

摘 要

本項研究擬由提供快速靈敏鑑別檢測的目標基因群陣列套組，建置實測準定量型基因陣列技術平台。類症病原群(symptom-related pathogen, SRP)鑑別檢測目標屬類繁雜，期望提供有效解決問題技術平台，避免傳統逐項檢測的過耗資源時間。預後型腫瘤標記基因群(tumor-related marker genes)的胃癌案例，將可實用準定量型同步鑑別檢測於治療預後判讀與療復物質篩選。

本項研究涵蓋三部分，1.單程序反應型即時反錄聚合酶鏈反應擴增(one-step Real Time RT-PCR)，使用生物素標識建置寡核苷酸捕捉檢體目標基因 mRNA，單程序進行單股反義互補核酸模板的反錄合成與聚合擴增，使用自行設計最小引子群進行標準化雙階段多重擴增反應獲得重複擴增產物，即時擴增螢光訊號數據使用差異總和相關循環周數(variation-area-cycle number, Van)演算法，建立簡單專家系統歸納分析個別腫瘤標誌基因表現趨勢的預後評估；2.雙方向轉錄型反意正意核糖核酸擴增，單股存檔反意互補核酸模板連接環頭莖柄連接子，延伸聚合雙股模板進行雙向轉錄標識呈訊物核糖核酸擴增，3.探針陣列雜合檢測進行可見光或螢光訊號分析。

本項研究利用植物病毒 PVA、ZaMV 與胃癌腫瘤標記基因群驗證技術平台，使用相關固相引子完成擴增與保存。單程序反錄聚合酶鏈反應擴增標定產物，進行陣列雜合完成鑑別檢測任務。本論文研究分別評估兩種固相支撐物的磁珠與生物素(biotin)。實驗發現磁珠方式擴增反應可行，寡核苷酸鍵結包覆層則因劇烈溫度變化脫離磁珠；生物素方式於反應試管較能均勻散佈穩定反應。故選定生物素為固相支撐物標定引子，並以 streptavidin 鍵結磁珠進行固相存檔。

本項研究證實檢測套組藉由固相引子設計有效反錄 RNA 成為存檔模板 cDNA，即可進行即時反錄擴增、雙向轉錄擴增以及陣列雜合檢測，搭配最小群引子設計，有效鑑別類症病原群案例。