

“十一五”国家重点图书

组 编 中国医师协会
检验医师分会
总主编 丛玉隆

 检验与临床诊断丛书

检验与临床诊断 分子诊断学分册

主 编 / 吕建新 王培昌



人民军医出版社

PEOPLE'S MILITARY MEDICAL PRESS

“十一五”国家重点图书出版规划项目

► 检验与临床诊断丛书 ►

检验与临床诊断

——分子诊断学分册

JIANYAN YU LINCHUANG ZHENDUAN

——FENZI ZHENDUANXUE FENCE



人民军医出版社

PEOPLE'S MILITARY MEDICAL PRESS

北 京

图书在版编目(CIP)数据

检验与临床诊断——分子诊断学分册/吕建新, 王培昌主编.
—北京: 人民军医出版社, 2010.5
ISBN 978-7-5091-3780-2

I. ①检… II. ①昌…②王… III. ①临床医学—实验室诊断
②分子生物学—实验室诊断 IV. ①R446.1

中国版本图书馆CIP数据核字(2010)第081425号

策划编辑: 侯平燕 秦逸飞 **文字编辑:** 邢学忠 **责任审读:** 黄栩兵

出版人: 齐学进

出版发行: 人民军医出版社

经销: 新华书店

通信地址: 北京市100036信箱188分箱

邮编: 100036

质量反馈电话: (010)51927290, (010)51927283

邮购电话: (010)51927252

策划编辑电话: (010)51927286

网址: www.pmmp.com.cn

印刷: 潮河印业有限公司

装订: 恒兴印装有限公司

开本: 889mm×1194mm 1/32

印张: 10.25 **字数:** 224千字

版、印次: 2010年 5月 第1版 第1次印刷

印数: 0001~3000

定价: 60.00元

版权所有 侵权必究

购买本社图书, 凡有缺、倒、脱页者, 本社负责调换



总主编简介

丛玉隆，男，1947年生于北京，籍贯山东。1982年毕业于山东医科大学医疗系血液病专业，并获硕士学位。现任解放军总医院临床检验科主任、主任医师、教授、博士研究生导师；前任中华医学会检验分会主任委员、《中华检验医学杂志》主编、中国国家实验室认可委员会技术委员会医学分委员会主任委员、中国医师协会

检验医师分会主任委员、全国医学实验室及体外诊断系统标准化委员会主任委员、中国国家实验室认可委员会技术委员会副主任委员、解放军医学检验学会主任委员、北京医学会检验分会主任委员等职。

主要从事实验诊断学、实验血液学及血液病实验诊断方面的医疗、教学和研究工作，至今在各种检验专业杂志发表论文百余篇（第一作者），主编专著20部，参编8部。

在学科的标准化、规范化、信息化、网络化管理方面开展了许多开创性工作，他领导的解放军总医院检验科在2005年首家（大陆）通过医学实验室国际质量ISO15189认可。主编的管理类专著《现代医学实验室管理与实践》由人民军医出版社出版后很快被台湾省引进版权，作为大陆和台湾省等华人地区检验学科质量管理的范本加以推广。在国内首创与国际互联网连通，使实验室结果随时进入WHO参考实验室。

先后获全军医疗成果二等奖和军队科技进步二等奖等奖项近10项。1997年获总后系统优秀教师奖。1999年获中国国际交流基金会颁发的“林宗杨医学教育奖”。荣立三等功2次。

主编简介



吕建新，医学博士，教授，博士生导师，享受国务院政府特殊津贴。现任温州医学院副校长，检验医学院院长，临床检验诊断学浙江省重中之重学科负责人，检验医学省部共建教育部重点实验室主任。主要学术兼职有：教育部医学技术类专业教学指导委员会委员，全国高等医学教育专业委员会医学检验教育研究会秘书长，中国医师协会检验医师分会委员，中国细胞生物学会理事、医学细胞生物学分会副会长、中华医学会医学细胞生物学分会委员，中国医药生物技术协会纳米生物技术分会常务理事，浙江省生物化学与分子生物学会副理事长等，《中华检验医学杂志》、《中国细胞生物学报》等杂志的编委、常务编委。主要从事疾病的分子诊断学、检验诊断新技术研发，靶向功能分子的构建与表达与分子改构的研究。主持国家传染病科技重大专项课题、国家“863”计划项目、国家自然科学基金项目等20余项科研课题。获得浙江省科学技术奖一等奖等奖项9项。主编《分子诊断学》等教材和专著10余部。发表学术论文150余篇，其中SCI收录30余篇。



王培昌，理学博士，临床医学博士后，现任首都医科大学宣武医院检验科主任，主任技师，教授，博士研究生导师，兼任中华医学会检验分会委员，中华医学会检验分会生化组副组长，中华医学会北京分会检验专业委员会委员兼秘书，中国医师协会检验医师分会委员，教育部学位评审委员会评审专家，北京市科学技术奖励评审专家，北京市卫生“十百千”人才-百层次人才，《山东医药》等多个杂志编委。主要从事衰老分子机理、衰老生物学标志物筛选、检验方法学及标准化研究。近年来，共主持国家自然科学基金、北京市自然科学基金、北京市重大科技规划等8项基金资助课题的研究。在延缓复制性衰老抗氧化剂筛选及其分子机制、复制性衰老标志物筛选等方面进行了深入研究，发表SCI论文6篇、核心期刊论文40篇，获北京市科技进步一等奖1项。主编《分子诊断学》《新编临床生物化学实验诊断》，联合主译《分析前因素对临床检验结果影响》。

内容提要

编者分三篇12章从基因与基因组学、蛋白质与蛋白质组学、代谢物与代谢物组学的角度，着重介绍分子诊断学及其临床应用与评价；重点介绍PCR技术、杂交技术、生物芯片技术、色谱技术、生物质谱技术、光谱技术等分子诊断学基本技术，以及分子诊断学质量控制与标准化。本书图文并茂，深入浅出，适合各级医院检验科、临床医学实验室专业技术人员及临床医师阅读参考。

分子诊断学分册

编 著 者 名 单

总主编 丛玉隆

主 编 吕建新 王培昌

副主编 王 琪 郑晓群 刘辰庚

编 委 (以姓氏笔画为序)

王 琪 王培昌 叶 薇 吕建新

刘辰庚 许 芳 李 祥 吴文鹤

张 杰 张蕴秀 陈 勇 季敬璋

郑晓群 孟 爽 胡 昕 邴卫星

检验与临床诊断丛书编委会

总主编 丛玉隆

各分册及第一主编

1. 质量管理与常规检验分册 (丛玉隆 解放军总医院)
2. 血液病分册 (王建中 北京大学第一医院)
3. 围手术期分册 (张远春 卫生部中日友好医院)
4. 骨质疏松与骨关节病分册 (王学谦 天津总医院)
5. 肿瘤分册 (齐 军 中国医学科学院肿瘤医院)
6. 肝病分册 (毛远丽 解放军302医院)
7. 内分泌和代谢病分册 (郭 健 卫生部北京医院)
8. 心脑血管病分册 (鄢盛凯 卫生部中日友好医院)
9. 妇产科分册 (吕时铭 浙江大学医学院妇产科医院)
10. 男科疾病分册 (黄宇烽 南京军区南京总医院)
11. 免疫性疾病分册 (胡成进 济南军区总医院)
12. 急诊医学分册 (崔炯维 沈阳解放军202医院)
13. 肾病分册 (王传新 山东大学附属齐鲁医院)
14. 寄生虫学分册 (张进顺 河北北方学院)
15. 细菌学与细菌耐药分册 (徐英春 北京协和医院)
16. 病毒学分册 (张 正 北京大学人民医院)
17. 儿科学分册 (张美和 北京儿童医院)
18. 骨髓检验分册 (卢兴国 浙江大学医学院附属二院)
19. 器官移植学分册 (石炳毅 解放军总医院第二附属医院)

- | | |
|---------------|-------------------|
| 20.输血分册 | (胡丽华 同济大学医学院协和医院) |
| 21.POCT分册 | (梁国威 航天部中心医院) |
| 22.分子诊断学分册 | (吕建新 温州医学院) |
| 23.全科医师分册 | (张时民 北京协和医院) |
| 24.血栓疾病分册 | (李 健 解放军总医院) |
| 25.遗传及产前诊断分册 | (张立文 解放军总医院) |
| 26.消化病学分册 | (王昌富 湖北荆州市中心医院) |
| 27.呼吸病学分册 | (于 咏 解放军总医院第二医院) |
| 28.老年病学分册 | (范 利 解放军总医院) |
| 29.脱落细胞学分册 | (续 薇 白求恩医科大学附属一院) |
| 30.个体化治疗与检验分册 | (丛玉隆 解放军总医院) |

总 序

进入21世纪，检验医学飞速发展，检测技术日新月异。新技术、新方法、新思维、新理念必须得到临床应用才能使检验医学不断发展，临床医师只有将诊疗实践与检验医学相结合才能提高学术水平。因此，加强临床实验室与不同临床科室交流，促进检验科与临床科室工作的结合，是提高医疗质量的重要环节，也是促进学科发展的“双赢”之举。

然而，目前介绍“检验”与“临床”两个学科交叉知识的书籍尚少，为使临床医师更多地了解检验医学的内涵，合理地选择检验项目，正确地分析数据，准确地使用检验报告，也为了使检验科的技术人员有较扎实的临床知识，更好地了解病理状态对检验结果的影响，做好分析前的质量控制工作，了解疾病与检验结果的关系，做好分析后的报告确认，并能为临床提出进一步的咨询建议，成为检验科医师和临床医师共同期盼的事情。有鉴于此，中国医师协会检验医师分会汇集各大医院检验科和临床各科专家的经验 and 体会，结合国内外有关文献资料编写了这套《检验与临床诊断》丛书。

本书的编写突出“全面、创新、实用”的特点，力求贯穿理论联系实际，坚持临床诊治与实验技术相结合，国外新技术发展动态与国内具体实际相结合的宗旨，使广大临床医师、护理人员、医科大学医疗系和检验系的师生，以及从事医学检验工作的技术人员、检验医师，可从不同病种、不同层次、不同角度学习到相关的知识和信息。

本丛书各分册主编均为相应领域的国内知名专家，作者阵容强大，医院层次高，写作角度独特，涵盖热门学科。本丛书的宗旨是“以检验为主线，以临床为目标，以疾病为中心”，读者定位是检验科医师、临床医师和患者。丛书的作者来自全国各地，有其各自的专长和体会，为保持各自的特点和风格，可能在每本书的体例上有所差异。尽管我们在编写中尽了最大的努力，但书中难免有不足之处，敬请同道们批评指正。

总主编 丛玉隆

解放军总医院检验科

前言

自1953年Watson和Crick提出DNA的双螺旋结构模型，到2001年2月科学家宣布完成人类基因组的全部序列图，生命科学领域取得了惊人的发展和进步。DNA重组技术、转基因技术、分子杂交技术、生物芯片技术、聚合酶链反应技术（polymorase chain reaction,PCR），以及色谱和生物质谱等技术的快速发展，支撑了21世纪生物医学的组学时代，基因组学、转录组学、蛋白组学、代谢物组学等基础研究的方法和成果正在迅速地交叉，并应用到医学领域，在疾病机制、预测、预防、诊断、治疗等方面均产生了深刻的影响，21世纪的医学步入了分子医学时代。

分子诊断学（molecular diagnostics）是以分子生物学理论为基础，以生物分子为靶标，利用分子生物学技术和方法，研究人体内源性或外源性生物分子和生物分子体系的存在、结构或表达调控变化的学科。分子诊断学不仅能实现早期诊断，还能确定个体的易感性，评估患病风险，以及对疾病的分期、分型、疗效和预后作出判断。分子诊断学已成为分子医学的重要组成部分，在遗传性疾病、感染性疾病的诊断，以及肿瘤诊断方面具有独特的优势和价值。基于分子诊断学早期和快速诊断，高特异性和高灵敏度等特点，它已成为临床检验诊断学的发展方向。

随着生物技术和日趋成熟，以及分析仪器和设备的自动化，分子诊断方法正朝着核酸定量检测和更特异、更自动化的方向发展，并在临床诊断中得到更广泛的应用。目前，分子诊断学主要应用于：①感染性疾病的诊断：病原微生物的基因检测在我国开展

得较为普遍，一些大、中型医院已能通过定性或定量检测致病微生物的核酸，从而快速、早期诊断发病率较高的病毒性肝炎、性传播性疾病和结核病等。②单基因病和多基因病的分子诊断：发达国家基因诊断已十分系统和普遍地用于单基因病的诊断和遗传咨询，如发病率较高的血红蛋白病、迪谢内肌营养不良、甲型血友病、囊性纤维化病及脆性X综合征等。在我国，一些实验室已对迪谢内肌营养不良、甲型血友病和地中海贫血（珠蛋白生成障碍性贫血）等建立了完善的分子诊断体系，在诊断疾病、判断携带者和产前基因诊断方面收到显著的社会效益。此外，对一些发病率相对较高的常染色体连锁遗传病，其致病基因的检查在很大程度上有助于明确诊断；对于一些遗传异质性较高的疾病，如遗传性共济失调、肢带型肌营养不良、糖原积蓄症等，致病基因分子诊断分类可提供遗传学基础和依据；多基因病大多为常见病，其发病都以一定的环境条件为诱因，遗传因素在其中所起的作用程度各异，并且存在若干易感基因微小作用的累加。因此，对于多基因病的诊断，目前仍主要依靠表型诊断，但易感基因多态性的检测将有助于理解多基因病的发生机制。③肿瘤的分子诊断：肿瘤的发生是一多因素、多步骤的过程。与单基因遗传病不同的是，一些肿瘤相关基因的突变只是增加了对肿瘤的易感性。因此，对肿瘤的诊断主要依靠病史、体征、影像学及病理学检查，实验室检查作为辅助诊断；肿瘤的分子诊断则是伴随细胞分子生物学理论和技术迅速发展而产生的一种新型诊断技术，尤其是DNA芯片技术、DNA生物传感技术的研究。可以预见，随着对肿瘤的发生、发展及转移机制更加深入的了解，人类将最终认识肿瘤的本质并彻底攻克肿瘤。另外，肿瘤分子诊断还可预测人群或个体发生肿瘤的风险（肿瘤易感性）、病因、恶性特征、对特定治疗手段的反应（疗效预测）及转移、复发等。

20世纪70年代末,美国科学院院士、美籍华裔科学家Kan等应用液相DNA分子杂交成功地进行了镰刀形红细胞贫血症的基因诊断,标志着实验室诊断进入基因诊断时代。由于基因诊断是从疾病基因或与致病相关的基因及其表达产物的水平上进行检测的,因此实现了疾病的早期诊断,且由于基因诊断方法是以现代分子生物学技术为基础,有机整合了细胞学、遗传学、免疫学等技术,使基因诊断更具先进性、精确性和高效性,因此大大提高了诊断的特异性和灵敏度。

随着基因诊断技术的不断改进和日臻完善和成熟,其涉及领域和应用范围不断扩大,特别是20世纪80年代中期PCR技术的问世及90年代初人类基因组计划的启动,进一步推动了基因诊断技术的发展。

1999年11月,美国研究病理学会和分子病理学协会创刊出版了《The Journal of Molecular Diagnostics》杂志,标志着基因诊断技术已经发展成为一个成熟的学科,即分子诊断学。

回顾分子诊断学20余年的发展历史,大致经历了3个阶段:①利用DNA分子杂交技术进行遗传病的基因诊断;②以PCR技术为基础的DNA诊断,特别是定量PCR和实时PCR的应用,不仅可以检测宿主中多种DNA和RNA病原体的载量,还可检测细胞中某个基因mRNA的表达量;③以生物芯片(biochip)技术为代表的高通量密集型检测技术,生物芯片技术包括基因芯片、蛋白质芯片、组织芯片等,由于其工作原理和结果处理过程突破了传统的检测方法,不仅具有样品处理能力强、自动化程度高、应用范围广等特点,还具有广阔的应用前景和商业价值,由此成为分子诊断技术领域的一大热点。

分子诊断学的发展历史已揭示了其发展方向:①分子诊断的

内容从传统的DNA诊断发展到核酸及其表达产物（mRNA、蛋白质）的全面诊断；②分子诊断的策略从利用分子杂交、PCR等单一技术的诊断发展到有机组合多项技术的联合诊断；③分子诊断的方法从定性诊断发展到半定量和定量诊断，核酸标记技术，特别是荧光标记技术的发展，荧光定量PCR技术等方法日益成熟；④分子诊断的范围从单基因疾病（孟德尔遗传性疾病，如白化病、早老症、血红蛋白病、甲型血友病、囊性纤维化病、脆性X综合征等）和获得性基因病（感染性病原体，如乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒、人类免疫缺陷病毒、人乳头瘤病毒等）的诊断发展到多基因病（肿瘤、心脑血管疾病、代谢病、神经系统疾病、自身免疫性疾病等）的诊断；⑤分子诊断的应用从治疗性诊断发展到预防性分析评价，特别是针对高危人群进行疾病基因或疾病相关基因的筛查。

虽然分子诊断已越来越广泛地渗透至临床医学，成为实验诊断领域中一个不可替代的重要部分，但其在发展过程中也必须考虑以下几个问题。

首先是制订分子诊断的标准化流程和监管体系。美国《分子诊断学》杂志于2001年发表了一篇题为《The FDA is coming!The FDA is coming!》的文章，传递了美国食品与药品管理局（food and drug admistration, FDA）将要干预疾病基因分子诊断的信息。FDA将着重评估实验室自行设计的方法和实验室资质等。FDA将对方法原理、实验步骤、使用指征、报告格式、结果、标本、临床有效性等因素进行论证，并在全美建立一个完善的遗传学检验的质量控制体系，规定报告模式和反馈给被检者的信息范围。专家强调，实施这一计划的目的是为了安全、有效和合法地进行分子诊断。

我国很多实验室建立了各自的分子诊断方法，有的已应用于临

床，但往往方法不够成熟、不够稳定，且缺乏方法学的比较研究，导致检验结果难以为临床提供准确的信息。近年来有关部门已开始对感染性疾病中病原微生物的核酸检测进行了管理，但尚未涉及致病基因检测领域。因此，建立分子诊断方法的金标准和标准操作程序（standard operation procedure, SOP），并尽早制订一个符合中国国情的分子诊断监管体系，将有利于疾病分子诊断的发展。

其次是将要检测的基因已被保护。人类基因组研究实际上不是一个纯科学研究，其中蕴藏着巨大的商机，许多遗传信息被专利后而公布，这对基因诊断设置了巨大的障碍。即使使用已公开发表的遗传信息并对该基因建立检测方法，人们也将面临着被禁止进行或不得不支付专利税的尴尬局面。有识之士呼吁，我们不应在这一现实面前成为被动的顺从者，而应与企业积极合作，在标本、对照、试剂规格、价格、所需实验设备等方面向企业提供信息，以共同开发和共同得益。

总之，分子诊断学将成为21世纪检验医学的主题，分子诊断技术将朝着高效、准确、灵敏和无创的方向发展。21世纪是以生物技术为突出代表的生命科学的世纪，分子诊断学的技术优势和巨大潜力，随着人类基因组计划的完成和蛋白质组计划的启动，将极大地推动现代检验医学的发展，并在更深层次上揭示疾病的本质，指导临床的诊断和治疗。

编 者

目 录

第一篇 分子诊断学及其临床评价

第1章 核酸的分子诊断学	1
第一节 核酸分子	1
一、DNA与RNA	1
二、基因与基因组	5
第二节 以核酸分子为靶标的分子诊断策略	7
一、针对疾病类型和病因采用相应的诊断策略和方法	7
二、根据基因检测目的开展分子诊断	8
三、环境基因组研究成果对分子诊断的重要性	11
四、分子诊断在克服耐药性方面的作用	12
五、分子诊断在疾病预测、预防和个体化治疗中的作用	12
第三节 基因组DNA的分子诊断及其临床评价	14
一、病毒感染性疾病	14
二、细菌感染性疾病	21
三、衣原体感染性疾病	23
四、人类基因组	24
第四节 线粒体DNA的分子诊断及其临床评价	30
一、线粒体DNA	30
二、线粒体DNA突变与疾病	30
第五节 RNA的分子诊断和临床评价	39
一、16S rRNA	39
二、小分子RNA	40