

# 寡核苷酸微阵列原位合成新技术研究

汤建新

(湖南工业大学 绿色包装与生物纳米技术应用湖南省重点实验室, 湖南 株洲 412008)

**摘要:** 研究探讨了一种基于活版印刷原理的中、低密度寡核苷酸微阵列原位合成新方法, 该方法完全避免了掩模制备过程, 合成速度快、制备成本低、便于批量生产, 有望满足人们对批量生物信息进行快速、低成本检测与分析的要求; 对活版印刷法寡核苷酸原位合成原理、合成工艺进行了详细探讨, 应用该方法在连接有手臂分子的载玻片上, 分别合成了4条探针、16个位点的寡核苷酸微阵列, 通过与互补的靶序列杂交和荧光分析, 微阵列上相同寡核苷酸探针的位点荧光强度均匀, 表明其寡核苷酸探针分布均匀; 错配分析还表明得到的寡核苷酸微阵列能够实现单个碱基错配的检测。

**关键词:** 活版印刷; 原位合成; 寡核苷酸; 微阵列

中图分类号: Q524

文献标识码: A

文章编号: 1008-2611(2007)01-0050-06

## The Novel Technique Investigation for in Situ Synthesis of Oligonucleotide Microarray

Tang Jianxin

(Key Laboratory of Green Packaging and Application Biological Nanotechnology of Hunan Province,  
Hunan University of Technology, Zhuzhou Hunan 412008, China)

**Abstract:** A novel typography technique was developed to in situ synthesize oligonucleotide arrays on glass slide, which has the celerity, high spatial resolution, lower cost, reliable operation, and high synthetic efficiency. The principle and process of the typography technique for fabricating gene-chips were described in detail. A suit of poly (terafluoroethylene) devices for synthesizing oligonucleotide arrays were designed and prepared, and the fiber tube with a number of nano-or micron channels were employed. The oligonucleotide arrays of sixteen sites with four different probes were synthesized using the typography technique. The four specific oligonucleotide probes including the matched and the mismatched by the fluorescent target sequence gave obviously different hybridization fluorescent signals. It was indicated that the gene-chip fabricated by the typography method could be used to rapidly screen single-nucleotide polymorphisms (SNP) and to detect mutations.

**Keywords:** typography; in situ synthesis; oligonucleotide; microarrays

## 0 前言

目前生物芯片制备技术的发展呈现两大趋势: 其一是以 Affymetrix 公司为代表的向高密度、高通量、高度并行性生物芯片发展, 试图把对应于人类所有生物的相应探针都固定在一块芯片上, 它的发展将对生命

科学的基础与应用研究起到革命性的推动作用, 并有可能在未来引发新的革命; 另一种趋势是以 Nanogen 公司为代表的过程集成化趋势, 由于在实际临床诊断及军事、司法应用中, 大多数情况下并不需要高密度的生物芯片, 而是要求密度适中、但特别简单、灵活、速度快、成本低、易于操作、质量可靠的芯片制备方法

收稿日期: 2007-01-08

基金项目: 国家“863”十一五专项计划基金资助项目(2006AA03Z357), 国家自然科学基金资助项目(60571001), 中国博士后科学基金资助项目(20060390887), 湖南省教育厅基金资助项目(06C262)

作者简介: 汤建新(1965-), 男, 湖南宁乡人, 湖南工业大学教授, 博士, 主要从事生物大分子分析研究。

和技术。因此,发展中、低密度的生物芯片可能有着很大的实际应用前景和很大的潜在市场,并可能取得重大的经济和社会效益。无论是高密度,还是中、低密度生物芯片,在生物检测、医学检验和疾病诊断、药物筛选以及生物序列分析上都有着极其重要的意义<sup>[1-8]</sup>。

在生物芯片制备技术中,中、低密度的芯片制备一般采用点样法<sup>[9]</sup>。但它存在着两大缺陷:其一是当制备密度较高的核苷酸探针微阵列时成本很高。例如,当20目碱基的探针数量达到1000条时,探针成本即在100000元人民币以上,因而当探针数目较多时,这一技术无法与原位合成技术相比拟;其二是当采用接触点样方式时,每个位点内的探针分布不均匀、受点样针设计与其它实验条件的影响,常使得边缘区域探针密度大于中心区域(即所谓“Coffee-ring” effect,“咖啡环”效应)<sup>[10]</sup>。从今后大规模、批量化生产及应用前景的角度考虑,利用高度自动化技术平台、批量化原位合成生物芯片是重要的发展方向。目前,国际上已经开发了多种生物微阵列原位合成方法,如:Fodor等研究开发了光导原位合成法<sup>[11-13]</sup>;IBM公司研究组研究开发了光敏抗蚀合成法<sup>[14]</sup>;Southern研究小组研究开发了微流体通道在片合成法<sup>[15-18]</sup>;美国加州IcyPharmaceuticals公司和Protogen公司研究开发了采用原位喷印合成法<sup>[19,20]</sup>;Houston大学的Gao等提出的光致酸脱保护生物微阵列原位合成法<sup>[21]</sup>;Singh-Gasson等提出的虚拟掩模光导向合成法<sup>[22]</sup>;Whiteside研究组等利用微接触印刷技术<sup>[23-25]</sup>和东南大学生物电子学国家重点实验室等研究组提出的分子印章法<sup>[26-30]</sup>。这些芯片制备方法各有特点,但普遍都存在着成本比较高、工艺过程复杂的缺陷,有的甚至需要特殊的专利试剂。例如,美国Affymetrix公司拥有的光脱保护原位合成制备专利技术,不仅需要特有的光脱保护试剂,而且必须针对不同的用户制作特定的光掩模,因而成本比较高,不适合小批量生产的需求。因此,发展和开发快捷、成本低廉的生物阵列原位合成技术具有非常重要的意义。

本课题组提出了一种具有自主知识产权的基于活版印刷原理的生物芯片原位合成制备新技术<sup>[31]</sup>,本文对该方法进行了大量的原理实验和基础研究。该制备技术将成熟的高效亚磷酸酰胺固相合成方法、现在广泛应用的生物合成试剂与中国古代活版印刷技术相结合,将具有微纳米通道的真空纤维管按照生物芯片探针阵列各层的碱基排列设计组装成一系列印刷模版,利用纤维管的毛细效应源源不断吸附单体溶液,就象活版印刷书刊一样精确定位循环压印来实现生物探针的原位合成。其特点为:完全避免了现有原位合成方法中烦琐而昂贵的掩模制备过程及点样法中昂贵的探针修饰或标记成本,针对不同用户需求,只需重新排

列印刷模版即可。如果把现有基于掩模制作技术的原位合成方法比做刻版印刷的话,本方法则有活版印刷的特点;所耗单体试剂少,成本低;而毛细效应带来的类似于液相的压印反应环境则赋予了合成探针极高的偶联效率和探针位点的信号均匀性,确保了获取生物信息的准确性;易实现自动控制和精确定位,合成速度快,在较短时间内就可快速印刷合成出探针分布均匀的大批量生物芯片;同时还可应用于多肽或其他生物大分子微阵列的合成。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器、材料与试剂

PCR-MATE MODEL 391生物合成仪(美国Biosystems公司),无水无氧操作系统(MECABOX94-2S<sub>1</sub>瑞士MECAPLEX公司),生物芯片荧光扫描仪(Scanarray Lite Microarray Analysis System, Packard Biochip Technologies)。(体积分数为7%的氢气与体积分数为93%的氩气)的混合气和体积分数为99.999%的氩气(上海比西欧特种气体有限公司),聚四氟乙烯反应池10个(南京市橡塑制品厂加工制造),微孔聚酯纤维管(南京金技有限责任公司),帆船牌国产载玻片(25.0 mm × 75.0 mm)。

生物合成单体A、G、C、T(北京奥科生物有限责任公司),荧光靶序列5'-AAA AGT TTG AGA GCT-TAMRA-3'(上海生工生物技术有限责任公司),并用2 × PBS溶液稀释至100 nmol/L,氧化剂( $m_{\text{碘}}:m_{\text{水}}:m_{\text{吡啶}}:m_{\text{四氢呋喃}}=3\%:2\%:20\%:75\%$ ),所有试剂除乙腈为高效液相色谱纯、异丁腈为色谱纯外,其余皆为分析纯,从当地经销商处购买。

### 1.2 寡核苷酸微阵列的合成

活版印刷法寡核苷酸微阵列的原位合成是遵循亚磷酸酰胺固相合成法,其合成路径由偶联、封闭、氧化和脱dimethoxytrityl(DMT)保护基团四步反应构成一个合成循环<sup>[32,33]</sup>。活版印刷法寡核苷酸的合成原理为:将亚磷酸酰胺第一步化学反应——即偶联反应——由活版偶联压印来完成,压印偶联反应是在手套箱中进行的。封闭反应对于寡核苷酸在片合成可以舍弃<sup>[28]</sup>,活版印刷法寡核苷酸微阵列合成属于在片合成,不存在后续纯化过程,因此,在研究中也省略封闭反应。而氧化和脱保护反应在通风橱中进行。在压印偶联反应中,依靠聚四氟乙烯反应槽精确定位,模版纤维管凸出尖端与玻璃载片接触,从而使核苷酸单体与玻璃载片上的氨基发生偶联反应。偶联反应完成后,再进行氧化和脱DMT反应,这样便完成了一个循环;依次再完成其余多个合成循环。合成条件见表1。手套箱的环境要求为氧的体积分数 $\leq(1.0 \times 10^{-5})\%$ ,水的体积分数 $\leq(1.0 \times 10^{-5})\%$ 。寡核苷酸微阵列压印合

成可以是手动合成,也可以是自动合成。本文的原理实验结果是用手动合成实现的,合成步骤见图1。

表1 活版印刷法寡核苷酸原位合成条件

Tab. 1 Conditions of oligonucleotide arrays on-chip synthesis using typography technique

合成步骤	反应试剂或溶剂	反应时间/s
清洗	乙腈	30
偶联	(0.1 mol/L 单体 + 0.5 mol/L 四唑) 乙腈、异丁腈溶液	100
清洗	乙腈	30
氧化	0.1 mol/L 碘 / 水 / 吡啶 / 四氢呋喃溶液	80
清洗	乙腈	30
脱 DMT	体积分数为 3 % 的 三氯乙酸二氯甲烷溶液	80
清洗	乙腈	30

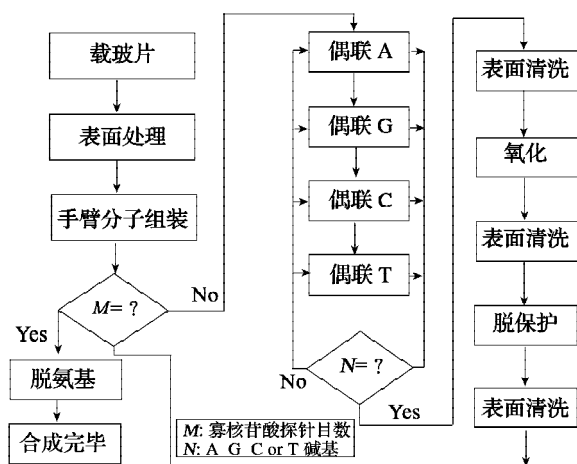


图1 活版印刷法制备寡核苷酸微阵列流程示意

Fig. 1 A schematic diagram of synthesis flow for in situ synthesis oligonucleotide microarrays with typography technique on glass slice

### 1.3 杂交与检测

载玻片片基上合成的寡核苷酸产物先用 1 : 1 的乙醇胺 / 乙醇 75 °C 脱保护 2 h, 去离子水洗净, 吹干。在探针合成区域各点上稀释到 100 nM 的标有荧光的靶序列杂交液, 并盖上排斥硅烷疏水盖玻片, 应注意载玻片与盖玻片间不能留有气泡, 最后盖上杂交盒盖。把杂交盒置于 42 °C 的数显恒温水浴锅中先杂交 1 h, 接着将温度降至 37 °C 再杂交 2~3 h, 34 °C 再杂交 2 h, 室温再杂交 1 h。杂交完毕, 将玻璃载片置于体积分数为 0.1 % 的 SDS 的 2 × SSC 中在摇床上震荡清洗 10 min, 然后再用体积分数为 0.1 % 的 SDS 的 0.1 × SSC 溶液在摇床上震荡洗涤 10 min, 最后用 2 次蒸馏水快速冲洗玻璃载片, 用洗耳球吹干 (整个操作应在避光下进行), 用荧光扫描仪 (Scanarray Lite Microarray Analysis System, Packard Biochip) 和微软荧光分析系统进行处理。

## 2 结果与讨论

### 2.1 活版印刷法寡核苷酸微阵列固相合成方法

寡核苷酸的固相合成方法主要有氢磷酸酯法、磷酸三酯法和亚磷酸酰胺法 3 种, 3 种不同方法的主要区别在于偶联反应中所使用的单体及催化剂不同。氢磷酸酯法使用氢磷酸酯单体及酰氯催化剂; 磷酸三酯法使用磷酸三酯单体及苯磺酸催化剂; 亚磷酸酰胺法使用亚磷酸酰胺单体及四唑催化剂。3 种方法中偶联反应的机理及条件各不相同, 但其它步骤的反应则大致一样。对于寡核苷酸的固相合成, 偶联反应是决定其偶联效率的最主要因素。就 3 种合成方法而言, 亚磷酸酰胺法由于其有效和快速的偶联以及开始物质的稳定性, 是大多数研究者首选的方法, 也是最适合活版印刷法 DNA 芯片制备中寡核苷酸的固相合成的方法。因此, 我们也选择该方法作为活版印刷法来压印基因芯片。这可归咎为两方面的原因: 其一是亚磷酸酰胺法的偶联效率很高, 通常在 99 % 以上; 其二是亚磷酸酰胺法中偶联反应的时间很短, 通常 30 s 内反应就能完成, 特别是要实现机械化、自动化活版印刷法快速压印来合成 DNA 芯片, 上述 2 个条件就尤为重要。亚磷酸酰胺固相合成法化学反应过程如图 2 所示<sup>[32]</sup>。

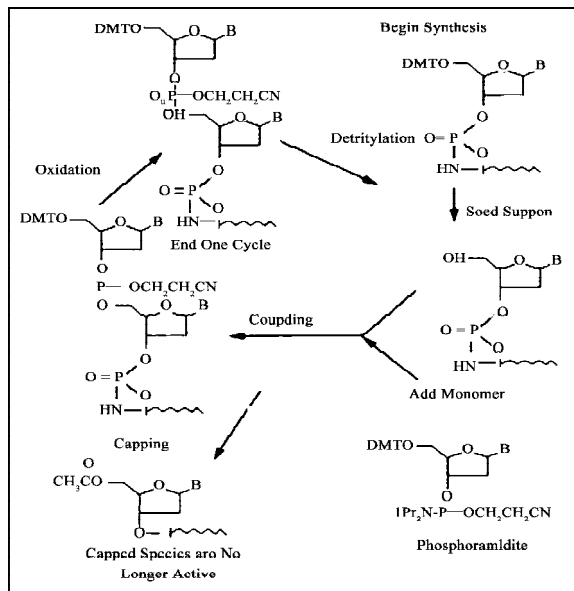


图2 亚磷酸酰胺寡核苷酸固相合成方法

Fig. 2 The oligonucleotide solid-phase synthesis method of phosphoramidite

### 2.2 活版印刷法寡核苷酸微阵列合成原理

图3是活版印刷手动合成法所使用的聚四氟乙烯反应池、印刷模版和组成印刷模版的真空纤维管示意图, 并简要说明了其合成原理。活版印刷法寡核苷酸微阵列合成的原理是将具有微纳米毛细通道的微米级真空纤维管或微颗粒作为印刷“活字”载体材料, 构成一系列组合印刷模版, 并将反应试剂储存于这些组

合印刷模版下, 依靠毛细效应单体试剂能源源不断地传输到纤维管或微颗粒压印尖端。这样保证了在压印合成时压印尖端富含单体试剂, 并能与基片充分接触而又不向周围扩散。每一张模版对应于一种合成单体试剂, 应用组合化学原理循序压印到基片上进行化学偶联, 最终得到所需的化合物微阵列。对于 DNA 微阵列来说, 由于只有 4 种单体, 每一层最多只需组合 4 张印刷模版, 这些微小纤维载体材料就象古代活版印刷中的“活字”一样, 经过乙腈溶液浸泡、漂洗就可以重复使用(仅局限于同一单体间使用)。针对不同的用户要求和不同的芯片设计, 只需用机械手或手工重新排列组合印刷模版, 就可实现芯片快速印刷制备。

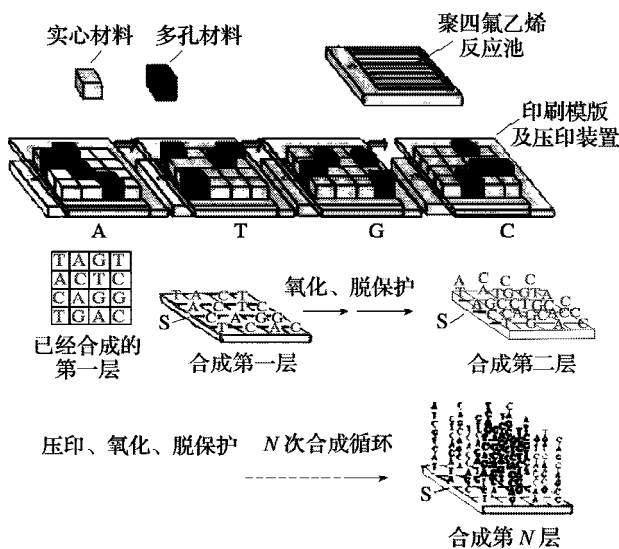


图3 活版印刷压印化学反应原理

Fig. 3 Shows the synthesis principle for preparing gene chip of typography technique

### 2.3 活版印刷法压印合成步骤

表2 是本研究中所设计需要合成的 4 条寡核苷酸

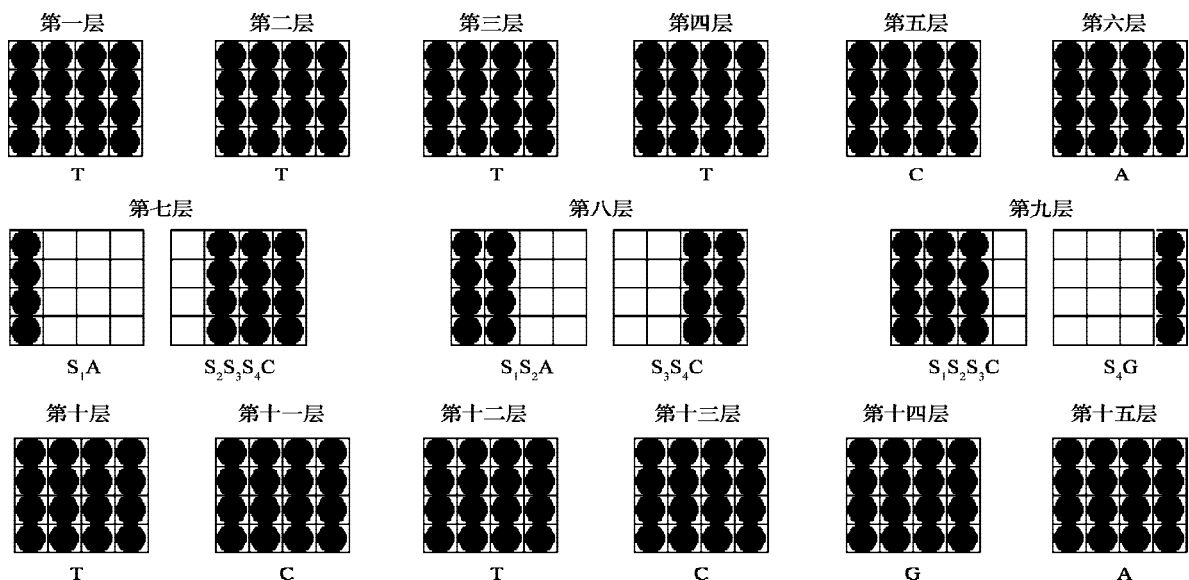


图4 活版印刷法合成 15 层碱基示意图

Fig. 4 The sketch map of synthesis fifteen layer base using typography technique

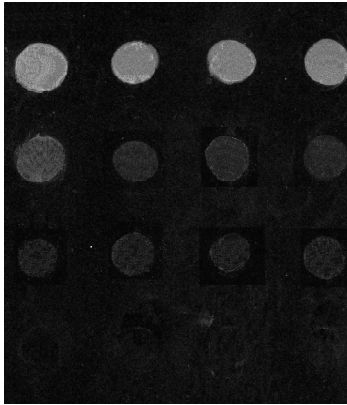
探针(取自心肌梗塞序列片段)和与上述探针互补的靶序列。本文以合成 4 条探针、16 个位点的寡核苷酸阵列为例来阐述活版印刷法制备生物芯片原理及合成步骤。压印偶联反应在手套厢中进行, 而氧化和脱保护反应在通风橱中进行。在压印偶联反应中, 依靠聚四氟乙烯反应槽精确定位, 模版纤维管凸出尖端与玻璃载玻片接触, 从而使核苷酸单体与玻璃载片上的氨基发生偶联反应。偶联反应完成后, 即完成了寡核苷酸阵列第一层中第一个 T 核苷酸的偶联, 氧化剂氧化和脱 DMT 反应, 这样便完成了第一个循环; 接着又压印 3 个 T 和 C、A, 分别用氧化剂氧化和脱 DMT 反应后, 这样便完成了第 2~6 个循环; 第 7 层则需要压印 2 个碱基 ( $S_1$  压印碱基 A,  $S_2$ 、 $S_3$  和  $S_4$  压印碱基 C); 第 8 层也需要压印 2 个碱基 ( $S_1$ 、 $S_2$  压印碱基 A,  $S_3$  和  $S_4$  压印碱基 C); 第 9 层同样也需要压印 2 个碱基 ( $S_1$ 、 $S_2$ 、 $S_3$  压印碱基 C, 和  $S_4$  压印碱基 G); 分别用氧化剂氧化和脱 DMT 反应后, 这样便完成了第 7~9 个循环; 再继续压印 T、C、T、C、G、A 6 个碱基, 分别用氧化剂氧化和脱 DMT 反应后, 这样便完成了第 9~15 个循环, 得到了 4 条序列 15 mer、16 个位点的寡核苷酸探针阵列。图 4 为活版印刷法合成制备所有 15 mer 寡核苷酸阵列 15 层碱基示意图。

表2 实验中所使用的靶序列和合成的寡核苷酸探针  
Table 2 The target sequence and synthesis oligonucleotide probes in this experiment

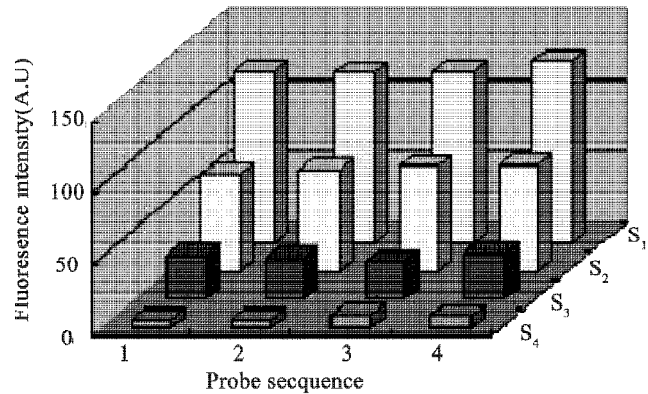
名称	序列
T 靶序列(15-碱基)	5'-AAAAGTTTGTAGAGCT-TAMRA-3'
$S_1$ (正配, 15-碱基)	5'-AGC TCT CAA ACT TTT-NH <sub>2</sub> -3'
$S_2$ (错配 1 个碱基)	5'-AGC TCT CAC ACT TTT-NH <sub>2</sub> -3'
$S_3$ (错配 2 个碱基)	5'-AGC TCT CCC ACT TTT-NH <sub>2</sub> -3'
$S_4$ (错配 3 个碱基)	5'-AGC TCT GCC ACT TTT-NH <sub>2</sub> -3'

## 2.4 荧光分析结果

基于活版印刷原理,在硅烷化处理并连接2次戊二醛和乙二氨的氨基玻璃片基上,按照上述表2的探针序列,依次进行压印→清洗→氧化→清洗→脱保护→清洗,重复上述步骤,原位印刷合成了4种探针16个位点的DNA阵列(见图5,每种探针合成4个位点)。其中 $S_1$ 为正配序列、 $S_2$ 为错配1个碱基、 $S_3$ 为错配2个碱基、 $S_4$ 为错配3个碱基。图5为4条探针、16个位点



a) 活版印刷法手动合成16位点荧光阵列



b) 分别合成 $S_1$ ,  $S_2$ ,  $S_3$ 和 $S_4$

图5 4条探针16个位点的寡核苷酸探针阵列荧光分析结果

Fig. 5 The fluorescence signals image and result of fluorescence intensity analysis of the 16 site oligonucleotide arrays using the scanner software

### 参考文献:

- [1] Gervid G, Rushmore T, Caskey T C. DNA chips: promising toys have become powerful tools[J]. Trends Biochem Sci, 1999, 24(15):168-173.
- [2] Fodor S P A. DNA sequencing: massively parallels genomics [J]. Science, 1997, 277(5324):393-395.
- [3] Chee M, Yang R, Hubbell E, Berno A, Huang X H C, Stern D, Winkler J, Lockhart D J, Macdonald S M, Fodor S P A. Accessing genetic information with high-density DNA arrays[J]. Science, 1996, 274(5287):610-614.
- [4] Brown P O, Botstein D. Exploring the new word of the genome with DNA microarrays[J]. Nature Gene, 1999, 21(1):33-37.
- [5] Helmbert A. DNA-microarrays: novel techniques to study aging and guide gerontologic medicine[J]. Exp Gerontol, 2001, 36(7):1189-1198.
- [6] Tillib S V, Mirzabekov A D. Advances in the analysis of DNA sequence variations using oligonucleotide microchip technology[J]. Curr Opin Biotechnol, 2001, 12(1):53-58.
- [7] Vo-Dinh T. Development of a DNA biochip: principle and applications[J]. Sensor Actuat B-Chem, 1998, 51(1-3):52-59.
- [8] Khan J, Bittner M L, Chen Y D, Meltzer P S, Trent J M. DNA microarray technology: the anticipated impact on the study of human disease[J]. Biochimica et Biophysica Acta-Reviews on Cancer, 1999, 1423(2):17-28.
- [9] Jain K K. Biochips for gene spotting[J]. Science, 2001, 294(5542):621-623.
- [10] Deegan R D, Bakajin O, Dupont T F, Huber G, Nagel S R, Witten T A. Capillary flow as the cause of ring stains from dried liquids[J]. Nature, 1997, 389(6653):827-829.
- [11] Fodor S P A, Read J L, Pirrung M C, tryer L, Lu A T, Solas D. Light-directed spatially addressable parallel chemical synthesis[J]. Science, 1991, 251(4995):767-773.
- [12] Lipshutz R J, Fodor S P A, Gingeras T R, Lockhart D J. High density synthetic oligonucleotide arrays[J]. Nature Gene, 1999, 21(1):20-24.
- [13] Pease A C, Soals D, Sullivan E J, Cronin M T, Holmes C P, Fodor S P A. Lightgenerated oligonucleotide arrays for rapid DNA sequence analysis[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1994, 91(11):5022-5026.
- [14] Mcgall C, Labadie J, Brock P, Wallra G, Nguyen T, Hinsberg W. Light-directed synthesis of high-density oligonucleotide arrays using semiconductor photoresists[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1996, 93(24):13555-13560.
- [15] Maskos U, Southern E. A novel method for the analysis of multiple sequence variants by hybridization to oligonucleotide array[J]. Nucl Acids Res, 1993, 21(9):2267-2268.
- [16] Southern E, Maskos U, Elder J. Analyzing and comparing nucleic acid sequences by hybridization to array of oligonucleotides: evaluation using experiment models[J].

- Genomics, 1992, 13(2):1008-1017.
- [17] Maskos U, Southern E. Parallel analysis of oligodeoxyribonucleotide (oligonucleotide) interactions. I. Analysis of factors influencing oligonucleotide duplex formation[J]. Nucl Acids Res, 1992, 20(7):1675-1678.
- [18] Maskos U, Southern E. Oligonucleotide hybridization on glass supports: a novel linker for oligonucleotide synthesis and hybridization properties of oligonucleotide synthesized in situ[J]. Nucl Acids Res, 1992, 20(7):1679-1684.
- [19] Baldeschwieler J D, Gamble R C, Theriault T P. Application of ink-jet printing technology to the manufacture of molecular arrays: World Patent Application, PCT WO 1995/25116[P]. 1995-12-04.
- [20] Hughes T R, Mao M, Jones A R, Burchard J, Marton M J, Shannon K W, Lefkowitz S M, Ziman M, Schelter J M, Meyer M R. Expression profiling using microarrays fabricated by an ink-jet oligonucleotide synthesizer[J]. Nat Biotechnol, 2001, 19(4):342-347.
- [21] Gao X L, Gulari E, Zhou X C. In situ synthesis of oligonucleotide microarrays[J]. Biopolymers, 2004, 73(5): 579-596.
- [22] Singh-Gasson S, Green R D, Yue Y, Nelson C, Blattner F, Sussman M R, Cerrina F. Maskless fabrication of light-directed oligonucleotide microarrays using a digital micromirror array[J]. Nat Biotechnol, 1999, 17(10):974-978.
- [23] Yang Z P, Belu A M, Liebmann-Vinson A, Sugg H, Chilkoti A. Molecular imaging of a micropatterned biological ligand on an activated polymer surface[J]. Langmuir, 2000, 16(19): 7482-7492.
- [24] Andre B, Dora F, Peter S. Affinity capture of proteins from solution and their dissociation by contact printing[J]. Nat Biotechnol, 2001, 19(4):866-869.
- [25] Lahiri J, Ostuni E, Whitesides G M. Patterning ligands on reactive SAMs by microcontact printing[J]. Langmuir, 1999, 15(6): 2055-2060.
- [26] 肖鹏峰, 何农跃, 刘正春, 贺全国, 孙 啸, 陆祖宏. 分子印章法原位合成DNA微阵列[J]. 中国科学(B), 2001, 31(5):399-404.
- [27] Xiao P F, He N Y, Lu Z H, Liu Z H, He Q G. Soft lithography for oligonucleotide arrays fabrication[C//Proceedings-23rd Annual Conference-IEEE/EMBS (CD-ROM, 388). Istanbul Turkey: Annual Reports of the Research Reactor Institute, Kyoto University, 2001: 3104-3107.
- [28] 肖鹏峰, 陆祖宏, 刘正春, 贺全国, 何农跃. 分子印章法原位合成, DNA微阵列(III)——反应条件的优化[J]. 科学通报, 2002, 47(3):189-192.
- [29] Lu Z C, Xiao P F, He N Y, Liu Z C, He Q G. In situ synthesis of oligonucleotide arrays by using the molecular stamp method[C//Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology-Proceedings. P ANN INT IEEE EMBS: 2002, 2: 1671-1672.
- [30] He Q G, Liu Z C, Xiao P F, Liang R Q, He N Y, Lu Z H. Preparation of hydrophilic PDMS stamps by plasma-induced grafting[J]. Langmuir, 2003, 19(17):6982-6986.
- [31] 何农跃, 汤建新, 杨 春, 郭会时. 活版化合物微阵列: 中国, 604527[P]. 2003-08-18.
- [32] Engels J W, Uhlmann E. Gene synthesis[J]. Angew. Chem. Int. Ed. Engl, 1989, 28: 716-734.

## 湖南工业大学成立大会暨省部共建协议签订仪式隆重举行

2006年12月2日上午,湖南工业大学成立大会暨省部共建协议签订仪式在校体育馆举行。全国政协常委、经济委员会副主任、中国包装联合会会长石万鹏,湖南省委常委、省纪委书记、省人民政府副省长许云昭,中国包装总公司党组书记、总经理刘永旭,湖南省人大常委会副主任唐之享,湖南省政协副主席王汀明,中央财经领导小组办公室副局长赵阳、省政府副秘书长姜儒振,省教育厅厅长张放平、省科技厅厅长王柯敏、中南大学党委书记李健、湖南大学党委书记刘克利、株洲市委书记肖雅瑜等省市有关部门领导、省内外兄弟院校领导到会祝贺。湖南省委常委、省纪委书记、省人民政府副省长许云昭,中国包装总公司党组书记、总经理刘永旭共同签署共建湖南工业大学的协议。大会收到湖南省委书记张春贤、省长周强、国家工商总局局长周伯华、广州军区司令员刘镇武、国家教育部高教司、国际包装学会等领导 and 单位的贺信30多封。

大会首先由省政府副秘书长姜儒振宣读《教育部关于株洲工学院正式更名为湖南工业大学的通知》,部、省、市领导为湖南工业大学揭牌。大会工作人员宣读了国家教育部高教司、湖南省委书记张春贤、省长周强、国家工商总局局长周伯华、国际包装学会的贺信。

会上,全国政协常委、经济委员会副主任、中国包装联合会会长石万鹏,湖南省委常委、省纪委书记、省人民政府副省长许云昭发表重要讲话。