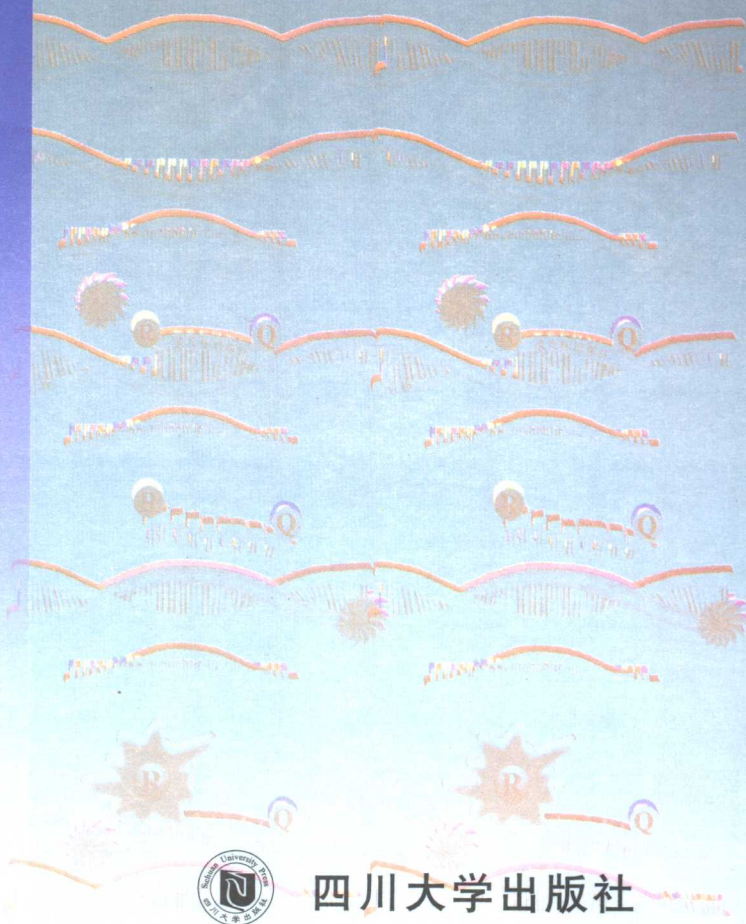
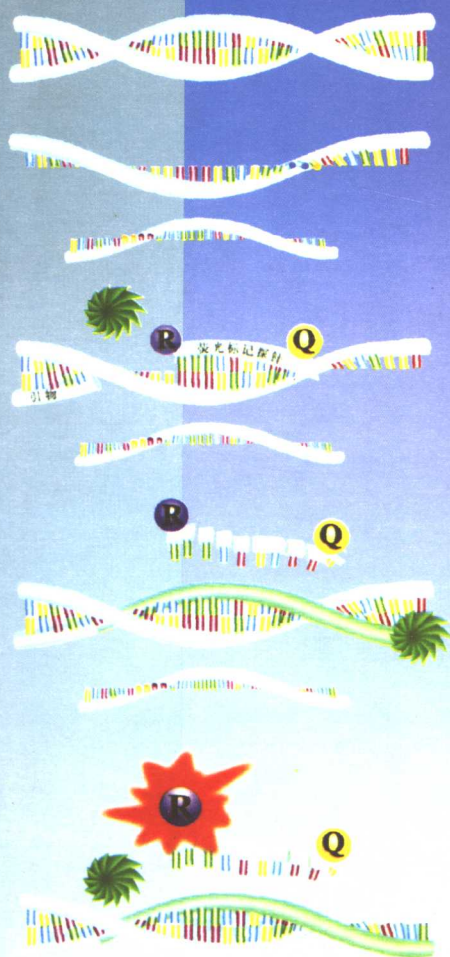


华西临床医学丛书

现代临床分子与 细胞遗传学技术

MODERN CLINICAL MOLECULAR GENETIC AND
CYTOGENETIC TECHNIQUES

主编 丁显平



四川大学出版社

华西临床医学丛书

现代临床分子与 细胞遗传学技术

*MODERN CLINICAL MOLECULAR GENETIC AND
CYTOGENETIC TECHNIQUES*



四川大学出版社

责任编辑:朱辅华 刘世平 胡兴戎

责任校对:胡兴戎

封面设计:罗 光

责任印制:李 平

图书在版编目(CIP)数据

现代临床分子与细胞遗传学技术 / 丁显平主编. —成都: 四川大学出版社, 2002.7

ISBN 7-5614-2436-1

I. 现... II. 丁... III. ①分子遗传学②细胞遗传学 IV. ①Q75②Q343

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2002) 第 052240 号

书名 现代临床分子与细胞遗传学技术

作者 丁显平 主编

出版 四川大学出版社

地址 成都市一环路南一段 24 号 (610065)

印刷 郫县犀浦印刷厂

发行 四川大学出版社

开本 787 mm × 1 092 mm 1/16

印张 15.25

插页 6

字数 340 千字

版次 2002 年 7 月第 1 版

印次 2002 年 7 月第 1 次印刷

印数 0 001 ~ 3 000 册

定价 40.00 元

◆读者邮购本书,请与本社发行科联系。电话:85408408/85401670/85408023 邮政编码:610064

◆本社图书如有印装质量问题,请寄回印刷厂调换。

版权所有◆侵权必究

《化工机械维修手册》编辑委员会

主 任：刘振东

副主任：任晓善 陈逢阳 王治方 陈留拴
 于传敬 张兴福 许炳然 安启洪

委 员：（按姓氏笔画排序）

于传敬	王治方	王俊旭	申文求
吕庆荣	任晓善	刘振东	安启洪
许炳然	杨 光	肖正吉	张永凡
张兴福	张维波	陈朋信	陈逢阳
陈留拴	范国军	郑学慧	胡锡章
黄志勇	常国振		

序

近十年来，在人类基因组计划的带动下，临床分子生物学步入了一个快速发展的阶段。这一阶段层出不穷的新理论和新技术的诞生、发展与应用，积极地促进和提高了临床诊断准确率。现在已经没有人怀疑，临床分子生物学在 21 世纪将成为推动医学检验发展的主要力量。

作为一门综合性强的交叉学科，临床分子生物学的快速发展对临床检验人员提出了更高的要求，我们注意到新技术的出现和应用在临床分子生物学的建立和发展中扮演着重要的角色。1986 年 PCR 技术的诞生从某种意义上与 DNA 双螺旋结构的揭示具有同等重要的意义。

与以往临床检验工作的传统方式不同，每一种临床分子生物学检测新手段都毋庸置疑地将成为该领域的一个重要技术，并将在今后一段时期内取得迅速的发展和普及。

本书在简要介绍人类基因组与医学遗传学基本理论的基础上，着重介绍了医学细胞遗传学与医学分子遗传学的常用技术、新进展、新方法，并较详细地阐述了该领域实验室质量控制的要求和规范，是一本理论紧密联系实际、在建立和开发相关实验诊断技术的工作中具有重要参考价值的好书。

本书作者均为较长期直接从事该领域实验室工作的专家和技术骨干，有较丰富的实践经验。本书的出版必将为推动我国临床分子生物学的发展作出应有的贡献。

康格非

二〇〇二年七月

前言

从 DNA 双螺旋结构的发现到生物中心法则的确定,从核酸杂交技术的出现到体外基因扩增技术的广泛使用,从人类基因组计划到蛋白质组学,分子生物学始终是生命科学基础研究成果与技术进步紧密结合的产物,这也正是分子生物学蓬勃发展的基础和原动力。

人类基因组计划的启动和获得的研究成果使人类对自身生命过程的认识迈进了一大步。人们在认识正常生命活动遗传基础的同时,疾病基因组学应运而生,对后者的研究则直接导致了分子生物学技术临床应用的第二次浪潮——基因诊断与分子细胞遗传学检测。

20 世纪 80 年代基因水平上检测镰形细胞贫血的成功,标志着基因诊断时代的来临。在疾病基因组研究的推动下,人类越来越多的疾病相关基因被确定,其对象从研究初期的单基因病延伸到肿瘤及多基因病等领域,目前已能进行基因诊断的疾病达数百种。肿瘤特异性基因和多基因病相关基因的检测,将继单基因病之后成为基因诊断的又一个重要发展方向。届时基因诊断的目的将不仅仅局限于疾病病因诊断,还将极大地向疾病治疗方案的确定、疗效观察及预后判断等方面延伸。与此同时,与人类疾病密切相关的各种外源性生物基因组研究也获得了大量的成果,感染性病原体的基因诊断就是一个非常典型的例子。采用基因诊断的技术从人体各种标本中区分出病原体的遗传物质,进而判断有无感染的方法在过去 5 年中已得到广泛的临床应用,其快速、灵敏和特异的检测提高了临床感染性疾病病因诊断的水平,因而被临床广泛接受。随着分子检测技术的进步,该类检测将向着定量和耐药基因检测等方向发展。在细胞遗传学领域,传统的染色体检查已不能完全满足临床检测的需要,先进的分子检测技术正逐渐向细胞遗传学领域渗透,分子细胞遗传学检测在染色体微缺失综合征等疾病诊断中正发挥越来越明显的作用。

透过临床分子生物学的发展历程,我们可以看到技术进步的巨大推动作用。作为基因诊断的两大核心技术,核酸杂交技术与基因体外扩增技术的发明和应用,极大地推动了基因诊断与临床的结合,而这些技术的临床应用也同时促进其不断改进、成熟。与临床分子生物学的检测内容和范围的发展一样,检测技术的发展和进步是又一个同等重要的方向。从经典的 Southern 杂交到反向斑点杂交,再到基因芯片检测;从聚合酶链反应到连接酶链反应,

再到核酸序列扩增法；从常规染色体检查到细胞-分子遗传学检查，比如荧光原位杂交技术，基因诊断发展的过程中无不涉及到技术的发展。因此，可以看出，对临床分子生物学技术的了解和掌握是进行临床分子与细胞检测的前提条件。

鉴于目前人类基因组研究和分子生物学技术的快速发展，考虑到存在针对不同的疾病与不同的检测目的有许多可供选择的检测技术的现状，如何在实际工作中选用适当的检测方法和技术是一个现实的问题。加之作为一个跨专业的边缘学科和一种全新的临床检测手段，绝大多数医务工作者对它的了解也十分有限，因此我们编撰此书呈给读者，以便读者全面了解最新的临床分子生物学检测技术和推广这些新技术在临床的应用。

本书的编者均是多年从事相关领域研究和临床工作的专业人员，有系统的理论知识和丰富的实践经验。该书的编排和内容尽量靠近临床，所涉及的大部分技术均有详细的实验操作步骤和临床应用的范围介绍，是一本实用性较强的工具书。该书适合的读者群是医学院校的师生、研究生，以及临床检验专业人员和临床医师等。

由于编撰时间有限及编者水平的限制，本书恐难免存在某些疏漏和不足，希望读者提出宝贵意见与建议。倘若此书有助于帮助读者提高对分子生物学的认识，并对实践工作起到积极的推动作用，我们的初衷就实现了。

编 者

二〇〇二年七月于成都

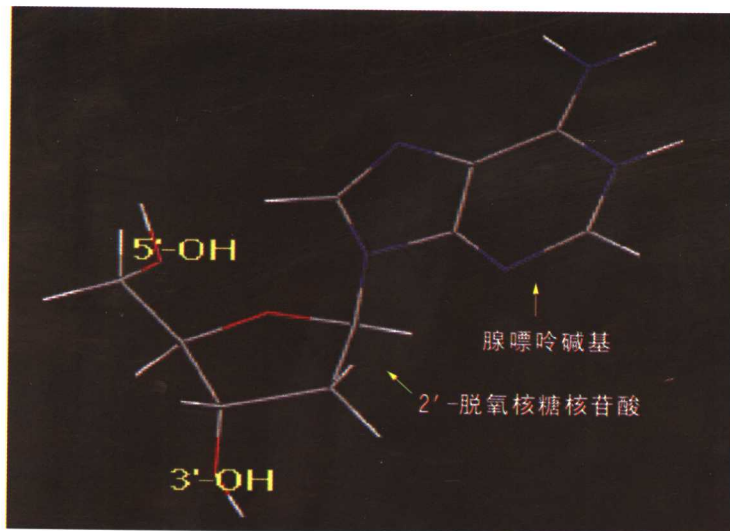


图1-1 腺嘌呤脱氧核糖核苷酸结构示意图

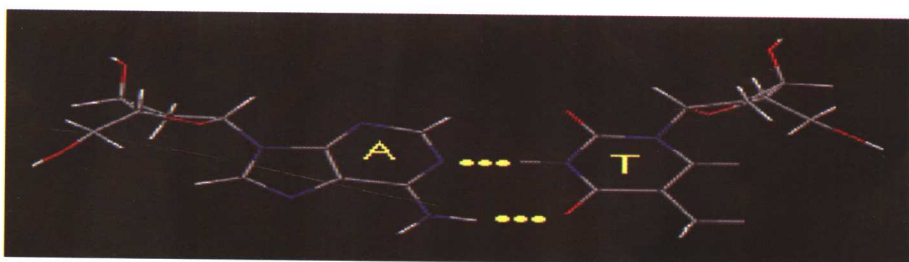


图1-2 腺嘌呤脱氧核糖核苷酸与胸腺嘧啶脱氧核糖核苷酸碱基配对结构示意图

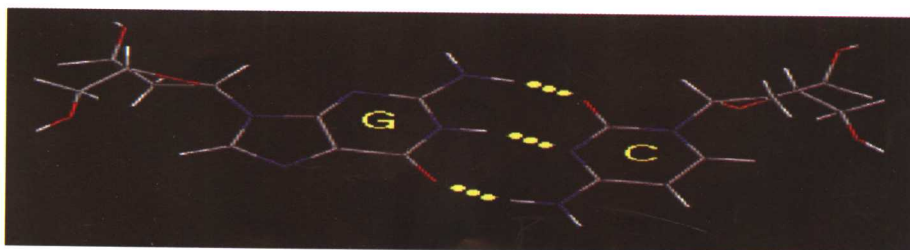


图1-3 鸟嘌呤脱氧核糖核苷酸与胞嘧啶脱氧核糖核苷酸碱基配对结构示意图

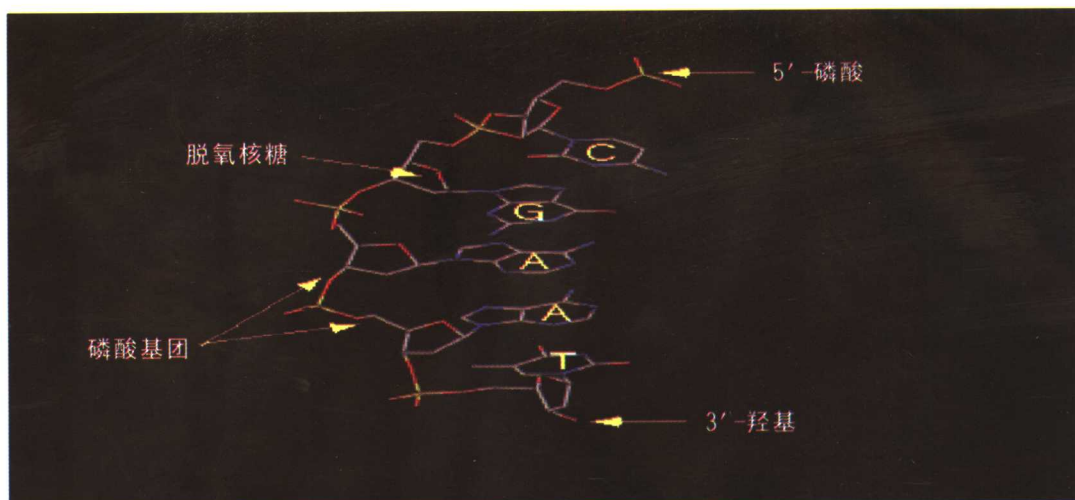


图1-4 'CGAAT' 单链DNA结构示意图

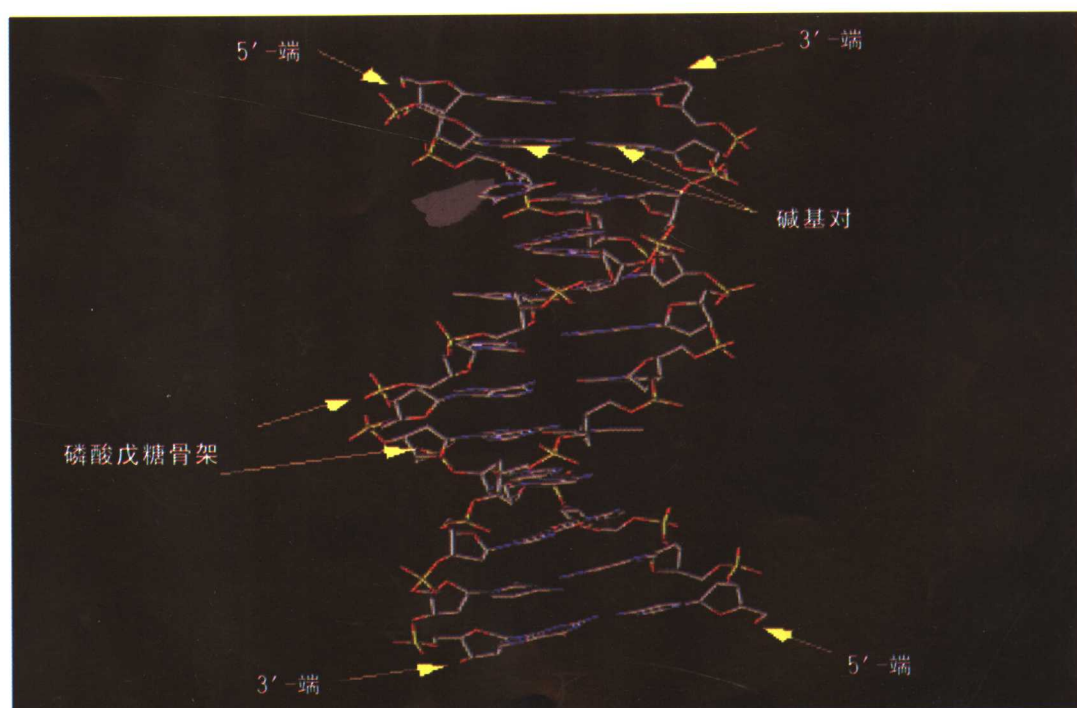


图1-5 DNA双螺旋结构示意图



图2-9 G显带（右）和R显带（左）的中期染色体

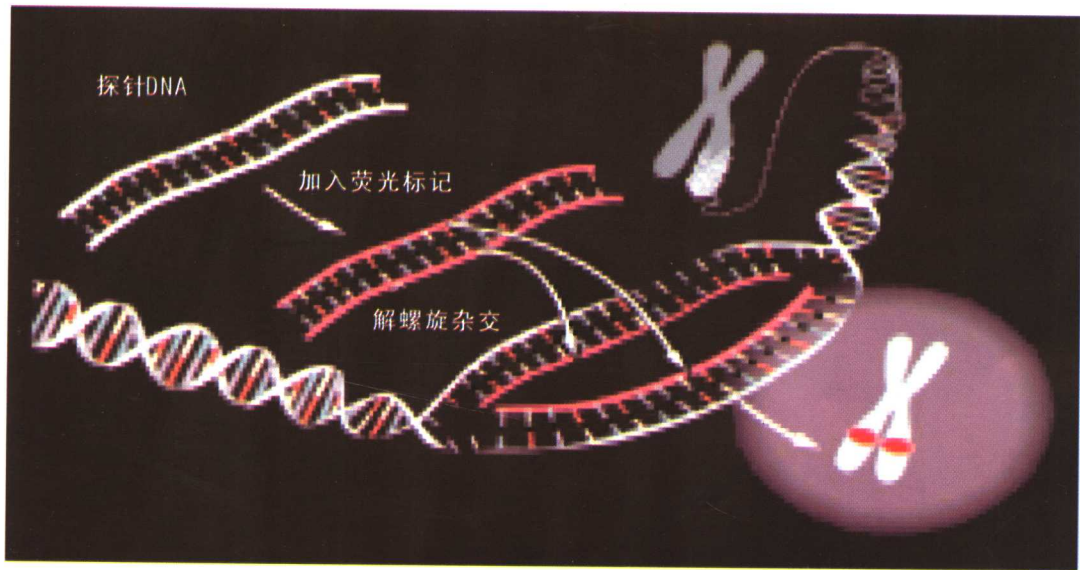


图7-1 荧光原位杂交的原理示意

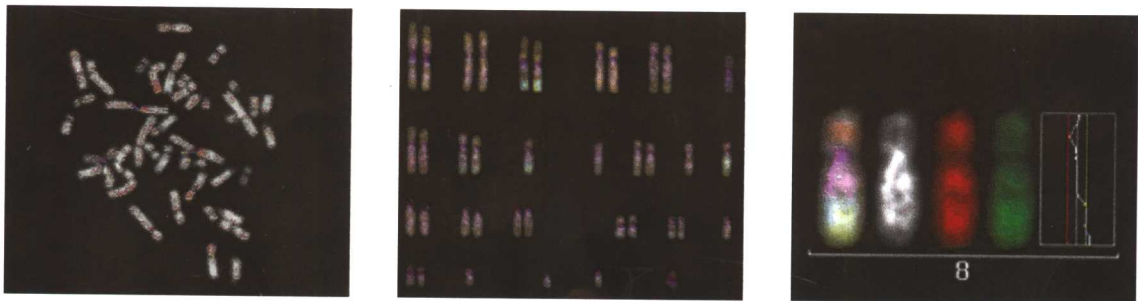


图7-3 CGH拷贝数核型模式示意



图7-2 荧光显微镜下的FISH结果

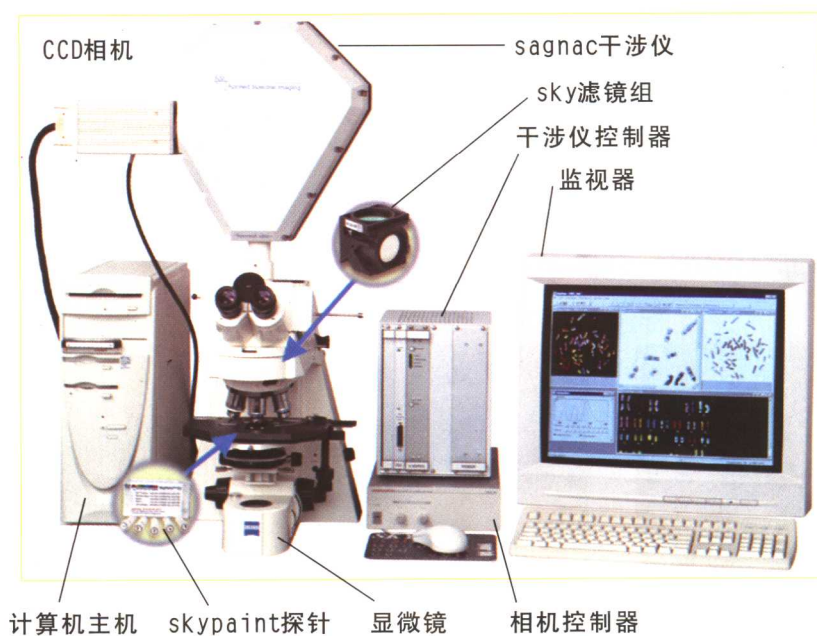


图7-4 SKY系统的仪器构成

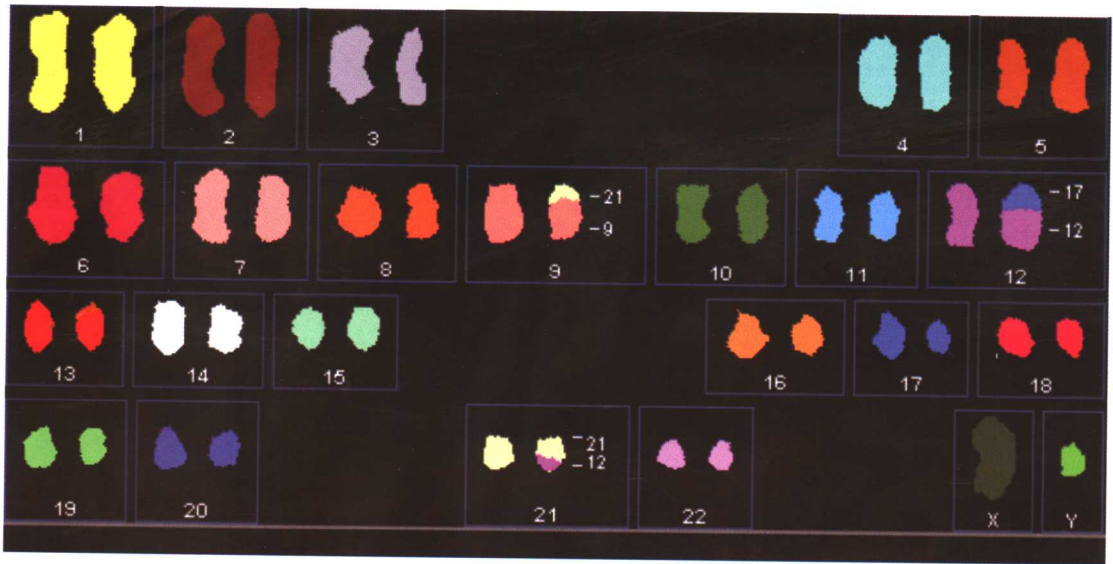


图7-5 急性淋巴细胞白血病用SKY分析结果

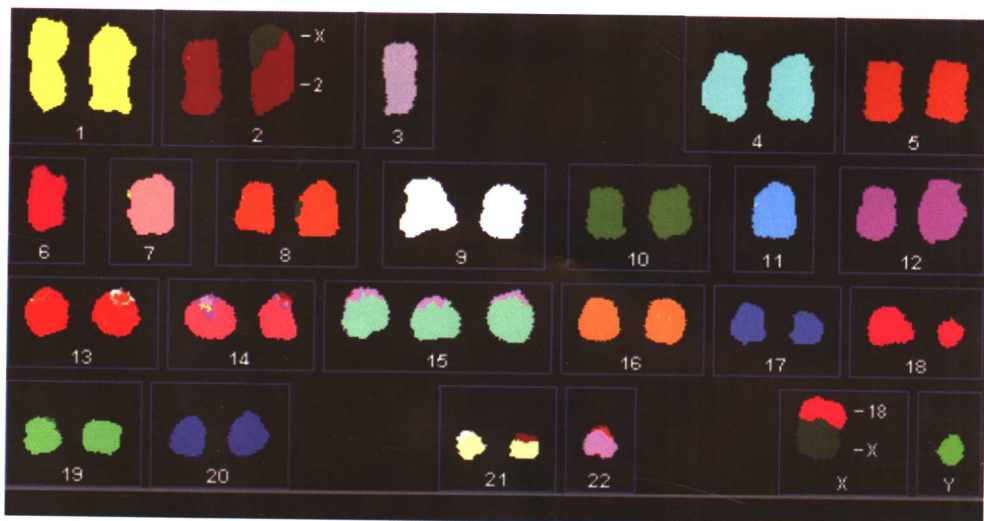


图7-6 1例滑性肉瘤患者的SKY分析结果

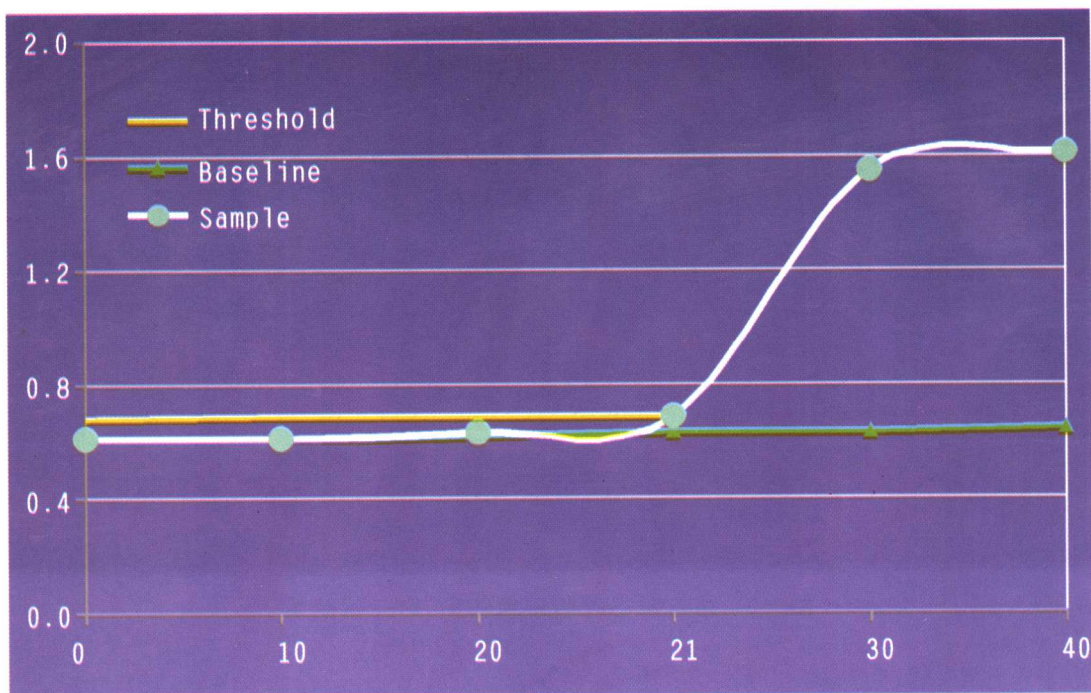


图10-4 C_t 点的确定（扩增曲线与基线的交点）示意



图11-3 全自动测序仪



图12-2 Lucidea spotter基因芯片点样仪示意

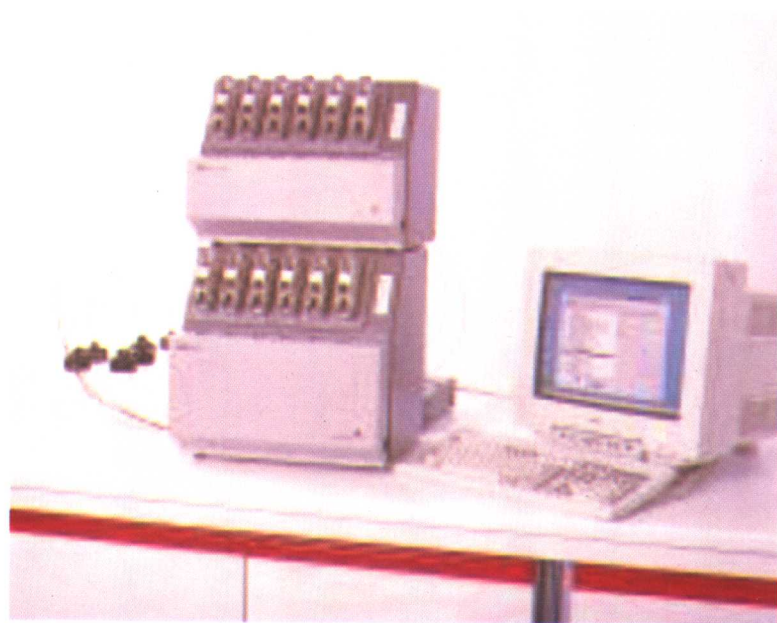


图12-3 APS全自动基因芯片杂交仪示意

目 录

第一章 人类基因组基本知识.....	(1)
第一节 从 DNA 到人类基因组	(1)
一、DNA 的化学组成与分子结构	(1)
二、基因的概念、结构、化学本质与生物学功能	(2)
三、DNA 复制的特点与遗传信息流动的基本规律	(4)
四、DNA 变异与基因突变	(5)
第二节 人类基因组的结构和功能.....	(6)
一、人类基因组的总体构成	(6)
二、核基因组	(7)
三、线粒体基因组	(7)
第三节 细胞的有丝分裂和减数分裂.....	(8)
一、细胞周期与有丝分裂	(8)
二、减数分裂	(9)
第二章 医学遗传学基本知识.....	(12)
第一节 单基因遗传与单基因病.....	(12)
一、单基因病的概念与分类	(12)
二、不同于孟德尔遗传规律的遗传现象	(17)
三、常见单基因病举例	(20)
第二节 多基因遗传与多基因病.....	(23)
一、多基因遗传的特点	(23)
二、多基因病的概念与遗传特征	(23)
第三节 肿瘤与遗传.....	(24)
一、体细胞突变学说	(24)
二、癌基因学说	(25)
第四节 染色体畸变与染色体病.....	(27)
一、人类染色体	(27)
二、染色体畸变	(29)
三、染色体病及其主要特征、分类.....	(31)
四、异常染色体携带者	(36)
第五节 遗传性疾病基因诊断的原则及途径.....	(37)
一、遗传性疾病基因诊断的原则	(37)
二、基因检测的标本制备	(38)

三、基因突变的检测	(39)
第三章 常用染色体制备技术	(45)
第一节 外周血淋巴细胞培养及染色体制备	(45)
一、培养基的准备	(45)
二、采血接种	(45)
三、培养	(45)
四、收获	(45)
五、微细胞遗传学技术	(46)
第二节 羊水细胞培养及染色体制备	(47)
一、羊膜腔穿刺的时间	(47)
二、羊水的抽取	(47)
三、羊水细胞培养及染色体制备	(47)
四、羊水细胞培养中存在的问题	(48)
五、羊膜腔穿刺的适应证和禁忌证	(49)
第三节 绒毛细胞的染色体制备	(49)
一、绒毛的取材	(49)
二、绒毛的识别	(50)
三、绒毛细胞的染色体制备	(50)
四、绒毛细胞染色体制备应注意的问题	(51)
第四节 胸、腹水、骨髓细胞的染色体制备	(52)
一、胸、腹水细胞的染色体制备	(52)
二、骨髓细胞的染色体制备	(52)
第四章 医学细胞遗传学检验的质量控制	(54)
第一节 细胞遗传学检验的室内质量控制	(54)
一、对细胞遗传学检验人员的要求	(54)
二、建立标准化的操作方法	(55)
三、制定仪器设备的专人管理制度	(55)
四、培养基及其他试剂的质量控制	(55)
五、标本检验的质量控制	(56)
第二节 细胞遗传学检验的室间质量控制	(56)
一、室间质控的组织形式	(57)
二、室间质评的要求	(57)
三、室间质评的方法	(57)
第五章 核酸提取技术	(58)
第一节 通用的核酸提取技术	(59)

一、DNA 提取方法	(59)
二、RNA 提取方法	(63)
第二节 临床标本核酸提取方法	(65)
一、临床标本的来源与特点	(65)
二、临床标本核酸提取方法	(66)
第三节 核酸浓度与纯度测定	(69)
一、DNA 的测定	(69)
二、RNA 的测定	(69)
第六章 基因体外扩增技术	(71)
第一节 聚合酶链反应	(71)
一、常规聚合酶链反应技术的基本原理与特点	(71)
二、常规聚合酶链反应技术的基本条件	(73)
三、常规聚合酶链反应产物的分析	(76)
四、常规聚合酶链反应的常见问题与解决办法	(79)
五、常规聚合酶链反应的局限性	(81)
六、常规聚合酶链反应的临床应用举例	(83)
七、主要的临床聚合酶链反应相关技术	(90)
第二节 连接酶链反应	(95)
一、连接酶链反应技术的基本原理与特点	(96)
二、连接酶链反应的基本条件	(96)
三、连接酶链反应产物的分析	(99)
四、连接酶连反应的常见问题	(99)
五、连接酶链反应技术的应用范围	(99)
六、主要的连接酶链反应相关技术	(99)
第三节 其他体外基因扩增技术	(100)
一、核酸序列扩增法	(100)
二、分支探针 DNA 测定	(100)
第七章 核酸杂交检测技术	(105)
第一节 样本的制备	(105)
第二节 探针标记	(106)
一、放射性核素标记法	(106)
二、非放射性标记法	(109)
第三节 Southern 印迹杂交	(114)
一、限制性内切酶消化 DNA	(114)
二、凝胶电泳	(115)
三、Southern 印迹法	(117)