



· 导读版 ·

Microarrays

(The Experimenter Series)

实验者系列：

微阵列芯片

Hans-Joachim Mueller, Thomas Roeder



原版引进



科学出版社
www.sciencep.com

The Experimenter Series

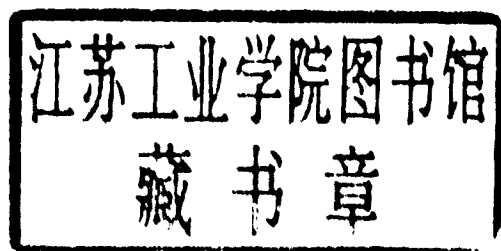
实验者系列

MICROARRAYS

微阵列芯片

Hans-Joachim Mueller

Thomas Roeder



科学出版社

北 京

图字:01-2007-3110 号

This is an annotated version of

The Experimenter Series: Microarrays

(A translation of Der Experimentator: Microarrays by Hans-Joachim Müller, Thomas Röder, ISBN 3827414504 © 2005 Elsevier GmbH, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg)

Copyright © 2006, Elsevier Inc.

ISBN 13: 978-0-12-088543-5

ISBN 10: 0-12-088543-3

All rights reserved.

No part of this publication may be reproduced or transmitted in any form or by any means, electronic or mechanical, including photocopy, recording, or any information storage and retrieval system, without permission in writing from the publisher.

AUTHORIZED EDITION FOR SALE IN P. R. CHINA ONLY

本版本只限于在中华人民共和国境内销售

图书在版编目(CIP)数据

微阵列芯片=Microarrays:英文/(德)米勒(Mueller, H. J.), (德)罗德(Roeder, T.)编著. —北京:科学出版社, 2007

ISBN 978-7-03-019116-8

I. 微… II. ①米… ②罗… III. ①生物-芯片-英文 ②基因-芯片-英文 IV. Q78

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2007)第 087506 号

责任编辑:孙红梅

责任印制:钱玉芬/封面设计:耕者设计工作室

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>

中国科学院印刷厂 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2007年6月第一版 开本:787×1092 1/16

2007年6月第一次印刷 印张:14 3/4

印数:1—3 000 字数:314 000

定价:50.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈科印〉)

导 读

涉及微阵列生物芯片的实验人员大致可以分为两类。一类是从事微阵列生物芯片技术研究和产品开发以及技术支持与服务的专业技术人员;另一类是普通的生化和分子生物学实验室的研究人员。由于不同的研究需求,后者在实验中会涉及到各种各样的微阵列芯片的制备技术和各种微阵列芯片产品的使用。他们或者利用自己实验过程中获得的资源制备自己的核酸或蛋白质微阵列芯片,以解决自己的研究所需;或者利用商品化的微阵列芯片进行实验,以获取大量的实验数据;更多的微阵列芯片使用者则是直接求助于相关的生物芯片服务公司,由生物芯片公司根据研究者提供的实验样本,负责完成样品处理、芯片反应、信号检测等整个生物芯片相关的实验过程。研究者从公司直接得到生物芯片的实验数据。然而,如果对生物芯片的实验过程缺乏清晰的认识,研究者很难对于实验数据进行正确和充分的分析。

众所周知,人类基因组计划的完成,标志着生命科学的研究进入了生命组学(Biomics)时代。作为高通量获取生物信息的有力工具,微阵列芯片技术正走进越来越多的普通分子生物学实验室,越来越多的实验人员开始应用微阵列芯片技术或应用由该技术产生的数据。但是,微阵列芯片技术涉及到生物、信息、材料和加工等多种专业技术知识,对于普通的从事分子生物学和生物化学的研究人员而言,多数人只了解微阵列芯片的一些简单概念,而对于微阵列芯片技术涉及到的多种专业技术名词较为生疏,因此影响到了研究人员之间的交流。一方面他们感到微阵列芯片技术深奥难懂,操作复杂,而且价格较为昂贵,从而在应用微阵列芯片这一新技术时显得比较保守;另一方面他们对于微阵列生物芯片产生的结果期望过高,特别是忽略了实验过程,没有做好充分的准备,就匆忙进入了该领域,结果浪费了许多宝贵的时间和财力。实验者系列丛书《微阵列芯片》一书,以普通分子生物学研究人员为读者对象,深入浅出地介绍了微阵列芯片相关技术,不失为初学者入门的一本好书。

该书的内容大致分为三部分。第一部分包括第一章和第二章,主要介绍了微阵列芯片的开发和研究背景以及微阵列芯片的应用领域;第二部分包括第三、四、五章,主要介绍微阵列芯片技术、装备及相关试剂;第三部分为第六、第七和第八章,介绍了从事相关高通量筛选实验室的建设,包括硬件设施及管理软件。

本书第一章虽然很简短,但作者站在比较宏观的角度,指出生命组学研究是未来生命科学发展的特点之一,生物芯片的发展就是顺应了这一发展趋势。第二章则从具体的应用和需求出发,向读者展示了微阵列芯片在科学研究、药物筛选和生物技术公司中的应用实例。对于那些终日埋头于繁重的实验任务中的研究人员,花几分钟时间读一读其中的内容,将会对微阵列芯片技术具有更新的认识。作者还介绍了一个有关微阵列芯片的动画网站,该网站能使读者在轻松愉快的氛围中对微阵列芯片技术有一个直观的认识。

本书的第二部分(第三、四、五章)是全书的核心。第三章主要介绍微阵列芯片技术,

也是第二部分的重点。在本章中作者主要介绍了应用较为广泛的蛋白质微阵列芯片和核酸微阵列芯片。关于蛋白质芯片,作者首先介绍了蛋白质和蛋白质组的一些概念,简单介绍了二维电泳和飞行质谱技术。接着介绍了蛋白质的分离、纯化、分析、表达和重组等方面的技术。在蛋白质芯片技术方面,较为详细地介绍了蛋白质与表面化学基团偶联方法。其中,芯片表面的化学处理对于高质量芯片的制备是十分关键的。该书中涉及到的蛋白质芯片包括多肽微阵列芯片、蛋白质(抗体)芯片和小分子微阵列芯片,其工作原理都是被检测的蛋白质分子通过与固定在芯片不同位置上的分子进行特异性的结合,以实现蛋白质的检测。书中还列举了通过多肽微阵列芯片筛选蛋白质激酶的例子。在蛋白质芯片方面,作者还介绍了与飞行质谱联用的 SELDI-蛋白质芯片技术,与表面等离子共振仪联用的 Biocore SPR 芯片,以及利用凝胶固定的三维蛋白质微阵列。如此之多的蛋白质芯片技术给予研究者以更多的选择机会。

核酸微阵列芯片则相对比较简单。通过把不同的核酸分子固定在芯片上,通过碱基互补配对原理进行检测。在核酸芯片方面,本书主要介绍了核酸样本的放大技术和标记技术,其中标记技术主要为最常用的荧光标记技术。在 DNA 芯片的制备技术方面,作者一方面介绍了 Affymetrix 公司的原位合成技术,同时对于常用的点样技术进行了具体的介绍,并在第四章中重点介绍了多种不同的点样仪。

对于微阵列芯片的检测技术,该书重点介绍了常用的荧光检测相关原理和技术,介绍了常用的荧光素分子结构和特性,荧光激发和光漂白等概念。表 3-12 还列出了常用的荧光素分子的激发波长、发射波长,这些数据有时在实际工作中是十分有用的。该部分还介绍了激光器、扫描仪,以及光电倍增管的工作原理,图像获取的两种模式,以及信号的动态范围、像素点和点阵的大小等参数的概念和意义。为了进一步提高信号的强度,近年来发展了一些新的技术,在第三章的最后给予了简要的介绍。

第四章介绍微阵列芯片相关的仪器和支持软件。与微阵列芯片相关的仪器主要为点样仪(Spotter 或 Arrayer)。该书以生产厂家现有产品为实例,进行工作原理和仪器性能的阐述,便于初学者尽快掌握,并开展实际的应用。点样针是微阵列芯片中点大小的重要指标,本书列出了多种不同工作原理的点样针,对于各种点样针的性能进行了讨论。扫描仪是微阵列芯片应用的另一不可缺少的装备,作者主要介绍了扫描仪相关的软件系统,以及芯片数据的生物信息学分析方法。这里要强调的是在微阵列芯片的实验中,应该十分重视实验文档的建立。对于基因表达芯片的实验,现在已经建立了 MIAME(Minimal Information about a Microarray Experiment)标准文档,有关基因表达芯片的论文发表时,一般应该提供按照该标准建立的文档或类似的文档。在本章的最后,作者还介绍了超净间技术和系统的概念。

第五章是介绍微阵列芯片的操作与使用,这里主要是指样品的制备,并给出了具体的实例。样品制备分为核酸样品的制备和蛋白质样品的制备。从某种程度上来说,样品的制备质量决定了微阵列芯片实验结果的可靠性和一致性。

本书的第三部分(第六、第七和第八章),主要是介绍现代化的高通量生物检测平台和主要的数据库的使用。由于人类基因组计划的完成,生命科学的研究已经与信息技术紧

密结合在一起,并成为大生命科学研究的一种重要模式。作者在第六章中介绍了与高通量筛选(High-throughput Screen)密切相关的实验室自动化方案,以及它们在药物筛选中的应用。在第七章中主要介绍网络资源,包括 Medline, EMBL 数据库和 Genebank。在这里作者还特别强调了专利的申请和商标的注册等相关的知识。在第八章中作者则乐观地展望了微阵列芯片技术的发展前景。

本书一个重要的特点是实用性。在讲解具体的技术、芯片产品和装备时,往往会列出一批相关的供应商,例如,表 3-6 和表 3-9 列出了一批修饰芯片的供应商及其相关的产品,表 4-1 列出了点样仪相关的产品和厂家,表 4-2 列出了扫描仪相关的产品和厂家。这样读者可以结合本书中的内容,更好地与产品供应商进行联系与沟通。当然,本书作者列出的主要是欧美的一些大的生物公司。近年来国内生物芯片产业发展也很迅速,在生物芯片产品、配套仪器和芯片服务的质量和水平方面均有了相当大的提高。作为补充,我这里列出国内的一些主要的生物芯片公司的网站,其中有博奥生物技术有限公司(<http://www.capitalbio.com/>)、上海生物芯片有限公司(<http://www.shbiochip.com/>)、天津生物芯片技术有限责任公司(<http://www.tjbiochip.com/>)等。国内的读者可以直接上网访问和咨询。另外,国内已经成立了生物芯片的相关学会,通过学会的网站,读者也可以了解到更多的关于国内生物芯片方面的信息。

本书的实用性还体现在作者对生物芯片的实验操作过程进行详细的解释与说明,并给出了一些重要的试剂配方,方便了研究人员的操作。在附录中,还列出了一些最基本的计算和换算公式、常用的缓冲液配方。另外,正如作者在该书前言中所述,作者更强调对于生物芯片技术涉及的专业词汇的解释,便于读者与该领域的研究工作者之间的交流和合作。

本书另一个重要特点是可读性强。关于介绍微阵列芯片技术的专著和丛书已有很多,但多数是专著和研究论文集。本书针对从事普通分子生物学实验的研究者,采用通俗的语言表达了有关微阵列芯片一些学术专业问题,浅显易懂,可读性强。而对于想进一步从事生物芯片研究的实验人员,书中列举了一些重要生物芯片的网络资源作为补充,因此也具有较高的参考价值。另外,读者应该注意到的是书中在谈到技术的时候,经常会提到知识产权的问题,提醒了读者需要应用某一技术时要取得相应专利持有人的授权。这一点对于国内的读者来说,是一个很好的提示。

笔者应科学出版社之邀,为实验者系列丛书《微阵列芯片》一书写导读,其实该书本身就是一本很好的导读材料。在结束该导读的时候,笔者还是想再次提醒大家注意有关微阵列芯片质量控制和标准的问题。近年来,人们讨论最多的话题是微阵列芯片的可靠性和一致性问题。Nature Biotechnology 在 2006 年 8 月还推出了一个专辑,由美国食品和药品管理局(FDA)牵头来讨论微阵列芯片的质量控制问题。虽然微阵列芯片制备本身不可避免地存在着厂家之间甚至同一厂家产品批次间的差异,但是对于使用者来说,更大的差异来自于实验操作本身。实验过程(样本的获取、保存、处理以及与芯片的反应条件等)微小的变更,都有可能使实验结果产生较大的偏差。因此,详细记录的实验条件是验证微阵列芯片实验数据可重复性的重要依据,如表达芯片的 MIAME 标准文档。我们更应该清楚,对于我们普通的实验者来说,应该善于从微阵列芯片获取的大量数据中挑选出潜在的重要线索,并进一步用常规分子生物学实验手段进行证实。一个对自己研究对象

非常熟悉的有经验的实验人员,都应该努力做到这一点。

陆祖宏

东南大学

生物电子学国家重点实验室

E-mail:zhlu@seu.edu.cn

前 言

这是“实验者”系列丛书的第三本。前两本出版的是《蛋白质生物化学与蛋白质组学》和《分子生物学与基因组学》。我们很高兴能够写一本关于微阵列芯片技术的书,以概括总结前两个研究领域的一些内容。

我们试图保持前两本书的语气和风格,以一种比大部分教科书都较为轻松的风格来阐述“干的”科学。我们所用的术语是我们在实验室中将会听到的。在原始的德文版本中,有很多德语化的英文术语,我们并没有把它们翻译成英文,而是直接使用在本书中。

“实验者”系列《微阵列芯片》一书是针对具有蛋白质化学或分子生物学知识背景的读者编写的,他们不必具有微阵列芯片应用、仪器和软件知识背景,亦可读懂此书。

该书力求给出微阵列芯片技术的概要和评述,而并没有深入到该领域中的所有可能的细节。为了帮助读者更好地理解微阵列芯片技术,我们列出了读者所需要的细节(以我们自己主观的认识)。我们引用了原始文献和二次文献,以及有用的网站链接,使读者能够更深入地了解本书没有涉及到的内容。“实验者”系列《微阵列芯片》的编写结构是从用户亟需解决的问题入手,阐述了微阵列芯片从 90 年代中期的发展,到具体的应用、仪器和分析,引导读者顺利阅读下去。从组合生物技术到量子物理,许多不同学科的专业术语我们都给予了解释,因为这些术语有时对于认识微阵列芯片的应用和解决突然出现的问题是十分必要的。我们叙述所有技术和产品的名称,不管它们是否已被专利和商标所保护。这里我们需要明确指出的是,在该书中我们叙述的微阵列芯片应用以及许多蛋白质化学和分子生物学方法,在使用之前必须得到专利持有人的许可。实验人员必须弄清专利的现状,并学会在与供应商和/或专利持有人打交道的过程中保护自己。我们提到的所有网站都连接过,都是可以访问的,至少是在 2004 年 3 月可以成功连接。如果在您阅读此书时,无法建立连接,读者可以采用一些搜索引擎来搜索这些网页。

我们希望《微阵列芯片》能够像“实验者”系列丛书已出版的两本书一样成功。如果有可能出版第二版的话,我们将乐意听取读者的批评和建议并进行改进。尽管编辑和作者进行了多次的阅读,本书在细节方面仍不可避免的存在一些错误和纰漏。我们也十分乐意在下一版中包含进去一些您所喜爱的内容。如果您愿意,您可以通过电子邮件(roeder@molekularbiologie.net 或者 mueller@molekularbiologie.net)与我们联系。

我们希望您愉快地阅读此书。

2004 年 3 月

Thomas Roeder

Hans-Joachim Mueller

(陆祖宏 译)

Acknowledgment

Special thanks are due to Julia Rondot and Dr. Stefan Knabel for their proofreading in record time. Despite the corrections made by Word's German version of spell-check there are still mysteries which neither of the two authors have been able to solve as of yet. In addition, punctuation and grammar were never our forté. Thank you, Julia and Stefan, for the difficult translation of our pharماغobble from the German language. It's too bad that we couldn't submit all of the chapters to you. If we had, our friendship would surely be in jeopardy. We tried hard to substitute for the most uncouth expressions in

order to honor science. We weren't always successful . . . hallelujah!

We also have to thank Martina Mechler, Ute Kreutzer and Dr. Ulrich Moltmann for their unfailing support and patience last year. We don't envy your jobs if all of your authors practice the same delaying tactics. In spite of the unforeseen delays you never lost patience, never became angry. We thank you with all of our hearts for that. Last but not least we thank our families who gave up so many evenings and sacrificed their leisure because of our male ego trips.

Foreword

This is the third book in the “Experimenter” series. We are pleased that, after *Protein Chemistry/Proteomics* and *Molecular Biology/Genomics*, we were, allowed to write a summary of the two disciplines with respect to microarrays.

We tried to preserve the tone and style of these first two books and to present this dry science in a lighter manner than most textbooks do. The terms we used are the same ones that you will hear in a laboratory. In the original German we used many nontranslatable English terms by leaving them as they were or sometimes Germanizing them.

Experimenter—Microarray is directed at the reader who has knowledge in the fields of protein chemistry or molecular biology but hasn’t immersed himself into the depths of microarray applications, instrumentation, and software.

This book is designed to give a summary and overview of microarray technology without going into all possible detail in these fields. We do give the necessary detail (in our subjective opinion) that the reader needs in order to understand microarray technologies. We have quoted primary and secondary literature as well as useful Web sites so that you can research all the detail we didn’t cover. *Experimenter—Microarray* is structured so that the reader is guided from the development in the mid-90s through the various problems of the users to the specific applications, instruments, and analyses. Terms from various disciplines from recombinant biotechnology to quantum physics are explained: terms that are helpful and sometimes necessary for the understanding

of microarray applications and the solving of the problems that crop up. We mention all technologies and all product names without regard to the existing patents and trademarks. We herewith explicitly point out that a license issued by the patent holder is necessary for the use of microarray applications as well as for many of the protein chemical and molecular methods we describe in this book. The experimenter must inform him- or herself about the patent situation and protect him- or herself by dealing with the suppliers and/or the patent holders. All of the mentioned Web sites were tested as to their Web availability and as to the correct link as of March 2004. If the link is no longer available as you read this, a search for these pages by using one of the many search engines should be helpful.

We hope that *Experimenter-Microarray* will be as successful as its two *Experiment* predecessors. In case a second edition comes to be, we will be happy to listen to readers’ criticisms and suggestions for improvement. There are always errors and inaccuracies in the detail that even after several reading of editors and authors aren’t totally eliminated. We would also happily include some of your favorite topics in the next edition. If you wish you can contact us via e-mail at roeder@molekularbiologie.net or mueller@molekularbiologie.net.

We hope you have fun reading this book.
March 2004

Thomas Röder
Hans-Joachim Müller

Abbreviations

μg	microgram	DMF	Di methyl fluoride
μl	microliter	DMSO	Dimethylsulfoxide
μW	microwatt	DNA	desoxyribonucleic acid
6-ROX	6-Carboxyrhodamine		
6-TAMRA	6-Carboxytetramethylrodamine	dNTP	Desoxynucleoside 5'-triphosphate
A	Adenosine	DPMA	Deutsches Patent- und Marken-Amt (German Patent and Trademark Office)
A	Alanine		
aadUTP dgm.	Amino-allyl-dUTP Diagram	DPSS	Diode-pumped solid-state
AD-Board	Analog-to-digital-converter	dsDNA	Double-stranded DNA
ADTC	Analog-to-digital-converter	DTT	Dithiothreitol
Ar	Argon	dTTP	Desoxythymidine 5'-triphosphate
aRNA	Amplified RNA	dUMP	Desoxyuracil 5'-monophosphate
ATP	Adenosine triphosphate	dUTP	Desoxyuracil 5'-triphosphate
bp	Base pair	EBI	European Bioinformatics Institute
BSA	Bovine serum albumin	EDTA	Ethylenediaminetetraacetate
C	Cytosine	EMBL	European Molecular Biology Laboratory
CCD	Charge-coupled device		
Cd	Cadmium	EST	Expressed-sequence-tag
cDNA	Complementary or copy DNA	F&E	Forschung und Entwicklung (Research and Development)
CMOS	Complementary metal-oxide semiconductor	FA	Formamide
cRNA	Complementary RNA	FDA	Food and Drug Administration
Cy3	Cyanine-3	fg	Femtogram
Cy5	Cyanine-5	FIA	Fluorescence immunoassay
	Aspartate	FITC	Fluorescein isothiocyanate
D		<i>g</i>	gravity
dATP	Desoxyadenosine-5'-triphosphate	G	Glycine
		<i>g</i>	Gram
dCTP	Desoxycytosine-5'-triphosphate	G	Guanidine
DEPC	Diethylpyrocarbonate	GAMP	Good Automated Manufacturing Practice
dGTP	Desoxyguanosine-5'-triphosphate	GB	Gigabyte

Abbreviations

GHz	Gigahertz	ml	milliliter
Gif	Graphic interchange format	MMLV	Moloney-Murine-leukemia-virus
GLP	Good Laboratory Practice	mRNA	Messenger RNA
GMP	Good Manufacturing Practice	NCBI	National Center for Biotechnology Information
h	Hour	Ne	Neon
He	Helium	ng	Nanogram
HEPA	High-efficiency particulate air	nt	Nucleotide
HEPES	4-(2-Hydroxyethyl)- <i>i</i> -piper- azineethanesulfonic acid	OD	Optical Density
HLA	Human leucocyte antigen	P	Proline
HRP	Horseradish peroxidase	PC	Personal computer
HTS	Highthroughput screening	PCR	Polymerasechain reaction
HUGO	Human Genome Project	PCT	Patent Cooperation Treaty
I	Isoleucine	PEG	Poly(ethylene glycol)
ISO	International Organization of Standardization	<i>Pfu</i>	<i>Pyrococcus furiosus</i>
IVD	In-vitro diagnostic	pg	Picogram
JPEG	Joint Photographic Experts Group	PNA	Peptide nucleic acid
Js	Joules	PTO	United States Patent and Trademark Office
K	Lysine	<i>Pwo</i>	<i>Pyrococcus woesei</i>
kb	Kilobase pair	Q	Glutamate
KHz	Kilohertz	RACE-PCR	Rapid amplification of complementary Ends-PCR
Kr	Krypton	RIA	Radioimmunoassay
L	Leucine	RNA	Ribonucleic acid
LASER	Light amplification by stimulated emission of radiation	RNase	Ribonuclease
LD-PCR	Long-distance PCR	RT	Room temperature
LIMS	Laboratory information management system	RT-PCR	Reverse-transcriptase PCR
M	Methionine	S	Serine
M	Molar	SAM	Self-assembled monolayers
MB	Megabyte	SDS	Sodium dodecylsulfate
MgCh	Magnesium chloride		
MHz	Megahertz	Se	Selenium
Min.	Minute	sec	Second

SELDI	Surface-enhanced laser desorption ionization	TSA	tyramide signal amplification
		<i>Tth</i>	<i>Thermus thermophilus</i>
SMD	Small-molecule drugs	TW	Terawatt
SNP	Single-nucleotide polymorphism	u	Unit
SOM	Self-organizing map	U	Uracil
SPR	Surface plasmon resonance	ULPA	Ultrahigh-efficiency particulate air
SSC	Standard sodium citrate	Ultra-HTS	Ultrahigh throughput-screening
ssDNA	Single strand DNA	Rpm	Revolutions per minute
T	Threonine	UV	Ultraviolet
T	Thymidine Time	VLSIPS	Very large scale immobilized polymer synthesis
<i>Taq</i>	<i>Thermus aquaticus</i>		
THz	Terahertz	WWW	World Wide Web
Tiff	Tagged image file format		
TRF	Time-resolved fluorescence	Y	tyrosine

目 录

致谢
前言
缩略语

1 引言	1
1.1 术语	2
1.2 微阵列芯片设计和发展	3
2 应用	7
2.1 科学问题	7
2.2 制药应用	10
2.3 生物技术公司的需求	12
3 技术	15
3.1 蛋白质微阵列芯片	15
3.1.1 基因和蛋白的表达	15
3.1.2 蛋白质技术:从分子到生物芯片	24
3.1.3 蛋白质芯片	42
3.2 核酸微阵列芯片	57
3.2.1 杂交探针	57
3.2.2 微量 RNA 处理方法	63
3.2.3 DNA 微阵列芯片的生产	70
3.3 微阵列芯片的检测	76
3.3.1 光和辐射	76
3.3.2 荧光素	78
3.3.3 高能激光	84
3.3.4 微阵列芯片扫描仪:工作模式	86
3.3.5 微阵列图像的工作模式	90
3.3.6 动态范围	92
3.3.7 像素点和样品点	93
3.4 微阵列芯片的信号标记系统	94
3.4.1 酪胺酸信号放大	94
3.4.2 分枝状分子	95
3.4.3 量子点	96

3.4.4	化学发光	99
3.4.5	放射性	100
3.4.6	时间分辨荧光	100
4	设备与软件	105
4.1	微阵列芯片点样仪	106
4.1.1	机械接触点样	110
4.1.2	压电分配器技术	111
4.1.3	网格和样品点	115
4.2	数字化:微阵列芯片扫描仪	115
4.2.1	微阵列芯片成像仪	116
4.2.2	微阵列芯片扫描仪	117
4.3	微阵列芯片软件和文档	117
4.3.1	微阵列芯片实验文档	119
4.3.2	实验设计	120
4.3.3	结果验证	121
4.3.4	微阵列芯片软件	123
4.3.5	表达数据的比较	129
4.3.6	进一步分析	131
4.4	微阵列芯片技术所需的其他实验仪器和必需品	136
4.4.1	耗材和配件	136
4.4.2	其他有用的实验室仪器	136
4.5	超净间	137
4.5.1	超净等级	137
4.5.2	洁净间系统	138
5	微阵列芯片实验操作	141
5.1	核酸的分离和制备	141
5.1.1	RNA 抽提	141
5.1.2	真核 mRNA 抽提	142
5.1.3	细菌 mRNA 抽提	142
5.1.4	借助于 cDNA 合成的样本制备	143
5.1.5	DNA 生物芯片的杂交	144
5.1.6	用 T7-RNA 聚合酶预放大	144
5.1.7	微阵列样本的制备	146
5.1.8	定量、检验和可靠性	147
5.1.9	样本杂交	147
5.1.10	聚赖氨酸包被	149
5.2	蛋白质芯片的操作步骤	149

5.2.1	蛋白质微阵列芯片的缓冲液	150
5.2.2	用抗体验证	152
5.2.3	蛋白激酶芯片:用 ³³ P验证	153
6	高通量筛选	155
6.1	实验室自动化	156
6.1.1	实验室自动化软件	158
6.1.2	样本制备	160
6.1.3	分析和报告	160
6.2	药靶筛选	164
6.3	临床化学和基因筛查	164
7	数据库和专利	169
7.1	数据库研究	169
7.2	专利	170
7.2.1	专利研究	171
7.2.2	专利保护技术	177
7.3	注册商标	183
8	未来展望	185
8.1	技术发展	185
8.2	需求分析	186
8.3	结语	189
9	附录	191
9.1	常用缓冲液	191
9.1.1	点样和冲洗缓冲液	191
9.1.2	封闭液	191
9.1.3	杂交液	192
9.2	寡核苷酸退火温度的计算公式	192
9.2.1	15 碱基以下寡核苷酸的公式	192
9.2.2	20~70 碱基以下寡核苷酸的公式	192
9.3	摩尔单位和计算方法	192
9.3.1	摩尔定义	192
9.3.2	摩尔质量和摩尔浓度定义	192
9.3.3	核酸皮摩尔量	193
9.3.4	道尔顿单位定义	193
9.3.5	蛋白和多肽的皮摩尔量	194
9.4	微阵列芯片上点表面积的计算	194

9.5 微阵列芯片点密度的计算	195
9.5.1 中心距点密度	195
9.5.2 单位平方厘米的点数	195
9.6 荧光分子或靶密度的计算	195
公司列表.....	197
网站链接.....	201
索引	203

(陆祖宏 译)