

分步加入引物法测定DNA的碱基序列

瞿爱东 王灿珍 王胜龙 王启松*

(卫生部上海生物制品研究所, 上海)

(* 复旦大学遗传学研究所, 上海)

最近 DNA 序列分析又有了新的进展。Ray和 Urdea 所采用的分步加入引物的方法, 可直接测定长序列 DNA, 具有快速、简便、可靠的特点。该方法仍以 Sanger 的双脱氧末端终止法为基础, 但省去了次级克隆和重叠(overlap)等步骤其原理如图所示。和经典方法一样, 先用通用引物测定第一段 DNA 序列。为了沿着第一段序列继续测定下去, 需要合成第二个引物。第二个引物的序列同于第一段 DNA

碱基序列 3' 端的 15 核苷酸。当这一引物合成后, 第二段的 DNA 序列又可开始测定, 如此类推, 直至整个 DNA 序列读完为止。

我们应用这一方法, 在很短时间内, 直接测定了乙型肝炎病毒表面抗原的基因。序列测定分四段进行, 除通用引物外, 我们根据所测得的结果, 又合成了另外三个引物。这样, 一个总长度为 678 个碱基的乙型肝炎病毒表面抗原基因的序列完全测定出来。

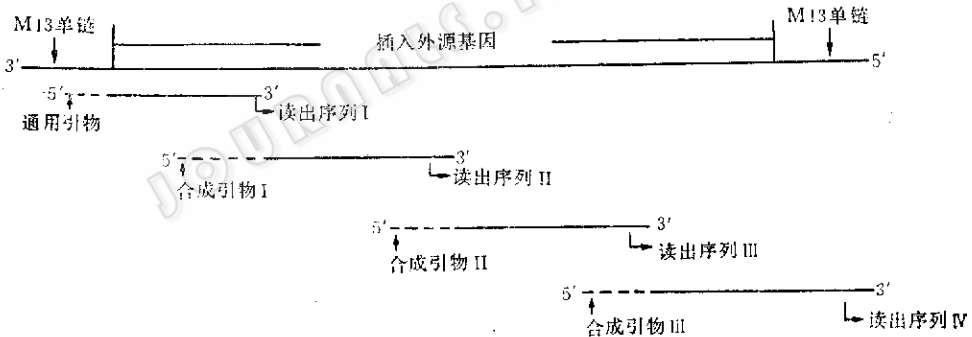


图 1 分步加入引物法测定 DNA 序列的原理(虚线表示通用引物或合成引物)

将上述序列与欧洲和日本的 adw 型乙型肝炎病毒表面抗原基因序列作了比较, 发现在决定乙肝亚型的第 110 氨基酸至第 156 氨基酸之间的基因序列上, 与欧洲的相比, 差距甚大, 与日本的相比, 差距要小些。与

中国科学院上海生物化学研究所报道的基因序列相比, 仅有 7 个碱基的差别。

与经典分析 DNA 序列方法比较, 该方法具有快速、简便和可靠的优点, 很值得推广。

参 考 文 献

- [1] Ray Sanchez-Pescador and Mickey S. Urdea: DNA, 3(4): 339—343, 1984.
- [2] Sanger, F. et al.: PNAS USA, 74:5463—5467, 1977.