

A-S2-23

四川泸州非小红细胞低色素贫血健康个体及 G6PD 缺乏症患者 α -珠蛋白基因拷贝数缺失的检测

周璐, 李蔓薇; 指导教师: 马明义

泸州医学院 2011 级临床医学

【目的】 获得四川泸州非小红细胞低色素贫血健康个体及 G6PD 缺乏症患者 α -珠蛋白拷贝数缺失的频率, 为该地区加强开展预防缺失型 α -地贫的分子筛查和产前基因诊断提供理论依据。

【方法】 祖籍为四川泸州的 200 例无血缘关系的非小红细胞低色素贫血健康个体及经高铁血红蛋白还原法诊断为 G6PD 缺乏症的 108 例无血缘关系患者的外周血均来至于泸州医学院附属医院检验科, 常规酚氯仿法行外周血基因组 DNA 的提取, 定制合成引物, 选取扩增效率较高的引物进行单管多重缺口 PCR 技术(gap-PCR)检测 α -珠蛋白拷贝数缺失, 调整 4 对引物的浓度及比例, 优化反应体系, 确定 PCR 扩增的最适反应条件。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳分离, 溴乙啶染色, Gel Doc1000 凝胶成像分析系统观察并保存电泳结果。有 1.6 kb 的扩增条带表明有 $-\alpha 3.7$ 缺失; 有 1.5 kb 的扩增条带表明有 $-\alpha 4.2$ 缺失; 有 0.8 kb 的扩增条带表明有 $-\text{SEA}$ 缺失; 有 1.9 kb 的扩增条带则表明 $\alpha 1$ 和 $\alpha 2$ 珠蛋白基因都没有缺失。

【结果】 200 例健康人群检测出 6 例有 α -珠蛋白基因拷贝数的缺失, 占 3%。其中有 4 例左侧缺失($-\alpha 4.2/\alpha\alpha$), 2 例右侧缺失($-\alpha 3.7/\alpha\alpha$)。108 例 G6PD 缺乏症患者中有 7 例有 α -珠蛋白基因拷贝数的缺失, 占 6.48%, 其中有 2 例左侧缺失($-\alpha 4.2/\alpha\alpha$), 2 例右侧缺失型($-\alpha 3.7/\alpha\alpha$), 2 例东南亚缺失($-\text{SEA}/\alpha\alpha$), 1 例右侧缺失合并东南亚缺失($-\alpha 3.7/-\text{SEA}$)。G6PD 缺乏症患者 α -珠蛋白基因拷贝数缺失的频率显著高于健康人群。

【结论】 四川泸州健康人群 α -珠蛋白基因拷贝数缺失的频率高于四川成都人群的 1.92%, 该地区育龄夫妇应加强开展 α -珠蛋白基因拷贝数缺失的检测, 尤其当夫妇一方为 G6PD 患者时尤为必要。

关键词: 缺失型 α -地中海贫血; 基因诊断; G6PD 缺乏症

A-S2-24

DNA 条形码技术用于肉制品基因鉴定

乔娇¹, 戴振宇², 杨斯苒², 胡申², 谢桑²; 指导教师: 黄春洪, 朱伟锋

1. 南昌大学医学院 2012 级临床医学

2. 南昌大学医学院 2011 级临床医学

【目的】 针对当今社会越来越严重的假肉事件, 建立一种快速、特异性强的基因鉴定方法, 实现对猪、牛、羊、马、鸡、犬、鼠等常见肉类和加工熟食肉制品的鉴定。

【方法】 利用 DNA 条形码原理, 用 Genedoc 软件多序列比对猪、牛、羊、马、鸡、犬以及鼠等常见肉源动物线粒体基因, 寻找能够特异性区分各物种和亚种的基因片段。针对 DNA 序列, 利用 Primer Premier 6.0 设计特异性引物, 考虑到加工的熟肉制品 DNA 存在降解, 引物设计时 PCR 产物大小限定在 350 bp 以下。随机混合 2~3 种肉类 DNA, 采用多重 PCR 方法扩增, 检测引物的特异性。利用 PCR 方法, 稀释 DNA 模板以 10、1、0.1、0.01 ng 进行 PCR 扩增, 检测 PCR 的灵敏度。在羊肉中按 10%、5%、1% 比例混入猪肉, 取 100 mg 混合肉, 提取 DNA 并用猪肉引物进行 PCR 扩增, 评价样品检测的灵敏度。以熟肉包、泡椒凤爪、香肠、牛肉粒、鸡肉派等深加工肉为原料, 检测上述 PCR 方法的适用性。

【结果】 通过序列比对, 选择线粒体细胞色素 C 氧化酶亚基 I 基因(COI)作为受检基因, COI 基因 1 680~1 710 bp 区域有极高的物种特异性, 例如水牛和奶牛、山羊和绵羊在该 DNA 区域的差异碱基有 5~7 个。以该区