

## DRE 顺式作用元件 dsDNA 芯片制备

张玉宝<sup>1</sup>, 郭志鸿<sup>1</sup>, 李同祥<sup>1,2</sup>, 王亚军<sup>1</sup>, 谢忠奎<sup>1\*</sup>

(1. 中国科学院寒区旱区环境与工程研究所皋兰生态与农业综合试验站, 兰州 730000;

2. 兰州大学生命科学学院, 兰州 730000)

**摘要:** DRE 顺式作用元件能与 DREB 转录因子特异结合,在诱导逆境(干旱、高盐、低温)基因表达过程中起重要作用。dsDNA(double strand DNA)微阵列芯片技术能够有效地检测序列特异性 DNA 结合蛋白质(转录因子)与大量 DNA 靶点(顺式作用元件)的特异性结合,可有效分析生物分子结合作用。根据 DRE 顺式作用元件核心序列设计并化学合成含发夹结构的单链 DNA 探针,采用 *Taq* DNA 聚合酶在片延伸,并对其在片延伸体系的反应温度、 $Mg^{2+}$  浓度以及单链探针是否变性等条件进行了优化。结果表明,50℃ 的反应温度,2.5 mmol/L 的  $Mg^{2+}$  浓度和单链不变性是 *Taq* DNA 聚合酶在片延伸的最佳条件。优化方法制备的 dsDNA 芯片将更有利于 DRE 顺式作用元件与 DREB 抗逆转录因子相互作用的研究。

**关键词:** DRE 顺式作用元件; DREB 转录因子; 双链 DNA 芯片

中图分类号:Q781

文献标识码:A

文章编号:1000-470X(2009)02-0188-05

## Manufacture of dsDNA Microarrays of DRE Cis-acting Element

ZHANG Yu-Bao<sup>1</sup>, GUO Zhi-Hong<sup>1</sup>, LI Tong-Xiang<sup>1,2</sup>, WANG Ya-Jun<sup>1</sup>, XIE Zhong-Kui<sup>1\*</sup>

(1. Gaolan Experiment Station for Ecology and Agriculture Research, Cold and Arid Regions Environmental and Engineering Research Institute, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China; 2. School of Life Science, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

**Abstract:** DRE cis-acting element which could specifically bind DREB transcription factors plays important roles in inducing gene expression involved in dehydration, low-temperature, and high-salinity stresses. Double-stranded DNA microarrays could very effectively detect the interaction between DNA-cis-acting elements and protein-transcription factors in regulation of gene expression, and also could availablely analyze the binding interaction of bio-molecular. In this study, we designed and chemically synthesized a hairpin structure single-stranded DNA probe according to the nuclear sequence of DRE cis-acting element. Furthermore, we adopted *Taq* DNA polymerase in the elongation system and optimized the new on-chip reaction conditions. Our experiments showed that the elongation temperature of 50℃, the  $Mg^{2+}$  concentration of 2.5 mmol/L and single-stranded, non-denatured probe are the optimal conditions in elongation with *Taq* DNA polymerase. These results provide further steps toward a better understanding of interaction mechanisms between DRE cis-acting element and DREB transcription factors.

**Key words:** DRE cis-acting element; DREB transcription factors; Double-stranded DNA microarrays

顺式作用元件是 DNA 分子中具有转录调节功能的特异 DNA 序列,本身不编码任何蛋白质,仅仅提供一个作用位点,要与转录因子相互作用而起作用。DRE(dehydration-responsive element)顺式作用元件与 DREB(dehydration responsive element binding protein)转录因子特异结合,并激活报告基因的转录<sup>[1,2]</sup>。DRE 顺式作用元件核心序列为 TACCGA-CAT,1994 年 Yamaguchi-Shinozaki 在分析拟南芥 *rd29A* 基因的启动子中首次发现了该序列,它能对

干旱、高盐和低温下逆境诱导基因表达起重要作用<sup>[2]</sup>。

关于 DRE 顺式作用原件的核心序列 TACCGA-CAT 与 DREB 转录因子的相互作用,Liu 以及 Sakuma 等<sup>[2,3]</sup>采用凝胶移位分析(gel mobility shift assay)方法进行了研究,但是该方法要用到放射性标记,且周期长,耗时多,存在着许多不足。随着生物芯片技术的发展,dsDNA(double strand DNA)微阵列芯片已发展成为高通量检测 DNA 结合蛋白的重要

收稿日期:2008-05-09, 修回日期:2008-12-07。

基金项目:中科院农办项目(CASN-115-06-08)资助。

作者简介:张玉宝(1981-),男(回族),甘肃平凉人,硕士,助工,主要从事基因芯片研究(E-mail:zyubao@yahoo.com)。

\* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail:wxhcas@lzb.ac.cn)。