

基因芯片在微生物检测中的应用及发展概况

王运照, 胡文忠*, 李婷婷, 穆师洋

(大连民族学院生命科学学院, 辽宁大连 116600)

摘要:基因芯片检测技术作为一种前沿生物微量分析技术,不仅高效、快速、灵敏,而且自动化程度高、重复性好、结果可靠,在生物学、环境学和食品安全学等各领域都有广泛的应用,本文主要综述了基因芯片的原理和制备技术,并对微生物的检测应用和发展状况做了一些介绍。

关键词:基因芯片,应用,微生物检测

Research of application and development of gene chip in microbiology detection

WANG Yun-zhao, HU Wen-zhong*, LI Ting-ting, MU Shi-yang

(College of Life Science, Dalian Nationalities University, Dalian 116600, China)

Abstract: Gene chip technology is a kind of cutting-edge biological trace analysis technologies, which is high efficient, rapid and sensitive. Also, it has the advantages of high automation degree, better repeatability and reliable results. It has a wide range of applications in various fields such as biology, environics and food security. The theory and preparative technique of gene chips were mainly summarized. Besides, the application and development of microbial detection were described.

Key words: gene chip; application; microbiology detection

中图分类号: TS207

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)15-0396-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.15.075

随着微生物在食品安全学、生物学、环境学扮演的角色越来越重要,高度信息化、快捷化的现代社会对于微生物的检测要求也越来越高,具有高通量、微型化、自动化和信息化技术特点的基因芯片顺应时代的发展,成为微生物检测中一个有效的手段。该技术不仅可以对遗传信息进行定性、定量分析,而且是鉴别有害微生物和转基因成分最有效的手段之一^[1],成为应用于医疗、食品和环境中微生物的检测和鉴别的重要技术^[2]。由于芯片技术的迅猛发展,目前在食品安全学中,基因芯片是检测食源性细菌、食源性病毒、转基因食品的高效检测手段,同时在环境生态学、生物学等各个领域近几年都有所突破。对于近几年来有关基因芯片的研究需要进行全面的整理及分析,本文主要综述了基因芯片的原理及几年来制备技术的发展,并对基因芯片今年来的发展做了一些介绍,尤其在食品安全学方面利用基因芯片取得的进展做了叙述,并对基因芯片存在问题及前景做了概述。

1 基因芯片简介

基因芯片是上世纪90年代初发展起来的一种

全新的微量分析技术,通过设计不同的探针阵列,并将其固定在微小特殊芯片上,采用显微扫描技术对杂交进行实时监测,具有很高的应用价值。基因芯片的概念来源于计算机芯片,将大量探针分子固定于支持物上后与标记的样品分子进行杂交,通过检测每个探针分子的杂交信号强度进而获取样品分子的数量和序列信息。通常采用寡核苷酸原位合成(in situ synthesis)或显微打印手段,将数以万计、乃至百万计的特定序列的DNA片段,有规律地排列固定于2 cm²的硅片、玻片等支持物上(每平方米点密度高于400),构成的一个二维DNA探针阵列,借助激光共聚焦显微扫描技术对杂交信号进行实时、灵敏、准确、高效地检测或诊断。由于常用硅芯片作为固相支持物,且在制备过程中运用了计算机芯片的制备技术,所以又称为DNA芯片技术^[2]。

1.1 基因芯片的特点

基因芯片集成大量分子探针,可同时获取和分析大量分子信息,分析速度快,效率高。

基因芯片采用平面加工技术,可批量生产,提高

收稿日期:2014-10-27

作者简介:王运照(1988-),男,在读硕士,研究方向:食品加工与质量安全控制,E-mail:lg261752@sina.com。

*通讯作者:胡文忠(1959-),男,博士,教授,研究方向:食品科学,E-mail:hwz@dlnu.edu.cn。

集成度从而降低成本。

运用微流控技术,可把不同的生物处理和分析技术过程集成在一起,制成微型化、自动化的生物芯片,可使检测更便捷、结果更可靠。

1.2 基因芯片的基本原理

基因芯片的基本原理是分子生物学中的核酸分子杂交测序方法,即利用核酸分子碱基之间互补配对的原理,通过各种技术手段将已知序列的核苷酸片段(分子探针)固定到固体支持物上,随后将处理好的样品与其进行杂交,以实现对所测样品基因的大规模检验。基因芯片技术与其他分析基因表达谱的技术,如 RNA 印迹(Northern blot)、cDNA 文库序列测定、基因表达序列分析等的不同之处在于,基因芯片可以在一次实验中同时平行分析成千上万个基因^[3]。

1.3 基因芯片的制作技术

基因芯片的制作技术主要包括四个步骤,即芯片制备、样品制备、杂交反应、信号检测和结果分析。

1.3.1 芯片制备 目前制备芯片主要采用表面化学的方法或组合化学的方法来处理片芯(玻璃片或硅片),然后使 DNA 片段或蛋白质分子按顺序排列在芯片上。根据不同的制备方法,可以将基因芯片分为原位合成芯片和经点样法将 DNA 片段固定于芯片表面的 DNA 微阵列两种不同的类型。高密度寡核苷酸芯片制备主要采用原位合成法,低密度芯片则采用点样法。

原位合成法是在玻璃等硬质表面上直接合成寡核苷酸探微流体通道合成法阵列,是目前制造高密度寡核苷酸芯片最为成功的方法,目前主要有原位光控合成法(主要包括光脱保护合成技术和光敏抗蚀层并行合成技术^[4]等)、原位喷印合成法、微流体通道合成法及分子印章多次压印 DNA 阵列合成法^[5]等,其关键是高空间分辨率的模板定位技术和高合成产率的 DNA 化学合成技术,适合制作大规模 DNA 探针芯片,实现高密度芯片的标准化和规模化生产^[6]。脱保护合成技术以美国 Affymetrix 公司开发的寡聚核苷酸原位光刻专利技术为代表,是生产高密度寡核苷酸基因芯片的核心关键技术,采用的技术原理是在合成碱基单体的 5' 羟基末端连上一个光敏保护基,选取适当的蔽光膜(mask)使需要聚合的部位透光,光通过蔽光膜照射到支持物上,受光部位的羟基脱保护而活化,合成所用的单体分子一端按传统固相合成方法活化,另一端受光敏保护基的保护,所以发生偶联的部位反应后仍旧带有光敏保护基团。因此,每次通过控制蔽光膜决定哪些区域应被活化,以及所用单体的种类和反应次序就可以实现在待定位点合成大量预定序列寡聚体的目的。一段 8 个碱基的寡核苷酸有 65536 种排列的可能,采用此原位光刻专利技术,通过 32 个化学步骤,8 个小时就能合成 65536 个探针,而如果用传统方法合成然后点样,那么工作量的巨大将是不可估计的。同时用该方法合成的探针阵列密度可高达 106 cm²。近年来,Affymetrix 公司将光引导合成技术与半异体

工业所用的光敏抗蚀技术相结合,以酸作为去保护剂,使每步产率从原来的 94% 增加到 98%,点阵密度也增加点到 1010 cm²^[7]。

点样法相比原位合成法比较简单,只需要通过自动点样装置将预先制备好的寡核苷酸或 cDNA 等样品点于经过特殊处理的玻璃片或其他材料上即可,主要有接触点加法和喷墨点加法。接触点加法针头与芯片接触,喷墨点加法针头与芯片保持一定距离。该方法各环节均较成熟,且灵活性大,适合于研究单位根据需要自行制备点阵规模适中的基因芯片。

1.3.2 样品制备 生物样品一般不能直接与芯片反应,必须将样品进行处理得到靶基因。制备和标记靶基因是基因芯片实验流程的一个重要环节,靶基因在与芯片探针结合杂交之前需要进行分离、扩增及标记。近年来主要运用的多色荧光标记技术,可更直观地比较不同来源样品基因表达的差异,即把不同来源的靶基因用不同激发波长的荧光素标记,并使它们同时与基因芯片杂交,通过比较芯片上不同波长荧光的分布图获得不同样品间差异表达基因的图谱,常用的双色荧光试剂有 Cy3^{3'}dNTP 和 Cy5^{5'}dNTP^[8]。

1.3.3 杂交反应 芯片上生物分子相互反应是生物芯片技术中重要的一步,由于芯片中基因片段的长短不同、芯片本身的用途也不同,所以分子杂交的复杂程度和具体控制条件也不同。一般选择用荧光标记,需要一套荧光扫描及分析系统,对相应探针阵列上的荧光强度进行分析比较,从而得到待测样品的相应信息^[7]。

1.3.4 信号检测和结果分析 目前生物探针大多采用荧光标记法,并根据各反应点的荧光信号强弱用扫描共聚焦显微镜读出,目前商业化芯片扫描仪有两类:激光共聚焦芯片扫描仪和 CCD 荧光扫描仪。在分析时,目的是要测量出阵列中每个点的相对荧光强度,其方法是将图像分成对应于每个点的小块,然后测定每个小块中的平均荧光强度。所得荧光图像经数字化,通过采集各反应点的荧光强弱和荧光位置,经相关软件分析图像,即可以获得有关生物信息^[6]。

2 基因芯片技术在微生物检测中的应用

2.1 在食品安全检测中的应用

食源性致病微生物和转基因食品是两大突出的食品安全问题。食源性致病微生物中包含细菌、病毒和真菌,传统食源性微生物的检测方法比较单一,通过增菌培养、分离后进行生化鉴定和血清型鉴定,相对独立、费时费力且无法进行高通量检测,食源性病毒的常规检测有电镜观察、细胞培养、核酸杂交和酶联免疫,其中电镜观察、酶联免疫以及以 PCR 为主的杂交检测由于其低灵敏度而无法用于单独检测^[9]。而基因芯片技术,以其高灵敏度、高通量、高特异性的特点,可以一次性检测多种致病菌,并且结果通过自动化分析,对于建立高效、灵敏的食品检测体系有着传统方法无可替代的优势^[10]。

含有外源基因或外源基因产物的转基因食品自问世以来就备受争议,转基因食品的检测和标识也变得越来越重要,而目前国际上还没有统一的标准检测方法,常用的方法主要有化学成分检测、酶联免疫以及以 PCR 为主的核酸检测法,由于其外源基因种类繁多以及产物的复杂性使得这些方法只能针对单一检测目标进行检测,而基因芯片则刚好弥补了这方面的不足,因此受到了越来越多国家的重视^[1]。

2.1.1 在食源性细菌检测中的应用 大肠杆菌属、李斯特菌属、金黄色葡萄球菌属、沙门氏菌属以及副溶血弧菌属是食源性细菌中最主要的致病菌。Joon Myong Song^[11]等研究了以抗体固定化毛细管反应器和酶联免疫反应剂阵列为基础的缩微生物芯片系统对于大肠杆菌 O157:H7 多元化的检测,大肠杆菌 O157:H7 的最低检测限为 3 个细胞单位,对于跟踪和识别 O157 菌具有重要意义。Borucki 等^[12]成功构建了一种可准确鉴别 24 种近缘单核增多李斯特菌微阵列基因组芯片,与脉冲电泳分离结果保持一致。饶宝等^[13]通过 16S rRNA 基因序列设计特异性探针,制备的基因芯片能够在相同条件下能够同时检测并区分沙门氏菌、金黄色葡萄球菌和大肠杆菌。陆琳等^[14]提出了一种基于遗传算法的 SNP 位点的自动选择方法,能够准确地寻找食源性微生物的 SNP 位点组合,为大规模的检测芯片探针自动设计提供了快速可靠的途径,缩短了国境口岸致病微生物的检测时限。黎昊雁等^[15]利用可见光基因芯片技术,设计靶细菌 16S rDNA 和 23S rDNA 的通用引物,反向引物 5'端标记生物素,建立的基因芯片方法可同时检测志贺菌、耶尔森氏菌、沙门菌、腊样芽孢杆菌、空肠弯曲菌、金黄色葡萄球菌、霍乱弧菌、副溶血性弧菌、单增李氏菌、布鲁氏菌、变形杆菌、肠出血性大肠杆菌 O157:H7 等 12 种食源性致病菌,具有很高的应用价值。唐晓敏等^[16]对分离的 20 株细菌进行了基因芯片的杂交检测,并用传统方法对这些菌株进行了鉴定,基因芯片检测结果与传统方法鉴定结果的一致性为 95%,并对一个未知菌种,可以在 4 h 内完成菌种判定。李禾等^[17]建立一种运用多重 PCR 和基因芯片技术检测和鉴定伤寒沙门氏菌、痢疾杆菌和单核细胞增生李斯特菌的方法,该方法快速、准确、特异性高、重复性好,为 3 种肠道致病菌的快速检测和鉴定提供了新方法和新思路。

2.1.2 在食源性病毒检测中的应用 食品微生物污染主要由食源性致病微生物引起,而人类腹泻性传染病大多源于食源性病毒感染。张捷、许美玲^[18]等通过分子马达生物传感器技术联合基因芯片技术建立一种特异、便捷、快速的食源性轮状病毒检测方法,可在 1 h 内迅速检测出食源性轮状病毒。Lee 等^[19]建立了一种基因芯片检测技术可同时检测 7 种奶牛乳房炎常见病原微生物(金黄色葡萄球菌、乳房链球菌、牛棒状杆菌、牛支原体、牛链球菌、停乳链球菌和无乳链球菌),该基因芯片能在 6 h 内完成整个检测过程,且灵敏度高,目前已成功应用于临床。陈广全^[20]建立了检测 5 种食源性病毒(诺如病毒、轮状病毒、甲肝病毒、星状病毒和脊髓灰质炎病)的基因

芯片,其灵敏度与荧光 PCR 方法基本一致。

2.1.3 在转基因食品检测中的应用 各国的转基因食品检测体系多采用 CaMV35s 启动子与 NOS 终止子联合检测的方法。德国专门从事农作物的基因研究 Gene-Scan GmbH 公司,早已开发出大豆、玉米、油菜、西红柿和土豆等植物的基因芯片。成晓维^[21]等选取 9 种常见转基因食品外源基因,制备一种可视芯片,可以一次检测出 5 种的常见转基因植物(转基因玉米、大豆、水稻、油菜、小麦),该方法灵敏度可达 0.1%,同时摆脱了基因芯片在杂交结果分析阶段对荧光扫描仪的依赖,杂交结果明显直观。说明基因芯片技术检测范围广、灵敏度高,具有广阔的应用前景

2.2 在病原微生物检测中的应用

现在具有多种血清学和分子生物学技术用于病原体检测,如:ELISA、IFA 等,但是几乎没有任何有效方法能够在感染早期确认多种的感染传染性致病微生物的检测方法。基于基因芯片的分子检测技术对微生物的检测是具有特异性,能够快速准确的检测病原性微生物,此外该技术还成功用于几种未知病毒性疾病的鉴别^[22-24]。

Sun 等^[24]报道了一种将基于磁珠法的可视化基因芯片技术用于检测 7 种肠道病原体的方法,结果显示该方法具有良好的特异性和重复性,检测灵敏度达 25 ng/ μ L,但仅能检测有限的肠道病毒(轮状病毒和诺如病毒),后来彭贤慧^[25]等人优化了该方法,建立一种能同时检测 10 种肠道病毒的可视化基因芯片法,可检测出不低于 10^2 拷贝/ μ L 的体外转录 RNA,30 例临床标本的芯片检测结果也与荧光 PCR 法一致,为肠道病毒诊断提供实验室依据。崔鹤馨^[26]等人建立一种可同时检测鼻病毒、呼吸道合胞病毒以及腺病毒的基因芯片方法,3 种病毒的最低拷贝数分别是 2.59×10^2 、 2.21×10^1 和 2.05×10^2 个/ μ L,可特异性检测样品中低滴度的鼻病毒、呼吸道合胞病毒以及腺病毒,为临床提供确诊依据。田玉旺^[27]等人将导流杂交基因芯片技术^[28-29]应用于女性生殖道人乳头状瘤病毒(HPV)感染检测中,一次实验即可联合检测出多种 HPV 亚型感染及型别分布,从而提高由 HPV 感染引起的妇科肿瘤的防治水平。

2.3 在环境微生物分析中的应用

基因芯片技术与传统的杂交方法相比较,具有高密度、快速检测、基于多荧光素标记的平行检测等多种优势,是微生物群落的定性和对其在自然环境中的种群的检测有效方法^[30]。微生物的生态多样性对于生态系统功能的发挥^[31]以及微生物在环境中的活动变化^[32]都是环境学者研究的一个重要课题^[33]。

Kellya^[34]等制备了一种基因检测芯片,与从工业废水处理厂收集样品提取并通过羟自由基的方法标记核酸的 rRNAs,进行杂交,证明了硝化细菌可以借助不需要 PCR 扩增的芯片杂交来直接检测到。生态学家周集中^[35]等研发的基于随机矩阵理论(random matrix theory, RMT)分子生态学网络(molecular ecological networks, MENs)研究实现了在整体水平上

研究某种功能基因的归类和分组地位、功能基因特征及群落关系,为微生物生态学研究开启了新的方向。申丽^[36]等利用基因芯片技术对硫化矿浸出过程微生物的基因功能与群落结构进行了分析研究,对生物冶金技术有很高的理论价值。

3 待解决的问题

人类基因计划的完成和各种病原微生物基因组测序分析使得在分子水平对病原体进行检测和致病机理的研究成为可能^[37],人类已经进入这种高通量、大规模、大范围的基因研究阶段^[38],传统的测序方法已经不能满足深度测序和重复测序等大规模基因组测序的需求,因此具有高通量、快速、灵敏特点的基因芯片应用会更加广泛。但是,基因芯片技术仍面临着一系列有待解决的问题:基因芯片检测不仅需要昂贵的芯片制作系统,而且需要昂贵的激光共聚焦扫描仪,高昂的价格严重限制了这种芯片技术的普及应用^[39];操作复杂、费时,对操作人员的专业素质要求比较高同时面临芯片的标准化问题,即如何将不同实验室、不同操作人员做出的结果进行统一化、标准化的问题,这也是限制其普及应用的障碍之一;其他新型的基因测序技术,如纳米孔测序技术得逐渐兴起,可逐步代替基因芯片技术。牛津纳米孔公司(Oxford Nanopore)的纳米孔技术也是致力于取消光学设施和无需进行DNA扩增,他们以检测跨越纳米孔的导电性变化来进行测序。扫描隧道电子显微镜(Scanning Tunneling Electron Microscope, TEM),荧光共振能量转换(Fluorescence Resonance Energy Transfer, FRET),单分子检测(Single-molecule Detection)和蛋白质纳米孔(Protein Nanopores)的应用。

4 展望

基因芯片的最终发展目标是建立芯片实验室(Lab-on-a-Chip),又叫做微流控芯片。微流控芯片的诞生是伴随着现代分析科学技术的不断发展与进步而出现的,目的是通过分析设备的微型化与集成化,最大限度地将分析实验室的功能转移到便携的分析设备中,将生化分析的许多过程与步骤,即生化分析实验室的“功能集成结构缩微”在几平方厘米左右(或更小的芯片上,具有检测速度快、试样用量少、通量高等显著的特点,是最大限度地把采样、稀释、加试剂、反应、分离、检测等分析功能集成为一体的微型全分析系统。早在2005年就已经出现微流控技术平台上的三个主要产品:Agilent 2100 Bioanalyzer/5100 Automated Lab-on-a-Chip和HPLC-Chip可以成功实现生物蛋白样品的分离和富集。在食品安全监测方面,基因芯片正向着简单化、标准化、全面化方向发展,预计在不久的将来,一张基因芯片便可实现全部微生物的检测,并且实现定量分析,同时可能在转基因和食品添加剂检测中实现可以随时进行多通量定性和定量,从而为食品工业带来一场革命。

相信随着芯片制作及杂交条件的不断升级换代,在进入后基因时代的如今,基因芯片技术必将得

到更广阔的发展空间。

参考文献

- [1]徐炳森,邵建忠.几种新型生物芯片的研究进展[J].生物化学与生物物理进展,2000,27(3):251-254.
- [2]白丽荣.生物芯片技术及其应用概述[J].生物学教学,2003,28(12):7-8.
- [3]Robers s s, Mori m, Pattee p, et al. GABAergic system gene expression predicts clinical outcome in patients with neuroblastoma[J]. J Clin Oncol, 2004, 22(20):4127-4134.
- [4]McGall G, Labadie J, Brock P, et al. Light-directed synthesis of high-density oligonucleotide arrays using semiconductor photoresists[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1996, 93(24):13555-13560.
- [5]Ramsay G. DNA chips: state-of-the-art[J]. Nature biotechnology, 1998, 16(1):40-44.
- [6]王洪水,侯相山.基因芯片技术研究进展[J].安徽农业科学,2007,35(8):2241-2243.
- [7]王娟.生物芯片的微制备技术研究[D].吉林:吉林大学,2012.
- [8]许树成.生物芯片技术研究的现状与进展[J].阜阳师范学院学报:自然科学版,2003,20(3):43-45.
- [9]杨喻晓,张璩文,丁美会等.基因芯片技术在食品安全检测中的应用[J].粮油食品科技,2009,17(1):68-70.
- [10]陈双雅,张永祥.基因芯片在食品微生物检测中的应用[J].食品工业科技,2008(4):314-316.
- [11]Song, Joon Myong. A compact CMOS biochip immunosensor towards the detection of a single bacteria[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2011, (2005):2203-2209.
- [12]Borucki M K, Krug M J, Muraoka W T, et al. Discrimination among *Listeria monocytogenes* isolates using a mixed genome DNA microarray[J]. Veterinary microbiology, 2003, 92(4):351-362.
- [13]饶宝,唐桂芬,刘玲玲,等.沙门氏菌,金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的基因芯片检测技术研究[J].郑州牧业工程高等专科学校学报,2012,32(3):3-5.
- [14]陆琳,刘国传,孙福军.国境口岸食源性微生物检测基因芯片探针设计新方法的研究[J].中国国境卫生检疫杂志,2009,32(5):400-403.
- [15]黎昊雁,章国祥.十二种食源性致病菌可见光基因芯片检测方法的建立[J].检验检疫学刊,2009,3(19):17-21.
- [16]唐晓敏,高志贤.基因芯片快速检测常见水中致病菌的初步应用研究[J].解放军预防医学杂志,2003,21(2):94-96.
- [17]李禾,徐琦,吴忠华,等.基因芯片技术检测3种肠道病原微生物方法的建立[J].生物技术通讯,2007,18(3):441-445.
- [18]张捷,许美玲,王璇,等.分子马达生物传感器检测食源性轮状病毒[J].生物工程学报,2013,29(5):681-690.
- [19]Lee KH, JW Lee, S W Wang, et al. Development of a novel biochip for rapid multiplex detection of seven mastitis-causing pathogens in bovine milk samples[J]. J Vet Diagn Invest, 2008, 20(4):463-471.
- [20]陈广全,曾静,张惠媛,等.食源性致病病毒基因芯片方法检测[J].中国公共卫生,2008,(5):635-637.

- [21] 成晓维,王小玉,胡松楠,等.可视芯片检测大豆、水稻和玉米中的转基因成分[J].现代食品科技,2013(3):654-659.
- [22] Mihindukulasuriya K A, Wu G, Leger J S, et al. Identification of a novel coronavirus from a beluga whale by using a panviral microarray[J]. Journal of virology, 2008, 82(10):5084-5088.
- [23] Wang D, Urisman A, Liu Y T, et al. Viral discovery and sequence recovery using DNA microarrays [J]. PLoS biology, 2003, 1(2):2.
- [24] Sun H, Mo Q H, Lin J C, et al. Rapid simultaneous screening of seven clinically important enteric pathogens using a magnetic bead based DNA microarray [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2011, 27(1):163-169.
- [25] 彭贤慧,刘琪琦,陈苏红,等.可视化基因芯片技术检测肠道病毒方法的建立[J].军事医学,2012,36(4):299-303.
- [26] 崔鹤馨,田明尧,姜庆利,等.3种常见呼吸道病毒检测基因芯片的制备[J].中国病原生物学杂志,2013,2:6.
- [27] 田玉旺,许春伟,王东阳,等.导流杂交基因芯片技术在女性生殖道人乳头状瘤病毒(HPV)感染检测中的应用价值[J].解放军医药杂志,2014,26(5):86-90.
- [28] Tao P, Bian M, OU H, et al. Department of Obstetrics and Gynecology, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China; Application research on the flow-through hybridization and gene chip in human papillomavirus detection [J]. Chinese Journal of Obstetrics and Gynecology, 2006, 1(41):43-47.
- [29] Ah Lee S, Kang D, Soo Seo S, et al. Multiple HPV infection in cervical cancer screened by HPV DNA Chip™ [J]. Cancer letters, 2003, 198(2):187-192.
- [30] 任国领,黄永红.基因芯片技术在环境微生物分子生态学研究中的应用[J].大庆师范学院学报,2012,31(6):101-104.
- [31] Wu, LY, Liu. Microarray-based analysis of subnanogram quantities of microbial community DNAs by using whole-community genome amplification [J]. 中国生物学文摘, 2007(8):3-5.
- [32] Deng Y, Jiang Y, Yang Y, et al. Molecular ecological network analyses [J]. BMC Bioinformatics, 2012, 13:113-133.
- [33] Danovaro R, Corinaldesi C, Dell'Anno A, et al. Marine viruses and global climate change [J]. FEMS Microbiology Reviews, 2011, 35(6):993-1034.
- [34] John J Kellya, lil Siripongb, John McCormacka, et al. DNA microarray detection of nitrifying bacterial 16S rRNA in wastewater treatment plant samples [J]. Water Research, 2005, 39(14):3229-3238.
- [35] J Zhou, Y Deng, F Luo, et al. Functional Molecular Ecological Networks [J]. Mbio, 2010, 1(4):169-170.
- [36] 申丽,刘学端,邱冠周.基于基因芯片对微生物基因功能与群落结构分析的硫化物生物浸出分析[J].生物工程学报, 2008, 24(6):968-974.
- [37] 杨全凤.基因芯片技术在微生物检测中的应用研究[J].中国医药指南,2012,10(2):67-68.
- [38] Song, Tang J W, Wang B, et al. Identify lymphatic metastasis-associated genes in mouse hepatocarcinoma cell lines using genechip [J]. World J Gastroenterol, 2005, 1(10):463-472.
- [39] 张奇志,邓欢英.生物芯片技术在食品检测中的应用[J].食品研究与开发,2006(8):206-209.

我国杜仲胶产业的发展亟需国家政策和科技专项支持

天然杜仲胶是我国独有的战略资源。世界上2000种含胶植物中,绝大部分植物仅含顺式异戊橡胶,含有反式异戊橡胶的植物则非常稀少。天然杜仲胶正是典型的反式异戊橡胶,其独有的抗冲击、抗疲劳、耐磨、形状记忆、密封以及透X光等性能,使其可广泛应用于交通、医疗、军工、体育等领域。

我国橡胶消耗量已经连续13年居世界首位,2014年天然橡胶表观消费量约495万吨,自给率不足20%。发展天然杜仲胶资源不仅是破解我国天然橡胶严重不足的重要途径,也是实施橡胶强国战略的重要组成部分。“十三五”期间,对于杜仲胶产业的发展国家应给予政策和科技专项的支持。

杜仲胶的开发及应用受到美、日等国的高度关注。已有公司和大学先后得到日本经济产业省和日本新能源及产业技术综合开发机构的资助,开展了杜仲胶提取和应用开发的系列研究,并已申请多项专利。美国也有公司已将合成杜仲胶应用于高端轮胎的商业化制造。相比之下,我国对杜仲胶的高效提取和应用仍处于弱势。

支持杜仲胶高效绿色提取和应用开发关键技术全生物酶解杜仲胶生物提取技术是目前行业普遍认为最有前途的提取技术。目前国内只有极少数高校在进行杜仲酶学特性研究及利用生物酶降解杜仲植物组织的理论研究和工艺开发,由于缺乏经费和试验条件,进展迟缓。急需国家提供资金支持和组织力量开展联合攻关,开发无污染、高效率杜仲胶生物酶解提取技术及其装备。

鉴于我国杜仲胶机理基础研究还很薄弱,严重制约了杜仲胶的应用开发进度。建议将杜仲胶高效提取和应用开发列入国家重点专项给予科技支持。集中科研力量开展重点攻关,尤其要攻克杜仲胶应用于绿色轮胎制造的关键技术。

我国合成杜仲胶产品2014年已经批量供给美国用于高端轮胎的制造,而在轮胎及其他领域的应用仍然处于试验阶段。因此建议国家对杜仲胶使用单位实施应用风险补偿机制,鼓励更多企业积极进行应用试验,尽早实现商业化应用,带动杜仲胶的规模化发展。

将杜仲胶列入新材料产业“十三五”重点产品目录建议将杜仲胶列入新材料产业“十三五”重点产品目录,为杜仲胶生产和应用企业和研究机构提供更多获取国家政策和资金支持的机会。

来源:慧聪食品工业网