

本技术涉及微生物分子生物学检测技术领域，具体涉及用于拟分枝杆菌属细菌鉴定的分子标记、特异性引物和方法。本技术发现位于葡萄糖6磷酸异构酶~~pgi~~基因到乙酰辅酶A乙酰转移酶~~ACAT~~基因的基因组区段内的2个基因排列区及16个单基因具有拟分枝杆菌属特异性，可用于拟分枝杆菌属水平的鉴定，其中部分单基因还具有拟分枝杆菌种水平特异性，可用于拟分枝杆菌种水平的鉴定。基于此，本技术建立了利用~~PCR~~技术鉴定拟分枝杆菌的方法，可直接根据~~PCR~~扩增结果进行判断而无需测序，更适用于临床样本的特异性快速检测，可广泛应用于拟分枝杆菌的临床检测和鉴定以及结核病的辅助诊断和~~流行病学~~监测等相关领域。

---

## 技术要求

1.葡萄糖-6磷酸异构酶基因~~pgi~~至乙酰辅酶A乙酰转移酶基因~~ACAT~~的基因组区段内的基因排列区、基因或其编码蛋白在作为拟分枝杆菌属细菌分子标记中的应用，所述基因排列区为以下(1)和/或(2)：

(1) 磷酸半乳糖磷酸转移酶基因~~sugtrans~~ 糖基转移酶~~GT4-1~~糖基转移酶基因~~GT4-2-RfbX~~ 糖基转移酶基因~~GT1-1~~转运子基因~~YdcF~~ 糖基转移酶基因~~GT1-2~~假想蛋白基因~~hypothetic2388~~

(2) ~~ABC~~转运透性酶基因- ~~ABC~~转运透性酶基因-哺乳动物细胞侵入蛋白基因~~MCE1-MCE2-MCE3-MCE4-MCE5-MCE6~~假想蛋白基因~~hypothetic690-DUF3298~~结构域蛋白基因~~DUF3298~~

所述基因为选自~~XRE pdxH tetR654 hypothetic246 hypothetic129 imm63 hypothetic900 tetR603 GT4-1 GT4-2 RfbX GT1-1 YdcF GT1-2 hypothetic2388 ACAT~~中的一个或多个。

2.葡萄糖-6磷酸异构酶基因~~pgi~~至乙酰辅酶A乙酰转移酶基因~~ACAT~~的基因组区段内的基因排列区、基因或其编码蛋白、或所述基因排列区、基因或所述编码蛋白的检测试剂在制备用于检测拟分枝杆菌属细菌的试剂或试剂盒中的应用，所述基因排列区和所述基因同权利要求1所述。

3.葡萄糖-6-磷酸异构酶基因~~pgi~~至乙酰辅酶A乙酰转移酶基因~~ACAT~~的基因组区段内的基因排列区、基因或其编码蛋白、或所述基因排列区、基因或所述编码蛋白的检测试剂在制备用于区分鉴别结核分枝杆菌和非结核分枝杆菌、或用于检测结核病的试剂或试剂盒中的应用，所述基因排列区和所述基因同权利要求1所述。

4.葡萄糖-6-磷酸异构酶基因~~pgi~~至乙酰辅酶A乙酰转移酶基因~~ACAT~~的基因组区段内的基因、其编码蛋白或所述基因或编码蛋白的检测试剂在制备用于检测脓肿拟分枝杆菌 (*M. abscessus*、龟拟分枝杆菌 (*M. chelonae*、富兰克林拟分枝杆菌 (*M. franklinii*)、免疫反应拟分枝杆菌 (*M. immunogenum*)、嗜鲑鱼拟分枝杆菌 (*M. salmoniphilum* 或圣保罗拟分枝杆菌 (*M. saopaulense*) 中的应用，所述基因为GT4-2。

5.试剂盒，其特征在于，其包含基因排列区的DNA分子、基因排列区的编码蛋白或所述编码蛋白的重组蛋白，或者包含基因排列区、其编码蛋白或所述编码蛋白的重组蛋白的检测试剂；所述基因排列区同权利要求1所述。

6.拟分枝杆菌属细菌的特异性分子标记，其特征在于，其为以拟分枝杆菌属细菌的基因组DNA为模板，由SEQ ID NO.1-~~2~~所示引物扩增得到的DNA片段。

7.用于检测拟分枝杆菌属细菌的特异性引物，其特征在于，包括SEQ ID NO.1-~~2~~所示的引物。

8.用于检测脓肿拟分枝杆菌 (*M. abscessus*、龟拟分枝杆菌 (*M. chelonae*、富兰克林拟分枝杆菌 (*M. franklinii*)、免疫反应拟分枝杆菌 (*M. immunogenum*)、嗜鲑鱼拟分枝杆菌 (*M. salmoniphilum* 或圣保罗拟分枝杆菌 (*M. saopaulense*) 的特异性引物，其特征在于，包括SEQ ID NO.3-1~~4~~所示的引物中的一对或多对。

9.检测拟分枝杆菌属或属内种的方法，其特征在于，以待测样品的基因组DNA为模板，采用选自SEQ ID NO.1-~~2~~和SEQ ID NO.3-1~~4~~所示引物中的一对或多对进行PCR扩增，根据PCR扩增产物的条带类型判断待测样品是否含有拟分枝杆菌属细菌。

---

技术说明书

用于拟分枝杆菌属细菌鉴定的分子标记、特异性引物和方法

## 技术领域

本技术涉及微生物分子生物学检测技术领域，具体涉及用于拟分枝杆菌属细菌鉴定的分子标记、特异性引物和方法。

## 背景技术

分枝杆菌包括结核分枝杆菌复合群(*Mycobacterium tuberculosis complex* MTBC)和非结核分枝杆菌 (*Non-tuberculosis mycobacteria* NTM) ，迄今已有近200个菌种及亚种。其中，结核分枝杆菌可感染人和动物，引起结核病。非结核分枝杆菌广泛分布于水生和陆地环境中，其中的许多菌种能在人和动物中引发严重的疾病。结核分枝杆菌和非结核分枝杆菌在形态、染色、培养条件上很相似，但耐药谱上差别很大，非结核分枝杆菌通常天然对一线抗结核药物耐药。在AIDS患者中25-50%的患者合并有非结核分枝杆菌感染，而30%的多耐药患者实际是结核和非结核分枝杆菌的混合感染。混合感染严重增加了治疗的难度。准确快速的区分鉴定结核和非结核分枝杆菌是实现全球终结结核病计划的首要条件。

2018年，利用分子遗传学方法，对分枝杆菌进行了重新分类，将现有分枝杆菌属的菌种按照5个单系进化群重新分类，分别为分枝杆菌属 (*Mycobacterium*)、分枝菌酸小杆菌属 (*Mycolicibacillus*)、分枝菌酸杆菌属 (*Mycolicibacter*)、分枝菌酸杆形菌属 (*Mycolicibacterium*)和拟分枝杆菌属 (*Mycobacteroides*)。拟分枝杆菌属是快生型非结核分枝杆菌，包括8个菌种，分别为脓肿拟分枝杆菌 (*M. abscessus*)、龟拟分枝杆菌 (*M. chelonae*)、富兰克林拟分枝杆菌 (*M. franklinii*)、免疫反应拟分枝杆菌 (*M. immunogenum*)、嗜鲑鱼拟分枝杆菌 (*M. salmoniphilum*)、圣保罗拟分枝杆菌 (*M. saopaulense*)、丝背细鳞鲑鱼分枝杆菌 (*M. stephanolepidis*)和*M. fukienense* 其中，脓肿拟分枝杆菌 (*M. abscessus*)、龟拟分枝杆菌 (*M. chelonae*)、富兰克林拟分枝杆菌 (*M. franklinii*)和免疫反应拟分枝杆菌 (*M. immunogenum*)都是临床样本中十分常见的非结核分枝杆菌菌种。而且龟拟分枝杆菌是引起皮肤和软组织结核的最主要的菌种。因此，拟分枝杆菌属是一个临床上具有重要意义的非结核分枝杆菌属。

分枝杆菌的培养条件及临床治疗药物不同于其他细菌。由于生长缓慢，所有基于分枝杆菌培养的传统实验，包括表型鉴定、生化检测及药敏实验都是非常耗时的，一般需要约3-6周，而且常常数周后也难以得到明确的结果。因此，分子生物学的鉴定方法在结核病的诊断中起着重要的作用。基于新的分枝杆菌分类，有必要建立相应的新的鉴定方法，以便于结核/非结核分枝杆菌的快速诊断及鉴别诊断。

## 技术内容

本技术的目的之一是提供葡萄糖-6-磷酸异构酶~~pgi~~至乙酰辅酶A乙酰转移酶~~ACAT~~的基因组区段内的基因或基因排列区在拟分枝杆菌属水平或种水平鉴定中的应用，本技术的另一目的是提供用于拟分枝杆菌属细菌鉴定的分子标记和特异性引物以及利用该特异性引物进行拟分枝杆菌属水平或种水平鉴定的方法。

本技术针对分枝杆菌重新分类确定的拟分枝杆菌属细菌，开发特异性的分子生物学鉴定方法，通过对GenBank上已发布的7600个分枝杆菌的基因组序列（包括42个拟分枝杆菌完成图）进行大量分析、比对，发现从葡萄糖-6-磷酸异构酶~~glucose-6-phosphate isomerase (pgi)~~基因到乙酰辅酶A乙酰转移酶~~acetyl-CoA acetyltransferase (ACAT)~~的基因组区段（~~pgi-ACAT~~区段）内部，存在10个保守的基因排列区（图1）：

- (1) 葡萄糖-6-磷酸异构酶基因~~glucose-6-phosphate isomerase (pgi)~~排列区；
- (2) 转录调控因子基因~~transcriptional regulator (XRE)~~类醛缩酶基因~~aldolase II~~三氢双十八烷酸合成酶家族蛋白基因~~dihydrodipicolinate synthase family protein (dapA)~~维生素生物合成蛋白基因~~cobalamin biosynthesis protein (CobW)~~
- (3) CGNR锌指结构域蛋白基因~~zinc finger domain-containing protein (zf-CGNR)~~
- (4) 细胞色素C氧化酶亚基1基因~~cytochrome C oxidase subunit 1 (cydA)~~磷酸吡哆胺氧化酶基因~~pyridoxamine 5'-phosphate oxidase (pdxH)~~
- (5) 多磷酸激酶2基因~~polyphosphate kinase 2 (ppk2)~~链脱氢酶基因~~short chain dehydrogenase (SDR)-Fpg/Nei~~家族DNA糖基化酶基因~~Fpg/Nei family DNA glycosylase (fpg)~~前胶原6A合酶基因~~precorrin 6A synthase (cobF)~~-TetR家族转录调控因子基因~~TetR family transcriptional regulator (tetR-654)~~

(6) DNA连接酶基因ATP-dependent DNA ligase (ligD)蛋白基因(mku)-二价金属阳离子转运子基因divalent metal cation transporter (mntH)假想蛋白基因(hypothetic246)

(7) 假想蛋白基因(hypothetic411)-(hypothetic129)-MarR家族转录调控因子基因MarR family transcriptional regulator (MarR)羧酸水合酶基因cyanate hydratase(cynS)免疫63家族蛋白基因immunity 63 family protein (Imm63)-DUF1942结构域蛋白基因DUF1942 domain-containing protein (DUF1942)假想蛋白基因(hypothetic900)-TetR家族转录调控因子基因TetR family transcriptional regulator (tetR603)-DUF2236结构域蛋白基因(DUF2236)

(8) 磷酸半乳糖磷酸转移酶基因UDP-phosphate galactose phosphotransferase(sugtrns)-糖基转移酶基因glycosyl transferase family 4 (GT4)糖基转移酶基因glycosyl transferase family 4 (GT4-2)-RfbX糖基转移酶基因glycosyltransferase family 1 (GT1)转运子基因transporter (YdcF)糖基转移酶基因glycosyl transferase family 1 (GT1)假想蛋白基因(hypothetic2388)

(9) ABC转运透性酶基因ABC transporter permease (ABC permease)- ABC透性酶基因ABC transporter permease (ABC permease)哺乳动物细胞侵入蛋白基因mammalian cell entry protein (MCE1-MCE2-MCE3-MCE4-MCE5-MCE6)假想蛋白基因(hypothetic690)- DUF3298结构域蛋白基因(DUF3298)

(10) 乙酰辅酶A乙酰转移酶基因acetyl-CoA acetyltransferase (ACAAT)基因排列区。

其中，第8和第9排列区及其中的16个单基因（XRE pdxH tetR654 hypothetical246 hypothetical129 imm63 hypothetical900 tetR603 GT4-1 GT4-2 RfbX GT1-1 YdcF GT1-2 hypothetical2388 ACAT）存在于已公布的所有拟分枝杆菌菌株的基因组，而在其他分枝杆菌基因组（包括结核分枝杆菌复合群）中都没有同源序列，具有拟分枝杆菌属特异性。这些属特异的基因排列区可以反映分枝杆菌的进化关系，可以用于特异性区分拟分枝杆菌属和其他分枝杆菌属。同时，部分基因的序列甚至具有种间特异性差异，可用于区分鉴定拟分枝杆菌属内的菌种。

本技术所述的基因排列区为至少2个基因有序排列的序列或其片段。

基于上述发现，本技术具体提供以下技术方案：

第一方面，本技术提供葡萄糖-6-磷酸异构酶基因pgi至乙酰辅酶A乙酰转移酶基因ACAT的基因组区段内的基因排列区、基因或其编码蛋白在作为拟分枝杆菌属细菌分子标记中的应用，所述基因排列区为以下（1）和/或（2）：

（1）磷酸半乳糖磷酸转移酶基因UDP-phosphate galactose phosphotransferase(sugtrn~~糖~~)-基转移酶基因glycosyl transferase family 4 (GT4~~糖~~基转移酶基因glycosyl transferase family 4 (GT4-2)-Rfb~~糖~~基转移酶基因glycosyltransferase family 1 (GT1~~糖~~转运子基因 transporter (YdcF~~糖~~基转移酶基因glycosyl transferase family 1 (GT1~~糖~~假想蛋白基因 (hypothetic2388)

（2）ABC转运透性酶基因ABC transporter permease (ABC permease)- ~~ABC~~透性酶基因ABC transporter permease (ABC permease~~糖~~)-动物细胞侵入蛋白基因mammalian cell entry protein (MCE1-MCE2-MCE3-MCE4-MCE5-MCE~~糖~~假想蛋白基因(hypothetic690)- DUF3298 结构域蛋白基因(DUF3298)

所述基因为选自XRE pdxH tetR654 hypothetical246 hypothetical129 imm63 hypothetical900 tetR603 GT4-1 GT4-2 RfbX GT1-1 YdcF GT1-2 hypothetical2388 ACAT中的一个或多个。

第二方面，本技术提供葡萄糖-6-磷酸异构酶 $pgi$ 至乙酰辅酶A乙酰转移酶 $ACAT$ 基因组区段内的基因排列区、基因或其编码蛋白、或所述基因排列区、基因或其编码蛋白的检测试剂在制备用于检测拟分枝杆菌属细菌的试剂或试剂盒中的应用，所述基因排列区和所述基因同以上第一方面所述。

第三方面，本技术提供葡萄糖-6-磷酸异构酶 $pgi$ 至乙酰辅酶A乙酰转移酶 $ACAT$ 基因组区段内的基因排列区、基因或其编码蛋白、或所述基因排列区、基因或其编码蛋白的检测试剂在制备用于区分鉴别结核分枝杆菌和非结核分枝杆菌、或用于检测结核病的试剂或试剂盒中的应用，所述基因排列区和所述基因同以上第一方面所述。

本技术所述的基因排列区、基因或其编码蛋白的检测试剂中，基因排列区、基因的检测试剂包括用于检测所述基因或基因排列区的 $PCR$ 引物、 $PCR$ 探针、可与所述基因或基因排列区杂交的探针、或者可与所述基因或基因排列区特异性结合的蛋白质。所述编码蛋白的检测试剂包括可与所述蛋白发生免疫反应的抗体、或发生特异性结合反应的核酸。

第四方面，本技术提供葡萄糖-6-磷酸异构酶 $pgi$ 至乙酰辅酶A乙酰转移酶 $ACAT$ 基因组区段内的基因、其编码蛋白或所述基因或编码蛋白的检测试剂在制备用于检测脓肿拟分枝杆菌 (*M. abscessus*)、龟拟分枝杆菌 (*M. chelonae*)、富兰克林拟分枝杆菌 (*M. franklinii*)、免疫反应拟分枝杆菌 (*M. immunogenum*)、嗜鲑鱼拟分枝杆菌 (*M. salmoniphilum*) 或圣保罗拟分枝杆菌 (*M. saopaulense*) 中的应用，所述基因为 $GT4-2$ 。

第五方面，本技术提供一种试剂盒，其包含基因排列区的 $DNA$ 分子、基因排列区的编码蛋白或所述编码蛋白的重组蛋白，或者包含基因排列区、其编码蛋白或所述编码蛋白的重组蛋白的检测试剂；所述基因排列区同上述第一方面中所述。

第六方面，本技术还提供一种试剂盒，其包含选自如下基因中的一个或多个： $XRE$ 、 $pdxH$ 、 $tetR654$ 、 $hypothetic246$ 、 $hypothetic129$ 、 $imm63$ 、 $hypothetic900$ 、 $tetR603$ 、 $GT4-1$ 、 $GT4-2$ 、 $RfbX$ 、 $GT1-1$ 、 $YdcF$ 、 $GT1-2$ 、 $hypothetic2388$ 、 $ACAT$ ，或者包含所述基因的编码蛋白或所述编码蛋白的重组蛋白，或者包含所述基因、所述编码蛋白或所述重组蛋白的检测试剂。

葡萄糖-6-磷酸异构酶基因pgi至乙酰辅酶A乙酰转移酶基因ACAT的基因组区段内的上述保守基因的编码蛋白可应用于基于抗原/抗体的血清学或蛋白质组学的检测，例如：酶联免疫法（ELISA）、免疫胶体金检测等。

本技术以上述拟分枝杆菌属水平特异的基因排列区ABC转运透性酶基因-ABC转运透性酶基因-哺乳动物细胞侵入蛋白基因MCE1-MCE2-MCE3-MCE4-MCE5-MCE6-假想蛋白基因hypothetic690-DUF3298结构域蛋白基因DUF3298为例，设计了一对特异性扩增引物，该特异性引物仅在拟分枝杆菌属能够获得扩增产物，而在非拟分枝杆菌属的分枝杆菌中均不能获得扩增产物，因此可以在属水平鉴定拟分枝杆菌属。

第七方面，本技术还提供一种拟分枝杆菌属细菌的特异性分子标记，其为以拟分枝杆菌属细菌的基因组DNA为模板，由SEQ ID NO.1-2所示引物扩增得到的DNA片段。

第八方面，本技术提供用于检测拟分枝杆菌属细菌的特异性引物，包括SEQ ID NO.1-2所示的引物。

SEQ ID NO.1 Mybariod-1 5'-CGCCCTTGGCTTTCCAGTTGT TGTA<sub>3</sub>C-3'

SEQ ID NO.2 Mybariod-2 5'-GGAGCTACTACCGTGGTC<sub>3</sub>-3'

本技术以拟分枝杆菌种水平特异的GT4-2基因为检测靶标，针对拟分枝杆菌属6个种（由于M. stephanolepidis有一个公布基因组，M. fukienense无基因组序列，因此未针对这两个种设计引物）的GT4-2基因序列设计了6对特异性扩增引物（SEQ ID NO.3-14，这6对特异性引物在拟分枝杆菌属中仅在其相应的种的菌株中可获得扩增产物，在其他种及非拟分枝杆菌中均无法获得扩增产物，可用于在种水平鉴定拟分枝杆菌。

第九方面，本技术提供用于检测脓肿拟分枝杆菌（M. abscessus）、龟拟分枝杆菌（M. chelonae）、富兰克林拟分枝杆菌（M. franklinii）、免疫反应拟分枝杆菌（M. immunogenum）、嗜鲑鱼拟分枝杆菌（M. salmoniphilum）或圣保罗拟分枝杆菌（M. saopaulense）的特异性引物，其包括SEQ ID NO.3-14所示的引物中的一对或多对。

SEQ ID NO.3 abscessus-1 5'-CCGAGAGACCAGCCGACGCGA AC<sub>3</sub>C-3'

SEQ ID NO.4 abscessus-2 5'-ATGATCCGGGCGACATTCGTAG<sub>3</sub>C-3'



SEQ ID NO.5 chelonae-L 5'-TCGAGGGGCATCGGTCAACTGA ;T-3'

SEQ ID NO.6 chelonae-U 5'-CATGATGGTGTCCGACGGRTAC A;T-3'

SEQ ID NO.7 immunogenum-L 5'-GCGATGTACCCGTCGGCAA CGA;T-3'

SEQ ID NO.8 immunogenum-U 5'-GGCCAACACCTTCGACAG TAGAAGTG;T-3'

SEQ ID NO.9 franklinii-L 5'-TGCTGCGTATCGGGGGTCTG;T-3'

SEQ ID NO.10 franklinii-U 5'-AGCACGGAGCCGATGTACT;T-3'

SEQ ID NO.11 salmoniphilum-L 5'-GTAGCCCGTGA ACTTCCG ATTCGAT;T-3'

SEQ ID NO.12 salmoniphilum-U 5'-CCACACTGGCATTCTKG TCCGCA;T-3'

SEQ ID NO.13 saopaulense-L 5'-GATATGCCACGACACCT CG;T-3'

SEQ ID NO.14 saopaulense-U 5'-ATCCGTGACTCGGGATGG AT;T-3'

其中，SEQ ID NO.3-4用于检测脓肿拟分枝杆菌 (*M. abscessus*)，SEQ ID NO.5-6用于检测龟拟分枝杆菌 (*M. chelonae*)，SEQ ID NO.7-8用于检测免疫反应拟分枝杆菌 (*M.immunogenum*)，SEQ ID NO.9-10用于检测富兰克林拟分枝杆菌 (*M. franklinii*)，SEQ ID NO.11-12用于检测嗜鲑鱼拟分枝杆菌 (*M. salmoniphilum*)，SEQ ID NO.13-14用于检测圣保罗拟分枝杆菌 (*M. saopaulense*)。

第十方面，本技术提供检测拟分枝杆菌属或属内种的方法，其为以待测样品的基因组DNA为模板，采用选自SEQ ID NO.1-2和SEQ ID NO.3-14所示引物中的一对或多对进行PCR扩增，根据PCR扩增产物的条带类型判断待测样品是否含有拟分枝杆菌属细菌。

具体地，以上所述的方法中，根据PCR扩增产物的特异性条带有无判定结果，有条带为扩增阳性，无条带为扩增阴性。

本技术的有益效果在于：

磷酸异构酶 $pgi$ 基因到乙酰辅酶A乙酰转移酶 $ACAT$ 基因的基因组区段内存在10个保守的基因排列区，其中，2个基因排列区及16个基因具有拟分枝杆菌属特异性，在其他分枝杆菌中无同源序列，可作为拟分枝杆菌鉴定的特异性标记； $GT4-2$ 基因还可用于进行拟分枝杆菌种水平的鉴定。

本技术基于基因排列区建立的拟分枝杆菌鉴定方法涉及两个以上基因的位置关系，与基于单个基因的鉴定相比具有明显优势：单个基因尤其是保守基因可存在于基因组的不同位置上，利用单基因引物进行鉴定时，可以反映基因在菌株间的携带情况及保守性，但无法反映其在基因组上的位置信息；而利用基因排列区，将鉴定引物分别设计在该基因及其周边基因/基因间区上，可以同时反映其所处的基因组位置，即利用序列同源性的同时，也利用了基因的排布结构，较仅使用单个基因具有更高的特异性。

本技术还建立了利用 $PCR$ 扩增进行拟分枝杆菌鉴定的非测序型方法，可直接根据 $PCR$ 扩增结果进行判断而无需测序，更适用于临床的特异性快速检测。基于本技术的拟分枝杆菌特异的基因或基因排列区的检测试剂可广泛应用于拟分枝杆菌的临床检测和鉴定以及结核病的辅助诊断和流行病学监测等相关领域，为拟分枝杆菌属水平和种水平的鉴定以及结核分枝杆菌的鉴定提供了新的特异性分子标记和鉴定方法。

## 附图说明

图1为本技术技术内容部分拟分枝杆菌属 (*Mycobacteroides*) 在葡萄糖-6磷酸异构酶基因 $pgi$ 至乙酰辅酶A乙酰转移酶基因 $ACAT$ 的基因组区段内的10个属内保守基因排列区及属特异性基因的示意图，其中，倒三角是可变基因插入区。

## 具体实施方式

以下实施例用于说明本技术，但不用来限制本技术的范围。

实施例1 葡萄糖-6磷酸异构酶基因 $pgi$ 至乙酰辅酶A乙酰转移酶基因 $ACAT$ 的基因组区段的序列分析

葡萄糖-6磷酸异构酶基因 $pgi$ 至乙酰辅酶A乙酰转移酶基因 $ACAT$ 的基因组区段的10个基因排列区和16个基因在拟分枝杆菌和非拟分枝杆菌中的序列分析和比对结果如表1所示。

至ACAT区间各基因在分枝杆菌基因组上同源序列的分析比对结果

序号	基因名	同源序列数量(个)					MTBC		其他 NTM
		拟分枝杆菌					TB	其他 MTBC	
		M. abscessus	M. chelonae	M. franklinii	M. immunogenesum	其他			
1	ppp	1385	44	12	17	15	有	有	有
2	XRE	1378	43	12	17	15	无	无	无
3	aldolase	1379	43	12	17	15	无	无	有
4	dapA	1380	43	12	17	15	无	无	有
5	CobW	1379	43	12	17	17	无	无	有
6	zf-CGNR	1379	43	12	17	17	无	无	有
7	cydA	1378	79	24	32	11	有	有	有
8	pdxH	1380	43	12	17	15	无	无	无
9	ppk2	2383	79	24	32	11	无	无	有
10	SDR	1377	43	12	17	15	有	有	有
11	fbg	1377	43	12	17	15	有	有	有
12	cobF	1377	43	12	17	15	无	无	有
13	tetR-654	1378	43	12	17	15	无	无	无
14	ustH	1378	43	12	17	15	有	有	有
15	hypothetic-246	1377	45	26		15	无	无	无
16	hypothetic-411	1378	48	24	17	18	无	无	有
17	hypothetic-129	1377	37	12	17	15	无	无	无
18	MsrR	1377	43	12	17	15	无	无	有
19	cyu5	1377	43	12	17	15	无	无	有
20	imm63	1380	44	12	17	15	无	无	无
21	DUF1942	1503	43	12	18	15	无	无	有
22	hypothetic-900	1381	43	12	17	15	无	无	无
23	tetR-603	1379	43	12	17	15	无	无	无
24	DUF2236	1382	43	12	17	15	无	无	有
25	sugtrans	1378	42	12	17	15	无	无	有
26	GT4-1	1381	42	12	17	15	无	无	无
27	GT4-2	1814	42	12	17	15	无	无	无
28	RfbX	1377	42	12	20	15	无	无	无
29	GT1-1	1379	42	12	17	15	无	无	无
30	YdcF	1379	42	12	17	15	无	无	无
31	GT1-2	1378	42	12	17	15	无	无	无
32	hypothetic-2388	1384	46	12	17	15	无	无	无
33	ABC permease	2848	135	212	37	34	无	有	有
34	ABC permease	1377	43	12	17	15	无	无	有
35	MCE1	1377	43	12	17	15	无	无	有
36	MCE2	1380	46	12	20	15	无	无	有
37	MCE3	1377	43	12	17	15	无	无	有
38	MCE4	1377	43	12	17	15	有	有	有
39	MCE5	1377	43	12	17	15	无	无	有
40	MCE6	1377	43	12	17	15	无	无	有
41	hypothetic-690	1377	43	12	17	15	无	无	有
42	DUF3298	1377	43	12	17	15	无	无	有
43	ACAD	1377	43	12	17	15	无	无	无
分析基因数量		1377	43	12	17	15	5246	115	775

实施例2 基于特异性基因排列区的拟分枝杆菌属的PCR快速鉴定方法

根据PCR引物/探针设计要求，以拟分枝杆菌属特异性基因排列区9，即ABC转运透性酶基因-ABC转运透性酶基因-哺乳动物细胞侵入蛋白基因MCE1-MCE2-MCE3-MCE4-MCE5-MCE6假想蛋白基因hypothetic690- DUF3298结构域蛋白基因DUF3298(MCE-hypothetic-DUF3298)为靶标，设计拟分枝杆菌属特异性扩增引物，扩增引物的具体序列如下：

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/218030055074006123>