

# 簡介微陣列在感染症之應用

班仁知<sup>1</sup>、陳建民<sup>2</sup>

<sup>1</sup>國軍高雄總醫院內科部感染科，高雄，台灣

<sup>2</sup>國立中山大學生科所，高雄，台灣

## 摘要

傳統方法包括微生物培養並鑑定致病原 (pathogens) 及免疫學技術偵測特殊抗原，這些方法非常耗時，且某些微生物生長緩慢又不易培養，而免疫學方法亦因抗體交互作用易呈現假陽性。因此，基因體微陣列 (microarray) 應運而生，能對致病原做基因分型 (genotyping)，並得知菌種之致病性、演化、宿主特異性、毒力及抗生素抗藥性。微陣列所能提供而應用於感染症研究的範圍非常廣泛。藉由DNA微陣列有助於感染症早期診斷，了解感染途徑，並透過對抗藥分子機轉的認識，進而發展有效的疫苗及治療藥物，亦可用來評估宿主與微生物間的交互作用，並偵測及分析細胞內基因的表現。(生醫 2010;3(2):405-411)

關鍵字：微陣列 (microarray)、晶片 (chip)、探針 (probe)、寡核苷酸 (oligonucleotide)、致病原 (pathogens)

## 前言

當前台灣生技業中投入較多的明星產業就屬生物晶片。生物晶片的潛力就在於成功地將龐大數量資料微縮數位化成體積相當小的空間使用，生物晶片未來將運用在生命科學並結合積體電路 (Integrated circuit; IC) 的運用，DNA晶片 (chip) 對於生物科技產業的發展，可媲美半導體對於電腦工業的革命性發展。簡而言之，DNA晶片是結合生物、電腦、機械等領域的研究人員所發展出來的最新生物科技，因此帶動了人類基因功能的自動化分析。DNA晶片對於基因的檢測具有快速分析、準確率高以及可以同時大量檢測基因的優點，也因而改變了以前的研究人員終其

一生只鑽研一種基因的研究方式。

DNA微陣列 (microarray) 或晶片的原理即是利用DNA的腺嘌呤 (adenine; A)、胸腺嘧啶 (thymine; T)、胞嘧啶 (cytosine; C)、鳥嘌呤 (guanine; G) 四種鹼基 (base)，以A與T結合及C與G結合的原則將兩股DNA雜交 (hybridization) 的過程。將單股的DNA片段 (又稱探針; probe)，包括寡核苷酸 (oligonucleotide) 和存在於基因庫中互補序列的核苷酸 (complimentary DNA; cDNA)，以高密度的方式，點製在大約一平方公分大的玻璃片或是尼龍薄膜晶片上，而形成數千或數萬個點。將所欲偵測之檢體標的物標定螢光後與晶片進行雜交作用，經過清洗步驟後，雜

通訊作者：班仁知醫師

電話：886-7-7494941

傳真：886-7-7490589

地址：80284 高雄市苓雅區中正一路二號

電子郵件：benjbridge@gmail.com

交物質經雷射激發，再以光掃描儀掃描晶片，最後由電腦進行分析<sup>1</sup>。探針，亦可以溶液型態與固著於微陣列表面之標的物雜交<sup>2</sup>。南方墨漬法（southern blotting）中，將一小段寡核苷酸DNA，與不同大小的互補序列DNA片段在電泳膠中雜交，若寡核苷酸為放射性標識，此雜交的結果即可呈現於感光底片上。北方墨漬法（northern blotting）中，一放射性標識之寡核苷酸，與具專一性之特定信息RNA（messenger RNA; mRNA）雜交，即可在電泳膠中讀出與mRNA結合之位置。因此，DNA微陣列即為北方墨漬法及南方墨漬法之應用，甚至可取而代之<sup>1</sup>。微陣列於1990年初，由Schena等人於美國史丹佛大學所研發，目的在研究植物基因表現。利用含有植物基因序列之微陣列，於雜交實驗中以標定有螢光之樣本（植物mRNA），偵測植物基因表現，微陣列表面之螢光訊號即可定量（quantitate）基因<sup>2</sup>。

寡核苷酸標的物具有專一性之3'標的物序列，能在微陣列上進行專一性雜交反應而確認已知的基因或轉錄物，而聚合酶鏈鎖反應（polymerase chain reaction; PCR）產生的cDNA標的物則含有高度保留（highly conserved）之5'區，會產生交互雜交（cross hybridization），缺乏專一性<sup>3</sup>。

核酸微陣列之標的序列可利用單股寡核苷酸做為共同來源。寡核苷酸較短寡核苷酸長度長，GC含量高，其互補性更穩定，且裂解溫度較高。藉由與帶負電荷之磷基結合並減少標的物和探針間靜電排斥效應，高鹽（NaCl）濃度能使鹼基相對穩定。因此，微陣列雜交緩衝液適用高鹽（1.0M）濃度，以加速雜交速率並使標的物和探針雙股結構更加穩定。pH值介於6-8時，會使雜交穩定性提升；而pH值大於12時，雙股DNA快速變性，NaOH即為常用的變性劑（denaturant）；pH值低之緩衝液會破壞DNA的鹼基（去嘌呤作用），故不適用於微陣列雜交反應。而一些有機溶劑—甲醯胺（formamide）會與鹼基競爭氫鍵，裂

解溫度會降低，也因此甲醯胺具有減少非特異性雜交及背景螢光之好處<sup>3</sup>。

良好的微陣列品質必須具備下列四種特性：

- 一、排列性（ordered）：橫排直列而垂直交錯的點狀標的物附著於玻片基質（substrate）上，在此特定大小之空間及位置，有利於螢光標識、偵測、判讀及分析。
- 二、顯微性（microscopic）：一般不大於1mm（1000 μm）。微陣列標的物來自全基因或部份的基因，包括天然的或化學合成的衍生物，基因體DNA（genomic DNA）、互補DNA、信息RNA、蛋白質、小分子、組織等。
- 三、平面性（planar）：除了塑膠、矽膠材質之外，玻璃為廣泛使用之基質—二氧化矽，平面物質皆為固體，但固體並非全是平面。平面物質有利於自動化製造、精準掃描及影像處理，且具有不通透性、精巧以及需求少量參與反應溶液的特點。
- 四、特異性（specific）：溶液中之探針與微陣列上同性質標的物，產生獨特的生化交互作用，因而可將基因或基因產物定量分析（quantitative analysis）由定量基因轉錄產物或樣本間比率，可得知基因功能與細胞訊息、疾病之生理基礎以及環境的反應<sup>2</sup>。

微陣列遵循“一探針分子一標的物”之法則，藉由每一基因的多重微陣列元素，可增加精確度。在雜交實驗中，15-25個核苷酸標的序列為達到單一基因專一性之最小標的物長度。當使用50-5000個核苷酸之標的序列，便可提供廣泛的標的物與探針互補性（complementarity）及明顯的螢光訊號<sup>2</sup>。

## 即時聚合酶鏈鎖反應 (real time PCR)

聚合酶鏈鎖反應即是將兩個寡核苷酸引子 (oligonucleotide primer)，夾於雙股DNA兩旁，相對應互補位置接合後，利用DNA聚合酶 (polymerase) 進行標的物序列之複製 (replication)，在高溫時裂解變性 (denature)、低溫時黏合 (annealing) 之特性下，進行多次循環，即可達到DNA合成及複製的目的<sup>5</sup>。針對來自致病微生物基因體DNA之產物，DNA微陣列可用來偵測與探針具特異性之序列。因此微陣列與PCR結合，不會偵測出非特異性PCR產物，卻可增加PCR之特異性，微陣列之敏感性 (sensitivity) 亦可藉由小量微生物核酸序列之增幅而增加<sup>6</sup>。

即時聚合酶鏈鎖反應則能定量監測PCR每一循環累積的產物所放射出之螢光，此訊號強度與樣本中標的物DNA濃度成正比<sup>7</sup>。即時聚合酶鏈鎖反應定量方式有二種，一為利用DNA結合染劑 (SYBR Green I) 與雙股DNA結合，而定量出PCR產物 (被複製出來的一股DNA; amplicon) 之累積量；二為利用螢光探針 (TaqMan probes)，與標的物之PCR產物進行基因序列的專一性雜交，再經由DNA聚合酶水解螢光探針，所發出之螢光值即代表PCR產物量<sup>5</sup>。藉由標準曲線 (standard curve) 與相關的PCR訊號，可絕對定量轉錄物複製數 (transcript copy number)，而藉由mRNA或其他RNA等標的轉錄物 (target transcript) 的PCR訊號，呈現出基因表現的變化，則為相對定量，此一方法可定量mRNA的表現程度，並能確認DNA微陣列結果之效度<sup>7</sup>。

## 微陣列設計與技術

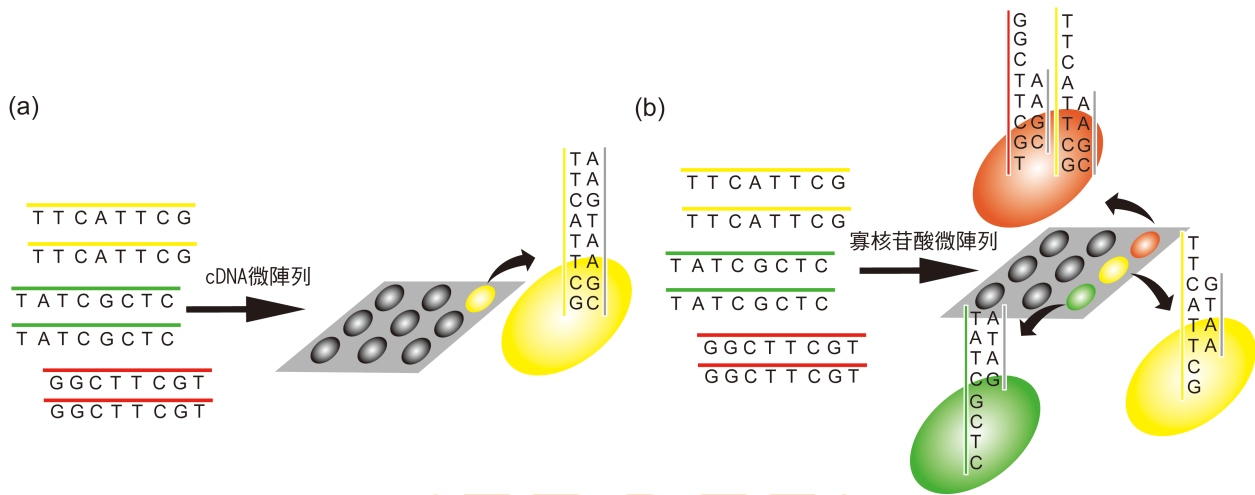
微陣列分析之基本步驟，即先將標的物cDNA或寡核苷酸，點製或印製於基質上，分離出的檢

體RNA，經合成cDNA並加以標識後，藉由基質與標的物雜交，呈現結果並進行影像分析<sup>5</sup>。cDNA為含有長度500-2,500的鹼基對，cDNA微陣列可與溶液中帶有螢光之探針廣泛性互補，呈現明顯雜交訊號，廣泛用於基因表現<sup>2</sup>。DNA微陣列可同時且快速的偵測到數以千計具有特異性的DNA序列或基因表現。微陣列有二種主要型態：(1) DNA微陣列，如基因體微陣列，由來自cDNA資料庫全基因體的片段基因體，或來自微生物菌株之開放閱讀框架 (open reading frame)，將其DNA碎片附著於玻璃或矽支持物上，經由標識的測試檢體核酸與其進行雜交反應。(2) 寡核苷酸微陣列，為含有18-70個核苷酸長度之寡核苷酸，用於偵測致病原及進行基因體分析，因其標的基因含有多重序列變異，使得多型性 (polymorphism) 偵測及菌株間辨識更敏感<sup>6</sup>。然而，利用合成的寡核苷酸標的物，在雜交反應中可產生高度專一性及良好的訊號強度<sup>2</sup>。寡核苷酸及cDNA微陣列型態統稱為核酸微陣列 (nucleic acid microarray) (圖一)<sup>2</sup>。

較短的寡核苷酸，經由完整相配，使得相等長度但不同的序列，會呈現不同的信號強度，但因短的寡核苷酸微陣列需用大量探針，耗費的金錢會增加。較長的寡核苷酸，則能偵測出發生顯著變異的基因群<sup>7</sup>。寡核苷酸微陣列用來偵測點突變，而DNA片段微陣列則能偵測染色體變化，進行基因體完整性測試 (genomic integrity test)<sup>8</sup>。有別於傳統利用凝膠 (gels)、濾膜 (filter membrane) 及純化柱 (purification column) 的研究方法，微陣列 (生物晶片) 技術大大增進了研究的速度及精確度<sup>2</sup>。

目前所知有多種微陣列廠牌，最常使用的微陣列產品Affymetrix GeneChip為短寡核苷酸晶片<sup>1</sup>，其優點為任何基因序列的微陣列都能由四個鹼基 (A, G, C, T) 製造，容易控制且晶片間差異性小，缺點是長度侷限於30個核苷酸以下 (通常為25個核苷酸)<sup>4</sup>，僅能處理單一螢光色素





圖一、含有單獨標記之信息核糖核酸 (messenger RNA; mRNA) 探針混合液，可與互補DNA (complementary DNA; cDNA) 微陣列之單獨的cDNA標的物雜交或與寡核苷酸陣列之多個相關寡核苷酸標的物雜交。(彩圖詳見本刊網頁)

(fluorochrome)，因此需兩片晶片比較樣本及控制組<sup>1</sup>。另一主要產品為Spotted arrays，利用機械將溶液中探針汲取少量移至玻片上，其優點為較有彈性，可設計任何探針 (cDNA、PCR產物或寡核苷酸) 供點製於陣列上，並利用不同螢光色素區分同一晶片之樣本及控制組，缺點是點製不易標準化且價格較高<sup>1</sup>。

## 利用DNA微陣列偵測致病原及其應用

致病原偵測有三個目標：(一) 致病原是否存在？(二) 致病原是否存活？(三) 估算致病原數量。DNA微陣列能偵測致病原的存在，而活存的致病原可測得mRNA，微陣列雜交訊號會受到標的物數量及與探針核苷酸的配對程度干擾，而半定量的方法可能適合於擁有少量固有遺傳變異的致病原標識<sup>9</sup>。

微生物培養並鑑定致病原及利用免疫學技術偵測特定抗原等的傳統方法，無法得知致病原潛在致病性及毒力，這些方法非常耗時，且某些微生物生長緩慢，培養不易，而免疫學方法

會因抗體交互作用呈現假陽性 (false positive)<sup>6</sup>。因此，利用全基因體及混合基因體微陣列，能測得致病原的基因分型與基因多樣性 (genetic diversity)，再依種系發生 (phylogeny) 來做分類，即能辨識各菌種間保守或變異基因的多型性，做流行病學研究，以得知菌種的致病性、演化情形、毒力強度、抗生素抗藥性及宿主特異性等情況<sup>6</sup>。

PCR產物可結合微陣列以便偵測致病原：

(1) 利用一個或多個保守基因—16S rRNA、18S rRNA、23S rRNA基因，篩檢具有特異多型性之致病原。(2) 使用多重PCR (multiplex PCR) 增幅一些特異性基因，經由DNA微陣列偵測已標識的致病原，進而發展出與食物相關細菌，如 *Escherichia coli* O157:H7, *Campylobacter* sp. *Vibrio* sp., *Listeria* sp., 與病毒等的測試方法。(3) 利用任意的 (arbitrary)，隨機的 (random)，重複的元素 (repetitive element) 等PCR方法增幅DNA片段，與微陣列結合以進行菌株之偵測及分型。但是全基因體的增幅，會因為宿主DNA與致病原DNA同時增幅而降低致病原偵測的敏感度，並干擾其特異性，因此，並不適合組織樣本中致病原

DNA的研究<sup>9</sup>。

大量DNA序列點於微陣列上，與固定的基因標的物具高度結合特異性，能偵測出廣泛的生物並具高度辨別力。微陣列可用於每一基因標的物之多重不同序列的變異，以偵測致病原之多型性。而菌種鑑定需寡核苷酸序列的互補雜交，並非PCR產物之大小，因此，與multiplex PCR產物在凝膠分析相較，微陣列具有高度的特異性<sup>10</sup>。

每一分離物皆能產生獨特的雜交型態，因此，微陣列能偵測出隨機突變（random mutation），不同型態的微陣列，其偵測敏感度亦有不同。點DNA陣列（spotted DNA array）結合了整個基因，能偵測出佚失（deletion）及插入（insertion）序列。相反地，短寡核苷酸序列（20 mer）的寡核苷酸陣列，僅能偵測單一點突變（single point mutation）<sup>10</sup>。當標的物含有大量的核酸時，不需增幅即可直接偵測。DNA可直接自微生物分離出，將其標定後，與全基因體微陣列或基因庫的微陣列雜交，或與含有特異性毒力記號或抗生素抗藥性基因之微陣列雜交。雖RNA相較於DNA不穩定，但因其具有更高的複製數，所以目前仍是直接雜交首選的標的<sup>9</sup>。藉由微陣列可偵測微生物的毒力基因，而突顯出動、植物食品或食物樣品中微生物之致病型。致病微生物具有抗生素抗藥性的特徵，必須追蹤並確認，以確保食品安全。利用寡核苷酸微陣列，可偵測相關抗藥菌的點突變，並能篩選抗生素抗藥性基因<sup>6</sup>。

臨床微生物使用的生物晶片型態有二種：（1）微陣列或生物晶片（biochips），用於疾病診斷、新藥或是藥物標的之研究；（2）實驗室晶片（labchips），可作為多重測試之診斷工具，尤其是點照顧測試（point-of-care testing），於病人就近處進行實驗室外的診斷與分析，尤其適用於災難等緊急狀況及群突發調查，亦可針對重症危急病人進行快速診斷<sup>11</sup>。

微陣列可進行結核分枝桿菌（*Mycobacterium tuberculosis*），*Escherichia coli*，*Staphylococcus aureus* 及 *Helicobacter pylori* 等微生物的基因表現及多型性研究<sup>11</sup>。利用寡核苷酸微陣列可偵測細菌—*Listeria monocytogenes*，*Salmonella*，*E. coli* O157:H7，病毒—*Norovirus* 及寄生蟲—*Entamoeba histolytica*，*Entamoeba dispar*，*Giardia lamblia*，*Cryptosporidium parvum* 等食物相關的致病原<sup>6</sup>。DNA微陣列也適用於細菌性腹瀉病患的診斷，利用其探針可成功分辨14種不同屬（genera）或種（species）的腸道致病菌，較傳統細菌培養，為高效能及高精確性方法，敏感性（100%）及特異性（95.2%）皆高<sup>12</sup>。微陣列結合PCR以增幅核糖體RNA（ribosomal RNA; rRNA），即使少至10 colony forming unit (CFU) /mL之細菌量亦可偵測出，而能快速診斷，即時聚合酶連鎖反應與微陣列結合，更能將致病原定量<sup>6</sup>。一些常見卻難以診斷的腦膜炎案例，亦可利用微陣列技術偵測出病毒（如echovirus, herpes simplex virus type 2, varicella-zoster virus, cytomegalovirus, Epstein-Barr virus等）或細菌（如*Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Klebsiella pneumoniae*等）而獲得確切診斷<sup>13,14</sup>。為了彌補結核分枝桿菌培養耗時及痰液檢體不足而顯微鏡檢無法及時測出的缺陷，臨床痰液檢體可利用gyrB基因專一性的寡核苷酸探針進行DNA微陣列分析，鑑定包括結核分枝桿菌等的14種分枝桿菌（*Mycobacterium species*）<sup>15</sup>。微陣列技術應用在臨床實驗室較為昂貴，且需有熟練的技術人員才能有效分析大量資訊。但相較於傳統培養技術，微陣列是區別不同菌株，確認並辨識菌種間不同序列基因的快速有效的方法<sup>6</sup>，能在短時間內於一次實驗中完成數以千計的基因分析<sup>15</sup>。

利用DNA微陣列有助於感染症早期診斷，了解感染途徑並清楚疾病不同表徵之機轉，更能透過對抗藥性分子機轉的認識，進而發展有效的疫苗及治療藥物。美國陸軍感染症醫學研究所針對疾病的診斷和預防來進行瘧疾、恙蟲病、

登革熱、日本腦炎及腺病毒的研究。其中登革熱的微陣列研究堪稱為此領域的先驅。包括發展敏感而快速的配置系統，早期診斷及預測疾病嚴重等級，以及疫苗研發及測試，並觀察免疫反應及不同病徵的變化，以清楚了解宿主的保護機轉。瘧疾方面，則進行抗瘧疾藥物—chloroquine的抗藥性研究。微陣列也能針對人類免疫不全病毒（human immunodeficiency virus; HIV），研究人類周邊單核球細胞（human peripheral blood mononuclear cell）體外感染的基因表現。除了一般感染症的早期診斷之外，微陣列技術更能區別生物戰劑與一般病原，以便及早因應與防範<sup>16</sup>。

### DNA微陣列評估宿主—微生物交互作用及益生菌族群之角色

利用DNA微陣列可用來偵測及分析細胞內的基因表現。在感染及發炎的組織，誘發細胞激素進而增加嗜中性白血球（neutrophil），並分泌含有多功能醣蛋白（glycoprotein）之乳鐵蛋白（lactoferrin）顆粒，能與細菌胞壁的脂多醣（lipopolysaccharide）結合，而具有抗發炎作用。腸道上皮細胞遭受侵犯性或非侵犯性E.coli感染時，誘發的前發炎細胞激素（proinflammatory cytokine），上皮細胞經由微生物傷害所誘發之前發炎細胞激素，扮演著黏膜免疫（mucosal immunity）的重要角色。乳鐵蛋白隨即增加，進而降調前發炎細胞激素，減少細胞損傷及感染蔓延。乳鐵蛋白減少細胞激素轉錄及分泌的現象，可利用DNA微陣列偵測mRNA而獲得證實<sup>17</sup>。許多慢性病會導致宿主的基因體變化，而此人類基因體基因序列的資訊，可發展成為對宿主基因改變具特異性的微陣列，並能辨識宿主在慢性感染中發生的變化。諸如Chlamydia pneumoniae 與動脈粥樣硬化、Helicobacter pylori與胃癌以及B型及C型肝炎與肝癌之關係等，藉由微陣列的發展可辨識出宿主的變化，進而診斷慢性感染疾病，更能提供疾病過程及治療效果的相關資訊<sup>5</sup>。

人類腸道細菌超過500種，但某些能藉由增進腸道正常菌叢間的平衡，對宿主產生有利影響的細菌，稱為益生菌（probiotics）。常見益生菌包括Lactobacillus, Bifidobacterium, Enterococcus sp.等。益生菌藉由致病菌的排除、對宿主營養的補充、以及免疫調節而促進人類的健康。理想的益生菌必須是無毒性且非致病性，在胃腸道中能生存及代謝，不被胃酸及膽汁破壞，並能阻止致病菌在宿主的腸胃道中附著及複製。在免疫不全的宿主體內，益生菌也不會是機會性致病菌，且在食物處理及保存過程中可穩定的存活。微陣列能研究大量微生物之基因體，及益生菌對人類腸道生態系統的結構及功能之影響，並針對益生菌對宿主的健康或腸道微生物的交互作用進行研究，同時亦可找出何種基因會受治療的影響，並可研究及分析大量基因<sup>7</sup>。鼠李糖乳桿菌（Lactobacillus rhamnosus GG; LGG），可影響與細胞黏合，免疫反應及發炎，細胞凋亡及細胞生長、轉錄、細胞連繫、防禦反應及細胞週期有關之基因。微陣列能提供益生菌鼠李糖乳桿菌在宿主細胞內交互作用的相關資訊，進而了解益生菌對宿主腸道的平衡作用，及促進人類健康之機轉<sup>7</sup>。

### 結語

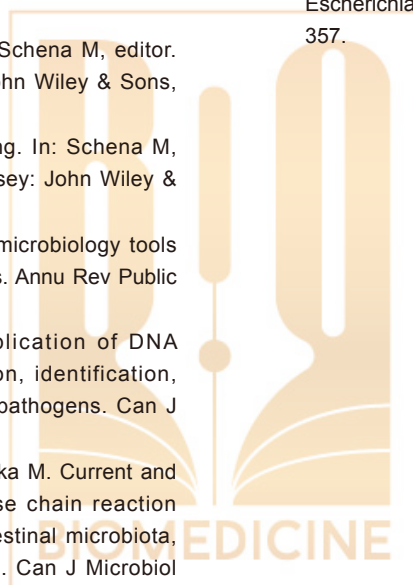
微陣列在感染症之應用非常廣泛，利用DNA微陣列可偵測出致病原，並確定是否存活，更能估算出數量。對於感染症流行病學調查，感染群突發之調查及感染症早期的診斷，以及經由對感染途徑及疾病不同表徵機轉的了解，並透過對抗藥性分子機轉的認識，進而發展有效的疫苗及治療藥物，都是微陣列所能提供的研究範圍。人類基因序列會因慢性病導致宿主基因體變化，而對宿主產生特異性基因變化，微陣列的發展更可提供差異性的辨識，並能診斷出慢性病。近年來對益生菌族群的相關評估很多，益生菌對人類腸道生態系統的關係，以及其對宿主結構及功能之影響，可利用微陣列技術一窺究竟。因此，微陣列



是新穎而準確的檢驗工具，提供了感染症應用的新契機。

## 引用文獻

1. Knudsen S. Introduction to DNA microarray technology. In Knudsen S, editor. Guide to analysis of DNA microarray data, 2nd edition. New Jersey: John Wiley & Sons, 2004:1-22.
2. Schena M. Introduction to microarray analysis. In: Schena M, editor. Microarray analysis. New Jersey: John Wiley & Sons, 2003:1-25.
3. Schena M. Targets and probes. In: Schena M, editor. Microarray analysis. New Jersey: John Wiley & Sons, 2003:121-157.
4. Schena M. Microarray manufacturing. In: Schena M, editor. Microarray analysis. New Jersey: John Wiley & Sons, 2003:159-195.
5. Robertson BH, Nicholson KA. New microbiology tools for public health and their implications. *Annu Rev Public Health* 2005;26:281-302.
6. Kostrzynska M, Bachand A. Application of DNA microarray technology for detection, identification, and characterization of food-borne pathogens. *Can J Microbiol* 2006;52:1-8.
7. Carey CM, Kirk JL, Ojha S, Kostrzynska M. Current and future uses of real-time polymerase chain reaction and microarrays in the study of intestinal microbiota, and probiotic use and effectiveness. *Can J Microbiol* 2007;53:537-550.
8. Sevenet N, Cussenot O. DNA microarrays in clinical practice: past, present, and future. *Clin Exp Med* 2003;3:1-3.
9. Call DR. Challenges and opportunities for pathogen detection using DNA microarray. *Crit Rev Microbiol* 2005;31:91-99.
10. Bryant PA, Venter D, Robins-Browne R, Curtis N. Chips with everything : DNA microarrays in infectious diseases. *Lancet Infect Dis* 2004;4:100-111.
11. Hervás F. Chip-mediated techniques: how close are we to generalized use in the infectious disease clinic? *Clin Microbiol Infect* 2004;10:865-867.
12. Mao Z, Zheng H, Wang X, Lin S, Sun Y, Jiang B. DNA microarray for direct identification of bacterial pathogens in human stool samples. *Digestion* 2008;78:131-138.
13. Boriskin YS, Rice PS, Stabler RA, Hinds J, Al-Ghusein H, Vass K, Butcher PD. DNA microarrays for virus detection in cases of central nervous system infection. *J Clin Microbiol* 2004;42:5811-5818.
14. Ben RJ, Kung S, Chang FY, Lu JJ, Feng NH, Hsieh YD. Rapid diagnosis of bacterial meningitis using a microarray. *J Formos Med Assoc* 2008;107: 448-453.
15. Fukushima M, Kakinuma K, Hayashi H, Nagai H, Ito K, Kawaguchi R. Detection and identification of Mycobacterium species isolates by DNA microarray. *J Clin Microbiol* 2003;41:2605-2615.
16. Draghici S, Chen D, Reifman J. Applications and challenges of DNA microarray technology in military medical research. *Military Medicine* 2004;169:654-659.
17. Berlutti F, Schippa S, Morea C, Sarli S, Perfetto B, Donnarumma G, Valenti P. Lactoferrin downregulates pro-inflammatory cytokines upexpressed in intestinal epithelial cells infected with invasive or noninvasive Escherichia coli strains. *Biochem Cell Biol* 2006;84:351-357.



生物醫學  
BIOMEDICINE JOURNAL