DOI:10.16262/j.cnki.1000-8217.2000.06.011

·成果简介·

DNA芯片技术及其应用

江虎军* 杨新泉* 冯 锋* 杜生明* 王钦南* 夏家辉†

(* 国家自然科学基金委员会生命科学部，北京 100085；
† 湖南医科大学医学遗传国家重点实验室，长沙 410078)

[关键词] DNA芯片，DNA微阵列，人类基因组计划

1 DNA芯片技术产生和发展的背景

1990年10月美国政府投资30亿美元启动了世界上第一个人类基因组计划，计划用15年的时间完成这一计划。实施以来，其研究进展和给生命科学研究所带来的变化是当初人们所未能预料的。由于这项计划将对人们关心的许多生命现象能从根本上找到答案，所以，项目实施之初便受到全世界许多科学家，特别是从事生命科学研究的科学家和新闻媒体的广泛关注。美国的许多生物技术公司对人类基因组计划的投入远远多于美国政府投资的30亿美元，估计可能达300亿美元以上。"八五"期间国家自然科学基金委员会不失时机地以重大项目的形式在我国第一个资助了具有我国特色的人类基因组计划(资助金额300万元，今天看来，这项决策是多么的及时和重要)。作为重中之重，"九五"期间，又以重大项目的形式连续予以资助(资助金额700万元)。到目前为止，在致病基因克隆、急性早幼粒白血病和中华民族的多样性研究等领域已取得了重要进展，为国内外同行所关注。

人类基因组计划中的重要内容是完成全部人遗传密码的序列测定，2000年6月26日，美国、英国、德国、法国、日本和中国6个人类基因组测序国家同时向全世界宣布，完成了覆盖人类基因组97%的工作草图的序列测定。科学家们意识到完成测序后如何鉴定人10万个基因的功能(已有约10 000个人基因的功能得到初步鉴定)将是人类基因组研究计划之后的重点。特别值得一提的是，从这项研究计划中所产生的新技术新方法已大大加快了人类认识其他生物的速度，如对基因组的大规模测序，到目前为止，已完成了近50种生物全基因组测序，得到大量的DNA序列和功能未知的基因。

显然，随着测序的进展，如何鉴定越来越多功能未知的基因已变得越来越重要。众所周知，任何一种生命现象的背后，特别是那些高等生命的生命活动，不是由简单的一个或几个基因控制，而是由多个基因的网络控制，通过单个基因的研究去认识其中的规律具有明显的局限性。生物个体在其不同部位，不同发育阶段，不同的生理状态，均涉及到许多基因的开启和关闭，因而基因间的这种相互作用和调控表现出了生命的复杂性，了解基因的功能及其表达调控规律正是今后研究的必然。

正是生命科学的这种强烈需求促使科学家们发展了DNA芯片技术，这也标志着从结构基因组向功能基因组研究的转变[1]。

2 DNA芯片(或DNA微阵列)技术

DNA芯片(DNA chip)技术是指采用特殊的手段，将DNA分子按一定方式密集排列并固定在面积有限的特殊材料表面，通过将未知样品中的生物分子与芯片上所载的已知分子间的杂交，获取有无强弱的杂交信号，进而提取未知样品中大量的生物信息。这项技术的特点是自动化程度高，灵敏度高，效率高，能同时进行大规模的搜索式研究，而且成本低，污染小，操作空间小。广泛用于基因功能鉴定，疾病诊断，DNA测序，药物筛选等研究领域。DNA芯片是生物芯片(Biochip)技术中的一种，除此之外还有蛋白质芯片(Protein Chip)、细胞芯片(Cell Chip)和组织芯片(Tissue Chip)。目前DNA芯片的技术较成熟，市场上见到的基本上全是DNA芯片，且多为

本文于2000年7月20日收到.

?1994-2018 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

cDNA 芯片，其他 3 种芯片也有成功的报道。

DNA 芯片，又称为基因芯片(Gene Chip)或 DNA 微阵列(DNA Microarray)。DNA 芯片的片基可以只有几个平方厘米大小，也可以大到上百个平方厘米，在上面排列的生物分子少则几百个，多则上万乃至几十万个。因此，采用什么样的手段将尽可能多的生物分子排列在有限面积的片基上一直是生物芯片技术中的一个关键技术。目前主要有两种方式，一是 Affymetrix 方式，在 1991 年由 Steven Fodor 及其他的同事共同研发而成[2]，其原理与计算机的硅芯片制作相类似，即采用光蚀刻(Photolithography)技术。首先在片基表面涂上一层光敏材料，利用光拦(Light Mask)技术在片基上蚀刻出大量的斑点，使得片基上斑点处的活性基团暴露，然后直接将生物分子固定在此处，正如合成 DNA 引物一样，通过多次反复的过程，即可在每一个斑点处合成出一段 DNA 分子。根据同样的原理，也可以合成出一段寡肽，制作成蛋白质芯片。这种方法的最大优点是能制作高密度的芯片，每平方厘米的片基上可以排列多达 40 万个生物分子。然而在每一个斑点处只能合成长度有限的 DNA 分子，通过这项技术很难合成出一个完整基因的 cDNA 分子。制作生物芯片的另一种方式是由 Stanford University 的 Pat Brown 和他的同事共同研发而成，其原理类似于点阵式打印机，即通过机械手直接将生物分子点在片基上。采用这种方法制作的 DNA 芯片的密度较上一种方法要低，但由于点上去的 DNA 分子已预先准备好，所以可以将较长的 DNA 分子甚至将一个完整的 cDNA 分子点到片基上，制作成本也很低。

人们往往将第一种方式制作出来的芯片叫基因芯片。由于固定在片基上的寡聚核苷酸可以人为控制地进行合成，所以可以根据不同的需要可开发出不同类型功能的芯片；而由第二种方式制作出来的芯片叫 DNA 微阵列(DNA Microarray)，主要用来进行基因的功能鉴定。发明第二种制作 DNA 微阵列技术的研究者已将芯片的制作细节公布于众，人们可以从互联网上查到相关资料，因此近年来采用这种方法制作芯片得到了很快的发展。已有不少实验室从公司买回点样机(Arrayer)，根据自己的需要，在尼龙膜或玻璃片或陶瓷片上点上几百个甚至上万个基因片段，制成 DNA 微阵列，在研究中也取得了很好的效果。这种方法的不足之处在于制作过程中点在片基上的 DNA 需求量较大，并且还要求点上的每一个点必须清晰一致。

点样机是一个可以三维移动的机械手，并排排列着 16 个不锈钢针头，点样机每次能同时点 16 个点。一般情况下，7 min 内可以完成一个有 96 个点的方阵，如果要完成一个具有 10 000 个点的 DNA 微阵列，则需要耗时 12 h。现在市场上已有高效率的并排排列着 32 个不锈钢针头的点样机。

科学家们在实验研究中，首先必须从需要研究的样品中获取 mRNA，然后反转录为 cDNA，并用荧光或放射性同位素予以标记，然后将 DNA 芯片与之进行杂交。杂交前，为了使双链的探针变性并减少探针自我形成的二级结构，需要对探针进行热处理和缄处理。杂交时，每平方厘米的片基上加 1.25 μL 的 DNA 探针杂交液，然后将芯片置入恒温恒湿的杂交室中过夜，使得单链的探针尽可能地与片基上的互补链得到充分的杂交，完成杂交后，再用缓冲液洗去芯片表面未结合的探针，然后从芯片上读取杂交信号。

如果采用荧光标记探针，则需要采用共聚焦激光扫描阅读器读取杂交信号，这种仪器能同时识别两种荧光(红荧光和绿荧光)，因此在同一块生物芯片上可以同时与两个来自不同的样品的探针进行杂交，其信号通过光电倍增管数字化后输入计算机，计算机检验芯片上每一个杂交点的荧光强度和杂交点间的荧光强度之比，确定样品中哪些基因得到表达，表达的强度如何。

如果采用放射性同位素标记探针，采用普通的放射自显影即可读出杂交信号，但在同一块生物芯片上每次只能与一个样品的探针进行杂交。

从生物芯片上可以获取大量的数据，但针对极度复杂的生命系统，每一个实验室只能从一个方面获取有限的信息，鉴于此，有远见的科学家已经呼吁，在互联网上建立专门的数据库系统，让在全世界的实验室中产生的数据全部汇集在一起，也让全世界的科学家共享这一数据，联合大家的力量，去分析和挖掘数据库中隐藏的秘密。

3 DNA 芯片技术的应用及发展趋势

DNA 芯片的主要用途包括如下五个方面：一是检测物异 DNA 片断，其目的主要用来进行疾病诊断，病原微生物的检测等等。

DNA 芯片的第 2 种用途是进行基因的功能鉴定[3]，这也是目前 DNA 芯片的一个主要功能。科学家们利用这一技术，比较某一种生物在不同发育阶段、不同生理状态(也可以是在病理状态)、不同组

?1994-2018 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

织间基因的表达谱,从基因组水平了解基因在时间、空间和异常环境下所体现出的功能。实际上,DNA芯片的这种功能只是辅助科学家们把所要研究的范围缩小罢了,并不是直接鉴定出某个基因的功能。通过表达谱的比较,只能说哪些基因参与了某一生命活动,参与的程度有多大,要想知道某个基因的确切功能,还需进一步的实验研究才行。对于单细胞的生物而言,选取处在不同生理状态或不同发育状态的细胞,很容易便可得到基因表达谱的差异,即找到与该功能相关的基因。对于多细胞的生物而言,由于细胞间并不一定处在同一生理状态或同一发育状态,因而得到所需的基因表达谱要相对困难些,主要是取材上不易得到一致状态的细胞或组织。但不管是单细胞生物还是多细胞生物,科学家们最终将会了解到每一个细胞中所有基因的活动规律,也会了解到每个基因在不同细胞中的活动规律。

DNA芯片的第3种用途是用来检测基因组中大量存在的单核苷酸的多态(Single nucleotide polymophims, SNPs),这将帮助科学家构建第三代人类基因组高密度物理图谱[4],既在1kb的序列中便找到一个标记物。

DNA芯片的第4种用途是帮助科学家进行高通量的药物筛选。通过DNA芯片技术找到那些明显影响与某种疾病相关基因表达的化合物,DNA芯片的这种功能将在今后的药物基因组学研究领域得到广泛的应用。

DNA芯片的第5种用途是进行毒理学研究,帮助科学家方便地找到环境中是哪些因素通过哪些基因对人或其它生物产生毒害作用。

美国是当今生物芯片技术研究最先进的国家,美国政府和企业界用于生物芯片技术研究的经费已近20亿美元,估计今后还将进一步增加。美国约有10几家公司进行生物芯片研究和开发,如Affymetrix, Nanogene, Hyseq, Incyte, Sequenom等。目前DNA芯片市场上45%的份额被Affymetrix研发的DNA芯片所占有。目前DNA芯片发展普及的限制因素是其价格[5],Affymetrix公司生产的DNA芯片便宜的约50美元,贵的则在1 000美元以上,而共聚焦激光扫描阅读器更加昂贵,达100 000美元以上。所以开发研究廉价的DNA芯片及其配套系统已是今后的一个必然趋势。除此之外,DNA芯片今后的发展趋势还表现在:

(1)开发研究更高密度的DNA芯片,甚至将包括人在内的生物个体的全部基因排列在一张DNA芯片上,这样更便于科学家从基因组水平去研究和把握生命现象背后的规律;

(2)开发研究全功能生物芯片,或称为缩微芯片实验室,从样品到结果全部过程均在芯片上完成,大大简化实验的环节;

(3)开发研究蛋白质芯片,直接从蛋白质水平去了解研究生命现象背后更真实的情况。

4 我国DNA芯片研究的现状及对策

我国开展生物芯片研究较晚,且投入很少,但还是有一定的基础。仅在生命科学部,1998和1999两年内相继资助生物芯片方面的项目8项,资助总金额不足300万元,在国内已形成了专门进行生物芯片研究的实验室和研究队伍,如清华大学生命科学系程京教授,系清华大学特聘回国的优秀青年人才,在该领域作出过突出的工作,是国家杰出青年科学基金的获得者,已在清华大学联合多个系组建了专门的开展生物芯片研究的实验室。中国人民解放军军事医学科学院王升启博士1998年初便获得所在单位的资助,开展生物芯片的研究,在DNA合成、标记和检测等方面均已取得很好的进展。东南大学陆祖宏教授也是国家杰出青年基金获得者,在超薄抗蚀层的高分辨率刻蚀方面的研究达到国际水平,由此他们发明了可以提高制作DNA芯片效率的DNA芯片印章技术。中国科学院上海细胞生物学研究所胡赓熙教授已率先在国内研发了包含14 000个人基因的cDNA微阵列,并建立了一套96点杂交的内参照系统,保证了杂交过程的完全均一性,提高了分析结果的准确性,并多次举办技术培训班。据估计,国内民间风险资本用于生物芯片研发的投入约为6 000万元。在香港和台湾地区,官方和民间均投入了大量的资金用于生物芯片的研发,据悉,我国科技部准备投巨资用于生物芯片的研究。

DNA芯片技术,或者说生物芯片技术的研究不仅是一门科学,更是一项高科技产业,从实验室走向市场的时间较短。严格意义上讲,生物芯片技术是今后生命科学研究领域的一个重要技术平台,所以我们必须发展自己的生物芯片技术。如何根据我国的具体情况发展我国的生物芯片技术是一个值得仔细考虑的问题,因为我们不能走人家的老路,跟在人家后面亦步亦趋。在研究经费相对不足的情况下,我国除建立一、两个生物芯片研究开发中心外,应主要考虑在一个城市,或一个研究单位或几个研究单位共同建立一个DNA芯片服务中心,所有与DNA

?1994-2018 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

芯片有关的实验均可在服务中心进行，特别是对于DNA微阵列来说，包括其制作在内均可在服务中心进行，否则将会造成经费上的浪费和管理上的混乱。实际上，即使在美国，提供这种服务也正在形成之中。

参考文献

[1] Ermolaeva O, Rastogi M, Pruitt K D et al. Data management and analysis for gene expression arrays. Nature Genetics, 1998, **20**: 19—23.

[2] Fodor S P A, Read L J, Pirrung M C et al. Light-directed, spatially addressable parallel chemical synthesis. Science, 1991, **251**: 767—773.

[3] DeRisi J L, Lyer V R, Brown P O. Exploring the metabolic and genetic control of gene expression on a genomic scale. Science, 1997, **278**: 680—686.

[4] Sinclair B. Everything's great when its sits on a chips—A bright future for DNA arrays. Scientist, 1999, **13**(11).

[5] Service R F. Microchip arrays put DNA on the spot. Science, 1998, **282**: 396—399.

DNA CHIPS AND ITS APPLICATIONS

Jiang Hujun* Yang Xinquan* Feng Feng* Du Shengming* Wang Qinnan* Xia Jiahui†

(* *Department of Life Sciences, NSFC, Beijing* 100085; † *Hunan Medical University, Changsha* 410078)

Key words DNA chip, DNA microarray, human genome project

·成果简介·

多尺度复杂运动的层次相似律

余振苏

（北京大学湍流研究国家重点实验室，北京 100871）

［关键词］ 复杂性，湍流，多尺度运动，层次相似律

复杂系统通常表现出形态异常丰富的行为和功能。湍流是一典型的复杂系统，它具有复杂系统的基本特征：系统内部相互作用的子单元数巨大；系统局部的运动行为无法预测；但系统整体上具有自组织性和结构性，等等。由于湍流结构的形态多样，大小尺度并存，有序与混乱同在，给定量分析带来巨大困难，也使湍流成为二十世纪"经典统计力学中最后一个尚未解决的难题"（Feynman）。其实，湍流研究的这些困难并不是湍流系统所特有，许多其他复杂系统，如气候系统，生物遗传信息系统，经济系统，生态系统等，都具有非常丰富的特征信息。如何从海量信息中提取系统的特征结构信息？如何抓住系统带有决定性意义的整体性质？是研究复杂系统首要的理论问题。

由于近30年来非线性科学与计算科学的发展，湍流研究取得一系列的重要进展。其中较突出的表现在对湍流运动时空结构的多层次性以及对各层次间的相似关系的认识上。1990年，She, Jackson和Orszag[1]首次发现，湍流场中的强脉动旋涡结构呈丝状性，较弱的脉动旋涡结构呈片状性，更弱的脉动旋涡结构呈体状性。本刊上期封面所示的平面二维湍流流动瞬间旋涡结构强度分布就反映了这一点。

示图是湍流直接数值模拟计算的结果，计算方法和程序出自我国杰出青年学者，现任北京大学"长江学者"特聘教授的陈十一博士[2]，计算工作是由北京大学湍流研究国家重点实验室的熊鳌魁博士，在实验室湍流数值模拟中心新建的并行机群上实现的。图中显示了在一些旋涡强度高的区域（深紫色

本文于2000年9月13日收到。

?1994-2018 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net