

“十五”规划教材

全国高等医药教材建设研究会规划教材

口腔医学院 研究生规划教材

供口腔医学类专业用



口腔分子生物学 与口腔实验动物模型

● 主 编 王松灵

● 副主编 边 专

 人民卫生出版社

卫生部“十一五”规划教材

全国高等医药教材建设

全国高等学校研究生规划教材

供口腔医学类专业用

口腔分子生物学 与口腔实验动物模型

主 编 王松灵

副主编 边 专

编 者 (以姓氏笔画为序)

王佐林 (同济大学)

肖 晶 (大连医科大学)

金 岩 (第四军医大学)

王松灵 (首都医科大学)

陈万涛 (上海交通大学)

胡 雁 (中山大学)

边 专 (武汉大学)

陈谦明 (四川大学)

胡 静 (四川大学)

孙宏晨 (吉林大学)

范志朋 (首都医科大学)

樊明文 (武汉大学)

李铁军 (北京大学)

特邀撰写专家 (按姓氏笔画排序)

李载权 (北京大学)

石 翥 (汤姆森科技信息集团)

张震康 (北京大学)

贺俊崎 (首都医科大学)

主编助理 祁森荣 (首都医科大学)



人民卫生出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

口腔分子生物学与口腔实验动物模型 / 王松灵主编.
—北京: 人民卫生出版社, 2011. 9
ISBN 978-7-117-14204-5

I. ①口… II. ①王… III. ①口腔科学—分子生物学—研究生—教材②口腔科学—实验动物—研究生—教材 IV. ①R780.3

中国版本图书馆CIP数据核字 (2011) 第124554号

门户网: www.pmph.com 出版物查询、网上书店
卫人网: www.ipmph.com 护士、医师、药师、中医师、卫生资格考试培训

版权所有, 侵权必究!

本书本印次封底贴有防伪标。请注意识别。


口腔分子生物学与口腔实验动物模型

主 编: 王松灵
出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010-59780011)
地 址: 北京市朝阳区潘家园南里19号
邮 编: 100021
E-mail: pmph@pmph.com
购书热线: 010-67605754 010-65264830
010-59787586 010-59787592
印 刷: 北京中新伟业印刷有限公司
经 销: 新华书店
开 本: 787×1092 1/16 印张: 35 插页: 8
字 数: 896千字
版 次: 2011年9月第1版 2011年9月第1版第1次印刷
标准书号: ISBN 978-7-117-14204-5/R·14205
定 价: 64.00元
打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: WQ@pmph.com
(凡属印装质量问题请与本社销售中心联系退换)

为培养高素质、高水平、高创新能力的口腔医学人才，推动我国口腔医学研究生教育的规范、全面、创新性发展，在全国高等医药教材建设研究会口腔教材评审委员会和教育部口腔医学教育教学指导委员会的主动建议、积极支持和大力推动下，卫生部教材办公室自2006年起，就口腔医学研究生教材的学科定位、学制标准、培养目标、课程设置、学时安排、教材品种等事宜，广泛征求各高校研究生院（处）、口腔研究生导师、研究生的意见和建议，并向全国25个省市40多所具有招收口腔研究生硕士、博士资格的院系和具有招收七年制、八年制口腔医学长学制资格的院校发函调研，在认真、全面调研和充分论证的基础上，规划并组织编写了这套全国高等学校口腔医学研究生规划教材。

本套教材在内容上，突破了传统应试教育教材系统、全面的特点，紧紧围绕研究生的培养目标，根据学生的研究方向来撰写，以“引导口腔研究生了解过去，熟悉现在，探索未来”为宗旨，编写中要求对口腔研究生科研能力（科研思维、科研方法）和临床能力（临床思维、临床技能）的培养起到导航的作用，着眼学生进一步获取知识、挖掘知识、提出问题、分析问题、解决问题能力的培养，正确地引导研究生形成严谨的科研思维方式，培养严肃认真的科学态度。

全套教材包括了2个系列：口腔基础课系列4种，口腔临床课系列11种。口腔基础课系列主要围绕研究生科研过程中需要的知识，及从最初的科研设计到论文发表的各个环节可能遇到的问题展开，不仅是本领域研究现状和最新进展的全面总结，内容与国际接轨，体现国内外前沿学术思想，而且提示了相关研究领域的科研方向和选题，使得广大研究生可以直接接触到本领域最新的研究方向和研究思路，了解前沿专家的科研思路，从而在巨人的肩膀上更进一步。口腔临床课系列以临床诊疗的回顾、现状、展望为线索，介绍学科重点、难点、疑点、热点内容。通过学科历史演变中对具有转折意义的诊疗理论、技术或方法探索过程的



回顾，目前诊疗中的困惑、局限与不足，以及诊疗中应注意的问题等现状的分析，以及临床研究热点、发展趋势的展望来探索新的解决问题的切入点，拓展创新思维，启迪科研灵感，激发研究兴趣，培养临床思辨能力。

本套教材主编均由目前各学科较有影响和威望的资深专家承担。教材编写经过主编人会、编写会、审稿会、定稿会等过程。参加编写的各位主编、编者对教材的编写进行了深入的研讨，使教材充分体现了目前国内口腔研究生教育的成功经验，高水平、高质量地完成了编写任务，确保了教材具有科学性、思想性、先进性、创新性的特点。

口腔医学研究生规划教材目录

口腔基础课系列

口腔分子生物学与口腔实验动物模型	主编	王松灵	副主编	边 专
口腔生物化学与技术	主编	李 伟	副主编	孙宏晨
口腔颌面发育生物学与再生医学	主编	金 岩	副主编	王松灵
口腔生物材料学	主编	孙 皎	副主编	赵信义

口腔临床课系列

龋病学	主编	周学东	副主编	梁景平
牙髓病学	主编	彭 彬	副主编	凌均棨
口腔黏膜病学	主编	周曾同		
牙周病学	主编	王勤涛	副主编	吴亚菲 章锦才
口腔修复学	主编	巢永烈	副主编	陈吉华 朱智敏
口腔正畸学	主编	林久祥	副主编	许天民 赵志河 丁 寅
口腔颌面 - 头颈肿瘤学	主编	邱蔚六	副主编	张志愿 俞光岩
口腔颌面创伤外科学	主编	李祖兵	副主编	张 益 刘彦普
正颌外科学	主编	胡 静	副主编	沈国芳
唇腭裂与面裂畸形	主编	马 莲	副主编	石 冰 王国民
口腔种植学	主编	刘宝林	副主编	林 野 李德华

全国高等学校口腔医学专业

第三届教材评审委员会

名誉主任委员 张震康

主任委员 樊明文

委 员 (以姓氏笔画为序)

王松灵 孙宏晨 张志愿 周学东


俞光岩 赵铤民 傅民魁

秘 书 边 专

在浩瀚的宇宙中，人类是渺小的，也是伟大的！

在宇宙历史长河的 156 亿年的发展变迁中，人类社会仅短短的万年光景，有太多的未知和谜团有待探索和解答；但人类在不断进取中前进，从宏观的宇宙到微观的世界均取得了长足的进步，成为主宰世界的伟大王者。人类在微观世界探讨中，在生命科学领域里，分子生物学的诞生及应用是最具代表性经典的里程碑之一。分子生物学就是从分子水平研究生命本质为目的的一门新兴学科，它以核酸和蛋白质等生物大分子的结构及其在遗传信息和细胞信息传递中的作用为研究对象，是当前生命科学中发展最快并正与其他学科广泛交叉与渗透的重要前沿领域。通过分子生物学技术人们能够“透过现象看本质”，欣赏到雾里看花背后的无限风光，并通过获得的成就来认识世界和改造世界。分子生物学诞生大大推进了生物医学的发展，1990 年开始人类基因组研究计划，1994 年提出蛋白质组学概念，并于 2002 年年底正式启动人类蛋白质组计划，近来发展到系统生物学，可以讲分子生物学已广泛应用到生物医学的各个领域，如发育生物学、基于干细胞和组织工程的再生医学、肿瘤生物学、骨生物学、炎症研究、新药研发等。本书就是主要介绍这一代表性经典学科及其在口腔医学中的应用。动物实验是医学研究的重要方法手段，尤其是基础研究成果转化应用到临床中，动物实验更是不可或缺的程序。本书也包括与口腔医学研究相关的实验动物模型。

口腔医学人才教育和培养是口腔医学事业的基石和长期可持续发展的坚强保障。口腔本专科教育为培养实用型人才打下良好基础。口腔医学中诸多的科学问题及未来的发展需要更高层次的人才教育和培养，这样研究生教育就应运而生并不断壮大。本教材包括分子生物学基本技术及在口腔医学中应用、口腔实验动物模型两篇。力求从分子生物学基础理论知识、基本技能及实验动物模型入手，结合编写者各自的研究经验和体会介绍其在口腔医学中的应用。旨在为研究生及



广大研究人员提供分子生物学及实验动物模型的基本知识技术和方法，介绍研究前沿技术，拓宽研究思路。本书的编写者来自国内口腔医学院校从事本领域工作卓有成就的学者，大多出国留学具有国际前沿视野，有自己稳定的研究方向和队伍，故有较多的研究积累及较丰富的研究经验和体会。本书还邀请了从事相关领域研究的著名专家学者北京大学张震康、李载权，汤姆森科技信息集团岳卫平，首都医科大学贺俊崎为本教材撰文，尤其是得到中华口腔医学会名誉会长张震康教授的支持和帮助。编写者积极参与，认真负责，在时间较紧的情况下高质量完成编写工作。在此对大家的辛勤工作及对本书的全力支持表示衷心的感谢！由于时间仓促，编写中难免有错误和不足，请广大研究生及其他读者多提宝贵意见，不断完善提高。

希望通过大家的共同参与和大力支持，努力使本书成为口腔科学研究的参考工具，汇集丰富生物医学知识的宝库，为培养造就口腔医学人才，引领口腔医学前沿发展方向作出贡献。

王松灵

2011年7月

专家述评 1.....	1
科学研究的创新和艺术.....	1
一、创新性科学研究的概念和内涵.....	1
二、科学研究的本质.....	4
三、怎样产生科学研究的思路和顿悟的灵感.....	5
四、应该怎样进行科学研究.....	6
五、成熟的科研人员的特征.....	6
专家述评 2.....	8
生物医学研究设计思路及基本要点.....	8
一、选题.....	8
二、设计.....	9
三、实验.....	10

第一篇 分子生物学方法及在口腔医学中的应用

第一章 分子生物学简介.....	15
第一节 分子生物学发展.....	15
一、现代分子生物学诞生.....	15
二、现代分子生物学建立.....	16
三、现代分子生物学发展.....	17
四、我国口腔分子生物学的发展.....	20
第二节 分子生物学在口腔医学领域的应用.....	21
一、基因克隆技术在口腔医学领域中的应用.....	21
二、特异的 DNA 扩增技术在口腔领域的应用.....	23
三、DNA 序列分析在口腔领域的应用.....	23
四、口腔领域的基因文库.....	24
第三节 分子生物学相关数据库及其应用.....	25
一、分子生物学相关数据库概述.....	25
二、数据库在课题中的实际应用.....	28
第四节 蛋白质组学.....	37
一、蛋白质组学研究内容.....	37
二、蛋白质组学研究方法概述.....	37
三、牙蛋白质组学研究进展.....	38
第五节 生物信息学基础知识.....	40
一、人类基因组研究计划的由来.....	40

二、基因组研究计划的缺陷与蛋白质组学研究计划的提出	42
三、基因组研究计划与蛋白质组学研究对生命科学的影响	44
第二章 重组 DNA 及相关基本技术	47
第一节 质粒重组	48
一、概述	48
二、基本实验步骤	49
第二节 重组 DNA 转化大肠杆菌	50
一、大肠杆菌感受态细胞的制备	50
二、重组 DNA 转化大肠杆菌	52
第三节 单菌落扩增与小量 DNA 制备	54
第四节 重组质粒的筛选鉴定	57
一、 α -互补鉴定重组质粒	57
二、杂交鉴定重组质粒	57
三、菌落 PCR 鉴定重组质粒	58
四、质粒 PCR 鉴定重组质粒	58
五、电泳及酶切鉴定重组质粒	58
第五节 凝胶电泳分离 DNA 片段及从凝胶中回收 DNA	59
一、凝胶电泳分离 DNA 片段	59
二、从凝胶中回收 DNA	61
第六节 大量质粒 DNA 制备	63
第三章 真核基因组 DNA 研究基本技术	67
第一节 哺乳类动物基因组 DNA 的提取	67
一、提取原则	67
二、基本技术方法	68
三、注意事项	69
第二节 基因组文库的建立与筛选	70
一、基因组文库的建立	70
二、基因组文库的筛选	71
第三节 Southern 杂交	72
一、基本技术方法	73
二、注意事项	74
第四节 DNA 双脱氧链终止法测序	74
一、基本原理	74
二、基本技术方法	75
三、注意事项	76
第四章 真核基因组 RNA 研究的基本技术	78
第一节 总 RNA 提取及 mRNA 分离	78
一、组织和细胞总 RNA 提取	79
二、RNA 的定量和完整性分析	81
三、试剂的配制	81
四、操作步骤	81

五、注意事项	82
第二节 Northern 杂交	82
一、RNA 的分离提取	83
二、RNA 甲醛变性琼脂糖凝胶电泳	83
三、RNA 的转膜	84
四、膜杂交	85
五、结果分析	85
第三节 原位杂交	86
一、样本的制备	86
二、杂交	87
三、杂交后处理	88
四、显示	88
五、原位杂交技术的对照实验	88
第四节 cDNA 库建立及基因鉴定	89
一、细胞总 RNA 的提取和 mRNA 的分离	89
二、cDNA 第一链的合成	90
三、cDNA 第二链的合成	90
四、双链 cDNA 连接到噬菌体等载体并导入宿主菌中繁殖	90
五、用于 cDNA 克隆的 λ 噬菌体载体	91
六、目的 cDNA 克隆的筛选和鉴定	91
第五章 聚合酶链式反应 (PCR) 及相关技术	93
第一节 聚合酶链式反应的基本原理	94
一、PCR 的过程	94
二、PCR 的优化	95
三、PCR 操作过程中的注意事项	95
第二节 快速扩增 cDNA 末端的 PCR 技术	96
一、3' RACE 和 5' RACE	97
二、新型 RACE	98
第三节 长距离 PCR	98
一、一般 PCR 的局限性	98
二、长距离 PCR	98
第四节 反向 PCR	100
一、简介	100
二、反向 PCR 的实验流程	100
三、反向 PCR 的不足	101
四、锅柄 PCR	101
第五节 定量 PCR	102
一、Ct 值	102
二、溶解曲线	103
三、标准曲线	103
四、荧光化学试剂	103
第六节 用 PCR 产物制备克隆	104
第七节 mRNA 差异显示 PCR	106

一、 mRNA 差异显示技术简介	106
二、 mRNA 差异显示技术流程	106
三、 DD-PCR 的优缺点	107
第六章 基因芯片	109
第一节 基因芯片的基本原理	109
第二节 各种芯片介绍及应用	109
一、 基因芯片的制备方法	110
二、 样品的准备和标记	110
三、 杂交	112
四、 基因芯片信号的检测	112
第三节 结果分析	112
第七章 蛋白质研究的基本技术	114
第一节 哺乳类动物组织蛋白的提取与纯化	114
一、 蛋白质的提取	114
二、 蛋白质的分离与纯化	115
三、 蛋白质的含量测定	116
第二节 Western 杂交	117
一、 原理	117
二、 操作流程	117
第三节 酶联免疫吸附试验	119
一、 原理	119
二、 ELISA 的类型	119
三、 ELISA 的操作要点	120
第四节 免疫组织化学	122
一、 原理	122
二、 免疫组织化学分类	122
三、 免疫组织化学技术要点	123
第五节 单克隆抗体制备技术	125
一、 单克隆抗体的概念	125
二、 杂交瘤技术	125
三、 单克隆抗体的生产	128
第六节 蛋白质双向电泳和质谱分析	129
一、 原理	129
二、 操作要点	130
第七节 蛋白质相互作用研究技术	132
第八章 基因功能与表达调控研究的基本方法	135
第一节 报告基因与基因调控元件的检测	135
一、 报告基因的概念	135
二、 报告基因在检测基因调控中的应用原理	137
第二节 PCR 为基础的基因定点诱导突变	138
一、 基本原理	139

二、方案	139
三、优缺点	140
第三节 蛋白质与核酸交互作用	141
一、DNA 酶 I 足迹法	142
二、凝胶阻滞分析	143
第四节 基因过表达的基本技术	146
一、哺乳动物细胞表达系统	146
二、转染技术与基因导入的主要方法	147
第五节 RNA 干扰技术	149
一、RNA 干扰的作用机制与应用	149
二、RNA 干扰基本实验步骤	150
第九章 口腔组织细胞的培养及分选技术	152
第一节 口腔细胞的培养	152
一、细胞培养的基本技术及应用	152
二、口腔特殊细胞的培养与鉴定	159
第二节 口腔细胞的分选鉴定技术	163
一、细胞分选方法	164
二、口腔细胞的分选与鉴定	167
第十章 牙发育及细胞分化基因调控	173
第一节 牙发育中的信号传导及分子调控	173
一、生长因子信号传导及分子调控	173
二、转录因子在牙发育过程中的作用	178
三、牙发育分子调控网络间相互作用	179
第二节 牙相关干细胞分化分子调控	180
一、牙髓干细胞分化分子调控	180
二、牙周膜干细胞分化分子调控	182
三、非牙源性细胞牙向分化的分子调控	183
四、牙囊细胞分化分子调控	184
五、颈环干细胞和 HERS 细胞分化分子调控	186
第十一章 颌骨发育及改建的分子生物学基础	189
第一节 颌骨形态确定的分子生物学基础	189
一、四肢原基的结构和三个体轴的确定	189
二、决定颌骨(软骨)形态的基因	191
第二节 颌骨改建的分子生物学基础	193
一、影响骨改建的内分泌因素	193
二、影响与调控骨改建的局部因子	194
三、骨改建的分子调控环节及信号传导通路	196
四、颌骨改建的特点	202
第三节 口腔种植学骨增量技术及分子生物学基础	203
一、口腔种植学骨增量技术	203
二、骨增量技术的分子生物学基础	208

第十二章 唾液腺发育、唾液分泌的分子调控及唾液腺基因治疗	217
第一节 唾液腺发育的分子调控	217
一、唾液腺发育的位置及细胞类型的决定.....	217
二、唾液腺形态发生中的基因调控.....	218
三、哺乳动物类唾液腺发育分子调控机制.....	219
第二节 唾液分泌机制	222
一、唾液腺重要的离子通道和转运蛋白.....	222
二、唾液腺分泌机制.....	225
三、唾液硝酸盐、亚硝酸盐功能及分泌机制.....	227
第三节 唾液腺疾病的基因诊断及治疗	231
一、唾液腺肿瘤的基因诊断.....	231
二、唾液腺基因治疗及基因疗法.....	234
第十三章 口腔癌的分子生物学	242
第一节 口腔癌的起源及分子发病机制	242
一、物理化学致癌因素.....	242
二、生物致癌因素.....	244
三、遗传易感因素.....	245
四、口腔癌变学说.....	246
五、口腔癌前病变.....	248
第二节 口腔癌前病变和口腔癌发生的遗传学	251
一、染色体异常与微卫星不稳定.....	251
二、端粒与端粒酶异常.....	254
三、癌基因与抑癌基因.....	255
四、DNA 的损伤与修复.....	259
五、癌前病变和口腔癌的基因突变.....	261
六、癌前病变和口腔癌的表现遗传学.....	263
第三节 口腔癌信号分子的异常	267
一、细胞增殖和凋亡.....	267
二、细胞分化和去分化.....	269
三、细胞生长因子.....	272
四、信号传导通路和转录因子.....	276
五、细胞周期检测点.....	279
第四节 口腔癌的浸润与转移	282
一、浸润与转移的过程及微环境.....	282
二、浸润与转移的分子机制.....	285
第五节 口腔癌的分子诊断及治疗靶点	294
一、分子诊断的意义和应用现状.....	294
二、基因表达谱.....	298
三、蛋白表达谱.....	305
四、分子诊断芯片.....	308
五、分子治疗靶点.....	310
第六节 口腔肿瘤干细胞	314

一、肿瘤干细胞学说.....	314
二、口腔肿瘤干细胞的初步分离及相关研究.....	317
三、口腔肿瘤干细胞相关的分子调控机制.....	318
四、肿瘤干细胞研究存在问题与展望.....	319
第十四章 口腔遗传病相关基因的定位、克隆与鉴定.....	321
第一节 概述.....	321
一、医学遗传学概念.....	321
二、口腔颌面部遗传病的特点.....	322
第二节 遗传病的分类.....	322
一、单基因病.....	322
二、线粒体遗传病.....	326
三、染色体病.....	327
四、多基因遗传病.....	327
第三节 单基因遗传病致病基因的确定.....	328
一、单基因遗传病的家系调查.....	328
二、致病基因定位.....	329
三、单基因遗传病分析中的几个概念.....	331
四、基因多态与突变.....	333
第四节 口腔遗传疾病与综合征.....	338
一、牙体硬组织的遗传性疾病.....	338
二、牙周组织的遗传性疾病.....	345
三、骨组织的遗传性疾病.....	347
四、先天性面裂.....	351
第二篇 口腔实验动物模型	
第十五章 口腔实验动物模型概述.....	357
第一节 实验动物和动物模型研究的现状.....	357
一、实验动物学.....	357
二、实验动物.....	357
三、动物模型.....	358
四、口腔科学动物模型.....	359
第二节 实验动物的分类和质量的控制.....	359
一、实验动物的分类.....	359
二、实验动物的环境控制.....	360
三、实验动物饲养.....	362
四、实验动物的疾病.....	363
第三节 常用实验动物和动物疾病模型分类.....	368
一、常用实验动物.....	368
二、实验动物疾病模型分类.....	372
第十六章 肿瘤动物模型.....	374
第一节 人口腔肿瘤组织裸鼠移植瘤模型.....	374

一、	肿瘤模型的建立	374
二、	肿瘤模型的生物学特点	375
三、	肿瘤组织块移植瘤模型在口腔肿瘤研究中的应用	375
第二节	肿瘤细胞系裸鼠移植瘤模型	376
一、	肿瘤模型的建立	376
二、	肿瘤模型的生物学特点	377
三、	肿瘤模型在口腔肿瘤研究中的应用	378
第三节	化学诱导鼠口腔肿瘤模型	379
一、	肿瘤模型的建立	379
二、	肿瘤模型在口腔肿瘤研究中的应用	380
第四节	口腔癌转移模型	380
一、	转移模型的建立	381
二、	转移模型在口腔鳞癌中的应用	382
三、	模型应用实例	383
第五节	口腔肿瘤转基因动物模型	384
一、	转基因动物的原理和技术方法	384
二、	转基因动物表型和基因型的鉴定	386
三、	口腔肿瘤转基因动物模型介绍	387
第十七章	口腔常见感染性疾病的动物模型	390
第一节	龋病的动物模型	390
一、	动物选择	390
二、	模型建立与损害类型	391
三、	龋齿动物模型样本制作及记录方法	392
四、	龋病模型的应用	394
第二节	根尖周病动物模型	397
一、	动物选择	397
二、	模型建立方法	398
三、	相关实验方法	398
四、	生物学特性	399
五、	根尖周病动物模型的应用	400
六、	根尖周病动物模型应用实例	401
第三节	牙周病动物模型	401
一、	动物选择	401
二、	模型建立方法	403
三、	生物学特征	405
四、	牙周病动物模型的应用	406
第四节	牙龈增生动物的模型	407
一、	动物选择	407
二、	模型建立方法及生物学特性	408
三、	牙龈增生模型的应用	409
第十八章	口腔黏膜病动物模型	411
第一节	口腔白斑动物模型	411