DOI: 10.16016/j.1000-5404.1998.02.032

生嗜同性(Homohilic)结合,被带到肝脏进行处理的CEA与表达CEA的癌细胞结合,从而增加癌细胞在肝内形成转移的机会。转移靶细胞血管内皮细胞和癌细胞表面的粘附分子相互识别可能对癌转移的器官特异性有重要意义,我们例数较少,有待进一步研究。

(免疫组化由附属新桥医院病理科谢青教授帮助制作,特此致谢!)

关键词 子宫内膜腺癌;雌激素受体;免疫组织化学;子宫颈肿瘤

中图法分类号 R737.33

参考文献

1 尹雪彬,沈 锃,郎景和.子宫内膜癌的病理分类治疗及预后影响因素的现代观.中华妇产科杂志,1996;31(8):508

2 Siverberg S B. Pathology of endometial carcinoma. In: Sciarra J W ed, Gynecology and Obstetries. 2nd ed. Vol 4 philadelphia: Haoper & Row, 1988 5~6

3 Creasmen W T. New gynecologic cancer staging. Obstet Gynecol, 1990; 75 287

4 洪 雨,杜心谷.子宫内膜癌495例组织分型和预后分析.上海医科大学学报,1987;14(6):421

5 Dabbs M D, Kin R, Thomas Narris M D. Interme diatic filaments in endometrial and endocervical carcinomas the diagnostic utihty of vimentin patherns. Am J Surg Pathol, 1986; 10 568

6 张国楠,张师前.子宫内膜癌生物化学特征.国外医学:妇产科学分册,1994;12(5):282

(收稿:1997-07-15;修回:1998-01-20)

(编辑 张大春)

银染色法结合 PCR-SSCR技术检测 LDH亚单位变异

Detection of genetic mutation in human lactate dehydrogenase subunit using PCR-SSCR in combination with silver staining

刘泽军* 何长生 刘倩予 Dey DC** (第三军医大学附属西南医院检验科)重庆,400038

提 要 目的:应用单链构象多态技术检测乳酸脱氢酶基因变异。方法:使用银染色法结合PCR-SSCP分析变异基因。结果:乳酸脱氢酶的变异发生在H基因的外显子4上。结论:用银染色法代替放射性标记的PCR-SSCP分析更适于常规实验室应用。

自从Orita[1]开发了单链构象多态性(SSCP)后,这项技术已被广泛运用,尤其对检测基因点突变具有其它方法无法比拟的优点。但其操作时需要使用放射性物质而且所需时间较长,本实验用银染色技术代替放射性物质检测乳酸脱氢酶亚单位变异,简化了操作程度,得到了理想的效果。

1 材料和方法

成年男性患者,实验室检查乳酸脱氢酶活力低于正常值范围,同工酶分析H亚单位所占比例较低,怀疑可能有遗传性亚单位变异,因此对其DNA进行PCR-SSCP分析。从患者全血中提出DNA,多聚酶链反应扩增H亚单位的7个外显子(Gene amp system 9600扩增仪),1.5μl PCR产物与1.5μl染料混合(染料中含有98%甲酰胺,0.05%溴酚蓝,0.05%二甲苯蓝,20 mmol/L EDTA),95℃加热2 min使变性,然后立即置于冰水溶中速冷,选用Phast凝胶12.5和Phast凝胶缓冲液,300 V,15℃条件下,在phast系统全自动电泳仪上电泳,电泳结束后,用银染色法鉴定分离的DNA泳动带。银染色程序见表1,表中所用溶液逐一由机器自动加入。

表1 银染色程序

步骤	溶液		时间(t/min)	温度(℃)
1	固定液	0.7%苯磺酸 24%乙醇	8	50
2	染色液	0.2%硝酸银 0.07%苯磺酸	10	50
3	蒸馏水		1	25
4	显象液	80 ml 2.5%碳酸钠 80μl 37%甲醛 80μl 2%硫代硫酸钠	4	30
5	终止液/保存液	1%醋酸 5%醋酸钠 10%甘油	5	50

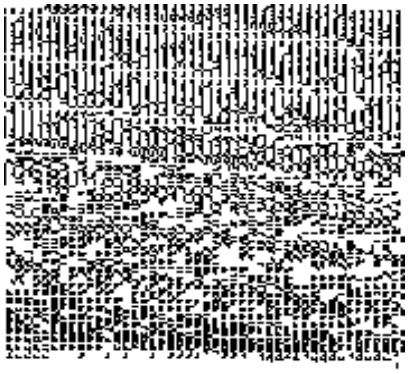
* 刘泽军,男,42岁,副主任技师,硕士

** 浜松医科大学临床检查部,日本

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

2 结果

LDH-H亚单位的各外显子分析结果见附图,其中外显子 4显示出异常的泳动度。SSCP改进法与原法所需时间比较见表2



附图 PCR产物的 SSCP分析检测人 LDH-H基因变异

2 3 4 5 6代表外显子,加 N代表相应的正常对照

表 2 SSCP改进法与原法所需时间的比较(t /h)

步骤	原法	改进法
PCR	3	3
SSCP	2	2
凝胶干燥	1	
放射自显影	24	
染色		1
总时间	30	6

3 讨论

近年来,PCR-SSCP技术被广泛地应用于各个领域的基因变异分析[2,3]。DNA扩增产物变性成单链后在非变性聚丙烯酰胺凝胶中电泳,因单链 DNA的高级结构随着碱基序列的改变而变化,在电泳时表现为泳动度的改变,因此发生变异的 DNA与正常 DNA在电泳时的泳动位置各异,故能检出单个碱基的变异。这种方法被称为 DNA的单链构象多型性(SSCP),但是最初的方法在鉴定区分开的各带时需要使用放射性同位素标记引物,通过放射自显影分析结果,限制了常规实验室的普及。

我们用非放射性的银染色法代替放射性的同位素标记法进行 SSCP分析,对乳酸脱氢酶基因的点突变的检出非常方便,特别是使用 Phast system全自动电泳系统,大大地减少了人工操作手续,提高了检测的灵敏度,从附图可以清楚地看到区分的各带,分辨率极高,测定下限可达 20 pg /带。

银染色过程中的高温条件增加了试剂在凝胶中的扩散,加速了染色和脱色的过程,使染色所需时间大为减少。由表可见改进法比原法减少了 1 d的时间。因此从检测基因变异的灵敏度,操作的安全,所需时间等方面综合考虑,非放射性的 SSCP法比放射性的原法具有更实用的优点,适于在常规实验室中普及。

关键词 银染色法;PCR-SSCP;乳酸脱氢酶;亚单位变异

中图法分类号 Q7

参考文献

1 Orita M, Suzuki Y, Sekiya T *et al*. Rapid and sensitive detection of point mutations and DNA polymorphisms using the polymerase chain reaction. Genomics, 1989; 5 874

2 Mashiyama S, Murakami Y, Yoshimoto T *et al*. Detection of p53 gene mutations in human brain tumors by single-strand coformation polymorphism analysis of polymerase chain reaction products. Oncogene, 1991; 6 1313

3 Labrune P, Melle D, Rey F *et al*. Single-strand conformation polyorphism for detection of mutations and base substitutions in phenylketonuria. Am J Hum Genet, 1991; 48 1115

(收稿: 1997-07-04;修回: 1998-01-08)

(编辑 张大春)

大鼠生后脑星形胶质细胞发育的形态学观察

A morphological study on postnatal rat brain astrocytes

邓晓林* 蔡文琴 (第三军医大学基础医学部组织学与胚胎学教研室)重庆,400038

提 要 目的:观察大鼠生后脑星形胶质细胞发育特征,推测其在大鼠脑发育中的作用。方法:采用胶质纤维酸性蛋白(GFAP)抗体进行免疫组化染色。结果:① 大鼠脑 GFAP阳性星形胶质细胞的分布于生后 3个

* 邓晓林,男,33岁,讲师,博士

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