子设计发夹型 DNA 探针：rpsL 43Codon-HP，经软件二级结构预测，没有找到主环以外的发夹结构，可保证杂交时的特异性；最小自由能：－18.1 kcal/mol，具有较好的结构稳定性。实验证实设计的特异性发夹 DNA 探针对 rpsL 43 密码子 AAG→AGG 单碱基突变有较强的检出效果。在检测方法上我们采用常规荧光分光光度仪方法：在菌株基因组 DNA 扩增产物中加入相应发夹探针杂交，运用荧光分光光度仪直接观测液相中杂交产物的荧光信号。分析结果：①无发夹探针空白对照组由于没有荧光分子，所以荧光背景很低。②H37RV 标准菌株由于没有点突变，与发夹探针完全结合，茎环打开，荧光强度很高，相比 rpsL 43 密码子突变组具有非常显著性差异（$P<0.01$）。③rpsL43 密码子突变组与发夹探针不能结合，茎环未打开，荧光强度低，但由于本身带荧光素背景较无发夹探针空白对照组高（$P<0.05$），类似的还有金葡菌对照组。④无 rpsL 43 密码子突变组与 H37RV 标准菌株一样：与探针结合并打开茎环，荧光强度高，相比 H37RV 组（$P>0.05$）没有显著性差异。通过与测序结果对照，发夹 DNA 探针发现 1 例假阳性 504S，原因还不清楚，可能还有其他邻近位点突变干扰，其余全部符合。相对测序法的复杂、昂贵、耗时长等，常规荧光分光光度仪直接检测发夹探针与靶分子的液相杂交信号，是一种简单、快速、敏感、高效的分子检测方法，对类似 rpsL 43 密码子单碱基突变的结核耐药临床检诊具有潜在应用价值。

参考文献：

[1] Dye C, Bassili A, Bierrenbach A L, *et al*. Measuring tuberculosis burden, trends, and the impact of control programmes[J]. Lancet Infect Dis, 2008, 8(4): 233－243.

[2] Li Y, Zhou X, Ye D. Molecular beacons: an optimal multifunctional biological probe[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2008, 373(4): 457－461.

[3] Tracevska T, Jansone I, Nodieva A, *et al*. Characterisation of rpsL, rrs and embB mutations associated with streptomycin and ethambutol resistance in Mycobacterium tuberculosis[J]. Res Microbiol, 2004, 155(10): 830－834.

[4] Su W J, Feng J Y, Huang C C, *et al*. Increasing drug resistance of Mycobacterium tuberculosis isolates in a medical center in northern Taiwan[J]. J Formos Med Assoc, 2008, 107(3): 259－264.

[5] Ani A E, Idoko J, Dalyop Y B, *et al*. Drug resistance profile of Mycobacterium tuberculosis isolates from pulmonary tuberculosis patients in Jos, Nigeria[J]. Trans R Soc Trop Med Hyg, 2009, 103(1): 67－71.

[6] Wolfart M, Barth A L, Willers D, *et al*. Mycobacterium tuberculosis resistance in HIV－infected patients from a tertiary care teaching hospital in Porto Alegre, southern Brazil[J]. Trans R Soc Trop Med Hyg, 2008, 102(5): 421－425.

[7] 张小刚，何秀云，李书琳，等. 结核分支杆菌耐链霉素耐药基因的检测[J]. 实用医学杂志，2001，17(10)：1006－1007.

[8] Wang F F, Zhang W H, Wang H H, *et al*. Rapid detection of rpsL gene associated with streptomycin resistance in Mycobacterium tuberculosis by high－resolution melting analysis[J]. Int J Infect Dis, 2008, 12(3): S37－S38.

[9] 梁建琴，吴雪琼，曹立雪，等. 应用 PCR-反向斑点杂交技术快速检测结核分枝杆菌耐链霉素基因型[J]. 中国医师杂志，2004，6(9)：1170－1172.

[10] 黄海南，韩金祥，王进鸿，等. 链霉素耐药结核分支杆菌 rpsL 基因分析[J]. 遗传学报，2003，30(4)：376－381.

[11] 吴凤荣. 结核病实验室诊断技术进展[J]. 山西医药杂志，2007，36(1)：56－57.

[12] 陈庆海，府伟灵，薛 强，等. 发夹 DNA 探针检测乙胺丁醇耐药结核杆菌 embB 基因 306 密码子突变研究[J]. 重庆医科大学学报，2009，34(2)：135－138.

（编辑 汪勤俭）

新书推介：《医学生物学研究生常用实验技术方法》



由第三军医大学博士后陈晓红和孙仁山根据自己的研究经历主编、程天民院士题写书名和钟南山院士作序的新书《医学生物学研究生常用实验技术方法》已由四川大学出版社出版。陈晓红博士长期致力于“分子药理学与临床”研究领域。在程天民、钟南山院士等专家指导下，本书作者在医学实验方法方面积累了丰富的经验，并将经过自己摸索，并证明可行的医学实验方法总结和编撰成书，以供医学研究生参考。相信本书能成为研究生们进行科学研究的医师益友。

本书针对的读者群体为医学、药学、生物学、生物工程、生物化学及相关专业研究生和研究人员。全书共分为七章，目录如下：

第一章 动物模型的建立 第二章 组织病理学技术 第三章 超微病理学技术
第四章 细胞生物学技术 第五章 生物化学指标检测 第六章 分子生物学技术
第七章 靶向药物研究技术

联系地址：重庆市沙坪坝区高滩岩第三军医大学学报编辑部（400038） **电话：**（023）68752187
联 系 人：曾 颖 **定价：**22.00 元