

环境基因组学的研究进展*

贾海鹰 赵大勇 吴 兵 张徐祥 孙石磊 潘文扬 程树培

(南京大学环境学院污染控制与资源化研究国家重点实验室 南京 210093)

摘要:本文系统地介绍了环境基因组学的基本概念和主流技术平台,及其在环境污染控制、健康风险检测与评价等方面地应用,并阐释了环境基因组学与环境蛋白组学、生物信息学之间的关系。环境基因组学在生物基因组水平上揭示了环境污染物与生物之间的相互作用,为维护人体与环境健康,进行分子水平遗传物质的检测与调控,奠定了理论基础与技术支持,目前已经成为控制环境污染,提高人体与环境健康质量的重要议题。

关键词:环境基因组学;生物信息学;健康风险评价;环境污染;环境健康

中图分类号:R1 **文献标识码:**D

Current Progress and Application of Environmental Genomics

JIA Hai-ying, ZHAO Da-yong, WU Bing, et al

(State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, the School of Environment, Nanjing University, Nanjing 210093, Jiangsu, China)

ABSTRACT: This paper systematically summarizes the fundamental definition of the environmental genomics and its main technological platform as well as its current applications in environmental pollution control and health risk assessment. It also explains the relations between environmental genomics and environmental proteomics, bioinformatics. Environmental genomics reveals the interaction between pollutants and biology at genomic level, which lays a theoretical foundation and technological support for maintaining human's health and environmental safety as well as detecting the variation in the genetic substance. At present, the research of environmental genomics has been the focus of pollution control and human health as well as environmental safety.

Key words: Environmental genomics; Bioinformatics; Health risk assessment; Environmental pollution; Environmental health

引言

2003年4月14日,人类基因组计划(Human Genome Project, HGP)宣告顺利完成。HGP成功地绘制出了遗传图谱、物理图谱、序列图谱和转录图谱4张图谱。这标志着人类基因组计划的所有目标全部实现。至此,HGP的研究发生了翻天覆地的变化,已从结构基因组学研究时代进入了功能基因组(后基因组)时代^[1-2],因此也就有了“人类后基因组计划”。HGP正朝着生物信息科学、计算机生物技术、数据处理、知识产权及社会伦理学研究等多方面发展,对生命科学、环境科学、医疗卫生、食品制药、人文科学各领域产生了广泛而深远的影响。

环境基因组学(Environmental Genomics)是在人类基因组基础上发展的功能基因组内容之一,由基因组学和环境科学交叉融合而成,是一个近期发展起来的新型边缘学科,是基因组学技术和成果在环境污染保护与控制 and 生态风险评估中的应用,在其发展的短短的几年时间内已渗透到环境科学研究的各个研究领域,并发挥着日益重要的作用。

1 环境基因组学的概念及其发展

至今,国内外学者对环境基因组学还没有统一明确的定义。但是,环境基因组学的概念与毒理基因组学(Toxicogenomics)的概念密切相关。自从1999年Nuwaysir等^[3]首次提出毒理基因组学概念至今,在短短的八年的时间里这一概念不断

地发展和完善。目前人们普遍认可的定义有两种,一种是美国国家毒理学规划机构给出的定义^[4]:毒物基因组学是研究外来化学物对基因活性和基因产物的影响及相互作用的科学;另一种是由世界卫生组织给出的定义^[5],认为毒物基因组学是一门与遗传学、基因组水平上RNA表达(转录组学)、细胞和组织范围的蛋白表达(蛋白质组学)、代谢谱(代谢组学)、生物信息学和常规毒理学结合,以阐明化学物作用模式和基因-环境相互作用的潜在意义的科学。1998年4月4日,美国国会顾问环境卫生科学委员会正式投资专项基金进行环境基因组计划研究,其目的是专门研究与环境相关疾病的遗传易感性,寻找对化学损伤易感的基因,鉴定对环境发生反应基因中有重要功能的多态性,并确定它们在环境暴露引起疾病的危险度方面的差异;在疾病流行病学中研究基因与环境的相互作用,从而改善遗传分析技术,优化研究设计,建立样品资源库,把公用的多态性应用于社会、法律和伦理学^[6-7]。

2001年,Miller提出环境基因组是在人类基因组计划基础上发展起来的后基因组时代功能基因组研究的重要内容之一,它是建立在对疾病病因的认识基础上,深入探讨环境胁迫-基因、基因-基因间交互作用。其目标是研究环境胁迫对机体遗传变异的过程和机理,包括发掘环境应激应答基因的多态性,探究这些多态性基因的功能及其与患病风险的关系。环境基因组计划拟分析的候选基因中大约有100个左右的代谢及解毒基因,它们调控细胞色素P450、N-乙酰化酶(NAT)、谷胱甘肽

* 基金项目:国家建设部项目(06-k4-25),江苏省环保科技计划项目(2005001-1);

作者简介:贾海鹰,(1983-),男,硕士研究生,主要研究方向:环境生物信息学

通讯作者:程树培,E-mail:chengsp@nju.edu.cn

(收稿日期:2006-09-8 接受日期:2006-10-20)

-S- 转移酶、葡萄糖醛酸转移酶、磺基转移酶、甲基转移酶、金属硫蛋白酶、二乙基对硝基苯磷酸酯酶等;大约有 50 个 DNA 修复基因及 50 个毒物受体基因。DNA 修复基因可纠正 DNA 匹配、核酸切除、碱基切除及重组过程中发生的错误。毒物受体基因包括那些可改变毒物反应的基因,如芳烃受体、雌激素受体、孕激素受体等基因;大约有 25 个基因涉及到营养介质或营养代谢;另约有 25 个基因涉及到雌激素、孕激素及睾丸激素合成的类固醇的代谢^[1]。尽管环境污染物质毒理机理以及毒性评价是环境基因组学研究的一个重要领域,然而它还应包括污染控制、生物修复与环境污染预警方面的研究与应用。因此有学者提出环境基因组学指利用基因组研究改良和培育能改善生态环境的微生物、动植物新品种,或者是利用基因组技术如 DNA 芯片、生物传感等进行环境检测^[2]。

综上所述,环境基因组学不仅包含环境毒理基因组学的研究,还应包括在基因组水平上筛选鉴定降解污染物的功能基因及其菌株、利用 DNA 芯片等基因组技术检测环境污染和有害基因漂移以及生物修复与环境污染预警健康风险评价方面的研究^[3-14]。

2 环境基因组学的研究方法与技术

环境基因组学的研究是以基因组学技术为依托的。经典的减法杂交、差示筛选等技术已被广泛用于鉴定和克隆污染环境下差异表达的基因。近年来,基因组学研究新技术、新方法不断涌现,如包括各种 DNA(cDNA)微阵列和 DNA 芯片、转基因和基因删除技术、基因表达序列分析(Serial Analysis of Gene Expression, SAGE)技术、差异显示反转录 PCR(DDRT-PCR)技术、实时定量 PCR(Real-time and Quantitative PCR)技术、蛋白质组技术等,为环境基因组的研究提供了便利的技术平台。目前,应用于环境基因组学研究的主流技术有三种:①DNA(cDNA)微阵列和 DNA 芯片技术;②差异显示反转录 PCR(DDRT-PCR)技术;③基因表达序列(SAGE)分析。

2.1 DNA(cDNA)微阵列在环境基因组学的应用

当代生物芯片技术的基本思想在 20 世纪 80 年代后期已经出现。1991 年,Fodor 在《科学》杂志上发表了利用光刻技术与光化学合成技术制作检测多肽和寡聚核苷酸的微阵列芯片的成果^[15]。DNA(cDNA)微阵列技术则于 1995 年由 Schena 创立^[16],现已逐渐发展成为功能基因组学研究的最有力的工具之一。通过光导化学合成、照相平版印刷以及固相表面化学合成等技术,在固相表面合成成千上万个寡核苷酸“探针”(cDNA、EST 或基因特异的寡核苷酸),并与用放射性同位素或荧光物标记的来自不同来源的 DNA 或 mRNA 反转录生成的第一链 cDNA 进行杂交,然后用特殊的检测系统对每个杂交点进行定量分析。DNA(cDNA)微阵列技术在环境科学领域已广泛应用于快速筛选毒物,鉴别毒性作用相关基因,揭示毒作用的基因表达谱;检测基因多态性和基因突变、进行安全性评价等,从而为解决化学物的联合作用、高通量的筛选化学物、研究毒作用机制等问题^[17-26]。此外还应用于研究废水处理系统以及环境污染物质中微生物的反应和调节过程和机制、营养物循环和富营养作用的微生物生态原理、微生物多样性以及生物学过程中与胁迫反应相关的基因功能和调节控制,建立基因表达谱^[27-36]。因此,DNA(cDNA)微阵列是当前环境基因组学研究中的一种有效手段。

2.1.1 快速筛选鉴定环境污染物或进行毒性评价

Emmanuel Francois 等^[37]对利用 DNA 微阵列技术筛选鉴定环境内分泌干扰物的可行性进行了研究。他们利用自动化的照相平版印刷技术,将 19000 多个人类基因的 cDNA“探针”固定在了微小的玻璃载体表面,用与不同荧光物标记的不同底物培养的乳腺癌细胞 T-47-D 和 MCF-7 反转录生成的第一链 cDNA 进行杂交。研究证实了利用 DNA 微阵列技术筛选鉴定环境内分泌干扰物能够更深入的了解细胞对内分泌干扰物的调控机制,可以同时大量基因进行分析比较,也可以同时分析不同细胞间或不同环境内分泌干扰物胁迫下基因表达的差异。此外,荧光检测结果有助于我们发现新的内分泌信号传输链,还有助于我们发现调控特殊内分泌功能信号的未知基因。

Hyun-Ju Kim 等^[38]应用 cDNA 微阵列技术检测酿酒酵母基因组在不同环境胁迫下表达文库的差异,以此为依据来衡量纺织厂废水的潜在毒性。研究表明,酿酒酵母这种基因组 mRNA 表达文库差异性变化可以作为衡量环境污染物质潜在毒性的指标。实验证明,DNA 微阵列技术可以检测全基因组水平上的基因表达,通过分析环境污染物的毒性,为环境污染监测和早期预警提供了一种强有力的方法。

2.1.2 鉴别环境污染物的毒性作用的方式和基因表达的时序调控

Hossain 等^[39]应用 cDNA 微阵列技术成功的鉴别出一种铅诱导神经毒性的潜在的作用方式,这种神经毒性的作用机制是破坏血脑屏障的完整性。实验表明暴露在含铅培养基中的胎儿脑星形细胞血管渗透蛋白生长因子的表达水平增强了 3 倍,导致血脑屏障形成更多的血管而损害血脑屏障的完整性。应用同样的技术,Hossain 等还证明了铅能诱导脑星形细胞 annexin-V 基因表达水平的显著提高,而 annexin-V 正是铅毒性作用的细胞靶位点。实验证明 DNA 微阵列可以用于鉴定传统方法无法研究的环境污染物的毒性作用方式,为毒性作用机理的研究提供了一种有效的途径。

Yoneda 等^[40]将 cDNA 微阵列技术运用于研究人上皮细胞暴露于过氧化氢等氧化剂时基因表达的时序变化,实验中观察到了三个明显不同的时序变化阶段。这三个基因表达的阶段性时序变化较好的反应了在环境污染物胁迫下所引起的细胞暴露-效应关系。实验结果表明,利用 cDNA 微阵列技术研究机体基因表达的时序变化,可以较好地反映在持续污染物胁迫下机体的抵抗外界环境压力的基因调控机制,揭示毒性作用的基因表达谱。

2.1.3 利用 DNA 微阵列技术检测环境样品中基因多态性

Zhou J 等^[41]首次研制了用于复杂环境条件下的各种类型微生物检测和鉴定的基因芯片(Microarray),如功能基因芯片(Functional Gene Array)、群落基因组芯片(Community Genome Array)以及用于亲缘关系研究的寡聚核苷酸芯片(Phylogenetic Oligonucleotide Array),并成功地将这些芯片用于检测和鉴定土壤及海洋沉积物中各种类型的微生物。这些芯片具有快速、专一、灵敏、定量等优点。研究表明,DNA 微阵列技术是用于土壤环境监测的有利工具。

Franke-Whittle 等^[42]利用 16SrRNA 的可变区域制成的 DNA 微阵列来检测堆肥中微生物的丰度与多态性。通过微阵列检测发现堆肥中含有链球菌(*Streptococcus*)、不动菌属(*Acinetobacter lwoffii*)和破伤风梭状芽胞杆菌(*Clostridium tetani*)等多种微

生物。实验结果表明,DNA 微阵列技术能用来筛选鉴定环境样品中特定微生物种群以及不同微生物的存在与缺失。

Taroncher-Oldenburg 等^[13]成功地将 DNA 微阵列技术应用于水生生态系统中氮循环功能基因多样性的研究。该实验使用了两种 DNA 微阵列,第一个微阵列上固定有多种目标功能基因如 amoA(氨单加氧酶基因)、nifH(固氮酶基因)、nirK(含铜亚硝酸还原酶基因)以及 nirS(含细胞色素亚硝酸还原酶基因)。另一微阵列上固定有从河口沉积物中提取的亚硝酸还原酶基因。不同的环境样品杂交图谱的差异表明,样品间微生物群落的组成存在很大的差异,产生这种差异可能是由于生境的不同(如:盐度、无机氮和溶解性有机碳的含量)。这说明 DNA 微阵列技术是检测环境样品是否存在目标功能基因以及基因多态性的有力工具。

Michael Wagner 等^[14]应用 DNA 微阵列技术对活性污泥中微生物的群落结构进行了研究。微阵列分析结果显示活性污泥中多种菌胶团微生物、硝化细菌、反硝化细菌和聚磷菌且污水处理系统中反硝化作用非常活跃。该实验证实了 DNA 微阵列技术在检测环境样品微生物群落多态性的巨大应用潜力,同时还可以用来分析在特定基因表达与否以及其表达强度。

2.2 DDRT-PCR 在环境基因组学的应用

差异显示反转录 PCR(DDRT-PCR)是一种新的显示 mRNA 差异表达的技术,1992 年由梁鹏和 Pardee 等^[15]建立。它是以 PCR 和聚丙烯酰胺凝胶电泳为基础经过 5'端和 3'端引物的合理设计和组合,通过对不同细胞或组织的总 RNA 反转录生成的 cDNA 进行 PCR 扩增,将不同细胞或组织中表达的基因片段在 DNA 测序胶上电泳分离,从而筛选出不同细胞或组织中表达有差异的 cDNA 片段。该方法灵敏度高,且简单易行,主要用于分析 DNA 突变及多态性,检测同一组织细胞在不同状态下或在同一状态下多种组织细胞基因表达水平的差异,发现新的致病基因、疾病相关基因、抗性基因以及污染物降解性基因^[16-20]。

由于差异显示反转录 PCR 技术不断完善,在环境科学研究各个领域中都得到了广泛地应用。1992 年,梁鹏等^[15]就利用 DDRT-PCR 技术对正常的乳腺细胞与乳腺癌细胞间进行了比较,电泳检测发现 S1 和 S2 基因仅在正常乳腺细胞中才表达,而 M 基因只在乳腺癌细胞中表达。R. J. Van Beneden 等^[21]将 DDRT-PCR 技术应用于对环境内分泌干扰物四氯二苯并-p-二恶英(TCDD)诱导缅甸州软壳蛤性腺肿瘤的病理学研究。通过分析比较染毒前后基因表达的改变,共筛选出 14 个差异显示的 cDNA 片段。进一步分析了其中 3 条 cDNA 片段,并在基因库里找到了其同源基因,分别为编码人硫酸乙酰肝素蛋白聚糖、人 E6 结合蛋白以及人 P68 蛋白的基因。E. Corsini^[22]应用该方法进行了 SDS 和二硝基氯苯皮肤试验,从中筛选出两个选择性调控基因,它们分别是 ADRP(一种编码 53kDa 细胞膜结合蛋白的基因)和 KIAA0368。实验表明 DDRT-PCR 技术是筛选和检测新的致病及疾病相关基因强有力的工具。

2000 年 David M. Chen^[23]等运用差异显示反转录 PCR 技术筛选桉树小颈膜(*Eucalyptus microcorys*)在适应高盐胁迫环境下的抑制高盐刺激反应的调控基因。在实验过程中发现 690 和 900bp 两个特异性条带仅在盐敏感性培养基中表达强烈,其中,900bp 的 cDNA 片段与编码 *Arabidopsis thaliana* 微管蛋白的基因有 84%的同源性,而 690bp 的 cDNA 片段在基因库中没

有相关的同源基因,可能是一种新型的抑盐胁迫调控基因。由此可见,DDRT-PCR 是一种检测不同环境胁迫下基因表达水平的差异、分离筛选差异基因的有效方法。

2.3 SAGE 技术在环境基因组学的应用

基因表达序列分析一个非常有效的分析基因表达的方法,通过比较分析来自 cDNA 3' 端特定位置的一段 9-11bp 长的基因表达序列标签(SAGE tag)来区分基因组中差异表达的基因^[24]。它能够同时在两个或多个细胞或组织间对所有的差异表达的基因进行分析。通过制备 cDNA SAGE 标签并给这些标记序列做上一定的标记(Marker),将其随机连接、扩增、克隆,选择一定数量的克隆产物进行测序分析,不仅可以显示各 SAGE 所代表的特定基因在不同细胞或组织中是否表达,而且还可以根据各 SAGE 标签的出现频率来衡量该基因的表达强度。

SAGE 方法在环境科学的应用主要集中在各种环境污染作用下机体的毒理学研究以及生物对逆境胁迫抗性的功能基因组研究。通过对不同环境、不同生理病理状态下表达图谱的构建,对不同状态下基因表达水平进行定量或定性比较,探究基因表达与机体各种癌变、免疫以及抗逆性之间的关系^[25-27]。

1997 年,Zhang 等^[28]人利用 SAGE 方法对人类正常细胞与结肠癌以及胰腺癌细胞间基因表达的差异进行了研究。通过对从正常人、结肠癌患者和胰腺癌患者的结肠上皮细胞中采集的表达序列标签(Expressed Sequence Tags, ESTs)进行分析,结果表明大量的基因表达处于低水平,少量基因表达水平显著升高。比较正常胰脏组织和胰腺癌细胞 SAGE 资料发现有 136 个基因可能与癌组织的形成有关。实验表明,SAGE 技术有助于识别并研究机体的各种癌变机理和过程。

Cushman M.A.等^[29]将 SAGE 技术应用于研究在盐胁迫和正常环境下松叶菊(*M. crystallinum*)叶片细胞间基因表达的差异。通过对两者表达图谱差异的分析显示,与正常环境下相比,发现有 15%新的未知基因在盐胁迫下表达,仅有 13%的非冗余 ESTs 在盐胁迫和无胁迫下都表达。这表明在松叶菊叶片中可能存在有许多与胁迫抗性相关的功能基因。实验结果证明运用 SAGE 技术可以确定和筛选植物胁迫抗性及耐受性相关的基因位点和胁迫相关基因并利用基因组改良技术,培育能从土壤和矿物中提取金属植物的新品种。

2001 年,Shires J.等^[30]运用 SAGE 技术分析了小鼠肠上皮淋巴细胞(IEs)在弓浆虫(*Toxoplasma gondii*)感染下的标记序列,共鉴别出了 15,574 个独特的转录标签。通过对这些特异性的标签的分析,成功地识别出了一种有活性但还处于休眠状态的,Th1-歪斜的溶菌免疫调控的表型。该实验也进一步证实了通过继承性转移,IEs 是小鼠预防弓浆虫获得性感染的主要的免疫屏障。由此可知,SAGE 技术是研究寄生虫免疫学的强有力的工具。

3 环境基因组学相关学科的联系

3.1 环境基因组学与环境蛋白组学

虽然目前可以利用 cDNA 微阵列、SAGE 分析以及 DDRT-PCR 等功能基因组技术检测基因的表达产物 mRNA,可以在一定程度上反应其产物蛋白质的活动,但 mRNA 自身存在贮存、转运、降解、翻译调控同时蛋白质也存在修饰加工、转运定位、结构形成、蛋白质与蛋白质相互作用、蛋白质与核酸相互作用等活动,而这些均无法在基因组水平上获知,所以单

纯通过检测 mRNA 难以准确地反映基因的最终产物蛋白质的情况。由此产生了研究细胞内蛋白质的组成及其活动规律的新兴学科蛋白质组学(Proteomics)^[61-62]。蛋白质组学能从整体的蛋白质水平上,在一个更深层上来探讨和发现生命活动的根本规律及研究人类发病机制等。所以环境基因组学研究为环境蛋白组学的研究提供了必要的基础,其研究领域和趋势必然会向环境蛋白组学研究发展,环境蛋白组学是环境基因组的延伸与扩展。

3.2 环境基因组学与生物信息学

随着环境功能基因组研究的逐渐深入,cDNA 微阵列、DNA 芯片和 SAGE 分析等都将产生高通量、大规模的基因组信息,而且这些基因组信息正在以天文数字的计算量,规模化地积累数据和信息,分析如此庞大的信息非人力所能胜任,因此迫切需要一种技术对海量生物信息进行分析处理。生物信息学技术正好能满足环境基因组研究的这种需求。它以庞大的数据库作为支持,如核酸数据库、蛋白质数据库、结构数据库、二维凝胶电泳数据库、代谢数据库等资源对大规模的生物信息数据进行收集、整理与服务,并从中分析挖掘基因组序列中代表蛋白质和 RNA 基因的编码区,归纳、整理与基因组遗传信息表达及其调控相关的转录谱和蛋白质谱数据^[63-64]。生物信息学为功能基因组学提供了强有力的研究手段和直接推动力,发挥着日益重要的作用。基因组(包括蛋白质组和环境基因组)和生物信息学一体化的生物信息采集、分析和开发平台已成为 21 世纪最耀眼的新兴学科和产业发展方向之一^[65]。

4 展望

基因组时代的到来,给环境科学的研究提供了新的思路和研究方法。在环境基因组学发展的短短几年时间已对环境科学的理论、环境污染毒性评价的方法和模式、发现与界定降解污染物的功能基因及其菌株以及鉴定废水处理工艺中微生物群落等方面的研究产生了巨大的影响,环境生物信息学和环境蛋白组学更为环境基因组学的飞速发展插上了翅膀。可以预见,环境基因组学研究的兴起和发展将在揭示环境污染毒性识别与检测、致毒性机理、环境疾病的诊断、治疗以及污染生物修复与环境预警等方面发挥重要作用。

参考文献

- [1] Baltimore D. Our genome unveiled[J]. Nature,2001,409(6822):814
- [2] Venter C. The sequence of human genome [J]. Science, 2001,291(5507):1304
- [3] 张天宝. 毒物基因组学的研究现状和对毒理学今后发展的影响[J]. 毒理学杂志,2005,19(2):83-88
- [4] Wakefield J. Environmental genome project: Focusing on differences to understand the whole [J]. Environ Health Perspectives, 2002,110(2):A756-A759
- [5] 顾祖维. 现代毒理学研究方法进展及其热点 [J]. Public Health, 2005,21(2):254-256
- [6] Tennatnt RW. The National center for toxicogenomics: Using new technologies to inform mechanistic toxicology [J]. Environ Health Perspective, 2002,110(1):A8-A10
- [7] 童建. 毒理基因组学[J]. 卫生毒理学杂志,2002,16(1):53-55
- [8] 顾继东. 国外环境生物技术的发展 and 展望[J]. 生物科技通报,1999,6:8-12
- [9] Alexander M. Biodegradation and bioremediation[M]. 2nd. San Diego, California, USA: Academic Press, 1999:453
- [10] Young L Y. Cerniglia CE. Microbial transformation and degradation of toxic organic chemicals [M].eds.New York,USA:John Wiley & Sons Inc, 1995:654
- [12] Hurst CJ, Knudsen GR, McInerney MI, et al. Manual of environmental microbiology [M]. eds.Washington DC, USA:American Society for Microbiology Press, 1997:894
- [13] Dixon B. Bioremediation is here to stay [J]. ASM News, 1996,62:527-528
- [14] Amann RI, Ludwig W, Schleifer KH. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation[J]. Microbiological Review,1995,59:143-169
- [15] Fodor SP, Read JL, Pirrung MC, et al. Light-directed, spatially addressable parallel chemical synthesis[J]. Science, 1991,251:767-773
- [16] Schena M, Shalon D. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray[J]. Science, 1995,270:467
- [17] Tennatnt RW. The National center for toxicogenomics: Using new technologies to inform mechanistic toxicology [J]. Environ Health Perspect, 2002,110(1):A8-A10
- [18] Wakefield J. Environmental genome project: Focusing on differences to understand the whole [J]. Environ Health Perspectives, 2002,110(2):A756-A759
- [19] Booker SM. NIEHS news [J]. Environ Health Perspect, 2001,109(1):A22-A23
- [20] Afshari CA, Nuwaysir EF, Barrett JC. Application of complementary DNA microarray technology to carcinogen identification, toxicology, and drug safety evaluation[J]. Cancer Res, 1999,59:4759-4760
- [21] Nuwaysir EF, Bittner M, Trent J, et al. Microarrays and toxicology: the advent of toxicogenomics[J]. Carcinogenesis, 1999,24:153-159
- [22] Pennie WD, Tugwood JD, Oliver GJ, et al. The principles and practice of toxicogenomics: applications and opportunities [J]. Toxicol. Sci, 2000,54:277-283
- [23] Schena M, Shalon D, Davis RW, et al. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray[J]. Science,1995,270(4):67-70
- [24] Duggan DJ, Bittner M, Chen Y, et al. Expression profiling using cDNA microarrays[J]. Nat Genet, 1999,21:10-14
- [25] Kao CM. Functional genomic technologies: creating new paradigms for fundamental and applied biology [J]. Biotechnol Prog, 1999,15:304-311
- [26] Schena M, Heller RA, Konrad K, et al. Microarrays: biotechnology's discovery platform for functional genomics[J]. Trends in Biotechnology,1998,16:301-306
- [27] Loy A, Schulz C, Lucker S, et al. 16S rRNA gene-based oligonucleotide microarray for environmental monitoring of the β -proteobacterial order Rhodocyclales [J]. Appl Environ Microbiol, 2005,71:1373-1386
- [28] Loy A, Lehner A, Lee N, et al. An oligonucleotidemicroarray for 16S rRNA gene-based detection of all recognized lineages of sulfate-reducing prokaryotes in the environment [J]. Appl Environ Microbiol, 2002,68:5064-5081
- [29] Lehner A, Loy A, Behr T, et al. Oligonucleotide microarray for identification of Enterococcus species [J]. FEMS Microbiol Lett,

- 2005,246:133-142
- [30] Paul MJ, Foyer CH. Sink regulation of photosynthesis [J]. *Exp. Bot.*, 2001,52:1383-1400
- [31] Wustman BA, Oksanen E, Karnosky DF, et al. Effects of elevated CO₂ and O₃ on aspen clones varying in O₃ sensitivity: can CO₂ ameliorate the harmful effects of O₃?[J]. *Environ. Pollution*, 2001,115:473-481
- [32] Matsuyama T, Tamoaki M, Nakajima N, et al. cDNA microarray assessment for ozone-stressed *Arabidopsis thaliana*[J]. *Environ. Pollut.*, 2002,117:191-194
- [33] Gibson G. Micro-arrays in ecology and evolution: a preview [J]. *Mol. Ecol.*, 2002,11:17-24
- [34] Desprez T, Amselem J. Differential gene expression in *Arabidopsis* monitored using cDNA arrays[J]. *Plant*, 1998,14:643-652
- [35] Motoaki Seki. Monitoring the Expression Pattern of 1300 *Arabidopsis* Genes under Drought and Cold Stresses by Using a Full-Length cDNA Microarray[J]. *The Plant Cell*, 2001,13:61-72
- [36] Neslihan O. Monitoring large-scale changes in transcript abundance in drought- and salt-stressed barley [J]. *Plant Molecular Biology*, 2002,48:551-573
- [37] Emmanuel Francois, DongYu Wang. DNA microarrays for detecting endocrine-disrupting compounds [J]. *Biotechnology Advances*, 2003,22:17-26
- [38] Hyun-Ju Kim, Randeep Rakwal, Junko Shibato, et al. Effect of textile wastewaters on *Saccharomyces cerevisiae* using DNA microarray as a tool for genome-wide transcriptomics analysis [J]. *Water Research*, 2006,40:1773-1782
- [39] Hossain MA, Bouton CM, Pevsner J, et al. Induction of vascular endothelial growth factor in human astrocytes by lead, involvement of a protein kinaseC/activator protein-1 complex-dependent and hypoxia-inducible factor 1-independent signaling pathway [J]. *Bio Chem*, 2000,275:74-82
- [40] Yoneda K, Peck K, Chang MM, et al. Development of high-density DNA microarray membrane for profiling smoke- and hydrogen peroxide-induced genes in a human bronchial epithelial cell line[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2001,164:S8-S9
- [41] Zhou J. Microarrays for bacterial detection and microbial community analysis[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2003,6:288-294
- [42] Franke-Whittle IH, Klammer SH, Insam H. Design and application of an oligonucleotide microarray for the investigation of compost microbial communities[J]. *Microbiol. Methods*, 2005,62:37-56
- [43] Taroncher-Oldenburg G, Griner EM, Francis CA, et al. Oligonucleotide microarray for the study of functional genediversity in the nitrogen cycle in the environment [J]. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2003,69:1159-1171
- [44] Wagner M, Nielsen PH, Loy A, et al. Linking microbial community structure with function: fluorescence in situ hybridization-microautoradiography and isotope arrays [J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2006,17:83-91
- [45] Liang P, Pardee AB. Differential display of eukaryotic messenger RNA by means of the polymerase chain reaction [J]. *Science*, 1992,257:967
- [46] Rosok O, Odeberg J, Rode M, et al. Solid-phase method for differential display of genes expressed in hematopoietic stem cells [J]. *Biotechniques*, 1996,21(1):114-121
- [47] Liu LZ, Shearn A. Rapid PCR for RNA differential display in a conventional heat block thermal cycle [J]. *Biotechniques*, 1995,19(1):44-46
- [48] Jurecic R, Nachtman RG, Colicos SM, et al. Identification and cloning of differentially expressed genes by long-distance differential display[J]. *Anal Biochem*, 1998,259(2):235-244
- [49] Wang XB. Subtracted differential display: Genes with amphetamine-altered expression Patterns include calcineurin[J]. *Brain Res Mol Brain Res*, 1998,53(1-2):344-347
- [50] Fuchs B, Zhang K, Bolander ME, et al. Identification of differentially expressed genes by mutually subtracted RNA fingerprinting [J]. *Anal Biochem*, 2000,286:91-98
- [51] Van Beneden RJ, Rhodes LD, Gardner GR. Studies of the Molecular Basis of Gonadal Tumor in the Marine Bivalve *Mya arenaria* [J]. *Marine Environmental Research*, 1998,46:209-213
- [52] Corsini E, Sheasgreen J, Marinovich M, et al. Use of differential display-polymerase chain reaction to identify genes selectively modulated by chemical allergens in reconstituted human epidermis[J]. *Toxicology in Vitro*, 2002,16:427-431
- [53] David M, Chen Lou F. Differentially expressed genes identified during salt adaptation in *Eucalyptus microcorys*: down-regulation of a cDNA sequence coding for α -tubulin [J]. *Plant Physiol*, 2001,158:1195-1202
- [54] Velculeacu VE, Lin Zhang. Serial analysis of gene expression[J]. *Science*, 1995,270:484
- [55] Hibi K, Liu Q, Beaudry GA, et al. Serial analysis of gene expression in non-small cell lung cancer[J]. *Cancer Res*, 1998,58:5690-5694
- [56] Matsumura H, Nirasawa S, Terauchi R. Technical advance: transcript profiling in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings using serial analysis of gene expression[J]. *Plant J*, 1999,20:719-726
- [57] Madden SL, Galella EA, Zhu J, et al. SAGE transcript profiles for p53-dependent growth regulation[J]. *Oncogene*, 1997,15:1079-1085
- [58] Zhang L. Gene Expression Profiles in Normal and Cancer Cells[J]. *Science*, 1997,276:1268-1272
- [59] Cushman MA, Bufford D. An expressed sequence tag (EST) database for the common ice plant *Mesembryanthemum crystallinum*[J]. *Plant Physiol*, 1999:120-145
- [60] Shires J. Biological insights into TCR γ and TCR α intraepithelial lymphocytes provided by serial analysis of gene expression (SAGE)[J]. *Immunity*, 2001,15:419-434
- [61] Wasinger VC, Cordwell S. Progress with gene-product mapping of the Mollicutes: *Mycoplasma genitalium* [J]. *Electrophoresis*, 1995,16(7):1090-1094
- [62] Humphery smith L, Cordwell SJ, Blackstock WP. Proteome research: complementarity and limitations with respect to the RNA and DNA worlds[J]. *Electrophoresis*, 1997,18(8):1217-1242
- [63] Baldi P, Brunak S. Bioinformatics: the machine learning approach[M]. 2nd. Boston, Massachusetts, USA: MIT, 1998:23
- [64] 郝柏林. 生物信息学[J]. 中科院院刊, 2000,4:260-264
- [65] 林侠. 从基因、遗传密码到基因组学和生物信息学 [J]. *Medicine and Philosophy*, 2003,7(24):10-13