

DNA 扩增法检测 46,XX 男性 Y 特异序列临床意义

梁玉华, 廖亚平, 李中文

[摘要]目的:探讨 DNA 扩增法检测 46,XX 男性的 Y 特异序列的临床意义。方法:采用 Y 染色体特异 DNA 体外扩增法。结果:电泳显示有 Y 染色体特异 DNA 重复序列出现。结论:DNA 扩增法检测 46,XX 的 Y 特异序列对该征的病因学研究和检测方法学的探讨具有重要意义。

[关键词] 染色体异常;聚合酶链反应;46,XX 男性

[中国图书资料分类法分类号] R 596.1 **[文献标识码]** A

46,XX 男性是一种具有女性染色体,而表型为男性的综合征。首先在 1964 年被 Delachapelle 等^[1]发现,到 1999 年已报道。我室于 2006 年发现 1 例,用 DNA 体外扩增法技术对该患者进行了进一步的研究,现作报道。

1 资料与方法

1.1 一般资料 患者表型及心理性别均为男性,25 岁,汉族,已婚,于 2006 年来我室检查体征。身高 166 cm,体重 65 kg,阴茎正常,两睾丸质软,大小 2.0 cm × 1.5 cm,没有女性乳房发育。精液检查:灰白色,量少,无精子。

“B”型超声波检查:无女性内生殖器回声像。激素测定:睾丸酮 35 ng/dl(男性正常值 360 ~ 910 ng/dl),血清黄体生成素 27 mIU/ml(男性正常值 1 ~ 6 mIU/ml),血清卵泡刺激素 295 mIU/ml(男性正常值 0.9 ~ 9.8 mIU/ml)。细胞遗传研究:外周血、皮肤细胞染色体检查,经 G、R、C 带染色,结果均为 46,XX。

1.2 材料 (1)血液标本:正常女性外周血 1 份,正常男性外周血 1 份,46,XX 男性患者外周血 2 份,取自本研究室。(2)主要试剂:基因组小量抽提试剂盒、PCR 扩增试剂盒和琼脂糖等购自上海生物工程技术服务公司。

1.3 方法 (1)基因组 DNA 抽提:取洁净双蒸水 500 μl 于 Eppendorf 管中,加标本(外周血)20 μl,至沸水中 5 min 后取出,自然冷却(该标本可在室温中放置 1 周)待测。(2)DNA 序列扩增:目的 DNA 的扩增在 100 μl 反应混合液中进行,内含:Tris-HCl (8.2)2.5 mm,(NH₄)₂SO₄ 2.5 mm,MgCl₂ 0.25 mm,BSA 20 μg,DNA 模板 5 μl,甲酰胺 5 μl,每种 dNTP (dATP、dCTP、dGTP、TTP)各 25 μmol。Y 染色体特

异重复序列的引物对(5'-TCC ACT TTA TTC CAG GCC TGT CC-3'和 5'-TTG AAT GGA ATG GGA ACG AAT GG-3')各 25 pmol,Taq 酶 2 u。加石蜡油 30 μl。按照反应周期 94 °C 30 s(变性),55 °C 30 s(退火),70 °C 60 s(延伸),循环 30 个周期终止。(3)扩增 DNA 的检测:取 PCR 扩增产物 10 μl,用 1.5% 琼脂糖作凝胶电泳,经溴化乙锭染色,在紫外检测仪上观察,作荧光摄像。

2 结果

正常男性 DNA 经扩增后,产生 154 bp 的 Y 特异 DNA 重复序列;正常女性 DNA 经扩增后,没有 Y 特异的 DNA 重复序列出现;46,XX 男性患者 2 份标本均产生 154 bp 的 Y 染色体特异的 DNA 重复序列(并且 3 次结果相同)(见图 1)。

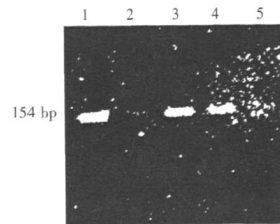


图 1 Y 染色体特异 DNA 扩增电泳图

3 讨论

该综合征患者表型为男性,具有男性心理倾向,成人患者的特征表现为身高较年龄平均值矮,男性第二性征尚明显,所有患者均为不育。目前对该症的病因学解释主要有 3 种学说:(1)不易察觉的嵌合体;(2)X-Y 染色体之间交换,XX 男性从父系得到的 X 染色体可能带有 Y 染色体睾丸决定基因的片段;(3)基因学说,决定性别的染色体 X 染色体发生突变。

以往人们对 46,XX 男性患者的研究,只能依赖细胞遗传学技术。由于技术方法的限制,大多数病

[收稿日期] 2007-12-11

[作者单位] 蚌埠医学院 细胞生物学教研室,安徽 蚌埠 233030

[作者简介] 梁玉华(1954-),女,副教授。

例检测不到 Y 染色体片段。随着分子遗传学的发展,许多学者对该综合征患者作了细胞遗传学和 DNA 分析的综合研究,对该征的病因学研究提供了不少理论依据。Nielsen 等^[2]在 1988 年对 3 例 XX 男性患者用细胞遗传学和 DNA 分析进行研究,2 例在 X 染色体短臂尖端看到额外的染色体物质,3 例通过 Southern 杂交,都表示有 Y 染色体特异序列。有意义的是,第 3 例虽然在 Q、G 带中没有发现异常染色体带型,但 Southern 杂交结果中看到了他父亲一模一样的 Y 特异片断。本文报道的患者经外周血和皮肤细胞遗传学研究均未见异常带型,用 PCR 体外 DNA 扩增法检测患者的 2 份血标本,经重复试验,都看到了 Y 特异的重复序列。这和上述第 3 例结果相同。国外一些文献^[3~5]的报道中,也都有 Y 特异序列存在。这些研究对解释该征的病因学有着重要意义。

用 PCR 方法能检测出 46,XX 男性患者的 Y 特异序列,如要作 Y 特异片断定位于那条染色体上,则需用分子杂交。PCR 方法是近年来出现的一种新的 DNA 研究技术^[6]。它操作简便,能快速、高灵

敏度的检出目的 DNA 特异序列,对 XX 男性的病因学研究提供了一种比较理想的方法。

[参 考 文 献]

- [1] Delachapelle A, Hortling H, Niemi M, et al. XX sex chromosomes in a human male. first case [J]. Acta Med Scand, 1964, 175 (Suppl): 25-28.
- [2] Nielsen KB, Schwartz M, Sardemann H. Investigation of three XX males by cytogenetic and DNA analyses. Suggestion of Y chromosome inversion polymorphism [J]. Hum Genet, 1988, 78 (2): 179-182.
- [3] Vergnaud G, Page DC, Simmler MC, et al. A deletion map of the human Y chromosome based on DNA hybridization [J]. Am J Hum Genet, 1986, 38(2): 109-124.
- [4] Andersson M, Page DC, de la Chapelle A. Chromosome Y-specific DNA is transferred to the short arm of X chromosome in human XX males [J]. Science, 1986, 233(4765): 786-788.
- [5] Vogt P, Keil R, Köhler M, et al. Selection of DNA sequences from interval 6 of the human Y chromosome with homology to a Y chromosomal fertility gene sequence of *Drosophila hydei* [J]. Hum Genet, 1991, 86(4): 341-349.
- [6] 颜景祥, 崔利军, 赵林荣. Y 染色体异常伴发精神及智能障碍临床与细胞遗传学分析 [J]. 河北医药, 2007, 29(7): 704.

[文章编号] 1000-2200(2009)01-0064-02

· 检验医学 ·

中老年人血清葡萄糖、尿素氮、胆固醇、甘油三酯水平分析

施志农, 陈健康

[摘要] 目的: 了解芜湖地区中老年人血清葡萄糖(BG)、尿素氮(BUN)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)的水平现状。方法: 选取体检 ≥ 40 岁的中老年人 2 333 名, 在全自动生化分析仪上进行 BG、BUN、TC、TG 等项目的检测。结果: BG 同年龄段男女除 50~岁($P < 0.05$)外, 余则差异均无统计学意义($P > 0.05$)。BUN 在 40~、50~岁两个年龄段男女差异均有统计学意义($P < 0.01$); TC 在 40~、60~、70~岁三个年龄段男女差异均有统计学意义($P < 0.05 \sim P < 0.01$); TG 在 40~、50~、60~岁三个年龄段男女差异均有统计学意义($P < 0.05 \sim P < 0.01$)。中老年体检的 4 个项目全部在合适范围的百分率, 男为 39.13%, 女为 47.25%。结论: BG、BUN、TC、TG 水平随年龄变化而变化。BG 水平不存在性别差异, BUN、TC、TG 存在性别差异。4 个项目中以 TC 出现问题最为明显。

[关键词] 血液化学分析; 血糖; 尿素氮; 胆固醇; 甘油三酯

[中国图书资料分类法分类号] R 446.112

[文献标识码] A

为了解芜湖地区中老年健康人群身体状况, 我们将中老年体检者必做的实验项目血清葡萄糖(BG)、尿素氮(BUN)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)等 4 项生化结果进行统计, 观察中老年人健康体检者 4 项结果水平与年龄及性别的关系, 现作报道。

1 资料和方法

1.1 一般资料 选取我院 2004 年 9~12 月、年龄

≥ 40 岁的体检者 2 333 名, 男 1 569 名, 女 764 名。按年龄(40~、50~、60~、70~、80~岁)分为 5 组。

1.2 方法 按要求至少素食 3 天, 空腹 10 h 以上, 抽取静脉血, 分离血清, 在全自动分析仪(美国 Dimension)上规范操作, 测定中老年人体检者 BG、BUN、TC、TG 值。BG、BUN 采用德灵公司提供标准, 正常参考值 BG 3.9~6.1 mmol/L, BUN 2.5~6.4 mmol/L; TC、TG 采用全国血脂异常防治对策专业组 1997 年公布的血脂测定参考值^[1], 即 TC ≤ 5.2 mmol/L 为合适范围, TC 5.23~5.69 mmol/L 为边缘升高, TC > 5.72 mmol/L 为升高; TG ≤ 1.7

[收稿日期] 2007-08-24

[作者单位] 安徽省芜湖市第二人民医院 检验科, 241000

[作者简介] 施志农(1970-), 男, 副主任技师。