

突变敏感性分子开关快速筛查 肥厚性心肌病 MYH7 基因 Ala26Val 突变

郭紫芬¹, 兰 芬¹, 周翠兰¹, 李 凯^{1,3}, 廖端芳^{1,2}

(1. 南华大学药物药理研究所, 湖南省衡阳市 421001; 2. 湖南中医药大学药学院中医诊断学系, 湖南省长沙市 410208; 3. 苏州大学第二附属医院分子医学中心, 江苏省苏州市 215004)

[关键词] 单碱基多态性; 三末端标记引物; 高保真 DNA 聚合酶; 错配纠正

目的 利用高保真聚合酶介导的突变敏感性分子开关联合琼脂糖凝胶电泳, 建立对肥厚性心肌病 MYH7 基因 Ala26Val 突变进行快速筛查的技术平台。**方法** 应用 PCR 反应扩增包含 MYH7 基因 Ala26Val 突变区域的基因序列, 通过基因克隆技术与反向 PCR 体外定点突变技术, 分别得到 MYH7 基因 Ala26Val 突变的野生模板与突变模板, 并通过基因测序分析进行确证。设计与 Ala26Val 突变位点配对及三末端不配对的 3' 硫化修饰正向引物, 在其下游设计一条反向引物, 分别构成野生引物对与突变引物对, 进行高保真 DNA 聚合酶介导的双向引物延伸反应, 利用凝胶成像系统对其 PCR 结果进行分析。**结果** 当突变引物对与突变模板配对时, 引物被延伸, 有 PCR 产物; 与野生模板不配对时, 引物却不能被延伸, 无 PCR 产物。同样, 野生引物对只有与野生模板匹配时得以延伸, 而与突变模板不匹配时则不能延伸。**结论** 高保真 DNA 聚合酶偶联硫化修饰引物构成的突变敏感性分子开关能够快速筛查肥厚性心肌病 MYH7 基因 Ala26Val 突变, 达到非此即彼的二元化效果, 该分子开关在肥厚性心肌病基因筛查中具有巨大的潜在应用价值。

[基金项目] 国家高技术研究发展 863 计划(2008AA02Z436)

[作者简介] 郭紫芬, 博士研究生, 副教授, 主要研究方向为心血管药理学, E-mail 为 guozifen@yahoo.com.cn。通讯作者廖端芳, 博士, 教授, 博士研究生导师, 主要研究方向为心血管药理学, E-mail 为 dliao66@yahoo.com.cn。

(此文编辑 许雪梅)