

嗜酸乳杆菌 NCFM 对 Caco-2 细胞基因表达谱的影响

王明娜¹, 张光辉¹, 韩希妍¹, 姚丽燕¹, 周艳秋¹, 姜毓君^{1,2*}

(¹ 乳品科学教育部重点实验室, 东北农业大学食品学院, 哈尔滨 150030)

(² 国家乳业工程技术研究中心, 东北农业大学, 哈尔滨 150086)

摘要 【目的】嗜酸乳杆菌 NCFM 作为一株具有良好益生功能的模式菌株, 采用基因芯片技术对其作用后的宿主细胞基因的变化情况进行分析, 在生物、食品等领域具有较大研究价值。【方法】将嗜酸乳杆菌 NCFM 和 Caco-2 细胞共同培养 2h, 提取 Caco-2 细胞的总 RNA, 并将 RNA 反转录成 cDNA, 与 Human Genome U133 Plus 2.0 Array 基因表达谱芯片杂交, 杂交后进行图像扫描和数据分析, 并采用 Real-time RT-PCR 方法对差异表达的基因进行验证。【结果】采用基因芯片方法检测了 Caco-2 细胞经嗜酸乳杆菌 NCFM 作用 2h 后的基因表达变化, 发现差异表达基因为 508 个, 其中有 473 个基因上调, 35 个基因下调, 初步推测 Caco-2 细胞能诱导多个基因的表达, 以发挥嗜酸乳杆菌 NCFM 的益生功能。并且经 Real-time RT-PCR 验证, 表达差异显著的 3 个免疫调节相关基因 CCL2、PTX3 和 TNFRSF9 的确在嗜酸乳杆菌 NCFM 作用期间高表达。【结论】以上这些结果促进了对嗜酸乳杆菌 NCFM 益生功能的认识, 也为揭示该乳酸菌的作用机理提供了理论基础。

关键词: 嗜酸乳杆菌 NCFM; Caco-2 细胞; 基因芯片技术; Real-time RT-PCR

中图分类号: Q933 **文献标识码**: A **文章编号**: 0001-6209(2009)09-1247-06

嗜酸乳杆菌 NCFM (*Lactobacillus acidophilus* NCFM) 是一株具有优良生物学特征和良好保健作用的乳酸菌^[1], 它能粘附于宿主肠道, 通过定植保护作用发挥生理功能^[2-3]。Caco-2 细胞株源自人结肠腺癌细胞 (the human colon carcinoma cell line), 具有维持细胞极性的重要结构 (如微绒毛和紧密连接等), 并能表达正常人肠细胞的形态和某些生理特征, 国外常用其作为研究肠上皮细胞功能的模式株^[4]。

研究表明^[5-6], 乳酸菌能够在肠道内定植, 维持肠道菌群平衡, 能够刺激肠道组织产生免疫球蛋白、细胞因子, 促进淋巴细胞的分化, 对于维护胃肠道正常的生态环境稳定起重要作用。要了解乳酸菌的作用机理, 必须研究宿主细胞在与乳酸菌作用过程中诱导哪些基因的变化。基因芯片是近年发展起来的前沿生物杂交技术, 它可同时对上万种基因的表达

进行快速、准确、高效的检测, 为乳酸菌整体调节机制的研究提供了全新的研究手段^[7]。国外研究者已经开展这方面的工作, 通过基因芯片分析发现, 服用鼠李糖乳杆菌 LGG 后, 人体肠粘膜会发生复杂的遗传反应, 参与特异细胞通路的一些基因也会发生改变^[8]。而我国研究者也利用基因芯片研究了乳酸杆菌肽聚糖对机体免疫细胞基因表达的影响, 从而为进一步了解乳酸菌与宿主间的相互影响提供了依据^[9]。本文首次利用人基因表达谱芯片探索了嗜酸乳杆菌 NCFM 作用 Caco-2 细胞后的基因表达的情况, 为全面了解该乳酸菌的作用机理提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌株和细胞株: 嗜酸乳杆菌 NCFM

基金项目: 国家 863 计划 (2008AA10Z311); 黑龙江省科技攻关项目 (GB07B406); 东北农业大学创新团队项目 (CXT007-3-2)

* 通信作者。Tel/Fax: +86-451-55191842; E-mail: yujun_jiang@neau.edu.cn

作者简介: 王明娜 (1983-) 女, 内蒙古人, 硕士研究生, 主要研究方向为食品微生物与生物技术。E-mail: wangmn0470@163.com

收稿日期: 2009-02-23; 修回日期: 2009-04-14

(*Lactobacillus acidophilus* NCFM)由丹麦丹尼斯克公司(Danisco)惠赠。人结肠腺癌细胞 Caco-2 购自中国科学院上海生命科学研究所以。

1.1.2 基因芯片:Affymetrix 公司的 U133 Plus 2.0 基因表达谱芯片,由上海生物芯片有限公司-生物芯片上海国家工程研究中心提供。该芯片涵盖 47000 个转录本,代表 38500 个人类基因。

1.1.3 主要试剂和仪器:胎牛血清、DMEM(GIBCO 公司);Trizol Reagent(Invitrogen 公司);RNeasy Kit、RNeasy Total RNA Isolation Kit(QIAGEN 公司);ExScript™ RT-PCR Kit(TaKaRa 公司);ABI7500 实时荧光 PCR 仪(ABI 公司);Hybridization Oven 640(Affymetrix 公司)。

1.2 Caco-2 细胞 RNA 的提取和检测

按照文献 [10],嗜酸乳杆菌 NCFM 在 MRS 培养基中培养至对数生长期后,以 DMEM 培养液调整菌浓度为 3×10^8 cfu/mL,与达到极化状态的 Caco-2 细胞在 37℃ 下共同培养 2 h,之后用磷酸盐缓冲液(4℃)冲洗 3 次。参用标准的 Trizol RNA 提取方法抽提对照组(无乳酸菌作用)和实验组(嗜酸乳杆菌 NCFM 作用)的 Caco-2 细胞总 RNA。以琼脂糖凝胶电泳检测并测定其 260nm 和 280nm 处的吸光度,计

算 OD_{260}/OD_{280} 比值,判定是否可用于芯片检测。

1.3 DNA 合成与芯片杂交

按试剂盒提供的操作手册,以 RNeasy Kit 对所提取的总 RNA 纯化后,进行生物素标记 cDNA 合成,用 RNeasy Total RNA Isolation kit 纯化生物素标记的 cDNA,通过测定 OD_{260} 、 OD_{280} 值,计算 RNA 浓度,然后进行杂交。芯片使用前需平衡至室温,杂交炉中 45℃,60rpm 预杂交芯片 10 min,加预先配制等体积处理好的杂交液,在杂交炉中 45℃,60 rpm 杂交芯片 16h,把杂交好的芯片进行洗脱、染色,最后扫描芯片。

1.4 检测与分析

Affymetrix 扫描仪扫描芯片后,用 GCOS1.2 软件读取、处理数据。差异基因筛选标准:log ratio(实验组和对照组比值取 log₂ 后的值)≥1 为上调基因,log ratio ≤ -1 为下调基因。

1.5 Real-time RT PCR 验证

1.5.1 引物:选取差异显著的基因进行 Real-time RT PCR 实验验证。以 GAPDH 作为内参基因,根据 GenBank 中各基因序列,使用 Primer5.0 软件对各差异表达基因设计引物,见表 1。

表 1 待测基因 Real-time RT PCR 引物的碱基序列、基因定位、 T_m 值及扩增产物的大小

Table 1 Base sequences, nucleotide location, T_m and predicted sizes of PCR products for target genes specific oligonucleotide primer

Gene	Gene No.	Oligonucleotide sequence (5'→3')	Nucleotide location	$T_m/^\circ\text{C}$	Product/bp
GAPDH	NM_002046	AACGGATTGTGGTCGTATTG	127-145	53.2	214
		GCTCCTGGAAGATGCTGAT	322-340	54.1	
CCL2	NM_002982	CTCAGCCAGATGCAATCAATG	141-161	59.0	129
		AGATCACAGCTTCTTTGGGACAC	247-269	60.1	
PTX3	NM_002852	TTGCGATTCTGTTTGTGCT	154-173	56.8	124
		GTGGGCTCCTCAGTGGG	261-277	55.2	
TNFRSF9	NM_001561	GAGCCAGGACACTCTCCGCAG	666-686	64.4	102
		AACAACAGAGAAACGGAGCGTGAGG	743-767	67.9	

1.5.2 反转录反应条件:37℃ 15 min;85℃ 5 s。Real-time RT RCR 反应条件:95℃ 预变性 10 s;95℃ 变性 5 s;60℃ 退火 34 s,循环 40 次;在 60℃ 退火 34 s 阶段收集荧光值,并在上述扩增条件后增加 60℃ 至 95℃ 的融解曲线分析步骤。分析各基因的 C_t 值,计算出标化后的 $-\Delta\Delta C_t$ 值,利用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法对目的基因的表达量进行评估^[11]。

2 结果

2.1 RNA 的抽提和质量检测

测定所抽提的总 RNA 的 OD_{260} 、 OD_{280} 值,计算其

浓度和纯度。算得 OD_{260}/OD_{280} 均 > 1.9(表 2),表明所抽提的总 RNA 纯度较高,而且没有蛋白质和 DNA 残留。经 1% 琼脂糖凝胶电泳后,18sRNA 和 28sRNA 电泳条带清晰,28sRNA 条带无明显降解(图 1)。说明总 RNA 质量完好,结果合格,可以进行芯片实验。

表 2 RNA 质控的结果

Table 2 Quality detection of RNA

Number	Group	$c(\text{RNA})$ ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)	$OD_{260}/$ OD_{280}
1	Caco-2 cells without treatment	0.832	2.04
2	Caco-2 cells were treated with NCFM	0.857	2.05

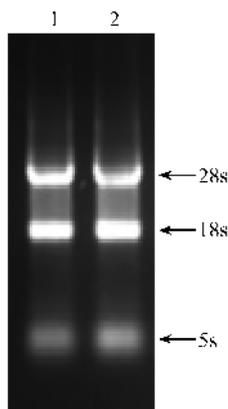


图 1 总 RNA 琼脂糖凝胶电泳图

Fig.1 The agarose gelelectrophoresis detection of the total RNA. 1 : Caco-2 cells without treatment ; 2 : Caco-2 cells were treated with NCFM.

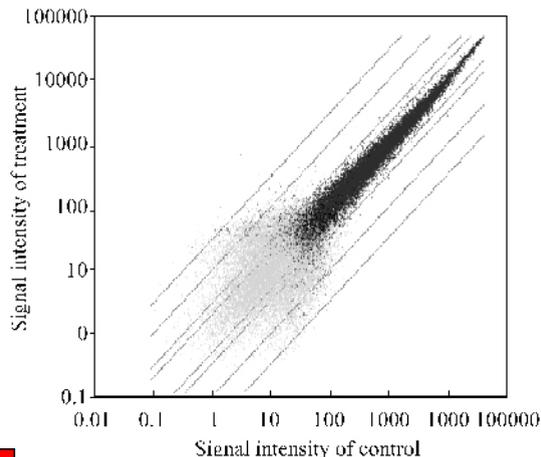


图 2 芯片杂交结果散点图

Fig.2 The scatterplot of hybridization result.

2.2 Caco-2 细胞被嗜酸乳杆菌 NCFM 作用前后差异表达基因

本研究所用的人基因表达谱芯片涵盖 47000 个转录本,代表 38500 个基因,基本代表人类基因组的全部基因。通过该芯片杂交分别检测了 Caco-2 细胞在嗜酸乳杆菌 NCFM 作用 2 h 后基因表达变化(芯片杂交散点图见图 2)。扫描获得信号后,经标准化处理计算得到 ratio 值。对 38500 个基因进行比较分析,检测 Caco-2 细胞在嗜酸乳杆菌 NCFM 作用 2 h 后的基因表达变化,发现表达差异基因为 508 个,其中有 473 个基因上调,35 个基因下调。

根据 GO 分类标准,将得到的差异表达基因分为 24 类,分别为抗氧化、结构分子、转录调控、翻译调控、凋亡或肿瘤相关、结合过程、细胞周期、催化活

性、酶调节活性、分子传感活性、生物粘附、代谢过程、多细胞生物过程、生殖、生殖程序、刺激反应、生物调节、病毒生殖、细胞过程、发育过程、定位的确定、定位、生长、免疫调节。通过对差异表达基因的类型和基因数做图,可明显看到结合过程、催化活性、代谢过程、生物调节、细胞生理过程、发育过程、定位的确定和免疫调节类基因差异表达的较多(见图 3),表明嗜酸乳杆菌 NCFM 在这些方面发挥的作用较大。筛选到的可能涉及免疫调节的基因总结于表 3。

2.3 Real-time RT PCR 验证

为了验证芯片结果的可靠性和准确性,选取嗜酸乳杆菌 NCFM 作用 Caco-2 细胞 2h 后,采用 SYBR Real-time RT PCR,对涉及免疫调节的表达差异显著

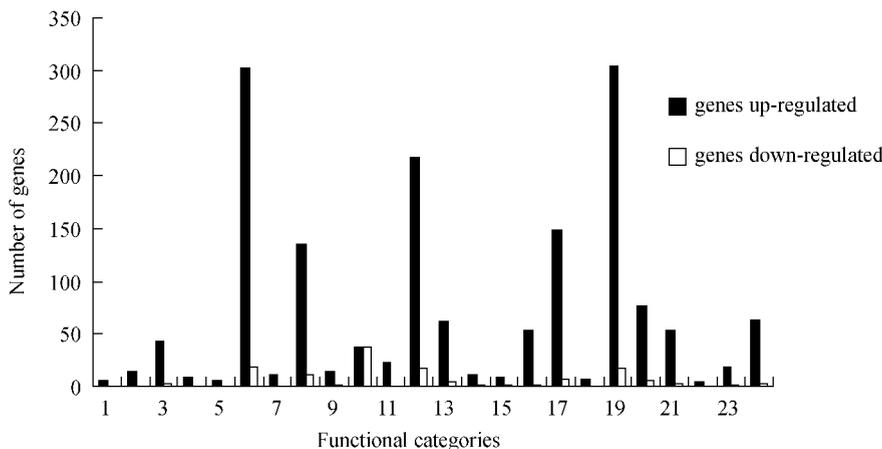


图 3 嗜酸乳杆菌 NCFM 作用 Caco-2 细胞 2 h 后差异表达基因的分类

Fig.3 Schematic presentation of cellular role categories of genes up-regulated (black bars) and genes down-regulated (white bars) of Caco-2 cells after effect by NCFM for 2h. 1 : antioxidant activity ; 2 : structural molecule activity ; 3 : transcription regulator activity ; 4 : translation regulator activity ; 5 : tumor or apoptosis ; 6 : binding ; 7 : cell cycle ; 8 : catalytic activity ; 9 : enzyme regulator activity ; 10 : molecular transducer activity ; 11 : biological adhesion ; 12 : metabolic process ; 13 : multi-organism process ; 14 : reproduction ; 15 : reproductive process ; 16 : response to stimulus ; 17 : biological regulation ; 18 : viral reproduction ; 19 : cellular process ; 20 : developmental process ; 21 : establishment of localization ; 22 : localization ; 23 : growth ; 24 : immune system process.

表3 筛选到的可能涉及免疫调节的基因

Table 3 Probable genes related to immune system process

Gene Symbol	Gene Title	RefSeq ID	Ratio
IL8	interleukin 8	NM-000584	1.2 ↑
IL6ST	interleukin 6 signal transducer	NM-002184	1.6 ↑
IL1 β	interleukin 1, beta	NM-000576	1.3 ↑
CCL20	chemokine (C-C motif) ligand 20	NM-004591	1.2 ↑
PTX3	pentraxin-related gene	NM-002852	1.7 ↑
LTB	lymphotoxin beta	NM-002341	1.3 ↑
TNFRSF9	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 9	NM-001561	1.6 ↑
IL1 α	interleukin 1, alpha	NM-000575	1.5 ↑
CCL2	chemokine (C-C motif) ligand 2	NM-002982	2.6 ↑
GBP3	guanylate binding protein 3	NM-018284	1.1 ↑
TARP	T cell receptor gamma constant 2	NM-001003799	1.2 ↓

↑ denotes up-regulated expression ; ↓ denotes down-regulated expression

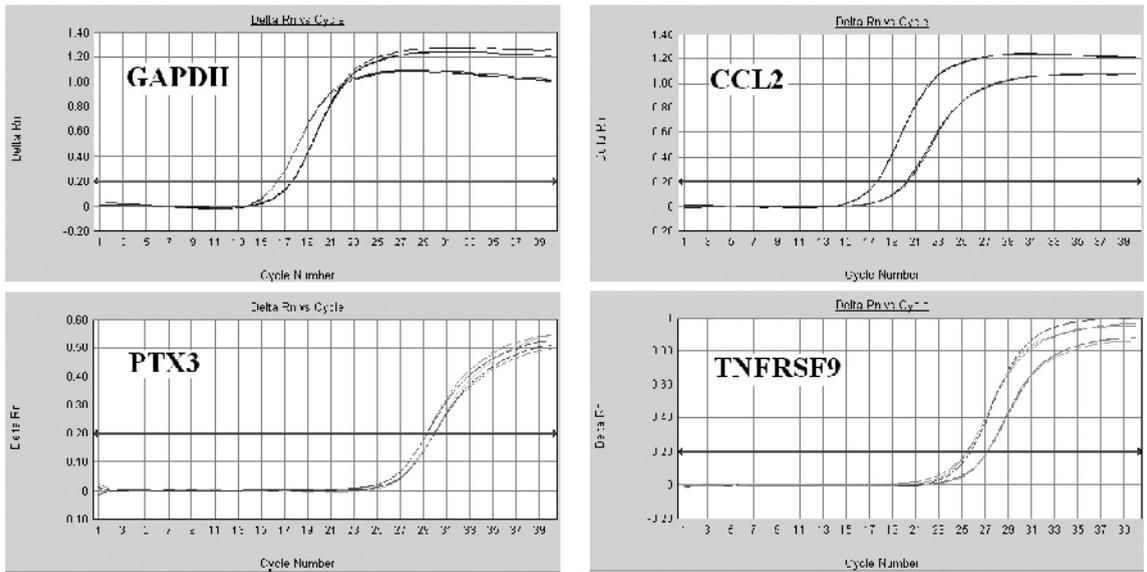


图4 GAPDH、CCL2、PTX3 和 TNFRSF9 的实时荧光扩增曲线

Fig.4 The Real-time RT PCR curves of GAPDH, CCL2, PTX3 and TNFRSF9.

的 3 个基因 CCL2、PTX3 和 TNFRSF9 进行检测,进一步确定它们是否发生转录上调,以管家基因 GAPDH 作为内参基因,结果见图 4 所示,各目的基因 mRNA 表达的扩增曲线重合度良好。

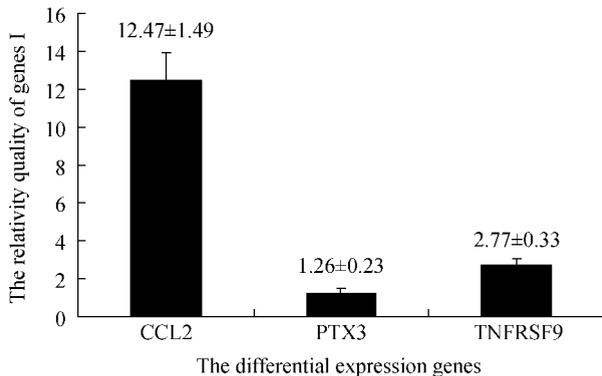


图5 CCL2、PTX3 和 TNFRSF9 基因的相对定量结果

Fig.5 The relativity quality of CCL2, PTX3 and TNFRSF9 between NCFM treated and non-treated groups.

通过分析目的基因扩增曲线的 Ct 值,同时以 GAPDH 内参扩增曲线的 Ct 值消除本底模板差异,即可以量化该基因受乳酸菌作用后的 mRNA 表达水平变化。图 5 给出了嗜酸乳杆菌 NCFM 对 Caco-2 细胞中各目的基因表达活性的影响,表明了 CCL2、PTX3 和 TNFRSF9 基因 mRNA 表达影响的 Real-time RT PCR 分析结果,与基因芯片的相应分析结果基本一致。上述的 Real-time RT PCR 分析结果,验证了基因芯片分析结果的准确性。

3 讨论

乳酸菌能对机体产生有益的作用,其优良的益生性状已日益受到关注。人们发现乳酸菌在作用宿主后,可降低肠粘膜内 TNF- α 和 IL-6 的水平,从而调节肠道局部免疫应答,降低促炎细胞因子水平,缓解炎症^[12]。利用基因芯片技术研究乳酸菌和宿主之间的相互作用已经成为近期的研究热点之一。本研

究采用含 38500 个人类基因的表达谱芯片分析了嗜酸乳杆菌 NCFM 作用 Caco-2 细胞后基因转录水平的变化,发现差异基因为 508 个,其中上调基因 473 个,下调基因 35 个,由此说明嗜酸乳杆菌 NCFM 作用前后对 Caco-2 细胞基因表达谱有一定的影响。

在乳酸菌众多益生性状中,免疫调节作用占非常重要的地位。乳酸菌可以活化巨噬细胞、产生肿瘤坏死因子、干扰素、IgA 等抗体,激活 IL-1、IL-8 等细胞因子,提高机体免疫力,发挥益生功能。本研究利用基因表达谱芯片筛选出涉及免疫调节的差异表达基因,其中差异表达最显著的基因为 CCL2,又称单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1),它是第一个被鉴定的 CC 家族趋化因子,起着激活和趋化单核细胞和巨噬细胞的作用。CCL2 等趋化因子与 Th1 应答有关,不但能够促进 Th1 细胞发挥免疫作用,而且能够通过抑制 IL-4 表达从而达到调节 Th2 细胞的免疫调节作用,推测嗜酸乳杆菌 NCFM 可以通过上调 CCL2 基因表达促进免疫细胞向 Th1 应答转化。除了具有趋化特性外,CCL2 还能调节单核细胞表面粘附因子的表达和细胞因子的产生,诱导 IL-1 和 IL-6 的表达^[13]。因此,CCL2 不仅是一种趋化物质,也是一种调节细胞功能的细胞因子。根据差异基因的分析结果来看,嗜酸乳杆菌 NCFM 作用 Caco-2 细胞后,不仅促进了 Caco-2 细胞分泌 CCL2,而且提高了 IL-1 α (上调 1.5 倍)和 LTB β (TNF 家族成员,上调 1.3 倍)的表达量,而 CCL2 又受 IL-1、TNF 等多种细胞因子的调控,后二者的上调进一步促进了 CCL2 的高表达,这点在 CCL2 的 Real-time RT PCR 结果中得到进一步验证。

从芯片结果中同时可以看出,嗜酸乳杆菌 NCFM 作用 Caco-2 细胞后,能够诱导包括 IL-1 α (上调 1.5 倍)、IL-1 β (上调 1.3 倍)、IL-8 (上调 1.2 倍)等在内的 IL 家族成员的表达量变化,参与免疫系统的调节效应。细胞分泌 IL-1 β 量的增多,可以提高 PTX3 的表达量,而 PTX3 是由单核细胞、巨噬细胞等产生的免疫相关的基因^[14],能够参与细胞抵抗致病菌的侵袭,局部感染和炎症反应。本研究中,表达差异显著的另一基因 TNFRSF9 是 TNF 受体家族的一员,它能诱导分化、增殖、激活 T 细胞活性。结合已有研究结果,我们推测 NCFM 可以刺激肠道细胞产生 TNFRSF9,进而促进 Th1 细胞应答,激活 NF- κ B 途径。

另外,除了上述几个免疫调节相关的表达差异显著基因外,本研究发现在嗜酸乳杆菌 NCFM 作用 Caco-2 细胞后能引起包括抗氧化 (PTGS2 上调 1 倍、GPX2 上调 1.4 倍)、调节胆固醇含量 (APOB 上调 1

倍)、生物粘附 (CCL2、IL-8、DST 上调 2.2 倍)、凋亡或肿瘤相关 (NOL3 上调 1.7 倍、BIRC3 上调 1.2 倍)等多种功能性基因的变化,说明 Caco-2 细胞可以诱导多个基因的表达,来发挥嗜酸乳杆菌 NCFM 的多方面生理功能。

本研究中,我们选取了免疫调节相关的表达差异显著基因 CCL2、PTX3 和 TNFRSF9,对其设计了引物,通过 Real-time RT PCR 方法,一方面验证了 DNA 芯片结果的准确性,另一方面也表明了嗜酸乳杆菌 NCFM 作用 Caco-2 细胞后,目的基因在 mRNA 水平上的表达。但是我们注意到 3 个差异表达基因用这两种方法测定的差异水平有所不同,产生这种结果的原因可能包括以下两方面:首先,DNA 芯片和 Real-time RT PCR 方法是从不同角度对目的基因的表达变化进行检测的,DNA 芯片检测是利用反向杂交(包被已知序列的核酸探针)的方法对目的基因进行的检测;而 Real-time RT PCR 检测是对目的基因进行扩增后,利用荧光信号累积实时监测的方法,这两种检测方法所依据基本原理的不同可能会导致检测结果的差异。其次,目前基因芯片价格较昂贵,使其对样品进行统计学上较多的生物学重复和技术重复存在着成本上的障碍,因而会造成一定的实验误差,这也可能是造成两种方法测定的差异水平不同的原因。

乳酸菌与宿主细胞间的相互作用是一个极其复杂的调节过程,仅从单个或几个基因表达很难阐明其整体调节机制。目前对乳酸菌发挥益生作用的机理还不是十分清楚,利用基因芯片快速、高效地了解益生性乳酸菌对人体肠道细胞的影响,对进一步揭示乳酸菌的作用机理具有非常重要的指导意义。本实验是针对嗜酸乳杆菌 NCFM 的体外作用进行的研究,后续研究应建立在体内环境中对该乳酸菌的益生功能进行进一步地考察。

参考文献

- [1] Sanders ME, Klaenhammer TR. Invited Review: The scientific basis of *Lactobacillus acidophilus* NCFM functionality as a probiotic. *Journal of Dairy Science*, 2001, 84(2): 319 - 331.
- [2] Morono O, Khesdr E, Boutin Y, et al. Inactivation of adhesion and invasion of food-borne *Listeria monocytogenes* by bacteriocin-producing *Bifidobacterium* strains of human origin. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(11): 6894 - 6901.
- [3] Buck BL, Altermann E, Svingerud T, et al. Functional analysis of putative adhesion factors in *Lactobacillus acidophilus* NCFM. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(12): 8344 - 8351.

- [4] 李秋霞, 李茹柳, 陈蔚文. 培养时间对 Caco-2 单层完整性及细胞连接的影响. 广州中医药大学学报 (*Journal of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine*), 2007, 24(1): 72 - 75.
- [5] 张灼阳, 刘畅, 郭晓奎. 益生菌的安全性. 微生物学报 (*Acta Microbiologica Sinica*), 2008, 48(2): 257 - 261.
- [6] Kimoto-Nira H, Suzuki C, Kobayashi M, et al. Inhibition of leukotriene B4 production in murine macrophages by lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 2009, 129(3): 321 - 324.
- [7] Chao A, Wang TH, Lai CH. Overview of microarray analysis of gene expression and its applications to cervical cancer investigation. *Taiwanese Journal of Obstetrics & Gynecology*, 2007, 46(4): 363 - 373.
- [8] Caro SD, Tao H, Grillo A, et al. Effects of *Lactobacillus* CGO on genes expression pattern in small bowel mucosa. *Digestive and Liver Disease*, 2005, 37 : 320 - 329.
- [9] 孙进, 施用晖, 乐国伟, 等. 乳酸杆菌通过定植和提供免疫信号调节宿主免疫反应. 科技导报 (*Science & Technology Review*), 2006, 24(2): 43 - 45.
- [10] Meng-Tsung T, Stephen EG, Beatrice R, et al. Anti-inflammatory effect of *Lactobacillus casei* on *Shigella*-infected human intestinal epithelial cells. *The Journal of Immunology*, 2006, 176 : 1228 - 1237.
- [11] 相丽, 姜毓君, 刘伟, 等. 金黄色葡萄球菌基因表达的 DNA 扣除法 Real-time RT PCR 相对定量分析. 微生物学报 (*Acta Microbiologica Sinica*), 2008, 48(4): 526 - 531.
- [12] 顾瑞霞. 乳酸菌与免疫调节作用. 乳业科学与技术 (*Journal of Dairy Science and Technology*), 2008, 13(6): 251 - 256.
- [13] Shallo H, Plackett TP, Heinrich SA. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) and macrophage infiltration into the skin after bum injury in aged mice. *Burns*, 2003, 29(7): 641 - 647.
- [14] Imamura M, Kawasaki T, Savchenko AS, et al. Lipopolysaccharide induced expression of pentraxin 3 in human neutrophils and monocyte-derived macrophages. *Cell Immunology*, 2007, 248 : 86 - 94.

Expression profile analysis of intestinal Caco-2 cells treated with *Lactobacillus acidophilus* NCFM

Mingna Wang¹, Guanghui Zhang¹, Xiyan Han¹, Liyan Yao¹, Yanqiu Zhou¹, Yujun Jiang^{1,2*}

(¹Key Lab of Dairy Science, Ministry of Education, College of Food Science and Engineering, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

(²National Research Center of Dairy Engineering and Technology, Northeast Agricultural University, Harbin 150086, China)

Abstract [Objective] *Lactobacillus acidophilus* NCFM is a probiotic strain that promotes human health. We evaluated the influence of *Lactobacillus acidophilus* NCFM on the genetic expression patterns in the Caco-2 cells. **[Methods]** Caco-2 cells were treated with *Lactobacillus acidophilus* NCFM for 2h. The total RNA of cells was extracted. Hybridization with Human Genome U133 Plus 2.0 Array was performed. The image scanning and data analysis were performed subsequently. Genes with significant expression changes were selected and analyzed. To support the microarray data, three striking difference genes were studied using Real-time RT PCR. **[Results]** Microarrays analysis showed that the expression levels of 508 genes were altered as compared with the control 473 of them were up-regulated, and 35 were down-regulated. It was supposed that many genes in Caco-2 cell were induced, so that *Lactobacillus acidophilus* NCFM could play a part in immune system process, antioxidant activity, biological adhesion, cholesterol absorption and so on. Three striking difference genes CCL2, PTX3 and TNFRSF9 which involved immune system process were validated by Real-time RT PCR. And the results of Real-time RT PCR showed the same expression trend as in microarray. **[Conclusion]** Based on the results of gene expression alterations, the beneficial function of *Lactobacillus acidophilus* NCFM could be more greatly and deeply understood than ever before, and the mechanism of lactic acid bacteria would be revealed.

Keywords : *Lactobacillus acidophilus* NCFM ; Caco-2 cell ; microarray technology ; Real-time RT PCR

(本文责编 : 王晋芳)