

生物芯片技术

张立勇, 张学工, 李衍达

张立勇, 张学工, 李衍达, 清华大学自动化系生物信息学教育部重点实验室 北京市 100084
项目负责人: 李衍达, 100084, 北京市海淀区清华园, 清华大学自动化系生物信息学教育部重点实验室. daulyd@tsinghua.edu.cn
电话: 010-62782409 传真: 010-62784047
收稿日期: 2003-10-27 接受日期: 2003-12-19

摘要

生物芯片技术是近年发展起来的极具时代特征的新型检测分析技术. 他的出现实现了对生物样品高效、快速和高通量的微量检测, 使全面、综合分析某些生命现象成为可能, 从而为生命科学、医学、化学、新药开发、食品与环境监督等众多领域提供了强有力的技术支持.

张立勇, 张学工, 李衍达. 生物芯片技术. 世界华人消化杂志 2004;12(4): 955-958

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/955.asp>

0 引言

人类基因组计划(human genome project, HGP)的成功和蛋白质组计划(human proteome project, HPP)的启动, 获得了数量巨大的基因和蛋白质信息. 对庞大的基因组和蛋白质组信息进行处理和研究, 必需设计和利用更为高效的软件和硬件技术, 建立新型、高效、快速的检测分析技术. 同时, 随着生命科学与众多相关学科如物理学、微电子学、计算机科学、材料科学、微加工技术、有机合成技术等迅猛发展和交叉, 为生物芯片(biochip)的实现提供了实践上的可能性.

所谓生物芯片技术就是通过微加工工艺将大量生物识别分子如核酸片段、多肽分子, 甚至组织切片、细胞等按照预先设置的排列方式固定在厘米见方的芯片片基(基质或载体)上, 利用生物分子之间的特异性亲和反应, 实现对基因、配体、抗原等生物活性物质的检测分析. 由于生物芯片采用了微电子学的并行处理和高密度集成的概念, 因此可同时并行分析成千上万种生物分子, 具有高通量、高灵敏度和并行检测的特点.

1 生物芯片技术的分类

传统杂交分析技术以硝酸纤维素膜或尼龙膜为载体, 杂交反应后经放射自显影进行检测. 由于硝酸纤维素膜或尼龙膜等材料有渗透作用, 易使被分析的材料扩散, 因此生物芯片分析利用固相表面作为载体. 固相表面无渗透作用, 少量的生化物质可准确地沉淀到特定位置上; 同时固相片基能够提供一均匀的接触面, 可以提

高定量分析的质量.

制作生物芯片的载体材料很多, 大致可分为四类: 无机材料、天然有机聚合物、人工合成的有机高分子聚合物和各种高分子聚合物制成的膜. 目前, 适用于制作生物芯片的载体材料只有少数几种, 如玻璃片、金属片、各种有机高分子制作的薄膜等. 生物芯片按载体可分为: 硅晶片芯片、玻璃芯片、塑料芯片和磁珠芯片等. 根据芯片上固定的探针不同, 他又可分为: 基因芯片、蛋白质芯片、组织芯片和细胞芯片等. 另外, 根据原理不同, 生物芯片可分为: 元件型微阵列芯片、通道型微阵列芯片和生物传感芯片等新型生物芯片.

2 基因芯片

基因芯片(gene chip), 也叫 DNA 芯片、DNA 微阵列(DNA microarray)、寡核苷酸阵列(oligonucleotide array), 其实质是在玻片、硅片、薄膜等载体上有序地、高密度地固定大量的靶基因片段或寡核苷酸片段, 这些被固定的分子探针在基质上就形成了高密度 DNA 微阵列. 样品核酸分子经过标记后, 与固定在载体上的 DNA 阵列中的点进行杂交. 通过检测杂交信号而获得样品分子的数量和序列信息, 从而对基因序列及功能进行大规模、高密度地研究. 由于基因芯片采用了信息的集约化和平行处理原理, 具有无可比拟的高效、快速和多参数的特点, 是传统生物技术的一次重大创新和突破.

基因芯片技术的高通量、高精度、高效率在差异表达基因的筛选中得到了广泛的应用, 他所揭示的基因表达谱可以提供相当丰富的信息, 能发现传统临床医学所不能诊断的疾病类型和在疾病发生、发展中特殊表达的基因, 有助于寻找新的诊断方法和治疗手段. 应用cDNA微阵列技术发现了一些在食管癌中差异表达的基因^[1-3], 研究这些基因在食管癌发生、发展中的作用, 对于阐明肿瘤发生、发展的机制、寻找肿瘤标志物、设计新的抗肿瘤药物和有针对性地进行个体治疗都有至关重要的意义. 刘业海 et al^[4]应用 cDNA 微阵列技术比较分析了喉癌配对组织的基因表达谱, 结果表明: 在正常组织和喉癌组织中, 基因表达相差 3 倍以上者为 35 个, 其中在喉癌组织中表达上调的基因为 8 个, 下调基因为 27 个; 相差 5 倍以上的基因有 7 个, 这 7 个基因均在喉癌组织中表达下调. Affymetrix 公司把 p53 基因全长序列和已知突变的探针集成在芯片上, 制成 p53 基因芯片, 将在癌症早期诊断中发挥作用.

Heller et al^[6]构建了96个基因的cDNA微阵列,研究了类风湿关节炎、肠炎基因的特征性表达活性,确定了许多基因与这两种病变的关系,为探讨基因芯片在诊断感染性疾病方面提供了新的思路.华盛顿大学利用含5766个基因的芯片研究了卵巢癌基因表达谱的变化,找出在卵巢癌组织中过度表达的30个由GenBank收录的基因^[6].

基因芯片在感染性疾病、遗传性疾病、重症传染病和恶性肿瘤等疾病的临床诊断方面具有独特的优势:一张芯片能同时对多种疾病进行检测,无需机体免疫应答反应期,能及早诊断;待测样品用量小;能特异性检测病原微生物的亚型及变异;可在短时间内掌握大量的疾病诊断信息.目前,基因芯片已广泛用于发现疾病相关基因、建立疾病诊断指标和基础生物学及医学研究领域.但基因芯片技术仍有其局限性,如设备价格昂贵,加上操作人员的训练及仪器的维护经费,是一个沉重的负担;如果没有一个合理正确的分析逻辑,从实验后数据分析中得到的结果很有可能造成严重的错误,误导实验人员.因此,微阵列系统的整合是一件非常重要的相当复杂的工作.通过适当的分工,将生物学家、软件工程人员和机械工程人员的专长整合,才能够完成高标准的微阵列系统.

3 蛋白质芯片

蛋白质是一切生命活动的基础,受基因表达的调控,因而以检测样品中mRNA丰度为基础的cDNA芯片是当今研究中倍受关注的技术手段.但是,细胞内mRNA的信息远不能反映基因产物的最终功能形式-蛋白质的表达状况,mRNA的丰度与其最终表达产物-蛋白质的丰度之间并没有直接的关联;更何况许多蛋白质还有翻译后修饰加工、结构变化、蛋白质与蛋白质间、蛋白质与其他生物大分子的相互作用等,因此以微阵列技术对生物样品行整体蛋白质表达分析的蛋白质芯片(protein chip)在后基因组时代越来越受重视.

蛋白芯片,也称肽芯片(peptide chip),是根据蛋白质-蛋白质相互作用而设计的高通量蛋白检测技术平台.其主要特点是将已知蛋白阵列固定在载体上,用来检测相配对的未知蛋白.固定在载体上的蛋白质可以是抗体、抗原、受体、配体、酶、底物以及蛋白结合因子等.这种新技术可以在一次实验中比较生物样品中成百上千的蛋白质的相对丰度.在实际应用中,抗体芯片研究得最多.此外,还有表面增强激光解吸离子化(surface-enhanced laser desorption/ionization, SELDI)蛋白质质谱芯片、组织芯片(tissue chip)和细胞芯片(cell microarray)等.

3.1 抗体芯片 抗体芯片(antibody microarray),是将能识别特异抗原的抗体制成微阵列,检测生物样品中抗原蛋白表达模式的方法.Clontech公司推出的第一代抗体芯片Ab Microarray 380包含了固定在芯片片基上的

378种已知蛋白质的单克隆抗体,可以在一次简单实验中同时检测样品中的378种蛋白质的表达情况,并且可以在一张芯片上对两种样品的表达模式进行比较分析.这使得抗体芯片在毒性实验、疾病研究和药物开发上有广泛的应用前景.Ab Microarray 380芯片上每个抗体都是并列双点以增加结果的可靠性,抗体针对广泛的胞内蛋白和膜结合蛋白,已知参与信号传导、癌症、细胞周期调控、细胞结构、凋亡和神经生物学等广泛的生物功能,因而可以用于检测某一特定的生理或病理过程相关蛋白的表达模式;同时,还可以作为DNA芯片的补充,用于研究蛋白和基因表达之间的关系.

3.2 表面增强激光解吸离子化蛋白质质谱芯片 SELDI蛋白质质谱芯片技术是Taylor医学院的Hutchens和Yip发展起来的^[7-9].这种技术是利用经过特殊处理的固相支持物或芯片的层析表面,根据蛋白质物理、化学性质的不同,选择性地从待测生物样品中捕获配体,将其结合在芯片的固相层析表面上,经原位清洗和浓缩后,结合TOF-MS技术,对结合的多肽或蛋白质进行质谱分析^[7-10].

美国Ciphergen Biosystems公司购买了SELDI技术的生产专利,在此基础上推出一种称为Ciphergen's proteinchip[®] biomarker system的技术平台,将蛋白质组学研究技术整合在类似“芯片”的装置上进行.他的核心技术就是SELDI质谱和飞行时间检测技术的相互整合^[7].通过把蛋白质结合在芯片上直接进行TOF-MS分析,去除了分析前复杂的样品制备过程.不经严格纯化,直接用患者的血液、尿液、脑脊液、胸腔积液等体液以及细胞裂解液进行分析.同时,还可以定量和定性分析结合的靶蛋白^[7, 11-13].他的操作具有相对简单、高效、快速和准确等特点,一经出台就受到临床研究工作者的青睐,同时预示着有可能最先进入临床蛋白质组检测的应用前景^[7].

Petricoin et al^[14]利用Ciphergen公司的专利技术SELDI蛋白质芯片-飞行时间质谱仪对已知诊断的卵巢癌样品进行研究,以确定一个合适的分辨标准-蛋白质表达谱型.他们发现在质/荷比为534、989、2111、2251和2465 Da处的5个峰的同时变化对卵巢癌的诊断具有意义.其中M_r2251 Da的蛋白质峰在肿瘤患者血清中的表达水平低于正常人.他们利用这种特殊的血清蛋白质谱型对来自无癌、早期、晚期卵巢癌和良性疾病的妇女血清样品进行了盲法分析.结果表明,50例卵巢癌样品被全部准确检出为肿瘤,其中包括18例I期患者;对照组66例非恶性肿瘤人群中有63例被确定为非恶性肿瘤.这种方法的灵敏度为100%,特异性为95%,阳性预测值为94%.Jr et al^[15]利用SELDI技术鉴定了已知的4种前列腺相关的生物标志物:前列腺特异性抗原(PSA)、前列腺酸性磷酸酶(prostate acid phosphatase, PAP)、前列腺特异性肽(prostate specific peptide, PSP)和前列腺特异性膜抗原(prostate specific membrane antigen, PSMA),并从LCM获得的前列腺癌

细胞裂解物和正常前列腺细胞裂解物中发现了一些在前列腺中表达上调的蛋白质,其分子量分别为33 kD、18 kD和3.5 kD,这些蛋白质很可能发展成为新的肿瘤标志物。Qu et al^[16]利用生物信息学算法从前列腺癌患者血清得到的SELDI图谱中得出了两种分类法(classifier)。其中AdaBoost classifier可以将前列腺癌患者和健康人分开,其特异性和敏感性均为100%。Adam et al^[17]利用生物信息学方法从SELDI血清图谱中找到了9个差异蛋白组成的特征性图谱,可以将前列腺癌患者、前列腺良性增生和健康人分开。其敏感性为83%,特异性为97%,实验组人群和总体人群的阳性预测值分别为96%和91%。赵晓航 et al^[18]利用SELDI质谱芯片技术从食管鳞状细胞癌患者血清中发现了十种候选的肿瘤标志物。近年来,高校蛋白质组学研究院与多家临床医院密切合作,从30例患者和相应数量的健康人血清样品中成功筛选出15个候选的肺癌标志分子,其中5个具有很高的灵敏性和特异性。这5个候选的肺癌标志分子中有2个在非小细胞肺癌患者的血清中表达上调,3个表达下调^[19]。这些候选标志分子的发现为分子诊断技术的发展提供了关键性的基础,一旦实现临床应用,将大大改变我国目前对肺癌临床检测的手段,改变待病灶形成后才能检测出来的状况。

目前,利用Ciphergen Biosystems公司的SELDI-TOF-MS技术平台已发现了前列腺癌、老年痴呆症、急性肾衰竭、乳腺癌、肾结石、膀胱癌和尿道感染等疾病的生物标志物的候选物,有望成为早期诊断的标志物,用于大规模的临床筛查^[7, 11, 15]。

3.3 组织芯片 组织芯片,也称组织微阵列(tissue microarrays, TMAs),是美国NIH的Kononen et al^[20]于1998年发明的。它是一种将成百上千个组织标本排列在同一张玻璃片上的技术,可以通过一张组织切片研究数百对组织标本的RNA、DNA或某种蛋白质的表达情况。以往在人们对肿瘤发生、发展机制的大量研究中曾先后发现了许多与肿瘤发展进程或预后相关的“标志物”,但是要想验证他们通常十分困难。而组织微阵列技术可以在一张玻璃切片上同时分析大量的组织标本,正好解决了这个难题,使某些研究结果最终有可能用于指导临床诊断和治疗。TMAs在肿瘤研究领域中的应用已有大量报道^[21-26]。

TMAs是一种大规模群体水平的研究工具。虽然由于取材微小可能使某一个点与供体组织不完全一致,但大规模的统计分析将明显消除单个数据的差异对最终结果的影响。有学者用TMAs和正规的组织切片进行了对比研究,结果显示两种方法的一致性大于95%^[27]。由于所有的组织都可以被放置在TMAs中,因而他不仅仅在肿瘤研究领域,在其他方面如炎症性疾病,心血管和神经系统疾病,一些动物模型的组织标本,以及细胞系的研究中都将体现出他的实用价值。目前,这种技术还有许多问题有待于解决,但已显示出重要的科研

和应用价值,也存在很大的经济价值。近2a TMAs得到了迅速发展,相信在不久的将来他将在分子病理学研究领域发挥更大的作用。

3.4 细胞芯片 细胞芯片,也称仿生芯片,是将单个细胞与一个电子集成电路芯片经特殊方法结合起来的微型装置。其原理是当细胞面临一定的电压时,细胞膜微孔就会张开,具有渗透性。通过计算机控制微型装置中的芯片就可以控制细胞的活动。这样在根本不影响周围细胞的情况下,可以对目标基因或细胞进行基因导入、蛋白质提取等研究。生物医学专家认为,最终开发出的细胞芯片能够精确调节电压,这样就可以激活不同的人体组织细胞,包括从肌肉、骨骼到人脑细胞;如果把他们植入人体,就可以取代或修补人体病变细胞组织。此外,细胞芯片还可用于研究细胞分泌和胞间通讯及细胞分类、纯化等。

最近出现了一种细胞微阵列芯片^[28],他是将不同的质粒DNA点在玻璃片上做成质粒DNA芯片,接着在脂质转染试剂处理好的芯片上培养细胞,被转染的细胞因此获得了外源DNA赋予的新性状,因此也称为反向转染(reverse transfection)。这种技术不但可以用于cDNA、融合肽或RNA分子的分析,而且还可以用于研究一些细胞因子、化学抑制剂或放射性标记对基因表达的影响。

4 芯片实验室

芯片实验室(Lab-on-a-Chip)是生物芯片研究领域的一个热点^[11]。他是利用微机电加工技术与生物技术,将采样、稀释、加试剂、反应、分离、检测等化学分析的全过程集成于一体,缩小构成芯片上的实验室系统^[29-31]。他是一个多学科交叉的新领域,他的最终目标是对分析的全过程实现全集成,从而极大地缩短检测分析时间,节省实验材料。

目前美国的Nanogen公司、Affymetrix公司、宾西法尼亚大学医学院和密歇根大学的科学家通过利用在芯片上制作出的加热器、阀门、泵、微量分析器、电化学检测器或光电子学检测器等,将样品制备、化学反应和检测3部分作了部分集成。Gene Logic公司设计制造的生物芯片可以从待检样品中分离出DNA或RNA,并对其进行荧光标记。当样品流过固定于栅栏状微通道内的探针时,即可捕获与之互补的靶核酸序列。然后应用自己开发的检测设备实现对杂交结果的检测分析。这种芯片上的寡核苷酸探针具有较大的黏附面积,可以灵敏地检测到稀有基因的变化。同时,由于该芯片设计的微通道具有浓缩和富集作用,所以可以加速杂交反应,缩短测试时间,降低测试成本。1998-06, Nanogen公司首次报道用芯片实验室所实现的从样品制备到反应结果显示的全部分析过程。这个实验室的成功是生物芯片研究领域的一大突破,他向人们展示了用生物芯片制作芯片实验室的可能。

芯片实验室是缩小了的生化分析器,他将样品制备、生化反应到检测分析的整个过程集成在芯片上,解决了基因/蛋白质芯片技术中存在的一些问题,如对实验室规模、仪器设备要求较高、依赖性较强;芯片之间的重复性较差;样品制备和标记操作的一体化性能欠佳等^[32-34]。芯片实验室的发展前景广阔,但现有芯片实验室的研究水平比理论上所要达到的水平还相差很多,这是因为:(1)微量样品与检测准确度的矛盾;(2)芯片的小尺寸与检测器等的连接等。但他的出现必将会给生命科学、医学、化学、新药开发、农作物育种和改良、司法鉴定、食品与环境监督等众多领域提供强有力的技术支持,从而带来检测分析领域的一场革命。

5 参考文献

- Lu J, Liu Z, Xiong M, Wang Q, Wang X, Yang G, Zhao L, Qiu Z, Zhou C, Wu M. Gene expression profile changes in initiation and progression of squamous cell carcinoma of esophagus. *Int J Cancer* 2001;91:288-294
- Zhou J, Zhao LQ, Xiong MM, Wang XQ, Yang GR, Qiu ZL, Wu M, Liu ZH. Gene expression profiles at different stages of human esophageal squamous cell carcinoma. *World J Gastroenterol* 2003;9:9-15
- Su H, Hu N, Shih J, Hu Y, Wang QH, Chuang EY, Roth MJ, Wang C, Goldstein AM, Ding T, Dawsey SM, Giffen C, Emmert-Buck MR, Taylor PR. Gene expression analysis of esophageal squamous cell carcinoma reveals consistent molecular profiles related to a family history of upper gastrointestinal cancer. *Cancer Res* 2003;63:3872-3876
- 刘业海, 唐平章, 徐震纲, 祁永发, 丁芳, 张立勇, 王海涛, 刘芝华. E MP - 1 基因在喉癌中的表达差异分析. *中国医学科学院学报* 2003;25:49-51
- Heller RA, Schena M, Chai A, Shalon D, Bedilion T, Gilmore J, Woolley DE, Davis RW. Discovery and analysis of inflammatory disease-related genes using cDNA microarray. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:2150-2155
- Wang K, Gan L, Jeffery E, Gayle M, Gown AM, Skelly M, Nelson PS, Ng WV, Schummer M, Hood L, Mulligan J. Monitoring gene expression profile changes in ovarian carcinomas using cDNA microarray. *Gene* 1999;229:101-108
- 张立勇, 赵晓航, 吴旻. 表面增强激光解吸电离质谱芯片在蛋白质组学研究中的应用. *生命的化学* 2002;22:478-480
- Ching J, Voivodov KI, Hutchens TW. Surface chemistries enabling photoinduced uncoupling/desorption of covalently tethered biomolecules. *J Org Chem* 1996;61:3582-3583
- Issaq HJ, Veenstra TD, Conrads TP, Felschow D. The SELDI-TOF MS approach to proteomics: protein profiling and biomarker identification. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;292:587-592
- Merchant M, Weinberger SR. Recent advancements in surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Electrophoresis* 2000;21:1164-1177
- Weinberger S R, Morris TS, Pawlak M. Recent trends in protein biochip technology. *Pharmacogenomics* 2000;1:395-416
- von Eggeling F, Davies H, Lomas L, Fiedler W, Junker K, Claussen U, Ernst G. Tissue-specific microdissection coupled with ProteinChip array technologies: applications in cancer research. *BioTechniques* 2000;29:1066-1070
- May M, Heebner G. Laboratory technology trends: the power of proteomics. *Science* 2001;292:317-335
- Petricoin EF, Ardekani AM, Hitt BA, Levine PJ, Fusaro VA, Steinberg SM, Mills GB, Simone C, Fishman DA, Kohn EC, Liotta LA. Use of proteomic patterns in serum to identify ovarian cancer. *Lancet* 2002;359:572-577
- Jr GW, Cazares LH, Leung SM, Nasim S, Adam BL, Yip TT, Schellhammer PF, Gong L, Vlahou A. Proteinchip® surface-enhanced laser desorption/ionization (SELDI) mass spectrometry: a novel protein biochip technology for detection of prostate biomarkers in complex protein mixtures. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 1999;2:264-276
- Qu Y, Adam BL, Yasui Y, Ward MD, Cazares LH, Schellhammer PF, Feng Z, Semmes OJ, Wright GL Jr. Boosted decision tree analysis of surface-enhanced laser desorption/ionization mass spectral serum profiles discriminates prostate cancer from noncancer patients. *Clini Chem* 2002;48:1835-1843
- Adam BL, Qu Y, Davis JW, Ward MD, Clements MA, Cazares LH, Semmes OJ, Schellhammer PF, Yasui Y, Feng Z, Wright GL Jr. Serum protein fingerprinting coupled with a pattern-matching algorithm distinguishes prostate cancer from benign prostate hyperplasia and healthy men. *Cancer Res* 2002; 62:3609-3614
- Zhao XH, Mao YS, Zhang LY, Liu Y, Wang HX, Yip TT, Ying WT, Qian XH, Liu F, Wang XQ, Ni XG, Xu Y, Zhang DC, Wu M. Discovery of esophageal cancer protein biomarkers from sera. *AACR Program/Proceedings Supplement* 2002:79
- Xiao XY, Tang Y, Wei XP, He DC. A preliminary analysis of non-small cell lung cancer biomarkers in serum. *Biomed Environ Sci* 2003;16:140-148
- Kononen J, Bubendorf L, Kallioniemi A, Barlund M, Schraml P, Leighton S, Torhorst J, Mihatsch MJ, Sauter G, Kallioniemi OP. Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. *Nat Med* 1998;4:844-847
- Schraml P, Kononen J, Bubendorf L, Moch H, Bissig H, Nocito A, Mihatsch MJ, Kallioniemi OP, Sauter G. Tissue microarrays for gene amplification surveys in many different tumor types. *Clin Cancer Res* 1999;5:1966-1975
- Bubendorf L, Kolmer M, Kononen J, Koivisto P, Mousses S, Chen Y, Mahlamaki E, Schraml P, Moch H, Willi N, Elkahoul AG, Pretlow TG, Gasser TC, Mihatsch MJ, Sauter G, Kallioniemi OP. Hormone therapy failure in human prostate cancer: analysis by complementary DNA and tissue microarrays. *J Natl Cancer Inst* 1999;91:1758-1764
- Moch H, Schraml P, Bubendorf L, Mirlacher M, Kononen J, Gasser T, Mihatsch MJ, Kallioniemi OP, Sauter G. High-throughput tissue microarray analysis to evaluate genes uncovered by cDNA microarray screening in renal cell carcinoma. *Am J Pathol* 1999;154:981-986
- Barlund M, Forozan F, Kononen J, Bubendorf L, Chen Y, Bittner ML, Torhorst J, Haas P, Bucher C, Sauter G, Kallioniemi OP, Kallioniemi A. Detecting activation of ribosomal protein S6 kinase by complementary DNA and tissue microarray analysis. *J Natl Cancer Inst* 2000;92:1252-1259
- Mucci NR, Akdas G, Manely S, Rubin MA. Neuroendocrine expression in metastatic heterogeneous protein expression. *Human Pathol* 2000;31:406-414
- Nocito A, Bubendorf L, Maria Tinner E, Suess K, Wagner U, Forster T, Kononen J, Fijan A, Bruderer J, Schmid U, Ackermann D, Maurer R, Alund G, Knonagel H, Rist M, Anabitarte M, Hering F, Hardmeier T, Schoenenberger AJ, Flury R, Jager P, Luc Fehr J, Schraml P, Moch H, Mihatsch MJ, Gasser T, Sauter G. Microarray of bladder cancer tissue are highly representative of proliferation index and histological grade. *J Pathol* 2001;194:349-357
- Camp RL, Charette LA, Rimm DL. Validation of tissue microarray technology in breast carcinoma. *Lab Invest* 2000; 80: 1943-1949
- 郭志儒. 一种新型的生物芯片 - 活细胞芯片. *中国兽医学报* 2002; 22:21
- 王琪, 方向东, 王小宁, 戚正武. 缩微芯片实验室. *生命的化学* 2000;20:87-89
- Jackson DJ, Naber JF, Roussel TJ Jr, Crain MM, Walsh KM, Keynton RS, Baldwin RP. Portable high-voltage power supply and electrochemical detection circuits for microchip capillary electrophoresis. *Anal Chem* 2003;75:3311-3317
- Huikko K, Kostianen R, Kotiaho T. Introduction to micro-analytical systems: bioanalytical and pharmaceutical applications. *Eur J Pharm Sci* 2003;20:149-171
- Weigl BH, Bardell RL, Cabrera CR. Lab-on-a-chip for drug development. *Adv Drug Deliv Rev* 2003;55:349-377
- Gambari R, Borgatti M, Altomare L, Manaresi N, Medoro G, Romani A, Tartagni M, Guerrieri R. Applications to cancer research of "lab-on-a-chip" devices based on dielectrophoresis (DEP). *Technol Cancer Res Treat* 2003;2:31-40
- Jain KK. Lab-on-a-chip and microarrays: discovery and development. *Pharmacogenomics* 2003;4:123-125