

基础医学辅导教材

医学分子生物学

技术与检验

主编：王维鹏 胡兴文 魏中南

武汉出版社

医学分子生物学 技术与检验

王维鹏 胡兴文 魏中南 主编

武汉出版社

(鄂)新登字 08 号

图书在版编目(CIP)数据

医学分子生物学技术与检验/王维鹏,胡兴文,魏中南主编. —
武汉:武汉出版社,2007.7

ISBN 978-7-5430-3684-0

I. 医… II. ①王…②胡…③魏… III. 医药学:分子生物
学 IV. Q7

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2007)第 072212 号

书 名:医学分子生物学技术与检验

主 编:王维鹏 胡兴文 魏中南

责任编辑:万 忠

封面设计:凌 芝

出 版:武汉出版社

武汉市汉口新华下路 103 号 邮编:430015

电话:(027)85606403 (027)85600625

<http://www.whcbs.com> E-mail: wuhanpress@126.com

印 刷:武汉市新鸿业印务有限公司 经 销:新华书店

开 本:850mm×1168mm 1/32

印 张:9.75 字 数:235 千字

版 次:2007 年 7 月第 1 版 2007 年 7 月第 1 次印刷

印 数:0001—1000 册

定 价:15.00 元

版权所有·翻印必究

如有质量问题,由承印厂负责调换。

主 编 王维鹏 胡兴文 魏中南

副主编 王 波 石祖亮 陆 丹

金正江 胡洪波 胡红兵

夏剑波 阎 炯 曾 明

编 者 (按姓氏笔画排序):

王 波 王槐堂 王维鹏

石祖亮 陆 丹 金正江

胡兴文 胡洪波 胡红兵

夏剑波 阎 炯 曾 明

聂 波 熊保华 魏中南

前 言

近年来,基础分子生物学的飞速发展使分子生物学技术在医学领域的应用突飞猛进,特别是对医学检验的发展产生了巨大的推动作用。医学领域中对疾病的筛查、诊断及治疗,不再局限于细胞学、生物学、生物化学、免疫学、微生物学或遗传学等技术,还可以应用分子生物学技术,在核酸分子水平上对受检者体内病原体,或者对某种蛋白质、糖类、激素或激素受体的基因进行分析和检测,从而达到对疾病进行早期筛查或特异性诊断,追踪疾病的发展过程,对感染的病原微生物进行鉴别、分类及筛选有效的治疗药物等目的。

为了使医务工作者对医学分子生物学技术在疾病的筛查、诊断、预防和治疗方面的重要作用的理理解更加系统、深入,本书主要介绍了医学分子生物学常用技术的类别及基本原理和操作流程,并且从感染性疾病、遗传性疾病、恶性肿瘤,以及消化系统、呼吸系统、心血管系统等主要相关疾病入手,分析各种医学分子生物学检验技术的应用。

全书共分十章。第一章概述。第二章至第五章为常用医学分子生物学检验技术的基本原理。分别介绍核酸杂交技术、核酸扩增技术、基因分析技术、基因芯片技术及目的基因的获得技术等的基本原理和操作流程。第六章至第十二章分别介绍分子生物学检验技术在感染性疾病诊断、肿瘤基因检测、人白细胞抗原检测及器官移植配型、心血管疾病、遗传疾病及产前诊断方面的应用。每个章节自成体系,便于工作人员查找和系统了解相关知识。

编写本书的宗旨是：既尽可能保证该技术的实用性，又让读者了解到该技术的前沿发展现状。

编者主要参阅了国内外专家近期出版的著作、发表的论文和取得的最新成果。在此，编者对本书所引用文献的所有作者表示感谢和敬意。

在编写过程中，本书始终得到了湖北省妇幼保健院领导和各科室工作人员的大力支持和关心，也得到了检验界同仁的指点和帮助，在此一并表示衷心的感谢。

由于编者学识水平有限，书中一定存在许多疏漏和不妥之处，敬请批评指正。

编 者

2006年10月于武汉

目 录

第一章 概 述

第一节	医学分子生物学的发展简介	1
第二节	基因诊断技术的发展简介	2
第三节	感染性疾病相关基因研究进展	5
一、	病原微生物的致病基因	5
二、	细菌性病原微生物的耐药基因	6
三、	机体易感基因	7
四、	利用抗原基因制备重组蛋白疫苗和合成基因疫苗	8
第四节	遗传性疾病的基因诊断进展	8
第五节	基因诊断所面临的问题及其发展前景	10
一、	基因诊断受到医学整体理论水平发展的限制	10
二、	基因诊断技术的应用存在条件限制	10
三、	基因诊断技术的应用存在社会限制	11
四、	基因诊断技术的应用前景广阔	11

第二章 核酸分子杂交技术

第一节	核酸分子杂交的基本原理	12
一、	DNA 变性与复性	13
二、	杂交体系的建立	16

三、影响杂交的因素	17
第二节 核酸探针	19
一、核酸探针的种类	19
二、核酸探针的标记物分类	20
三、核酸探针的标记方法	21
四、核酸探针的纯化	24
第三节 核酸分子杂交的基本方法	25
一、Southern 印迹杂交	25
二、Northern 印迹杂交	31
三、Western 印迹杂交	32
四、斑点及狭缝印迹杂交	32
五、原位杂交	33
六、液相杂交	35

第三章 聚合酶链反应

第一节 PCR 的原理	37
一、PCR 原理简介	37
二、PCR 的七种基本成分	39
三、PCR 引物设计	42
四、模板的制备	43
第二节 PCR 的基本反应过程	44
一、以 DNA 为模板的反应	44
二、以 mRNA 为模板的反应	44
三、PCR 产物的积累规律	44

四、PCR 反应的自动化	45
五、PCR 反应条件的控制	46
第三节 防止 PCR 污染的措施	50
一、实验室的空间设置	50
二、操作和进行 PCR 的规则	51
三、溶液和设备的去污染	51
四、PCR 实验中应注意的事项	52
第四节 PCR 技术的主要类型	53
一、反转录 PCR	53
二、巢式 PCR	53
三、共享引物 PCR	54
四、多重 PCR	54
五、不对称 PCR	55
六、锚定 PCR	55
七、反向 PCR	56
八、彩色 PCR	56
九、原位 PCR	56
十、差异显示 PCR	57
十一、重组 PCR	58
第五节 定量 PCR	58
一、内参照定量 PCR	60
二、竞争 PCR 作 mRNA 定量	60
三、酶标记定量 PCR	62
四、荧光素标记的定量检测	63

五、	定量 PCR 技术的应用	69
第六节	PCR 技术的主要用途	71
一、	目的基因的克隆	71
二、	基因的体外突变	71
三、	DNA 和 RNA 的微量分析	71
四、	DNA 序列测定	71
五、	基因突变分析	71
第七节	连接酶链反应	72
一、	LCR 的基本原理	72
二、	LCR 产物的检测	73
三、	影响 LCR 的重要因素	74
四、	LCR 技术的扩展	74
第八节	RNA 的体外扩增	75
一、	基本原理	75
二、	产物的检测	76
三、	RNA-PCR 技术的特点和应用	76
第九节	基因扫描技术	77
一、	基因扫描技术的基本原理	77
二、	基因扫描技术的应用	78
第十节	滚环放大技术	80
一、	RCA 技术的基本原理	81
二、	RCA 在基因检测及核酸研究方面的应用	82
三、	免疫 RCA 技术的发展和实验室应用	84
四、	RCA 技术的应用前景和可能遇到的技术难题	85

第四章 基因芯片技术

第一节	基因芯片技术的基本原理	87
第二节	基因芯片的种类	88
一、	根据支持介质划分	88
二、	根据制备方法划分	88
三、	按载体上所点探针的长度划分	89
第三节	样品的准备及杂交检测	89
一、	基因芯片的制备	89
二、	样品的获得与标记	90
三、	杂交反应	90
四、	信号检测	91
第四节	基因芯片的应用	91
一、	DNA 测序	91
二、	基因差异表达的研究	91
三、	寻找新基因	92
四、	基因组文库作图	92
五、	突变体和多态性的检测	92
六、	用于疾病机制的研究、疾病的分类和诊断、 疾病的预测和治疗	92
第五节	基因芯片技术的研究方向及当前面临的困难	95
第六节	基因芯片的产业化现状及我国的研究现状	96
第七节	基因芯片的应用前景	97

第五章 目的基因的获得

第一节	从原核生物获取目的基因	99
一、	大肠杆菌的基因组	100
二、	用转导噬菌体分离宿主菌的基因	100
第二节	从真核生物获取目的基因的常用方法	101
一、	化学合成法	102
二、	聚合酶链反应(PCR)	102
三、	基因组 DNA 文库	103
四、	cDNA 文库	105
第三节	目的基因序列测定	110
一、	目的基因序列测定的意义	110
二、	目的基因测序方法	110
三、	长链 DNA 测序的策略	113

第六章 病毒性感染性疾病的基因诊断

第一节	人乳头瘤病毒	117
一、	人乳头瘤病毒基因组结构	118
二、	人乳头瘤病毒的基因诊断	118
第二节	单纯疱疹病毒	119
一、	单纯疱疹病毒基因组结构	119
二、	单纯疱疹病毒的基因诊断	120
第三节	巨细胞病毒	121
一、	巨细胞病毒基因组结构	121

二、巨细胞病毒基因诊断	122
第四节 轮状病毒	123
一、轮状病毒基因组	123
二、轮状病毒基因诊断	123

第七章 细菌及其他病原微生物的基因诊断

第一节 细菌毒力基因体内表达检测技术	125
一、体内表达技术(IVET)	125
二、信号标签突变技术(STM)	125
三、差异荧光诱导(DFI)	126
四、体外转座进行基因组分析和作图(GAMBIT)	126
五、体内诱导抗原技术(IVIAT)	127
第二节 支原体感染的基因诊断	127
一、普通 PCR 技术	128
二、PCR-ELISA	129
三、多重 PCR	129
第三节 衣原体感染的基因诊断	130
一、核酸扩增检测	130
二、连接酶链反应 (Ligase chain reaction, LCR)	131
三、链置换扩增 (Strand displacement amplification, SDA)	131
四、转录介导的扩增 (Transcription mediated amplification, TMA)	132

第八章 肿瘤疾病的基因诊断

第一节 肿瘤的发生与基因	133
一、癌基因	134
二、抑癌基因	137
三、微卫星 DNA 不稳定性	141
四、肿瘤的发生与多重基因变化	141
第二节 基因诊断在肿瘤研究中的意义和应用	142
一、肿瘤易感基因的检测	143
二、肿瘤的早期诊断和筛检	143
三、肿瘤的分类	144
四、肿瘤的治疗	144
五、肿瘤的预后判断	144
六、肿瘤的预后监测	145
第三节 肿瘤的基因诊断方法	145
一、肿瘤基因诊断的策略	145
二、基因诊断的原理和方法	146
三、肿瘤基因诊断的具体方法	148
第四节 临床常见肿瘤疾病相关基因的检测	156
一、ras 癌基因的检测	156
二、抑癌基因 p53 的检测	158
三、微卫星 DNA 不稳定性的检测	159
四、其他肿瘤相关基因的检测	159

第九章 消化系统疾病与基因诊断

第一节	消化系统肿瘤性疾病与基因异常	162
一、	概述	162
二、	肿瘤性疾病的基因诊断与基因治疗	165
第二节	消化系统感染性疾病与基因异常	169
一、	病毒性肝炎	169
二、	幽门螺旋杆菌感染	174
第三节	消化系统遗传性疾病与基因异常	182
一、	消化系统遗传性疾病的基因诊断	182
二、	消化系统遗传性疾病的基因治疗	182

第十章 心血管疾病的基因诊断

第一节	心血管分子生物学的新技术	183
一、	DNA 微阵列	183
二、	基因表达序列分析	185
三、	代表性差异分析	186
四、	基因转移技术	186
五、	基因打靶技术	188
六、	反义核酸技术	189
七、	候选基因关联研究	190
八、	定位候选克隆	191
九、	单倍型	193
十、	蛋白质组学研究	193

第二节	心血管疾病的基因表达谱	195
一、	心血管病基因表达谱的研究方法	195
二、	人类心血管病的基因表达谱	196
三、	心血管基因组的生物信息学资源	201
第三节	心血管疾病基因单核苷酸多态性的诊断	202
一、	$\beta 2$ -肾上腺素能受体基因的 SNPs	204
二、	甾醇调节元件结合蛋白基因的 SNPs	205
三、	心血管疾病中 SNPs 的应用	205
第四节	基因芯片技术对心血管疾病的诊断	207
一、	cDNA 芯片的应用	207
二、	寡核苷酸芯片的应用	209
第五节	载脂蛋白基因异常表达与心血管疾病	210
一、	脂蛋白脂肪酶的基因变异与Ⅲ型高脂蛋白血症	210
二、	载脂蛋白基因的异常表达与动脉粥样硬化	212
第六节	载脂蛋白表型及基因型的检测	218
一、	载脂蛋白(a)表型	219
二、	载脂蛋白 E 表型	221
三、	载脂蛋白 B 基因多态性的检测	222
四、	载脂蛋白 CⅢ基因型检测	225

第十一章 呼吸系统疾病与基因

第一节	肺癌与基因异常	226
一、	概述	226
二、	肺癌的基因异常	228

第二节	慢性阻塞性肺疾病与基因异常	231
一、	概述	231
二、	慢性阻塞性肺疾病与基因异常	234
第三节	支气管哮喘与基因异常	235
一、	概述	235
二、	支气管哮喘与基因异常	237
第四节	特发性肺纤维化与基因异常	238
一、	概述	238
二、	肺纤维化症与基因异常	240
第五节	囊性纤维化与基因异常	243
一、	概述	243
二、	囊性纤维化与基因异常	243
第六节	肺部感染性疾病的基因诊断	244
一、	肺结核病	244
二、	支原体肺炎	246
三、	人巨细胞病毒肺炎	247
第七节	呼吸系统疾病与基因治疗	249
一、	囊性纤维化和 $\alpha 1$ AT 缺乏症	249
二、	恶性肿瘤	249
三、	其他呼吸系统疾病	251
四、	基因治疗载体的开发状况	251
第八节	呼吸系统疾病与基因芯片	253