



图 2 芯片的打印方式

Fig.2 Format design of HIV gene chip

A₁-A₈: Probe 1; A₉-A₁₆: Probe 2; B₁-B₈: Probe 3; H₁-H₈ (probe 15): HCV gene fragments subtype (b), negative control; H₉-H₁₆ (probe 16): 50% DMSO, blank controls space between spots is 300 μm

图 3 HIV 基因芯片的杂交图

Fig.3 Hybridization of HIV gene chip with HIV sample

The color ranging from blue to red which followed the change of spectrum represents gradual fluorescent intensity increment. For example, probe 17 (I₁-I₃) is strongest and followed by probe 21 (K₁-K₃), probe 31 (P₁-P₃) and so on

大小的固相支持物上袁不仅节约了试剂与样品袁而且将节省大量的人力尧物力与时间袁使基因检测更为快速尧敏感和精确遥基因芯片技术要点主要包括四个方面院芯片的制备尧样品的准备尧分子杂交和检测分析遥其中探针的制备及芯片杂交动力学分析最为关键遥

目前病原基因检测芯片常用分子克隆结合 PCR 的方法去扩增一个或少数几个短探针或全长基因作探针袁但是以一个探针检测一种靶基因容易产生假阳性尧假阴性结果袁且全长基因探针杂交的条件不易控制遥我们应用本实验室创新的限制性显示淋D-PCR冤技术快速分离并扩增得到许多大小相近 渊较短袁00~600bp冤的基因片段作探针袁以这些探针来检测同一个靶分子可显著提高信噪比袁显著降低假阳性率遥扩增的探针溶于 50% DMSO 而不采用常规的 SSC 来溶解袁是因为 DMSO 可使 DNA 变性成单链以便于杂交袁而且可防止打印时探针溶液的蒸发遥由于采用的是双链探针袁其浓度不宜过低或过高渊过高会因为双链探针自身的复性而影响杂交冤袁我们的实验结果表明采用 250 ng/滋的探针可取得较满意的杂交效果遥打印的介质选用氨基包被的玻璃片袁一方面氨基在中性条件下带正电可与 DNA 上带负电的磷酸基团以离子键结合袁另一方面袁以紫外线照射及加热干烤作用后袁可使 DNA 探针上的胸腺嘧啶残基和烷基胺上的碳之间以自由基作用形成非特异偶联袁从而使 DNA 固定在玻片上遥

样品的制备包括扩增尧标记等步骤遥通常在随机引物延伸或逆转录 -PCR 等扩增过程中掺入荧光标记物袁这两种方法常用于基因表达谱芯片的研究遥本实验采用随机引物延伸的标记方法效果也较好遥为进一步提高标记的灵敏度袁实现杂交信号的放大袁并简化标记的步骤袁我们正应用 RD-PCR 技术研究样品荧光标记的新方法遥

分子杂交也是芯片技术的关键步骤之一遥虽然上述制备的限制性显示基因片段大小相近袁但仍存在一定的差异遥所以需要摸索合适的杂交条件袁分析它们的杂交动力学遥实验中我们采用含 25% 甲酰胺尧伊 SSC 等的杂交液尧2 益杂交的体系遥杂交结果显示大部分片段的杂交信号较强袁而阴性对照尧空白对照均不杂交遥经过统计学处理后袁从中选定了 12 个合适芯片杂交的片段作为探针遥这些片段长度较短袁GC 含量尧Tm 值均较高遥而且它们在 HIV 基因组中分布较广泛袁这对靶分子的检测具有重要意义遥

杂交及清洗后袁带有荧光标记的样品 DNA 与其互补的 DNA 探针形成杂交体袁在激光激发下产生一个荧光信号遥以 ScanArrayLite 扫描仪对荧光信号进行扫描袁该扫描仪利用的是激光共聚焦的原理遥扫描结果表明袁杂交的信号较强而背景低遥荧光标记样品的纯化不彻底渊含未掺入的 cy3-dCTP冤尧非特异性位点的封闭不完全袁杂交后清洗不充分尧清洗后玻片上残留液滴和玻片上灰尘污染等均可能会增强杂交背景遥

参考文献院

咱暂李 凌, 马文丽. DNA 芯片技术研究进展 咱暂中国生物化学与分子生物学报, 2000, 16(2):151-5.
 LiL, MaWL. Advances in DNA chip technology 咱暂 Chin J Biochem Mol Biol, 2000, 16(2):151-5.

咱暂李 凌, 马文丽. DNA 芯片: 新一代基因诊断技术 咱暂第一军医大学学报, 2001, 21(4):309-11.
 LiL, MaWL. DNA chip: a new generation of gene diagnostic technology 咱暂 First Mil Med Univ, 2001, 21(4): 309-11.

咱暂肖 瑶, 姚 均, 陈 刚, 等. 克隆中国 B 尧尧 亚型的 HIV-1 代表株 建立适于我国流行株的异源双链泳动分析 咱暂中华实验和临床病毒学杂志, 1999, 13(1):33-6.
 Xiao Y, Yao J, Cheng G, et al. Cloning the representative strains of China HIV-1 subtypes B₁ and E for heteroduplex analysis 咱暂 Chin J Exp Clin Virol, 1999, 13(1):33-6.

咱暂马文丽, 郑文岭, James FB, 等. 限制性显示 D-PCR 冤一种新的差异显示技术 咱暂见: 孙志贤. 全军生物化学与分子生物学研究进展 咱暂北京: 军事医学科学出版社, 1998. 113-4.

咱暂郑文岭, 马文丽, Waes CV. 肿瘤细胞多聚腺苷酸聚合酶 AP 冤的

差异表达显示 咱暂见: 叶鑫生 袁忱 袁奋. 细胞调控探索 咱暂北京: 军事医学科学出版社, 1998. 73-9.

咱暂李 凌, 马文丽, 宋艳斌, 等. HIV 基因限制性显示片段的克隆与序列分析 咱暂第一军医大学学报, 2001, 21(11):815-8.
 LiL, MaWL, Song YB, et al. Cloning and sequence analysis of HIV-1 gene fragments isolated by restriction display polymerase chain reaction method 咱暂 J First Mil Med Univ, 2001, 21(11): 815-8.

咱暂 Gulino A. Biotechnology and molecular diagnostics 咱暂 Forum Genova, 1999, 9(Suppl3):37-46.

咱暂 Favis R, Day JP, Gerry NP, et al. Universal DNA array detection of small insertions and deletions in BRCA1 and BRCA2 [J]. Nat Biotechnol. 2000, 18(5):561-4

咱暂马文丽, 郑文岭, 崔 东, 等. 利用瓷片材料制备 DNA 微集芯片 咱暂生物化学与生物物理学报, 2000, 32(3): 285-9.
 MaWL, Zheng WL, Cui D, et al. DNA microarray chips made on surface of ceramics slides 咱暂 Acta Biochim Biophys Sin, 2000, 32(3):285-9.

咱暂 Robert JL, Stephen PAF, Thomas RG, et al. High density synthetic oligonucleotide arrays 咱暂 Nat Genet, 1999, 21(suppl1):20-4.

布 - 加氏综合征的临床影像分析 冤 81 例报告 冤

张艳莉 冤 周口市中心医院内科 袁可南 周 口 466000 冤

摘要 冤 81 例布 - 加氏综合征 BCS 冤患者的临床及影像表现进行了综合分析 冤并提出了分型标准 冤遥经 DSA 冤彩超 冤 T 尧尧 经皮肝穿刺活检确诊的布 - 加氏综合征 81 例 冤 BCS 患者主要临床表现为下腔静脉梗阻和门脉高压症状 冤胆囊壁增厚是其影像诊断的一个间接征象 冤

关键词 冤肝静脉血栓形成 冤布 - 加氏综合征

中图分类号 冤 575.04 冤 文献标识码 冤 文章编号 冤 000-2588 冤 002 冤 08-0727-02

Analysis of the clinical manifestations and imaging features of Budd-Chiari syndrome: report of 81 cases

ZHANG Yan-li

Department of Internal Medicine, Central Hospital of Zhoukou City, Zhoukou 466000, China

Abstract: A comprehensive analysis of the clinical manifestations and imaging features in 81 cases of Budd-Chiari syndrome (BCS) was conducted, and criteria for classification of this disease was proposed. Diagnostic modalities included digital subtraction angiography, ultrasound, computed tomography and percutaneous transhepatic cholangiography. The main clinical manifestations of BCS was inferior vena cava obstruction and portal hypertension. Wall thickening of the gall bladder was indicative of BCS during imaging diagnosis.

Key words: hepatic vein thrombosis; Budd-Chiari syndrome

作者对 81 例布 - 加氏综合征 Budd-Chiari syndrome 冤 BCS 冤患者的临床及影像表现进行综合分析 冤现报告如下 冤

1 临床资料

收稿日期 冤 002-04-02

作者简介 冤 张艳莉 冤袁可南 周 口 人 冤 1984 年毕业于新乡医学院 冤袁主治医师 冤电话 冤 394-8232668

1.1 一般资料

81 例 BCS 患者中男 57 例 冤女 24 例 冤年龄 9~66 岁 冤平均 34.4 岁 冤病程 2 周 ~30 年 冤其中 1 月以内 1 例 冤 1 月 ~1 年 12 例 冤 1 年 ~10 年 59 例 冤 10 年以上 9 例 冤平均病程为 5 年 冤

1.2 临床症状

下腔静脉梗阻症状有 冤双下肢肿胀 39 例 冤 8% 冤 冤下肢静脉曲张 25 例 冤 1% 冤 冤 冤下肢色素沉着 21 例 冤 6% 冤 冤 冤下肢溃疡形成