

生物芯片、基因组学和蛋白质组学在药物研发中的应用

蔡钦生, 冯美卿, 黄海, 周珮*

(复旦大学药学院生物合成药物化学教研室, 上海 200032)

关键词: 生物芯片; 基因芯片; 蛋白质芯片; 基因组学; 蛋白质组学; 芯片药房; 非典型肺炎

中图分类号: Q78 文献标识码: A 文章编号: 0513 - 4870(2003)10 - 0795 - 06

Application of biochip, genomics and proteomics in drug research and development

CAI Qin-sheng, FENG Mei-qing, HUANG Hai, ZHOU Pei*

(School of Pharmacy, Fudan University, Shanghai 200032, China)

Key words: biochip; genechip; protein chip; genomics; proteomics; pharmacy on a chip; SARS

近年来,生物芯片技术、基因组学和蛋白质组学发展迅猛,本文就其在药物研究和开发中的应用进行综述。

1 生物芯片、基因组学和蛋白质组学的概念及其相互关系

生物芯片(Biochip)是指通过微加工和微电子技术,在固体载体的表面上构建的可准确、大信息量检测生物组分的微型分析系统,含基因芯片(gene chip)、蛋白质芯片(protein chip)、细胞芯片(cell chip)、组织芯片(tissue chip)和小分子芯片(small-molecule microarray)及芯片实验室(lab-on-a-chip)或微流芯片(microfluidics)等种类^[1]。

基因组学(genomics)是研究某物种、组织或细胞等的基因序列、结构和功能的科学。基因组学含结构基因组学(structural genomics)和功能基因组学(functional genomics),前者研究基因的序列、结构和定位,后者研究基因的功能。自人类基因组计划(human genome project, HGP)于1990年10月1日正式实施以来,基因组学得到了空前的发展,目前已有超过1 000种病毒、100余种细菌和牛、小鼠等动物以及多种植物的基因组完成序列测定, HGP也已于

2003年4月提前完成^[2]。蛋白质组学(proteomics)为研究一个基因组、一个组织或细胞所表达的全套蛋白质及其结构与相互作用的科学。目前,其研究方法由最初只能定性的二维凝胶电泳(2DE)技术发展到了可定量的2DE-MS、多维LC-MS、同位素亲和标记(isotope coded affinity tags, ICAT)和蛋白质芯片等技术^[3,4]。如Pflieger等^[5]用2DE-多维LC-MS技术对蛋白质组进行分析,仅用蛋白质40 μg,就可将179种基因表达产物逐一分开并测定量值;又如Ranish等^[6]用ICAT技术对酵母细胞中的RNA聚合酶前体复合物进行定量检测,并得出其在不同时期量的动态变化图。

蛋白质组是动态的,能更真实更直接体现生命现象的本质,能更深入揭示各种复杂生命活动的机理,在后基因组时代发挥着愈来愈重要的作用;因此蛋白质组学得到了长足的发展而渐渐成为一个与基因组学平等的概念^[7]。

2 基因芯片的应用

2.1 鉴别和确认药物作用的基因靶标

基因芯片技术可快速高通量地鉴别和确认药物作用的靶标。它既可直接筛选特定的基因文库来发现药物作用的基因靶标,又可监测药物治疗过程中基因表达的变化来发现新靶标。Roy等^[8]应用基因芯片在小鼠大脑找到了一系列对维生素E的敏感

基因。Sun 等^[9]通过基因芯片研究了 26 种药物在体外的 Caco-2 细胞和体内的人十二指肠中因浸透性不同导致基因表达的差异,发现给药 4~6 d 后,在 12 559 个基因中有 1 000 个基因表达平均相差达 5 倍。Cinato 等^[10]也通过基因芯片确认了免疫抑制剂 SR31747A 的靶标为 ERG2 等基因。Takimoto 等^[11]发现肿瘤细胞凋亡剂 CP-31398 对野生型 p53 细胞系不起作用而对突变型的 p53 细胞系则使之发生选择性凋亡,进一步用基因芯片研究揭示:是 CP-31398 改变了突变 p53 的表达。据此还建立了 CP-31398 同类药物的快速筛选研究模型。Mandel 等^[12]利用基因芯片建立帕金森病的基因表达指纹(fingerprints)图谱,发现了多种有利于抗帕金森病药物研制和开发的潜在药靶。

2.2 药物的筛选及药物不良反应的研究

基因芯片能从基因水平研究药物的作用机制和对药物进行筛选,可以对药物的生物活性和不良反应进行检测和评估。Bethany 等^[13]应用基因芯片对降胆固醇化合物 LY295427 和它的异构体 LY306039 进行研究时发现:LY295427 能诱导肝脏低密度脂蛋白受体基因表达使其 mRNA 浓度升高,进而提高了肝脏低密度脂蛋白受体的数量,增加肝脏对血液中包裹有胆固醇的低密度脂蛋白的结合并内吞,然后进行脂代谢而达到降低血脂的药效;LY306039 则没能提高低密度脂蛋白受体 mRNA 的浓度,当然没有降低胆固醇的能力。Hamadeh 等^[14]应用基因芯片检测了氯贝特(clofibrate)、吉非诺齐(gemfibrozil)、苯巴比妥(phenobarbital)、苯妥英(phenytoin)和环己巴比妥(hexobarbital)等药物的毒性,得到了给药 1 h、24 h、3 d 和 14 d 后的毒理学信息并建立了相关数据库。

2.3 促进合理用药的发展

单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)与许多药物效应的个体差异有关。SNPs 是指基因序列中单个碱基的改变,使得该位置上存在 2 种不同的碱基,通常表现为两种等位基因即双等位基因(biallelic)。基因芯片可平行快速研究和定位大量的 SNPs。Balasubramanian 等^[15]通过基因芯片分析人 21 号和 22 号染色体,找到了 39 408 个 SNPs,为药物研究和个体合理用药提供了大量有用的信息。利用基因芯片还可发现药物对个体的选择性和检测体内微生物的耐药性,进而指导合理用药和个体化治疗。如拉米夫定在治疗感染乙型肝炎病毒(HBV)病人时容易引起 HBV DNA 聚合酶活性区发生变异(YMDD 变异)而产生耐药性。Zhao 等^[16]

的基因芯片监测结果表明,30 例 HBsAg 和 HBeAg 均为阳性的患者中,应用拉米夫定治疗 68 周后,有 21 例发生变异,其中 YVDD 型变异为 11 例,YMDD 型变异为 10 例。这些信息有利于对 HBV 患者进行个体化治疗和指导合理用药。

2.4 促进现代中药的鉴别和发展

中药的鉴别对中药的发展至关重要,而基因芯片在中药的鉴别中可发挥独到作用,还可以鉴定出药效优良的中药品种和产地。基因芯片同时还可建立中药的基因表达图谱,并通过处方分析筛选优化基因靶标,获得不同中药成分的作用与毒副作用信息^[17]。Watanabe 等^[18]从基因水平研究银杏叶提取物的作用机制和 Dong 等^[19]应用基因芯片对大蒜的提取物 GGMSG 进行了抗肿瘤分子机制的研究就是一种值得借鉴的现代中药研究模式。

2.5 开发基因芯片诊断技术

基因芯片可以实现一张芯片上同时对多个病人进行多种疾病的检测,也可实现一张芯片上同时对多个甚至几乎所有病原体进行检测。它很适合大规模筛查,大量生产制造,且有待测样品用量小、快速、高效、敏感等特点,是诊断技术发展的重要方向^[20]。诊断基因芯片在以下几个方面取得较大的发展。(1)遗传性疾病诊断。如 Affymetrix 公司的检测 p53 基因是否有突变以判断患癌症可能性的 p53 芯片,能诊断药物代谢缺乏症的细胞色素 p 450 芯片等^[21]。(2)病原体的检测。基因芯片可对病原体的种类、分型、变异、突变和核酸含量等进行高通量、平行的检测,成功的例子有 HBV、丙型肝炎病毒(HCV)、甲型肝炎病毒(HAV)、庚型肝炎病毒(HGV)、巨细胞病毒(CMV)、梅毒、弓形虫、结核杆菌等多种病原体的诊断基因芯片^[22]。(3)肿瘤疾病相关基因的检测。如卵巢癌 Tp53 基因的突变检测芯片,该法准确率为 94%,特异性为 100%^[23];K-ras 基因在其发生突变时即可应用基因芯片进行检测^[24]。(4)细胞因子和激素的检测。如血管内皮细胞生长因子(VEGF)和人促黄体生成激素(hLH)等的检测基因芯片。另外,血液 RhD 等 23 种红细胞抗体系统以及高血压病因等也都有了诊断基因芯片。

3 蛋白质芯片的应用

3.1 寻找新的蛋白质药靶

利用蛋白质芯片技术可以从正常细胞和病变细胞的蛋白质的变化中发现疾病相关蛋白,这些相关蛋白经研究筛选后可能成为药物的新靶标。Freedland 等^[25]借助蛋白质芯片等技术对正常前列

腺组织细胞、219个前列腺癌患者的组织细胞、CL1细胞系、CL2细胞系、LNCaP细胞系、DUI45细胞系、PG3细胞系和LAPG4细胞系等进行分析,发现CD10、CD13、CD26、CD33、CD44、CD55和CD104等神经内肽酶表达存在显著差异;最引人注目的是神经内肽酶CD10,它在34%的前列腺癌患者组织细胞中完全没有,在其他前列腺癌患者组织细胞也明显低于正常细胞。经进一步鉴别和确认,神经内肽酶CD10等将成为前列腺癌的诊断治疗和抗前列腺癌药物研究的新靶点。

3.2 筛选药物及研究药物的作用机制和毒理学

将药物作用靶或疾病相关蛋白构建成蛋白质芯片,直接用于对化合物的筛选,发现先导化合物,然后进一步将其开发成新药。当然,蛋白质芯片也适合用于蛋白质和多肽类药品的筛选。Holt等^[26]利用12种表达较强的抗体片段去筛选含27648种人胎脑蛋白的蛋白质芯片时,获得了4种高特异的抗原抗体复合物。蛋白质芯片技术还可直接研究蛋白质谱,以研究药物的作用机制和毒理学。Dare等^[27]对给药2,3,5,6-四甲基苯二胺(TMPD)后的Wistar Han小鼠产生诱导毒性进行了毒理学研究,通过表面加强激光吸附/电离(surface-enhanced laser desorption/ionization, SELDI)技术型蛋白质芯片监测发现,与给药后的小鼠骨骼肌毒性相一致的生物标志物有血清中的醛缩酶(Aldol)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)和尿中的一种分子量为11.8 kD的微白蛋白。

3.3 蛋白质芯片诊断技术的研发

蛋白质芯片很适合用于多种疾病的检测和多种疾病的生物学标志物的发现。目前,蛋白质芯片已成功地应用于诊断白血病、乳腺癌、心力衰竭等疾病的诊断^[28]。Delehanty等^[29]还制成了一种诊断用的抗体芯片(antibody array),对霍乱毒素、葡萄球菌内毒素B、蓖麻蛋白和枯草杆菌球体(*Bacillus globigii*)的最低检测量分别达到 $8 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $4 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 及 $6.2 \times 10^4 \text{CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$;整个操作仅用15 min,比传统的抗原抗体系统方法快了近60倍。

4 其他生物芯片的应用

最近诞生了一种直接制成药物剂型的生物芯片名为控释微芯片(controlled release microchip)^[30]。该芯片长宽均为17 mm,厚为310 μm ,内含34个药池(根据需要可容1000个池)。将一个或多个化合物包埋于芯片的药池中,通过金膜电极可以控制释放药物的顺序和种类。该芯片在药物的转运应用上发

展很快,经试验已有多种化学药物可在硅芯片上按指令成功应用。目前它的发展方向为芯片药房(pharmacy on a chip),芯片药房由微处理器、微控元件和遥控生物传感器以及药物等组成,根据需要控制将药物释放到体内^[31]。

5 基因组学的应用

5.1 发现药物的基因靶标促进药物的研究开发

研究和比较基因组学可以发现药物基因靶标。Ji等^[32]用广谱抗真菌药依他康唑(itraconazole) 10 μmol 对6600个基因进行了研究。结果发现296个基因有反应,116个基因下调了2.5倍,180个基因微上调;ERG基因全部下调,其中ERG1和ERG5下调了12倍,微微下调的有ERG6等基因。无疑,这些潜在的基因靶标必将会对抗生素等药物的研究起积极的推动作用。

钾离子通道是一类存在于生物膜上对钾离子有一定选择通透性的蛋白质复合物,它通过控制细胞膜内外的钾离子平衡而参与一系列生理和病理过程。Chen等^[33]新近在人11P15.5染色体位置上发现了导致心房纤维性颤动症(atrial fibrillation, AF)的钾离子通道KCNQ1/KCNE2和KCNQ1/KCNE3亚型的变异基因。如将这些钾离子通道基因作为药物的靶点对化合物进行高通量的筛选,将会快速高效获得治疗有关疾病的药物。现已证实KCNQ2/Q3, Kv1.1, KATP和GIRK2钾离子通道为抗癫痫药的靶点,学者们正在努力利用这些靶点筛选出能医治约包括30%对现有抗癫痫药无效在内的病人的新一代抗癫痫药^[34]。

Paralogue序列的寻找是应用基因组学探测药物靶点的一个重要方法。Paralogue序列为在DNA复制时彼此分开的同源序列。根据已有的药靶并依靠基因组学可以找到这些药靶的Paralogue序列,进而发现新药靶。如5-HT_{3A}为神经递质5-羟色胺(5-HT)的受体,根据人类基因组学找到了与5-HT_{3A}对应的在11号染色体上的Paralogue基因及其编码的新受体5-HT_{3B}、5-HT_{3C}和5-HT_{3D}装配成异二聚体而形成的乙溴醋胺和5-羟色胺巨大传导通道。这一发现为研究治疗精神分裂症药物提供了重要的靶标。目前,通过寻找Paralogue序列的方法,结合SwissProt数据库,已鉴定到了603个新靶点。完全可以相信,随着基因组学研究的深入和相关数据库的完善以及方法的改进,必定会发现更多新靶点^[35]。

5.2 研究基因多态性提高药物疗效和进行合理用药

基因多态性是药物基因组学的重要研究内容,它包括药物代谢酶、药物转运蛋白、药物受体、药物作用靶点等的基因多态性。其中药物代谢酶多态性由同一基因位点上具有多个等位基因引起,其多态性决定表型多态性和药物代谢酶的活性,造成不同个体间药物代谢反应的差异,是产生药物毒副作用、降低或丧失药效的主要原因之一。Zhu 等^[36]发现了人乙酰基转移酶 2 存在 C190T 基因多态性,该多态性导致了人乙酰基转移酶 2 的蛋白质水平和稳定性都大大降低,更甚之的是发现基因多态性的产物乙酰基转移酶 2 * 19 对 2 个芳基胺类致癌剂(2-氨基苄和 4-氨基联苯)和磺胺类药物(磺胺二甲嘧啶)的 N-乙酰化作用活性降低了 100 倍(相对于乙酰基转移酶 2 * 4)。利用基因组学对基因多态性进行深入研究,肯定会使不良反应大大降低。

5.3 寻找对付 SARS 等传染病的药物

传染病一直严重威胁着人类健康。最近爆发的传染性非典型肺炎又称严重急性呼吸道综合症(severe acute respiratory syndrome, SARS),再次让全世界意识到传染病的巨大危害性。SARS 的病原体为一种新的冠状病毒,名为 SARS 冠状病毒(SARS coronavirus, SCV),其基因组全长约 29 700 bp,共有 11 个开放阅读框架^[37,38]。中外科学家都正对其基因组作更深入的研究,从检测、预防、治疗三方面寻找到有效药物对付 SARS。我国科学家已从 SARS 冠状病毒基因组中选择一序列作为检测目标而成功开发出了 SARS 的 PCR 诊断药盒,为人类战胜 SARS 迈出了坚实的一步。通过比较各种 SARS 冠状病毒基因组,发现其相同序列,进而合成纯病毒蛋白质的抗 SARS 冠状病毒疫苗,使人类在预防 SARS 上取得成功。再通过对 SARS 冠状病毒基因组作功能基因组学研究,选择一些有重要功能的基因,如 SARS 冠状病毒关键蛋白酶 3CLpro 的基因^[39],在体外合成该基因的反义核酸(antisense nucleic acid)药物,以阻断 SARS 冠状病毒有关蛋白质的合成,抑制 SARS 冠状病毒的繁殖。在这一方面,已有很多成功的先例,如科学家们通过对 HIV、HBV、HCV、CMV、单纯疱疹病毒(HSV)、T 淋巴细胞病毒和流感病毒等病毒基因组研究,选择有关种族特异性基因、毒力基因、特异酶基因和特异蛋白因子基因作为基因靶标,已成功开发出了相应的核酶(ribozyme)或反义寡聚脱氧核苷酸(oligodeoxynucleotides, ODN)等药物^[40,41]。

6 蛋白质组学的应用

6.1 研究药物作用机理和探测药物的蛋白质靶点

蛋白质组学能通过对病变和正常组织的蛋白质组进行比较分析,进而发现在疾病过程中表达异常的蛋白质,这些蛋白质经筛选后可作为药物的作用靶点。类似地,比较给药后病变和正常组织的蛋白质组,也可找到药物作用的靶点。Chen 等^[42]应用蛋白质组学对 MCF-7 乳腺癌细胞在加 0.1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 抗肿瘤药阿霉素(DOX) 2 d 后的蛋白质表达变化进行了研究,发现热休克蛋白 27(HSP27)变化最显著;以 HSP27 作为药靶很有可能开发出新的抗乳腺癌药物。奎林用于治疗疟疾、关节炎和狼疮等疾病已有多年,但其机理一直不清楚。Graves 等^[43]利用蛋白质组学技术很快发现红细胞膜上的 ALDH1 和 QR2 种蛋白和奎林有良好的结合,并进而确定 ALDH1 和 QR2 为奎林类药物的靶点。Greenbaum 等^[44]对疟原虫的生长全周期的蛋白质组进行了全程定量跟踪研究,发现胱氨酸蛋白酶在侵入宿主细胞时期含量和活性都很高;进一步以该酶作为抑制靶标已筛选鉴定到了一批可以阻断疟原虫对宿主细胞感染的化合物。Oda 等^[45]采用蛋白质组学对有生物活性但未知靶点的化合物进行探测靶点研究,并成功发现了 E7070 类抗肿瘤药物特异结合蛋白靶点。

6.2 研究药物毒理学

蛋白质组学可以通过比较给药前后细胞的蛋白质组,鉴别出毒理学的蛋白质标志物,快速准确地筛选或预测药物的毒性,并进一步弄清毒理学的分子机理,获得药物毒理学信息。最近发展起来的 ICAT 和蛋白质芯片等技术使蛋白质组学实现了定量,突破了定性的局限,可深入地对药物作用机制和途径进行全程定量跟踪,更是大大加快毒理学的研究速度和提高了毒理学研究的准确性^[46]。

Heijne 等^[47]成功地将蛋白质组学和基因组学结合起来研究溴苯在小鼠体内的毒性。小鼠在溴苯给药 24 h 后就出现了急性肝毒性和体重下降等毒副作用;与此同时,基因组学的研究得出溴苯诱导了包括谷胱甘肽-S-转移酶同工酶、环氧化物水解酶、血红素加氧酶的基因在内的多个基因的表达,蛋白酶体(proteasomes)的亚基和溶酶体(lysosomal)的组织蛋白酶 L 等的 mRNA 水平也发生了改变;蛋白质组学的比较则发现谷胱甘肽等多种蛋白质及蛋白质总量发生变化;通过分析还发现,基因组学和蛋白质组学所得到的毒理学信息中有适度重叠,也有各不相同的内容;这更表明二者相结合的重要性。

6.3 抗生素的改造和开发

面对不断出现的微生物耐药性和不断增加的微

生物传染病,现有的抗生素显得有些力不从心,其对应策略一是对现有抗生素进行修饰改造,二是开发新的抗生素。Bruneau 等^[48]应用蛋白质组学对白色念珠菌在给吡啶类药氟康唑和依他康唑以及 mulundcadin 类药物后的基因表达的变化,发现 mulundcadin 类药物作用机理为抑制 1,3- D 葡聚糖合成酶的表达,而吡啶类药的作用机理为抑制麦角固醇合成酶的表达;同时还试验到了 mulundcadin 类药物对吡啶类药物有耐药性的白色念珠菌也有效果。

7 展望

蛋白质组学与基因组学用整体观点来审视生命现象和本质,建立研究开发药物的新方法。生物芯片和组合化学(生物文库(含蛋白质文库、多肽文库、抗体文库和基因文库等)、化学文库的联合应用)必使新药的研发成本(R&D)大幅度降低。中药是我国极具优势和最易突破的药学领域,充分应用和借鉴生物芯片、基因组学和蛋白质组学等技术和理念,从整体层次研究中药以尽快从基因水平和蛋白质水平上弄清中药的作用机理及其代谢过程,使中药从模糊走向清晰,从定性做到量化,从宏观到达微观,争取早日实现世界认同。

当然,生物芯片技术、基因组学和蛋白质组学的发展刚刚开始,在技术上尚需不断完善,尚有大量艰苦踏实的工作需全球科学家去共同努力探索。但毋庸置疑,生物芯片技术、基因组学和蛋白质组学等必将会对药物研究与开发起重要的推动作用。

References:

- [1] Kuruvilla FG, Shamji AF, Sternson SM, *et al.* Dissecting glucose signalling with diversity-oriented synthesis and small-molecule microarrays [J]. *Nature*, 2002, **416**(6881):653 - 657.
- [2] Collins FS, Morgan M, Patrinos A. The Human Genome Project: lessons from large-scale biology [J]. *Science*, 2003, **300**(5617):286 - 290.
- [3] Islam N, Tsujimoto H, Hirano H. Wheat proteomics: relationship between fine chromosome deletion and protein expression [J]. *Proteomics*, 2003, **3**(3):307 - 316.
- [4] He QY, Yip TT, Li M, *et al.* Proteomic analyses of arsenite-induced cell transformation with SELDI-TOF ProteinChip technology [J]. *J Cell Biochem*, 2003, **88**(1):1 - 8.
- [5] Pflieger D, Le Caer JP, Lemaire C, *et al.* Systematic identification of mitochondrial proteins by LC-MS/MS [J]. *Anal Chem*, 2002, **74**(10):2400 - 2406.
- [6] Ranish JA, Yi EC, Leslie DM, *et al.* The study of macromolecular complexes by quantitative proteomics [J]. *Nat Genet*, 2003, **33**(3):349 - 355.
- [7] Tyers M, Mann M. From genomics to proteomics [J]. *Nature*, 2003, **422**(6928):193 - 197.
- [8] Roy S, Lado BH, Khanna S, *et al.* Vitamin E sensitive genes in the developing rat fetal brain: a high density oligonucleotide microarray analysis [J]. *FEBS Lett*, 2002, **530**(1-3):17 - 23.
- [9] Sun D, Lennernas H, Welage LS, *et al.* Comparison of human duodenum and Caco-2 gene expression profiles for 12000 gene sequences tags and correlation with permeability of 26 drugs [J]. *Pharm Res*, 2002, **19**(10):1400 - 1416.
- [10] Cinato E, Peleraux A, Silve S, *et al.* A DNA microarray-based approach to elucidate the effects of the immunosuppressant SR31747A on gene expression in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Gene Expr*, 2002, **10**(5-6):213 - 230.
- [11] Takimoto R, Wang W, Dicker DT, *et al.* The mutant p53-conformation modifying drug, CP-31398, can induce apoptosis of human cancer cells and can stabilize wild-type p53 protein [J]. *Cancer Biol Ther*, 2002, **1**(1):47 - 55.
- [12] Mandel S, Weinreb O, Youdim MB. Using cDNA microarray to assess Parkinson's disease models and the effects of neuroprotective drugs [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2003, **24**(4):184 - 191.
- [13] Janowski BA, Shan B, Russell DW. The hypocholesterolemic agent LY295427 reverses suppression of sterol regulatory element binding protein processing mediated by oxysterols [J]. *J Biol Chem*, 2001, **276**(48):45408 - 45416.
- [14] Hamadeh HK, Bushel PR, Jayadev S, *et al.* Prediction of compound signature using high density gene expression profiling [J]. *Toxicol Sci*, 2002, **67**(2):232 - 240.
- [15] Balasubramanian S, Harrison P, Hegyi H, *et al.* SNPs on human chromosomes 21 and 22-analysis in terms of protein features and pseudogenes [J]. *Pharmacogenomics*, 2002, **3**(3):393 - 402.
- [16] Zhao W, Liu W, Liu QJ, *et al.* Detection and identification of HBV DNA YMDD motif mutation during lamivudine treatment using oligonucleotide array [J]. *Chin J Hepatol (中华肝脏病杂志)*, 2003, **11**(3):178 - 179.
- [17] Yang Z, Zhang YO, Wong MS, *et al.* Application of genomics and biochip technology in research and development of Chinese materia medica [J]. *Acta Pharm sin (药学报)*, 2002, **37**(6):490 - 496.
- [18] Watanabe CM, Wolfram S, Ader P, *et al.* The *in vivo* neuromodulatory effects of the herbal medicine *Ginkgo biloba* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98**(12):6577 - 6580.
- [19] Dong Y, Lisk D, Block E, *et al.* Characterization of the biological activity of gamma-glutamyl-Se-methylselenocysteine: a novel, naturally occurring anticancer agent from garlic [J]. *Cancer Res*, 2001, **61**(7):2923 - 2928.
- [20] Galamb O, Molnar B, Tulassay Z. DNA chips for gene expression analysis and their application in diagnostics [J]. *Oro Hetil*, 2003, **144**(1):21 - 27.
- [21] Liu G, Loraine AE, Shigeta R, *et al.* NetAffx: affymetrix probesets and annotations [J]. *Nucleic Acids Res*, 2003, **31**

- (1) :82 - 86 .
- [22] Busti E, Bordoni R, Castiglioni B, *et al.* Bacterial discrimination by means of a universal array approach mediated by LDR (ligase detection reaction) [J]. *BMC Microbiol*, 2002, **2**(1) :27 .
- [23] Wen WH, Bernstein L, Lescallett J, *et al.* Comparison of TP53 mutations identified by oligonucleotide microarray and conventional DNA sequence analysis [J]. *Cancer Res*, 2000, **60**(10) :2716 - 2722 .
- [24] Meireles SI, Carvalho AF, Hirata R, *et al.* Differentially expressed genes in gastric tumors identified by cDNA array [J]. *Cancer Lett*, 2003, **190**(2) :199 - 211 .
- [25] Freedland SJ, Seligson DB, Liu AY, *et al.* Loss of CD10 (neutral endopeptidase) is a frequent and early event in human prostate cancer [J]. *Prostate*, 2003, **55**(1) :71 - 80 .
- [26] Holt LJ, Bussow K, Walter G, *et al.* By-passing selection: direct screening for antibody-antigen interaction using protein arrays [J]. *Nucleic Acids Res*, 2000, **28**(15) :E72 .
- [27] Dare TO, Davies HA, Turton JA, *et al.* Application of surface-enhanced laser desorption/ionization technology to the detection and identification of urinary parvalbumin- α : a biomarker of compound-induced skeletal muscle toxicity in the rat [J]. *Electrophoresis*, 2002, **23**(18) :3241 - 3251 .
- [28] Lal SP, Christopherson RI, dos Remedios CG. Antibody arrays: an embryonic but rapidly growing technology [J]. *Drug Discov Today*, 2002, **7**(18 Suppl) :S143 - 149 .
- [29] Delehanty JB, Ligler FS. A microarray immunoassay for simultaneous detection of proteins and bacteria [J]. *Anal Chem*, 2002, **74**(21) :5681 - 5687 .
- [30] Santini JT, Cima MJ, Langer R. A controlled-release microchip [J]. *Nature*, 1999, **397**(6717) :335 - 338 .
- [31] Santini JT Jr, Richards AC, Scheidt RA, *et al.* Microchip technology in drug delivery [J]. *Ann Med*, 2000, **32**(6) :377 - 379 .
- [32] Ji Y. The role of genomics in the discovery of novel targets for antibiotic therapy [J]. *Pharmacogenomics*, 2002, **3**(3) :315 - 323 .
- [33] Chen YH, Xu SJ, Bendahhou S, *et al.* KCNQ1 gain-of-function mutation in familial atrial fibrillation [J]. *Science*, 2003, **299**(5604) :251 - 254 .
- [34] Wickenden AD. Potassium channels as anti-epileptic drug targets [J]. *Neuropharmacology*, 2002, **43**(7) :1055 - 1060 .
- [35] The genome sequencing consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome [J]. *Nature*, 2001, **409**(6822) :860 - 921 .
- [36] Zhu Y, Doll MA, Hein DW. Functional genomics of C190T single nucleotide polymorphism in human N-acetyltransferase 2 [J]. *J Biol Chem*, 2002, **277**(6) :983 - 987 .
- [37] Marco AM, Steven JMJ, Caroline RA, *et al.* The genome sequence of the SARS-associated coronavirus [J]. *Science*, 2003, epub ahead of print .
- [38] Paul AR, M Steven O, Stephan SM, *et al.* Characterization of a novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome [J]. *Science*, 2003, epub ahead of print .
- [39] Anand K, Ziebuhr J, Wadhwani P, *et al.* Coronavirus main proteinase (3CL_{PRO}) structure: basis for design of anti-SARS drugs [J]. *Science*, 2003, epub ahead of print .
- [40] Verthelyi D, Gursel M, Kenney RT, *et al.* CpG oligodeoxynucleotides protect normal and SIV-infected macaques from Leishmania infection [J]. *J Immunol*, 2003, **170**(9) :4717 - 4723 .
- [41] Lavigne C, Yelle J, Sauve G, *et al.* Is antisense an appropriate nomenclature or design for oligodeoxynucleotides aimed at the inhibition of HIV-1 replication? [J]. *AAPS Pharm Sci*, 2002, **4**(2) :E9 .
- [42] Chen ST, Pan TL, Tsai YC, *et al.* Proteomics reveals protein profile changes in doxorubicin-treated MCF-7 human breast cancer cells [J]. *Cancer Lett*, 2002, **181**(1) :95 - 107 .
- [43] Graves PR, Kwiec JJ, Fadden P, *et al.* Discovery of novel targets of quinoline drugs in the human purine binding proteome [J]. *Mol Pharmacol*, 2002, **62**(6) :1364 - 1372 .
- [44] Greenbaum DC, Baruch A, Grainger M, *et al.* A role for the protease falcipain 1 in host cell invasion by the human malaria parasite [J]. *Science*, 2002, **298**(5600) :2002 - 2006 .
- [45] Oda Y, Owa T, Sato T, *et al.* Quantitative chemical proteomics for identifying candidate drug targets [J]. *Anal Chem*, 2003, **75**(9) :2159 - 2165 .
- [46] Kennedy S. The role of proteomics in toxicology: identification of biomarkers of toxicity by protein expression analysis [J]. *Biomarkers*, 2002, **7**(4) :269 - 290 .
- [47] Heijne WH, Stierum RH, Slijper M, *et al.* Toxicogenomics of bromobenzene hepatotoxicity: a combined transcriptomics and proteomics approach [J]. *Biochem Pharmacol*, 2003, **65**(5) :857 - 875 .
- [48] Bruneau JM, Maillet I, Tagat E. Drug induced proteome changes in *Candida albicans*: comparison of the effect of beta (1, 3) glucan synthase inhibitors and two triazoles, fluconazole and itraconazole [J]. *Proteomics*, 2003, **3**(3) :325 - 336 .