

## 综述

## 基因芯片技术在营养学领域的应用

李杰 霍军生

(中国疾病预防控制中心营养与食品安全所,北京 100050)

**摘要:**基因芯片技术是一种多学科交叉融合的高新技术,具有高通量、微型化、自动化等特点。综述了基因芯片的基本原理、在营养学领域的应用并对当前基因芯片应用中存在的问题及其今后在营养学方面的发展前景做了分析展望。

**关键词:**芯片分析技术;生物技术;营养;分子营养

## Application of Gene Chip to Nutrition

LI Jie, HUO Jun-sheng

(National Institute for Nutrition and Food Safety, Chinese CDC, Beijing 100050, China)

**Abstract:** The gene chip technique is a high and new technique which develops from combination of multi-scientific areas, and it provides a powerful tool for molecular nutrition because of its characters of high analysis capacity, micromation and automation. This discussions were mainly focused on the application of gene chip in current researches of nutrition and development in future as well.

**Key word:** Microchip Analytical Procedures; Biotechnology; Nutrition; Molecular Nutrition

基因芯片技术是 20 世纪 90 年代以来生命科学领域中的重大科技进展之一,是融合分子生物学、化学、微电子学、计算机科学、统计学和生物信息学等诸多学科为一体的高新技术。自从 1992 年 Schena 等<sup>[1]</sup>首次制出世界上第一块基因芯片后,近年来基因芯片技术不断得到完善,并在诸多领域显示出了巨大的应用价值。营养学作为生命科学的重要分支之一,也受益于基因芯片技术的发展,下面就基因芯片技术的概念、原理及在营养学中的应用加以阐述。

## 1 基因芯片技术

1.1 概念及原理 基因芯片(gene chip),又称 DNA 芯片(DNA chip)、DNA 微阵列(DNA microarray),是生物芯片的一种<sup>[2]</sup>,是将大量(通常每平方厘米点阵密度高于 400)探针分子固定于载体(如玻片、硅片、聚丙烯酰胺凝胶、尼龙膜等)上,在特定条件下与已标记的待测 DNA 样品分子杂交,利用激光共聚焦荧光检测系统等光学仪器进行数据采集,并借助计算机软件进行数据分析,从而得到样品的分子信息。<sup>[3,4]</sup>基因芯片技术具有高通量、微型化、自动化、高度并行性等特点<sup>[5]</sup>,一张邮票大小的芯片即可实现同时对数万个功能基因的分析<sup>[6]</sup>,大大提高了检

测效率。<sup>[7]</sup>

基因芯片的主要原理是将探针分子固定在支持物上,根据碱基互补配对原理,探针分子与标有荧光染料的待测 DNA 或 RNA 杂交,通过检测杂交信号的强度及分布,获取样品分子的数量和序列信息。<sup>[8]</sup>基因芯片主要用于生物样品中各种已知或未知的核酸序列表达的检测和比较研究。

1.2 分类 根据不同分类标准,基因芯片的分类方法很多:根据片基上探针类型不同可分为寡核苷酸芯片和 cDNA 芯片;根据固相介质的不同,基因芯片可分为无机芯片(玻璃、硅片等)和有机芯片(聚丙烯膜、硝酸纤维素膜等);根据芯片制备方式不同,可分为原位合成芯片、微矩阵芯片和电定位芯片;根据用途的不同可分为基因表达芯片、基因测序芯片、诊断芯片等。

## 2 基因芯片技术在营养学领域的应用

2.1 营养相关基因功能研究及营养素相互作用研究 营养成分与细胞作用后将引起细胞外部形态及代谢过程发生一系列的变化。通过检测分析营养物质对细胞基因表达的影响,可以推测营养成分的作用机制。通过观察细胞在营养成分作用前后的变化,可以评价营养成分的活性和毒性,进而确认该物质的作用靶位点<sup>[9]</sup>。

目前,营养相关基因功能研究的重点在于通过

作者简介:李杰 女 硕士生

观察比较机体在营养素正常、缺乏或过量状况下基因表达的变化,以期阐明营养素在体内发挥生物学作用的分子机制。Lvakhovith 等人<sup>[11]</sup>利用 DNA 芯片技术研究了 1,25-二羟维生素 D<sub>3</sub> 对生长因子 FGF-7 表达的影响,发现细胞经维生素 D 处理后,在 mRNA 水平及蛋白质水平 FGF-7 的表达均有明显的增加。揭示了维生素 D 可能通过调节 FGF-7 的表达而调节细胞的生长分化。Catani 等人<sup>[12]</sup>利用 cDNA 微阵列研究了维生素 C 的抗紫外线辐射的机制。研究提示,维生素 C 是通过激活 JNK/AP-1 途径以及调节与 AP-1 有关基因的表达式调节细胞反应,从而抵消紫外线引起的细胞损伤及细胞凋亡。

Takahashi 等人<sup>[10]</sup>利用微阵列芯片检测了食用高鱼油饮食 6 个月小鼠肝中 6 521 个基因的表达。结果发现富含 *n*-3 系列多不饱和脂肪酸的鱼油可以降低与活性氧有关因子(如羟化固醇及芳香酚形式的硫转移酶)的基因表达并可以提高一些抗氧化基因的表达(如谷胱甘肽转移酶和锰-超氧化物歧化酶)。

在能量对机体作用方面,Weindruch 等人<sup>[13]</sup>利用 6 347 个基因的高密度寡聚核苷酸芯片研究了小鼠衰老过程基因表达谱的改变及能量限制(energy restriction)所引起的表达谱的改变。研究结果显示,衰老与合成代谢相关基因表达量减少有关,而能量限制可阻止或部分阻止这种基因表达量的减少。能量限制通过促进代谢、增加蛋白质表达量和降低大分子损伤而延缓衰老过程。

**2.2 基因芯片在研究营养素与肿瘤细胞表达关系方面的应用** Jhaveri 等人<sup>[14]</sup>利用 cDNA 微阵列研究了降低细胞外叶酸浓度对人肿瘤细胞基因表达的影响。经筛选,发现仅有 8 个基因的表达发生改变,其中 3 个为上调序列,5 个为下调序列。结果说明,降低细胞外叶酸浓度会促进一些基因的表达同时会抑制一些基因的表达。叶酸缺乏与特定基因的甲基化/去甲基化有关,而不是与所有 DNA 的去甲基化都有关。

Rao 等人<sup>[15]</sup>采用微阵列芯片对低硒饮食的 C57Bl/6J 小鼠小肠基因表达水平进行了检测。相对于高硒饮食组,6 347 个被检测的基因中,84 个基因的表达量增加了 2 倍,48 个基因的表达减少了 75%。研究结果表明,低硒会导致 DNA 损伤/氧化诱导的基因(如 *gadd34*、*gadd45*)表达升高,而使一些硒蛋白基因及解毒酶(如谷胱甘肽过氧化物酶)表达降低。

**2.3 基因芯片在研究营养需要与基因多态性的方面的应用** 对于营养素需要量的个体差异,过去一

般均笼统地以遗传差异解释,但对于遗传差异的本质很难深入解释。近年来,随着分子生物学技术方法发展,营养工作者能够从分子水平认识个体营养素需要量差异的本质。研究发现,一些营养代谢相关基因的突变将引起营养代谢的改变。<sup>[16]</sup>为了揭示个体间血浆胆固醇对于提高膳食胆固醇反应差异的原因,Weggemans 等人<sup>[17]</sup>利用微阵列芯片对 405 个研究对象的 10 个基因多态性进行了 20 年的研究。结果显示,男性载脂蛋白 *a*4 360-2 等位基因减弱了膳食胆固醇所引起的低密度脂蛋白胆固醇变化。在携带胆固醇酯转移蛋白 TaqIb-1 等位基因的个体中,膳食反应性高密度脂蛋白胆固醇变化较 TaqIb-2/2 基因型个体要小。研究认为,载脂蛋白 A4 360 和胆固醇酯转移蛋白 TaqIb-1 基因多态性可能影响膳食反应。

**2.4 在营养基因组学方面的应用** 营养基因组学(nutrigenomics)是继药物基因组学后源于人类基因组计划诞生的一门新兴前沿学科。2002 年初,第一届国际营养基因组学会议在荷兰召开,突出地显示出在营养学研究中基因因素已经成为不可忽略的一个重要组成部分。<sup>[18]</sup>营养基因组学是研究营养素和植物化学物质对人体基因的转录、翻译以及代谢机制的科学。它以分子生物学技术为基础,利用 DNA 芯片、蛋白质组学技术等来研究食品的营养成分、营养素与基因表达的关系、膳食与基因的交互作用及基因表达和单核苷酸多态性与疾病发生发展的关系。从而推测预防和治疗疾病与营养素、基因产物之间存在的关系,为揭示疾病预防机制提供理论依据<sup>[19-21]</sup>。龙建纲等人<sup>[22]</sup>利用基因芯片检测了缺锌仔鼠脑中差异表达基因。研究认为,孕期及哺乳期轻度缺锌可造成仔鼠成年后学习记忆能力下降,同时也影响海马的突触可塑性,故孕期是锌缺乏造成脑功能损伤的关键时期。

### 3 基因芯片在营养学领域应用的前景及展望

如何根据个体的基因型来规范个体膳食将是未来营养学研究的的发展方向。通过利用基因芯片技术可以鉴定个体基因构成以及代谢型<sup>[23]</sup>,制定符合个体基因背景的膳食方案,使个体的营养状况及健康状况通过膳食调整达到最佳。Matthew Roberts 等人认为,未来食物和营养对健康和预防医学的影响程度将取决于分析食物或某种营养素对个体健康影响的能力<sup>[24]</sup>。

营养缺乏和营养过剩问题是一个全球性的问题。<sup>[25]</sup>利用基因芯片技术研究营养素与基因表达的关系,将为揭示疾病预防机理提供新的依据。今后,

基因芯片技术将在如下营养研究领域发挥重要作用:营养与肿瘤相关基因表达的研究,如癌基因、抑癌基因的表达与突变;营养与心脑血管疾病关系的分子水平研究;营养与高血压、糖尿病、免疫系统疾病、神经系统、内分泌系统关系的分子水平研究。

作为新兴的生物技术,基因芯片本身尚需进一步的发展。除了需在应用技术领域进一步开发外,国内外芯片行业目前还面临着尚未建立芯片金标准的难题,缺乏一种包含从样品准备,到探针设计,再到数据分析在内的所有过程的标准和质量控制尺度,缺乏这些标准已经引起了芯片制作分析的一些问题。对此,国内外芯片行业人士正在做积极的努力和研发。由美国食品药品监督管理局的华人科学家石乐明领导的研究团队已提出了一个标准项目:芯片质量控制(microarray quality control, MAQC)计划。我国也于2008年10月成立了全国生物芯片标准化技术委员会,负责生物芯片的基础、相关产品及检测方法领域的国家标准制修订等工作。随着芯片技术和标准的不断完善,相信在不远的将来,基因芯片技术在营养学领域的进一步应用将为促进人类健康带来新的福音。

## 参考文献

- [1] SCHENA M, SHALON D, DAVIS R W, et al. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. [J] *Science*, 1995, 270: 467-470.
- [2] JOSEPH W. From DNA biosensors to gene chips[J]. *Nucleic Acids Res*, 2000, 28: 3011-3016.
- [3] RAMSAY G. DNA chips: state-of-the art[J]. *Nature Biotechnology*, 1998, 16(1): 40-44.
- [4] WU QING-YU. *Foundation life science* [M]. Beijing: Higher education press, 2002: 248-249.
- [5] GROW A E, WOOD L L, CLAYCOMB J L, et al. New biochip technology for label-free detection of pathogens and their toxins[J]. *J Microbiol Methods*. 2003, 53: 221-233.
- [6] LYNE R, BURNS G, MATA J, et al. Whole-genome microarrays of fission yeast: characteristics, accuracy, reproducibility, and processing of array data[J]. *BMC Genomics*, 2003, 4: 27.
- [7] 陈忠斌. 生物芯片技术[M]. 化学工业出版社, 2005.
- [8] DINH V. Development of a DNA biochip: principle and applications sensors and actuators B[J]. *Chemical*, 1998 (1-3): 52-59.
- [9] 黄现青, 臧为民, 赵改名, 等. 生物芯片在食品检测中的应用[J]. *生物技术通讯*, 2007, 6(18): 1068-1070.
- [10] TAKAHASHI M, NOBUYO T K, TERUYO N, et al. Fish oil feeding alters liver gene expressions to defend against PPAR activation and ROS production[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2002, 282: 338-348.
- [11] LYAKHOVICH A, AKSENOV N, PENNANEN P, et al. Vitamin D induced up-regulation of keratinocyte growth factor (FGF7/KGF) in MCF-7 human breast cancer cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 273(2): 675-680.
- [12] CATANI M V, ROSSI A, COSTANZO A, et al. Induction of gene expression via activator protein-1 in the ascorbate protection against UV-induced damage[J]. *Biochem J*, 2001, 356: 77-85.
- [13] WEINDRUCH R, KAYO T, LEE C K, et al. Microarray profiling of gene expression in ageing and its alteration by caloric restriction in mice[J]. *J Nutr*, 2001, 131(3): 918-923.
- [14] JHAVERI M S, WAGENER C, TREPEL J B. Impact of extracellular folate levels on global gene expression[J]. *Mol Pharmacol*, 2001, 60(6): 1288-1295.
- [15] RAO L, PUSCHNER B, PROLLA T A. Gene expression profiling of low selenium status in the mouse intestine: transcriptional activation of genes linked to DNA damage, cell cycle control and oxidative stress[J]. *J Nutr*, 2001, 131: 3175-3181.
- [16] 郭长江. 营养需要量与基因多态性[J]. *解放军预防医学杂志*, 2006, 24(3): 231-233.
- [17] WEGGEMANS R M, ZOCK P L, ORDOVAS J M, et al. Genetic polymorphisms and lipid response to dietary changes in humans[J]. *Eur J Clin Invest*, 2001, 31(11): 950-957.
- [18] HEIKE T D, HANS P R, HANNELORE D, et al. Identification of genes with altered expression in zinc-deficient rats by use of DNA microarrays. The first international nutrigenomics conference [C]. 2002 in Noordwijk aan Zee, The Netherlands.
- [19] MIRACLIA M, BERDAL K G, BRERA C, et al. Detection and traceability of genetically modified organisms in the food production chain[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2004, 42: 1157-1180.
- [20] FIELDEN M R. Effect of human dietary exposure levels of genistein during gestation and lactation on long-term reproductive development and sperm quality in mice[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2003, 41: 447-454.
- [21] ANKLAM E, GADANI F, HEINZE P, et al. Analytical methods for detection and determination of genetically modified organisms in agricultural crops and plant-derived food products[J]. *European Food Research and Technology*, 2002, 3: 23-26.
- [22] 龙建纲, 张燕琴, 沈慧, 等. 基因芯片技术筛选孕期缺锌仔鼠脑中差异表达基因[J]. *营养学报*. 2004, 26(2): 89.
- [23] PEREGRIN T. The new frontier of nutrition science: nutrigenomics[J]. *J Am Dietetic Assoc*, 2001, 101: 1306-1306.
- [24] MATTHEW R, WOLFGANG G, J BRUCE G. The revolution in microanalytic chemistry: a macro-opportunity for clinical nutrition[J]. *Am J Clin Nutr*, 2000, 71: 434-437.
- [25] 农业部、卫生部、科技部与国家食物与营养咨询委员会编写. 中国食物与营养发展纲要 2001 - 2010 年[Z].

[收稿日期: 2009 - 02 - 06]

中图分类号: R15; Q33 文献标识码: E 文章编号: 1004 - 8456(2009)02 - 0169 - 03