

基因芯片技术及其在植物研究中的应用

于凤池

(嘉兴市农业科学院,浙江嘉兴 314016)

摘要:基因芯片是一种高通量、快速、平行核酸序列测定及定量分析技术,它是将大量特定序列的核酸片段有序地固定在载体上作为探针与标记核酸分子进行杂交,检测杂交信号的强弱,进而判断样品中靶分子的组成及数量。主要综述了基因芯片技术的原理特点及其在植物上的应用。

关键词:基因芯片;植物;表达检测

中图分类号:Q819 **文献标识码:**A

Genechip Technology and its Applications in Plant Research

Yu Fengchi

(Jiaxing Academy of Agricultural Sciences, Jiaxing Zhejiang 314016)

Abstract: Genechip was a high flux, rapid, parallel nucleic acid sequence detection and quantitative analysis technology. It fixed a great deal of specific nucleic acid sequence on carrier as probe, and hybridized with marked nucleic acid molecular. It estimated the constitutions and quantity of target molecular in samples through detecting the hybridized signal. Principle and character of genechip technology and its applications at plant were summarized in this article.

Key words: genechip, plant, expression detection

基因芯片是伴随人类基因组计划而发展起来的一种新型实用的高新生物技术,是融微电子学、生物学、物理学、化学、计算机科学于一体的高度交叉新技术,具有快速、高效、大规模、大容量、高度并行性等特点,已成为目前国际上生命科学研究的热点之一。目前基因芯片技术已广泛应用于基因表达谱、疾病诊断、药物筛选、遗传作图、基因突变等方面的研究。

1 基因芯片技术

1.1 基因芯片技术的原理及特点

基因芯片(genechip)是生物芯片的一种,又称DNA芯片(DNA chip)、DNA微阵列(DNA microarray)或寡核苷酸微阵列(oligonucleotide microarray)。其工作原理与经典的核酸分子杂交方法是一致的,将许多特定的寡核苷酸片段或基因片段作为探针,有规律的排列固定于玻片、硅片、陶瓷等固相支持介质上,然后与待测的标记的核酸样品按碱基配对原理进行杂交,再经过一定的检测系统对杂交信号进行检测,并配以计算机系统对每一杂交信号进行数据分析和处理,从而迅速得出所要的信息^[1-2]。基因芯片技术与传统的杂交技术相比,该技术具

有高通量、微型化、自动化、高灵敏性和高速性的显著特点,从而解决了传统核酸印迹杂交(Southern Blotting 和 Northern Blotting 等)技术复杂、自动化程度低、检测目标分子数量少、成本高、效率低等不足。

1.2 基因芯片的分类和制作方法

基因芯片一般分为寡核苷酸微阵列(oligonucleotide microarray)和cDNA微阵列(cDNA microarray)。技术流程主要包括芯片的制备,核酸样品的制备和标记,杂交,信号检测 and 数据处理。基因芯片的制作方法有多种:(1)原位合成法:此技术是将半导体中的光蚀刻技术运用到DNA的化学合成中,在固相载体上原位合成寡聚核苷酸,每一次循环都有特定的核苷酸加到特定的位点上,每一个寡核苷酸片段代表了一种特定的基因,存在于DNA芯片的特定位置上。但是此种方法合成的芯片成本高,制备繁琐、耗时。(2)微矩阵法:是将PCR得到的cDNA、寡核苷酸片段等用喷点或针点的方式直接排列于固相介质上。此方法制作的芯片成本低,易操作,点样密度高,可以对一个样品同时进行多方面的检测。因此,此种类型

作者简介:于凤池,女,1976年出生,硕士研究生,农艺师,毕业于浙江大学,现工作于嘉兴市农科院,主要从事水稻花药培养及分子标记的研究工作。通信地址:314016 浙江省嘉兴市双桥 嘉兴市农科院。Tel:0573-83779356, E-mail:yufengchi@126.com。

收稿日期:2008-12-19, **修回日期:**2009-01-14。

的芯片更容易被接受和推广。(3)电定位方法:是利用静电吸附原理将DNA快速定位在介质上。这种方法制作工艺复杂,点样密度低,推广还有一定难度^[3-4]。

2 基因芯片技术在植物研究中的应用

基因芯片技术作为沟通基因序列信息与功能基因组间的桥梁,在后基因组时代将发挥日益重要的作用。目前,基因芯片技术在植物研究中广泛应用于特异性相关基因和新基因的检测、基因表达水平检测、基因突变及多态性分析、基因组测序等。笔者对基因芯片技术在植物中的应用作一简单综述。

2.1 特异性相关基因和新基因的检测

应用基因芯片技术,对比每一个测定基因和已知基因,即可进行新基因的寻找和表达的监测。Aharoni等^[5]从草莓中分离了1701个cDNA片段,与480个矮牵牛植物克隆作为对照,构建成微阵列芯片来研究草莓果的不同成熟时期果色与成熟度的关系,以此方法发现并证实了有两个基因是新基因,其中之一是草莓乙酰基转移酶基因(Strawberry alcohol acyltransferase, SAAT)。在成熟的草莓中,此酶在特殊化合物的合成过程中有很重要作用,同时多种水果中都有这种酶的存在。Aharoni还发现红色果实比白色果实SAAT的表达活性高。

2.2 基因表达水平的检测

植物生长发育是一个十分复杂的过程,涉及到众多基因的表达、调节、控制。以往的研究局限于某一种或某一类基因的行为和功能,不能监测该基因或该类基因与其他基因的互作,无法从整个基因组水平进行研究。利用基因芯片技术进行的表达水平检测可自动、快速地检测出成千上万个基因的表达情况,进而推断基因的功能,这有助于加快植物生长发育机理的研究。Schena^[6]等采用拟南芥基因组内共45个基因的cDNA微阵列(其中14个为完全序列,31个为EST),检测该植物的根、叶组织内这些基因的表达水平,用不同颜色的荧光素标记逆转录产物后分别与该微阵列杂交,经激光共聚焦显微扫描,发现该植物根和叶组织中存在26个基因的表达差异,而参与叶绿素合成的CAB1基因在叶组织较根组织表达高500倍。

2.3 突变性和多态性检测

将基因芯片技术用于检测分子突变,不仅可准确地确定突变位点和突变类型,更主要的是它的快速高效是目前所用的其他方法无法比拟的。基因芯片可以同时检测多个基因乃至整个基因组的突变,还可研究基因(组)的多态性,这将大大促进植物育种科学的发展并促进植物新品种的产生。尽管有关植物突变性和多态性检测的报道较少,但研究突变性和多态性对检

测与防治植物疾病,探究分子突变与环境的关系,促进植物育种和植物新品种的产生等有积极意义^[7]。

2.4 基因组测序

DNA芯片用于序列分析提出较早,原理是依靠短的寡核苷酸探针与DNA杂交,利用杂交谱重建DNA序列,该技术为大规模测序提供了方便、快捷、准确的手段,它可一次测定较长的DNA序列。Bevan^[8]等对拟南芥第4染色体上的1.9 Mb片段进行了全序列测定,结果发现拟南芥基因组中平均每4.8 kb就有一个基因存在,而且54%的基因与GenBank中已知功能的基因有同源性,56%的基因可以与GenBank中的EST相对应,大约20%的基因在该染色体片段上以基因家族的形式存在。

3 小结

基因芯片技术的出现不过短短几年时间,其发展势头十分迅猛,在生命科学的各个领域得到广泛地应用,但在实际应用过程中尚有许多技术问题亟待解决:(1)基因芯片的特异性的提高;(2)样品制备和标记操作的简单化和标准化;(3)增加信号检测的灵敏度;(4)高度集成化样品制备、基因扩增、核酸标记及检测仪器的研制和开发;(5)数据的后续生物信息学分析。此外,芯片制作费用较高,一般实验室难以承担。虽然芯片技术还存在这样或那样的问题,但其在基因表达谱分析、基因诊断、药物筛选及序列分析等诸多领域已呈现出广阔的应用前景,随着研究的不断深入和技术的更加完善,基因芯片一定会在生命科学研究领域发挥越来越重要的作用。

参考文献

- [1] 马立人,蒋中华.生物芯片[M].北京:化学工业出版社,2000:4-10.
- [2] Ramsay R. DNA chips: state-of-the-art[J]. Nature Biotechnology, 1998,16(1):40-44.
- [3] Prpdnikov D, Timofeev E, Mirzabekov A. Immobilization of DNA in Polyacrylamide gel for the manufacture of DNA chip and oligonucleotide Microchips[J]. Anal Biochem, 1998,259:34-38.
- [4] McGall GH, Barone AD, Diggelmann, et al. The efficiency of light-directed synthesis of DNA arrays on glass substrates[J]. J Am Chem Soc, 1997,119(22):5081-5090.
- [5] Aharoni A, KeizerLC P, BouwmeesterH J, et al. Identification of the SAATgene involved in strawberry, flavor biogenesis by Use of DNA Inicroarrays[J]. Plant Cell, 2000,12:647-661.
- [6] Schena M, ShKlon D, Davis R W, et al. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray [J]. Science, 1995,270(5235):467-470.
- [7] 洪丽亚,黄儒珠.基因芯片技术及其在植物上的应用[J].生物技术通报,2002,(4):30-33.
- [8] Bevan M, Bancroft I, Bent K, et al. Analysis of 1.9Mb of contiguous sequence from chromosome 4 of *Arabidopsis thaliana* [J]. Nature, 1998,391:485-488.