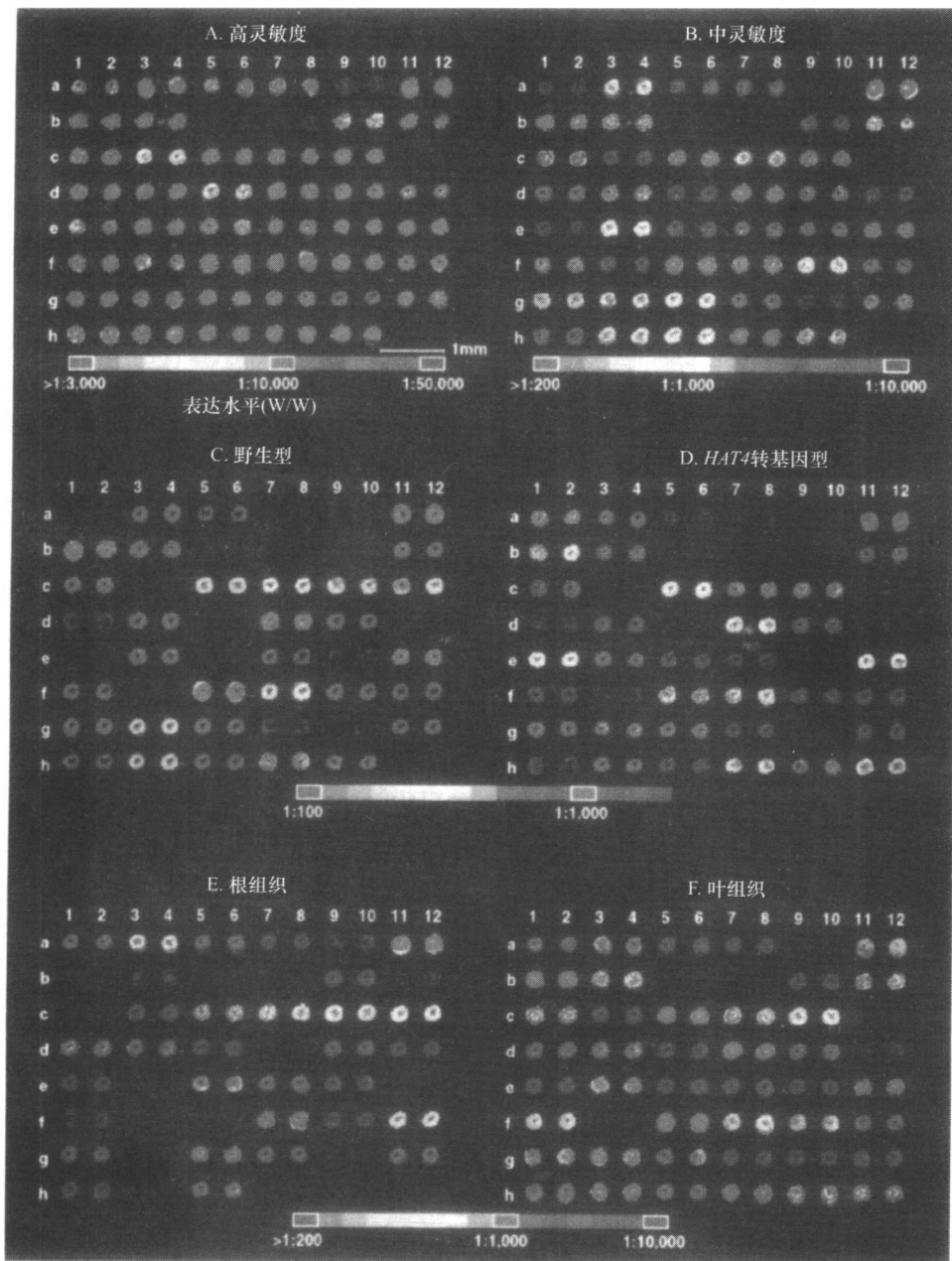


图 1.2 从第一篇微阵列芯片论文转载的扫描图。植物 cDNA 被印到化学处理过的玻璃基片上,然后使 DNA 变性。植物的 mRNA 经过反转录标记上荧光素,和微阵列芯片杂交,然后用激光扫描。激光扫描图片按照彩虹模式赋予不同的颜色,用已知量的人的 mRNA 进行校正。A 和 B 图是整个植株、C 图是野生型植株、D 图是转基因植株、E 是植株的根、F 是植株的叶的基因表达模式图。(经 *Science* 杂志同意转载。)

标记的cDNA与芯片上相匹配的DNA序列发生杂交反应,使得芯片上的点呈现出荧光信号,荧光信号的强度和基因表达的丰度成正相关(见图1.2)。微阵列芯片这种微型化的装置有着巨大的容量,使科学家在单次实验中就可以分析整个人的基因组。由于基因表达的模式和它们的功能密切相关,因此微阵列芯片为人类衰老、药物反应、激素反应、脑疾病、膳食及其他临床相关研究提供了史无前例的信息。微阵列技术也能用来检测基因序列的改变,因而为在遗传筛选、测试、诊断领域建立新方法扫清了道路。组织芯片和蛋白芯片正在对传统的组织免疫和生化分析进行微型化改造,加速了人们对肿瘤分类、蛋白-蛋白反应、酶活性的分析。由于微阵列技术可用来研究细菌、病毒、线虫、果蝇、植物、奶牛、鸡、小鼠、大鼠及灵长目基因组,它正在成为生物化学研究领域的诺亚方舟。

微阵列(microarray):是一种平面的基质载体,它上面规则地、特异性地吸附着基因或基因的产物。

信使RNA(messenger RNA):细胞内的一类经过精细剪接的RNA,包含着基因编码蛋白质的序列,它在DNA和蛋白质之间起信息中介的作用。

点(spot):是微阵列上的一个单元,含有靶标分子。

基因(gene):是基因组DNA中的部分片段序列,编码细胞特异的mRNA和蛋白质。

基因组(genome):指一个细胞中全部的DNA,包括核酸、基因和染色体。

生物化学(biochemistry):通过着重于DNA、RNA、蛋白质及其他生物分子的研究来阐述生命的化学基础的学科分支。

微阵列技术的起源?

微阵列技术是20世纪90年代初期斯坦福大学的Schena及其同事研究出来的。开发微阵列技术的思想最初是Schena和Davis在一次讨论如何开发一种革命性的技术来研究植物的基因表达过程中诞生的。在20世纪90年代初期,分离并了解植物的转录因子需要花费了大量的时间(Lloyd *et al.*, 1994; Schena *et al.*, 1992, 1993),但是由于在植物研究中缺乏有效的分析工具,使得转录因子的研究工作进展缓慢且工作艰辛。Davis支持在当时看来是一种比较奇异的想法,就是开发一种玻璃芯片来研究植物的转录因子,并且积极朝着这个方向努力,尽管当时在技术上还有很多困难。玻璃芯片在任何实验体系中都没有产生过生物信息,更何况以mRNA含量很少的拟南芥来研究基因表达的情况。我们该如何来制备这种芯片?如何来读取这种芯片上的信息?在玻璃片上互补的DNA能进行杂交吗?如何标记探针?从复杂的探针体系中获得足够的杂交信号吗?以上这些问题都凭借着Davis实验室和斯坦福大学生化系深厚的实验基础逐步得到了解决。如果没有那些带冒险性质的边缘学科和核酸生物化学研究的支持此项工作也不可能获得成功。

转录(transcription):基因表达的第一步,即在DNA模板的基础上合成mRNA。

我们的研究策略是在玻璃片上固定植物的基因序列从而制备成微型的阵列(微阵列),然后把植物的mRNA通过反转录反应标记上荧光素,再把荧光标记的样品和玻璃芯片进行杂交来检测植物基因的表达情况。在合适的实验条件下,微阵列芯片上每个植物基因的荧光信号能定量表示此基因的表达情况。当时设想有三个比较先进的方法来制备

芯片,它们是光引导原位合成、喷墨式点样和接触式点样(Lemieux *et al.*, 1998; Schena *et al.*, 1998)。这三种方法也是目前常用的主要方法(见第七章)。

4 微阵列技术的诞生得益于斯坦福大学深厚的核酸化学研究基础,包括从 20 世纪 50 年代到 90 年代发展的 DNA 多聚酶、重组 DNA、滤膜阵列方法、基因表达技术等(见下文)。微阵列技术要求多学科共同发挥作用,其中包括早期在固体表面所进行的实验(见下文)。早期在基因表达方面做的工作(Heller *et al.*, 1997; Schena *et al.*, 1995, 1996a, 1996b)也为目前微阵列技术的迅速发展壮大扫清了道路(见参考文献)。

微阵列是如何定义的?

微阵列是一种平面的基质载体,它上面有规则地、特异性地吸附着基因或基因的产物(见图 1.1 至图 1.3)。微阵列是一个新的科学词汇,它来之希腊词语“mikro”(“小”的意思)和法语“arrayer”(“阵列”的意思)。微阵列(有时也称为“生物芯片”,“DNA 芯片”,“基因芯片”)上按照行和列整齐地排列着许多单元,或称为点。一个分析装置被称为微阵列,必须符合以下标准:①有规则的;②显微尺度的;③平面的;④特异性的。不能符合以上标准、不能体现出微阵列优势的装置不能称之为微阵列。以下对每一条标准的简短讨论会有益于对微阵列定义的诠释,弄清现在的微阵列和以前的分析装置有何不同。一个与以上微阵列定义明显相区分的例子是在非遗传方面应用的类似装置。把有机化学物质、半导体材料、矿物质和许多其他类型的物质做成微型的阵列,此类技术在化学、物理地质学、材料科学中得到越来越多的应用。这一类的装置也能称之为微阵列,要求它们能满足以上四个条件中的三个就行了(即有规则的、显微尺度的和平面的)。

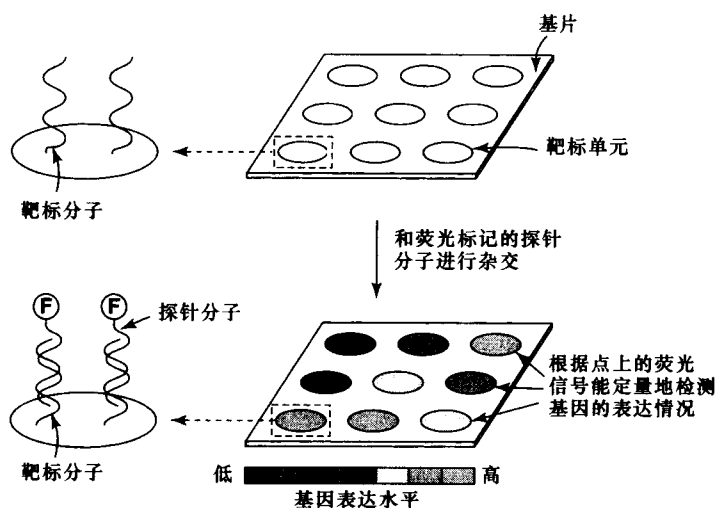


图 1.3 吸附在玻璃基片上的靶标 DNA 分子。单链的靶标 DNA 分子和溶液中荧光素标记的探针发生杂交结合,使得芯片上的点呈现出荧光信号,信号的强度和对应的基因表达水平成正比。为了表述上的方便,荧光信号的强度按照彩色模式来赋予不同的颜色(水平的条块),基因的表达情况能够通过检测芯片上不同位置的荧光信号来定量。

规则的阵列

一个规则的阵列是指阵列上待分析的单元按照行和列的方式进行排列的集合(见图 1.4)。这些待分析的单元在微阵列有关的文献中也被称为点 (spot) 或要素 (feature)。微阵列上点形成的行必须在基片上水平地形成一条直线,形成的列必须垂直地形成一条直线,行和列之间垂直相交。微阵列上规则排列的点必须有比较均一的大小及点间距,并且在基片上有明确的位置。因此作为规则阵列的基本标准是成行、成列、大小均一、点间距相近、位置明确。那些不符合这些基本标准的阵列不能称之为规则的阵列,因此也就不符合微阵列定义四个标准的第一个标准。在一块平面的基质载体上有时能点样多个微阵列的亚阵列,这种情况在用多根针点样或多个喷头喷样时非常有用(见第七章)。

5

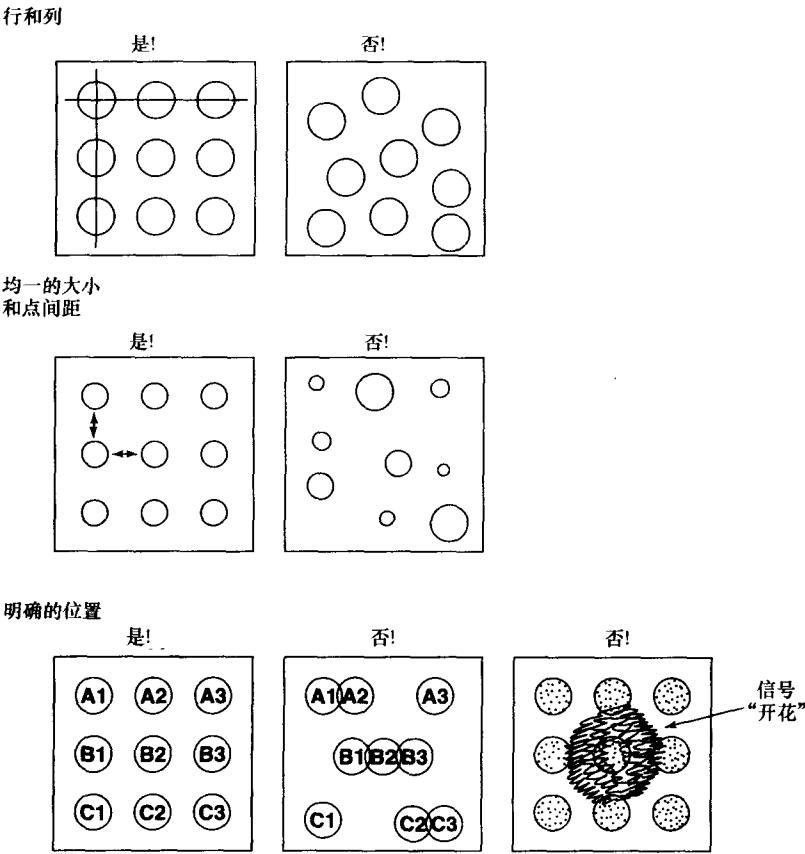


图 1.4 微阵列上的点按照行和列规则地排列而非无规则排列;点的大小和点间距均一而非不均一;点的位置明确而非模棱两可。在标记和检测过程中能引起荧光信号扩散而影响到周边的点信号的现象会使后续数据分析复杂化,因此应该避免。