

首届全国 PCR 学术研讨会

论文摘要汇编

首届全国 PCR 学术研讨会筹备委员会

一九九一年五月 北京

中國中國人民大學出版社

理工學部

中國中國人民大學出版社

理工學部

言 萌

，數張票，來以未姓陳更玄(PCR)立又聯聯合黨批15號年1986自國英
同少不，用立由到丁匠縣縣面式各等因該，業亦，學因，學由主千份在份不
行批，會村稱未學PCR水一行舉壁期普井工姓姓大丁。總的賊卓丁出井志
錢更由井工司令在縣以，銀登的益有現現此郊，份村同共，將交未學由面式玄
學姓國中味視二部學姓學因事軍，視交稱學因縣基認學姓學因國中此武。票玄
首亦舉番義，會員委番義丁如股對總案寺关有等視交稱井數，視交稱由主總認
股案寺認主二策總認未姓由主未姓高1986丁匠縣并，會村稱未學PCR國全固

。懽懽小吏示奉印册向此查。想贊庭耕支的等洞突掩新張土又
舞亦未姓 ЯСР 來平几亥丁烟又。篇百餘五文併集五目 21 月 4 年 1991 至
的印志同好会毗參祿庭。耕支勸燕的員人姓擇大个又以。舞張突掩味用立印国
干由。善參味齋交册。擇資補文的極甜未學以会次此改辦。册如能飞要辭文併
。五能將此香齋書燒仗之虽不。期週平本香齋又與合同相

、此如蘇園畧類如会路并，許支由印志同搬懇心衷

会刊刊本学 PCR 国全鼠首

會員 委 備 義

一九五一年正月廿

首届全国 PCR 学术研讨会筹备委员会名单:

主任委员: 吴冠芸

委 员: (以姓氏笔划为序)

马立人	刘宏迪	刘敬忠
陈受宜	吴冠芸	赵敏顺

编辑校对小组成员:

刘敬忠	刘英姿	王海燕
曹化林	赵艳君	王立荣
阎志杰		

目 录

HLA-D 区基因分型和原发性干燥综合征研究

费虹明等 (1)

DMD 家系中 pERT87-8 / TaqIRFLP 分析

孙开来、张 学、余明焕等 (2)

8 个甲型血友病家系 FⅧ基因的 RFLP 连锁分析

金春莲、孙开来、张 学等 (3)

应用 DNA 体外 PCR 扩增技术对地贫症进行产前基因诊断

张树球、陈惠勤、黄运忠等 (4)

应用 mRNA-PCR 技术研究 β 地中海贫血基因 I^V/S-II-654C→T 的剪接缺陷

黄淑帧、周霞娣、任兆瑞等 (4)

云南阿昌族中 HbE 的分子筛查

黄 英、任兆瑞、曾溢滔等 (5)

应用多重 PCR 扩增技术快速诊断 DMD 病人的分子缺失

曾溢滔、陈美珏、任兆瑞等 (7)

应用 PCR 和 RFLP 连锁分析对甲型血友病进行产前诊断。

刘炜培、张履明、周润甜等 (8)

采用 PCR 技术对四川地区 β 地中海贫血基因突变类型及产前诊断的研究

王 苑、张 锦、刘敬忠等 (10)

多重聚合酶链式反应用于性连锁鱼鳞病基因诊断的初步研究

李明发、蒋 清、高翼之等 (11)

应用 DNA 聚合酶链反应 (PCR) 结合寡核苷酸探针杂交技术产前诊断经典型苯丙酮尿症

王 涛、袁丽芳等 (12)

应用 PCR 检测高度可变的小卫星成分用于强直性肌营养不良症的诊断

吴保仁、王连刚等 (13)

应用多重引物 PCR 技术于 DMD 产前基因诊断

华小云、杜传书、林群娣等 (14)

血红蛋白 H 病人中的缺失型与非缺失型 α 地中海贫血	
赵静波、T.M.Gonzalez-Redondo, 等	(15)
中国南方五省 β 地中海贫血基因突变类型的研究	
吴冠芸、刘敬忠、黄尚志等	(16)
多重 PCR 在杜氏肌营养不良基因诊断中的应用	
马生林、吴冠芸、储文明等	(17)
甲型血友病产前诊断—应用聚合酶链反应进行家系 RFLPs 连锁分析	
卞美璐、吴冠芸、马生林等	(18)
PCR 扩增免疫球蛋白基因分析 B 淋巴系统肿瘤残留细胞	
朱 平等	(19)
应用 PCR 方法检测口腔鳞状细胞癌 C-Ha-ras 癌基因点突变	
崔晓梅、刘宏迪、黄少华	(20)
应用聚合酶链反应研究人原发性肺癌 Ki-ras 癌基因点突变	
覃 扬、孙 宁、孙芝琳等	(22)
“通用引物 PCR 法”及其在癌基因扩增检测中的应用	
张 学、孙开来、金春莲等	(23)
DNA 聚合酶链反应检测慢性粒细胞性白血病 bcr / abl 融合基因的研究	
钱新华、杨爱德、王昌才等	(24)
一种用于 PCR 扩增的从石蜡包埋和福尔马林固定组织中提取 DNA 的新方法	
王宝成、杨道理、孙晓明等	(26)
PCR 及特异寡聚核苷酸探针杂交法检测 Ki-ras 癌基因点突变	
范慕贞、许开明等	(27)
用 PCR 基因扩增与寡核苷酸探针杂交技术检测 N-ras 基因点突变	
王志学、赵 洪、王 立等	(28)
PCR 法克隆人源性抗胃癌单克隆抗体 K 链可变区基因	
杨安钢、苏成芝等	(29)
DNA 聚合酶链反应检测 HBV DNA 临床推广应用、方法改进及评价	
严根宝、蒲瑞莲、顾健人等	(30)
口腔唾液中的 HBV 检测的研究	

张琦、刘宏迪、黄少华等.....	(31)
PCR 血清直接法测定 HBV DNA: 一项非同位素法确定乙肝感染状态的新方法	
陈渊卿、严根宝、蒲瑞莲等.....	(32)
1109 DNA 扩增仪在多种基因扩增及其在 HBV 基因诊断中的应用	
严根宝、蒲瑞莲、顾健人等.....	(33)
PCR 在肝癌患者肝组织乙肝病毒 X 基因检测中的应用	
邬光惠、黄耀煌、童贻刚.....	(34)
PCR 检测慢性肝炎患者血清及周围淋巴细胞中的 HBV DNA 及其临床意义	
郑祥雄等.....	(35)
聚合酶链反应检测第 16、18 型人乳头瘤病毒试剂盒的建立	
杨道理、克丙申、王宝成.....	(36)
聚合酶链反应检测子宫颈癌、阴茎癌、膀胱癌感染第 16、18 型人乳头瘤病毒的研究	
杨道理、王宝成、克丙申等.....	(37)
应用聚合酶链反应检测肝癌患者外周白细胞中 HBV DNA 的存在	
王宝成、李志、杨道理等.....	(38)
应用聚合酶链反应技术对献血员 HBV 感染状况的观察分析	
齐法莲、杨道理、王宝成等.....	(39)
应用聚合酶链反应技术观察 1% 过氧乙酸雾化消毒 HBV 的效果	
安娟、杨道理、克丙申等.....	(40)
聚合酶链反应探测肝病患者中 HBV 的感染	
李薇、戴庆堂、陈曦等.....	(41)
用 PCR 技术在高危者活化淋巴细胞中检测 HIV 前病毒基因	
陈虹、M. Carbonari 等.....	(42)
以聚合酶链反应(PCR)直接法对乙型肝炎病毒标志阴性肝病患者血清的检测	
安萍、陈乃玲、顾芳等.....	(43)
肝穿刺标本中扩增乙肝病毒核心抗原、E 抗原基因并高效表达	
智刚、李波、安献禄等.....	(44)
体外基因扩增技术(PCR)标记 cDNA 生物素探针在流行性出血热基因诊断中的应用	

王国志、杨立宏、药立波等.....	(45)
PCR 方法检测 DMD 基因缺失状态	
金春莲、孙开来、张鸣镝、张 学.....	(46)
应用 PCR 技术检测 DYZ1 DNA 顺序和 ZFY 基因进行性别鉴定	
张 学、孙开来、金春莲.....	(47)
用 PCR 和限制性内切酶 Stu I 直接鉴定出突变发生在 α_2 珠蛋白基因的 Hb Westmead	
蒋南华、梁 徐、文晓军.....	(48)
加锚聚合酶链反应在 Duchenne 型肌营养不良症基因序列分析中的应用	
颜 真、苏成芝等.....	(49)
用选择性 α_2 珠蛋白基因 DNA 扩增及 MspI 酶解法检测 Hb Quong Sze[$\alpha_2^{(H8)125\text{Leu-pro}}\beta_2$]	
文晓军、梁 徐、林伟雄等.....	(50)
用羊水细胞直接作多聚酶链反应进行 α 地中海贫血产前基因诊断	
梁 徐、文晓军、李 琪等.....	(51)
PCR 产生异源双链 DNA 及其在检测基因缺失型 β 地中海贫血中的应用	
刘敬忠、王 生、王立荣等.....	(52)
应用 3' 碱基特异的 PCR 技术产前诊断 β 地中海贫血	
刘敬忠、文晓军、吴冠芸等.....	(53)
多聚酶链反应检测肺炎支原体的建立	
穆士杰、苏明权、祝道成等.....	(55)
用聚合链式反应检测艾滋病病毒基因	
阎小君、苏成芝、吉昌华等.....	(56)
应用 PCR 技术定向克隆 HIVProtease 基因	
阎小君、吉昌华、苏成芝等.....	(57)
PCR 在检测细小病毒方面的应用	
孙俭波、刘为平、唐 榕等.....	(58)
应用 PCR 扩增人巨细胞病毒 B 基因编码区及其糖蛋白 52KD 抗原结构域	
吴 均、陈俊杰、唐泽媛等.....	(59)
应用腺病毒 E ₁ 基因特异引物的 PCR 检测腺病毒	

郑永晨、傅文永、刘向党等.....	(60)
多聚酶链反应检测 HBVDNA 及其临床意义的研究	
全 硕、裴 绣、王麟士等.....	(61)
聚合酶链反应法检测慢性乙型肝炎患者尿中 HBVDNA	
刘应麟、李树臣、程春红等.....	(62)
PCR 技术在艾滋病研究中的应用	
邵一鸣、陈 箐、赵全璧等.....	(63)
聚合酶链反应(PCR)在检测人巨细胞病毒感染标本中的应用	
董 伟、肖伟华、王 玲等.....	(64)
用 PCR 法研究人乳头瘤病毒与子宫颈癌了关系	
刘珊玲、彭红琪.....	(65)
多聚酶链反应(PCR)及其在实验动物质量监测中的应用	
陈明久、胡柏林.....	(67)
HBV—DNA PCR 分型方法的初步研究	
王全立、马立人、刘耀清等.....	(67)
痘苗病毒天坛株启动子 P7.5 和 PF12 的克隆及其功能的研究	
王双平、阮 力、金 奇等.....	(68)
应用聚合酶链反应检测志贺氏菌及侵袭性大肠杆菌	
祁 伟、宋诗铎、张同海等.....	(69)
应用 PCR 扩增 ETEC 肠毒素 ST1b 基因	
冯书章、 刘晓明等.....	(70)
结核杆菌染色体基因特异性重复序列的多聚酶链反应	
杨晓峰、李 元、李别虎等.....	(72)
从细菌中扩增 16SrDNA 并用于细菌的鉴定	
杨瑞馥等.....	(73)
用 PCR 技术扩增结核杆菌特异的重复 DNA 序列检测结核杆菌及其临床初步应用	
步 宏等.....	(74)
乳酸链球菌肽(Nisin)前体基因的扩增及其在大肠杆菌中的克隆	
还连栋、陶 勇、何 松等.....	(75)

聚合酶链反应在结核杆菌检测中的应用

庄玉辉、吴雪琼、张晓刚等..... (76)

用 RCR 技术检测痢疾病原菌

李银太、郭兆彪、林万明等..... (77)

PCR 检测鼠细胞中转染的人特异性 DNA 片段

王升启、陆应麟、马立人等..... (78)

反转录病毒载体介导转移的基因序列的直接扩增与检测

屈 伸、D.Valerio 等 (79)

应用聚合酶链扩增表达框架修饰法克隆绿脓毒素基因 PE40 区

张 萌、武临专、李焕姿等..... (80)

人神经生长因子 (Nerve Growth Factor, NGF) 基因克隆

华仲慰、刘宏迪、郭建荣..... (82)

RNAPCR 条件的研究

朱圣庚、肖志壮、秦树林等..... (83)

适用于 PCR 的 DNA 提取新方法

王美岭、韩金祥、张 翠等..... (84)

适用于 RT-PCR 的 RNA 提取新方法

韩金祥、王美岭、冯进波等..... (85)

用甲酰胺提高聚合酶链式反应的特异性、灵敏度和效率的研究

黄 超、毛裕民、唐 榕等..... (85)

耐高温 FD3009 DNA 多聚酶基因的克隆

毛裕民、冯 霄、马匆匆等..... (87)

应用 RNA—cDNA—PCR 技术从人脑总 RNA 制备髓鞘碱性蛋白 cDNA

陈俊杰、李昌隆、王若茵等..... (88)

用 RT-PCR(逆转录—聚合酶链反应)进行 GM—CSF cDNA 克隆的方法

阚丹忆、黄系仁、蔡良婉..... (89)

用 PCR 技术探测正常及缺氧时大鼠肺肾上腺素能 β_2 受体 mRNA 水平的变化

王节发、刘敬忠、王立荣等..... (90)

一种用于高效表达真核基因的改良 PCR 法

李建良、任 皓、黄厚哲等..... (91)

应用 PCR 法于大麦黄矮病毒 BYDV 核苷酸的序列分析和合成病毒外壳蛋白基
因的全长 cDNA

成卓敏、周广和、王立阳等..... (92)

应用 PCR 法检测携带大麦黄矮病毒(BYDV)的单头介体蚜虫

成卓敏、王立阳、周广和等..... (93)

采用 PCR 技术构建一种鲑鱼生长激素相关蛋白的表达质粒

赵为诚、张同海、祁 伟等..... (94)

从公牛基因组中扩增 SRY 的同源序列

翟文学、陈秀兰、吴德国等..... (95)

利用 PCR 技术分析水稻核糖体基因的第一转录间隔区

宋文源、张耕耘、朱立煌等..... (96)

应用聚合酶链反应克隆大豆花叶病毒外壳蛋白基因及在转基因烟草中鉴定该基因

冷晓红、储瑞银、潘乃遂等..... (97)

应用 PCR 技术克隆植物 RNA 病毒基因

储瑞银、冷晓红、郭 涛等..... (98)

用 PCR 聚合酶链反应扩增载脂蛋白基因 3'高变区——一种很有发展潜力的同一认定检
验方法

蓝 翎、霍振义、张小为等 (100)

PCR 法检测中国人 DNA—D17S30 位点多态性的初步研究

王 巍、贾静涛等 (101)

DNA 体外扩增技术在法庭科学性别鉴定中的应用研究

张小为、兰 翎、霍振义等 (103)

用 M13 噬菌体作探针进行人的 DNA 限制性片段长度多态性分析

张小为、蓝 翎、段秉章等 (104)

HLA-DQ α 的 PCR 扩增及基因分型在法医学鉴定中的应用

姜先华、吕世惠等 (105)

用于多聚酶促链反应(PCR)引物设计的计算机程序

王槐春、朱元晓、张海鹰等 (107)

PCR 技术与自动化

刘新志、田明华	(108)
一种简便、快速的 PCR 模板 DNA 制备方法	
张 学、姜 莉、余明焕等	(109)
解除模板 DNA 中杂质对 TaqDNA 聚合酶抑制作用的方法	
姜 莉、张 学、金春莲等	(110)
利用光加热的 DNA 扩增系统	
李侃淳、肖泉毅等	(112)
应用 DNA 体外扩增技术对线粒体 DNA 突变引起的人类疾病的研究	
张丽珊、黄 鹰、朱 斌等	(113)
TAQ DNA 聚合酶的分离和纯化	
敖朝晖、韩 燕、强伯勤	(114)
应用聚合酶链反应检测不同消毒剂对 HBV 阳性血清的消毒效果	
孙文杰、杨道理、齐法莲等	(115)
应用 PCR 技术直接缺失及克隆植物 cDNA	
刘春明、朱 桢、孙勇如等	(116)

HLA-D 区基因分型和原发性干燥综合征研究

费虹明

(上海第二医科大学生物学教研室, 上海 200025)

HLAII 类抗原参与抗原提呈和同种异体移植物的识别。II 类抗原基因在 HLA-D 区, 包括 DR、DQ 和 DP 三个主要亚区, 每一亚区又有许多位点。HLA-D 区存在广泛的多态性, 这种多态性影响着免疫反应的个体差异, 从而也影响某些自身免疫性疾病的易感性和抵抗性。HLA-D 区的多态性可通过经典的血清学, 混合淋巴细胞反应 (MLR) 和预致敏淋巴细胞 (PLT) 扞出。近年来随着分子生物学的发展这些抗原还可在 DNA 水平, 用 RFLP 来鉴别。此法虽可扞出某些血清学不能区分的亚型, 但仍有其局限性。1986 年 Saiki 等自选使用 PCR / SSO 的方法进行了 HLA-DQA 位点的分型, 可以区分出个别核苷酸差异的各个等位基因。此技术已广泛用于研究 HLAII 类抗原与糖尿病, 天疱疮等自身免疫病的关系, 并已发现 HLA-DQB 区特定的氨基酸授与疫病易感性和抵抗性。干燥综合征也是一种自身免疫病, 由于淋巴细胞浸润到唾液腺, 表现出眼、口干燥。血清学研究表明与 HLA-DR3 相关。本文应用 PCR 技术, 合成与 HLA-DRB 和 DQA 基因第二外显子 5'端顺序和 3'端顺序互补的引物, 扩增 75 名白种人原发性干燥综合征病人基因组 DNA, 扩增产物 (分别为 274bp/242bp) 用点膜法加到尼龙膜上, 用一组 DRB1 和 DRB3 基因以及 DQA 基因顺序特异的寡聚核苷酸探针 (SSO) 进行杂交, 鉴定出他们的 DRB1、DRB3/DQA 基因的型别, 并进行统计分析, 结果表明: 1.HLA-DR3 (54%) 和 DRw8 (13%) 频率比正常对照增高 ($P < 0.001$) 2.DR3 阳性病人比正常对照组 DR3 阳性者 HLA-DRW52a 频率增高 ($P < 0.05$) 3.HLA-DQA4 频率增高 (77%) ($P < 0.05$) 4.DQA1 / DQA4 杂合子频率增高 (49%) ($P < 0.05$) 5.抗自身抗体 SSB 与 DR3 相关, RR (相对危险率) = 14.4 ($P < 0.001$)。这些结果扩展了血清学研究的结果, 进一步表明 HLA-D 区基因对疾病的发生和自身免疫抗体产生的影响。

DMD 家系中 pERT87-8 / TaqI RFLP 分析

孙开来 张 学 余明焕 金春莲

(中国医科大学分子遗传学研究室, 沈阳, 110001)

李秀玲 贺文萍

(中国医科大学第一临床学院儿科, 沈阳 110001)

新近建立的“Multiplex PCR”是一种直接、快速检测 dystrophin 基因缺失的方法。采用此法可以检出 90% 以上由基因缺失导致的 DMD。但是, “Multiplex PCR”法不适于诊断由非基因缺造成的 DMD, 也不能用于携带者检出。因此, 这种方法还不能完全取代传统的 RFLP 连锁分析方法。我们应用 PCR 技术进行了 DMD 家系中 dystrophin 基因内 RFLP 分析, 加速并简化了这一传统的分析方法。

选择患者经我校第一临床学院儿科确诊的 DMD 家系三个, 采集患者及父母共 9 个成员的外周血, 采用我室常规方法快速提取白细胞 DNA, PCR 扩增所用的一对引物分别为:

引物 1 5'-GTCAGTTGGTCAGTAAAAGCC-3',

引物 2 5'-CCAATTAAAACACAGCAG-3'.

它们能特异性扩增含 pERT87-8 TaqI 多态位点的一段 DNA, 扩增产物长为 145bp, 经 TaqI 消化或为 145bp(74%) 或为 74bp+71bp(26%). PCR 扩增使用 Perkin-Elmer / Cetus 试剂盒 (含 AmpliTaqDNA 聚合酶), 借助 DNA Thermal Cycler (Perkin-Elmer / Cetus), 经 94℃ 变性 1 分钟、55℃ 复性 1 分钟和 72℃ 延伸 1.5 分钟三步循环反应扩增 35 周期, 然后 72℃ 继续保温 5 分钟。扩增产物用限制性内切酶 TaqI 消化, 直接通过电泳检测进行 RFLP 连锁分析。

对上述三个 DMD 家系进行 pERT87-8 / TaqI RFLP 连锁分析结果表明, 这种基因内 RFLP 能在一个家系中提供信息, 即患者母亲是 pERT87-8 / TaqI 多态位点杂合子, 该家系中除母亲 DNA 出现 145bp 和 74 / 71bp 两条带外, 患者及父亲 DNA 仅出现 145bp 一条带。因此, 致病基因和 145bp 即 TaqI (-) 位点连锁。其余两个家系全部成员的 DNA 均出现 145bp 一条带。对不能提供信息的

家系，我们正在应用 PCR 技术，进行其它 dystrophin 基因内多态位点的 RFLP 分析。

8 个甲型血友病家系 FⅧ基因的 RFLP 连锁分析

金春莲 孙开来 张学 姜莉 娄毅

(中国医科大学医学遗传教研室, 沈阳 110001)

李秀玲 贺文萍

(中国医科大学第一临床学院儿科, 沈阳 110001)

甲型血友病是由于 FⅧ基因遗传性缺陷所致的 X 连锁隐性遗传病。目前尚无根治方法，因此进行产前基因诊断杜绝患儿出生是最有效手段。

本研究应用 Southern 印迹杂交法和 PCR 方法对沈阳地区 6 个有家族史和 2 个散发的血友病家系进行了 FⅧ基因的 RFLP 连锁分析。用 F8-c16/19 为探针，以 Southern 印迹杂交法探测 2 个有家庭史和 2 个有散发家系，用 PCR 扩增法探测另 3 个有家族史的家系，共进行 24 名 FⅧ基因内的 BclII RFLP 分析。选择其中无遗传关系的 21 条染色体分析表明 0.9kb 出现率为 0.8，1.2kb 出现率为 0.2；被测的 5 名肯定携带者之中 2 名为该多态位点的杂合子，占 40%；其中一个家系先证者姐姐为 FⅧ缺陷基因的携带者，另一家系可确定 FⅧ缺陷基因与 0.9kb 多态片段相连锁，可作为先证者母亲妊娠第二胎产前诊断的依据，2 个散发家系的先证者母亲均为纯合子，不能提供信息。用 FⅧ基因内 BclII RFLP 分析不能提供信息的其余 3 个有家族史的家系用 PCR 方法扩增含 FⅧ基因内 XbaI 多态位点的特异 DNA 片段，用 XbaI 酶切后电泳检测 RFLP 分析其中有 2 个家系的先证

者母亲是杂合子, XbaI RFLP 可提供信息, 在一个家系中确定先证者妹妹为正常 FⅧ基因型、可排除携带者。还有一个家系进行了 FⅧ基因外 St14TaqI RFLP 分析确定了 FⅧ缺陷基因与 3.4 3.6 4.0kb 多态片段相连锁。

国内的一些研究指出进行 RFLP 分析时联合应用 FⅧ基因内的 XbaI RFLP 和 BclI RFLP 是较好的选择, 进一步结合基因外 St14 TaqI RFLP 可提高检出的有效率。我们的研究结果支持这种联合分析。应用 PCR 方法进行 FⅧ基因的 RFLP 分析, 操作快速简便不需要放射性同位素, 另外还可直接检测 FⅧ基因的点突变和缺失, 使甲型血友病的基因诊断得到进一步的发展。

应用 DNA 体外 PCR 扩增技术 对地贫症进行产前基因诊断

张树球 陈惠勤 黄运忠 钟 鸣
韦红卫 罗艳红 李 民 卢彩珍

(右江民族医学院, 广西百色, 533000)

1985 年美国 Getus 公司 Mullis 等所建立的 DNA 体外 PCR 扩增技术, 几年来获得迅速发展, 扩增的 DNA 片段广泛地应用于基因克隆、DNA 直接序列分析、遗传病的基因诊断和产前基因诊断等方面。该法通过聚合酶链反应 (Polymerase Chain Reaction, 简称 PCR) 应用与目的 DNA 互补的引物, 经高温变性后, 引物与目的 DNA 单链退火复合, 在 DNA 聚合酶催化下, 在引物 3' 末端伸延合成与目的 DNA 互补的 DNA 片段。合成的新 DNA 片段, 再经变性、与引物退火复合、伸延合成, 如此反复循环 20—30 次, 可在短短的数小时之内, 使某一 DNA 片段扩增到数十万乃至上百万倍, 从而大大地提高基因分析的灵敏度。本室应用此技术, 对正常人和 α 、 β 地中海贫血症患者的胎儿绒毛 DNA 的 α 和 β 珠蛋白基因片段进行扩增成功, 并诊断一例为 Hb Bart's 水肿胎儿, 我

们体会到,此法最大优点是迅速、灵敏、简便,对某些遗传病可不需要同位素标记探针,适用于我们边远地区进行地贫症产前基因诊断,值得推广。

应用 mRNA-PCR 技术研究 β 地中海贫血 基因 IVS-II-654 C $\rightarrow$ T 的剪接缺陷

黄淑帧 周霞娣 任兆瑞 曾溢滔

(上海市儿童医院,上海医学遗传研究所,上海 200040)

β 珠蛋白基因 IVS-II-654 C $\rightarrow$ T 是中国人常见的一种 β 地中海贫血突变类型。先前 Kazazian 等根据克隆的突变基因在短暂细胞培养系统中的表达和 S1 酶谱的分析结果,发现该突变产生了一种剪接异常的 mRNA,但没有可检测到的 β 珠蛋白 mRNA,鉴定为 β^0 地中海贫血。最近,我们应用 PCR 技术扩增 β 珠蛋白 mRNA 的 cDNA 拷贝,定性和定量的观察 IVS-II-654 C $\rightarrow$ T 突变基因的转录产物,结果表明这一突变并没有完全消除正常的 mRNA 加工,而仍然产生部分正常剪接加工的 mRNA,故应为 β^+ 地中海贫血。

从一例 IVS-II-654 突变纯合子病人的网织细胞中抽提 RNA,反转录合成 cDNA 后,在特异于 β 珠蛋白基因外显子序列的一对引物的引导下,扩增在正常人预期为 181bp 的 cDNA 片段,参与反应的底物之一用放射性同位素标记。PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳分离后,发现患者除具有 254bp 和约 290bp 的扩增片段外,同时还出现正常长度 (181bp) 的扩增 cDNA 片段,放射性脉冲测定其含量为 15%。对扩增 cDNA 的直接测序表明,病人的 254bp 的异常扩增 cDNA 的外显子 2 的最后一个碱基 (G) 与 IVS-II-580 (G) 相拼接,IVS-II-652 (G) 与外显子 3 的第一个碱基 (C) 相拼接,因而在外显子 2 和 3 之间插入了一个长度为 73bp 的额外外显子,而患者的 181bp 的扩增 cDNA 的序列却完全正常,其 290bp 的扩增片段则由 181bp 和 254bp 两种扩增 cDNA 复合而成。显然