



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 108929902 B

(45) 授权公告日 2022.03.25

(21) 申请号 201810850493.6

C12N 15/11 (2006.01)

(22) 申请日 2018.07.28

(56) 对比文件

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 108929902 A

CN 103484533 A, 2014.01.01

CN 105624293 A, 2016.06.01

CN 104232781 A, 2014.12.24

(43) 申请公布日 2018.12.04

CN 103805701 A, 2014.05.21

CN 108251530 A, 2018.07.06

(73) 专利权人 北京博奥晶典生物技术有限公司
地址 100176 北京市大兴区北京经济技术
开发区科创六街88号院10号楼101室

CN 104357569 A, 2015.02.18

CN 101454462 A, 2009.06.10

(72) 发明人 李嘉 马登科 薛洪萍

Orawan Thipmanee等. Enhancing capacitive DNA biosensor performance by target overhang with application on screening test of HLA-B*58:01 and HLA-B*57:01 genes.《Biosensors and Bioelectronics》.2016,第82卷

(74) 专利代理机构 北京知呱呱知识产权代理有限公司 11577

代理人 武媛 吕学文

审查员 陈云华

(51) Int. Cl.

C12Q 1/6881 (2018.01)

C12Q 1/686 (2018.01)

C12Q 1/6883 (2018.01)

权利要求书1页 说明书6页 附图4页

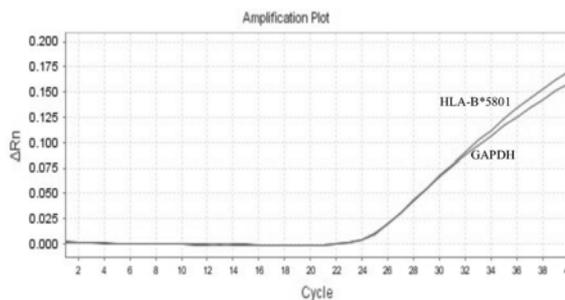
(54) 发明名称

PNA探针, 经济适用, 适合大规模生产。

用于检测等位基因HLA-B*5801的肽核酸引物组合物、试剂盒及方法

(57) 摘要

本发明公开了一种用于检测HLA-B*5801等位基因的引物组合物、试剂盒及方法, 所述HLA-B*5801等位基因的引物组合物包括: 正向引物: 5'-ACGGAACCTTGAAGGCCT-3'; 反向引物: 5'-TAGCACTCACCATGTAGTTGAGGTC-3'; MGB荧光探针: 5'-VIC-GATCCGCCTCACTGA-MGB-3', PNA探针: AGTCCTGA。本发明实施例依据特异性的引物与探针实时检测PCR反应过程, 检测过程仅需1h, 可一次性检测96个样本或是384个样本, 简单易行且通量较高; 本发明添加了适量的氯化四甲基铵(TMAC)作为反应添加剂, 对浓度较低的核酸也均有很好的检测效果; 本发明只需要一对引物与PNA探针、MGB探针组合共同检测目的基因, 控制了试剂成本, 且可以准确区分HLA-B*5801基因型与其他相似度较高的HLA-B*58亚型, 即使未来发现新的HLA-B基因型别也可以依据具体情况补充



1. 一种用于检测HLA-B*5801等位基因的引物组合物,其特征在于,所述HLA-B*5801等位基因的引物组合物包括:
正向引物:5' -ACGGAAGCTTGAAGGCCT-3' ;
反向引物:5' -TAGCACTCACCATGTAGTTGAGGTC-3' ;
MGB荧光探针:5' -VIC-GATCCGCCTCACTGA-MGB-3' ;
PNA探针:AGCTCCTGA;
所述引物组合物还包括内控基因引物,所述内控基因引物包括:
正向引物:5' -TGCTGCATTCGCGCTCTTA-3' ;
反向引物:5' -TAGCACTCACCATGTAGTTGAGGTC-3' ;
MGB荧光探针:5' -NED-TGCCAGCAATGAC-MGB-3' 。
2. 一种包含权利要求1所述的引物组合物的检测HLA-B*5801等位基因的检测试剂盒。
3. 根据权利要求2所述的试剂盒,其特征在于,
所述试剂盒还包括:热启动酶、缓冲液、氯化镁、尿嘧啶糖基化酶、dNTP/dUTP Mix和氯化四甲基铵。
4. 根据权利要求2所述的试剂盒在制备用于检测HLA-B*5801等位基因试剂盒中的应用,其特征在于,
所述试剂盒检测过程包括以下步骤:
步骤A:从全血样本中提取待测DNA样品;
步骤B:采用权利要求3所述的检测试剂盒进行荧光PCR反应检测;
步骤C:根据内控基因的荧光扩增曲线和HLA-B*5801等位基因的荧光扩增曲线,进行判断;
若内控基因出现荧光扩增曲线,HLA-B*5801等位基因出现荧光扩增曲线,则待测样本中含有HLA-B*5801等位基因;
若内控基因出现荧光扩增曲线,HLA-B*5801等位基因未出现荧光扩增曲线,则待测样本中未含有HLA-B*5801等位基因。
5. 根据权利要求4所述的应用,其特征在于:
所述步骤B中,PCR反应体系包括:热启动酶;HLA-B*5801基因的正向引物;HLA-B*5801基因的反向引物;内控基因正向引物GAPDH-F;内控基因反向引物GAPDH-R;PNA探针;荧光探针;PCR缓冲液;氯化镁;尿嘧啶糖基化酶;dNTP/dUTP Mix;氯化四甲基铵;待测DNA样品。
6. 根据权利要求5所述的应用,其特征在于,
PCR反应条件为:
尿嘧啶糖基化酶反应条件为:温度为37°C,时间为300s;
预变性的条件为:温度为95°C,时间为120s;
变性的条件为:温度为95°C,时间为30s;
退火延伸的条件为:温度为60°C,时间为60s,设置末点采集荧光,35~40个循环。
7. 根据权利要求5所述的应用,其特征在于:
所述步骤A中,待测DNA样品的浓度为不小于20ng/ μ l, OD_{260}/OD_{280} 在1.7-2.0之间。

用于检测等位基因HLA-B*5801的肽核酸引物组合物、试剂盒及方法

技术领域

[0001] 本发明涉及基因工程技术领域,具体涉及一种用于检测等位基因HLA-B*5801的肽核酸引物组合物、试剂盒及方法。

背景技术

[0002] 近年来,痛风的发病率呈上升趋势,我国普通人群患病率约1.14%。痛风发病的生化基础是高尿酸血症,别嘌呤醇用于减少尿酸合成,降低血液中的尿酸浓度,是治疗痛风的首选药物,临床应用较为广泛。在服用别嘌呤醇时,可导致严重药疹,相关报道屡见不鲜,有研究称别嘌呤醇是最容易引起药疹的药物之一。别嘌呤醇诱发的皮肤不良反应主要包括Stevens-Johnson综合征(SJS)和中毒性表皮坏死松解症(TEN),死亡率分别可达5%和35%。大量研究表明别嘌呤醇引发的SJS和TEN具有一定的个体差异性。研究发现,服用药物别嘌呤醇后发生不良反应的痛风患者中,患者HLA-B*5801等位基因携带率为100%,而在正常对照人群与耐受组中,该型别的携带率分别为20%与15%。HLA-B*5801等位基因与服用别嘌呤醇发生不良反应的相关性最早是在针对汉族人群的一项研究中发现,后续研究再次证实了这一相关性发现。然而,对于与HLA-B*5801序列几乎一致的其他HLA-B*58亚型是否与别嘌呤醇不良反应同样相关存在一定争议。随着相关研究的不断深入,这一结论多次得到证实。2008年,中国台湾地方行政部门发布指令,在服用药物别嘌呤醇之间必须进行HLA-B*5801检测。2012年美国风湿病协会痛风治疗指南中也强调了这一检测的必要性与重要性。

[0003] HLA(human leukocyte antigen,人类白细胞抗原)系统包含一系列基因座位,位于人类第六号染色体的短臂,是目前所知人体最复杂的多态系统。依据表达特性、组织部位以及产物结构等特征,HLA基因家族可分为三类抗原,其基因序列差异较小,鉴别较困难。目前已发现并命名的HLA等位基因已经达到5000多个。鉴于HLA系统的高度多态性与同源性,各等位基因之间序列相似性较高,发明一种广泛适用的方法鉴定某一HLA等位基因型别具有一定的技术难度。

[0004] 目前所应用的检测HLA-B*5801等位基因的方法主要有PCR-SBT(测序法)、PCR-SSP(序列特异性引物法)和RT-PCR(实时荧光PCR法)。PCR-SBT直接对HLA-B基因座位进行测序,检测步骤较为繁琐且设备昂贵,耗时较长,部分基因检测实验室难以达到要求,不适合大规模推广。PCR-SSP通过电泳的方式检测PCR产物,需要开盖,容易污染实验室环境,且灵敏度较低。此外,也采用RT-PCR检测HLA-B*5801等位基因的试剂盒以及检测方法,该检测试剂盒以及检测方法中,为了提高基因检测特异性,避免漏检或者假阳性,通常是针对HLA-B*5801等位基因设计多对引物探针,对HLA-B*5801等位基因上的多个区段进行设计引物实施RT-PCR检测,这样需要采用多对引物探针,或是采用多个体系检测,造成对产品的检测成本高、操作过程繁琐,使用不方便等问题,并且难以区分HLA-B*58其他亚型,易产生假阳性。依靠增加引物对来提高检测的特异性显然是不现实的。此外,市面上的引物检测试剂盒相关,也

缺乏大样本量与金标准(测序分型)方法的比对数据。

[0005] PNA (Peptide nucleic acid, 肽核酸) 是一种人工合成的类似于DNA, RNA的化学物质, 如图1所示, 具有以下性质: 1、PNA探针由于呈现电中性的性质, PNA/DNA组合比DNA/DNA组合结合的更为牢固; 2、PNA探针对模板DNA具有很高的特异性要求, 即使是一个碱基的差异也难以结合; 3 PNA探针不易作为蛋白酶或核酸酶的底物, 其作用原理与MGB探针不同, 无法被DNA聚合酶切割。因此, 牢固结合的PNA探针可以像一把锁一样抑制非目的片段的有效扩增。基于以上性质, 对于与HLA-B*5801核酸序列几乎一致的其它HLA-B58亚型, PNA探针是一个很好的工具, 可以抑制非目的片段的扩增, 降低检测结果产生假阳性的可能。此外, PNA探针由于不参与扩增过程, 影响检测准确性的可能性较小, 即使随着科学的发展发现更多的HLA型别, 也可以依据实际情况再做添加或删除, 灵活应用。

发明内容

[0006] 本发明实施例的目的在于提供用于检测等位基因HLA-B*5801的引物组合物、试剂盒及方法, 用以解决现有试剂盒操作繁琐, 制造成本高、假阳性率高、检测准确度低的缺陷。

[0007] 针对HLA-B*5801基因型的检测难点, 本发明实施例应用了MGB探针与PNA探针相结合的技术, 不仅可以区分HLA-B*5801基因型与其他型别, 而且可以准确区分极高相似性的HLA-B*5802等其他亚型, 以克服现有技术的缺陷。

[0008] 为实现上述目的, 本发明实施例提供一种用于检测HLA-B*5801等位基因的引物组合物, 所述HLA-B*5801等位基因的引物组合物包括:

[0009] 正向引物: 5' -ACGGAACCTGAAGGCCT-3' ;

[0010] 反向引物: 5' -TAGCACTCACCATGTAGTTGAGGTC-3' ;

[0011] MGB荧光探针: 5' -VIC-GATCCGCTCACTGA-MGB-3' ;

[0012] PNA探针: AGCTCCTGA。

[0013] 优选的, 所述引物组合物还包括内控基因引物, 所述内控基因引物包括:

[0014] 正向引物: 5' -TGCTGCATTCGCGCTCTTA-3' ;

[0015] 反向引物: 5' -TAGCACTCACCATGTAGTTGAGGTC-3' ;

[0016] MGB荧光探针: 5' -NED-TGCCAGCAATGAC-MGB-3' 。

[0017] 本发明实施例还提供一种包含上述所述的引物组合物的检测HLA-B*5801等位基因的检测试剂盒。

[0018] 优选的, 所述试剂盒还包括: 热启动酶、缓冲液、氯化镁、尿嘧啶糖基化酶、dNTP/dUTP Mix、氯化四甲基铵。

[0019] 本发明实施例提供一种检测HLA-B*5801等位基因的方法, 包括以下步骤:

[0020] 步骤A: 从全血样本中提取待测DNA样品;

[0021] 步骤B: 采用本发明所述的检测试剂盒进行荧光PCR反应检测;

[0022] 步骤C: 根据内控基因的荧光扩增曲线和HLA-B*5801等位基因的荧光扩增曲线, 进行判断;

[0023] 若内控基因出现荧光扩增曲线, HLA-B*5801等位基因出现荧光扩增曲线, 则待测样本中含有HLA-B*5801等位基因;

[0024] 若内控基因出现荧光扩增曲线, HLA-B*5801等位基因未出现荧光扩增曲线, 则待

测样本中未含有HLA-B*5801等位基因。

[0025] 优选的,所述步骤B中,PCR反应体系包括:热启动酶;HLA-B*5801基因的正向引物;HLA-B*5801基因的反向引物;内控基因正向引物GAPDH-F;内控基因反向引物GAPDH-R;PNA探针;荧光探针;PCR缓冲液;氯化镁;尿嘧啶糖基化酶;dNTP/dUTP Mix;氯化四甲基铵;待测DNA样品。

[0026] 优选的,所述PCR反应条件为:

[0027] 尿嘧啶糖基化酶反应条件为:温度为37℃,时间为300s;

[0028] 预变性的条件为:温度为95℃,时间为120s;

[0029] 变性的条件为:温度为95℃,时间为30s;

[0030] 退火延伸的条件为:温度为60℃,时间为60s,设置末点采集荧光,35~40个循环。

[0031] 优选的,所述步骤A中,待测DNA样品的浓度为不小于20ng/ μ l, OD_{260}/OD_{280} 在1.7-2.0之间。

[0032] 本发明实施例与现有技术相比具有以下优点:

[0033] 本发明实施例通过采用实时荧光PCR的方式,依据特异性的引物与探针实时检测PCR反应过程,方法简单,检测结果更容易判读;PCR产物无需开盖检测,杜绝了实验室污染的可能,更加适合临床检测;本发明实施例的检测过程仅需1h,可根据仪器的型号一次性检测96个样本或是384个样本,简单易行且通量较高;本发明实施例添加了适量的氯化四甲基铵(TMAC)作为反应添加剂,对浓度较低的核酸也均有很好的检测效果;本发明实施例只需要一对引物与PNA探针、MGB探针组合共同检测目的基因,控制了试剂成本,且具有高通量的特点,可以准确区分HLA-B*5801基因型与其他HLA-B*58亚型,即使未来发现新的HLA-B基因型别也可以依据具体情况补充PNA探针,经济适用,适合大规模生产。

附图说明

[0034] 图1为PNA探针抑制扩增原理图。

[0035] 图2为本发明的第一实施例的检测的含有HLA-B*5801等位基因样本的检测结果扩增曲线图;

[0036] 图3为本发明的第二实施例的检测的含有HLA-B*5801等位基因样本的检测结果扩增曲线图;

[0037] 图4为本发明的第三实施例的不含有HLA-B*5801等位基因样本的检测结果扩增曲线图;

[0038] 图5为本发明的第四实施例中含有HLA-B*5802等位基因且不含有HLA-B*5801等位基因样本的检测结果扩增曲线图;

[0039] 图6为与图4相同的样本,不添加PNA探针的检测结果扩增曲线图,为假阳性结果;

[0040] 图7和图8为本发明的第一实施例中含有HLA-B*5801等位基因的部分测序图;

具体实施方式

[0041] 以下实施例用于说明本发明,但不用来限制本发明的范围。

[0042] 本发明实施例中,对于引物的浓度为 μ M为1 μ mol/L,nM为nmol/L,mM为mmol/L。

[0043] 实施例1 HLA-B*5801基因的引物设计

[0044] 本发明实施例基于实时荧光PCR监测技术中,参考HLA-B等位基因数据库<https://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/>提供的3000多个HLA-B等位基因序列,经过详细的序列比对与选择,选择HLA-B*5801特异性区域,根据特异性区域的序列的特点,设计具有序列特异性的引物。本发明实施例利用ARMS的方法设计HLA-B*5801等位基因扩增引物及荧光探针,并特别选择HLA-B*5801与其他HLA-B*58亚型不相似的位点,设计PNA探针,其中,PNA探针为:AGCTCCTGA。

[0045] 本发明实施例中设计的HLA-B*5801等位基因的正向引物为HLA-B*5801-F:5'-ACGGAAGCTTGAAGGCCT-3',反向引物HLA-B*5801-R:5'-TAGCACTCACCATGTAGTTGAGGTC-3',检测荧光探针MGB-5801:5'-VIC-GATCCGCCTCACTGA-MGB-3',PNA探针AGCTCCTGA。

[0046] 本发明实施例中选择人GAPDH基因的保守区域,设计一对内控基因引物及荧光探针,在人GAPDH基因上选取保守区段作为内控基因。内控基因的正向引物GAPDH-F:5'-TGCTGCATTTCGCGCTCTTA-3',内控基因的反向引物GAPDH-R:5'-TAGCACTCACCATGTAGTTGAGGTC-3',内控荧光探针MGB-GAPDH:5'-NED-TGCCAGCAATGAC-MGB-3'。本发明实施例中提供用于检测等位基因HLA-B*5801的引物组合物,该引物组合是根据HLA-B基因的多态性分布,在多个同源等位基因中筛选HLA-B*5801的特异性位点进行设计,且该位点具有识别率高、低GC含量、前后引物及探针位点间距合适等良好特点,且可以区分以HLA-B*5802为代表的其他HLA-B*58亚型。

[0047] 实施例2本发明实施例的等位基因HLA-B*5801的荧光PCR检测试剂盒

[0048] 本发明实施例的包含上述引物组合物的检测等位基因HLA-B*5801的荧光PCR检测试剂盒。该荧光PCR检测试剂盒还包括:dNTPs、PCR反应缓冲液、DNA聚合酶、氯化四甲基铵(TMAC)、HLA-B*5801基因的正向引物、HLA-B*5801基因的反向引物、HLA-B*5801检测荧光探针、内控基因正向引物、内控基因反向引物以及内控基因荧光探针、PNA探针、尿嘧啶糖基化酶。

[0049] 具体的,本发明实施例的等位基因HLA-B*5801的荧光PCR检测试剂盒包括:GoTaq Hot Start Polymerase 1.25U;HLA-B*5801基因的正向引物5801-F 200nM;HLA-B*5801基因的反向引物5801-R 200nM;荧光探针MGB-5801 200nM;内控基因正向引物GAPDH-F 200nM;内控基因反向引物GAPDH-R 200nM;内控基因荧光探针MGB-GAPDH 200nM;PNA探针100nM;Hot Start Buffer (5X,Promega);MgCl₂ (Promega) 4mM;尿嘧啶糖基化酶1.25U (TaKara);dNTP/dUTP Mix 2mM each;氯化四甲基铵(TMAC) 100mM。

[0050] 实施例3本发明实施例的检测等位基因HLA-B*5801的方法

[0051] 本发明实施例的检测等位基因HLA-B*5801的方法,其包括以下步骤:

[0052] 步骤A:获取待检测样本的DNA

[0053] 从全血样本或口腔拭子中提取待测DNA,待测血液收集于真空采血管中,为了不影响后续PCR反应,采血管内抗凝剂为乙二胺四乙酸(EDTA)。使用天隆全自动核酸提取仪(NP968C)以及相配套的核酸提取试剂,取200 μ l全血样本提取待测DNA,提取过程约耗时1h。待测DNA样本使用NanoDrop进行浓度测定,要求 $A_{260}/A_{280}=1.7\sim 2.0$ 。测定完成后,依照测定结果用超纯水将核酸浓度统一稀释到10ng/ μ l,得到待测的DNA样品。

[0054] 步骤B:以待测DNA为模板进行荧光PCR检测,在荧光PCR反应液中加入2 μ l待测DNA模板,各组分混合均匀,瞬时离心后上机检测。

[0055] 其中,荧光PCR扩增反应体系以25 μ l计算,该体系包括:

[0056] 热启动酶GoTaq Hot Start Polymerase 1.25U;HLA-B*5801基因的正向引物5801-F 200nM;HLA-B*5801基因的反向引物5801-R 200nM;荧光探针MGB-5801 200nM;内控基因正向引物GAPDH-F 200nM;内控基因反向引物GAPDH-R 200nM;内控基因荧光探针MGB-GAPDH 200nM;PNA探针100nM;缓冲液Hot Start Buffer (5X,Promega) 5 μ l;Mgcl₂ (Promega) 4mM;尿嘧啶糖基化酶UNG Enzyme 1.25U (TaKara);dNTP/dUTP Mix 2 μ l (2mM each);100mM氯化四甲基铵 (TMAC);然后加入待测DNA 5ng-20ng;补充超纯水至反应液总体积为25 μ l。

[0057] 本发明实施例的荧光PCR反应通过Applied Biosystem 7500荧光PCR平台进行实时荧光PCR检测。为避免扩增开始前,由于DNA聚合酶低活性工作引发的非特异性扩增,本发明实施例的PCR反应体系中,本发明实施例使用热启动DNA聚合酶,为了提高PCR扩增效率,PCR反应体系中,进一步的加入100mM的氯化四甲基铵。本发明实施例PCR反应体系中还添加了尿嘧啶糖基化酶UNG Enzyme用以防范污染,可以很好地消除PCR实验室中残余污染。PCR实验室环境中残留有之前检测过程产生的高浓度气溶胶污染,在配制PCR反应液时用dUTP代替部分dTTP,使反应前产生的污染性的PCR产物中带有dUTP,预变性之前,将反应液在37 $^{\circ}$ C孵育一段时间,尿嘧啶糖基化酶可以破坏含dUTP的DNA链,使非特异性的产物在随后预变性条件的高温环境中断链,同时尿嘧啶糖基化酶在90度以上的高温中失活,不再影响后续合成的PCR产物。

[0058] 本发明的实施例中,由于反应物中加入了PNA探针,从而可以高分辨率的检测出HLA-B*5801基因。

[0059] 其中,荧光PCR扩增反应程序为:

[0060] 尿嘧啶糖基化酶反应条件为:温度为37 $^{\circ}$ C,时间为300s;

[0061] 预变性的条件为:温度为95 $^{\circ}$ C,时间为120s;

[0062] 变性的条件为:温度为95 $^{\circ}$ C,时间为30s;

[0063] 退火延伸的条件为:温度为60 $^{\circ}$ C,时间为60s,设置末点采集荧光,35~40个循环。

[0064] 表1 PCR反应程序

[0065]	温度($^{\circ}$ C)	37	95	95	60
	时间(s)	300	120	30	60
	循环数	1	1	40	

[0066] 按照如上程序设置荧光定量PCR仪,荧光采集点设置在60 $^{\circ}$ C,60s,末点采集荧光,并选择VIC、NED与ROX三通道采集荧光信号。

[0067] 步骤C:根据检测结果分析待测样本是否携带HLA-B*5801等位基因。

[0068] 根据内控基因出现的扩增曲线和HLA-B*5801等位基因出现的扩增曲线,进行判断;若内控基因的出现扩增曲线,HLA-B*5801等位基因出现扩增曲线,则说明待测DNA样本中含有HLA-B*5801等位基因;若内控基因的出现扩增曲线,HLA-B*5801等位基因物未出现扩增曲线,则待测DNA样本中不含有HLA-B*5801等位基因。若内控基因未出现扩增曲线,则待测DNA样品不合格,需重新准备待测DNA模板。

[0069] 如图2和图3所示,HLA-B*5801等位基因PCR检测的阳性样本的扩增曲线,由图2和

图3可知,检测反应体系的内控荧光信号合格,HLA-B*5801等位基因的扩增曲线合格,可以判断DNA样本中含有HLA-B*5801等位基因,检测结果为阳性。

[0070] 如图4所示,HLA-B*5801等位基因PCR检测的阴性样本扩增曲线,由图4可知,检测反应体系的内控荧光信号合格,HLA-B*5801等位基因无扩增曲线,可以判断DNA样本中不含有HLA-B*5801等位基因,检测结果为阴性。

[0071] 如图5和图6所示,图5为含有HLA-B*5802等位基因且不含有HLA-B*5801等位基因样本的检测结果扩增曲线图,检测结果为阴性,图6与图5相同的样本,不添加PNA探针的检测结果扩增曲线图,检测结果为假阳性结果。PNA探针很好的抑制了非目的片段的扩增。

[0072] 如图7和图8所示,为图2的HLA-B*5801等位基因的测序图,测序结果经比对显示为HLA-B*5801等位基因阳性。本发明实施例的检测HLA-B*5801等位基因检测结果与测序检测结果一致,证明本发明实施例的检测结果准确可靠。

[0073] 试验例

[0074] 下面通过大量的病例,进行验证本发明实施例对患者是否携带HLA-B*5801等位基因进行检测。

[0075] 验证试验:随机选取484份汉族人样本,已知其中包含一例HLA-B*5802样本,用一代测序的方法识别其是否携带HLA-B*5801等位基因,经软件识别,测序结果统计为电子文档。这一样本群体同时用所述实时荧光PCR的方法进行HLA-B*5801基因型检测,本发明实施例的检测结果与测序结果相一致,阴、阳符合率均为100%。

[0076] 表2为本发明实施例的方法检测基因HLA-B*5801的结果与测序检测基因HLA-B*5801的结果

本发明实施例 检测结果		测序检测结果		
		阳性	阴性	合计
[0077]	阳性	98	0	98
	阴性	0	386	386
	合计	98	386	

[0078] 表2的结果表明,本发明实施例的方法检测基因HLA-B*5801的阳性符合率与阴性符合率均为100%。本发明实施例检测基因HLA-B*5801的结果的准确性与金标准检测的准确性

[0079] 虽然,上文中已经用一般性说明及具体实施例对本发明作了详尽的描述,但在本发明基础上,可以对之作一些修改或改进,这对本领域技术人员而言是显而易见的。因此,在不偏离本发明精神的基础上所做的这些修改或改进,均属于本发明要求保护的范围。

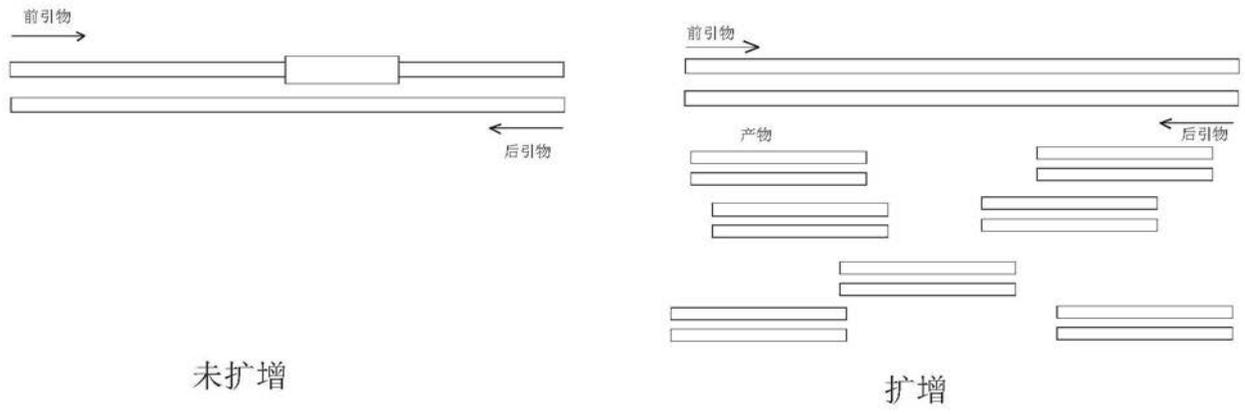


图1

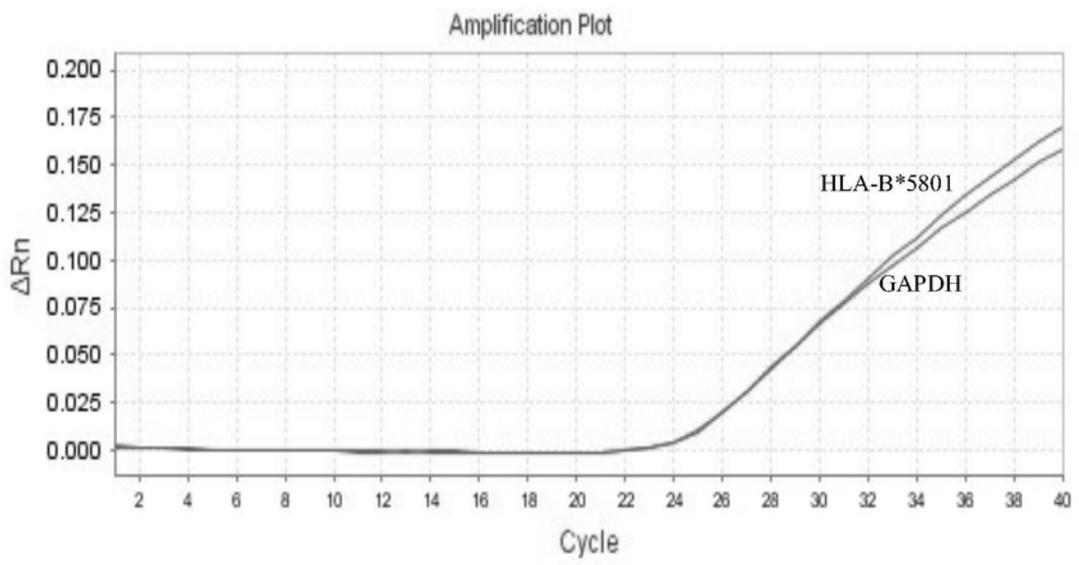


图2

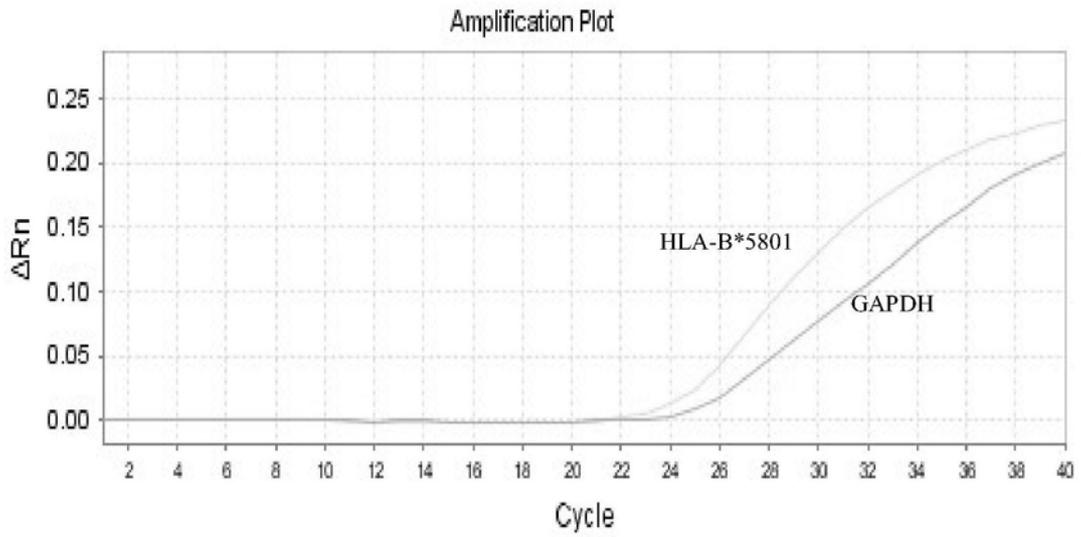


图3

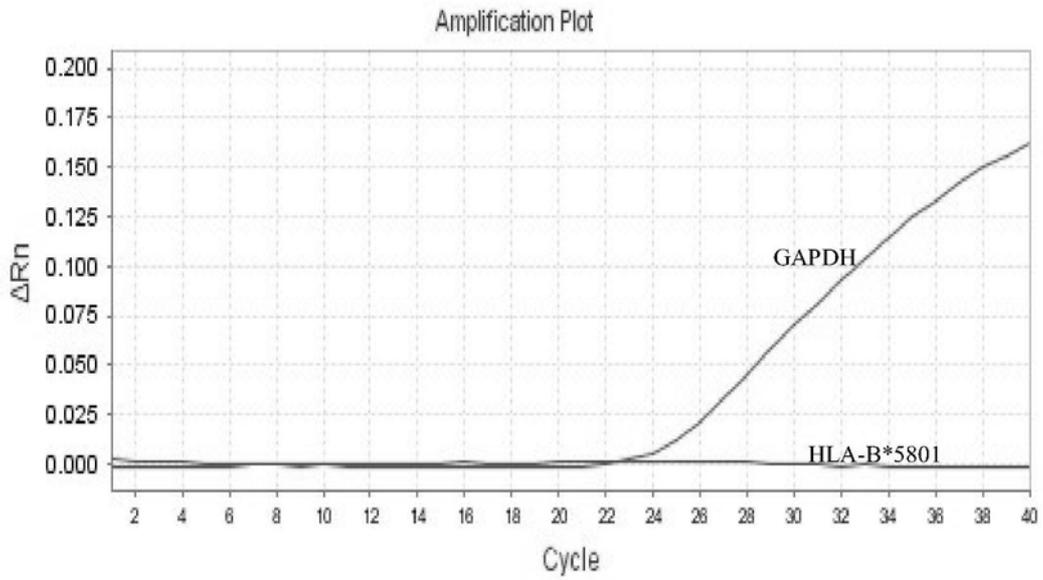


图4

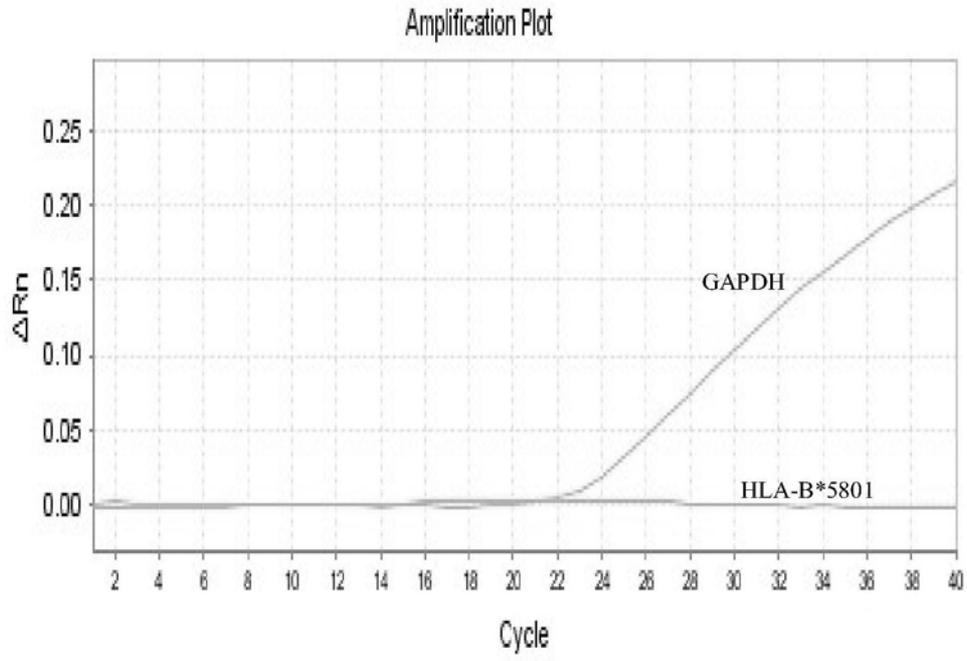


图5

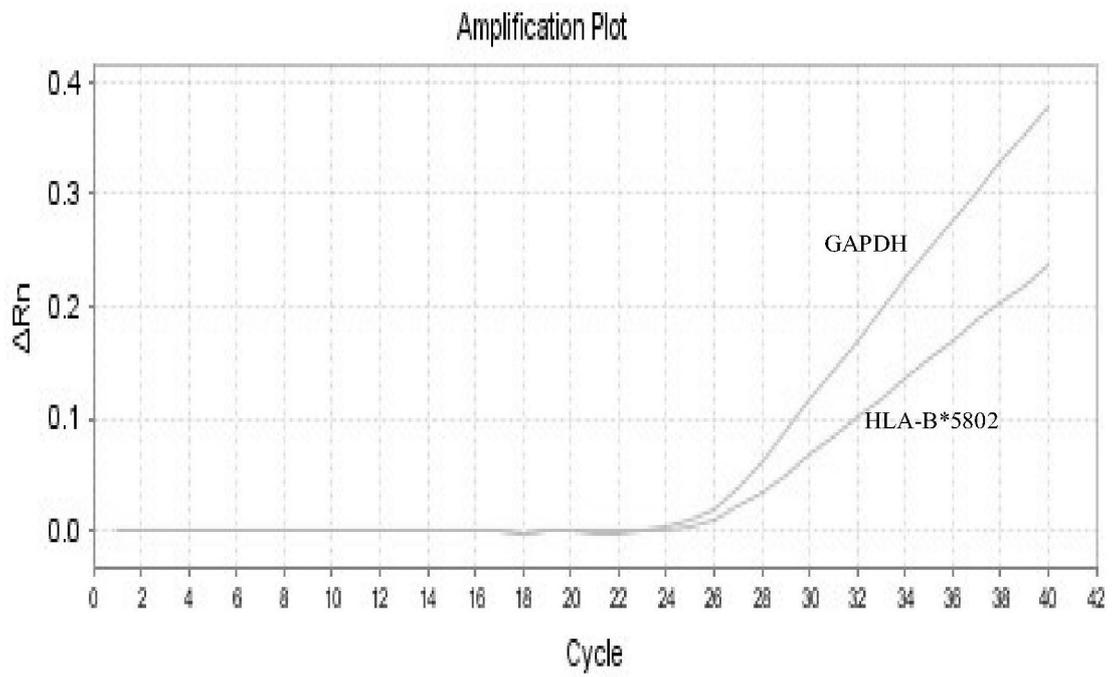


图6

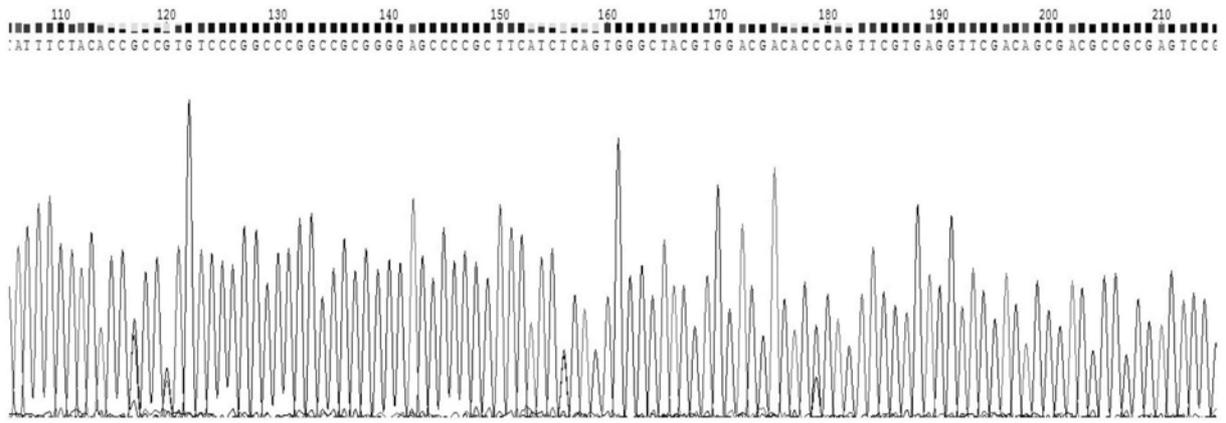


图7

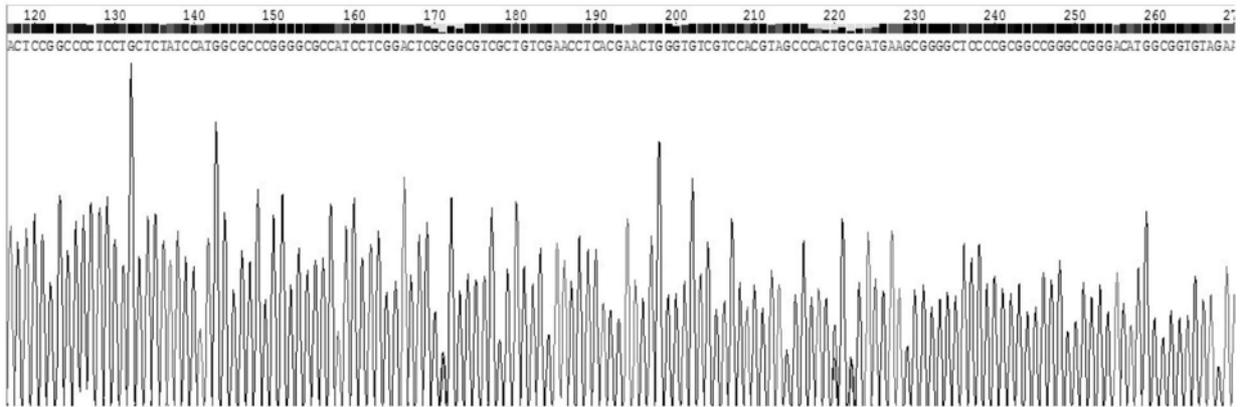


图8