DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.02.027
第25卷第2期 第三军医大学学报 Vol. 25, No. 2
2003年1月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jua. 2003

文章编号:1000-5404(2003)02-0155-05

论著

10个品系小鼠的AFLP分析

梁智勇[1],史景泉[1],魏 泓[2],吴丰春[2] (第三军医大学:[1]附属西南医院病理学研究所,[2]实验动物中心,重庆 400038)

提 要:目的 实验用小鼠的遗传质量分析和品系鉴定。方法 应用AFLP技术对10个品系小鼠进行分析。结果 共应用25条单酶切引物、25对双酶切引物进行检测,其中17条单酶切AFLP引物、20对双酶切AFLP引物检测到10个品系小鼠的多态性变化。单酶切AFLP共扩出251条带,片段大小在100~2 000 bp,共得到89个多态位点,占总扩增带的35.5%。双酶切AFLP在50~600 bp扩增出清晰条带,统计1 507条带,共得到378个多态位点,占总扩增带的25.1%。对多态性片段进行统计,计算出不同品系间的相似指数和遗传距离指数。结果表明昆明鼠(KM)与TA2、BALB/c、BALB/c-nu关系较近;所有品系间关系最近的两品系为BALB/c和BALB/c-nu;关系较远的是DBA/2与T739、615、C57BL/6J,与小鼠品系来源及培育史相符。结论 通过筛选获得特异性AFLP标记,可用以区分遗传背景或外观形态很相似的品系。为小鼠的遗传质量分析和品系鉴定提供了参考资料。

关键词:小鼠;遗传多态性;AFLP
中图法分类号:Q953;R394.2 文献标识码:A

AFLP analysis of 10 strains of mice

LIANG Zhi-yong, SHI Jing-quan, WEI Hong, WU Feng-chun (Institute of Pathology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To analyze the genetic quality and to determine the strain of laboratory mice. Methods Ten strains of mice were analyzed by using AFLP method. Results Polymorphism was detected in 10 strains of mice by 17 single-enzyme primers and 20 pairs of double-enzyme primers amplification. A total of 251 bands were shown by single-enzyme AFLP in agarose gel with the size of the bands ranging from 100 bp to 2 000 bp and 89 polymorphic loci were detected. A total of 1507 clear bands between 50 bp and 600 bp were shown by double-enzyme AFLP and 378 polymorphic loci were detected. Through statistical analysis, we calculated the similar index and genetic distance index. Our results showed BALB/c and BALB/c-nu had the closest relationship and KM had a closer relationship with TA2, BALB/c and BALB/c-nu, while DBA/2 showed a distant relationship with T739, 615 and C57BL/6J, coinciding with the origins of breeds. Conclusion Each strain could be distinguished from others by using the AFLP polymorphic primers, which provides reference data for genetic quality analysis and strain determination of mice.

Key words: mice; genetic polymorphism; AFLP

随着生物医学的发展,对实验动物的需求量大幅度上升,而高品质的实验动物更是实验结果准确性、科学性、可重复性的重要保障,因此,实验动物的质量问题备受关注。小鼠是最常用的实验动物之一,目前在生物医学领域应用极为广泛,研究者对其质量的要求越来越高,现已经制定出统一的国际标准,为保证小鼠的质量提供了依据[1]。

扩增片段长度多态性(Amplified fragment length polymorphism, AFLP)技术是近年来发展起来的一种建立在PCR基础上的DNA指纹技术,通过对DNA限制性片段的选择性扩增获得丰富的DNA指纹,选择合适的内切酶及引物可以很容易控制AFLP指纹图中电泳带的数目,便于分析[2]。其优点是:不需要了解待测DNA序列,具有高分辨率、高灵敏度、重复性好的特点。该技术最早应用于植物育种工作,目前已广泛应用于动植物多态性分析、品系分析、育种、微生物鉴定以及疾病诊断和肿瘤研究中,是一种较为理想的遗传监测技术。本研究应用AFLP技术对10个品系的小鼠进行检测,并根据遗传距离,探讨小鼠的亲缘关系,为

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39600079,39900173);全军"九五"医药卫生科研基金资助项目(96M083);重庆市攻关项目
作者简介:梁智勇(1966—),男,四川省岳池县人,博士,主治医师,讲师,主要从事遗传及肿瘤病理学方面的研究。电话:(023)68754434
收稿日期:2002-02-21;修回日期:2002-04-28

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

小鼠的遗传质量监测、小鼠遗传图谱的建立提供参考资料。

1 材料与方法

1.1 材料

BALB/c 小鼠、BALB/c-nu 小鼠、615 小鼠、TA2 小鼠、DBA/2 小鼠、T739 小鼠、SCID 小鼠各 5 只，昆明鼠(KM)、NIH 小鼠各 10 只由第三军医大学实验动物中心提供，C57BL/6J 小鼠 10 只购于重庆医科大学实验动物中心，按 SPF 条件喂养及实验。T4 DNA 连接酶、*Taq* DNA 聚合酶、dNTP、*Pst* Ⅰ 内切酶、*Taq* Ⅰ 内切酶、测序胶银染试剂为 Promega 公司产品，聚丙烯酰胺、双叉丙烯酰胺、尿素、TEMED、过硫酸铵为上海生物工程公司产品。

人工接头与引物均由上海植物生理学研究所 BECKMAN 生物技术示范实验室合成。将合成的两条互补的单链寡聚核苷酸稀释为 200 μg/ml，于 37℃退火 10 min 后冷却至室温，4℃保存备用。该接头包括核心序列及酶特定序列两部分。

	核心序列	酶特定序列
Pst Ⅰ 接头		
	5′-GACGTGACGGCCGTC	ATGCA-3′
	3′ -GCACTGCCGGCAG	T -5′
Taq Ⅰ 接头		
	5′-GACGATGAGTCCTGA	G -3′
	3′- TACTCAGGACT	CGC -5′

根据接头序列设计 AFLP 引物，引物由三部分组成，即核心序列、酶特定序列和 3′端三个选择碱基，本研究共使用 25 条单酶切引物，见表 1，及 25 对双酶切引物，见表 2。

	核心序列	酶特定序列	选择碱基
Pst Ⅰ 引物	5′-GACGGCCGTCA	TGCAG	NNN-3′
Taq Ⅰ 引物	5′-GATGAGTCCTGAG	CGA	NNN-3′

表 1 单酶切 AFLP 引物序列

Tab 1 Primers sequences by single-enzyme AFLP

Primer	Sequence
1	GACGGCCGTCATGCAGtac
2	GACGGCCGTCATGCAGagg
3	GACGGCCGTCATGCAGacc
4	GACGGCCGTCATGCAGcag
5	GACGGCCGTCATGCAGaca
6	GACGGCCGTCATGCAGcga
7	GACGGCCGTCATGCAGgat
8	GACGGCCGTCATGCAGgct
9	GACGGCCGTCATGCAGgac
10	GACGGCCGTCATGCAGgtc
11	GACGGCCGTCATGCAGtct
12	GACGGCCGTCATGCAGcct
13	GACGGCCGTCATGCAGaag
14	GACGGCCGTCATGCAGtgg
15	GACGGCCGTCATGCAGtcg
16	GACGGCCGTCATGCAGgag
17	GACGGCCGTCATGCAGgcg
18	GACGGCCGTCATGCAGatc
19	GACGGCCGTCATGCAGcac
20	GACGGCCGTCATGCAGctc

表 2 双酶切 AFLP 引物序列

Tab 2 Primers sequences by double-enzyme AFLP

Primers	Sequence
Preliminary amplified primers	
Pst Ⅰ 0	GACGGCCGTCATGCAGa
Taq Ⅰ 0	GATGAGTCCTGAGCGAa
Selective amplified primers	
Pst Ⅰ 1	GACGGCCGTCATGCAGagc
Pst Ⅰ 2	GACGGCCGTCATGCAGatg
Pst Ⅰ 3	GACGGCCGTCATGCAGact
Pst Ⅰ 4	GACGGCCGTCATGCAGaac
Pst Ⅰ 5	GACGGCCGTCATGCAGatt
Taq Ⅰ 1	GATGAGTCCTGAGCGAacg
Taq Ⅰ 2	GATGAGTCCTGAGCGAatg
Taq Ⅰ 3	GATGAGTCCTGAGCGAaga
Taq Ⅰ 4	GATGAGTCCTGAGCGAagc

1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 的制备 取小鼠脾脏组织约 1 g，应用酚氯仿法提取 DNA。同一品种内每一个样品都吸取 5 μl DNA 稀释液(200 ng/μl)于一个 0.5 ml 灭菌离心管中，混匀建立样品 DNA 池。准确地吸取 5 μl 基因池 DNA，加入到盛有 245 μl 灭菌双蒸水的 0.5 ml 灭菌离心管中，混匀。4℃保存备用。准确地吸取 10 μl 经稀释的基因池 DNA 进行 1.5% 琼脂糖凝胶电泳 5 min，紫外检测。

1.2.2 单酶切 AFLP 模板制备：基因组 DNA 经 *Pst* Ⅰ 酶切，酶切片段经 T4 DNA 连接酶与接头连接，酶切及连接反应在同一体系进行。20 μl 反应体系中，含基因组 DNA 约 0.2 μg，接头 0.2 μg，*Pst* Ⅰ 酶 20 U，T4 DNA 连接酶 2 U，1 mmol/L ATP。反应条件为：37℃ 1 h，20℃ 1 h，循环 5 次后，70℃ 15 min 灭活酶，用去离子水稀释反应液(1∶5)，置 4℃备用。AFLP-PCR 反应 25 μl 反应体系中含 10× buffer 2.5 μl，Mg^{2+} 1.5 mmol/L，引物 2 pmol，模板 10 ng，*Taq* DNA 聚合酶 1 U，dNTP 200 μmol/L，反应条件为 94℃ 1 min，56℃ 1 min，72℃ 1 min 30 s，35 个循环后 72℃ 10 min。扩增产物经含溴乙啶(0.5 μg/ml)的 1.5% 琼脂糖凝胶电泳、紫外检测。

1.2.3 双酶切 AFLP

1.2.3.1 酶切 模板制备同单酶切方法，基因组 DNA 经 *Pst* Ⅰ、*Taq* Ⅰ 两种限制性内切酶消化。反应体系为 20 μl，包括 10× buffer 2 μl，DNA 约 200 ng，*Taq* Ⅰ 内切酶 5 U，加去离子水至 20 μl，65℃反应 2 h，加 5 U *Pst* Ⅰ 内切酶，37℃反应 2 h，70℃ 10 min，4℃保存。连接：酶切产物与接头在 T4 DNA 连接酶作用下连接。反应体系为 20 μl，包括 10× buffer 2 μl，酶切产物 5 μl，T4 DNA 连接酶 5 U，*Taq* Ⅰ 接头 5 pmol/L，*Pst* Ⅰ 接头 2 pmol/L，加去离子水至 20 μl，22℃ 3 h，70℃ 10 min，4℃保存。

1.2.3.2 预扩增 25 μl 反应体系中含 10× buffer 2.5 μl，Mg^{2+} 1.5 mmol/L，*Pst* Ⅰ 预扩增引物 5 pmol，*Taq* Ⅰ 预扩增引物 5 pmol，连接产物 1 μl，*Taq* DNA 聚合酶酶 1 U，dNTP 200 μmol/L，反应条件为 94℃ 3 min；94℃ 30 s，56℃ 1 min，72℃ 1 min 30 s，20 个循环后 72℃ 10 min。预扩增产物稀释 100 倍，4℃保存备用。

1.2.3.3 选择性扩增 25 μl 反应体系中含 10× buffer 2.5 μl，Mg^{2+} 1.5 mmol/L，*Pst* Ⅰ 引物 5 pmol/L，*Taq* Ⅰ 引物 5 pmol/L，预扩增稀释产物 1 μl，*Taq* DNA 聚合酶 1 U，dNTP 200 μmol/L，反应条件为 94℃ 30 s，65℃ 30 s(每循环递减 0.7℃)，72℃ 1 min，13 个循环后接 94℃ 30 s，56℃ 30 s，72℃ 1 min，23 个循环，72℃ 10

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

min, 4 ℃保存备用。

1.2.3.4　电泳分析　　扩增产物经含溴乙啶的 1.5%的琼脂糖凝胶电泳证实是否有产物。然后进行 8%聚丙烯酰胺凝胶电泳分析。

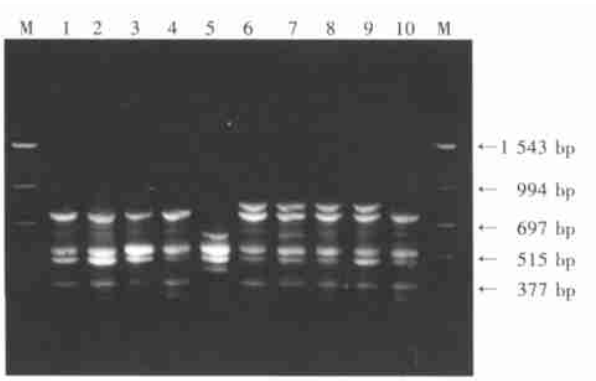
1.3　数据处理及结果分析

选取扩增结果好的引物进行分析, 包括 10 条单酶切 AFLP 引物, 12 对双酶切 AFLP 引物。以"1, 0"分别表示扩增条带的有无, 根据公式 F= 2Nxy/(Nx+Ny)计算出遗传相似系数 F 和不同品系间的平均遗传距离指数 P(1-F)。2Nxy 指个体 X 和个体 Y 共有的片段数, Nx、Ny 指 X 和 Y 个体分别拥有的扩增带数。

2　结果

2.1　扩增结果

单酶切 AFLP 的 20 条引物均扩增出清晰条带, 每条引物扩增带数目在 9~18 条带, 共扩出 251 带, 片段大小在 100~2 000 bp。20 条引物中仅 16 号、18 号、19 号引物扩增结果显示 10 品系小鼠无差异, 其余引物扩增结果均有差异, 表现为不同程度的多态性, 见图 1。共得到 89 个多态位点, 占总扩增带的 35.5%。



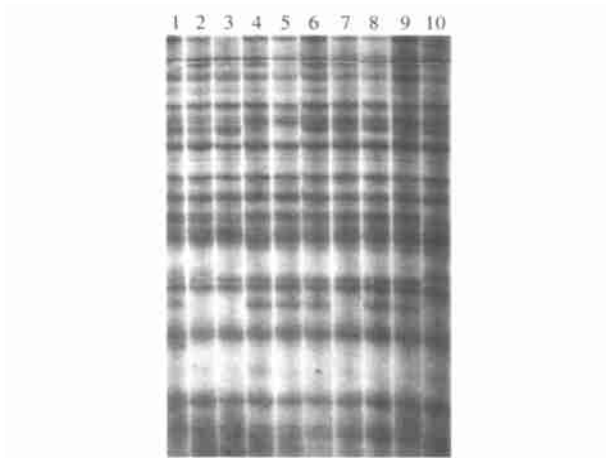
M: PCR marker; 1: KM; 2: NIH; 3: TA2; 4: 615; 5: C57; 6: BALB/c; 7: BALB/c-nu; 8: SCID; 9: DBA/2; 10: T739

图 1　单酶切 10 号引物 AFLP 分析结果

Fig 1　Single-enzyme AFLP analysis result of primer 10

双酶切 AFLP 的 20 对引物在 50~600 bp 扩增出清晰条带, 每条引物扩增带数在 35~114 条带, 共统计 1 507 条带, 20 对引物扩增结果显示 10 品系小鼠间均有差异, 见图 2, 得到 378 个多态位点, 占总扩增带的 25.1%。

单酶切 AFLP 法及双酶切 AFLP 法分别检测到每种小鼠的一些特异性片段, 见表 3, 即小鼠的特异性标记位点, 这对小鼠品系鉴定提供了参考资料。



1: KM; 2: NIH; 3: TA2; 4: 615; 5: C57; 6: BALB/c; 7: BALB/c-nu; 8: SCID; 9: DBA/2; 10: T739

图 2　双酶切引物 P1T4 AFLP 分析结果

Fig 2　Double-enzyme AFLP analysis result of primer P1T4

表 3　10 品系小鼠的特异性位点数目

Tab 3　Specific loci of 10 strains of mice

	NIH	KM	TA2	615	C57	BALB/	BALB/c-nu	SCID	DBA/2	T739
Single-enzyme AFLP	0	1	4	5	4	0	1	2	1	1
Double-enzyme AFLP	9	6	10	8	14	1	3	2	16	7

2.2　相似系数及遗传距离指数

根据公式[2] 计算出 10 品系小鼠的相似系数(F)和遗传距离指数(P), 见表 4、5。单酶切 AFLP 技术及双酶切 AFLP 技术结果分析均显示 T739 小鼠与 DBA/2 小鼠距离最远(P= 0.171 8, 0.181 1); BALB/c 小鼠与 BALB/c-nu 小鼠距离最近(P= 0.045 4, 0.043 0); 其次, KM 小鼠与 BALB/c 小鼠、TA2 小鼠遗传距离较近, C57 小鼠与 615 小鼠遗传距离较近, 与小鼠品系培育史相符合。

表 4　单酶切 AFLP 分析 10 品系小鼠遗传距离指数

Tab 4　Genetic distance index of 10 strains of mice by single— enzyme AFLP analysis

	NIH	KM	TA2	615	C57	BALB/c	BALB/c-nu	SCID	DBA/2	T739
NIH										
KM	0.078 8									
TA2	0.113 0	0.070 6								
615	0.090 1	0.108 7	0.183 2							
C57	0.105 9	0.091 8	0.115 6	0.067 7						
BALB/c	0.071 4	0.058 1	0.071 5	0.127 8	0.106 0					
BALB/c-nu	0.078 5	0.059 8	0.082 1	0.147 2	0.110 3	0.045 4				
SCID	0.090 6	0.091 1	0.119 5	0.107 7	0.092 7	0.057 9	0.079 5			
DBA/2	0.113 3	0.144 9	0.142 4	0.168 1	0.103 3	0.129 3	0.120 3	0.146 1		
T739	0.093 9	0.083 8	0.093 0	0.104 2	0.096 1	0.120 7	0.150 4	0.085 7	0.171 8	

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

表5 双酶切 AFLP 分析 10 品系小鼠遗传距离指数

Tab 5 Genetic distance index of 10 strains of mice by double-enzyme AFLP analysis

	NIH	KM	TA2	615	C57	BALB/c	BALB/c-nu	SCID	DBA/2	T739
NIH										
KM		0.073 2								
TA2	0.110 7	0.069 8								
615	0.093 1	0.097 7	0.184 1							
C57	0.098 9	0.090 8	0.104 6	0.063 8						
BALB/c	0.074 1	0.060 3	0.072 5	0.143 9	0.111 6					
BALB/c-nu	0.077 9	0.061 1	0.085 3	0.152 1	0.109 6	0.043 0				
SCID	0.091 3	0.090 2	0.120 7	0.099 5	0.090 1	0.057 7	0.083 3			
DBA/2	0.109 3	0.150 0	0.149 0	0.170 1	0.099 3	0.136 2	0.133 2	0.132 5		
T739	0.094 7	0.085 0	0.091 1	0.098 4	0.095 1	0.119 5	0.170 6	0.091 3	0.181 1	

3 讨论

小鼠是生命科学研究中重要的实验动物，尤其是近交系小鼠具有高度的遗传稳定性，在实验中的应用极为广泛。小鼠的质量直接影响着实验结果的准确性及可重复性，随着生物医学的发展，对其质量的要求越来越高。严格的质量控制有助于建立高质量的标准化实验用小鼠品系，质量控制的主要方面就是对遗传质量的监测[3]。实验动物的遗传监测是在同种属动物的共性中确定该种属动物中不同品系或品种个性，是以动物个体的遗传多态性为核心进行遗传标记的研究。高辨别力和高敏感性的监测方法是获得准确的遗传信息的保障。

以往实验动物质量监测方法主要是对基因表型的检测，如免疫标志检测、生化标志检测、形态特征检测，均不能直接反应遗传变化的本质。随着分子生物学的迅速发展，研究者不断将先进的检测技术应用于实验动物研究，使揭示遗传变化的本质成为可能，目前实验动物的遗传学标记已成为重点研究方向。由于不同方法的检测结果可能存在一定的差异，因此研究者正努力探寻有效的检测工具。对小鼠的研究也是在这一基础上进行的，研究者分别应用 RFLP-Southern Blot 技术、MSI 检测技术、RAPD 技术等对不同品系的小鼠基因组进行了广泛的研究，通过对其多态性及特异性的分析，为小鼠品系鉴定及遗传图谱的建立积累了丰富的资料[4~8]，但由于方法的局限性，检测结果并不能令研究者完全满意，如 RFLP 技术具有种属特异性、放射性标记对人体危害大、操作复杂费时；MSI 检测技术需要合成大量的探针对已知位点进行检测，成本高，同样费时；RAPD 技术虽然具有简便、快速、高效灵敏、污染小等优点，但随机引物的低退火温度增加了误配率，且易受环境因素影响[9]。新近创建的 AFLP 技术克服了以往技术的缺点，并且结合了 RFLP 技术准确可靠、RAPD 快捷、高分辨力的优点，在许多动植物及微生物的研究中应用广泛[10~15]，是一种比较理想的检测技术，但目前应用该技术对小鼠进行研究的报道很少。

目前大多数实验用小鼠，特别是近交系小鼠，都经过了长期的培育，遗传稳定性高，但不同品系之间的关系以及与其祖先的关系如何还不完全清楚，这是遗传检测需要解决的问题。本实验将单酶切 AFLP 技术与双酶切 AFLP 技术结合起来，对 10 个品系的小鼠进行遗传检测，探讨其遗传背景及其相互关系。在我们检测的 10 个品系小鼠中，DBA/2 小鼠与 T739 小鼠、615 小鼠及 C57BL/6J 小鼠的遗传距离较远，表明 DBA/2 小鼠与这三种小鼠亲缘关系较远。资料表明，615 小鼠是 KM（昆明）小鼠与 C57BL 小鼠杂交子代近交培育而成，T739 小鼠是 615 小鼠与 KM 小鼠杂交子代近交培育而成，TA2 小鼠的祖先是 KM 小鼠，昆明鼠与 BALB/c 均起源于 Bagg albino 小鼠，我们的实验结果显示它们之间的遗传距离较近，符合其培育史。BABL/c 小鼠与 BALD/c-nu 小鼠仅一个裸基因不同，而其它遗传基因完全相同，因此二者亲缘关系很近[1,16]，本实验结果表明二者遗传距离最小。

特异性遗传标志对小鼠品系鉴定具有重要价值，我们通过筛选获得了不同品系小鼠的特异性 AFLP 标记，为小鼠品系分析提供了参考资料，尤其是对于亲缘关系较近的小鼠，如 BABL/c 小鼠与 BALD/c-nu 小鼠，通过特异性 AFLP 标记可以将其区分开来，进一步证实了 AFLP 技术的高分辨力。我们在实验中获得了丰富的、重复性好的多态性 DNA 指纹，表明 AFLP 是建立小鼠遗传图谱的比较理想的技术。

我们对单酶切 AFLP 与双酶切 AFLP 技术进行比较，较高的退火温度使二者均得到较好的扩增结果，都具有很好的重复性。单酶切 AFLP 虽然比双酶切 AFLP 获得的 DNA 片段少的多，但同样能反映小鼠的基本遗传改变，并且单酶切 AFLP 成本低，更加省时快捷。双酶切 AFLP 的两轮 PCR 扩增保证了扩增产物的高度可靠性，其丰富的 DNA 指纹更能充分地反映基因组细微的变化。在实际应用中可以根据不同的研究目的进行选择。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

参考文献：

[1] 魏 泓. 医学实验动物学[M]. 成都：四川科学技术出版社，1998. 149－163.

[2] Pieter V, Rene H, Marjo B, *et al*. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting[J]. Nucleic Acids Research, 1995, 23(21): 4407－4414.

[3] Nomura T. Practical development of genetically engineered animals as human diseases models[J]. Lab Anim Sci, 1997, 47(2): 113－117.

[4] Savelkoul P H M, Aarts H J M, Haas J D, *et al*. Amplified-fragment length polymorphism analysis: the state of an art[J]. J Clin Micorbiol, 1999, 37(10): 3083－3091.

[5] Venugopal G, Trivedi H N, Mohapatra S S. Aribitrary single short primers identify polymorphic DNA markers that distinguish inbred strains of mice [J]. Biochem Biophys Res Commns, 1994, 203(1): 659－665.

[6] Woodward S R, Sudweeks J, Teuscher C. Random sequence oligomucleotide primers detect polymorphic DNA products which segregate in inbred strains of mice[J]. Mamm Genome, 1992, 3(2): 73－78.

[7] 程振华，张连峰，秦 川，等. 小鼠小卫星 DNA 阳性克隆的鉴定及 DNA 指纹分析[J]. 中国实验动物学报，1996, 4(2): 82－85.

[8] Schalkwyk L C, Jung M, Daser A, *et al*. Panel of microsatellite markers for whole-genome scans and radiation hybrid mapping and a mouse family tree[J]. Genome Res, 1999, 9(9): 878－887.

[9] Saliba-Colombani V, Causse M, Gervais L, *et al*. Efficiency of RFLP, RAPD, and AFLP markers for the construction of an intraspecific map of the tomato genome[J]. Genome, 2000, 43(1): 29－40.

[10] Bachem C W, van der Hoeven R S, de Bruijn S M, *et al*. Visualization of differential gene expression using a novel method of RNA fingerprinting based on AFLP: analysis of gene expression during potato tuber development[J]. Plant J. 1996, 9(5): 745－753.

[11] Casa A M, Brouwer C, Nagel A, *et al*. Inaugural article: the MITE family heartbreaker (Hbr): molecular markers in maize[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000, 97(18): 10083－10089.

[12] Zhu J H, Stephenson P, Laurie D A, *et al*. Towards rice genome scanning by map-based AFLP fingerprinting[J]. Mol Gen Genet, 1999, 261(1): 184－195.

[13] Ellis T H, Poyser S J, Knox M R, *et al*. Polymorphism of insertion sites of Ty1-copia class retrotransposons and its use for linkage and diversity analysis in pea[J]. Mol Gen Genet, 1998, 260(1): 9－19.

[14] Knorr C, Cheng H H, Dodgson J B. Application of AFLP markers to genome mapping in poultry[J]. Anim Genet, 1999, 30(1): 28－35.

[15] Otsen M, den Bieman M, Kuiper M T, *et al*. Use of AFLP markers for gene mapping and QTL detection in the rat[J]. Genomics, 1996, 37(3): 289－294.

[16] Nishioka Y. The origin of common laboratory mice[J]. Genome, 1995, 38(1): 1－7.

（编辑 陈聪连）

文章编号：1000-5404(2003)02-0159-01

个案与短篇

尿胰蛋白酶原-2 快速检测法在诊断急性胰腺炎中的作用

Values of rapid urinary trypsinogen-2 testing in diagnosis of acute pancreatitis

徐华建，陈 辉 （重庆医科大学附属第一医院检验科，重庆 400016）

急性胰腺炎是一种常见的急腹症，急性胰腺炎临床表现可能是非特异性先兆。淀粉酶和脂肪酶是现阶段实验室最常用的诊断指标，但特异性和敏感性都不十分理想，最近有报道急性胰腺炎时尿胰蛋白酶原-2 明显升高。为了评价尿胰蛋白酶原-2 在诊断急性胰腺炎中的作用，我们对临床怀疑为急性胰腺炎的患者作尿胰蛋白酶原-2 及尿淀粉酶检测，结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 病例选择

98 例疑为急性胰腺炎的急诊病人（男 62 例，女 36 例，平均年龄 38.4 岁，范围 17～69 岁）。

1.2 诊断标准

急性胰腺炎诊断标准按 1996 年中华医学会外科分会推荐的诊断标准[1]。

1.3 试剂及仪器

尿胰蛋白酶原-2 试条：芬兰 Medix Biochemmica 公司产，日立 7170 全自动生化分析仪。

1.4 方法

收取疑为急性胰腺炎病人尿标本分别作胰蛋白酶原-2 及尿淀粉酶检测。

2 结果

在 98 例疑为急性胰腺炎的患者中，最后确定为急性胰腺炎的病例数为 28 例，其中尿胰蛋白酶原-2 检测结果有 25 例为阳性（敏感性为 89.3%），在 70 例急性腹痛但非急性胰腺炎的病人中有 6 例为阳性（特异性为 91.4%），尿淀粉酶检测结果中，28 例胰腺炎患者中有 23 例结果高于正常参考范围（80～800 U/L），敏感性为 82.1%，在 70 例急性腹痛但非急性胰腺炎患者中结果高于正常参考范围的有 22 例，特异性为 68.6%，结果可以看出，尿胰蛋白酶原-2 在诊断急性胰腺炎病人方面敏感性

（下转 163 页）

作者简介：徐华建（1970－），男，重庆市开县人，主管技师，主要从事临床检验诊断方面的研究。电话：(023)69012352

收稿日期：2001-09-29；修回日期：2002-02-10

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net