

## ·快 报·

## 应用 ARMS 法检测中国人中两种常见 G6PD 基因突变型

任晓琴 杜传书 陈路明 蒋玮莹

(中山医科大学医学遗传教研室; 广州, 510089)

主题词 葡糖磷酸脱氢酶/遗传学; 基因; 突变; 基因扩增

中图分类号 R 394

目前用于葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(glucose 6-phosphate dehydrogenase, G6PD)缺乏症已知突变型筛查的方法有两种: ①位点特异性寡核苷酸探针杂交法<sup>[1]</sup>; ②PCR 错配限制性酶切法<sup>[2]</sup>。但因前者需用同位素, 后者方法烦琐, 且有些限制性内切酶较为昂贵而使筛查受到限制。突变不应扩增系统(amplification refractory mutation system, ARMS)又称为等位基因特异性扩增(allele specific amplification, ASA)是一种可被用来筛查任何已知点突变的方法<sup>[3]</sup>, 但至今还未见到将此方法应用于 G6PD 基因点突变检测上的报道。G1388A, G1376T 是构成中国人 G6PD 基因缺陷最主要的基因突变型, 两者在中国不同地区人群中的发生频率总和均在 50% 以上。本研究成功地将 ARMS 法运用于 G6PD 两种常见突变型的筛查, 并证明 ARMS 确是一种简单、可靠、省时及经济的好方法。

## 1 方 法

本文以 28 例男性 G6PD 缺乏症患者外周血 DNA 标本为研究对象, 标本均经 PCR 错配限制性酶切法初步证实为 1388 或 1376 突变(其中 1388 突变 16 例, 1376 突变 12 例), ARMS 引物均设计为 3' 端下游引物, 同时以一对 DMD 第四外显子引物作内对照。

## 2 结 果

发现 28 例中 24 例结果与错配限制性酶切法符合, 4 例标本的 ARMS 结果不符(其中 1388 突变 2 例, 1376 突变 2 例), 对这 4 例进行 PCR 产物直接

测序, 发现这 4 例标本均在 1388 和 1376 位为正常碱基, 也就是说 PCR 产物直接测序的结果和 ARMS 法相符, 而和错配限制性酶切法不符。

## 3 讨 论

从本研究可以看出, ARMS 运用于 G6PD 点突变的检测是可行的, 而且具有较高的准确率。用 PCR 错配限制性酶切法筛查突变时常出现酶切不完全的现象(男性半合子若有突变应完全酶切), 我们常将其归结为限制性内切酶活性的损失, 但若再次 PCR 酶切时发现其并无切点, 可能是由于 PCR 过程中碱基错配造成结果判断的失误, ARMS 则无此类问题, 它操作简单, 无需限制性酶切, 无需同位素, 而且节约时间, 一旦方法建立, 就可提供可信的筛查结果。

## 参 考 文 献

- 1 谢建生, 龙桂芳, 蒋南华, 等. 两种常见葡萄糖-6-磷酸脱氢酶基因突变检测及临床分析. 中华血液学杂志, 1995, 16: 179
- 2 Chang J G, Chiou S S, Perng L I, *et al.* Molecular characterization of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency by neutral and amplification created restriction sites; five mutations account for most G6PD deficiency cases in Taiwan. *Blood*, 1992, 80(4): 1079
- 3 Newton C R, Heptinstall L E, Summers C, *et al.* Analysis of any point mutation in DNA. The amplification refractory mutation system (ARMS). *Nucleic Acids Res*, 1989, 17: 2503

(1997-10-05 收稿)