

ARI 未对细胞生长产生影响, XAG 菌株的 GFP 荧光信号表达没有受到抑制。提取蛋白后行 Western blotting, 证实了各组 AR 蛋白表达的一致。但活性测定的结果表明, Zopolrestat 抑制了两菌株 AR 的活性, 而 Sorbinil 则没有显示其抑制的效果, 这可能与高浓度的 Sorbinil 影响荧光测定有关。

本研究对利用基因工程的方法得到的酵母细胞模型在药物筛选方面的作用进行了初步探索, Zopolrestat 对酵母工程菌中表达的 AR 呈现出良好的抑制效应, 可考虑作为该模型进行 ARI 筛选时的对照药物。本方法用于药物初步筛选, 较传统的糖尿病动物模型及动物组织提取 AR 蛋白筛选方法, 靶点明确、易重复、费用经济。在 AR 酶活性测定中存在不足之处, 由于内源性酶对 NADPH 的氧化作用, ARI 抑制作用后的比活性的差值并不显著。并且, 荧光法测定酶活性虽然灵敏度高, 但影响因素较多, 不易控制。我们将改进工作, 寻求更适合本模型 AR 蛋白活性测定的方法。

参考文献

- 1 Varma SD, Mizuno A, Kinoshita JH. Diabetic cataracts and flavonoids[J]. Science, 1977, 195: 205 - 206
- 2 Kinoshita JH, Fukushi S, Kador P, *et al.* Aldose reductase in diabetic complications of the eye[J]. Metabolism, 1979, 28: 462 - 469
- 3 Schemmel KE, Padiyara RS, D'Souza JJ. Aldose reductase inhibitors in the treatment of diabetic peripheral neuropathy: a review[J]. J Diabetes Complications, 2010, 24(5): 354 - 360
- 4 Lo AC, Cheung AK, Hung VK, *et al.* Deletion of aldose reductase leads to protection against cerebral ischemic injury[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2007, 27(8): 1496 - 1509
- 5 Alexiou P, Pegklidou K, Chatzopoulou M, *et al.* Aldose reductase enzyme and its implication to major health problems of the 21st Century[J]. Current Medicinal Chemistry, 2009, 16: 734 - 752
- 6 Ramana KV, Srivastava SK. Aldose reductase: A novel therapeutic target for inflammatory pathologies[J]. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 2010, 42: 17 - 20
- 7 陈思斌, 萧熙佩. 酵母生物化学[M]. 济南: 山东科学技术出版社, 1990: 106 - 260
- 8 刘静, 叶玲, 刘建伟. 糖尿病并发症相关基因醛糖还原酶酵母细胞模型的建立[J]. 中国老年学杂志, 2005, 11(25): 1367 - 1369
- 9 Burke D, Dawson D, Stearns T. Methods in yeast genetics. A cold spring harbor laboratory course manual (2000 Edition) [M]. 北京: 清华大学出版社, 2002: 115 - 116
- 10 Bradgord MM. A rapid and sensitive method for the quantition of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein - dye binding[J]. Analytical biochemistry, 1976, 72: 248 - 254
- 11 Lowry OH, Robert NR, Kapphahn JI. The flurometric measurement of pyridine nucleotides[J]. J Biol Chem, 1957, 224(2): 1047 - 1064
- 12 Luca C, Giulio R, Paola V, *et al.* Diabetes complication and their potential prevention and other approaches[J]. Med Res Rev, 1999, 19(1): 3 - 23

(收稿: 2011 - 10 - 14)

(修回: 2011 - 10 - 20)

DEHP 诱导的氧化应激致小鼠学习记忆能力的下降和维生素 E 的保护作用

程静菲 尚 帅 何贵波 刘晓帆 唐佳琦 熊国梅 廖晓梅 杨 旭

摘 要 目的 研究邻苯二甲酸二乙基己酯(Di-2-ethylhexyl phthalate, DEHP)对小鼠学习记忆能力的影响与其在脑组织造成氧化损伤的关系。**方法** 36 只雄性昆明小鼠随机分成 4 组, 每组 9 只, 分别为空白对照组(生理盐水)、DEHP 染毒组(50mg/kg DEHP)、维生素 E(vitamin E)保护组(50mg/kg DEHP + 50mg/kg 维生素 E)、维生素 E 对照组(50mg/kg 维生素 E)。每天清晨灌胃 1 次, 连续 10 天。期间进行 Morris 水迷宫测试, 检验小鼠的学习记忆能力变化, 10 天后将小鼠处死, 取出脑组织, 检验 ROS 及 MDA 含量。**结果** Morris 水迷宫结果显示, DEHP 染毒组小鼠学习记忆能力与对照组相比显著下降($P < 0.05$), 而维生素 E 作为抗氧化剂在一定程度上可减少其下降幅度; DEHP 染毒组小鼠脑组织中的 ROS 水平和 MDA 含量显著上升($P < 0.05$), 而维生素 E 可减少这种增加, 并与对照组没有显著差异。**结论** 维生素 E 作为抗氧化剂可对 DEHP 致小鼠学习记忆能力损伤有保护作用, DEHP 致小鼠学习记忆能力损伤可能与其在脑组织造成的氧化损伤有关。

基金项目: 国家自然科学基金面上资助项目(51076079); 华中师范大学 2011 年大学生科研立项资助项目

作者单位: 430079 武汉, 华中师范大学生命科学院

通讯作者: 杨旭, 电子信箱: yangxu@mail.ccnu.edu.cn

关键词 邻苯二甲酸二乙基己酯 维生素 E 学习 记忆 Morris 水迷宫 氧化损伤

Decreased Learning and Memory Ability Caused by the Oxidative Stress Induced by DEHP and the Protection Effect of Vitamin E in Mice.

Cheng Jingfei, Shang Shuai, He Guibo, et al. College of Life Sciences, Central China Normal University, Hubei 430079, China

Abstract Objective To study the impairment effect of DEHP on the abilities of learning and memory in KM mice and discuss its relationship with oxidative damage induced by DEHP in the brain. **Methods** Thirty - six male KM mice were randomly divided into 4 groups ($n = 9$ for each group), including control group (Saline), DEHP treatment group (50mg/kg DEHP), vitamin E protection group (50mg/kg DEHP + 50mg/kg VitE), VitE control group (50mg/kg VitE). With the constant exposure for ten days, the Morris water maze was used to test the abilities of learning and memory. Then the reactive oxygen species (ROS) level and malondialdehyde (MDA) content of brains were measured. **Results** The results of MWM showed that the mice only treated with DEHP had a poorer learning and memory ability compared with the control group ($P < 0.05$), and VitE could protect the mice from the impairment of DEHP. The DEHP group had a significantly higher ROS and MDA level in their brains compared with the other three groups, and VitE reduced its increase. Meanwhile, the VitE control group had no significant difference. **Conclusion** These results suggested that VitE could protect Kunming mice from the learning and memory impairment induced by the DEHP, which might result from the oxidative damage in their brain.

Key words Di - (2 - ethylhexyl) phthalate (DEHP); Vitamin E; Learning; Memory; Morris water maze (MWM); Oxidative damage

邻苯二甲酸二乙基己酯 [Di - (2 - ethylhexyl) phthalate, DEHP], 属于邻苯二甲酸酯类 (phthalate esters, PAEs) 化合物, 是目前使用最普遍的一种塑料增塑剂, 它可以增大塑料的柔韧性和可塑性, 提高塑料制品的强度^[1]。由于在塑膜加工过程中, DEHP 并未与 PVC 塑膜以共价化学键结合, 因此, 随着时间的推移, 它很容易从塑料中转移至外环境, 从而污染空气、水体、以及土壤^[2]。随着 DEHP 使用量的增加以及其在自然环境中的富集, 它对生物体造成各种毒害作用也引起了人们的广泛关注, 与此同时有很多国家都制定了限制另本儿甲酸酯使用的法规^[3]。DEHP 具有多种生物毒性, 包括急性毒性作用、慢性毒性作用、遗传毒性、神经毒性、生殖毒性、免疫毒性和氧化损伤作用等^[4]。其中对生殖毒性的研究相对较多, 而对神经毒性研究较少。已有研究表明低浓度的 DEHP 能够对小鼠的学习能力造成影响, 此外, DEHP 还是一种过氧化物酶体增殖剂, 它可以打破了包括以活性氧 (ROS) 为主的各种自由基产生和消除的平衡, 最终导致细胞内 ROS 水平升高^[5-7]。维生素 E 是一种脂溶性维生素, 又名 - α 生育酚, 是一种重要的非酶系抗氧化剂, 与 SOD、GSH 等共同构成体内的抗氧化系统, 能阻断氧自由基链反应, 防止膜系统上的多不饱和脂肪酸氧化, 从而使膜系统免受氧化损伤。Morris 水迷宫是英国心理学家 Morris 于 20 世纪 80 年代初设计并应用于学习记忆脑机制研究的, 后来该迷宫系统被广泛运用在神经生物学领域的基础和应用研究中, 主要用于检测实验小鼠的空间学习与记忆能力。

从目前的研究现状来看, 大多数对 DEHP 神经毒性的研究是通过体外观察实验现象, 未通过体内生物分子实验验证机制。因此本研究在测定 DEHP 染毒对小鼠在 Morris 水迷宫实验中表现出来的学习记忆能力影响的基础之上, 还进一步测试了其脑组织氧化损伤 ROS、MDA 的含量, 并采用维生素 E 作为抗氧化剂, 观察其对 DEHP 所致小鼠学习记忆能力的改变的保护作用及其脑组织中过氧化指标的变化, 为初步探讨 DEHP 对学习记忆能力造成的影响机制提供依据。

材料与方法

1. 实验动物: 本研究所用的动物为 SPF 级雄性昆明小鼠, 体重 20 ~ 24g 左右, 购自湖北省实验动物中心。

2. 主要试剂与仪器: 邻苯二甲酸二乙基己酯 (Sigma 公司, 纯度 > 99%), 2', 7' - 二氯荧光黄双乙酸盐 (DCFH - DA) (Sigma 公司, 纯度 > 97%), 维生素 E (Sigma 公司, 纯度 > 96%), 硫代巴比妥酸 (TBA, 上海试剂二厂), 其他试剂均为国产分析纯。低温冷冻离心机 (Eppendorf 5415R), 三用电热恒温水箱, 涡旋器, 全波长酶标仪 (Bio - teck), 荧光酶标仪 (Bio - teck)。

3. 染毒方法: 将 36 只雄性昆明小鼠随机分成 4 组, 每组 9 只, 分别标记为空白对照组 (生理盐水), DEHP 染毒组 (50mg/kg DEHP), 维生素 E 保护组 (50mg/kg DEHP + 50mg/kg 维生素 E) 和维生素 E 对照组 (50mg/kg 维生素 E)。在配置染毒液及抗氧化剂溶液时, DEHP 和维生素 E 均用吐温 - 80 按照 1:1 的体积比溶解, 再用生理盐水配置成 50mg/ml 的浓度。每天清晨使用灌胃针按照 0.01ml/g (体重) 的灌胃比例灌注进行相应浓度的药品, 连续染毒 10 天。

4. Morris 水迷宫实验: (1) 水迷宫实验简介及其装置: Morris 水迷宫 (Morris water maze, MWM) 实验是由英国心

理学家 Morris 于 20 世纪 80 年代初建立的,它利用鼠类动物天性会游泳但又怕水的特性作为驱动力,迫使动物找到隐藏在水中的逃逸平台避水上岸,并通过训练动物使其学会利用标志物与逃逸平台之间的关系来判断逃逸平台位置。在 MWM 实验中可通过观测小鼠的行为表现来检测小鼠的学习记忆能力^[8]。

图 1 表示的为 Morris 水迷宫的实验装置图,水迷宫实验主体装置由一个直径 120cm、高 50cm、内壁不反光的不锈钢圆形水池组成,置于灯光合理布局、与外界相对隔绝的实验室中央。迷宫池以根据东西南北 4 个等距点将水池假想地等分为 4 个象限,分别记为 SW、NW、SE 及 NE 象限。在 NE 象限的正中距离池壁 30cm 处放置一直径为 9cm、高 20.2cm 的黑色平台,淹没于水下 0.8cm。水温控制在 $22 \pm 1^\circ\text{C}$ 。实验期间保持周围环境恒定。实验时,根据具体采用的实验方案选择恰当的入水点,抓取小鼠,使其面向池壁,在水平面高度将其轻放入水中,让其自由游泳。其游泳轨迹被迷宫上方的摄像机记录并传入计算机,由 AnyMaze 软件记录分析。

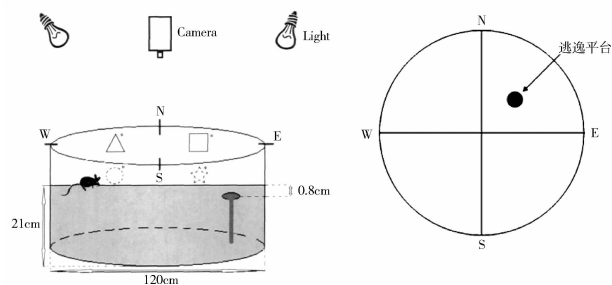


图 1 Morris 水迷宫实验装置示意图^[8]

2. 定位航行实验:定位航行实验用于检测小鼠的学习记忆能力。实验历时 7 天,每天训练 3 次,于染毒完毕 4h 后开始训练。训练时将小鼠依次从象限的边缘中点位置面向池壁轻轻放入水中,并开始计时录像。若小鼠 60s 内能找到平台,则所记录的时间是小鼠的逃避潜伏期;若小鼠在 60s 内未找到平台,则其逃避潜伏期记录为 60s,此时实验者应用手将其引导上平台,让其在平台上停留 30s,目的在于让其观察四周,学习定位平台位置。训练后用于毛巾将小鼠擦干。

3. 空间探索实验:空间搜索实验用于测量小鼠对逃逸平台的空间位置的记忆能力。定位航行实验结束后,经过 2 天的遗忘期,在第 10 天拆掉平台,以同样方法进行水迷宫实验,由软件记录在 60s 内小鼠在各象限内游泳的时间。通过分析空间搜索的实验结果,可比较不同处理的小鼠对实验环境的空间记忆能力的强弱。

4. 脑组织中 ROS、MDA 含量的测定:(1)脑组织匀浆的制作:10 天的染毒结束后,将小鼠脱颈处死,迅速取出脑组织,并至于冰上,称重并记录后,通过匀浆器使用生理盐水制成浓度为 10% 的脑组织匀浆(此操作在冰上进行)。将组织匀浆液于 4°C 、5000r/min 离心 10min,收集上清液于 -20°C 冷冻保存,用于 ROS 和 MDA 含量的测定。(2)活性氧(ROS)含量的

测定:活性氧(ROS)是生物体内产生的超氧根离子(O_2^-)、过氧化氢(H_2O_2)、羟自由基($-\text{OH}$)、一氧化氮(NO)等活性含氧化合物的总称。脑组织匀浆中活性氧(ROS)含量的测定使用的是 DCF 荧光法。DCFH-DA 本身没有荧光,可自由穿过细胞膜,进入细胞内后,被细胞内的酯酶水解生成 DCFH。而 DCFH 不能通透细胞膜,从而使探针很容易被装载到细胞内。细胞内的活性氧化无荧光的 DCFH 生成有荧光的 DCF。检测 DCF 的荧光的放射强度就可知道细胞内活性氧的水平^[9]。将浓度为 10mmol/L 的 DCFH-DA 荧光染料用 PBS 缓冲液稀释 1000 倍,同时将样品匀浆液用 PBS 稀释 100 倍后,各取 100 μl 混匀,在 37°C 条件下避光保存反应 10min 后,测量其在 480nm 激发光,520nm 发射光下的荧光强度。(3)丙二醛(MDA)含量的测定:丙二醛(MDA)是脂质过氧化物的终产物之一,其含量用硫代巴比妥酸(TBA)法测定。MDA 可与 TBA 缩合,生成红色物质,其颜色越深 MDA 越多。利用其生成物在 532nm 波长有最大吸收峰,可测定其吸光值,从而计算脑匀浆中 MDA 的含量^[10]。在 10ml 试管中加入 0.5ml 相应的待测匀浆液,调零管中加入 0.5ml 生理盐水,然后各管加入 2ml 0.6% TBA 溶液,混匀后进行沸水浴 15min,反应完毕后取出进行流水冷却。将试管中溶液取出,10000r/min 离心 10min,将上清液取出分装,并分别在 450nm、532nm 和 600nm 波长下测定吸光值,按照公式 $C = 6.45 (D_{532} - D_{600}) - 0.56D_{450}$,计算出每管样品中 MDA 的浓度(C)^[11]。

5. 统计学方法:用 Origin6.1 软件对实验数据进行 ANOVA 分析,用 t 检验法检验染毒组与对照组之间的差异, $P \leq 0.05$ 为统计学显著水平。用于表示结果的柱状图由 Origin6.1 软件根据各指标的均数和标准误的结果绘制。

结 果

1. 小鼠 Morris 水迷宫学习记忆能力测试结果:经过定位航行实验和空间探索实验,得到如下结果。图 2 是定位航行实验的结果,图中表示的是经过不同处理的小鼠在 7 天的学习过程中的逃避潜伏期。从图中我们可以看出,各实验组小鼠经过 7 天训练后,逃避潜伏期都呈现缩短的趋势,说明了这是一个不断学习的过程。其中空白对照组小鼠的潜伏期缩短最明显,学习能力最好;DEHP 染毒组小鼠的潜伏期与空白对照组相比缩短最不明显,说明学习能力较差;而维生素 E 保护组小鼠的潜伏期则明显缩短,学习能力好于 DEHP 染毒组的小鼠;同时维生素 E 对照组的小鼠与空白对照组相比无明显差异,这也排除了维生素 E 本身对实验的影响。

图 3 是空间探索实验的结果,它可以反映小鼠对实验环境的空间记忆能力强弱。从图中我们可以观察到在第 10 天的实验中,经过 DEHP 染毒组小鼠在平台所在象限(即 NE 象限)所停留的时间与空白对

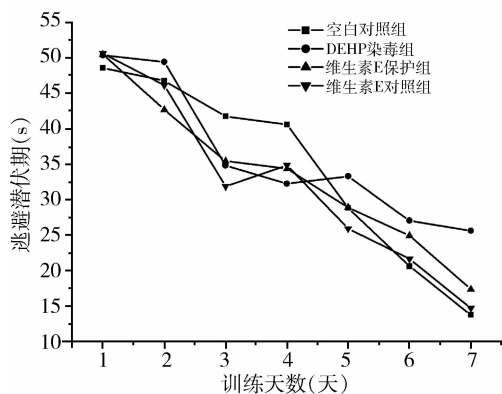


图 2 小鼠定位航行实验结果

照组相比明显减少,经过统计分析得出 $P < 0.05$,具有显著差异,说明其记忆能力受损;而维生素 E 保护组小鼠在平台象限的停留时间比 DEHP 染毒组小鼠明显增加,且与空白对照组相比没有显著性差异,说明该组小鼠的记忆能力好于 DEHP 染毒组的小鼠;另外维生素 E 对照组的小鼠与空白对照组小鼠在平台象限的停留时间相比无明显差异。

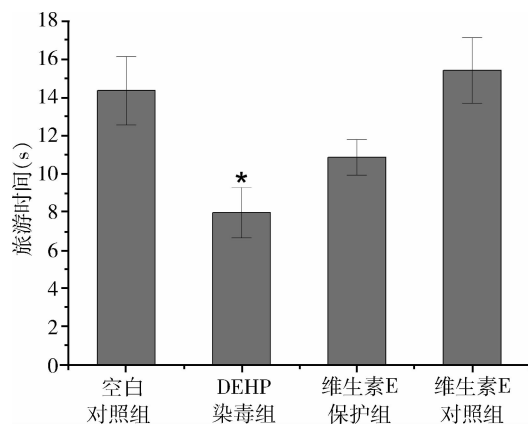


图 3 小鼠空间探索实验结果

与空白对照组相比, * $P < 0.05$

2. 各组小鼠脑组织 ROS 水平及 MDA 含量比较:

图 4 是各组小鼠脑组织中 ROS 水平的测定结果。从图中可以看出,DEHP 染毒组的小鼠脑组织中 ROS 水平与空白对照组相比明显增加,统计分析可知 $P < 0.05$,具有显著差异;而维生素 E 保护组小鼠脑组织中的 ROS 水平明显降低,且与空白对照组相比没有显著差异;维生素 E 对照组的小鼠脑组织中的 ROS 含量与空白对照组相比也无明显差异,排除了维生素 E 本身的影响。实验结果表明,DEHP 能够使小鼠脑组织中活性氧的含量增加,而维生素 E 能够消除部分活性氧。

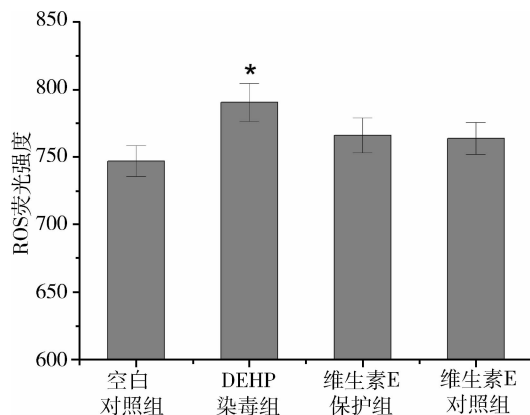


图 4 各组小鼠脑组织 ROS 水平比较

与空白对照组相比, * $P < 0.05$

图 5 是各组小鼠脑组织中 MDA 含量的测定结果。从图中可以看出,DEHP 染毒组的小鼠脑组织中 MDA 的含量与空白对照组相比明显增加并且具有显著性差异 ($P < 0.05$);而维生素 E 保护组小鼠脑组织中 MDA 含量比 DEHP 染毒组明显减少,且与空白对照组没有显著差异。实验结果表明,DEHP 能够使小鼠脑组织中 MDA 的含量增加,而添加维生素 E 保护剂后能够减少 MDA 的含量。

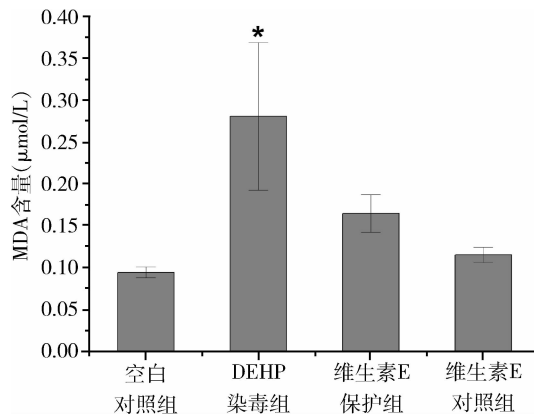


图 5 各组小鼠脑组织 MDA 含量比较

与空白对照组相比, * $P < 0.05$

讨 论

DEHP 作为广泛使用的增塑剂,其生物毒性受到广泛重视。而目前对 DEHP 的生殖毒性及其内分泌干扰作用的研究较多,而对其神经毒性的研究较小。流行病学资料表明邻苯二甲酸脂类化合物对神经系统有一定的毒害作用^[12]。本项研究,通过 Morris 水迷宫实验,从生理学的角度验证了中低浓度 (50mg/kg) DEHP 对小鼠学习记忆能力有损伤作用。据报道,抗氧化剂 (如维生素 E) 可以改善阿尔茨海默

病(AD)、慢性间歇性缺氧导致的认知障碍和学习障碍^[13]。同时在本次研究中,维生素 E 可以改善 DEHP 对小鼠学习记忆能力造成的损伤,这表明维生素 E 对 DEHP 引起的神经行为的改变有保护作用。

机体在正常生理过程中会产生一系列的活性氧自由基分子,而机体本身具有助氧化系统和抗氧化系统。在正常的生理条件下,这两个系统保持动态平衡,使机体内的活性氧维持在较低的水平。从实验结果来看,DEHP 或其代谢产物可能通过干扰小鼠体内抗氧化酶基因的表达或抑制其活性等未知的方式干扰机体内活性氧的代谢过程,使机体产生过量的 ROS,而过量的 ROS 可进一步引发脂质的过氧化作用,产生 MDA 等脂质过氧化物,这个实验结果与王蕊等^[14]的研究结果一致。实验还显示在一定程度上维生素 E 能够清除脑组织中的氧自由基,降低脂质的过氧化程度在脂质的过氧化程度,对 DEHP 诱导的氧化损伤有保护作用。脂质的过氧化可影响生物体尤其是大脑中海马组织区膜系统的正常功能,从而干扰神经信号的传导,影响线粒体的正常供能,进而影响小鼠的学习记忆能力。

综上所述,DEHP 能导致小鼠学习记忆能力下降同时诱发脑组织的氧化损伤,维生素 E 作为抗氧化剂可保护 DEHP 所造成的氧化损伤及其所致的学习记忆能力的下降,由此我们初步判断 DEHP 引起学习记忆能力降低的机制可能涉及到了氧化损伤。此外,虽然小鼠与人类的代谢方式及学习记忆方式有所不同,但是人们对 DEHP 的这种生物毒性也应当引起充分的注意,以防 DEHP 对人体健康造成不利的影响。

参考文献

1 Giuseppe L. Monitoring phthalate exposure in humans [J]. Clinica

Chimica Acta, 2005, 361(1-2): 20-29

- 2 张蕴晖. 邻苯二甲酸二乙基己酯对环境和生物体的危害[J]. 国外医学卫生学分册, 2002, 29(2): 29, 73-77
- 3 陈如, 蒋晓琪, 王建平. 邻苯二甲酸酯及其生态毒性[J]. 印染助剂, 2010, 27(9): 27, 52-56
- 4 王黎明. 邻苯二甲酸二乙基己酯对小鼠遗传毒性和免疫毒性的研究[D]. 华中师范大学学报: 自然科学版, 2007, 41(3): 440-443
- 5 Toyohito T. Reproductive and neurobehavioral effects of bis(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) in a cross-mating toxicity study of mice [J]. Food and Chemical Toxicology, 2005, 43(4): 581-589
- 6 胡存丽, 仲来福. 邻苯二甲酸(2-乙基己基)酯遗传毒性研究进展[J]. 大连医科大学学报, 2007, 29(3): 185-190
- 7 Dzhokova-Stojkova S, Bogdanska J, Stojkova Z. Peroxisome proliferators: their biological and toxicological effects [J]. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 2009, 39(6): 468-474
- 8 王维刚, 周嘉斌, 朱明莉, 等. 小鼠动物实验方法系列专题(一)——Morris 水迷宫实验在小鼠表型分析中的应用[J] 中国细胞生物学学报, 2011, 33(1): 8-14
- 9 聂金雷, 时庆德. 利用荧光探针直接测定线粒体活性氧的形成[J]. 中国应用生理学杂志, 2002, 18(2): 196-198
- 10 Tandon V, Gupta RK. Effect of Vitex negundo on oxidative stress [J]. Indian J Pharm, 2005, 37(1): 38-40
- 11 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 2 版, 北京: 北京高等教育出版社, 1990: 102-104
- 12 Gilioli R, Bulheroni C, Terrana T, et al. A transversal and longitudinal neurological study of a working population engaged in the production of phthalates [J]. Med Lav, 1978, 69(5): 620-631
- 13 Joseph JA, Shukitt-Hale B. Long-term dietary strawberry, spinach, or vitamin E supplementation retards the onset of age-related neuronal signal-transduction and cognitive behavioral deficits [J]. The Journal of Neuroscience, 1992, 18(19): 8047-8055
- 14 王蕊, 季厚勇. DEHP 对大鼠脂质过氧化反应的影响[J] 中国公共卫生, 2001, 17(11): 1011-1012

(收稿: 2011-08-28)

(修回: 2011-09-05)

四川省 106 株结核分枝杆菌 spoligotyping 基因分型研究

杨 筠(jun) 董海燕 李定越 刘志广 陈 建 杨 筠(yun) 龙 波 万康林

摘 要 目的 了解四川省结核分枝杆菌基因型构成情况以及北京基因型菌株在四川省结核分枝杆菌中所占的比例, 为四川省结核病预防控制提供分子流行病学依据。**方法** 采用间隔区寡核苷酸分型(spacer oligonucleotide typing, spoligotyping)方法

基金项目: 国家“十一五”重大专项基金资助项目(2008ZX100/03-010-02); 四川省科技厅基金资助项目

作者单位: 610041 成都, 四川省疾病预防控制中心(董海燕、刘志广、万康林); 中国疾病预防控制中心传染病预防控制所、传染病预防控制国家重点实验室[杨筠(jun)、李定越、杨筠(yun)、龙波]; 成都医学院(陈建)[注: 杨筠(jun)和董海燕为共同第一作者]

通讯作者: 万康林, 电子信箱: wankanglin@icdc.cn