

蛋白质芯片技术的新进展

Progress in Protein Microarray Technology

石羽杰/SHI Yu-jie, 王 玮/Wang wei, 霍克克/HUO Ke-ke

复旦大学生命科学学院遗传工程国家重点实验室, 上海 200433

Center of Proteomics, Institute of Genetics, State Key Laboratory of Genetic Engineering, Fudan University, Shanghai 200433, China

[摘要] 基于微阵列技术基础上的蛋白质芯片技术能够在体外直接研究蛋白质的性质和作用, 已经被广泛地应用于蛋白质-蛋白质、蛋白质-核酸、蛋白质-小分子药物等方面的研究, 并表现出了良好的前景。对蛋白质芯片技术的研究进展和未来前景展望进行了综述。

[关键词] 蛋白质芯片, 蛋白质组, 微阵列

[中图分类号] Q344

[文献标识码] A

[文章编号] 1000-7857(2005)09-0059-04

Abstract: Protein microarray technology is a powerful and efficient tool to accomplish such tasks as analyzing the expression of a large number of proteins simultaneously and screening entire genomes for proteins that interact with particular factors, catalyze particular reactions, and act as substrates for protein-modifying enzymes and/or as targets of autoimmune responses. In this review, we will summarize the current state and progress of protein microarray technology.

Key Words: protein microarrays, proteome, microarrays

CLC Number: Q344

Document Code: A

Article ID: 1000-7857(2005)09-0059-04

1 引言

人类基因组(Human Genome)测序工作的完成是人类医学史上的里程碑。基因芯片虽可在 mRNA 水平上分析整个基因组表达的情况, 并得到了迅猛发展, 但生命活动的主体是人体内存在的 10 万种以上的蛋白质, 从 DNA、mRNA 到蛋白质执行功能还存在着复杂的过程, 而关于基因组的研究并不能解决所有的问题。实验研究结果也进一步说明了这一点: 基因的表达式在核酸水平与蛋白质水平之间并没有确定的量相关性, 只有通过蛋白质的研究才能够更好地解释生命现象、揭示生命本质。蛋白质芯片技术是蛋白质组学研究中除了酵母双杂交、双向电泳技术、质谱技术等之外的一种重要的工具, 它提供了在同一时间分析整个蛋白质组(Proteome)的方法。

2 蛋白质芯片技术的产生

上世纪 80 年代, Ekins 等^[1]的理论研究结果认为可以将抗体大量地在固相表面进行微量点样, 以实现高灵敏度的实验研

究。但是直到 90 年代末当 DNA 芯片技术被大家所认识和接受而且芯片的制作技术已经不再是瓶颈的时候, 抗体微矩阵才开始被用来进行定量的蛋白质组学研究。目前蛋白质芯片已经被应用于蛋白质许多相关方面的研究, 而且正在进一步结合其它领域诸如材料科学、生物信息学、光电子技术等最新的研究成果, 成为了一种强大的多学科技术密集型的新兴蛋白质组学研究工具。

相对于 DNA 芯片, 蛋白质芯片技术面临更多困难。第一, 相对于 DNA 的碱基配对杂交机制, 蛋白质之间的相互作用呈现出更强的变化性。而且, 蛋白质的活性以及相互作用的性质可能需要其它蛋白质的作用和翻译后修饰。第二, 相对于 PCR 技术这样可以大量扩增 DNA 的技术, 尚未有可以大量扩增蛋白质的成熟技术。第三, 蛋白质的表达和纯化工作十分艰巨, 而且经常不能保持蛋白质的完整功能。最后, 许多蛋白质很不稳定, 给阵列制作本身带来很大的困难。

3 蛋白质芯片的不同种类及其基本原理

蛋白质芯片依照应用领域不同可分为两类: 蛋白质检测芯片和蛋白质功能芯片。

蛋白质检测芯片主要用于分析检测, 根据检测方法不同可以进一步分为正相蛋白质检测芯片和反相蛋白质检测芯片。二者的区别主要在于对样品的使用方式不同。可通过样品与正相蛋白质检测芯片表面的抗体阵列进行温育来进行多个样品的分析。反相蛋白质检测芯片是新近发展起来的技术, 它是先将不同的样品在芯片表面进行点样, 然后用大量的探针检测是否有目标蛋白质。

正相蛋白质检测芯片(图 1)首先用不同的荧光标记物对样品中的拟研究的蛋白质进行标记, 再将这些样品在抗体微阵列上进行温育, 然后用生物芯片扫描仪检测各个阵列分子点上荧光信号。正相蛋白质检测芯片可以同时对同一样品的不同成分进行分析对比。但是需要注意在许多情况下, 蛋白质倾向于形成多蛋白质复合体, 所

收稿日期: 2005-06-10

作者简介: 石羽杰, 女, 复旦大学生命科学学院遗传工程国家重点实验室, 硕士生, 研究方向为基因与蛋白质功能;

E-mail: 032023050@fudan.edu.cn

霍克克(通讯作者), 男, 复旦大学生命科学学院遗传工程国家重点实验室, 教授, 研究方向为功能蛋白质组学;

E-mail: kkhuo@fudan.edu.cn

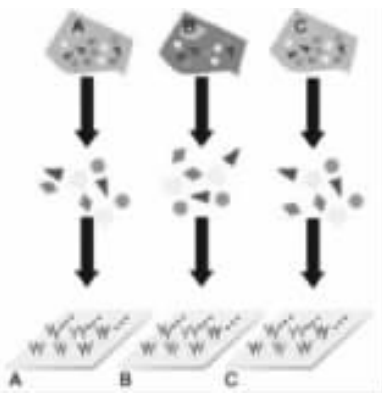


图1 正相蛋白质检测芯片

注: A、B、C 代表不同样品或细胞。从这些样品或者细胞中提取蛋白质混合物,然后在含有多种不同的特异性抗体的正相蛋白质芯片上对这些蛋白质混合物进行分析对比。分析样品可以直接标记,也可以通过另一个特异性抗体进行标记。可以同时分析样品中的许多种不同的蛋白质。(引自 Oliver Poetz, et al. Protein microarrays: catching the proteome. *Mechanisms of Ageing and Development*, 2005.)

以如果出现很强的信号,那么可能是由于蛋白质的浓度很高,或是由于形成了大的蛋白质复合体。

现在有许多修饰改进的正相检测芯片可以用于不同特殊的研究目的,如用于检测蛋白质的翻译后修饰水平、研究不同部位淋巴细胞 CD 簇的区别、用 MHC 复合物阵列研究不同的 T 细胞群等。

反相蛋白质检测芯片(图2)是用破碎

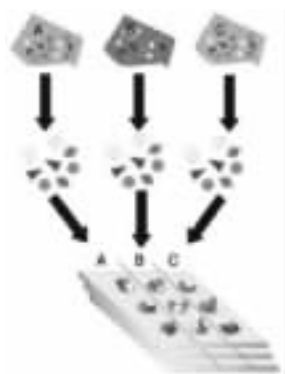


图2 反相蛋白质检测芯片

注: A、B、C 代表不同样品或细胞。从这些样品或者细胞中提取的蛋白质混合物,制成包含大量蛋白质样品点样的反向蛋白质检测芯片阵列。这种芯片可以用于同时研究许多患者或细胞样品中的某一种蛋白质。而且,为了提高灵敏度还可以将样品分份。反向蛋白质检测芯片只需要很少量的样品,每次可以用不同的抗体进行检测。(引自 Oliver Poetz, et al. Protein microarrays: catching the proteome. *Mechanisms of Ageing and Development*, 2005.)

的微量组织或者细胞样品点样制成的芯片,代表在某种状态下整个细胞的蛋白质,然后用特定抗体进行检测。反相蛋白质检测芯片配用大量的抗体、病人血清,可以检测许多组织、细胞裂解液,可以研究整个蛋白质组随时间的波动变化状态,尤其是通路中的蛋白质何时被修饰、何时被激活。这种芯片检测的优点在于样品需要量小且不需要进行标记,只需要检测抗体即可。然而它的缺点也在于此,低点样量可能造成低丰度的蛋白质信号漏检。

Western 杂交技术显示,如果在检测前对蛋白质混合物进行分离和浓缩就可以极大地提高检测灵敏度和可重复性,即使是对于低丰度的蛋白质也是如此。在蛋白质组研究中,通过分离蛋白质混合物可以实现实验的高灵敏度、自动化和可重复性。双向凝胶电泳技术可以实现这种分离过程。将分离后的蛋白质点样,加入抗体或者病人血清反应。应用这种方法可以通过标准的质谱技术进一步鉴定感兴趣的组分。通过反相检测芯片我们可以从大量病人的样品中检出针对肿瘤蛋白质的自身抗体。反相筛选技术提供了一条鉴定生物标记和确定拟筛选药物效率与毒性的新方法。其它的反相筛选技术还有表面加强的激光解析电离化技术 (SELDI, Surface Enhanced Laser Desorption Ionisation)^[2]、可解离抗体芯片 (Dissociable Antibody Microarrays)^[3]、组织样品芯片 (Tissue Microarray)^[4]等方法。SELDI 技术虽易于操作,可检测出不同样品的全部蛋白质的差异,但是它不能检测高分子量蛋白质和膜蛋白质,而且灵敏度比起免疫夹心法要低得多。可解离抗体芯片可用于分析各种培养细胞中不同蛋白质的表达与定位的不同。组织芯片可以平行筛选大量样本,寻找其中是否有某种特定的蛋白质,但是很难确定组织样品代表的是肿瘤的一部分还是全部。

蛋白质功能芯片主要用于功能研究,寻找与拟研究蛋白质相互作用的蛋白质、小分子,或者寻找对蛋白质进行修饰的修饰酶,以及寻找酶的底物等等。而这些研究结果构成了研究生物学通路的数据基础,包括二元或者三元分子间相互作用、酶的活性研究等。理论上讲蛋白质功能芯片可以用于研究信号通路机制和非线性关系。Jung 等^[5]通过这种思路研究了如何优化海藻糖合成通路中的 5 个酶的关系以得到最高海藻糖产量。

另外,按照片基材料的不同可以将蛋白质芯片分为膜芯片、玻璃芯片和液相芯片等;根据芯片片基的表面特性可以分为平面玻璃芯片、2D 表面结构芯片、3D 表面结构芯片和纳米微孔 (nanowells) 芯片等等。除了平面的微阵列,还有珠子检测系统 (Bead Based Arrays)^[6],也称液相悬浮芯片,

即将阵列分子固定在不同颜色或者不同大小的珠子上,然后通过流式细胞仪分类计数分析。

4 蛋白质芯片技术的最新进展及其特点

普通的蛋白质芯片的基本技术流程为:首先在特定的片基上对蛋白质进行高密度点样,高通量研究拟研究蛋白质的性质,然后借助分析仪器设备分析检测结果。

常用的蛋白质芯片片基种类包括:聚苯乙烯膜 (PDMS)、聚偏氟乙烯 (PVDF) 和硝酸纤维素膜、显微镜的载玻片、PDMS 纳米微孔、3D 基质结构如聚丙烯酰胺和琼脂在片基表面形成多孔亲水的基质和 N,N-二甲丙烯酰胺 (DMA)、N,N-丙烯酰氧化琥珀酰亚胺 (NAS) 和三甲氧基甲硅烷 (MAPS) 共聚物物理吸附在玻片表面制成的片基^[7]。在实际应用中发现,PDMS、PVDF 和硝酸纤维素膜等软材料会发生信号扩散,或者有较强的背景干扰信号,3D 基质虽然有利于保持蛋白质的活性,但是可能掩盖蛋白质的活性作用部位,而且很难更换缓冲液环境,难以洗脱吸附上去的分子。大多数的研究机构选择使用显微镜的载玻片,既可以低成本地进行高密度点样,又很少有荧光信号背景。

为了将蛋白质固定,固相表面需要进行修饰来达到最佳的结合固定效果。比较方便的方法是在玻片表面铺一薄层硝酸纤维素膜或者多聚的左旋赖氨酸,点样蛋白质会因此被非特异性地吸附在片基表面。但是这种吸附是随意的,被吸附的蛋白质可能在严格的洗涤条件下被洗去,芯片的背景噪音信号较强。为了达到更高的特异性和更强的结合力,一些实验室对载玻片表面进行了改进,使表面可以与蛋白质发生共价交连,通过一个具有双功能基团的硅烷交连分子形成自组装薄层 (SAM, Self-Assembled Monolayer)。SAM 的一个功能基团可以与疏水的玻片表面相连,另一个功能基团可以与蛋白质中的主要氨基酸反应。通过修饰与蛋白质发生交连的功能基团,可以达到最佳的特异性。金包被的玻片表面是另一种提高特异性的片基。它通过双功能基团的硫代烯烃形成 SAM,其中 SH 基团与金反应,另一个基团与阵列蛋白质反应。使用金包被表面的优点在于可以将表面等离子核磁共振技术 (Surface Plasmon Resonance, SPR) 和质谱技术用于监控反应的动力学过程或者鉴定阵列蛋白质。

另外,现在还发展起来许多借助 DNA 芯片技术的蛋白质芯片技术,如通过特异性 DNA 结合结构域在 DNA 芯片表面制成的蛋白质芯片 (Protein Microarrays Using Sequence-Specific DNA Binding Domain on DNA Chip Surface)^[9]、通过 mRNA-蛋白质

共价交连融合技术制成的蛋白质芯片 (protein microarrays with covalent mRNA-protein fusion technology)^[13]、自组装蛋白质芯片 (Self-Assembling Protein Microarrays)^[19]。通过特异性 DNA 结合结构域在 DNA 芯片表面制成的蛋白质芯片,是在芯片表面合成 Gal4 的 DNA 结合序列,然后将融合表达 Gal4 的 DB 结合域 (DNA binding domain) 的阵列蛋白质点样制成蛋白质芯片。通过 mRNA-蛋白质共价交连融合技术制成的蛋白质芯片,是通过一种修饰过的体外翻译系统产生的蛋白质与 mRNA 的融合物和由特异 DNA 序列组成的 DNA 芯片发生杂交制成的芯片。蛋白质与 mRNA 的融合物的共价交连发生在 mRNA 3' 端和这些 mRNA 翻译产生的蛋白质的 C 末端。现在已经发表了很多相关的文章,利用这种技术研究酶的活性^[14]、进行蛋白质的定量研究^[15]和癌症治疗的个性化研究^[16]以及信号通路的研究^[5]等方面。自组装蛋白质芯片借助已有的 DNA 芯片点样技术和体外表达技术,将编码蛋白质的序列点样在芯片表面进行体外表达制成蛋白质芯片 (图 3)。这种芯片能够直接利用已有的大量的 cDNA 文库,克服了蛋白质纯化、保存等问题。实验思路为:首先将末端段含有 GST 的 cDNA 序列和 GST 多抗在片基上点样并体外表达后,C

段含有 GST 标签的蛋白质会特异性地与 GST 抗体发生结合。因为 GST 位于蛋白质序列 C 末端,所以用 GST 单抗检测蛋白质是否发生表达,如果有信号就认为蛋白质序列已经被完整表达。确定蛋白质表达情况后,用另一张完全相同的芯片进行体外表达,并加入拟研究的蛋白质或其它物质检测其与阵列蛋白质的相互作用关系。

通过 96 孔点样仪可以制作低密度的微阵列,大于 30 000 点的高密度阵列可以通过已有的 DNA 的点样设备来实现。点样设备通过有狭缝或者无狭缝的针汲取样品 (亚纳升的量) 进行点样。接触型点样仪适用于普通玻片,喷射型点样仪适用于 3D 表面和纳米井表面。使用电子喷雾贮存技术^[8]将干燥的蛋白质点样到有葡聚糖的表面,可将点样直径从 150 微米缩小到 30 微米。

药物筛选蛋白质功能芯片依赖于有机成分的阵列点样,已有结果显示这种方法可以用很小量的配基和目标分子即可进行平行的高通量筛选,然而至今尚未有真正的高通量途径的建立。Gosalia 等^[10]使用了另一种思路:首先在芯片上建立化合物文库,这些化学成分溶于独立的纳升量的甘油滴中;然后试剂以溶胶形式加在芯片上。这种方法速度快又可以避免交叉污染。通过这种实验方式从 352 种阵列分子中发现了 Caspases 2、Caspases 4 和 Caspases 6 的抑制因子。这种技术有望于加速活性底物的筛选过程。

芯片信号检测方法是芯片技术的核心。直接借助已有的扫描仪的荧光检测方法简单、安全、灵敏性好、分辨率高,可以用标准微阵列扫描仪进行扫描检测。常见的信号检测系统有 CCD (Charge-Coupled Device) 系统,可以直接加入荧光标记过的分子,或者先加入含标签的分子,再加入针对标签的亲性的荧光标记物。另一种灵敏性极高的标记方法是滚环扩增技术 (RCA, Rolling Circle Amplification),可以将信号的灵敏度提高 1 000 倍。其它方法还有酶联免疫反应 (Enzyme Linked Immunosorbent Assay, ELISA) 和同位素标记等。但是标记分子可能降低蛋白质的活性,或者影响检测效果,所以最好是不进行标记,如 SELDI-质谱联用、原子力显微镜技术 (AFM, Atomic Force Microscopy)、开尔文探针 (Kelvin Nanoprobe)^[11]等。SELDI-质谱适于检测低密度阵列,阵列分子可以被激光束气化,然后进行质谱分析。AFM 技术可以通过检测芯片表面高度变化来揭示蛋白质之间的结合与否。开尔文探针是一种无需标记、非接触式的技术,不会影响拟研究物的结构、空间构型、局部性质以及分子系统的功能,而且不需要染色试剂、强电场和离子束。

5 蛋白质芯片技术的应用

蛋白质芯片的应用实例十分广泛,以

下仅对于近期发表的典型应用实例作简单的例举。

Boutell 等^[12]用反向蛋白质检测芯片平行分析比较了肿瘤抑制基因 p53 的 50 种 SNP 的功能活性,包括与 DNA 结合的活性、被磷酸化的能力以及泛素化连接酶 MDM2 结合的能力。结果发现 p53 功能的不同与 p53 的突变相关。这样在一定程度上解释了不同 p53 突变在癌症发生过程中不同的效应。Nishizuka 等^[17]用反相蛋白质检测芯片分析比较了 60 个不同癌症细胞系 (NCI-60) 的蛋白质表达情况,用 25 种针对不同蛋白质的单抗与细胞系样品的阵列进行反应,然后对信号分类划分出表达类型。研究者发现了两种蛋白质有可能作为卵巢腺癌特异性标记。将蛋白质表达数据与从 DNA 芯片分析得来的 mRNA 表达数据进行仔细对比,发现所有细胞系的细胞结构相关的蛋白质的表达与 mRNA 表达有强的相关性,非结构相关性蛋白质则没有这种相关性。

Zhu 等^[18]用含有 5 800 个不同的酵母重组蛋白质的蛋白质芯片进行实验,研究蛋白质相互作用。将生物素标记的钙调素 (Calmodulin) 加在酵母蛋白质组芯片上反应,结果研究者发现了 39 种与钙调素相互作用的蛋白质。除了已知的 12 种钙调素结合蛋白质中的 6 种,实验新发现了 33 个与钙调素相互作用的蛋白质。基于这些实验结果,研究者发现了 1 个新的与钙调素结合的核心位点。将同样的芯片用于研究可以与磷脂相互作用的蛋白质,检测到了 150 种可以与磷脂相互作用的蛋白质。

Ramachandran 等^[19]将融合编码 GST 的 29 种人类的复制起始蛋白质的 cDNA 和 GST 抗体阵列同时固定在玻璃片基上,体外表达蛋白质制成了自组装蛋白质芯片。他们利用这种芯片研究了 29 个人类 DNA 复制起始蛋白质的相互作用关系,其中特别精细研究了复制许可因子 Cdt1 与特定蛋白质结合的调控,得到了这个蛋白质的结合结构域的精细作图。

Chan 等^[20]建立了一种多元化的反相蛋白质芯片技术平台研究信号通路元件的性质和相互关系。他们可以通过信号激活的细胞的裂解液来同时检测大量位点特异性的磷酸化。实验中他们研究了受 CD3 和 CD28 受体激活的 Jurkat T 细胞中的 62 个信号通路元件,除了已知的相互联系,还发现了 CD3 交连和 Raf-1 在 Ser259 位点的磷酸化之间存在关联性。

6 蛋白质芯片技术发展趋势的展望

越来越多的应用实例证明了蛋白质芯片的广阔应用前景。蛋白质芯片无疑将大力推进蛋白质研究。然而目前大多数来自于 cDNA 文库的克隆体系不能通过正确的

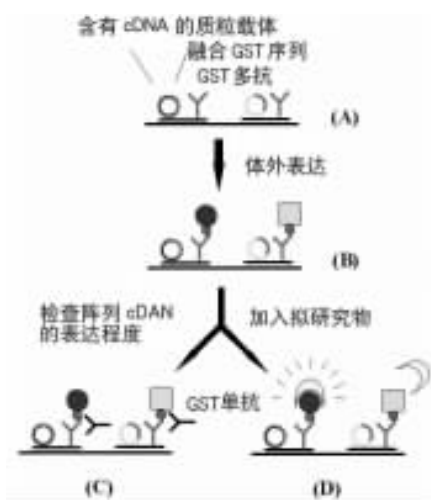


图 3 自组装蛋白质芯片

注: (A) 点样——将融合有 GST 标签的 cDNA 序列和 GST 多抗在片基上点样; (B) 原位表达与固定——利用含有 T7 聚合酶的兔网织细胞裂解液体外表达, C 末端含有 GST 序列的目标蛋白质将被 GST 多抗固定在原位; (C) 检验——所有的蛋白质都用 GST 单抗进行检测, 通过 C 末端标签来确定蛋白质序列是否已经被完整表达; (D) 检测——在另一张完全相同的进行体外表达后的芯片上, 加入靶蛋白, 找出它们与哪些目标蛋白质可以发生相互作用。(目标蛋白质: 从 cDNA 序列表达得到的蛋白质。靶蛋白: 拟研究的蛋白质。)

阅读框架编码蛋白质;或者不能正确表达产生具有氨基酸全序列的蛋白质;或者缺少活性必需的翻译后修饰;或者通过细菌表达的蛋白质不能形成正常的空间构象,这些都直接影响有关蛋白质功能的研究。蛋白质芯片技术本身面临着亟待解决的问题,包括:什么样的片基表面化学分子可以高亲和性、高特异性、高选择性地固定阵列分子;蛋白质在点样过程中如何保持活性;如何选择适当的荧光标记程度以避免降低蛋白质活性或者造成信号的遗失;如何优化固定阵列分子的条件,如偶联化学、缓冲液、制备蛋白质阵列和固定时所用的温度、湿度等。目前蛋白质芯片在灵敏度、可重复性和特异性方面还无法完全达到一些实验的要求,譬如对定量水平要求较高的实验,因而影响了这项技术的可信度。高密度蛋白质芯片的各种高通量的筛选过程还必须具有准确、灵敏、可靠的全自动系统替代已有的成熟的技术体系,这不仅需要功能执行方面,而且还要有成本方面的绝对优势。由于当前基于芯片分析只需要少量样品的特点,增加现有设备的通量也不失为可行之道。对于某些研究领域,如从少量组织样本中寻找肿瘤标记,减少分析用量也是非常必要的改进途径。

7 结论

由于在基础研究、诊断学研究和药物研究方面表现出来的巨大潜力和高密度的机械化点样的可行性,蛋白质芯片已经被证明是整个基因组研究和大规模发现研究的有力工具。改进技术细节、降低成本将进一步充实这项技术的发展动力。快速发展的蛋白质芯片技术受益于不断增长的基因组信息。改进的蛋白质芯片技术将逐步实现它对蛋白质组学、医学研究、药物开发和临床诊断的巨大推动作用。各种不同途径的数据整合将不断加深我们对于生命的分

子机制的理解。

参考文献(References)

- [1] Ekins R P. Multi-analyte immunoassay[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 1989, 7(2): 155
- [2] Petricoin E, Wulfkuhle J, Espina V, et al. Clinical proteomics: revolutionizing disease detection and patient tailoring therapy[J]. *J Proteome Res*, 2004, 3(2): 209
- [3] Wang Y. Immunostaining with dissociable antibody microarrays[J]. *Proteomics*, 2004, 4(1): 20
- [4] Chung GG, Zerkowski M P, Ocal IT, et al. Beta -Catenin and p53 analyses of a breast carcinoma tissue microarray[J]. *Cancer*, 2004, 100(10): 2 084
- [5] Jung GY, Stephanopoulos G. A functional protein chip for pathway optimization and in vitro metabolic engineering[J]. *Science*, 2004, 304: 428
- [6] Vogel V, Sohnlein P, Jager C, et al. LiquiChip bead-based arrays: A flexible and efficient alternative to planar protein arrays[J]. *Shock* 2004 21: 2.Suppl
- [7] Cretich M, Pirri G, Damin F, et al. A new polymeric coating for protein microarrays[J]. *Anal Biochem*, 2004, 332(1): 67
- [8] Avseenko N V, Morozova T Y, Ataullakhanov F I, et al. Immunoassay with multicomponent protein microarrays fabricated by electrospray deposition[J]. *Anal Chem*. 2002, 74 (5): 927
- [9] Choi Y S, Pack S P, Yoo Y J. Development of a protein microarray using sequence-specific DNA binding domain on DNA chip surface[J]. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005, 329(4): 1 315
- [10] Gosalia D N, Diamond S L. Printing chemical libraries on microarrays for fluid phase nanoliter reactions [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(15): 8 721
- [11] Thompson M, Cheran L E, Zhang M Q, et al. Label-free detection of nucleic acid

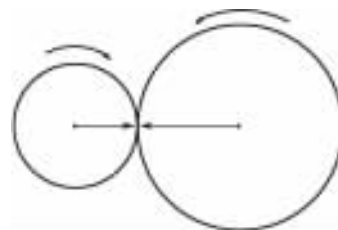
- and protein microarrays by scanning Kelvin nanoprobe [J]. *Biosensors & Bioelectronics*. 2005, 20(8): 1 471
- [12] Boutell J M, Hart D J, Godber B L J, et al. Functional protein microarrays for parallel characterisation of p53 mutants [J]. *Proteomics*, 2004, 4(7): 1 950
- [13] Weng S, Gu K, Hammond P W, et al. Generating addressable protein microarrays with PROfusion (TM) covalent mRNA-protein fusion technology[J]. *Proteomics*, 2002, 2 (1): 48
- [14] Cha T, Guo A, Zhu X Y. Enzymatic activity on a chip: the critical role of protein orientation[J]. *Proteomics*, 2005, 5 (2): 416
- [15] Barry R, Soloviev M. Quantitative protein profiling using antibody arrays [J]. *Proteomics*, 2004, 4 (12): 3 717
- [16] Wulfkuhle J, Espina V, Liotta L, et al. Genomic and proteomic technologies for individualisation and improvement of cancer treatment[J]. *Eur J Cancerr*, 2004, 40 (17): 2 623
- [17] Nishizuka S, Charboneau L, Young L, et al. Proteomic profiling of the NCI-60 cancer cell lines using new high density reverse-phase lysate microarrays[J]. *Proc. Natl Acad Sci USA*, 2003, 100 (24): 14 229
- [18] Zhu H, Bilgin M, Bangham R, et al. Global analysis of protein activities using proteome chips[J]. *Science*, 2001, 293: 2101
- [19] Ramachandran N, Hainsworth E, Bhullar B, et al. Self-assembling protein microarrays[J]. *Science*, 2004, 305: 86
- [20] Chan SM, Ermann J, Su L, et al. Protein microarrays for multiplex analysis of signal transduction pathways[J]. *Nat medicine*, 2004, 10(12): 1 390

(责任编辑 王 芷)

·科技智力游戏·

好玩的数学——要转多少圈

编者按:已故数学大师陈省身教授 2002 年曾为“少年数学论坛”题词:数学好玩。在一般人的心目中,数学是一门深奥、抽象、难懂的学科,怎么会是“好玩”的呢?其实,陈先生说的一点也不错,数学真是非常好玩的,因为数学中有许许多多奇特而又有趣的现象,还有许许多多的未解之谜。数学,作为一切科学技术的基础,在人类文明的发展中发挥了十分重要的作用。为激发广大读者对数学的爱好和兴趣,使读者在阅读科技论文之余换一种方式轻松脑子,本刊开设了智力游戏栏目——好玩的数学,并专门约请北京理工大学计算机专家吴鹤龄教授主持。在以后的每期《科技导报》中,吴教授都将提出一个有趣的数学问题供读者思考,答案在下一期公布。



设有如图所示两个互相啮合的齿轮,齿轮上各画了一条带箭头的直线。开始时,两个箭头正好相对,然后小齿轮顺时针方向转动。若大齿轮有 181 个齿,问小齿轮转了多少圈以后,这两个箭头又重新相遇?

(供稿 吴鹤龄 责任编辑 苏 青)