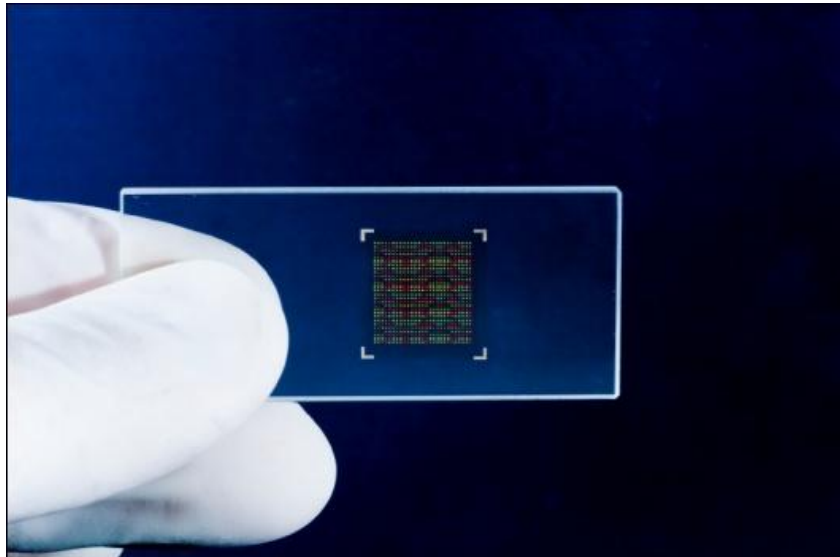


DNA-Microarrays



Autoren:

Thomas Denz, Raphael Meier, Markus Rempfler

LST VZ 08

Muttenz, 4. Juni 2010

Modul:

Mikrosystemtechnik MIS 2010

Dozent:

Dr. Marc Dusseiller

Inhaltsverzeichnis

Einleitung.....	3
Definition.....	3
Funktion und Unterscheidung.....	3
Herstellung	4
Spotting	4
„In situ“ - Synthese	5
Anwendungen	6
Ausblick	9
Zusammenfassung.....	10
Abbildungen	11
Quellen	12

Einleitung

DNA-Microarrays entsprangen durch den allgegenwärtigen anhaltenden Trend der technologischen Miniaturisierung. Die Technologie der Biochips entstanden in den 1990er Jahren. Wie bereits aus anderen industriellen Beispielen bekannt, sind auch die Microarrays ihrer entsprechenden Vorgängertechnologie aufgrund der hohen Automatisierbarkeit in allen Belangen der wirtschaftlichen Anwendung klar überlegen, weiter lassen sich mit dieser Technologie enorme Mengen an Informationen mit geringen Probenmengen erzeugen. Deshalb setzten DNA-Microarrays sich innerhalb kürzester Zeit in den Bereichen Pharmazie, Medizin, Biochemie, Genetik und Mikrobiologie durch. Die Bedeutung, die dieser jungen Technologie heute bereits zukommt und das noch vorhandene Potetial erfordert eine besondere Betrachtung.

In dieser Fallstudie wird als erstes ein allgemeiner Überblick gegeben, dabei die Begrifflichkeiten unterschieden und die Grundfunktionen aufgezeigt. Weiterführend wird auf die gängigen Herstellungsverfahren und schliesslich auf Anwendungsgebiete eingegangen. Abrundend erfolgt ein Ausblick über die zukünftige Bedeutung von DNA-Microarrays.

Definition

Als Microarray wird ein Trägermaterial bezeichnet, auf dem sich durch gezielte Anordnung eine große Zahl biologischer oder biochemischer Nachweise auf engstem Raum durchführen lassen. Es ist ein Sammelbegriff für eine Vielzahl unterschiedlichster Testmethoden und technischer Verfahren. Häufig werden die Arrays nach den Substanzen unterteilt, die darauf untersucht werden. So lassen sich auf einem DNA-Microarray die Fragmente von DNA und RNA nachgewiesen. [1]

Zur Herstellung der DNA-Microarrays werden Verfahren aus der Mikrosystemtechnik genutzt, um bekannte Gene auf einem fingernagelgroßen Plastik- oder Glasplättchen zu identifizieren und deren Aktivität zu messen, dies führte zu der synonymen Begriffsführung Gen-.bzw. DNA- oder auch Bio-Chip.

Funktion und Unterscheidung

DNA-Microarrays finden zunehmend Anwendung in der Genotypisierung (Genomanalyse, der Diagnostik) und bei Untersuchungen in der differentiellen Genexpression. DNA-Microarrays dienen dazu, die mRNA-Menge bestimmter Gene oder rRNA bestimmter Organismen nachzuweisen. [3]

Es gibt hauptsächlich zwei verschiedene Arten von DNA-Microarrays, einerseits solche, bei denen cDNA, Oligonukleotide oder Fragmente von PCR-Produkten die der mRNA entsprechen auf das Trägermaterial gedruckt werden ("Spotted Microarrays") und solche, die auf synthetisch hergestellten Oligonukleotiden beruhen ("InSitu synthetisierte Microarrays"). Letztere werden in der Literatur häufig auch als „Oligonucleotide Microarrays“ bezeichnet, obwohl auch „Spotted Arrays“ mit Oligonukleotiden bestückt werden können. Diese Sequenzen dienen als Sonden, die an definierte Positionen eines Rasters auf den Träger aufgebracht werden. Unabhängig von der Art der verwendeten Arrays wird RNA zunächst aus dem zu untersuchenden Objekt extrahiert und diese nach eventuellen Aufreinigungs- und/oder Vermehrungsschritten in cDNA oder cRNA umgeschrieben und beispielsweise mit Fluoreszenzfarbstoffen markiert. Bei der Hybridisierung binden markierte einzelsträngige DNA/cDNA/cRNA Stücke an ihren komplementären

Gegenpart auf dem Array. Nach Abwaschen der nicht gebundenen DNA/cDNA/cRNA Stücke wird das Fluoreszenzsignal jeder Position über Intensität und Wellenlänge der entstehenden Mischfarbe mittels einer hochauflösenden Laserkamera detektiert und liefert Informationen über Unterschiede in der Expression der Gene zwischen den beiden Proben. Diese reine Intensität wird üblicherweise noch normalisiert um Abbaueffekten, verschieden guten Extraktionen und anderen Effekten Rechnung zu tragen. [2,3]

Herstellung

Grundsätzlich wird bei Fabrikationsprozessen von DNA-Microarrays unterschieden, ob bereits komplette DNA-Sequenzen („presynthesized DNA-Sequences“) angebracht oder ob „in situ“, also direkt auf dem zugrunde liegenden Wafer, die gewünschten Nucleotidsequenzen synthetisiert werden[4].

In beiden Fällen kommt in der Regel als Substrat (Trägermatrix) für den Array ein Quarzwafer zum Einsatz. Diese zeigen von Natur aus bereits eine hohe Hydroxylierung an der Oberfläche, welche zur Immobilisation der Nucleotide genutzt werden[5]. Dabei haben sich diverse Verfahren entwickelt, welche von mechanischem Microspotting bis hin zu photolithographisch-„gesteuerten“ Syntheseprozessen gehen. Im folgenden Abschnitt wird ein Überblick über diese Fertigungsprozesse vermittelt.

Da die verschiedenen Unternehmen je nach Anwendung individuell optimierte Prozesse einsetzen, wird nicht auf Details eingegangen. Für detailliertere Informationen konsultiere man die aufgeführte

Literatur.

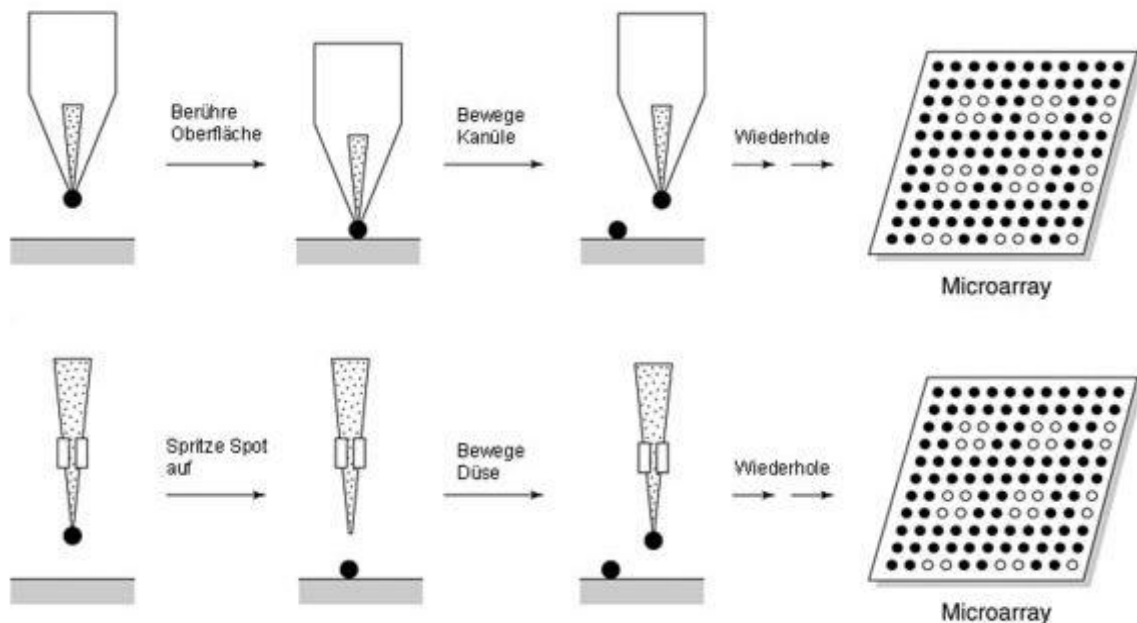


Abbildung 1, (oben) Mechanisches Microarrayspotting; (unten) Inkjetting; Beschreibung siehe Abschnitt „Spotting“ [6, modifiziert]

Spotting

Verfahren, welche präparierte DNA-Sequenzen anbringen, basieren hauptsächlich auf mechanischem Microspotting- oder einem Inkjetting-Verfahren. Zur Übersicht sind die beiden Vorgehensweisen in Abbildung 1 dargestellt. Beim mechanischen Microspotting (engl. pen tip) wird mit einem Spottingroboter, welcher die Lösung mit den gewünschten Sequenzen direkt auf dem Träger anbringt,

04.06.2010

gearbeitet. Eine verbreitete Variante setzt auf eine Art Füllfeder, welche die gelösten Sequenzen via Kapillarkraft aufträgt. Vorteil des Microspotting, auch Kontaktdruck genannt, ist die hohe Flexibilität und die Möglichkeit, kostengünstig kleine Mengen von Microarrays herzustellen, weshalb es oftmals auch in Labors zum Einsatz kommt [6]. Allerdings entstehen durch das mechanische Auftragen der Lösung auch Probleme, wie uneinheitliche Featuregrößen und -formen sowie Variationen in der platzierten Menge[4]. Diese Probleme können durch den Einsatz des Inkjetverfahrens grösstenteils behoben werden. Wie aus Abbildung 1 ersichtlich, basiert es prinzipiell auf dem gleichen Vorgang wie das mechanische Microspotting, die DNA-Sequenzen werden jedoch per Tintenstrahltechnologie, analog zu herkömmlichen Druckern, aufgetragen, so dass kein physikalischer Kontakt zwischen Träger und Druckkopf auftritt. Die Inkjet-Technologie wird deshalb auch als kontaktloses Spotting bezeichnet. Der Einsatz des Inkjetting resultiert in signifikant erhöhter Qualität des Microarrays sowie einer vielfachen Featuredichte gegenüber dem mechanischen Microspotting, wobei die Flexibilität im Arraydesign erhalten bleibt [4].

„In situ“ - Synthese

Bei der „in situ“ Synthese werden die gewünschten Sequenzen von Nucleotiden direkt auf dem Träger hergestellt. Eine zunehmende Länge der Sequenz bedeutet daher aufwändigere Herstellung, weshalb viele Firmen hier lediglich Oligonucleotide anbringen. Affymetrix setzt beispielsweise bei ihrem „GeneChip“ lediglich Nucleotidsequenzen von 25 Basen ein. Da jedoch ORF's (Open Reading Frames) als Oligonucleotide verwendet werden können, ergeben sich trotzdem mannigfaltige Möglichkeiten[5]. Desweiteren gilt der Vorteil, dass die verlangten Sequenzen quasi direkt aus einer Datenbank geladen werden können und nicht aus einer Zelle o.ä. extrahiert und per PCR vervielfältigt werden müssen.

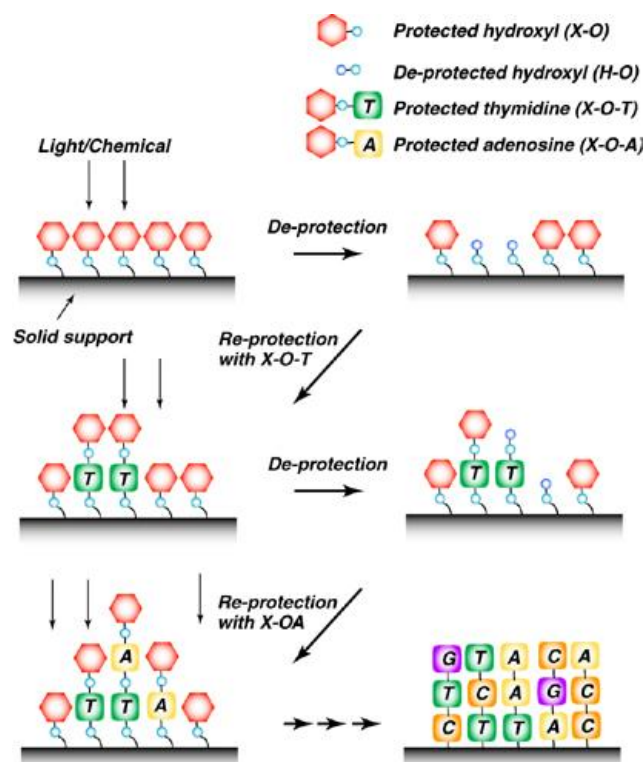


Abbildung 2, Prozess der "in situ"-Synthese [4]

Die „in situ“-Synthese kann ihrerseits in einigen Varianten durchgeführt werden, welche sich in der Regel jedoch nur in der Art unterscheiden, welche Schutzgruppen verwendet werden und wie sie diese Schutzgruppen (in Abbildung 2[4] rot bzw. als X dargestellt) selektiv entfernen.

Das Verfahren, wie ihn die Firma Affymetrix bei ihrem „GeneChip“ einsetzt, bedient sich photolabilen Schutzgruppen (Silane), welche anschliessend durch Photolithographie mit hoher Präzision entfernt werden. Gefolgt wird dieser Schritt von der Deposition des gewünschten Nucleotids, welches an den freien Hydroxylgruppen bindet. Dabei spielt es natürlich keine Rolle, ob es sich, wie anfangs, um eine Hydroxylgruppe des Substrates handelt oder ein offenes 5' – Ende eines immobilisierten Nucleotids. Diese drei Schritte werden nun so lange wiederholt, bis die Sequenzen die erforderliche Länge besitzen[5,6]. Da an jeder Stelle der Sequenz vier mögliche Nucleotide sein können (Adenin, Thymin, Guanin, Cytosin), ergibt dies bei 25 Nucleotiden 25x4 Photolithographiemasken. Durch kluges Design des Arrays, optimierbar durch entsprechende Algorithmen, kann die Zahl verschiedener Masken deutlich reduziert und die Herstellung dadurch vergünstigt werden[5]. Aufgrund der hohen Produktionskosten der hochauflösenden Photolithographiemasken wird für kleine Stückzahlen deshalb eher zu einem maskenlosem-Prozess, wie das Inkjetting, geraten[4].

Alternativ zu dem Maskierungsprozess ist beispielsweise der Einsatz von Micromirrors zur Fokussierung des UV-Lichts, wobei wieder photolabile Schutzgruppen benutzt werden. Ebenfalls kann man sich der lokale Anwendung selektiver Chemikalien zur Deprotektion bedienen[4]. Eine weitere Möglichkeit ist eine elektrochemisch-gesteuerte Variante, bei der ein Microelektrodenarray über dem Substrat positioniert wird. Diese Microelektroden, wahlweise als Kathode oder Anode schaltbar, beeinflussen entsprechend ihrer Ladung nun den pH einer speziellen Lösung, die zwischen Substrat des künftigen DNA-Microarrays und der Elektroden eingeleitet wurde. Durch einen lokalen, stark sauren pH werden schliesslich die Schutzgruppen (Dymethoxytrityl) auf dem direkt gegenüberliegenden Spot entfernt und somit Hydroxylgruppen für die Reaktion mit Nucleotiden bereitgestellt. Der genaue Prozess ist in der Quelle [7] ausführlich beschrieben.

Anwendungen

Microarray-Anwendungen, insbesondere DNA-Microarrays gehören heute zu den wichtigsten Instrumenten in der biomedizinischen Forschung. Sie sind unerlässlich zur effizienten Analyse von biologischen Prozessen. Die Einsatzgebiete von DNA-Microarrays sind sehr vielfältig. In der medizinischen Diagnostik werden sie zur Bluttypisierung oder für den Nachweis von Erbkrankheiten verwendet. Im Bereich der Lebensmittel- und Umweltanalytik dienen sie beispielsweise der Identifikation bestimmter Organismen oder von gentechnisch veränderten Nahrungsmitteln. In der Onkologie werden DNA-Microarrays intensiv genutzt, um Genexpressionsprofile zur Charakterisierung eines Tumors zu erstellen. Diese Profile geben wichtige Hinweise, um eine akkurate Diagnose und Prognose zu ermöglichen. In der Brustkrebsforschung führte der Einsatz von DNA-Microarrays zu einer Klassifizierung des Mammakarzinoms in fünf verschiedene Hauptgruppen[8] und gab Aufschluss über Genexpressions-Signaturen, welchen eine Beziehung zu verschiedenen therapielevanten Parametern wie z.B. die Rezidiv-Wahrscheinlichkeit im Frühstadium einer Brustkrebserkrankung zugeschrieben werden[9,10]. Im folgenden Abschnitt wird nun die Anwendung von DNA-Microarrays in der Genexpressionsanalyse näher besprochen.

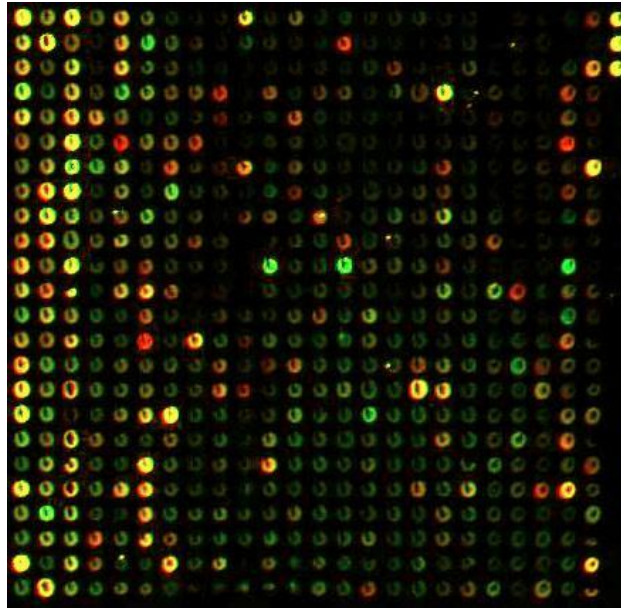


Abbildung 3, Fluoreszierende Spots. Rot repräsentiert die Kontroll-mRNA und Grün die mRNA der Probe [17]

Der erste Schritt einer Genexpressionsanalyse bildet die Probeentnahme. Die mRNA wird aus dem Zielgewebe, z.B. einer Tumorzelle, entfernt und aufgereinigt. Die Zielmoleküle werden nun in einem nächsten Schritt in cDNA transkribiert und mit Nukleotiden ausgestattet, welche mit einem Fluoreszenzfarbstoff (Fluorochrome z.B. Cyanin3 und Cyanin5) gekoppelt sind. Nun erfolgt ein Hybridisierungsprozess, bei welchem sich die Zielmoleküle an die komplementären Stränge auf dem Bio-Chip anlagern. Um eine höchstmögliche Endqualität des Ergebnisses zu erreichen, ist es bei der Hybridisierung von grosser Bedeutung, dass die Prozessparameter, wie z.B. der pH-Wert, die Salzkonzentration oder Temperatur korrekt eingestellt sind. In einem nächsten Schritt werden die ungebundenen Moleküle gewegewaschen. Mit einem Scanner wird nun die Intensität der Fluoreszenz erfasst. Die Stärke der Fluoreszenz in einem Spot ist nun proportional zur absoluten Menge an hybridisierter DNA. Es gibt im Grunde genommen zwei unterschiedliche Arten von Scannern. Gewisse Scanner verwenden das Prinzip der konfokalen Laserscanningmikroskopie. Hierbei werden die fluoreszenzmarkierten Moleküle mittels des Lasers Punkt für Punkt oder linienweise angeregt. Das durch die Laseranregung erzeugte Signal wird mittels spezieller Detektoren eingefangen [11,12]. Andere Scanner verwenden Weisslicht zur Anregung, welches durch einen Filterblock geschickt wird, als Detektoren kommen CCD-Kameras zum Einsatz (CCD = „charge-coupled device“). Die Normalisierung, Repräsentation und Analyse der nun gewonnenen Daten ist Aufgabe der Bioinformatik. Zuerst wird das aus den Intensitätswerten erzeugte Bild gerastert und nach Störfaktoren (z. B. Verunreinigungen oder die Eigenfluoreszenz des Glases) durchsucht. Als Resultat erhält man für jeden Spot einen Intensitätswert, welcher mit der Stärke der Genexpression korreliert. In einem nächsten Schritt erfolgt eine Normalisierung dieser Daten. Damit sollen Variationen zwischen verschiedenen Experimenten eliminiert und somit eine Vergleichbarkeit für die Analyse ermöglicht werden. In einem letzten Schritt werden die Daten einem Clustering unterzogen, mit dem Ziel eine optimale visuelle Darstellung der Daten zu erzeugen. Es werden hierbei Clustering-Algorithmen eingesetzt, um Gene, welche ein ähnliches Verhalten über mehrere Experimente hinweg gezeigt haben, in Gruppen zusammenzufassen. Häufig werden Genexpressionsprofile als Vektoren angesehen. Sie werden dann in sogenannten Genexpressionsmatrizen organisiert, in welchen die Zeilen die Expressionsvektoren der Gene (im n-dimensionalen Raum,

wobei n der Anzahl Experimente entspricht) und die Spalten die Vektoren der einzelnen Experimente (im m -dimensionalen Raum, wobei m der Anzahl Gene entspricht) repräsentieren.

$$X = \begin{bmatrix} x_{11} & x_{12} & \dots & x_{1n} \\ x_{21} & x_{22} & \dots & x_{2n} \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ x_{m1} & x_{m2} & \dots & x_{mn} \end{bmatrix}$$

Ein Spaltenvektor der Matrix stellt das sogenannte Referenz-Experiment dar und besitzt Intensitätswerte von 1. Eine Möglichkeit, um nun die Ähnlichkeit zweier Expressionsvektoren zu ermitteln, stellt z.B. die Berechnung der euklidischen Metrik dar:

$$D(X, Y) = \sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - y_i)^2}$$

Die Variablen x_i, y_i repräsentieren die Expressionswerte von Gen X resp. Y im i -ten Experiment.

Das Resultat eines solchen hierarchischen Clusterings ist dann ein Binärbaum, auch Dendrogramm genannt, in welchem jedes Blatt ein Gen darstellt. Gene, welche nun Intensitätswerte über (rot) oder unter (grün) dem Referenzwert besitzen werden entsprechend farblich hervorgehoben, Werte nahe der Referenz bleiben schwarz [13,14].

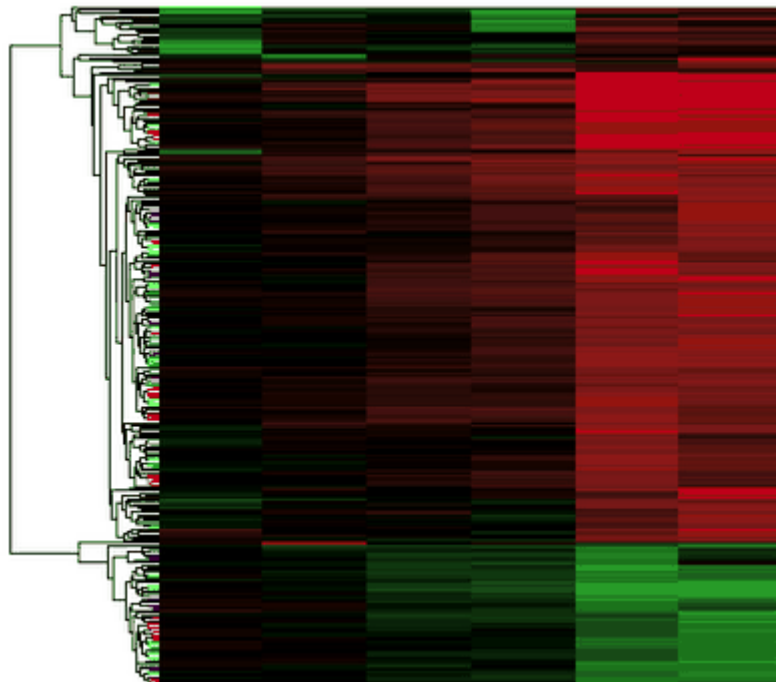


Abbildung 4, Beispiel eines Dendrograms [18]

Anhand der obigen Grafik ist das enorme Ausmass der Datenmenge solcher Experimente gut nachvollziehbar!

Die Genexpressionsanalyse spielt aber nicht nur in der Onkologie sondern beispielsweise auch bei der Erforschung neuer Antibiotika eine wichtige Rolle. Mittels der oben vorgestellten Expressionspro-

04.06.2010

filen lässt sich sehr schön der Einfluss äusserer Faktoren, wie z.B. der Temperatur, der Chemotaxis oder ein Wechsel des Mediums auf die Genregulation eines Bakteriums abbilden. Im Hinblick auf die antibakterielle Forschung lassen sich damit nun z.B. Aussagen über den Verbreitungsmechanismus eines Erregers oder den Wirkmechanismus eines Inhibitors machen[15].

Ausblick

Die Vorteile von DNA-Microarrays gegenüber altgedienter Techniken der DNA-Analytik, wie z.B. das sogenannte „Blotting“ sind deutlich erkennbar. Microarrays ermöglichen parallele Analysen und damit verbunden eine immense Zeitersparnis, weiter sind sie sehr sensitiv und vielfältig einsetzbar[10]. Kombiniert man DNA-Microarrays mit bereits bekannten molekularbiologischen Verfahren, wie z.B. PCR, so steht eine leistungsfähige Plattform für die biologische Forschung der Zukunft zur Verfügung. In grossen Pharmakonzernen gehören DNA-Microarrays bereits heute zum Standartequipment.

In den letzten Jahren forschte man an markerlosen Detektionsvarianten. Die Problematik der bisherigen Detektionsverfahren besteht darin, dass sie durch das Einbringen des Farbstoffes die chemische Struktur der zu untersuchenden Moleküle verändern. Dieses Problem versucht man zu umgehen, in dem man die Eigenfluoreszenz der Aminosäure Tryptophan im UV-Bereich nutzt oder direkt elektrische Signale misst, welche bei der Bindung der Probenmoleküle mit den Molekülen im jeweiligen Spot des Biochips entstehen. Neue Technologien, welche ganz auf den Nachweis mittels Fluoreszenz verzichten sind das Reflektions-Interferenz-Verfahren und das Terahertz-Spektroskopie-Verfahren. Bei letzterem Verfahren werden sehr grosse und schwere Molekülgruppen mittels langwelliger Terahertz-Wellen im Bereich von 100 μm in kollektive Schwingung versetzt. Die Zukunftsaussichten für DNA-Microarrays sind also vielversprechend[16].

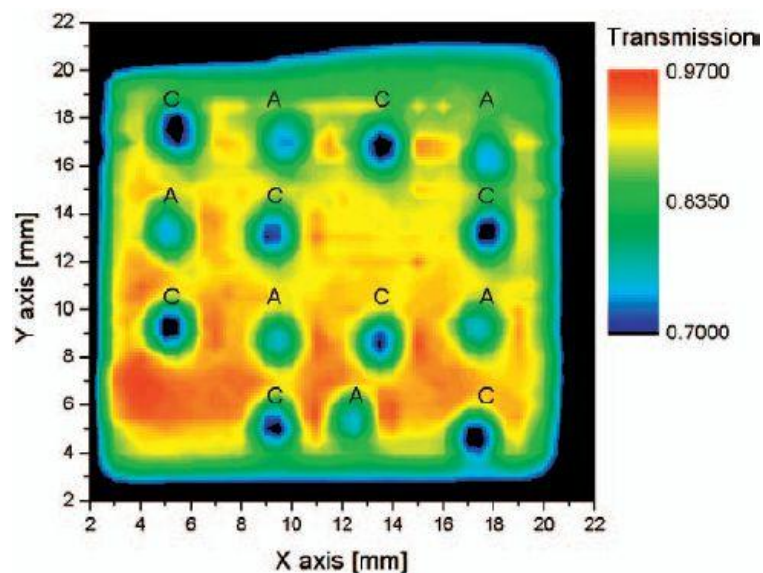


Abbildung 5, Ein Microarray mit RNA-Spots, abgebildet mit Terahertz-Licht [16]

Zusammenfassung

DNA-Microarrays sind eine leistungsfähige Technologie zur Durchführung paralleler Analysen, welche vor allem für Biologen, Mediziner, Pharmakologen und Umweltanalytiker bereits heute eine hohe Wichtigkeit erlangt haben. Die zwei vorgestellten Verfahren, das „Spotting“ sowie die „in situ“-Synthese, bilden das Fundament der DNA-Microarray-Herstellung und damit der gesamten Technologie. Durch interdisziplinäre Wissenschaftler werden diese Prozesse jeweils individuell an die entsprechenden Anwendungsanforderungen angepasst, wodurch eine hohe Flexibilität erreicht wird. Die Einsatzgebiete von DNA-Microarrays sind breit gefächert, v.a. die Genexpressionsanalyse stellt eine zentrale Anwendung dieser Technologie sowohl in der medizinischen Forschung bei der Untersuchung von Tumorgewebe, als auch in der Pharmaindustrie zur Erforschung neuer Antibiotika, dar. Durch Fortschritt im Bereich der Datenauswertung mittels Methoden der Bioinformatik entstehen fortlaufend neue Anwendungsmöglichkeiten. Abschliessend gilt es zu erwähnen, dass DNA-Microarrays ein schönes Beispiel für das Zusammenspiel von Ingenieur-Disziplinen, wie der Mikrosystemtechnik oder Informatik mit klassischen Naturwissenschaften wie der Biologie sind.

Abbildungen

Abbildung 1, (oben) Mechanisches Microarrayspotting; (unten) Inkjetting; Beschreibung siehe Abschnitt „Spotting“ [6, modifiziert].....	4
Abbildung 2, Prozess der "in situ"-Synthese [4].....	5
Abbildung 3, Fluoreszierende Spots. Rot repräsentiert die Kontrol-mRNA und Grün die mRNA der Probe [17].....	7
Abbildung 4, Beispiel eines Dendrograms [18]	8
Abbildung 5, Ein Microarray mit RNA-Spots, abgebildet mit Terahertz-Licht [16]	9

Quellen

- [1] Hegde P, Qi R, Abernathy K, Gay C, Dharap S, Gaspard R, Hughes JE, Snesrud E, Lee N, Quackenbush J (2000) A concise guide to cDNA microarray analysis. *Biotechniques* 3, 548-554.
- [2] Schena M, Shalon D, Davis RW, Brown PO (1995) Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science* 270, 368-371.
- [3] <http://de.wikipedia.org/wiki/Biochip>, 20.05.10.
- [4] S. Shiu und J.O. Borevitz, "The next generation of microarray research: applications in evolutionary and ecological genomics," *Heredity*, vol. 100, Nov. 2006, S. 141-149.
- [5] S. Saliterman, „Fundamentals of BioMEMS and Medical Microdevices,“ SPIE Press, 2006.
- [6] D. Schober, „Microarrays, Genexpressionsanalyse und Bioinformatik“, *BIOspektrum*, 3/2002, S.307-310.
- [7] R.D. Egeland und E.M. Southern, "Electrochemically directed synthesis of oligonucleotides for DNA microarray fabrication," *Nucl. Acids Res.*, vol. 33, Aug. 2005, S. e125.
- [8] <http://de.wikipedia.org/wiki/Brustkrebs>, 24.05.10.
- [9] <http://www.medizinische-genetik.de/index.php?id=1543>, 20.05.10.
- [10] <http://www.imtek.de/cpi/images/images/vl-biomat2/vl-biomat2-foliensatz07.pdf>, 20.05.10.
- [11] http://www.unisaarland.de/fak8/heinzle/de/teaching/Aufbaupraktikum_Bioinf/V5_Meese_Aufbau_bioinfo_2008.pdf, 24.05.10.
- [12] <http://de.wikipedia.org/wiki/Konfokalmikroskop>, 25.05.10.
- [13] <http://www.mrc-lmb.cam.ac.uk/genomes/madanm/microarray/chapter-final.pdf>, M. Madan Babu, „An Introduction to Microarray Data Analysis“, Chapter 11, 20.05.10.
- [14] http://www.ra.cs.uni-tuebingen.de/lehre/ws06/sem_inferenz/Microarrays_CDreischer.pdf, Christian Dreischer, Seminar „DNA, ChIP-Chip und Protein-Microarrays“, 20.05.10.
- [15] http://www.biospektrum.de/blatt/d_bs_pdf&_id=933106, Nina A. Brunner und Christoph Freiberger, „Expression Profiling mit DNA-Chips: Neue Perspektiven in der antibakteriellen Forschung“, *Biospektrum Sonderausgabe* 8. Jahrgang, S. 502-507. 24.05.10
- [16] http://www.biophotonik.org/files/photonic_2005_01_56.pdf, Marion Strehle und Jürgen Popp, „Microarray-Biochips – Tausend Reaktionen auf kleinster Fläche“, 20.05.10
- [17] <http://gcat.davidson.edu/DGPB/clust/microarray.jpg>, 20.05.10
- [18] http://www.mathworks.com/access/helpdesk_r13/help/toolbox/bioinfo/ch_microarray_moused_emo24.gif, 20.05.10