

基因芯片及其在环境微生物研究中的应用

张于光^{1,2} 李迪强^{1*} 肖启明² 刘学端²

(¹ 中国林业科学研究院森林生态环境与保护研究所 北京 100091)

(² 湖南农业大学生物安全科技学院 长沙 410128)

摘 要 基因芯片因其具有高密度、高灵敏度、快速(实时)检测、经济、自动化和低背景水平等特点,而广泛应用于不同的研究领域。目前,应用于环境微生物研究的基因芯片主要有功能基因芯片(FGAs)、系统发育的寡核苷酸芯片(POAs)和群落基因组芯片(CGAs)。综述了基因芯片在环境微生物研究中的应用,包括自然环境中微生物的基因表达分析、比较基因组分析和混合微生物群落分析等。讨论了基因芯片面临的挑战和前景展望。

关键词 基因芯片, 环境微生物, 群落结构, 功能基因

中图分类号: Q343.1 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209(2004)03-0406-05

微生物在生态系统的功能和持续中起着极其重要的作用,了解微生物群落的结构和组成以及它们对环境干扰的反应和适应性,对于维持和恢复生态系统理想的生态功能是很重要的^[1-3]。因为自然环境中仅有小于 1% 的微生物能人工培养,所以对自然环境中微生物群落的定性、定量和种群的检测是微生物学家面临的严峻挑战^[4]。已经证明用传统培养技术研究环境中的微生物群落是困难的,该技术只能对微生物多样性提供很有限的研究,核酸技术的发展和大大减少了对培养方法的依赖性,对自然环境中的微生物进行了进一步的检测和测定^[4]。然而,常规的以核酸为基础的检测技术的局限性在于它们不能作为高通量、经济的评价工具检测微生物群落。

1 基因芯片及其在环境微生物研究的优势

基因芯片(Microarray)技术于 1991 年首次在 Science 杂志上被提出^[5],是生物芯片(Biochip)的一种,是随着人类基因组计划的逐步实施和分子生物学的迅猛发展而产生的,是当今世界高度交叉、高度综合的前沿科学与研究热点。与传统的核酸杂交技术相比,玻片等为载体的基因芯片具有更多的优点,如高密度、高灵敏度、快速(实时)检测、经济、自动化和低背景水平等^[6],在短短的 10 多年时间里基因芯片的研究和应用取得了巨大的进步^[7,8],该技术在发现新基因^[9]、基因表达测定^[10]、突变检测^[11]、基因多态性^[12]、基因组文库作图^[13]、临床诊断^[14]、新药筛选^[15]等领域得到了广泛应用。

与传统的核酸检测技术相比,基因芯片技术用于环境微生物研究具有更多优势:首先,DNA 或寡核苷酸为基础的基因芯片技术是研究功能基因组学的有力工具,它允许研究者全面地研究不同条件下活细胞的生理学^[16-18];第二,基因芯片技术不需要知道保守序列,不同种群的同一功能组的所有

多态性基因序列可以构建在芯片上,并且以此作为探针来检测它们在环境样品中的相应分布^[19];第三,不需要枯燥费时的配对杂交;第四,基因芯片需要的样品量少,适宜于环境微生物检测;第五,基因芯片具有定量特性。基因芯片在环境微生物研究中的应用处于起步阶段,但是,芯片技术在环境微生物研究中的应用将加速复杂环境微生物系统的生态、生理、结构和功能的了解。

2 用于环境微生物研究的基因芯片

根据探针排列的类型,可以将用于环境研究的基因芯片主要分为 3 类^[20]。首先是含有编码不同生物化学循环过程关键酶和其他功能基因序列的功能基因芯片(Functional Gene Arrays, FGAs),该技术可以用于检测自然环境中微生物群落的生理状态和功能活动^[21]。第二种是由含有源于核糖体核酸(rRNA)基因探针的系统发育的寡核苷酸芯片(Phylogenetic Oligonucleotide Arrays, POAs),该芯片主要是用于微生物群落组成和结构的系统发育分析。第三种是含有整个 DNA 基因组的群落基因组芯片(Community Genome Arrays, CGAs),该技术可以根据可培养的成分描述微生物群落结构^[19]。

2.1 功能基因芯片(FGAs)

与不同的生物地理化学循环过程相关的功能基因,对于检测自然环境中微生物种群和群落的生理状态和功能活动是很有用的标记。类似用于监测基因表达的基因芯片,源于功能基因的寡核苷酸和 DNA 片段都可以构建在 FGAs 上^[22]。

为了构建 FGAs,基因探针应该在解决杂交特异性的基础上仔细选择和确定。功能基因芯片包括由不同生物地理化学过程相关的基因,例如硝化(氨单氧化酶基因, *amoA*),去硝化(硝酸还原酶, *nirS* 和 *nirK*),氮的固定(固氮酶, *nifH*)

* 通讯作者。Tel/Fax: 86-10-62889551; E-mail: reserve@forestry.ac.cn

作者简介 张于光(1976-),男,湖南湘乡人,博士研究生,主要从事分子生物学和微生物生态学研究。yuzhang@sina.com.cn

收稿日期 2003-05-20, 修回日期 2004-02-29

等^[19,21]。

目前有 3 种方法可以获得 FGAs 探针。首先是用特异性引物从纯培养细菌 DNA 基因组中或含有所需基因载体中扩增到需要的基因片段,然而,纯培养和质粒克隆的有效性是有限的。第二种方法是用 PCR 为基础的克隆方法从自然环境中提取所需基因片段^[23]。第三种方法是用寡核苷酸探针。

有研究者就特异性、灵敏度和定量方面对 FGAs 检测环境样品微生物进行了探讨,例如 Wu 等构建了由血红素、铜、硝酸还原酶基因等基因组成的 FGAs,同在低紧迫度(45℃)和高紧迫度(65℃)下都没有发现不同基因间的交叉杂交,且没有基因和阴性对照杂交,结果表明环境样品总 DNA 形成的基因芯片具有杂交特异性^[21]。同时,该研究发现,1ng 标记的纯基因组 DNA 和 25ng 标记的土壤提取总 DNA 可以明显的观察到与 *nirS* 基因的杂交信号,并且发现在 1~100ng 纯培养细菌 DNA 范围内,信号强度和目的 DNA 浓度间具有一个强的线性关系($r^2 = 0.96$)。Jae-Chang 等在用含有 *nirS*、*nahA* 等基因的 FGAs 研究发现,杂交信号和 DNA 浓度具有很好的线性关系,因此,FGAs 是分析环境样品微生物群落结构的灵敏工具和可以进行定量分析^[24]。

2.2 系统发育的寡核苷酸芯片(POAs)

核糖体 RNA 基因是研究不同生物间系统发育关系和分析自然环境中微生物群落结构的标记分子,而且核糖体 RNA 基因具有最大代表性的数据库^[25],细胞通常有多拷贝的 rRNA 基因,所以成为发展基因芯片检测工具的理想分子。

包含 rRNA 基因信息的寡核苷酸芯片是系统发育的寡核苷酸芯片(POAs),该芯片主要用于微生物群落的系统发育分析。可以构建不同的系统发育类型的 POAs 用于群落分析研究^[20]。为了研究保守序列的不同水平,可以在系统发育的范围内设计不同的寡核苷酸探针,包括高度保守的序列进行大范围的种类研究和高变异序列进行属(可能是种)水平的研究。

寡核苷酸探针的潜在优势是可以利用基因芯片杂交区分含有单碱基错配的目的序列,为了系统地决定是否能够用 SSU rRNA 基因的基因芯片杂交成功区别单碱基错配,Zhou 等构建了来自于不同细菌种类 SSU rRNA 分子的 3 个不同区域探针组成的寡核苷酸基因芯片模型^[19]。研究发现,不同错配碱基个数的探针,具有明显不同的杂交信号强度。这些结果表明 SSU rRNA 基因的单碱基差别在玻璃载体芯片杂交上得到成功,但是 SSU rRNA 的完全差别仍然存在问题^[26~28]。Urakawa 等^[28]发现末端附近的单碱基对和末端错配对杂交信号强度有明显的影

2.3 群落基因组芯片(CGAs)

群落基因组芯片(CGAs)就是用纯培养微生物的整个 DNA 基因组构建的,根据可培养的微生物来研究环境微生物群落。CGAs 表明了基因组芯片技术可以根据微生物基因型的变异应用于确定微生物群落的特性,CGAs 的应用依赖于样品的复杂性、杂交动力学和被研究的环境生物的培养

养^[21]。CGAs 避开了对特异序列信息的需要,该类芯片按照可培养的成分来研究微生物群落,因此不能用于鉴定难培养的微生物。

评估微生物的群落组成和结构要求对单个目的种群进行定量分析,通过检测标记的目的 DNA 浓度和杂交信号强度的关系来探索 CGAs 作为定量工具的杂交能力。利用标记单个纯培养的基因组 DNA 和代表不同种或属的 16 个目的细菌检测了 CGAs 的定量性质,研究发现在一定浓度范围内都可以观察到荧光强度和 DNA 浓度之间的线性关系^[20]。同时,有研究表明 CGAs 的检测极限估计是大约 0.2ng 标记的纯 DNA 基因组^[19]。所以,群落基因组芯片是一种特异、灵敏和具有定量能力的微生物生态研究的方法。

3 基因芯片在环境微生物研究中的应用

尽管基因芯片在医学领域等已经有了大量的研究报道,但是应用于环境微生物研究还处于起步阶段。美国橡树岭国家实验室的 Jizhong Zhou 等分别构建了世界上第一块用于土壤环境检测的功能基因芯片和用于微生物群落鉴定的群落基因组芯片(<http://www.ornl.gov>)^[19,21]。

3.1 基因表达分析

基因表达分析可以用于了解微生物在环境中的功能活动,mRNA 是转录基因表达的中间产物,基因芯片可以通过对 mRNA 的检测来分析基因的表达情况。研究者用基因芯片对枯草芽孢杆菌的孢子形成、生物合成和厌氧生长进行了基因表达分析,这些研究说明了芯片技术可以为研究微生物对环境和其他生物的反应提供独特的方法和信

息^[18]。利用基因芯片还可以直接检测功能基因的表达,Wu 等^[21]用含有 *nirS*、*nirK*、*nifH* 等和在系统进化上与之相联系的甲烷单加氧酶基因(*pmoA*)等 120 多个功能基因的芯片分析了海洋沉积物和土壤中硝化和去硝化微生物种群的分布,研究表明了海洋沉积物和土壤中的功能基因家族具有明显的分布差异。基因芯片还可以通过比较不同环境条件下 mRNA 的转录活性差异而进行基因表达分析。Zhang 等^[29]用基因芯片分析了酿酒酵母对二甲亚砜(DMSO)的代谢反应,分析表明,酵母中的 1338 个基因在 DMSO 存在时有明显的反应,而此前的研究仅仅发现 400 个基因因环境胁迫表达,例如热激、氨基酸饥饿、缺氮等。对大肠杆菌的对数生长期和静止期比较分析,发现 1529 个具有差异表达,而且发现了很多新的生长调控基因^[30]。Dennis 等^[31]通过 RNA 分析,从 2,4-D 降解菌中发现了两个新的相关表达基因。

3.2 比较基因组分析

自然环境中的微生物具有丰富的多态性,比较基因组分析可以用于评价相关生物物种间或株系间的遗传差异和相似性,也就是说可以用于相关物种间的系统发育分析。整个基因组阵列的基因杂交可以检测其他微生物中是否存在相似 DNA 序列,允许大范围的遗传比较。DNA 芯片是很好的用于比较基因组分析的工具^[32]。Wilson 等^[33]用光合平板印制技术设计了含有 31179 个 20mer 特异 SSU rRNA 基因的芯

片,这些探针都是保守区的两端,该芯片还含有与探针序列配对的控制序列,所以,芯片共含有 62358 个特征基因,用该芯片检测 17 个纯培养细菌,结果 15 个细菌被正确的鉴定,但是不能识别复杂混合样品中的单个序列。最近的研究表明胶垫(Gel-pad)寡核苷酸基因芯片可以用来区别芽孢杆菌(*Bacillus*)物种,也就是苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*)和枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)^[18]。Small 等^[26]构建了含有物种特异性的 16S rRNA 探针寡核苷酸芯片,并且与从土壤中提取的总 RNA 进行了直接杂交,比较了金属还原细菌(*Geobacter chapellei*)和脱硫弧菌(*Desulfovibrio desulfuricans*)。

3.3 混合微生物群落分析

基因芯片应用于环境微生物研究,最终目的是对微生物群落的结构和功能进行研究,有的研究是为了鉴定目的生物,有的研究是对群落的特定功能进行定性。有研究者用 *imA*、*virA* 和 23S rRNA 基因为模板设计基因芯片,检测水环境中致病微生物,结果表明可以将水中致病菌沙门氏菌、志贺氏菌和大肠杆菌区分检测出来^[6]。Rudi 等构建了含有源于藻青菌的 SSU rRNA 探针的小芯片,并在低浓度和高浓度下分析了湖泊中藻青菌的存在和数量,结果表明探针对培养物的分析是特异性的,还得到了湖泊样品中的可繁殖量^[19]。利用致病菌沙门氏菌属、志贺氏菌属等 18 个属的 16S rRNA 制成的 POAs,对 10 个菌属的 110 余株细菌作了基因芯片检测,结果可以将绝大多数的致病菌检测出来^[6]。

一种常用寡核苷酸基因芯片的改良型也被用于环境样品中的目标序列分析。例如 Valinsky 等利用从土壤克隆文库中获得的 16S rRNA 构建基因芯片,分析比较了来自 2 个不同农业土壤的 1536 个 16S rRNA 克隆的指纹图谱,结果发现了不同土壤间的组成差异,土壤中特殊的细菌种群与特异性的植物病害抑制作用具有相关性^[34]。

目前,作者所在的实验室已经与 Jizhong Zhou 等进行合作,利用 Zhou 等研制的环境检测功能基因芯片,对青藏高原和秦岭地区的土壤微生物相关功能基因的多态性和在全球气候变化中的响应进行研究,该芯片含有固氮、硝化、去硝化等 2704 个基因,这是国内首次利用基因芯片进行此类研究(结果待发表)。

4 基因芯片在环境微生物研究中的挑战

理论上,基因芯片技术提供了为复杂的微生物群落进行全面的和定量研究所必须的优点^[35]。然而,与纯培养的研究比较,基因芯片在对环境核酸样品的分析面临几个重要的技术挑战。首先,基因芯片杂交的内在变化是一个关键问题。目前,很难用同一种方法在不同的实验室和甚至同一个实验室的不同实验间进行数据比较^[21]。第二,当有些环境样品提取的 DNA 或 RNA 量不够时,基因芯片杂交的灵敏度仍然不够,不清楚是否基因芯片杂交的灵敏度足够检测环境样品中所有类型的微生物。第三,基因芯片研究环境样品产生的数据数量可能很大,但是快速的处理和发掘分析杂交数据仍然处于初级阶段。一定程度上,用于分析基因表达数据的生

物信息学工具可以用于环境样品的分析,但是在处理复杂的环境样品中仍然有困难^[23]。同时因为潜在的交叉杂交和背景信号,对不清楚环境样品时分析基因芯片杂交结果的解释又是一种挑战。第四,整个群落的基因数量可能远远超出目前基因芯片的容量。第五,尽管确定微生物群落性状的基因芯片一旦构建成功,该芯片可以提供一种快速方法,但是制备适合于基因芯片分析的高质量的样品成为了研究的瓶颈^[19]。样品处理中的自动化和改善也将是未来研究的重点。最后,基因芯片仅仅是研究的工具,它们应该结合到解决生态或环境的问题和假说中去,只有这样,分析微生物群落基因芯片的力量才能够得到肯定。

5 前景展望

因为具有高密度和高通量能力,基因芯片可以作为分析环境样品的有力工具,预期基因芯片为基础的基因组技术将革命性的分析微生物群落的结构、功能和动力学。在历史上首次可能同时在实验中评估所有的或绝大多数复杂自然环境中的成分,随着进一步的简化,可能开始对微生物群落动力学建立一个全面统一的评价。因此环境微生物不再是黑匣子(black-box),而是一个可以看得见的、摸得着的系统,在许多年以来微生物学家所面临的诸多问题就可以解决了。可以预见,利用基因芯片对微生物生态学研究将为我们展示一个革命性的前景。

参 考 文 献

- [1] Gibson D T, Saylor G S. Scientific foundations of bioremediation: current status and future needs. American Academy of Microbiology, Washington: National Academy Press, 1992, 234 - 240.
- [2] National Research Council(NRC). In situ bioremediation: when does it work? Washington: National Academy Press, 1993, 21 - 26.
- [3] Brocklehurst K R, Morby A P. Metal-ion tolerance in *Escherichia coli*: analysis of transcriptional profiles by genearray technology. *Microbiol*, 2000, **146**(9): 2277 - 2282.
- [4] Amann R I, Ludwig W, Schleife K H. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol Rev*, 1995, **59**(3): 143 - 169.
- [5] Fodor S P A, Read J I, Pirming M C, et al. Light-directed, spatially addressable parallel chemical synthesis. *Science*, 1991, **251**(4): 767 - 773.
- [6] Shalon D, Smith S J, Brown P O. A DNA microarray system for analyzing complex DNA samples using two-color fluorescent probe hybridization. *Genome Res*, 1996, **6**(4): 639 - 645.
- [7] 马立人, 蒋中华. 生物芯片. 北京: 化学工业出版社, 2002, 1 - 43.
- [8] 韩金祥. DNA 芯片. 济南: 山东大学出版社, 2001, 1 - 23.

- [9] Meltzer P S. Spotting the target : microarrays for disease gene discovery. *Curr Opin Genet Dev* , 2001 , 11(3) : 258 – 263 .
- [10] Murphy D. Gene expression studies using microarrays : principles , problems and prospects. *Adv Physiol Educ* , 2002 , 26(4) : 256 – 270 .
- [11] Beliaev A S , Thompson D K , Fields M , *et al* . Microarray transcription. Profiling of a *Shewanella oneidensis* *etrA* mutant. *J Bacteriol* , 2002 , 184(16) : 4612 – 4616 .
- [12] Miguel A R , Alfonso M T , Rogelio M R , *et al* . Fingerprinting of prokaryotic 16S rRNA genes using oligodeoxyribonucleotide microarrays and virtual hybridization. *Nuc Acids Res* , 2003 , 31(2) : 779 – 789 .
- [13] Shoemaker D D , Linsley P S. Recent developments in DNA microarrays. *Curr Opin Microbiol* , 2002 , 5(3) : 334 – 337 .
- [14] Noguchi S , Tsukahara T , Fujita M , *et al* . cDNA microarray analysis of individual Duchenne muscular dystrophy patients. *Hum Mol Genet* , 2003 , 12(6) : 595 – 600 .
- [15] Clarke P A , Poele R , Wooster R , *et al* . Gene expression microarray analysis in cancer biology , pharmacology , and drug development : progress and potential. *Biochem Pharmacol* , 2001 , 62(10) : 1311 – 1336 .
- [16] Khodursky A B , Peter B J , Cozzarelli N R , *et al* . DNA microarray analysis of gene expression in response to physiological and genetic changes that affect tryptophan metabolism in *Escherichia coli* . *Proc Natl Acad Sci USA* , 2000 , 97(22) : 12170 – 12175 .
- [17] Wei Y , Lee J M , Richmond C , *et al* . High-density microarray-mediated gene expression profiling of *Escherichia coli* . *J Bacteriol* , 2001 , 183(2) : 545 – 556 .
- [18] Ye R W , Tao W , Bedzyk L , *et al* . Global gene expression profiles of *Bacillus subtilis* grown under anaerobic conditions. *J Bacteriol* , 2000 , 182(16) : 4458 – 4465 .
- [19] Zhou J , Thompson D K. Challenges in applying microarrays to environmental studies. *Curr Opin Biotechnol* , 2002 , 13(3) : 204 – 207 .
- [20] Zhou J , Thompson D. Microarrays : applications in environmental microbiology. In : Bitton G. ed. *Encyclopedia of Environmental Microbiology* . New York : John Wiley & Sons Press , 2002 , 1968 – 1979 .
- [21] Wu L , Thompson D K , Li G , *et al* . Development and evaluation of functional gene arrays for detection of selected genes in the environmental studies in microbiology. *Appl Environ Microbiol* , 2001 , 67(12) : 5780 – 5790 .
- [22] Zhou J Z. Microarrays for bacterial detection and microbial community analysis. *Curr Opin Microbiol* , 2003 , 6(3) : 288 – 294 .
- [23] Zhou J , Palumbo A V , Tiedje J M. Sensitive detection of a novel class of toluene-degrading denitrifiers , *Azoarcus tolulyticus* , with small-subunit Rna primers and probes. *Appl Environ Microbiol* , 1997 , 63(6) : 2384 – 2390 .
- [24] Cho J C , James M T. Quantitative detection of microbial genes by using DNA microarrays. *Appl Environ Microbiol* , 2002 , 68(3) : 1425 – 1430 .
- [25] Maidak B L , Olsen G J , Larsen N , *et al* . The RDP(Ribosomal Database Project). *Nuc Acids Res* , 1997 , 25(1) : 109 – 111 .
- [26] Small J , Call D R , Brockman F J , *et al* . Direct detection of 16S rRNA in soil extracts by using oligonucleotide microarrays. *Appl Environ Microbiol* , 2001 , 67(10) : 4708 – 4716 .
- [27] Bavykin S G , Akowski J P , Zakhariev V M , *et al* . Portable system for microbial sample preparation and oligonucleotide microarray analysis. *Appl Environ Microbiol* , 2001 , 67(2) : 922 – 928 .
- [28] Urakawa H , Noble P A , El Fantroussi S , *et al* . Single-base-pair discrimination of terminal mismatches by using oligonucleotide microarrays and neural network analyses. *Appl Environ Microbiol* , 2002 , 68(1) : 235 – 244 .
- [29] Zhang W , Needham D L , Coffin M , *et al* . Microarray analyses of the metabolic responses of *Saccharomyces cerevisiae* to organic solvent dimethyl sulfoxide. *Microbiol Biotechnol* , 2003 , 30(1) : 57 – 69 .
- [30] Selinger D W , Cheung K J , Mei R , *et al* . RNA expression analysis using a 30-base pair resolution *Escherichia coli* genome array. *Nat Biotechnol* , 2000 , 18(12) : 1262 – 1268 .
- [31] Dennis P , Edwards E A , Liss S N , *et al* . Monitoring gene expression in mixed microbial communities by using DNA microarrays. *Appl Environ Microbiol* , 2003 , 69(2) : 769 – 778 .
- [32] Cook K L , Saylor G S. Environmental application of array technology : promise , problems and practicalities. *Curr Opin Biotechnol* , 2003 , 14(3) : 311 – 318 .
- [33] Wilson K H , Wilson W J , Radosevich J L , *et al* . High-density microarray of small-subunit ribosomal DNA probes. *Appl Environ Microbiol* , 2002 , 68(5) : 2535 – 2541 .
- [34] Valinsky L , Vedova G D , Scupham A J , *et al* . Analysis of bacterial community composition by oligonucleotide fingerprinting of rRNA genes. *Appl Environ Microbiol* , 2002 , 68(8) : 3243 – 3250 .
- [35] Guschin D Y , Mobarry B K , Proudnikov D , *et al* . Oligonucleotide microchips as biosensors for determinative and environmental studies in microbiology. *Appl Environ Microbiol* , 1997 , 63(5) : 2397 – 2402 .

Microarrays and Their Application to Environmental Microorganisms

ZHANG Yu-Guang^{1,2} LI Di-Qiang^{1*} XIAO Qi-Ming² LIU Xue-Duan²

(¹ Institute of Forest Ecology, Environment and Protection, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China)

(² College of Biosafety Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

Abstract : Microarray take advantage of the advanced technologies of molecular biology, semi-conduct microelectronics, laser, chemical dyes and so on, and is the high-cross and comprehensive advanced science and hot spot of study. Compared with traditional nucleic acid methods, microarray offer the additional advantages of high density, high sensitivity, rapid (real-time) detection, lower cost, automation, and low background levels and so on. Therefore, microarray-based technology has been used in many fields and is potentially well suited for identifying populations of microorganisms in natural environments. The microarray used in environmental microbial studies can be divided into three major classes, including functional gene arrays (FGAs), phylogenetic oligonucleotide arrays (POAs) and community genome arrays (CGAs). In this review, we viewed microarray's application to research on environmental microorganisms, such as analyzing microbial gene express in environment, comparable genome analysis and environmental microbial community analysis. At last, the challenges and future perspectives of microarray in natural environment was discussed.

Key words : Microarray, Environmental microorganism, Community structure, Functional gene

* Corresponding author. Tel/Fax : 86-10-62889551 ; E-mail : reserve@forestry.ac.cn

Received date : 05-20-2003

微生物学报

WEISHENGWU XUEBAO

(双月刊, 1953 年创刊)

第 44 卷 第 3 期 2004 年 6 月

ACTA MICROBIOLOGICA SINICA

(Bimonthly, Started in 1953)

Vol. 44 No. 3 June 2004

编辑 《微生物学报》编辑委员会
地址 北京海淀中关村中国科学院微生物研究所内
邮政编码 :100080 电话 :010-62630422
Http ://www.im.ac.cn/journals
E-mail : actamicro@sun.im.ac.cn

主编 李季伦

主办 中国科学院微生物研究所
中国微生物学会

出版 科学出版社
地址 北京东黄城根北街 16 号
邮政编码 :100717

印刷装订 北京科信印刷厂

总发行 科学出版社
地址 北京东黄城根北街 16 号
邮政编码 :100717
电话 :010-64034563
E-mail : journal@cspg.net

国外发行 中国国际图书贸易总公司
地址 北京 399 信箱 邮政编码 :100044

广告经营许可证 京东工商广字第 0034 号

Edited by Editorial Board of Acta Microbiologica Sinica
Add : Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Zhongguancun, Beijing 100080, China
Tel 010-62630422
Http ://www.im.ac.cn/journals
E-mail : actamicro@sun.im.ac.cn

Editor-in-Chief LI Ji-Lun

Sponsored by Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences
Chinese Society for Microbiology

Published by Science Press
Add : 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China

Printed by Kexin Printing House

Distributed by Science Press
Add : 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
Tel : 010-64034563 ; E-mail : journal@cspg.net

Foreign distribution China International Book Trading Corporation
Add : P. O. Box 399, Beijing 100044, China