



Microarray Teknolojisi

Evrimsel ve Ekolojik

Çalışmalarda

Kullanımı

K. İpekdal

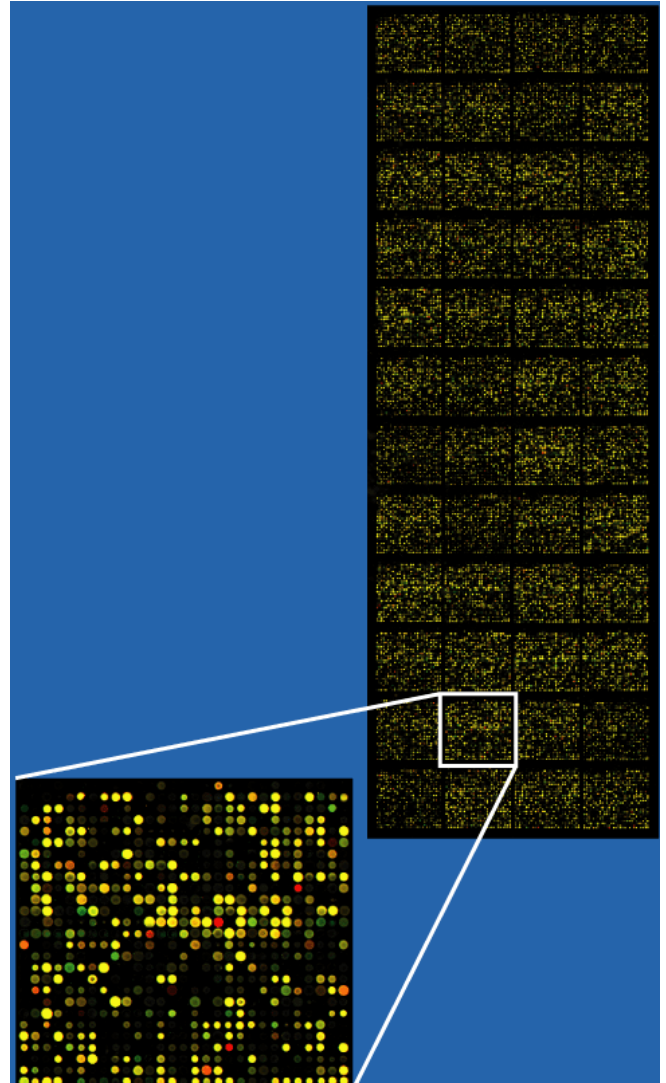
Proteomik ve Genomik 2006

A. Microarray Teknolojisi

Son 10 yılda pek çok model sistem hazırlanırken organizmadan büyük miktarlarda cDNA sekanslamak oldukça yaygınlaşmış bir yaklaşım olmuştur. NIH (National Institutes of Health)'ten Dr. Craig Venter bir mRNA populasyonundaki genleri hızlı bir şekilde incelemek için oluşturulacak bir cDNA kütüphanesinde bulunan klonlarda tek sekans reaksiyonları yapılabileceğini; böylece bu mRNA populasyonunda bulunan farklı gen sınıflarının hızlı bir şekilde tanımlanabileceğini farketmiştir. Her ne kadar tek reaksiyondan gelen sekans verisinin hata içermesi olasılığı yüksek olsa da, bugün, otomatik sekans metodlarının hata oranı 100 bazda 1 hatadan daha da düşüktür ki bu oran bir sekansı doğru olarak tanımlamak için gerekenden daha iyidir.

DNA microarray'i (gen çipi, DNA çipi ya da **biyoçip** olarak da bilinir) ekspresyon profili oluşturmak, başka bir ifade ile binlerce genin ekspresyon düzeyini aynı anda izlemek amacı ile cam, plastik veya silikon çip gibi katı bir yüzeye tutturularak sıralı bir şekilde (**array**) oluşturulmuş mikroskobik DNA spotlarıdır. Bir microarray'de bu spotlardan onbinlerce bulunabilir. Yüzeye tutturulan bu DNA segmentleri (20 ile 100 ya da daha

fazla nükleotid uzunluğunda olabilir) **probe** olarak tanımlanmıştır ve bu problemlerin binlercesi tek bir DNA microarray'inde birlikte kullanılabilir. Microarray teknolojisi DNA'nın bir substrata tutturulup bilinen bir gen



Şekil 1. Yaklaşık olarak 40.000 probdan oluşan bir spotted oligo microarray örneği.

ya da fragment ile prob hazırlanması şeklinde tanımlanabilecek "Southern blotting" tekniğinden türetilmiştir. Gen ekspresyonunun microarray'ler kullanılarak ölçülmesi biyoloji ve tıbbın pek çok alanında uygulanabilirlik arz etmektedir. Örneğin microarray'ler hastalıklı ve normal bir hücrede gen ekspresyonunun karşılaştırılması suretiyle hastalık ile alakalı genlerin belirlenmesinde kullanılabilir.

DNA microarray'leri aktif proteinlere çevrilebilen ya da çevrilemeyen RNA'ların saptanmasında kullanılabilir. Bu tip analizler **ekspresyon analizi** ya da **ekspresyon profili belirleme** şeklinde adlandırılır. Microarray'lerin gen ekspresyonu için kullanımı ile ilgili çalışmalar ilk kez 1995'de Science Dergisi'nde yayınlanmıştır. Microarray ile tamamlanan ilk ökaryotik genom ise *Saccharomyces cerevisiae*'ninki olmuştur ve bununla ilgili çalışma da yine Science Dergisi'nde, 1997 yılında yayınlanmıştır.

Kısaca, diğer tüm sekanslama girişimlerinde olduğu gibi microarray kullanımında da amaç şu sorunun cevabını verebilmektir: Bir organizmanın belirli bir hücrede, belirli bir zamanda ve belirli koşullar altında hangi genler ifade edilmektedir?

A.1. Nasıl üretilir? Nasıl çalışır?

Microarray'lerin üretiminde çeşitli yöntemler kullanılabilir: Cam lamalar üzerine ince uçlu iğnelerle baskı, önceden hazırlanmış maskelerle fotolitografi¹, dinamik mikroyana cihazlarıyla fotolitografi, ink-jet baskı, mikroelektrod array'lerinde elektrokimya gibi...

Microarray'ler çeşitli firmalarca ticari amaçla üretilmektedir. Bununla birlikte, birçok üniversite laboratuvarı kendi çipini kendi hazırlamaktadır. Microarray'in nasıl üretileceği ile ilgili teknik ayrıntılara çeşitli internet sitelerinden ulaşmak mümkündür. Bu sitelerden biri de Stanford Üniversitesi'nin Moleküler ve Genetik Tıp Merkezi'ninkidir (<http://cmgm.stanford.edu/pbrown/mguide/>).

Gen array'i deneyleri tipik olarak farklı doku ya da koşullardaki ya da bir uygulamadan sonraki (yani farklı zamanlardaki) gen ekspresyon düzeyini tayin etme amacıyla yapılır. Bu amaçla öncelikle çalışılan konuya göre farklı dokular, koşullar ya da zamanlar

¹ Fotolitografi ya da optik litografi olarak bilinen teknik bir kalıbın bir fotomaskeden bir substratın yüzeyine transferi için yarıiletken cihaz (çip) üretiminde kullanılır. Substrat olarak sıklıkla wafer (üzerinde çok kısmı elektronik devre bulunan silikon parçası) formundaki kristal silikon tercih edilmekle birlikte pek çok başka seçenek de bulunmaktadır. Özetle, bilgisayar çipi üretimine benzer bir yöntemdir.

baz alınarak RNA ekstarksiyonu yapılır. Bu RNA örnekleri seyreltilerek herbir örneğin eşit yoğunlukta olması sağlanır.

Kural olarak, asıl RNA popülasyonundaki her mRNA molekülü için bu moleküle komplementer olan tek iplikli işaretlenmiş bir cDNA üretilir. Belli bir mRNA'nın yoğunluğu arttıkça cDNA miktarı da artar.

Problar, genellikle, işaretli nükleotidlerin varlığında mRNA'nın tek iplikli cDNA'ya reverse transkripsiyonu ile üretilir. Bu nedenle, işaretli prob, aslında mRNA popülasyonunu temsil eden bir cDNA molekülleri popülasyonudur. Tek iplikli bir prob oluşturmak için RNA, mRNA'daki polyA ucu ile baz çifti kurabilen oligo dT primerleri, Reverse Transkriptaz (RNA'ya bağımlı DNA polimeraz) ve işaretlenmiş nükleotidler içeren bir reaksiyon karışımına konur. Genellikle işaretlenmiş nükleotidler ya Cy3 ve Cy5 gibi florasan işaretlerle ya da kimyasal luminesent saptama ile saptanabilen digoksjenin (DIG) ile etiketlenmiştir.

Problar iki boyutlu bir array'de spotlanmış cDNA'ları içeren filtrelerle hibridize edilir. Ele alınan bir klondaki hibridizasyon miktarı, ilgili gen için bulunan mRNA miktarına karşılık gelir.

Gen array'i deneyleri bazen "**reverse Northern**" olarak da adlandırılır. Northern blot'ta, RNA bir filtre üzerine bir prob yardımıyla blot edilir ve burada amaç belli bir mRNA türünü ayrı bir bant ya da spot olarak tespit etmektir. Gen array hibridizasyonunda ise cDNA'lar bir filtre ya da lam üzerine spotlanır ve bir mRNA popülasyonundan elde edilen bir prob yardımıyla hibridize edilir.

cDNA'lar genellikle bir EST çalışması ile elde edilir. Hata oranını en aza indirmek için bakteri kültürlerini genlerin array üzerinde tasarlanan konumlarına karşılık gelen bir array formatında saklamak gerekmektedir. Kültürler -80°C'de gliserol hücre stokları halinde depolanabilir. Bütün klonlar genellikle tek bir kütüphaneden ya da aynı klonlama vektörünü kullanan farklı kütüphanelerden geldiği için genellikle herhangi bir insert'i, vektördeki çoklu klonlama bölgesine özgü primerler kullanarak PCR'da amplifiye etmek mümkündür. Tipik olarak az sayıdaki bakteri hücresi PCR reaksiyon bileşenleri içeren microtiter kaplarına aktarılır ve insert'ler doğrudan bakteri hücreleri üzerinde PCR ile amplifiye edilir. Sonuç sadece insert'ten ve vektörün küçük bir bölgesinden ibaret olan bir PCR ürünüdür. Bundan sonra DNA'lar doğrudan naylon filtre ya da cam-

dan yapılmış microarray lamları üzerine spotlanabilir.

Array'lerde 390.000 spot bulunabilmektedir. Her geçen gün çalışılan konulara özgü array formatları dizayn edilmektedir.

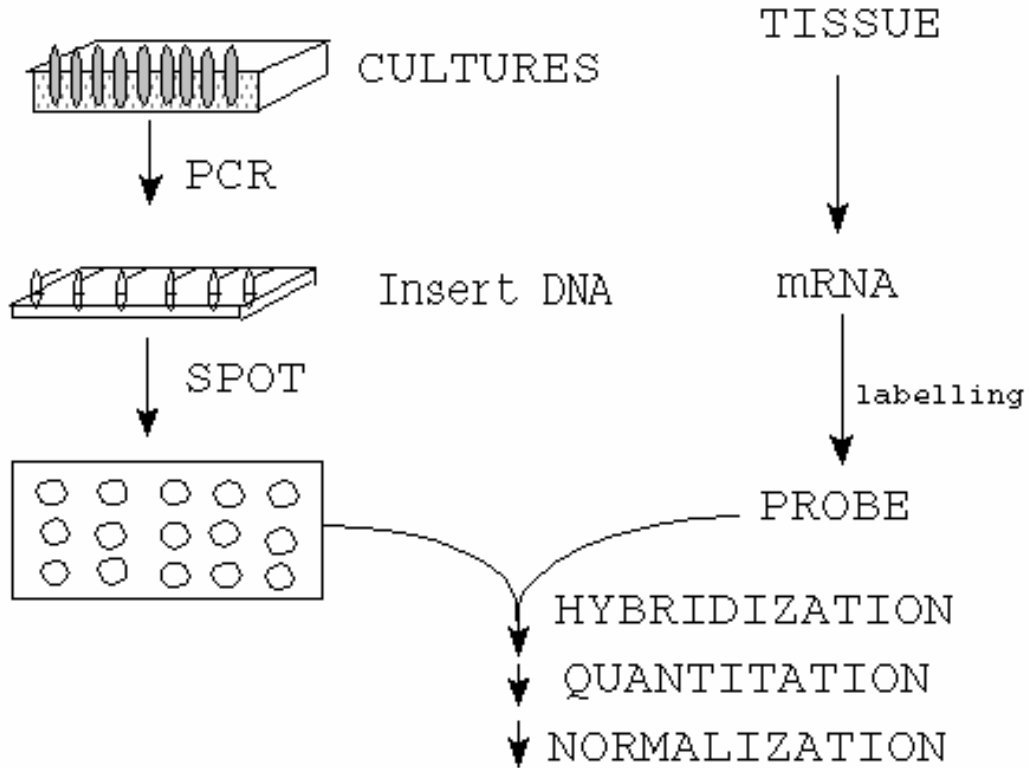
Herbir probun işaret ile inkorporasyonu ölçülür ve hepsinin yoğunluğunu eşitlemek için seyreltilirler. Genellikle, denenecek her bir prob için birer kopya filtre ya da microarray hazırlanır. Problar her array ile ayrı ayrı hibridize edilir.

Filtre array'ler prob ile inkübe edilir ve Southern ya da Northern blotting'teki gibi yıkanır. Cam microarray'ler için hibridizas-

yon bir coverslip altında yapılır ve lamlar yıkama solüsyonuna batırılarak yıkanır. Ticari array'ler hibridizasyon, yıkama ve tespitin yapılmış olduğu kasetler içe-risinde satılır.

Hibridize edilmiş prob DIG işaretleme için kimyasal limünisens, microarray'ler için de doğrudan UV floresans ile tespit edilir. Her spotun sıra yoğunluğu bir CCD kamera ile ölçülür ve veri bir TIF görüntüsü olarak elde edilir.

Aşağıda, kabaca, tipik bir array deneyi gösterilmektedir:



Şekil 2. Tipik bir array deneyi. Bu basamakların herbirinin deneysel varyasyona katkıda bulunduğu unutulmamalıdır.

A.1.1. Spotlu Microarray'ler

Spotlu (ya da iki kanallı) microarray'lerde probolar oligonükleotid, cDNA veya mRNA'lara tekabül eden PCR ürünlerinin küçük fragmentleri olabilir. Bu tarz array'ler tipik olarak iki farklı florfor ile işaretlenmiş, karşılaştırılacak iki örnekten (örneğin hasta ve kontrol) gelen cDNA ile hibridize edilmiştir. Örnekler karıştırılıp tek bir microarray'e hibridize edilebilir; bu daha sonra scan edilir ve de böylece up-regulated genlerle down-regulated genler bir seferde görülebilir (bkz. Şekil 3 ve 4). Bunun bir olumsuz tarafı gen ekspresyonunun düzeyinin kesin olarak gözlenememesidir; ama bu yöntemle deneyin maliyeti yarı yarıya azalır.

Örnek olarak Stanford'daki Patrick Brown Laboratuvarı'nda yapılan bir çalışmayı verelim (Lashkari *et al*, 1997). Bu çalışmada cDNA problemleri galaktozlu ve glikozlu ortamlarda yetiştirilen maya hücrelerinden elde edilmişti. İki probtan gelen sinyalleri birbirinden ayırmak için farklı floresans özelliklerindeki etiketlerle (Cy3 ve Cy5) işaretlenmiştir (Cy3 565 ve 615 nm'de maksimum emisyon gösterirken, Cy5 670 nm'de emisyon tepesi yapar). Boyalar değiştirilerek tekrar deneyleri yapılmıştır. Array'ler biri Cy3 ve diğeri Cy5 için olmak üzere iki kere scan edilmiş;

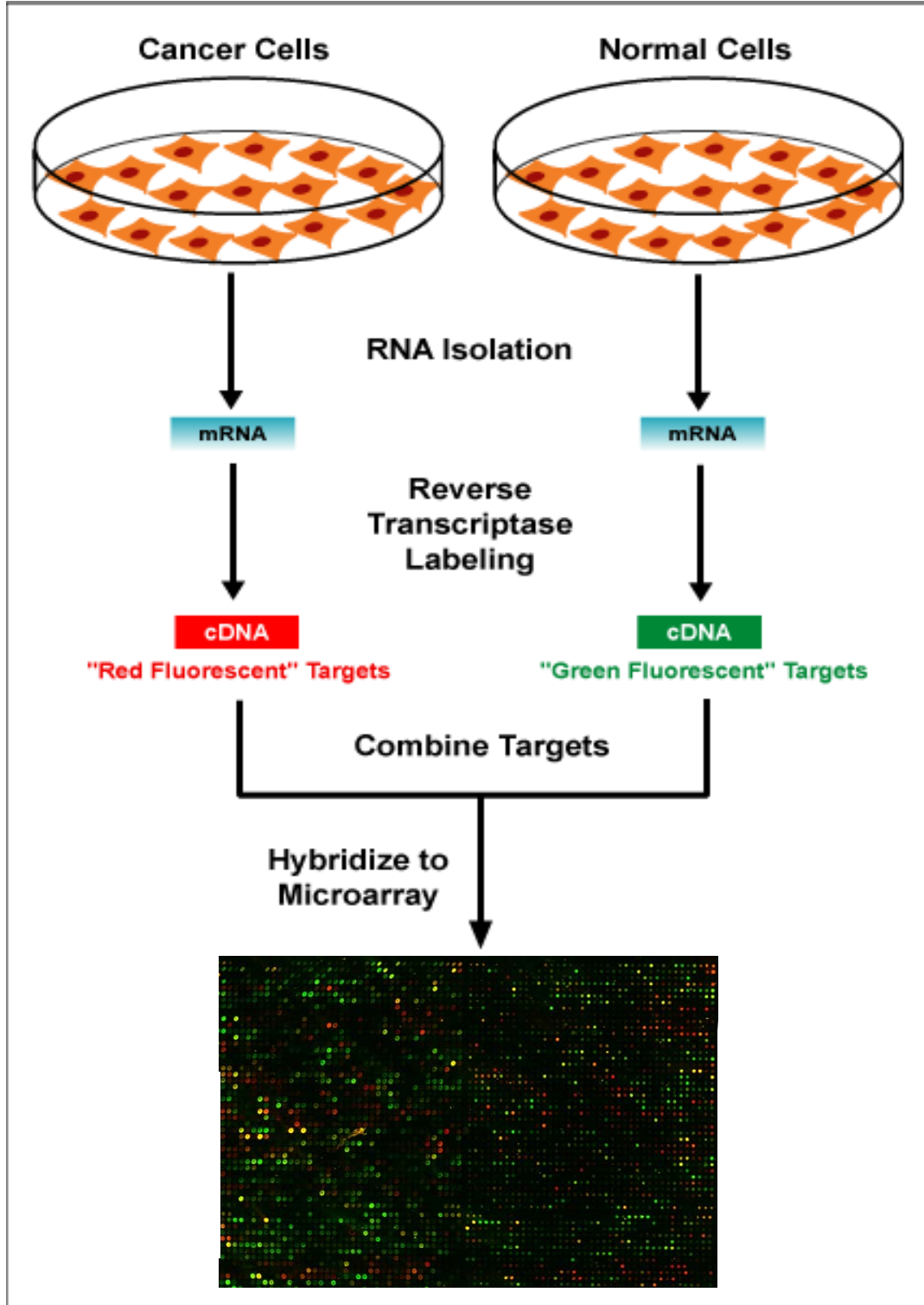
böylece iki boyanın oranının ve dolayısıyla iki farklı yetiştirme koşulundaki transkript oranının saptanabileceği iki parçadan oluşan bir görüntü elde edilmiştir. Pseudocolor görüntülerinde, array'de galaktoz varlığında daha güçlü bir şekilde eksprese olan genleri temsil eden spotlar yeşil, glikoz varlığında daha güçlü bir şekilde eksprese olan genleri temsil eden spotlar ise kırmızı renkte gösterilmiştir (bkz. Şekil 4).

A.1.2. Oligonükleotid Microarray'leri

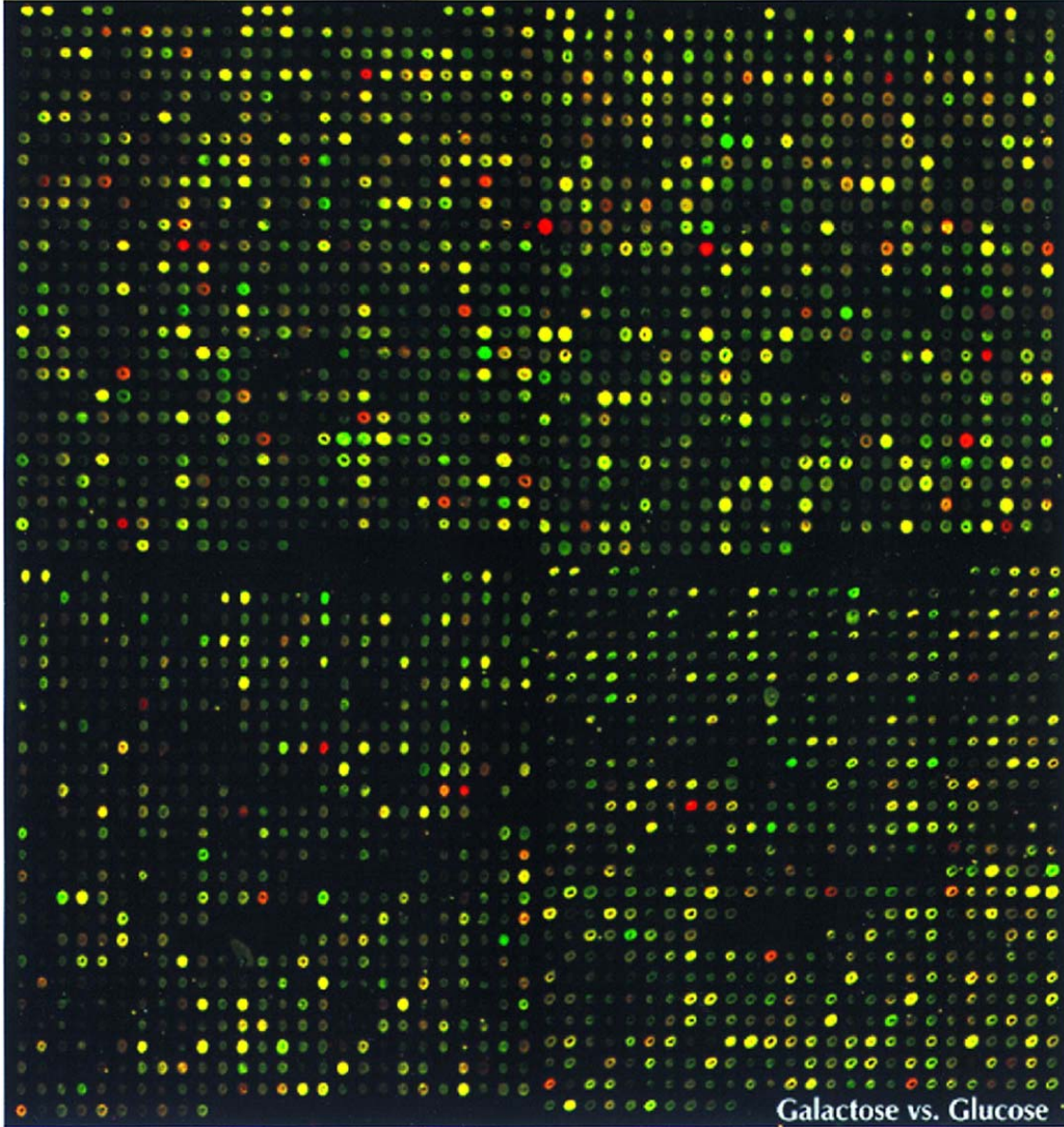
Oligonükleotid (ya da tek kanallı) microarray'lerinde probolar sekansı bilinen ya da tahmin edilen mRNA'lara uygun olacak şekilde dizayn edilir. Bu tip dizaynların bazılarının ticari olarak erişmek mümkündür (GE Healthcare, Affymetrix veya Agilent gibi firmalar aracılığı ile) (bkz. Şekil 5). Bu microarray'ler gen ekspresyonunun kesin değeri ile ilgili tahminler verir; o nedenle, iki durumun karşılaştırılmasında iki ayrı microarray kullanmak gerekir.

Oligonükleotid microarray'leri piezoelektrik depozisyon aracılığı ile üretilebileceği gibi in-situ sentez aracılığı ile de üretilebilir.

Array'deki her bir geni temsil etmek üzere genellikle 25-70 nt uzunluğundaki oligonükleotidler kullanılır. Daha küçük boyutlar-



Şekil 3. Tipik bir iki renkli microarray deneyi.



Şekil 4. 2.479 eleman (ORF-Open Reading Frame) içeren maya microarray'inin iki renkli floresan scan'i. Galaktoz (yeşil pseudocolor) ve glikozda (kırmızı pseudocolor) yetişmiş mayalardan elde edilen cDNA'ları içeren bir prob karışımı array'de hibridize edilmiştir. Eleman başına yoğunluk ORF ekspresyonunu ve eleman başına pseudocolor iki kültür arasındaki görece ORF ekspresyonuna karşılık gelmektedir (Lashkari *et al*, 1997).



Şekil 5. Affymetrix firmasına ait iki çip.

da prob bağlanma etkinliği daha düşük olmaktadır. Bununla birlikte, küçük oligonükleotidlerin özgülüğü daha yüksektir. 70 nt'den daha büyük olanlarda ise sinyalde çok küçük bir artış olmaktadır. Oligonükleotidler her seferinde yeniden sentezlendiği için c-DNA'larda olduğu gibi başka sekanslardan kontaminasyon söz konusu değildir.

Uzun Oligonükleotid Array'leri 60 parçadan oluşur ve silika substrat üzerine ink-jet baskı ile üretilir. **Kısa Oligonükleotid Array'leri** ise 25 veya 30 parçadan oluşur ve silika substrat üzerine fotolitografik sentez ile (Affymetrix'in yaptığı gibi) ya da akrilamid matris üzerine piezoelektrik depozisyon (GE Healthcare'in yaptığı gibi) ile üretilir. Son zamanlarda NimbleGen Systems tarafından geliştirilen Maskesiz Array Sentezi, esnekliği ve çok sayıda prob kullanımını biraraya getirmiştir.

A.1.3. Genotip Microarray'leri

DNA microarray'leri aynı zamanda belli bir pozisyondaki bir genom sekansını okumada da kullanılabilir.

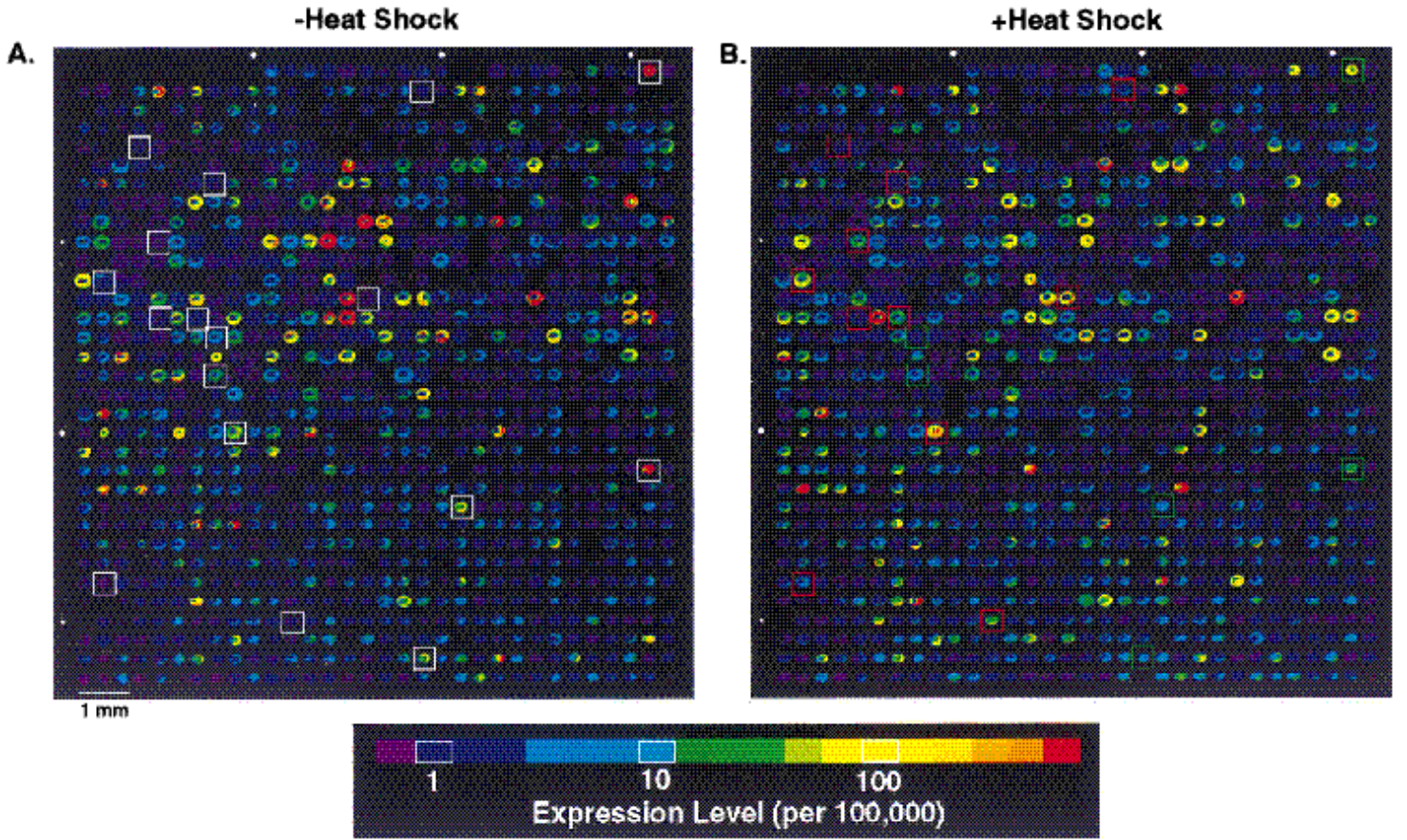
SNP microarray'ler bireylerde ve popülasyonlarda genetik varyasyonu belirlemek için kullanılan özel bir çeşit DNA microarray tipidir. Genetik varyasyondan ve genetik hastalıklara duyarlılıktan sorumlu olduğu

düşünülen tek nükleotid polimorfizmini (single nucleotid polymorphisms - SNPs) belirlemede kısa nükleotid array'leri kullanılabilir. Genel olarak genotip belirleme olarak adlandırılan bu tip DNA microarray uygulamaları adli tıp çalışmalarında, hastalıklara genetik yatkınlığın hızlı bir şekilde bulunması ya da ölçülmesi çalışmalarında ya da DNA temelli ilaç adaylarının tanımlanmasında kullanılabilir.

Bu tip SNP microarray'leri ayrıca kansere neden olan somatik mutasyonların, özellikle de heterozigosite kaybı ve DNA bölgelerinin amplifikasyon ve delesyonlarının profilinin belirlenmesinde de kullanılmaktadır. Amplifikasyon ve delesyonlar microarray'lerle birlikte karşılaştırmalı genomik hibridizasyonun kullanılmasıyla da saptanabilir.

Yeniden sekanslama array'i bireylerdeki genom kısımlarının sekansını çıkarmak için geliştirilmiş bir başka array yöntemidir. Bu array tekniği bireylerdeki germline mutasyonlarını veya kanserdeki somatik mutasyonları belirlemede kullanılabilir.

Üst üste binen oligonükleotidlerden oluşan genom tiling array'leri ilgilenilen bütün bir genom bölgesini kaplamak amacı ile tasarlanmıştır.



Şekil 6. İnsan genlerinde ekspresyon ölçümü. 37°C'de (- ısı şoku) ve 43°C'de (+ ısı şoku) yetiştirilen hücrelerden alınan RNA populasyonlarında gen ekspresyonuna bakılmıştır. Beyaz kutular ısı şoku ile ekspresyonları değişmiş genleri, kırmızı kutular ise ısı şoku ile aktive olmuş genleri göstermektedir (Schena *et al.*, 1996). Bu çalışma tek işaretli bir gen array'i örneğidir. En basit gen array'i tipidir. Kopya array'ler tek işaret kullanılarak hazırlanmış problemlerle hibridize edilir. Uygulamalar arasında karşılaştırma yapabilmek için kontrollerin hibridizasyon standardı olarak davranacak şekilde prob ve array'lerde bulunması gerekir.

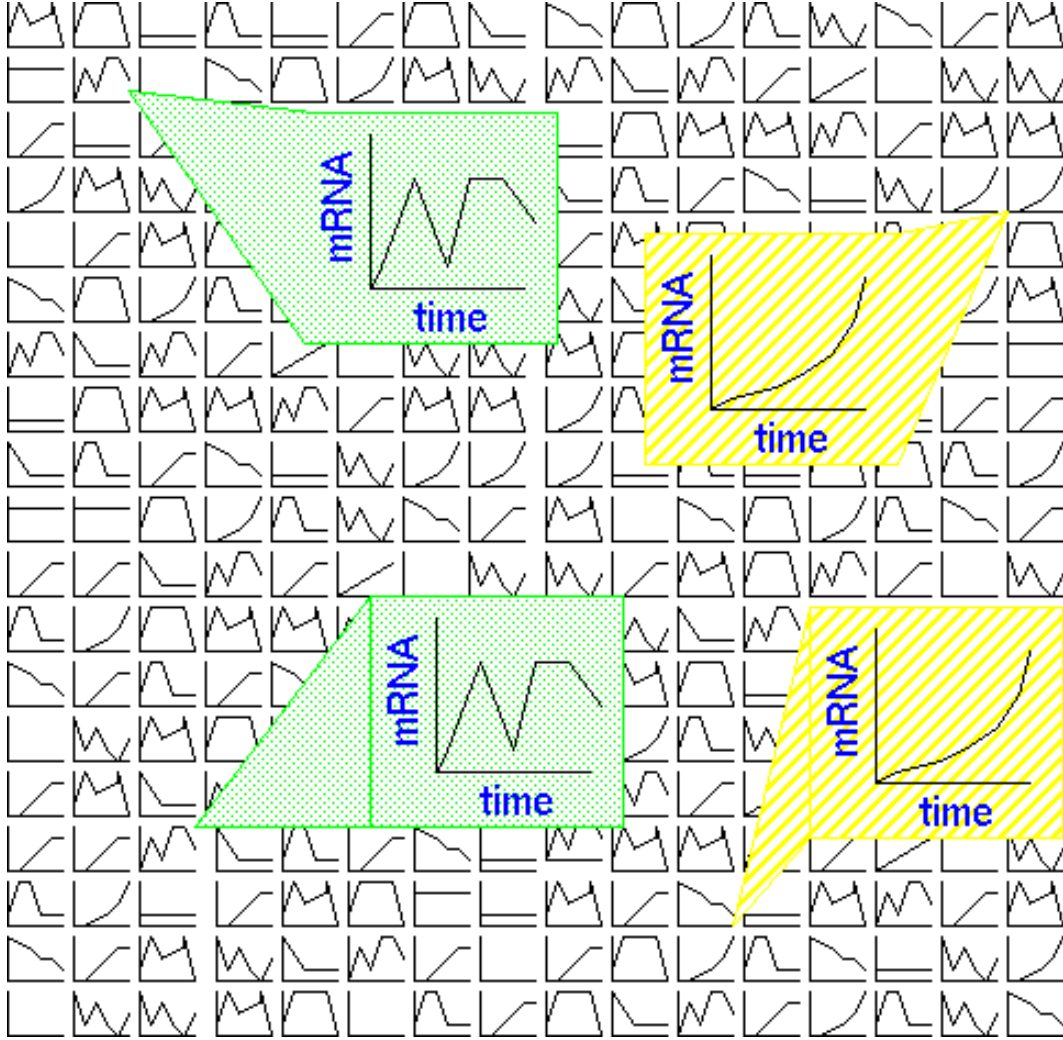
A.2. Ne öğrenmeye çalışılır?

Gen array'i deneylerindeki temel amaç daha önce de belirtildiği gibi array'deki her gen için bazı koşullar altında ekspresyon bil-

gisi elde etmektir. Ekspresyon şu koşullarda çalışılabilir:

- Farklı dokular
- Farklı gelişim basamakları
- Farklı genotipler

- Farklı uygulamalar
 - Bir uygulama sonrası farklı zamanlar
- Gen array'i deneylerinde elde edilen sonuçlar aşağıdaki şekildeki gibi gösterilebilir.



Şekil 7. Yukarıdaki örnekte bir array'de her gen için zamana bağlı veri gösterilmiştir. Ham veri uygulama tiplerinin karşılaştırıldığı farklı zamanlar için bir dizi ekspresyon eğrisi ya da histogram içermektedir. Genellikle buradaki amaç hangi gen grubunun en benzer ekspresyon kalıbına sahip olduğunu bulmaktır. Bu örnekte, array'deki iki gen (çizgili fondaki eğrilere bakınız) zaman içerisinde dereceli bir indüksiyon, diğer iki gen ise (noktalı fondaki eğrilere bakınız) iki fazlı bir cevap, başka bir ifade ile iki kez güçlü ekspresyon göstermiştir.

B. Microarray Teknolojisinin Evrimsel ve Ekolojik Çalışmalarda Kullanımı

20. yüzyılda biyolojinin alt disiplinleri farklı hacim ve organizasyon düzeylerine ulaşıldı. Bu durum pek çok açıdan değerlendirildiğinde olumlu olarak görünse de kimi zaman organizmaların nasıl işlediğini, birbirleriyle ve çevreleriyle nasıl etkileştiklerini anlamamızı zorlaştırdı. Örneğin organizmaları moleküler düzeyde tam olarak anlayabilmek için genotip, fenotip ve çevrenin ne şekilde etkileştiği hakkında fikir sahibi olmak gerekmektedir. Bununla birlikte moleküler yöntemler ekolojik olarak ilgili özellikleri etkileyen genleri tahmin ve hatta bazen tespit edebilmektedir. Bu da ekolojik soruları daha iyi anlayıp, daha doğru cevaplayabilmek için yeni ve yaratıcı yollar sağlamaktadır.

Geleneksel olarak ekolojinin araştırma alanına giren konular bütün-organizma fizyolojisi, tür etkileşimleri, komünite organizasyonu ve ekosistemlerin çalışmasıdır. Her ne kadar ekolojideki kavramsal gelişmeler ve teknolojik ilerlemeler el ele gelse de, genetik ve hücresel yöntemlerin ekolojide yaygın kullanılması süreci ağır işlemiştir. Her ne kadar ekolojik genetik organizmaların zaman ve mekanda dağılım ve etkileşimlerini

anlayabilmemiz için son derece önemli de olsa durum böyledir. Ekolojik süreçler için belirleyici olan moleküler mekanizmaları açıklama işine olan ilgi de fizyoloji ekologları arasında artmaktadır.

Skalanın diğer ucunda, hücre bölünmesi, fotosentez ve gelişim sürecine etki eden gen ekspresyonu değişikliklerini anlama konusunda önemli gelişmeler kaydeden moleküler biyologlar yer almaktadır. Buna rağmen, genomun yüksek işlem hacmi ile hayvan, mikrop ve çiçekli bitkilerde bulunan binlerce gen hâlâ bir sırdır. Ayrıca, karmaşık ve etkileşim halindeki sistemlerdeki ekolojik süreçleri anlamada gen işlevini araştırmak tek başına yeterli olmamaktadır. Hangi ekolojik sürecin hangi anahtar genlerce kontrol edildiği konusu açıklama bekleyen, önemli bir konudur; çünkü mevcut genlerin ekspresyon kalıpları ve işlevleri doğaya bir cevap olarak evrilmiştir ve bunların ekolojik bağlamda çalışılması organizmal gelişme ve performansın anlaşılmasında gerekli olan bir bakış açısı sağlamaktadır.

Moleküler biyolojide kullanılan teknikler her geçen gün ekolojik ve evrimsel çalışmaları

larda da artarak kullanılmaktadır. Bu tekniklerden biri de microarray'lerdir.

Microarray'ler sayesinde binlerce gen ekspresyon derecelerini ortaya koymak amacıyla aynı zamanda çalışlabilmektedir. Bu nedenle, microarray'ler entegre bir bakış açısı sağlamış ve çalışmalarındaki moleküller süreçleri araştırmak isteyen ekologların ilgisini çekmiştir. Örneğin bu yeni teknik ile azot seviyesi, su erişilebilirliği ve herbivorluk gibi çoklu faktörlere cevap veren bir bitkinin gen ekspresyonundaki değişim aynı microarray üzerinde aynı anda değerlendirilebilmektedir. Ayrıca, farklı çevrelerdeki gen ekspresyon kalıbı bilgisi işlevi bilinmeyen pek çok genin işlevinin açıklığa kavuşturulmasında da yardımcı olacaktır.

Örneklerle microarray'lerin ekolojik sorulara yanıt aramada nasıl kullanıldığını görelim.

Hihara *et al.* (2001) bir tüm genom microarray'i kullanarak bir siyanobakteri cinsi olan *Synechocystis* spp.'de düşük ışık koşulundan yüksek ışık koşuluna aktarılmanın gen ekspresyonu üzerindeki etkilerini inlemişlerdir. Bu çalışmada, daha önce yüksek ışık uyumu ile ilgisi olduğu gösterilen genlere ek olarak pek çok yeni gen de tanımlanmıştır.



Şekil 8. *Synechocystis* kültürü.

Diğer bir çalışmada *Arabidopsis*'te yaranma ve herbivor böcek etkisi arasındaki fark transkript profili ile ortaya konmuş, lahanana kelebeği larvalarının beslenmesinin bitkilerde özgül olmayan stres cevabı oluşturmadığı ve hatta muhtemelen, bu cevabın oluşumunu baskıladığı gösterilmiştir (Reymond *et al.*, 2000).



Şekil 9. *Arabidopsis*.

Umut vaat edici gözükse de microarray'lerin ekololik ve evrimsel çalışmalarda kullanımının bir sınırı vardır. Bugüne kadar, insan, *Arabidopsis* ve maya gibi az sayıdaki model tür için uygulanmış, karmaşık ekosistem çalışmalarındaki kullanımı sınırlı olmuştur. Bununla birlikte, türler arası microarray denemeleri her tür için bir tane array hazırlamanın çok da gerekli olmadığını göstermektedir. *Arabidopsis* microarray'leri *Arabidopsis* ve *Brassica napus* tohumlarındaki ekspresyon profili için iyi uyumaktadır (Girke *et al.*, 2000). Yalnız burada bir noktaya dikkat etmek gerekir. Microarray'lerin türlerarası deneylerde kullanımı model organizmada bulunmayan yeni genlerin saptanamamasına neden olur.

Microarray'lerin kullanımıyla ilgili genel bir kısıtlama da pek çok düzenleyici genin (protein sentezi, enzim aktivasyonu ve metabolit bertarafı gibi olaylardan sorumlu genlerin) mRNA yığılması düzeyinde bulunmaması ve dolayısıyla da bu teknoloji ile saptanamamasıdır. Ayrıca microarray çalışmalarının maliyeti de yüksektir ve ekolojik problemin çözümünden elde edilecek kârın bu maliyeti karşılaması gerekmektedir (Jackson *et al.*, 2002).

Kaynaklar:

- http://www.umanitoba.ca/faculties/afs/plant_science/COURSES/bioinformatics/lec12/lec12.1.html
- http://en.wikipedia.org/wiki/DNA_microarray#Fabrication
- <http://www.microarrays.ca/support/tut.html>
- <http://www.pnas.org/cgi/content/full/94/24/13057/F1>
- Hihera, Y. *et al.*, 2001, DNA microarray analysis of cyanobacterial gene expression during acclimation to high light, *Plant Cell*, 13: 793-806.
- Jackson, R.B. *et al.*, 2002, Linking molecular insight and ecological research, *Trends in Ecology and Evolution*, 17(9): 409-414.
- Lashkari *et al.*, 1997, Yeast microarrays for genome wide parallel genetic and gene expression analysis, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 94: 13057-13062.
- Girke, T. *et al.*, 2000, Microarray analysis of developing *Arabidopsis* seeds, *Plant Physiol.*, 124: 1570–1581.
- Reymond, P. *et al.*, 2000, Differential gene expression in response to mechanical wounding and insect feeding in *Arabidopsis*, *Plant Cell*, 12: 707–719.
- Schena *et al.*, 1996, Paralell human genome analysis_Microarray-based expression monitoring of 1000 genes, *Biochemistry*, 93(20): 10614-10619.