

基因芯片技术在检测肠道致病菌方面的应用

金大智, 文思远, 王升启*

(军事医学科学院放射与辐射医学研究所 北京 100850)

摘 要 基因芯片技术具有高通量、自动化、快速检测等特点, 因此被广泛地应用于各种研究领域, 如细菌分子流行病学、细菌基因鉴定、致病分子机理、基因突变及多态性分析、表达谱分析、DNA 测序和药物筛选等。现介绍基因芯片检测肠道致病菌方面的国外研究进展, 基因芯片应用于检测肠道致病菌的 3 个方面: 结合多重 PCR 对致病菌的毒力因子或者特异性基因进行鉴定; 直接检测细菌的 DNA 或者 RNA; 以致病细菌核糖体 RNA 作为检测的靶基因同时检测多种肠道致病菌。由于其检测的高效率, 该技术要优于其他分子生物学检测方法。基因芯片技术在肠道致病菌检测中有着巨大的应用价值, 具有广阔的应用前景。

关键词: 基因芯片; 肠道致病菌; 检测

中图分类号: Q819 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209(2006)02-0500-04

肠道致病菌是临床上引起以腹泻、呕吐为主要症状的首要病因之一, 也是食物中毒的主要因素。近年来由于天然食物源生产的全球化、新食品生产工艺的应用、人们饮食习惯的改变以及卫生环境恶化等各种因素在一定程度上降低了食品的安全性, 增加了肠道致病菌感染机率。因此, 导致肠道疾病的致病菌自然成为人们关注的焦点, 世界上多数国家都非常重视食物中毒和肠道致病菌感染等问题, 各国政府都采取了相应的措施改善环境、饮食条件、切断致病菌的传染途径, 并投入大量资金开发快速、有效的诊断方法进行早期控制、诊断和检测肠道致病菌。

1 基因芯片技术的简介

基因芯片技术是 20 世纪 90 年代初发展起来的一种高新生物技术, 其突出的特点是集成化、微型化、自动化、高通量等, Ye 等^[1]详细介绍了基因芯片及其在微生物方面的应用。基因芯片是反相斑点杂交, 特异性探针以一定的方式被固定于某种介质上^[2]。在最后的扫描图像中探针以点的形式出现, 每一个点代表一种特异性探针序列。检测的目的片段可以是 PCR 产物、基因组 DNA、总 RNA、aRNA、cDNA、质粒 DNA 或者寡核苷酸^[3]。

标记的方法一般是选取 Cy3、Cy5 等荧光基团或者生物素分子, 通过特定波长的扫描仪进行检测。目前, 还有一些其他的显色方法如生物素-抗生物素或者蛋白链菌素和生物素-亲和素等。尽管需要另外加入操作步骤, 但是这些显色体系成本较低, 因此也被广泛使用^[4]。如果目的片段与探针结合发出较弱信号, 可以应用信号放大技术。目前已建立

的信号放大系统是酶联荧光的技术(ELF-97; Molecular probes)和酪胺信号放大技术(TSA)^[5-10]。

2 基因芯片技术检测肠道致病菌

基因芯片技术可以实现对多种目的基因平行化鉴定, 正是这种高通量的特点使其适合于复杂样品(如食物和粪便)的检测。将基因芯片技术与致病菌检测相结合会全面地提高了检测水平, 提高同时对多种致病菌鉴定的能力, 这也是目前一些常规的生化鉴定和分子生物学、免疫学技术无法比拟的。该技术大大地缩短了检测周期, 只需 3~4h 即可得出鉴定结果, 灵敏度高, 可以避免出现假性结果。并且结果通过自动化分析, 避免了由于操作人员之间差异导致错误结果, 是食品安全和临床诊断方面的重大技术突破。

2.1 检测肠道致病菌的毒力因子

利用基因芯片高通量筛选的特点, 许多科研人员选取各种致病菌特异性的毒力因子作为检测的靶标, 通过多重 PCR 的方法扩增多种致病菌, 同时标记 PCR 产物, 然后经基因芯片杂交进行鉴定。因为基因芯片不是以 PCR 产物的长度作为区分的标准, 因此克服了多重 PCR 技术只能同时检测少于 6 种基因片段的限制。Guo 等^[11]首先将 PCR 扩增与基因芯片相结合, 使用寡核苷酸探针鉴定人酪胺酸酶基因的 5 个 SNP 位点。Call 等^[7]建立了一种对多重 PCR 扩增 EHEC 的产物进行鉴定的寡核苷酸芯片, 该方法将免疫诱捕技术与 PCR、基因芯片相结合, 具有很高的灵敏度, 对鸡肉中致病菌检测的灵敏度可达到低于 10^2 CFU/mL。Chizhikov 等^[12]建立了一种基因芯片检测系统, 通过多重 PCR 扩增与食源性致病菌(志贺氏菌 *Shigella* spp.、沙门氏菌 *Salmonella* spp. 和肠出血性大肠杆菌 O157:H7 *Escherichia coli* O157:H7) 相关的 6 种毒力因子, 然后与芯片杂交鉴定 6 种基因。目前这种技术

基金项目: 国家科技攻关项目(2003BA712A03-09, 2004BA519A46)

* 通讯作者。Tel/Fax: 86-10-66932211; E-mail: sqwang@nic.bmi.ac.cn

作者简介: 金大智(1978-), 男, 辽宁辽阳人, 博士研究生, 主要从事分子诊断和生物芯片研究。E-mail: dazhijin@163.com

收稿日期: 2005-07-06; 接受日期: 2005-08-16; 修回日期: 2005-08-31

路线已经广泛应用于少数肠道致病菌鉴定方面^[13-15]。本实验已经建立了一种用于甄别出血性大肠杆菌 O157:H7 和霍乱弧菌 O139(*Vibrio cholerae* O139)的基因芯片,通过检测毒力基因以及 SNPs 位点,将出血性大肠杆菌 O157:H7 和非 H7 以及霍乱弧菌 O139 和 O1 进行区分,还建立了三重 PCR 结合基因芯片检测伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhi*)、痢疾杆菌(*Bacillus dysenteriae*)和单增李氏菌(*Listeria monocytogenes*)的方法,检测的灵敏度可达到 10^2 拷贝数/mL。从上述的实验结果中可以看出将致病菌的毒力因子作为检测的目的靶点,通过多重 PCR 扩增,结合基因芯片杂交筛选是完全可行的。该方法灵敏度高、特异性、重复性均非常好,弥补了多重 PCR 不能鉴定多种目的片段的弊端。由于该方法仍然受到多重 PCR 制约,因此在同时检测致病菌的数量上仍不能有很大的突破。但是对于应用在少数致病菌分型方面,该技术是非常适用的。

2.2 通用引物结合基因芯片检测肠道致病菌

2.2.1 通用引物扩增 16S rDNA 基因、16S-23S rDNA、23S rDNA 基因

为了提高基因芯片作为检测致病菌方法的潜力,科研人员经过大量的实验已经建立了基于 16S rDNA、16S-23S rDNA 和 23S rDNA 3 种基因的基因芯片检测系统^[16-22]。该 3 种基因在细菌分类学上也具有重要的生物学意义,在生物进化过程中比其他基因演变得慢,被称之为“细菌进化的活化石”。但是这种保守性也是相对的,序列中仍然存在着每种细菌特异性的片段,而且在菌属之间存在较大差异。因此,在细菌的保守性区域设计通用引物,一次 PCR 就能扩增出多种细菌的目的片段,然后在特异性区域设计与每种细菌对应的特异性探针,标记的方法一般采用掺入法和末端标记法等,通过基因芯片与 PCR 产物杂交的结果对细菌进行鉴定。Call 等^[23]使用通用引物鉴定鱼类致病菌的 16S rDNA 基因。Hong 等^[24]建立一种以 23S rDNA 为检测靶基因的基因芯片检测方法,可以同时检测 14 种食源性致病菌。还有的检测方法选取 16S-23S rDNA 基因的间区序列作为靶基因^[25]。本实验室基因芯片研究小组在前期的工作基础上,建立了一种基于二重 PCR 方法对致病菌的 16S rDNA 和 23S rDNA 基因同时检测,可同时检测 15 种肠道致病菌,检测的灵敏度达到 10^3 CFU/mL,并且通过筛选菌属特异性探针,不断地增加检测目的菌株的数量。

从上述建立的通用引物结合基因芯片对各种致病菌检测体系中,可以看出选取通用引物只通过一次 PCR 扩增就可以得到大部分菌株的目的片段,大大地缩短了检测的周期,并且省去了多重 PCR 繁琐的操作步骤,解决了基因芯片结合多重 PCR 体系对同时检测和鉴定致病菌数量的限制。基于通用引物的基因芯片体系最大优势在于可以在不增加引物和额外实验操作的情况下,添加特异性的探针,进而扩大体系的检测范围,提高同时检测多种目的菌株的能力。

由于选取的目的基因保守性相对较强,有些致病菌只能鉴定到细菌属的水平,而不能像将毒力因子作为靶基因可以鉴定到细菌种的水平,不过该方法的灵敏度、特异性和重复

性均可达到实际检测要求。与细菌的毒力基因检测方法相比较,最大的特点就是突破了检测致病菌数量的限制,达到高通量检测的水平,并且实验的操作简单,成本较低,适用于临床疾病的诊断和食品安全体系的监控等多个方面。

2.2.2 基因芯片直接检测致病菌的 16S rRNA 基因

有些较复杂介质中(食品、水、土壤、粪便等)的细菌核酸进行 PCR 扩增是非常困难的,这是因为介质中常有一些 PCR 反应抑制物存在而导致扩增失败。围绕这个问题的解决方法之一是直接检测致病菌的 rRNA,其原理是将来源于 16S rRNA 序列上多个种属特异性片段作为探针(1000bp 左右),总 RNA 经过反转录标记后,直接与探针杂交,进而对细菌进行鉴定,直接检测 rRNA 还能显示出致病菌在介质中的死活状态。但是该方法也有一些弊端,因为是对致病菌基因直接杂交,所以相对其他方法来说,灵敏度较低。

Small 等^[9]发明了一种基因芯片检测系统适用于直接检测土壤中细菌的 16S rRNA。总 RNA 在不需要 PCR 扩增的情况下,直接与芯片上的探针杂交。因为 16S rRNA 片段很长,有许多的二级结构,所以不容易与寡核苷酸探针结合。解决的方法是在杂交缓冲液中加入短的寡核苷酸片段(分子伴侣)用来拆开 rRNA 的二级结构。尽管一些成熟的信号放大和扫描系统可以提高几个数量级的灵敏度,但该方法的灵敏度仍然较低,只达到 10^6 CFU/mL 左右。Guschin 等^[25]开发出一种基于聚丙烯酰胺凝胶垫的基因芯片检测系统,也适合于直接检测 16S rRNA 基因。尽管直接检测 16S rRNA 基因可以判断致病菌的死活状态,而且特异性很好,检测成本低。但是由于 RNA 本身不稳定,对于实验条件和操作者的水平要求比较高,检测的灵敏度较低。因此很难在实际的检测中推广,并且该方法还受到致病菌所处的生长状态和介质形态等因素的影响。因此,需要大量的实验进一步的完善。不过该方法可以用于细菌分型等基础研究方面,对种属间细菌进行鉴定。

2.2.3 基因芯片直接检测致病菌的 DNA

直接检测 DNA 也可以解决复杂样品中存在酶抑制物的问题。其原理与直接检测 rRNA 相似,选取致病菌基因组中特异性长片段作为探针,将提取的基因组 DNA 以反转录相似的方法进行标记,然后直接与探针杂交,探针会特异性捕捉基因组中与其完全互补的序列。尽管 DNA 直接杂交的方法不能确定致病菌的死活状态,但是 DNA 本身比 RNA 稳定、易操作,而且在细菌体内含量比较高,能够更好地鉴定肠道致病菌。

Wu 等^[26]建立了一种基因芯片的方法用于检测细菌中与氮循环有关的基因,检测的灵敏度为 25ng DNA。平均一个细菌的基因组 DNA 约 4.5×10^{-15} g,25ng 相当于 5.6×10^6 个细菌,这表明该方法的灵敏度对于实际的应用来说是远远不够的。有些研究者通过设计较长的探针(约 1500bp)来提高杂交信号,但是效果不明显,灵敏度仍然较低。Sekowshi 等^[27]建立了一种基因芯片直接与基因组 DNA 杂交区分肠出血性大肠杆菌 O157:H7 和非致病性大肠杆菌的方法,该方法的灵敏度要高于免疫学的方法。

如果样品中含有较低浓度的致病菌时,直接检测从样品中分离的 DNA 或者 RNA 相当困难。而且,因为各种菌属核酸本身之间就含有许多同源性序列,直接检测核酸对设计探针要求很高,不可避免的存在同源性序列交叉现象。此外,提取核酸的质量和杂交体系及杂交条件都会对结果影响较大。所以,虽然直接检测核酸是较简便的,但是与结合 PCR 扩增的基因芯片方法相比,该体系只限于实验室进行基础研究,不适合应用于实际的检测。

3 基因芯片用于细菌分型

检测致病菌仅仅是基因芯片在实际应用的一个方面,它还可以应用到微生物基础研究中。利用基因芯片技术对致病菌基因组 DNA、rRNA 进行遗传分析^[8,12,28-31],从而能够计算出细菌种属间的遗传距离或者分析和判断菌体的毒性等。Dorrell 等^[32]建立了一张空肠弯曲菌基因组芯片,与不同的致病菌基因组 DNA 杂交,结果显示被检测的 11 种致病菌基因组 DNA 中 21% 基因没有杂交信号,说明这些基因在被检测细菌基因组中存在高度的差异性。Borucki 等^[29]建立了一种基因组芯片鉴定不同血清型的单增李氏菌,可以清晰地将 24 种单增李氏菌区分为两种类型。分型的结果与足迹法技术(PFGE)相比完全一致,说明该基因组分型芯片的结果是正确的。本实验室基因芯片研究小组建立了炭疽芽孢杆菌基因组芯片,通过与其他芽孢杆菌基因组杂交,鉴定出炭疽杆菌特异性基因。这种方法非常适用于寻找致病菌与非致病菌之间的差异基因,通过对杂交结果的分析,高通量的筛选出多种差异基因,该技术还可以对更大规模的基因进行筛选,可以应用到细菌致病分子机理等基础研究中。

4 基因芯片在肠道致病菌检测方面存在的问题及解决途径

从上述这些基因芯片检测方法来看,目前的分子生物学和免疫学技术均无法达到基因芯片检测致病菌的水平,PCR 技术只能粗略的对致病菌进行定性,要进一步验证必须经过 Southern 杂交和测序,而抗体技术虽然能够特异性的检测细菌菌体蛋白,但是会出现非特异性结合的现象,而且蛋白的制备会受到许多因素的制约,如细菌生长状态、菌体蛋白释放程度和蛋白稳定性等,PCR、ELISA 等方法都无法大规模检测实际样品。基因芯片技术引入肠道致病菌的检测,弥补了这些方法的不足,在很大程度上解决了以往检测方法繁琐、缓慢、结果不够准确且无法对大规模样品进行同时检测等弊端。实现了检测的高通量和结果分析的自动化。但是基因芯片是仅仅发展了短短十几年的生物技术,本身不可避免地还存在着一些问题。由于目前出现许多的基片制备方法,因此各个实验室之间基因芯片的性能很难比较,而且基因芯片本身的稳定性也不是很理想,目前虽然荧光基团标记技术很成熟,并且各种标记方法都会得出良好的效果,但是荧光染料非常昂贵,因此不适合大面积常规使用,本实验室基因芯片小组目前正在将可视化技术结合到基因芯片检测中,已取

得了良好的成果,该技术可以用肉眼判断芯片杂交结果,简化了基因芯片检测体系的操作,并且可以大大地降低实验的成本,加快基因芯片技术的普及和推广,基因芯片无法达到 PCR 等一些方法的高灵敏度,在少量致病菌感染的情况下会出现阴性结果,这与肠道致病菌模板的制备有关,只有改进目前核酸提取工艺,研究高效的提取方法,才能会进一步提高基因芯片检测方法的灵敏度,目前新发各种肠道致病菌不断出现,而且常常会出现变异。因此,基因芯片检测的靶细菌在现有基础上还要不断添加。从上述的一些问题中可以看出,虽然基因芯片技术在肠道致病菌检测方面已经取得了一定的进步,但是该检测方法中还有很多地方需要改进,很多工作要做,只有不断的解决问题,才能使基因芯片检测技术更加完善。

5 基因芯片在肠道致病菌检测方面的前景

基因芯片技术以其高通量、自动化、平行化检测等特点得到广大科研工作者的认同,已经在遗传分析和分子诊断方面成为重要的技术平台。基因芯片技术引入肠道致病菌的检测中,在很大程度上提高了检测的能力,是一次具有革命性意义的技术突破。该技术使得对于同时检测大规模样品成为了现实,随着芯片制备、样品中核酸的提取、信号标记等关键技术的不断改进,基因芯片所面临的诸多问题将得到解决。随着基于基因芯片技术建立的检测方法不断创新以及检测的目的致病菌种类的不断添加,该检测技术将会日趋成熟和完善,并将会大面积的推广到临床疾病诊断和食品安全监控体系等诸多方面,将来基因芯片技术检测肠道致病菌会实现大规模的应用,呈现出更广阔的应用前景。

参 考 文 献

- [1] Ye R, Wang T, Bedzyk L, et al. Applications of DNA microarrays in microbial systems. *J Microbiol Methods*, 2001, **47**: 257 - 272.
- [2] Schena M. *Microarray Biochip Technology*. USA: Eaton Publishing, 2000, 19 - 63.
- [3] Call DR, Borucki MK, Loge FJ. Detection of bacterial pathogens in environmental samples using DNA microarrays. *Journal of Microbiological Methods*, 2003, **53**: 235 - 243.
- [4] Alexandre I, Hamels S, Dufour S, et al. Colorimetric silver detection of DNA microarrays. *Anal Biochem*, 2001, **295**: 1 - 8.
- [5] Belosludtsev Y, Iverson B, Lemeshko S, et al. DNA microarrays based on noncovalent oligonucleotide attachment and hybridization in two dimensions. *Anal Biochem*, 2001, **292**: 250 - 256.
- [6] Puskas L, Zvara A, Hackler LJ, et al. RNA amplification results in reproducible microarray data with slight ratio bias. *BioTechniques*, 2002, **32**: 1330 - 1340.
- [7] Call DR, Chandler D, Brockman F. Fabrication of DNA microarrays using unmodified oligonucleotide probes. *BioTechniques*, 2001a, **30**: 368 - 379.
- [8] Call DR, Brockman FJ, Chandler DP. Detecting and genotyping *Escherichia coli* O157:H7 using multiplexed PCR and nucleic acid microarrays. *Int J Food Microbiol*, 2001b, **67**: 71 - 80.
- [9] Small J, Call DR, Brockman FJ, et al. Direct detection of 16S rRNA in soil extracts by using oligonucleotide microarrays. *Appl Environ Microbiol*, 2001, **67**: 4708 - 4716.

- [10] Karsten S, van Deerlin V, Sabatti C, et al. An evaluation of tyramide signal amplification and archived fixed and frozen tissue in microarray gene expression analysis. *Nucleic Acids Res*, 2002, **30** (2):e4.
- [11] Guo Z, Guilfoyle RA, Thiel AJ, et al. Direct fluorescence analysis of genetic polymorphisms by hybridization with oligonucleotide arrays on glass supports. *Nucleic Acids Res*, 1994, **22**: 5456 – 5465.
- [12] Chizhikov V, Rasooly A, Chumakov K, et al. Microarray analysis of microbial virulence factors. *Appl Environ Microbiol*, 2001, **67**: 3258 – 3263.
- [13] Nikolay S, Margaret D, Shannon C, et al. Multipathogen oligonucleotide microarray for environmental and biodefense applications. *Biosensors and Bioelectronics*, 2004, **20**: 684 – 698.
- [14] Sufian F Al-Khaldi, Doralis V, Vladimir C. Identification and characterization of *Clostridium perfringens* using single target DNA microarray chip. *Inter J of Food Microbiol*, 2004, **91**: 289 – 296.
- [15] Woo-Sung J, Serka K, Suk-In H, et al. DNA probe chip system for multiple detection of food poisoning microorganisms. *Material science and Engineering*, 2004, **24**: 47 – 51.
- [16] Smith JG, Kong L, Abruzzo GK, et al. PCR detection of colonization by *Helicobacter pylori* in conventional, euthymic mice based on the 16S ribosomal gene sequence. *Clin Diagn Lab Immunol*, 1996, **3**: 66 – 72.
- [17] Helps CR, Harbour DA, Corry JE. PCR-based 16S ribosomal DNA detection technique for *Clostridium estertheticum* causing spoilage in vacuum-packed chill-stored beef. *Int J Food Microbiol*, 1999, **52**: 57 – 65.
- [18] Matar GM, Koehler JE, Malcolm G, et al. Identification of *Bartonella* species directly in clinical specimens by PCR-restriction fragment length polymorphism analysis of a 16S rRNA gene fragment. *J Clin Microbiol*, 1999, **37**: 4045 – 4047.
- [19] Siqueira JF, Rocas IN, Favieri A, et al. Detection of *Treponema denticola* in endodontic infections by 16S rRNA gene-directed polymerase chain reaction. *Oral Microbiol Immunol*, 2000, **15**: 335 – 337.
- [20] Wang Rong-Fu, Marjorie LB, Latriana H, et al. Design and evaluation of oligonucleotide-microarray method for the detection of human intestinal bacteria in fecal samples. *FEMS Microbiology Letters*, 2002, **213**: 175 – 182.
- [21] Anthony RM, Brown TJ, French GL. Rapid diagnosis of bacteremia by universal amplification of 23S ribosomal DNA followed by hybridization to an oligonucleotide array. *Journal of Clinical Microbiology*, 2000, **38** (2): 781 – 788.
- [22] Sasaki Y, Yamamoto K, Amimoto K, et al. Amplification of the 16S-23S rDNA spacer region for rapid detection of *Clostridium chauvoei* and *Clostridium septicum*. *Res Vet Sci*, 2001, **71**: 227 – 229.
- [23] Warsen AE, Krug MJ, LaFrenz S, et al. Simultaneous discrimination between 15 fish pathogens by using 16S ribosomal DNA PCR and DNA microarrays. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, **7**: 4216 – 4221.
- [24] Hong BX, Jiang LF, Hu YS, et al. Application of oligonucleotide array technology for the rapid detection of pathogenic bacteria of foodborne infections. *Journal of Microbiological Methods*, 2004, **58**: 403 – 411.
- [25] Guschin DY, Mobarry BK, Proudnikov D, et al. Oligonucleotide microchips as genosensors for determinative and environmental studies in microbiology. *Appl Environ Microbiol*, 1997, **63**: 2397 – 2402.
- [26] Wu L, Thompson D, Li G, et al. Development and evaluation of functional gene arrays for detection of selected genes in the environment. *Appl Environ Microbiol*, 2001, **67**: 5780 – 5790.
- [27] Wu CF, Jame JV, William EB. DNA microarray for discrimination between pathogenic O157:H7 EDL933 and non-pathogenic *Escherichia coli* strains. *Biosensors and Bioelectronics*, 2003, **19**: 1 – 8.
- [28] Johnson JR, Stell AL. Extended virulence genotypes of *Escherichia coli* strains from patients with uresepsis in relation to phylogeny and host compromise. *J Infect Dis*, 2000, **181**: 261 – 272.
- [29] Borucki M, Krug M, Muraoka W, et al. Discrimination among listeria monocytogenes isolates using a mixed genome DNA microarray. *Vet Microbiology*, 2003, **92**: 351 – 362.
- [30] Hakenbeck R, Balmelle N, Weber B, et al. Mosaic genes and mosaic chromosomes: intra- and interspecies genomic variation of *Streptococcus pneumoniae*. *Infect Immun*, 2001, **69**: 2477 – 2486.
- [31] Liang X, Pham XQ, Olson MV, et al. Identification of a genomic island present in the majority of pathogenic isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol*, 2001, **183**: 843 – 853.
- [32] Dorrell N, Mangan JA, Laing KG, et al. Whole genome comparison of *Campylobacter jejuni* human isolates using a low-cost microarray reveals extensive genetic diversity. *Genome Res*, 2001, **11**: 1706 – 1715.

DNA microarrays and their application in detecting and identifying intestinal pathogens

JIN Da-zhi, WEN Si-yuan, WANG Sheng-qi*

(Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China)

Abstract: DNA microarrays offer many advantages of high throughput, automation, rapid detection, and so on. Therefore, this technology had been used in many fields such as molecular epidemiology of bacteria, microbial gene identification, disease mechanism, gene mutation, gene expression identification, DNA sequencing and medicine screening etc. The assays for identifying pathogens using DNA microarrays reported abroad recently are introduced. The application of DNA microarrays in detecting and identifying intestinal pathogens mainly includes three aspects: the identification of toxin and characteristic genes of pathogens, the identification of bacterial DNA or RNA directly, the simultaneous detection of a large number of intestinal pathogens with the target-gene of ribosomal RNA. Because of its high efficiency, DNA microarrays is superior to other biological method. Obviously DNA microarrays technology may be useful in identifying intestinal pathogens and have a wide prospect.

Keywords: DNA microarrays; Intestinal pathogens; Detection

Foundation item: Chinese National Programs for Science and Technology Development (2003BA712A03-09, 2004BA519A46)

* Corresponding author. Tel/Fax: 86-10-66932211; E-mail: sqwang@nic.bmi.ac.cn

Received: 6 July 2005/Accepted: 16 August 2005/Revised: 31 August 2005