

高技术

DNA 芯片技术及其农业应用

DNA Chip Technology and Its Application in Agriculture

刘国栋

(中国农业科学院农业自然资源与农业区划研究所 北京 100081)

DNA 芯片 (DNA chip) 是生物芯片 (bio - chip) 的一种, 它有多种同义词: 基因芯片 (gene chip)、DNA 显微芯片 (DNA microchip)、DNA 阵列 (DNA array)、DNA 显微阵列 (DNA microarray); 另外, 由于 DNA 芯片是一种寡核苷酸, 所以也称为寡核苷酸阵列 (oligonucleotide array) 或寡核苷酸芯片 (oligonucleotide chip) ^[1]。

显微阵列分析源于固体表面的生化试验。芯片技术就是利用高密度的分子阵列分析方法来检测生化样品, DNA 或 RNA 混合物用酶促方法加上核苷酸作为标记形成报告标签, 再与显微阵列进行杂交。杂交反应使荧光样品 (探针) 与芯片表面的互补序列 (靶子) 的各个不同组分形成异源双链。由于每个靶元件或“探针位点”在化学上都是同源的, 并占据着特定的位点, 所以通过测定显微阵列上每个位点的荧光强度就能确定荧光混合物中每个组分的特性和数量。

固体表面显微分析可以利用先进的荧光检测技术, 包括共聚焦激光扫描技术 (confocal laser scanning) ^[1] 和电荷耦合器件 (charge - coupled device, CCD) 作图术。有了这些技术便可对分子数据进行快速而定量的综合分析。DNA 芯片 (即样品与固定化的 DNA 分子杂交) 的基本原理虽然在概念上与早先以滤纸为基础的分析方法很相似, 但 DNA 芯片分析的精度、速度和尺度都是前所未有的, 并代表着分子生物学的主要技术进步。

显微阵列的制备方法有合成法 (synthesis strategy) 和沉淀法 (deposition strategy) 两种。合成法产生有成组寡核苷酸排列成 10 ~ 25 个碱基的显微阵列, 而显微沉淀技术制备的芯片则常常由 PCR 扩增而成的 0.5 ~ 2.0 Kb cDNA 分子组成。

一、显微阵列杂交的物理化学

在杂交反应过程中, 异源双链的形成速率受几个因素的影响, 包括目标链的浓度、探针的浓度、异源双链的序列组成、盐分和温度等。如果目标链的浓度比探针混合物中同源链的浓度高约 10 倍, 则会发生假一级反应 (pseudo - first order reaction), 因此杂交速率主要由探针浓度决定。这样探针浓度增加 2 倍, 信号强度便也增加 2 倍。高效合成技术和显微沉淀技术在高浓度的偶联化学中常被结合运用, 也可用于制备显微阵列, 因具有很高的靶子浓度, 所

以在很宽的样品浓度范围内都呈假一级反应。大多数用寡核苷酸和 cDNA 显微阵列进行的化验分析, 都是利用含有比探针浓得多的固定化靶子 DNA。

Na⁺ 等一价阳离子通过保护带负电荷的磷酸骨架而提高异源双链的形成速率, 否则不利于靶子和探针分子之间的碱基相互配对。最典型的是, 寡核苷酸和 cDNA 显微阵列试验中都要使用大约 1 摩尔的 Na⁺。只要杂交温度在异源双链的溶点温度 (T_m) 以下, 温度对杂交速率常数的提高都有积极意义, 25 ~ 42 和 55 ~ 70 分别是寡核苷酸和 cDNA 这两种显微阵列试验中最典型的杂交温度。

序列组成是最难控制的参数, 而且与寡核苷酸的关系远比与 cDNAs 的关系要密切得多。G - C 配对形成 3 个氢链。而 A - T 配对则只形成两个氢链, 所以在富含 GC 的区域中双链的稳定性便明显增加。当这些稳定区达到大约 50 个碱基的长度时, 便认为这些区域可作为“成核”位点, 异源双链便可由此向外延伸。由于在单个显微阵列成千上万的不同异源双链以杂交的方式形成, 所以关键是要选择一组“温和的” (compromise) 反应条件, 使信噪比达到最高, 以尽可能多地分辨异源双链探针。这要靠试验引入合适的阵列序列的正负控制方法, 并锁入 (spiking - in) 一系列正向控制而使之得以实现。

寡核苷酸显微阵列杂交的物理化学明显不同于 cDNA 显微阵列。因 cDNA 的序列较长, 所以寡核苷酸的杂交对单个异源双链的 GC 含量更为敏感。为使这一问题减少到最低程度, 便可在杂交反应中加入能使 G - C 和 A - T 碱基对的束缚能等量化的试剂, 如氯化四甲基铵 (tetramethylammonium chloride, TMAC)。因对于 0.5 ~ 2.0 Kb 序列来说, 碱基组成远非主要问题, 所以对于 cDNA 显微序列试验中, 完全没有必要采用 TMAC 等预防措施, 单个碱基对的误配可能对寡核苷酸等短序列的杂交重组具有深刻影响, 但对 cDNA 杂交则相对地没有多大影响。在寡核苷酸显微阵列的再测序及诊断应用中可以利用这一特点。

二、寡核苷酸显微阵列

1. 寡核苷酸显微阵列的操作

寡核苷酸显微阵列操作的最好对策是, 在固体表面利用组合化学法 (combinatorial chemistry methods) 合成 DNA。玻璃的化学特性很稳定, 易于用化学

方法清理,其荧光水平很弱,是目前使用最多的固体表面。因目前还不可能对由短小的前体合成所得的全部反应产物进行纯化,所以就寡核苷酸长度而论,“原位”(in situ)合成对策还有一定的限制。另一方面,由于DNA在大量平行位点上合成,且序列数据可直接从数据库中获得,而不需就克隆进行任何物理处理,所以如果要获得高密度的显微阵列,则合成法明显优于沉淀法。

在现有的3种寡核苷酸显微阵列操作中,Fodor等的光致去保护法(light-directed deprotection method)是产生高密度芯片的最佳方法。该方法利用寡核苷酸磷酸酰胺产生光活性保护基因,使光在合成反应中能作为活化剂发挥作用。一个合成循环主要包括两步:光致去保护和核苷酸偶联,用光蚀刻光栏(photolithographic masks)来控制芯片区域。从4种碱基中选1种淹没芯片表面,就会使合成表面的每一个去保护区与那一碱基发生选择性偶联。

鉴于各个去保护偶联循环都需要3种可能碱基中的1种,要合成长度为20聚体的全部可能引物的最大循环数将是80(即 $4 \times n$, n 为寡核苷酸的长度)。这种方法能产生很高密度(250 000 探针位点/ cm^2)的可操作显微阵列。然而,现在的偶联效率只准许25个碱基偶联到这些芯片上。超过100个循环,中间产物的积累便成为问题。但光电印迹术的最新进展可增加原位合成的效率,从而使寡核苷酸的含量在25个以上成为可能。

一般说来,光电蚀刻术在范型技术(prototyping technology)方面相对较差,但在生产方面却非常优良。该方法的不足主要是设计工作量大,且光栏设计成本高。然而,一旦制好一套光蚀刻光栏,就可在合理的成本下产生大量芯片。目前Affymetrix芯片正供不应求,一方面是由于该公司的壮大速度还不够快,另一方面光蚀刻过程的确很不容易。

其他原位操作技术也可用来制备寡核苷酸显微阵列,例如喷墨印迹术(ink-jet printing technology)用于引导磷酸酰胺向特定定位点的迁移。在这一方法中,玻璃表面要用光敏疏水材料(light-sensitive hydrophobic material)涂上一层膜,而后用光电蚀刻术制备合成区,磷酸酰胺运至最终的亲水“井”而进行化学偶联,接着用氧化剂和去阻塞剂(deblocking agent)清洗,以完成偶联循环,这种技术虽然只能获得中等密度(10 000 探针位点/ cm^2)的芯片,但操作简易,Protogene, Incyte, Hewlett Packard, Rosetta和几个其他公司的努力表明,喷墨方法对于显微阵列的制备具有重要的商业价值。

2. 用寡核苷酸显微阵列进行突变检测

所有可能8聚体的显微阵列曾被认为是另一种以Sanger为基础的DNA测序方法的前提。Drmanac等提出的杂交测序法(Sequencing by hybridization, SBH)曾经被认为是寡核苷酸显微阵列技术的主要应用领域。然而,在今天看来要达到这一目标是非常困难的,以显微阵列为基础的杂交测序技术的主要缺点是,难以从大量平行的寡核苷酸中获得一致的杂交信号。异源双链形成过程中,由于序列的变异引起的不一致就会导致假阳性和假阴性的出现,结果便是典型的“信噪”两难窘境:新合成的序列模糊不清。这种限制再加上复杂的基因组的重

复序列便易引起序列出现分枝点,说明显微阵列的杂交测序应用还需要在芯片设计和试验方法的重大改进方面进行大量工作。

作为杂交测序之外的其他应用,注意力已转移到了更为常规的诊断应用上,例如DNA序列单个碱基误配的诊断,而这些DNA序列的原初组成已用常规测序方法进行测定。所谓再测序方法有赖于从单一碱基误配中发现完美误配(perfect mismatch)的能力,这种区分是通过寡核苷酸的4个碱基进行杂交,而这些寡核苷酸除了其中间的碱基不是A、G、C就是T之外,是完全一致的,很显然,寡核苷酸序列的中间误配比起末端任何位置的误配引起的不稳定性要大得多。Affymetrix的贴砖战略(tiling strategy)就是利用4种寡核苷酸逐一碱基进行再测序,用这一方法再测序10kb基因就需要40 000个寡核苷酸的显微阵列,利用Affymetrix技术是易于达到这一密度的。

“4L”贴砖模式用于对已知DNA序列进行点突变分析,Chen和杨等人根据人类线粒体DNA的序列设计了芯片。人类线粒体基因组全部序列的合成就是根据一套由16 000个20聚体的芯片来实现的,结果64 000个探针位点的芯片使整个线粒体基因组的突变检测用1次杂交就完成了。在总共180种多态性中,芯片成功地鉴定了179个碱基突变。

与最初由Kallioniemi等提出的方法相似,利用双色杂交图解(two-color hybridization scheme),通过制备试验和对照两种来源的荧光样品就能完成线粒体基因组的再测序。两种线粒体DNA样品,在分别以生物素(biotin)和荧光素(fluorescein)特征的核苷酸同系物中,利用PCR扩增技术进行标记,接着用Dnase I对扩增子(amplicon)混合物进行片段分析,然后将这两个样品进行杂交,待未杂交物洗净之后,用链霉亲和素(streptavidin)藻红蛋白(phycoerythrin)结合物对显微阵列进行温育。先后利用藻红蛋白和荧光素发射分别进行检测,突变检测也就结束了。

对芯片上多个不同探针位点的两种信号比例作图就能检测点突变,与荧光阳性对照相比,患者样品如有碱基误配,藻红蛋白信号便减弱。在某些情况下,用贴砖印迹(tiling footprint)鉴定的具有最高藻红蛋白信号的探针位点,就可确定被替代的核苷酸。值得指出的是,这种贴砖策略并不能检测所有可能的突变。例如某些GC富集区与芯片探针相近的几个探针位点进行杂交,这些区域的突变就不会在贴砖区留下足迹。

3. 用杂交方法对寡核苷酸进行遗传分型

上面概述的贴砖策略是对特定样品进行新突变体等位基因分析或多态性分析的典型实例。然而,在诊断和遗传分析中,等位基因很可能富含信息,寻找等位基因可将注意力直接集中到这些多态性上,对1组特定的位点集中进行分析,能简化高强度的贴砖策略设计。

以前诊断芯片专用来报告CFTR、BRCA1和 β -球蛋白的突变等位基因,在CFTR试验中,操作过两种显微阵列,一种含有428个探针位点,用于鉴定CFTR外显子11的突变;而另一种含有1 480个元件的显微阵列用来检测缺失、插入或碱基代换突变,

已用标记控制的寡核苷酸靶子杂交,构建了寡核苷酸显微阵列。从已有特定突变的病人身上取得 CFTR 基因组 DNA 样品进行杂交,可以进一步用来检测杂交的特异性,最终用 CFTR 寡核苷酸显微阵列对 10 名未知病人进行遗传分型,分型结果与用 PCR 产物进行的限制性片段分析结果完全一致。

在 BRCA1 试验中,用含有 96 600 个 20 聚体的显微阵列来鉴定总长度为 3.45Kb 的外显子突变,参比样和试验样同时对这些显微阵列进行协同杂交 (co-hybridized),用双色分析法 (two-color analysis) 对这些杂交模式的差异进行定量分析,15 个已知突变的病号样品中有 14 个得到了精确检测,20 个对照样中都没有出现假阳性突变,8 种单核苷酸多态性也得到了鉴定。

三、cDNA 显微阵列

1. cDNA 显微阵列的生产

含有诸如 cDNA 等大量 DNA 片段的显微阵列通常用物理沉淀法来生产。物理法使少量感兴趣的 DNA 在玻璃表面的已知位点沉淀。到目前为止有两种高级的液体传递技术 (liquid delivery technology) 得到了广泛的应用。第一种技术由机械显微点斑法构成,该方法利用别针、镊子、毛细管和其他有尖头的装置,并通过移动控制系统将少量 DNA 运送到已知的位点。预先合成的物质运送到特定表面的速率和准确性由大量的参数来决定,包括机器人控制系统的精确性以及用于操作打印装置的显微机械技术。如同 Southern 最初提出的一样,最便利的打印衬底是标准的载玻片,因其表面能进行化学修饰以吸附 DNA。

现代网格自动控制仪 (modern gridding robot) 很易一次印制上百个芯片,这是显微点斑技术的最新进展,例如含有 32 根打印针的高精度打印针头,在大约 12 小时内能制备含 10 000 探针位点以上的显微阵列 100 个;显微点斑技术进一步改良,最终将自动装制含有 100 000 探针位点的 cDNA 显微阵列。高密度 DNA 印制技术与合适的荧光检测仪相结合,能对任何真核生物进行高效廉价的基因组分析。

第二种方法是利用喷墨针嘴 (ink-jet nozzle) 运送浓缩的 DNA 溶液到玻璃表面来制备 cDNA 显微阵列。该技术有赖于所谓压电效应 (piezoelectric effect)。某些材料如陶瓷等物质在电势作用下就会膨胀,压电元件便紧紧地吸附到毛细管上。用这种电势控制方法就会使毛细管发生选择性收缩,附着在适当的位移控制系统上的压喷就能以每秒 10 000 小滴的速率转运 100 皮升 (picoliter) 小滴。几家公司包括 Incyte Pharmaceuticals 和 Protogen 都有自己的喷墨专利技术。最近用高密度 cDNA 显微阵列进行人类基因表达的分析表明,喷墨技术是切实可行的。

相对于合成技术来说,沉淀技术的主要优势在于几乎能就任何感兴趣的分子包括基因组 DNA、抗体、类脂、碳水化合物、小分子等等制备显微阵列。按现在的打印密度,它能制备细菌人造染色体 (BACs) 的显微阵列,这足以覆盖整个人类基因组

3 × 10⁹ Bp。人类 BACs 显微阵列可用于多种基因组学试验,包括基因作图、DNA 指纹和启动子鉴定等,虽然长 DNA 分子的显微阵列不适于进行单核苷酸分辨率的测序,但基因组 DNA 的显微阵列可进行单核苷酸分辨率的大量平行分析。

2. 基因组混配筛选

基因组混配筛选 (Genomic mismatch scanning, GMS) 是以杂交为基础的连锁分析方法,能快速鉴定两个相关个体之间血缘一致性 (identity-by-descent) 的区域。遗传上一致的染色体片段的鉴定,是根据这些 DNA 序列形成广泛的无混配异源双链区域的能力来进行的,一系列酶促步骤与过滤束缚相结合,常用于有选择地除去异源双链,而这些异源双链常含有混配组合 (即没有血缘一致性的染色体区域),代表遗传区域的染色体 DNA 片段与整理过了的基因组克隆的显微阵列杂交,其阳性杂交信号就是具有高分辨率的血缘关系区域。

由于现已知道酵母的整个基因组序列,GMS 已极为广泛地用于酵母的遗传研究,该方法特别有希望成为多基因特征遗传图谱分析的工具。例如,酵母菌株能在 42℃ 下生长的能力就被认为是某些酵母菌株致病性所必不可少的特性。通过对大量致病野生型菌株杂交所得四联遗传分析,当有可能鉴定所有赋予酵母高温生长能力的基因。

由于用人类 DNA 模板合成的 inter-alu PCR 产物正在用放射性杂交产物进行物理图谱分析,所以可以想见,GMS 最终将成为人类遗传连锁研究的工具。这些经图谱分析后的产物将用于制备特定片段的显微阵列,用于检测减数分裂重组的断点 (meiotic recombination breakpoints)。

植物基因组也含有大量重复元件群 (repeat element families)。这些元件群可作为合成 PCR 片段的 AluI 元件等元件。例如,玉米基因组含有中等重复的 DNA 序列 (ZLRs),相当于每个单倍体基因组约 2 500 拷贝;此外,ZLRs 序列仅只存在于玉米属中,而其他禾本科物种都没有这一序列。对玉米进行 ZLRs 序列分析表明,其 *diploperennis* 有一个长末端重复序列区,这个区域有两族不同的双列 (tandem) 重复,和几个 ORFs,表明可能是派生于几个不同的转位因子 (transposable elements)。对玉米基因组的 *Adh* 区进行有限的基因组分析表明,这一基因组有大量这种被分散的重复序列。Ananive 等报道,由燕麦 × 玉米杂交的胚拯救形成完整的燕麦基因组,将单个玉米染色体加到燕麦的基因组便产生异常植株。以高度重复的玉米专性序列作为探针,他们还有选择地分离了含有玉米基因组 DNA 的粘性质粒 (cosmid) 克隆。在某种意义上说,这些杂交系都具有用来形成玉米辐射杂交 (radiation hybrid) 群的潜能。其中的玉米重复 DNA 序列起着 AluI 重复序列在燕麦基因组背景中鉴定玉米基因组 DNA 的作用。

GMS 是利用基因显微阵列为试管选择提供核酸混和物组分鉴定的唯一实例。限制性内核酶保护选择扩增 (restriction endonuclease protection selection and amplification, REPSA) 是以 DNA 显微阵列为基础进行检测的另一可能方法。REPSA 利用限制性酶切、PCR 扩增和滤膜结合试验相结合的方法有选择

性地鉴定束缚蛋白质的 DNA 共有序列 (consensus sequences)。

四、DNA 芯片与功能基因组学

1. DNA 芯片的转录监测

对成千上万个相似基因进行转录水平的测定是 DNA 芯片技术更为广泛的应用之一。基因表达分析的显微阵列是 DNA 芯片技术的第一例生物学应用,寡核苷酸和 cDNA 显微阵列二者都能进行很好的转录监测。

寡核苷酸显微阵列对表达研究的优势就是能直接根据序列数据库的数据制备芯片,而不需进行繁杂的克隆处理,也不用折腾样品。寡核苷酸显微阵列的另一优势在于能从多基因家族中逐一进行转录,这样就能共享广泛的同源序列,而易于通过合成寡核苷酸来区分异源区域。然而,cDNA 的显微阵列对于寡核苷酸显微阵列也具有明显的优势,包括易于进行原型分析和数据分析,并且在基因显露 (gene discovery) 应用中能检测大量新的 cDNA 分子。如果现有研究态势继续下去,寡核苷酸和 cDNA 显微阵列在基因表达分析中似乎有着更为广泛的应用。

要开发 DNA 芯片在基因表达研究中的应用,有 3 种对策可供选择。第一种就是在战略上选择一些特定的基因,而且已知这些基因可能在特定的生物学过程中起着重要作用。这类研究的实例是由 Heller 在分析炎症时发现的。第二种选择限于 cDNA 显微阵列,即在序列分析之前,利用文库中的克隆。第三种选择就是利用生物完全表达的序列合成芯片。“基因芯片”为发现代谢与遗传途径之间新的相互作用,并为洞察新的表达序列的功能提供了最好的机遇。

2. DNA 显微阵列与蛋白质组学

和鉴定某些带有小配体的蛋白质一样,对细胞内蛋白质与蛋白质相互作用的阐明,是 DNA 芯片能显著增加其应用速率的另一个领域。Bartel 等证明利用基因组序列信息能构建“蛋白质连锁”图 (protein-linkage map),他们正确提出酵母的双杂交系统 (two-hybrid system) 很可能是系统确定复杂生物体中蛋白质与蛋白质相互作用的最好工具。双杂交系统利用两种融合蛋白质来激活酵母报道基因的转录。第一个融合蛋白质融合到目标蛋白质的 DNA 束缚区,而第二种蛋白质则是融合到第二个目标蛋白质的酸性转录激活区。两种嵌合蛋白质特定的相互作用便引起报道基因的转录活化,而这种活化易于用比色分析或营养缺乏互补作用 (auxotrophic complementation) 进行评价。

在常规双杂交方法中,用酵母检测鉴定的多种克隆的序列分析能确证彼此相互作用的几种蛋白质的一致性。系统双杂交分析 (systematic two-hybrid analysis) 则需要大量进行 DNA 测序,这也就是主要的时间消耗和物质消耗之所在。作为又一种常规的 DNA 测序方法,可以利用芯片杂交来鉴定有关的蛋白质相互作用。在整个基因组序列都已清楚的情况 (如酵母) 下,DNA 芯片可用来进行大量相似基因的

再测序。利用这些芯片,有可能对其编码序列与双杂交分析发生相互作用的所有克隆进行快速鉴定,对基因组芯片的杂交可就单一杂交中蛋白质-蛋白质相互作用所涉及的全部基因进行鉴定。

噬菌体显示文库 (phage presentation libraries) 也可用于以 DNA 芯片为基础的检测系统,利用由噬菌体过滤性病毒外壳蛋白和目标基因嵌合序列 (chimeric sequence) 编码的融合蛋白质就能展示噬菌体,如同双杂交系统的情况一样,构建编码融合蛋白的 cDNA 文库。利用植物病毒外壳蛋白融合编码序列构建植物种的噬菌体显示文库,该文库的各个克隆可以用任一感兴趣的有机配体 (如除草剂,但其作用模式尚未完全清楚) 进行“淘洗” (panning) 来选择。如果该有机配体固定到惰性的支持物上,那么束缚到这种支持物上的噬菌体克隆就能通过洗提进行纯化,然后噬菌体颗粒就可用作 PCR 的模板,并以 cDNA 插在其侧翼的一组荧光标记物作为引物。在这种加富群体中,cDNA 片段就可通过显微阵列杂交进行鉴定。

3. 分子条码与反向遗传学

在 DNA 芯片将起中心作用的后基因组时代中,另一个目标就是对经受各种不同选择压力的突变体群体进行鉴定。酵母基因组测序项目的完成已使酵母群落遗传学很快就要进入后基因组时代。酵母群落的下一理论步骤之一就是系统制备相当于全部 6 000 个开读框 (open reading frame, ORFs) 的单基因缺失突变体。的确,同源重组对酵母基因的选定易于反掌,这便是本模式系统的根本优势之所在。

Shoemaker 提出了一种能对大量相似而又极为诱人的突变体群体进行筛选的新对策。他们的对策是对酵母基因组 6 000 个 ORF 的每一个都引入奇特的分子序列或“条码”。这些奇特的 20 聚体特别设计为具有相近的熔点温度和最少的同源序列,而后与寡核苷酸显微阵列进行平行杂交分析 (parallel hybridization analysis)。在这一策略中,含有所有 6 000 个基因的全部条码的酵母菌株库都要接受一定的选择压的选择。在试验过程中,对在选定条件下生长的细胞应依次取样,并用具荧光引物的多重复合 PCR 标记条码序列,然后将荧光扩增子库与条码扩增互补序列的寡核苷酸显微阵列进行杂交,再就每个条码部位的荧光强度进行比较分析,这样就能为特定的选择压下每个菌株的适应性进行定量测定。菌株的消失与选择压的关系就可为酵母基因功能提供总体分析。

因在高等生物中还不能利用遗传条码,所以系统寻找突变体等位基因就是高等植物的遗传分析所必不可少的,就植物而言,拟南芥很可能就是这些努力所选择的对象。Feldmann 等提出了用表达序列标签 (expressed sequence tag, ESTs) 作为鉴定所研究基因的“插入元件” (insertion element) 的通用方法。在该方法中,用 PCR 筛选具有随机区位的插入元件的拟南芥品系库。在 PCR 扩增中凡目标基因具有突变插入的品系便产生特定的扩增子。显然这一方法能用于拟南芥的所有测序了的基因,但就引物的合成来说,不仅工作强度大,而且颇耗财力。已有人证明,相互交错的非对称 PCR 可用来合成植物 DNA/T-DNA 插入接合点的产品,PCR 扩增子与表

达序列的显微阵列杂交,便可用来加速拟南芥突变系的鉴定。

五、对农业商务的潜在影响

虽有平行表达监测,但功能分析会有助于研究人员更好地理解植物生长发育的基本机理,随着组织类型、发育阶段、激素和除草剂处理、遗传背景和环境条件等综合函数的表达信息数据库的逐步完善,与植物生物学有关的许多方面的基因显微阵列有可能为基因组序列信息和功能分析的相互连结提供一种方法。新近利用 cDNA 显微阵列对草莓和牵牛花进行表达监测的试验表明,DNA 芯片技术可以直接应用于农业生物技术。

某些特定的研究领域都具有显著的商业意义。由于植物激素在植物生长发育中的核心作用,植物激素作用的过程中以显微阵列为基础的基因表达分析将是重要的商业项目。基因与环境的相互作用对植物特别重要,并将形成另一个有趣的研究领域,显微阵列将有助于植物生物技术公司对转基因植物进行快速分析。这些数据将有可能对表达模

式与优良性状(诸如受精、结实、产量以及对环境和害虫等的抗性)进行基因组尺度的相关分析。最终将有可能通过对转基因品系的芯片分析而减少田间试验的费用。利用显微阵列技术来了解小分子对基因表达的影响将可能加速除草剂的发现并阐明其作用机理。在基因测序和诊断中利用显微阵列,将显著加速 DNA 多态性的鉴定,而这种快速鉴定又有可能促进动植物育种。多态性标记还有大量其他应用价值,包括动植物传染病的诊断与预后等。最近的研究结果表明,DNA 芯片在试验中可同时分析成千上万种多态性。DNA 芯片技术在农业中的近期应用在很大程度上取决于有效投入的显微阵列技术能否供农业研究人员应用。一些私有公司的主要活动表明,完整的显微阵列系统将很快以可接受的价格出售,并应用到农业生产中。以分子显微阵列术为基础的植物基因组分析正在孕育着植物育种和农业生物技术的一场革命。

参考文献

[1] 李凌,马文丽.DNA 芯片技术研究进展.中国生物化学与分子生物学报,2000,16(2):151~155

(以下略去全部 14 篇英文文献)

(责任编辑 王宏章)

科技动态

我国取得了信息存储密度比国外相关研究 高一个数量级的重要成果

在国家自然科学基金的连续资助下,中科院北京真空物理开放实验室、中科院化学所、北京大学电子学系、北京大学化学学院科研人员组成的联合科研小组,采用与国外不同的原理、设计和方法,设计、制备了一系列新型有机复合和有机分子信息存储薄膜,成功地实现了超高密度的信息存储,在有机超高密度信息存储材料领域取得了一系列突破性进展,在《应用物理快报》(Appl. Phys. Lett.)、《物理评论快报》(Phys. Rev. Lett.)等国际上有重要影响的杂志上发表了多篇论文。

1996 年他们采用自行设计、合成和制备的全有机复合薄膜作为电学信息存储材料并利用扫描隧道显微镜 (STM) 成功地得到了信息点直径为 1.3 纳米的信息存储点阵,信息点直径较国外报道的研究结果小近一个数量级,是现已实用化的光盘信息存储密度的千万倍以上,奠定了我国在该研究领域的国际领先地位。之后他们制备了多种新型有机薄膜,做出了信息点大小分别为 0.7 纳米和 0.8 纳米的信息图案,两个信息点的最小间距分别为 1.2 纳米和 0.6 纳米,仅为国外信息存储密度的几十分之一且非常稳定,在连续 2 000 次的读取过程中没有发生可观察到的变化。同时他们在自组织生长有机复合薄

膜中第一次发现了奇特的“海马”构型,对其进行了物理解释和计算模拟,为有机薄膜在超高密度信息存储中的应用提供了相应的理论基础。

1999 年他们在新型有机复合薄膜上写入信息记录点图案“A”,在薄膜表面施加反向电压脉冲可以进行信息点的擦除。信息记录点的写入和擦除机理是薄膜在纳米尺度的晶体结构变化,其结果为实验和理论计算所证实。

2000 年,他们在一种新型有机分子薄膜上成功地实现了目前最小点径(0.6 纳米)信息点阵的写入,相应的存储密度比国外 1998 年的结果又提高了一个数量级,是目前世界上信息存储密度最高的材料。在两个小时的扫描过程中,信息记录图案非常稳定,没有发生可观察到的变化。同时他们在从小面积信息点阵向信息存储器件发展方面,成功实现了较大面积晶态有序有机材料薄膜的制备问题,为有机信息存储材料应用于信息存储器件迈出了重要的一步。

这项基础性、前沿性的研究成果,有望对新一代信息存储光盘的发展产生深刻影响,为我国在该领域形成自己的理论、发展具有自主知识产权的信息存储材料和技术打下了基础。

(国家基金委供稿)

(上接第 19 页)

而聚苯乙烯和聚对苯二甲酸乙二酯及蒙脱土各自均不具有液晶性、不表现出液晶行为。这一结果在世界上首次被我国学者发现并证实。此发现突破了已有的液晶分子结构理论,对丰富和发展液晶高分子理论乃至受限空间高分子凝聚态理论具有重要科学意义。

特别值得指出的是,用蒙脱土负载催化剂聚合制得的纳米复合超高分子量聚乙烯合金材料,比不含纳米蒙脱土的聚合物易于加工成型,成功解决了这种高分子材料加工的难题,同时又保持了其优良性能。用这种纳米复

合材料直接挤出制备的新型管材,具有优异的综合性能。

同时由此发展而来的插层复合法制备聚合物/层状硅酸盐纳米复合材料,是制备“传统材料基础上的新一代高分子及其复合材料”的理想途径,被誉为 21 世纪初期聚合物材料领域的“超新星”,且蒙脱土在我国资源丰富、价格低廉。他们已将具有应用前景的成果以技术入股方式组建了“北京联科纳米有限公司”,有些成果已在多家大公司进行工业化实验,开始走向产业化。

(国家基金委供稿)