

基因传感器在环境微生物功能基因检测中的应用

刘 灿 谢更新* 汤 琳 黎媛萍 曾光明

(湖南大学环境科学与工程学院 长沙 410082)

摘 要: 分子生物学的快速发展和人们对核酸的深入研究, 给基因传感器的研制和发展奠定了坚实的基础。基因传感器是分子生物学与微电子学、电化学、光学等相结合的产物, 将在生命科学与信息科学之间架起一座桥梁, 成为 DNA 信息分析检测最有效的手段之一。在近年研究文献的基础上, 评述了基因传感器的工作原理、分类及近年来国内外利用其进行环境微生物功能基因检测等方面的研究现状, 并提出堆肥微生物功能基因检测将是基因传感器的一个重要发展方向。

关键词: 基因传感器, 微生物, 功能基因, 检测

The Application of Genosensor in the Detection of Functional Genes of Environmental Microorganisms

LIU Can XIE Geng-Xin* TANG Lin LI Yuan-Ping ZENG Guang-Ming

(Department of Environmental Science and Engineering, Hunan University, Changsha 410082)

Abstract: The fast development of the molecular biology and the further research on the nucleic acid set a solid foundation for the development of genosensor. Genosensor is the result of combining molecular biology with microelectronics, electrochemistry, optics and etc, which will build a bridge between the life science and the information science and become one of the most important technologies for DNA information analysis and detection. The working principle, classification of genosensor and the recent research on its application in the detection of functional genes of environmental microorganisms are discussed according to the latest literature. And it is pointed out that the application in the determination of microorganism functional genes in compost is an important development orientation of genosensor.

Keywords: Genosensor, Microorganism, Functional gene, Detection

生物感觉系统和化学受体机制的阐明以及近代电子技术和生物工程技术的进展, 促使生物传感器应运而生, 在环境领域中得到广泛应用。到目前为止, 有多种基于分子水平上的生物传感器和生物监测技术如 PCR、抗体检测和抗原检测技术等已在各种科研领域普遍采用。然而, 上述技术对样品或者

仪器要求很高, 从而在某些方面离较为理想的生物传感器和监测技术还有一段距离。随着对基因深入透彻的研究和人类基因全序列测序工作的顺利完成, 人们对核酸这一遗传物质的载体在生物监测方面的前景十分看好, 因此国内外有关基因传感器的研究日趋活跃, 成为生物传感器技术的热点。而目前, 以

功能基因为基础的群落结构分析研究也越来越多,特别是通过研究功能基因在自然环境中的表达调节,以弄清微生物在环境中的真实状态^[1]。本文评述了近年来国内外基因传感器及对环境微生物功能基因的研究现状,并展望了基因传感器今后的研究方向和发展趋势,提出应用在堆肥中微生物功能基因检测将是基因传感器的一个重要发展方向。

1 基因传感器的原理及分类

1.1 基本工作原理

基因传感器也称 DNA 或核酸生物传感器,是一种能将目的 DNA 的存在转变为可检测的电、光、声等信号的传感装置,它与传统的基因技术相比,具有快速、灵敏、操作简单、无污染的特点,并具有分子识别、分离纯化基因等功能,成为当今生物传感器领域中的前沿性课题。

基因传感器主要由两部分组成,即分子识别器(DNA)和换能器。识别器主要用来感知样品中是否含有(或含有多少)待测物质,转换器则将识别器感知的信号转化为可以观察记录的信号如电流大小、

频率变化、荧光和光吸收的强度等。在待测物、识别器以及转换器之间由一些生物、化学、生化作用或物理作用过程彼此联系。其设计原理是在电极上固定一条含有十几到上千个核苷酸的单链 DNA,通过 DNA 分子杂交,对另一条含有互补碱基序列的 DNA 进行识别,结合成双链 DNA。杂交反应在敏感元件上直接完成,换能器将杂交过程所产生的变化转变成电信号,根据杂交前后电信号的变化量,推断出被检测 DNA 的量。基因传感器不仅能测定 DNA 的浓度,还能识别部分碱基的排列顺序,可确定微生物的种属,这是一般生物传感器所不具备的特性^[2]。按换能器转换信号的不同,可以将基因传感器分为 DNA 电化学传感器、DNA 压电传感器、DNA 光学传感器等类别。

1.2 DNA 电化学传感器

DNA 电化学传感器是利用单链 DNA (ssDNA) 作为敏感元件,通过共价键合或化学吸附固定在固体电极表面,加上识别杂交信息的电活性指示剂(称为杂交指示剂)共同构成的检测特定基因的装置,如图 1 所示。

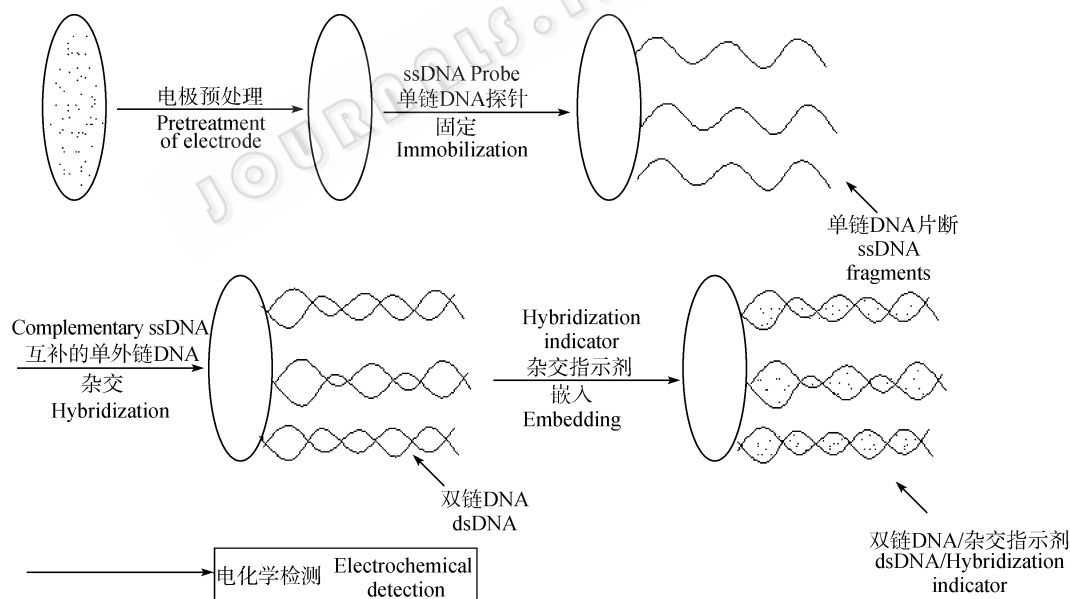


图 1 电化学 DNA 传感器示意图

Fig. 1 Sketch diagram for the principle of electrochemical DNA biosensor

其工作原理是利用固定在电极表面的某一特定序列的 ssDNA 与溶液中的互补序列 DNA 的特异识别作用(分子杂交)形成双链 DNA(dsDNA),同时借助一能识别 ssDNA 和 dsDNA 的杂交指示剂的电化

学响应信号的改变来确定被检测基因是否存在,达到定性的目的。同时,当互补序列 DNA 的浓度发生改变时,指示剂嵌入后的响应信号也会发生相应变化。一定范围内指示剂的响应信号与待测 DNA 物质

的量浓度成线性关系, 从而得以检测基因含量, 达到定量的目的^[3]。

彭图治^[4]将 TPD 吸附在金的表面, 将 ssDNA 修饰在金电极上作为探针, 以电化学方法检测能与之互补 DNA 样品的碱基序列和含量, 杂交后的 DNA 采用 FCZ 作指示剂, 该化合物能够嵌入 DNA 双螺旋结构的碱基对中, 显示出高度电化学活性。在 $2 \times 10^{-8} \text{ mol/L} \sim 1 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$ 有线性关系, 检测限为 $8 \times 10^{-10} \text{ mol/L}$, 可用于检测艾滋病和乙肝病毒 DNA 特征序列的研究。白燕等^[5]利用自组装单分子膜技术, 将巯己基修饰的具有乙肝病毒(HBV) DNA 序列特异性的单链 DNA 探针固定在金电极表面, 制备 DNA 电化学传感器, 并以电活性的 Hoechst 33258 为指示剂, 考察了该传感器对血清样品中乙肝病毒 DNA 的响应, 将传感器法与聚合酶链反应(PCR)法进行对比, 发现两者的分析结果具有一致性。张正奇^[6]等在十八酸修饰的碳糊电极表面共价键合固定黄瓜 ssDNA, 制备了黄瓜 DNA 伏安传感

器。在杂交液中, 传感器表面的黄瓜 ssDNA 与杂交液中的 ssDNA 进行杂交反应, 电活性物质 $\text{Co}(\text{bpy})_3(\text{ClO}_4)_3$ 配合物嵌入 DNA 双链中, 使峰电流 (Δi_p) 增加。 Δi_p 与杂交液中 DNA 浓度成正比, 可用于测定黄瓜 DNA 的含量。方法的线性范围为 $10 \text{ ng/mL} \sim 90 \text{ ng/mL}$, 检出限为 2.97 ng/mL 。孙伟等^[7]以转基因植物中常用的根癌农杆菌终止子(NOS)为检测对象, 将巯基乙酸自组装于金电极表面形成巯基乙酸自组装单分子膜, 再利用乙基-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(EDC)和 *N*-羟基琥珀酰亚胺(NHS)的活化作用将 NOS 探针 ssDNA 序列固定于金电极表面形成 NOS 电化学生物传感器, 以亚甲基蓝(MB)为杂交指示剂, 对 NOS 靶基因相关序列进行了定量检测。

1.3 DNA 压电传感器

压电基因传感器是把声学、电子学和分子生物学结合在一起的新型基因传感器, 是生物基因传感器研究中的一个热点。它的基本原理如图 2 所示^[8]。

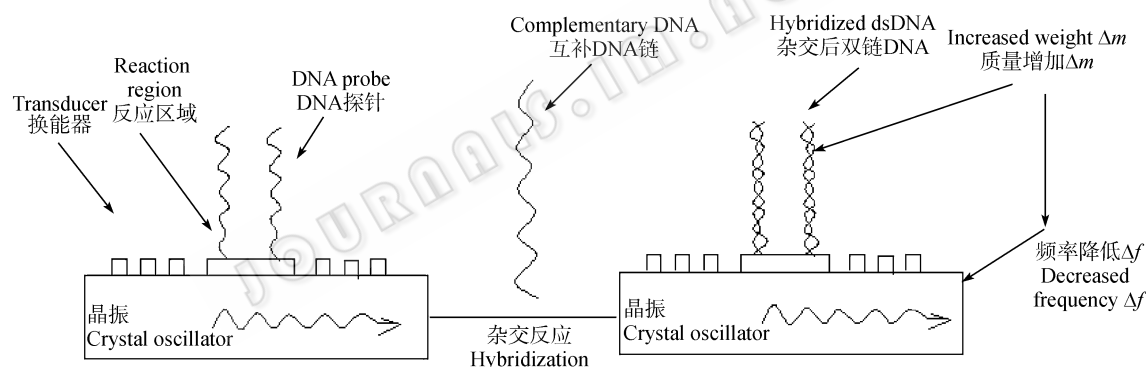


图 2 压电基因传感器示意图

Fig. 2 Sketch diagram for the piezoelectric genosensor

换能器在压电介质中激发共振, 以振动频率作为检测手段。传感器的表面首先固定单链的 DNA(DNA 探针), 然后加入含有互补 DNA 的待测溶液, 进行 DNA 杂交反应。杂交后形成双链 DNA 结构, 使传感器表面的质量增加, 从而影响晶振的频率。对压电传感器, 其表面的质量增加 Δm 和晶振的频率降低 Δf 存在定量关系:

$$\Delta f = -k f_0^2 \Delta m / A$$

其中 k 是和器件材料有关的常数, 对不同的晶体振动模式, k 的具体表达式会有所不同。 f_0 是反应前传感器的频率, A 是反应区域的面积。负号表示质

量的增加会引起频率的降低。

Fawcett 等人^[9]最先开始用压电传感器来检测杂交反应。他们在传感器表面固定聚肌苷酸(Poly I)和聚腺苷酸(Poly A), 分别检测聚胞苷酸(Poly C)和聚尿苷酸(Poly U)。以后的研究工作一般都采用特定碱基序列的 DNA 片段作为探针。王颖莹等人^[10]使用压电基因传感器芯片技术检测结核分枝杆菌 DNA。先把结核分枝杆菌 DNA 探针结合在基因芯片表面, 然后将 106 例结核患者标本 DNA 分别与之杂交, 杂交信号通过数频处理器以频率变化值的形式输入电脑, 再以专用分析软件进行结果分析。实验结果表

明压电基因传感器芯片技术是一种比 PCR 扩增法更简便、快速的结核分枝杆菌检测方法。陈庆海等^[11]设计特异性 DNA 探针巯基法固定于传感器晶振表面,并调节谐振频率在液相中稳定性达到 $\pm 1\text{Hz}$,定量加入 65 份巨细胞病毒临床标本的 PCR 产物并观察核酸反应导致的频率变化情况,并与 PCR 产物的电泳结果作对照,结果证明该传感器能有效地检测巨细胞病毒临床标本的 PCR 产物。田艳慧等^[12]在石英晶体微天平(QCM)上用生物素亲和素法和自组合法两种不同的方法固定寡核苷酸探针,构建压电基因传感器,对芽孢杆菌靶序列进行实时检测,结果证明该传感器特异性较好,能够识别错配 3 个碱基的序列。

1.4 DNA 光学传感器

DNA 光学传感器主要有光纤式、光波导式、表面等离子谐振式(SPR)等类型。

光纤 DNA 生物传感器将 ssDNA 探针固定在 μm 级光导纤维的末端上,然后将若干条固定有 ssDNA 探针的光导纤维合成一束,形成一个微阵列的传感器装置,光纤的另一端通过一个特制的耦合装置耦合到荧光显微镜中。测量时将固定有 ssDNA 探针的光纤一端浸入到荧光标记的靶 DNA 溶液中与靶 DNA 杂交。通过光纤传导,来自荧光显微镜的激光激发荧光标记物产生荧光,所产生的荧光信号仍经过光纤返回到荧光显微镜中,由 CCD 相机接收,获得 DNA 杂交的图谱。

光波导生物传感器是在光波导片表面制成 ssDNA 探针阵列,将光波导片与另一片载波片叠加在一起,中间形成 $175\ \mu\text{m}$ 厚、 $2.54\ \text{cm}$ 宽的通道。在此通道中含有生物素标记的 DNA 和抗生物素——硒结合物的溶液与 ssDNA 探针杂交,抗生物素与生物素结合,使硒粒子聚焦在光波导载波片表面 ssDNA 探针的杂交部位上。以灯光经狭缝照射光波导边缘,光线在波导内以全反射方式传播,在溶液中距波导载波片表面 $100\ \text{nm} \sim 300\ \text{nm}$ 形成的隐失波场中产生散射。利用 CCD 相机可记录下散射光信号的图样,经计算机分析处理,可获得 DNA 杂交的图谱。

表面等离子体共振(SPR)的基本原理是基于金属膜表面待测物质折射率的变化,一般在棱镜上覆盖一层金属银或金的薄膜,与另一种折射率不同的介质相接触,经 P 偏振处理的光线照射进入棱镜,

在金属-棱镜界面形成反射。在某一角度(共振角)测定时,反射光强度最小。共振角对紧靠金属膜外侧的介质折射率的变化非常灵敏。当金属膜表面固定的 DNA 单链探针与溶液中其互补体结合时则会引起折射率的改变,折射率上升,从而导致谐振角改变,用光波导将折射率的变化传输给检测器检测^[13]。

Tempelman 等^[14]使用一种便携式光纤传感器来检测可引起食物中毒的葡萄球菌肠毒素 B(SEB),在缓冲液中检测灵敏度为 $0.5\ \text{ng/mL}$ 。同时还可以用于检测其它样品如人血清、尿液和火腿肉提取液,检测灵敏度为 $5\ \text{ng/mL} \sim 200\ \text{ng/mL}$ 。Pilevar^[15]研究了基于全内反射荧光技术的光纤荧光 DNA 生物传感器,13 个碱基的寡核苷酸片段直接偶联到活化的光纤表面或用亲和素-生物素桥固定在光纤表面,在与互补的靶序列杂交后用荧光染料检测。用这种方法可检出靶序列中的单碱基错配。对于互补靶序列而言,传感器的检出限为 $30\ \text{fmol/L}$ 。Corn 和 Smith 研究室^[16]报道将扫描 SPR 测量和显微 SPR 技术联用,用以表征金膜表面 DNA 杂交吸附的 SPR 信号。同时,该研究在金膜表面构建了 2×2 寡核苷酸探针(探针斑点直径约 $2.0\ \text{mm}$)的阵列,用现场显微 SPR 技术同时检测多 DNA 杂交。该研究初步表明了 SPR 技术进行 DNA 芯片检测的可行性。

2 基因传感器检测功能基因

微生物对特定有机物的降解功能取决于其 DNA 分子中具有相应功能基因,如多环芳烃降解基因、氨单加氧酶基因、有机磷水解酶基因、酚类化合物降解基因、脱色相关基因等^[17-20]。研究环境微生物群落功能基因多样性分布与表达,对了解微生物降解过程的本质具有重要意义^[21, 22];同时某些特殊的功能基因也能作为检测特定微生物的靶基因。

目前基因传感器的研究主要是针对人体、动植物、土壤、水、食品等介质中病原菌、病毒和降解微生物的功能基因的检测研究^[22, 33]。

李雪梅等^[23]以 $\text{Cd}(\text{bzim})_2(\text{NO}_3)_2$ 为杂交指示剂,用电化学 DNA 传感器检测与 HBV 病毒有关的基因序列。结果表明,在 $1.49 \times 10^{-7}\ \text{mol/L}$ 到 $1.06 \times 10^{-6}\ \text{mol/L}$ 有线性关系,线性相关系数 $r = 0.9973$,检测限为 $8.4 \times 10^{-8}\ \text{mol/L}$ 。Lin 等^[24]用亚甲基蓝(MB)

作为杂交指示剂, 将单链 DNA 共价固定在玻碳电极 (GCE) 上, 制成电化学 DNA 传感器, 检测人体慢性粒细胞性白血病 (CML, Type b3a2) 的 DNA 序列。在最佳的实验条件下, 该传感器的校准范围为 $1.25 \times 10^{-7} \text{ mol/L} \sim 6.75 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$, CML 的 DNA 序列的检测限为 $5.9 \times 10^{-8} \text{ mol/L}$ 。Niu 等^[25]把单链 HIV DNA 片段共价固定在玻碳电极上, 以 $[\text{Co}(\text{phen})_2\text{IP}]^{2+}$ 为电活性指示剂, 检测 HIV 病毒基因, 在 $1.6 \times 10^{-10} \text{ mol/L} \sim 6.2 \times 10^{-9} \text{ mol/L}$ 内呈线性关系, 检测限为 27 pmol。

Francesco Zezza 等^[26]首次使用 SPR-DNA 传感器检测谷类作物中常见致病真菌 *Fusarium culmorum*, 取 0.57 kb *F. culmorum* 的 DNA 片段, 用特异性引物进行 PCR 扩增, 并在其扩增产物中选取 25-mer 作为寡聚核苷酸探针, 在 30 ng 小麦 DNA 中 *F. culmorum* DNA 的检测限为 0.06 pg, 与传统的凝胶电泳法相比, 该传感器显示出良好的灵敏性和选择特异性。

大肠杆菌具有葡糖苷酸酶的特性, Cleuziat 等^[27]用大肠杆菌中编码该酶的基因序列作为目标 DNA, 并制成 DNA 探针, 用以检测食品中的总大肠杆菌。而对不同种类的大肠杆菌, 如产肠毒素的大肠杆菌 (ETEC)、致肠出血大肠杆菌 (EHEC) 以及致肠病的大肠杆菌 (EPEC) 等的检测鉴别, 已分别使用产肠毒素基因序列、致肠出血的基因序列及致肠病的基因序列^[28]作为目标 DNA, 构造出相应的 DNA 探针, 用以鉴别上述不同种类的大肠杆菌。McGrat 等^[29]用 RT-PCR 检测了食品中的梭状肉毒杆菌 (*Clostridium botulinum*) 毒素的编码基因。艾启俊^[30]等根据编码绿脓杆菌外毒素 A 基因设计引物, 用 PCR 检测了绿脓杆菌外毒素 A 基因。Milcic-Terzic 等^[31]和 Siciliano 等^[32]分别利用编码烷烃单加氧酶、萘双加氧酶、儿茶酚 2,3-双加氧酶的代谢基因 *alkB*、*ndoB*、*xyIE* (C230) 作为分子探针, 监测石油烃污染土壤中土著微生物群落代谢基因的丰度变化, 作为细菌降解有机污染物潜能的指示。Varela 等^[33]检测了 30 种真菌 (其中 26 种为担子菌) 中木素过氧化物酶编码基因 *lpo* 和芳基醇氧化酶编码基因 *aoa* 的分布情况, 以考察在木素降解过程中这些真菌的产酶功能和协同关系。Aitichou 等^[34]则用电化学传感器检测了 81 种微生物菌株中编码金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 肠毒 A 和 B 的基因, 灵敏度

高达 100%, 特异性分别为 96% 和 98%。基因需要通过转录成 mRNA、翻译生成蛋白质的过程来实现其生物功能, 由于 mRNA 分子在活体微生物细胞中降解很快, 特定的 mRNA 就成为良好的测定活体微生物的目标分子。Baeumner 等^[35]就以埃希氏大肠杆菌中编码热休克蛋白的 mRNA (*clpB*) 为靶基因制成基因传感器, 利用包含有硫代诺丹明 B 的脂质体标记指示探针, 形成光反射信号实现活性大肠杆菌的测定。许多微生物的功能基因的表达、mRNA 的合成受到环境变化和代谢状态的影响, 可以通过测定特定 mRNA 的数量来考察其功能基因的表达情况。若把某种微生物全部功能基因分别固定在 DNA 微阵列上, 再用不同阶段的 cDNA 与之杂交, 就能了解微生物功能基因的表达与不同阶段、不同环境条件的关系^[36]。

3 结语和展望

在传感器的庞大家族中生物传感器当属晚辈, 而近年来因为生物科学、信息科学和材料科学 (尤其是纳米技术、光纤薄膜与平面波导薄膜材料等) 发展成果的推动, 生物传感器向着多功能、智能化和微型化方向发展, 无疑基因传感器就成为本世纪最为看好的研究领域之一。迄今为止, 基因传感器在检测人体、动植物、水、食品等介质中病原菌、病毒和降解微生物的功能基因等方面已经取得了不错的成绩, 给人类带来巨大的收益。

堆肥在城市垃圾的处理中起着重要作用, 运用传感器技术检测堆肥中的生物组分和代谢产物, 从而更有效地控制堆肥条件是一个新的发展方向。Tang 等^[37]以 H_2O_2 、对苯二酚和藜芦醇为底物, 用电流型酶传感器检测黄孢原毛平革菌 (*Phanerochaete chrysosporium*) 分泌的木素降解过氧化物酶 (*lignin-degrading peroxidase*) 的活性; Zhang 等^[38]将漆酶 (*laccase*) 共价固定在磁性纳米粒子 ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$) 修饰的碳糊电极上, 制成漆酶传感器, 检测堆肥浸出液中对苯二酚 (*hydroquinone*) 的浓度, 而用于堆肥中微生物功能基因检测的基因传感器还未见报道。将基因传感器用于堆肥中主要降解微生物功能基因的检测, 应该成为基因传感器今后的重要研究方向。相信随着分子生物学和基因传感器技术的发展并结合我们已经掌握的微生物群落结构和功能方面的知识, 我们将会逐渐了解堆肥系统中微生物群体

的多样性、实际生存状态、功能特点,从而更有效地控制堆肥条件,使堆肥中有机物降解更彻底。

参 考 文 献

- [1] 王爱杰,任南琪等编著.环境中的分子生物学诊断技术.北京:化学工业出版社,2004,p.262.
- [2] 仵博万.DNA 生物传感器研究进展.化学世界,2004,12: 659-667.
- [3] 金灿灿.电化学 DNA 生物传感器的原理及应用.淮北职业技术学院学报,2006,5(3): 81.
- [4] 彭图治,程 琼.TPD 修饰电化学生物传感器测定 DNA 片段序列.化学学报,2001,59(7): 1125-1129.
- [5] 马 丽,白 燕,刘仲明,等.血清样品中乙肝病毒的 DNA 电化学传感器检测.分析测试学报,2003,22(3): 42-44.
- [6] 张正奇,谢建平,熊劲芳,等.黄瓜 DNA 伏安传感器的制备及其应用.分析科学学报,2005,21(1): 5-8.
- [7] 孙 伟,尚智美,杨茂霞,等.巯基乙酸自组装膜 DNA 电化学传感器对转基因 NOS 的定量检测.高等学校化学学报,2006,27(10): 1859-1861.
- [8] 陈 昕,周康源,顾 宇.压电基因传感器研究应用进展.应用声学,2004,23(1): 1-7.
- [9] Fawcett N, Evans J, Chien L, *et al.* Nucleic acid hybridization detected by piezoelectric resonance. *Anal Lett*, 1988, 21(7): 1099-1114.
- [10] 王颖莹,府伟灵,张 伟,等.应用压电基因传感器芯片检测结核分枝杆菌 DNA.中华医院感染学杂志,2000,10(6): 418-420.
- [11] 陈庆海,府伟灵,边志衡,等.压电基因传感器检测巨细胞病毒 PCR 产物的实验研究.第三军医大学学报,2003,25: 2202-2204.
- [12] 田艳慧,童朝阳,刘 冰,等.压电基因传感器检测芽孢杆菌靶序列研究.传感器与微系统,2006,25: 34-36.
- [13] 刘 超,周雪芳,徐远胜.光学 DNA 生物传感器.光子技术与信息,2002,15(3): 27-30.
- [14] Tempelman LA, King KD, Anderson GP, *et al.* Quantitating Staphylococcal Enterotoxin B in Diverse Media Using a Portable Fiber-Optic Biosensor. *Anal Biochem*, 1996, 233(1): 50-57.
- [15] 张国军,周宜开,庞代文,等.光纤 DNA 传感器.国外医学分子生物学分册,2000,22(6): 337-341.
- [16] Jordan CE, Anthony GF, Andrew JH, *et al.* Surface Plasmon Resonance Imaging Measurements of DNA Hybridization Adsorption and Streptavidin/DNA Multilayer Formation at Chemically Modified Gold Surfaces. *Anal Chem*, 1997, 69(24): 4939-4947.
- [17] Stuardo I M, M Vásquez, Vicuña R, *et al.* Molecular approach for analysis of model fungal genes encoding ligninolytic peroxidases in wood-decaying soil systems. *Letters in Applied Microbiology*, 2004, 38: 43-49.
- [18] Martinez D, Larrondo LF, Putnam N, *et al.* Genome sequence of the lignocellulose degrading fungus *Phanerochaete chrysosporium* strain RP78. *Nature Biotechnology*, 2004, 22(6): 695-700.
- [19] Janse BJH, Gaskell J, Akhtar M, *et al.* Expression of *Phanerochaete chrysosporium* genes encoding lignin peroxidases, manganese peroxidases, and glyoxal oxidase in wood. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, 64(9): 3536-3538.
- [20] Stewart P, Cullen D. Organization and differential regulation of a cluster of lignin peroxidase genes of *Phanerochaete chrysosporium*. *Journal of Bacteriology*, 1999, 181(11): 3427-3432.
- [21] Webber AL, Ingram RS, Levorse JM, *et al.* Location of enhancers is essential for the imprinting of H19 and Igf2 genes. *Nature*, 1998, 391(12): 711-715.
- [22] Gilligan K, Shipley M, Stiles B, *et al.* Identification of *Staphylococcus aureus* enterotoxins A and B genes by PCR-ELISA. *Molecular and Cellular Probes*, 2000, 14: 71-78.
- [23] Xue-Mei Li, Heng-Qiang Ju, Li-Ping Du, *et al.* A nucleic acid biosensor for the detection of a short sequence related to the hepatitis B virus using bis(benzimidazole) cadmium(II) dinitrate as an electrochemical indicator. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2007, 101: 1165-1171.
- [24] Xin-Hua Lin, Ping Wu, Wei Chen, *et al.* Electrochemical DNA biosensor for the detection of short DNA species of Chronic Myelogenous Leukemia by using methylene blue. *Talanta*, 2007, 72: 468-471.
- [25] Shu-Yan Niu, Shu-Sheng Zhang, Long Wang, *et al.* Hybridization biosensor using di (1,10-phenanthroline) (imidazo[*f*] 1,10-phenanthroline)cobalt(II) as electrochemical indicator for detection of human immunodeficiency virus DNA. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2006, 597: 111-118.
- [26] Francesco Zezza, Michelangelo Pascale, Giuseppina Mulè, *et al.* Detection of *Fusarium culmorum* in wheat by a surface plasmon resonance-based DNA sensor. *Journal of Microbiological Methods*, 2006, 66: 529-537.
- [27] Cleuziat P, Robert BJ. Specific detection of *Escherichia*

- coli* and *Shigella* species using fragments of genes coding for β -glucuronidase. *FEMS Microbiol Lett*, 1990, **72**(3): 315–322 .
- [28] Nagayama K, Bi Z, Oguchi T. Use of an alkalinephosphatase-conjugated oligonucleotide probe for the gene encoding the bundle-forming pilus of enteropathogenic *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol*, 1996, **34**: 2811–2821 .
- [29] McGrath S, Dooley JSG, Haylock RW. Quantification of *Clostridium botulinum* toxin gene expression by competitive reverse transcription-PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, **66**(4): 1423–1428 .
- [30] 艾启俊, 于庆华, 张红星, 等. PCR 技术检测编码绿脓杆菌外毒素 A 基因. 中国食品学报, 2006, **6**(6): 117–120 .
- [31] Milcic-Terzic J, Lopez-Vidal Y, Vrvac MM, *et al*. Detection of catabolic genes in indigenous microbial consortia isolated from a diesel-contaminated soil. *Bioresource Technol*, 2001, **78**: 47–54 .
- [32] Siciliano SD, Germida JJ, Banks K, *et al*. Changes in microbial community composition and function during a polycyclic aromatic hydrocarbon phytoremediation field trial. *Appl Environ Microbiol*, 2003, **69**: 483–489 .
- [33] Varela E, Martínez AT, Martínez MJ. Southern blot screening for lignin peroxidase and aryl-alcohol oxidase genes in 30 fungal species. *Journal of Biotechnology*, 2000, **83**: 245–251 .
- [34] Aitichou M, Henken R, Sultana AM, *et al*. Detection of *Staphylococcus aureus* enterotoxin A and B genes with PCR-EIA and a hand-held electrochemical sensor. *Molecular and Cellular Probes*, 2004, **18**: 373–377 .
- [35] Baeumner AJ, Cohen RN, Miksic V, *et al*. RNA biosensor for the rapid detection of viable *Escherichia coli* in drinking water. *Biosensors & Bioelectronics*, 2003, **18**: 405–413 .
- [36] McGrath S, Dooley JSG, Haylock RW. Quantification of *Clostridium botulinum* toxin gene expression by competitive reverse transcription-PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, **66**(4): 1423–1428 .
- [37] Lin Tang, Guang-Ming Zeng, Hua Wang, *et al*. Amperometric detection of lignin-degrading peroxidase activities from *Phanerochaete chrysosporium*. *Enzyme and Microbial Technology*, 2005, **36**: 960–966 .
- [38] Yi Zhang, Guang-Ming Zeng, Lin Tang, *et al*. A hydroquinone biosensor using modified core-shell magnetic nanoparticles supported on carbon paste electrode. *Biosensors and Bioelectronics*, 2007, **22**: 2121–2126 .

科技信息

Mycoplasma 术语是支原体还是枝原体 ?

在医学微生物学中出现的 *Mycoplasma* 多译为“支原体”,但从其词义而言,将其译为“枝原体”更为合适,这种没有细胞壁,能形成丝状和分枝状的原核细胞微生物,正像 *Mycobacterium* 应译为“分枝杆菌属”那样,而不译成“分支杆菌属”。中科院微生物所王祈楷研究员长期从事 *Mycoplasma* 的研究,认为它的中文确切定名为—枝原体更适中,尽管“支”与“枝”读音相同,但从其内含而言,用“枝原体属”术语更为恰当,因此,在“中国大百科全书生物学卷”(第一版)以及即将出版的“中国大百科全书”(第二版)中的 *Mycoplasma* 均采用“枝原体属”术语名称。山东大学韩贻仁教授也认为 *Mycoplasma* 译为“枝原体属”更为恰当,从术语定名而言,最好遵守“一物一名”的原则,避免一物多名。

对于生命科学中术语名称新出现时,最早采用音译如 gene(基因)、clone(克隆)、prion(普里昂)等,这是很自然的。由此可见,如果想命名出有特色和创新性的中文名称,那就应多方面思考,了解其内含实质,集思广益,经有关专业人士多方面研讨,商定确认,避免寡言独断,不要一个术语名称过去了几十年之后再翻案,似感晚矣!

(柯为供稿)