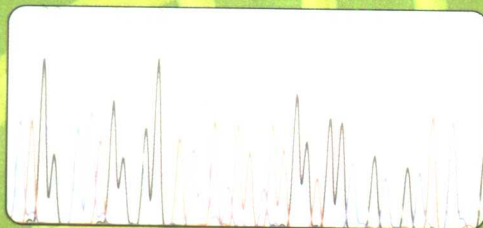
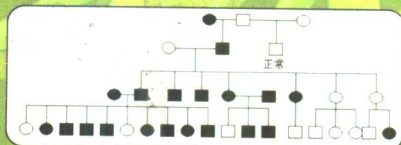
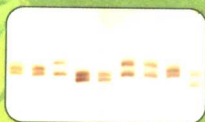
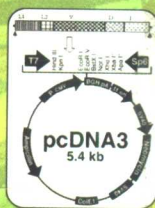


CLINIC MOLECULAR GENETICS

临床分子遗传学

主编 朱平



北京医科大学出版社

Clinic Molecular Genetics

临床分子遗传学

主 编 朱 平

北京医科大学出版社

LINCHUANG FENZI YICHUANXUE

图书在版编目 (CIP) 数据

临床分子遗传学/朱平主编. —北京: 北京医科大学出版社, 2002.3

ISBN 7-81071-293-4

I. 临… II. 朱… III. 分子遗传学 IV. Q75

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2002) 第 003240 号

北京医科大学出版社出版发行

(100083 北京市海淀区学院路 38 号 北京大学医学部院内)

责任编辑: 安 林

责任校对: 潘 慧 翁晓军

责任印制: 郭桂兰

莱芜市圣龙印务书刊有限责任公司印刷 新华书店经销

开本: 787mm × 1092mm 1/16 印张: 30 字数: 749 千字

2002 年 4 月第 1 版 2002 年 4 月山东第 1 次印刷 印数: 1-3000 册

定价: 48.00 元

版权所有 不得翻印

本书由

北京大学医学部科学出版基金

资助出版

《临床分子遗传学》

主 编 朱 平

编著者名单 (以姓氏笔画排列)

丁 洁	马晓莉	王朝霞	冯 茹	朱 平
刘继华	任雅丽	邢卉春	迟启民	李志刚
李玉林	李婉晴	陈红梅	欧晋平	张 新
张 蕊	张 葳	高 枫	杨艳玲	柯 杨
赵卫红	赵卫华	徐小元	袁 云	戚 豫
董玉君	裴新燕			

内容提要

人类大多数疾病的发生都与患者的基因变异有关，分子遗传学已经是临床各个学科十分重要的组成部分。本书是在3次国家级继续教育项目，全国基因诊断、基因治疗知识更新班，和北京大学医学博士和硕士研究生教材的基础上补充修订完成的。内容包括5部分。第1部分临床分子遗传学与基因组学基础，论及从细胞遗传学到分子生物学的临床进展，孟德尔遗传学和非孟德尔遗传现象，人类基因组计划，肿瘤和白血病的基因组印记，免疫遗传学等。第2部分临床分子遗传学研究策略与方法包括聚合酶链反应和核酸检测常用方法，基因芯片，临床遗传咨询和家系调查，基因治疗，DNA疫苗等。第3部分临床疾病的分子遗传学与各科疾病有关，涉及白血病和淋巴瘤等肿瘤，血红蛋白病，G6PD缺乏症，线粒体病等分子病。涉及先天代谢异常，神经系统疾病，眼病和传染病等许多疾病的分子机制。第4部分伦理学讨论了医学遗传和遗传咨询中伦理问题的国际准则。第5部分为方法学，介绍分子遗传学常用计算机资源和常用分子生物学实验方法和常规操作。

本书适于生物医学领域中级以上人员和研究生阅读。

序 言

1998年,我受北京大学第一临床医学院章友康院长的委托,负责筹备并成立了临床遗传中心,组织和协调内、外、妇、儿、神经、耳鼻喉和眼科等多学科有关临床分子遗传学方面的工作。当时聘请了肿瘤学院担任肿瘤分子生物学主任的吕有勇教授,时任遗传研究室主任,现任北京大学医学部副主任的柯杨教授作顾问,与现任北京大学第一临床医学院中心实验室主任的戚豫教授,卜定方教授和儿科的丁杰教授一起,共同协商如何从临床,教学和科研3个方面促进临床遗传学的发展。我们都感觉到,随着医学各个学科的深入,已经发现大多数疾病的发生与患者的基因变异有关,分子遗传学已经是临床研究工作中十分重要的组成部分。在此前后,我们共同组织了一批留学归国的专家,先后举办了3期全国基因诊断、基因治疗知识更新班等国家级继续教育项目。临床遗传中心成立后,许多博士和硕士研究生及其导师都希望能够开展与本学科有关疾病的分子遗传学工作。要求我们不仅仅为全国各地的中高级研究人员授课,最好让临床医学分子遗传学能成为研究生的基础教育课,为研究生顺利进行课题设计及完成课题发挥作用。北京大学研究生院李春英副院长也积极支持和倡议我们开设研究生课程。于是经过一段时间的准备,“医学分子遗传学”研究生课程开课了。

担任授课的教师都认真地写了讲稿,当年就印刷了“医学分子遗传学讲义”。讲义内容除了当时分子遗传学的最新进展外,包含了各位专家在国内外自己从事的研究。课程中深入浅出的演讲和实际工作吸引了众多的研究生和进修学者。在第二期课程后,我们发现由于学时所限,许多临床分子遗传学的工作未能包括在内,因此又请了一些从事临床不同学科的专家扩充内容,一部分安排了课堂授课,一部分作为课外阅读的参考。这些内容共同组成了本书。

我们注意到,国内外均有一些以“医学分子遗传学”命名的专著,涉及的基本内容却大不相同。本书的内容大量地涉及临床疾病的分子遗传学,因此将书名定为“临床分子遗传学”(Clinic molecular genetics)。由于本书来源于各位专家的讲稿,尽管内容翔实,出版时也作了一些修订,但是整体的不足之处仍存在。临床分子遗传学已经渗透到医学各个分支,并且向纵深发展,发展日新月异,要在现阶段即总结并提炼出临床分子遗传学的全部精髓,为时尚早。本书的一些欠缺实际是主编本人的知识未及所致的,只得留作遗憾,也希望同行能予指正。

朱 平

2001年10月30日

前言

20 世纪 60 年代, 原北京医学院许多教研室为研究生们曾编写过各专业的“高级讲义”以代替零散的专题讲座稿, 既为研究生用, 又为各类进修生用, 颇受欢迎, 本人读研时也深受其益。在国外也有所谓“Senior lecture”以正式出版物出版。这些讲义或专题讲稿, 成为攀登各专业学科的入门教材, 也成为深入专题研究的初阶。

本教材《临床分子遗传学》应该是作为临床有关各专业基本教材, 因为分子遗传学已渗透到各专业领域内, 然而国内尚缺乏一本临床分子遗传专业的教材。其原因可能: 一是分子遗传学与临床疾病相结合是近几年才如涓涓细流, 逐渐汇流而成; 二是分子遗传学在医学中的应用, 开始多是方法学上的, 而作为临床诊断、治疗和探索病因, 还需积累更多更成熟的资料; 三是遗传性疾病在我国临床上还没有形成真正的学科体系和服务网络。况且遗传疾病的种类浩瀚, 作为临床医师非借助计算机则不易全面掌握。

人类遗传性疾病按目前统计, 单基因病约 8000 多种, 按 McKusick: 疾病和性状或基因座截止到 2001 年 6 月 13 日已达 12680 种, 其中常染色体遗传 11861 种, X 连锁 723 种, Y 连锁 37 种, 线粒体遗传 59 种, 已经定位人类基因数为 7170 个, 其中染色体 1 号 704, 2 号: 440, 3 号: 358, 4 号: 269, 5 号: 304, 6 号: 428, 7 号: 341, 8 号: 235, 9 号: 271, 10 号: 247, 11 号: 461, 12 号: 377, 13 号: 127, 14 号: 224, 15 号: 193, 16 号: 268, 17 号: 427, 18 号: 105, 19 号: 477, 20 号: 164, 21 号: 109, 22 号: 162, X: 449, Y: 30。多基因病数十种, 染色体疾病与异常 600 多种。因此探索医学遗传学的学科体系和设施远未成熟, 还需要结合我国的国情吸收国外经验有重点的逐步进行。

临床分子遗传学自然是医学遗传学中的一个分支, 后者又是遗传学的一个分支。分子遗传学的发展和临床应用, 又始终与遗传学的整体进展息息相关。而我们临床工作者前些年多数对遗传病了解不多, 近些年部分院校已经有了此专业人员且开设医学遗传学课程。少数医院或临床科室还开展了细胞遗传学和分子遗传学的临床诊断和实验室研究。因此对本专业早期阶段的一些情况可能有些人还不甚了解。为了帮助一些临床工作者特别是年轻同事和研究生们了解医学遗传学在我国发展的历史概况, 编者约我写几句有关方面的历史回顾, 并结合个人管窥之见作些介绍, 以作同行的见证。

(一)

50 年代初, 全面向前苏联学习, 而西方的科技信息较少。生物、医学院校曾介绍米丘林、李森科的遗传学, 强调后天获得性遗传, 环境可改变遗传性, 不强调细胞内存在遗传因子。而国内摩尔根学派因强调遗传因子稳定性的一面而多受到批判。到 50 年代末我国遗传学界两个学派在几次学术会上争论甚笃。记得 1959 年夏我参加的一次“全国胚胎学学术会议”(在上海华侨饭店楼上会议室), 摩尔根学派坐在东边一排桌边, 有谈家桢教授和刚从美国回来的施履吉教授, 而细胞质学派(有人称米丘林学派)以厦门大学汪德耀为代表坐西边

一排，双方辩论激烈。给我留下深刻印象。当时我认为双方各有见长，只是摩尔根派证据更令人信服些。

1960年夏，前苏联细胞学家伊凡诺夫（ИВАНОВ）来京在北农大（公主坟）讲学，他自称是喀山学派，与莫斯科派有争论，彼介绍了DNA双螺旋结构，由北大的翟中和作翻译。会上还特邀了北京大学李汝琪教授作了“谈谈染色体”的报告。李是师从美国遗传学权威学者Morgan（Thomas H. Morgan 美国哥伦比亚大学）最早的几个中国留美遗传学者之一，其他还有陈桢、陈子云、卢惠霖等。陈桢是我国最早的动物遗传权威，又恰是我国目前医学遗传学开拓者之一李璞教授的岳父。

李汝琪教授在讲到DNA双螺旋结构时，反复说道：“非常引人入胜”。这是我第一次接触到双螺旋的知识，尽管双螺旋结构已于1953年由两位年轻学者证明。他们是James D. Watson，24岁，美国生物学者在欧洲学习，Francis H. Crick，36岁英国物理学者，当时他们在剑桥大学Cavendish实验室工作，他们发表的那篇著名论文不满一页长，题目是“A structure for deoxyribonucleic acid”，发表在Nature（1953；171：737）上。这一篇报告，实际上点燃了分子遗传学的火炬，迅速照遍各地，9年后的1962年获得诺贝尔奖。

当时我对此双螺旋不甚其详，幸有同班刘文德（安徽）、晓击（山西）为我辅导，我方初悟，顿开茅塞，方知遗传学有如此精确的科学解释。从此我便笃信遗传，对遗传发生极大兴趣。1959年我从国外资料中发现人的细胞核染色质中有区别男女性别的结构，即鼓槌状突出物与Barr小体（又称X小体），并为此进行了科研观察，结果1963年在《解剖学报》上发表[1963，6（1）：52]。以后又跟踪发表了染色质与性发育异常的变化。这在当时还是国内最早的报道。细胞核内的染色质有性别的差别，X染色质当时虽然验证了，但仍觉有疑团未解。谁料想10多年后的1970年Pearson采用荧光技术又证实了Y染色质，又过了10多年，当X、Y染色体上克隆出特异探针后，居然在细胞间期的核内采用FISH技术即能测出男女性别来，这是多么引人入胜。

然而正当我国国内还在染色质上染色时（1959年），国外在1956年已由Tjio（蒋有兴）和Levan二人证实，人类染色体是 $2n = 46$ ，而不是多年来公认的 $2n = 48$ 。不期而遇，恰于1959年，在英国同一期杂志上发表了3种疾病在染色体上得到了证实，即Down's 21三体、Klinefelter's 47, XXY和Turner's 45, XO。为此有人（陈达能，美国CDC博士）认为1959年是人类医学遗传学的开端。这是非常重大的进展。因为人类疾病在遗传物质上终于找到直接的根据。应该提及的是1959年我国学者吴旻在前苏联攻读博士，其课题正是人胚细胞染色体研究。

直至1960年世界各地12位染色体学者在美国丹佛（Danver）召开了第一次国际染色体会议，并制定了“Danver体制”，即今天我们所使用的分组方法（A-F+XY）。可惜当时没有邀请前苏联实验室的人参加。然而会议中竟有三位华裔科学家（徐道觉、陈达能、蒋有兴）。这个“丹佛体制”到1981年，在此基础上公布了显带技术；不久又进行了染色体高分辨显带（ISCN，1981），以后又有补充（ISCN，1985、1995）。人们可以直接观察到染色体320-550-850条带型。直到今天，基因在染色体上的定位，甚至染色体显微切割以寻求基因和测序都是在此框架基础上进行的。这张染色体高分辨显带图，可否看做是第二张人类解剖图，第一张是约500年前Vesalius的人类大体解剖图。

1962年夏我在兰州大学郑国昌教授处作课题，小鼠睾丸X线辐射细胞遗传学的效应。是年夏，谈家桢教授来兰大讲学，我协助绘制讲课图表。谈先生开宗明义讲到：我国遗传学

要走自己的路，两个学派要融合，走出中国的遗传学派。我听后联想到上海那时两派争论何等激烈，到如今总算争出些结果了。后来我才知道几年前毛泽东在上海接见了谈先生，并鼓励他坚持真理。因为谈为此受到过不公正的批判。这一年，我从光明日报上读到谈先生写的文章，他通俗地介绍 DNA 与遗传时，曾用两红两黑的扑克牌来比喻两个嘌呤，两个嘧啶 4 个核苷酸。当时我感到甚有趣且形象，以后多次在教学中曾使用此比喻通俗易懂。

1962 年北农大吴仲贤教授应邀来西北讲学，彼是群体遗传学权威，当时我通过努力介绍到兰州医学院来讲学，他介绍了国外对刑事犯罪包括偷窃、强奸、嗜酒、杀人等行为的遗传问题，会后我与本校王先荣拜会他，方知他是当年留学英 Glasgow 的遗传学家，他还是我国当代医学遗传学创始人之一吴旻的叔父。文革时期为此有争议的学术问题还受到批判。

直到 80 年代末，当中华医学会医学遗传学会从中国遗传学会分出来另组建时，许多人感到有些依恋，经过反复工作后，最后由中国遗传学会理事长谈先生表态，他曾对一位负责同志说“女儿大了，总要嫁人，让她去吧！”。这件事至今仍在我心中沉甸甸的。一是说咱们的体制是分块的，不得不如此。二是科学到了该分支时，水到渠成，这表明医学遗传学或说临床遗传学从襁褓中已成长起来。三是说明谈先生在科学上宽洪量大，海纳百川的胸襟。

还记得现在的《中华医学遗传学杂志》的前身，就是由肖坤则大夫（华西）请示谈先生，彼起名为《遗传与疾病》，以后才改为现名。肖当年（1975 年）在医科院四川简阳工作时，我曾专程带学生向肖学习微量血作染色体技术。在简阳曾遇到同学习染色体的董兆文。

谈先生在多次会上会下强调遗传学应该为社会服务，应结合我国计划生育的实际做工作。在这种思想指导下，于 1984 年在合肥召开过“计划生育与遗传”座谈会，吴旻、叶文虎等参加了此会。会上思想特别活跃，提出了许多好的建议。1980 年肖坤则曾约我共同创办医学遗传杂志，后她在四川创办《遗传与疾病》，而我则在甘肃创办《优生与遗传》，于 1982 年正式出刊，以后迁至北京，改为卫生部主管的《中国优生与遗传杂志》，此两本杂志对我国医学遗传学学术交流均起到各自的作用。

这里应特别提到 1963 年应该是我我国临床医学遗传学重要的里程碑。鄙以为其标志有三：一是 1963 年《中华内科杂志》（11（3）：1）的首页由协和医院著名的内科权威张孝骞教授署名写了一篇专论《重视医学遗传学研究》，该期杂志上报道了 5 篇遗传病有关的论文。此见解在罗会元教授主译的《人类孟德尔遗传》前言的第一句中也给予表明。罗是我国医学遗传学和临床遗传学的开创人之一，早年曾与美国 McKusick（被称医学遗传之父）同在 John Hopkins 大学医学院内科共事。二是 1963 年，我国第一篇 Down's 综合征染色体研究的论文发表在《中华儿科杂志》上 [1963，（4）：219]。作者是上海二医大著名的儿科苏祖斐教授。而该文的染色体技术是复旦大学研究生周焕庚协作所作。三是 1963 年中国医学科学院吴旻教授先后在《中华医学杂志》和其他杂志首先发表了中国人染色体组型和肿瘤染色体研究。以此为契机，从此我国医学遗传学与临床遗传学逐渐发展起来。

如果说临床细胞遗传学是从染色体病开始的，则临床分子遗传学似乎是从分子病开始，而分子病又是先从血红蛋白分子开始的。不幸的是医学遗传学刚刚兴起，由于 1966 ~ 1976 十年社会动荡，学术活动几乎停顿。60 年代因为血红蛋白的氨基酸序列已知，则决定氨基酸的 DNA 三联密码也得出结果。且因为血红蛋白异常 HbS 会出现镰刀形贫血以及明显的临床表现，容易引起生物医学和临床学者的注意，到 60 年代末，血红蛋白中 β 链第 6 位谷氨酸变成缬氨酸，其决定它的密码子为 GAA $\rightarrow$ GUA，二者只差中间一个核苷酸 A $\rightarrow$ U。此结果一出，遗传学家、临床医学家哗然，原来 DNA 序列中只差错了一个核苷酸就可以使红细胞

形态变成镰刀形。

尽管分子病的概念是1949年Pauling对HbS证实而命名,1965年Ingram采用电泳法证明了HbS,但真正引人入胜落实到DNA遗传物质上却是核苷酸突变与疾病的联系。从HbS开始,血红蛋白的变异在这种连锁反应下世界各地血红蛋白分子病的报道如雨后春笋,目前已经达到700余种。70年代中末期我国包头秦文斌、上海曾溢滔、黄淑帧夫妇,广西梁徐等在实验研究与临床应用上都作出了一系列的成果。

当然现在“分子病”的概念,不只限于血红蛋白异常,已扩展到其它蛋白质分子的异常,如血浆蛋白异常、酶蛋白病、受体病、凝血因子和胶原蛋白异常等。应当说“分子病”概念在核酸和基因大分子异常日益广泛后,已经没有什么特定的意义了。不过一般是指蛋白质的大分子异常,而核酸和基因大分子异常称突变,染色体的异常称畸变。人们总是先细胞后分子,先认识基因的产物,而后才深入到基因,这反映了人们认识遗传疾病的过程。

另一个在我国早期研究较多的是G6PD缺乏症。这也是在我国南方多发性常见的一种酶缺乏病。早在1953年四川华西儿科杜顺德教授在四川盆地发现食用蚕豆的孩子可患溶血性贫血,而且有明显的家族遗传倾向,经临床研究他提出“蚕豆病”外国称facism一词,并据家族性推定其为遗传性疾病,尽管那时还没有从分子遗传的角度提出证据,论文曾发表在《中华儿科杂志》上。无独有偶,正是杜顺德教授之子我国当代医学遗传开拓者之一杜传书教授(中山医大)继承父志,自70年代末在广东一带开始了蚕豆病和红细胞酶系统的研究,先是从酶活性、电泳速率及酶动力学研究,所谓“酶学”,嗣后便深入到病因学及基因学的研究,目前全世界G6PD各种变异点突变已达到400多种。杜不仅撰写了《蚕豆病》专著,而且1983年主编了我国第一部《医学遗传学》大型参考书。杜还于1982年在高等医学院校率先成立“医学遗传学教研室”,编写了最早的《医学遗传学基础》教材。本人曾参与编写了一个章节,并在教学中连续使用3年。

G6PD在我国发生率甚高,广东可高达8.5%~12.7%,而北方极低,有些地方甚至无此病发生。记得1984年夏,中山医大华小云在杜传书教授指导下,我们教研室李积义和郭光兰和我三人参加并给予配合,到大西北甘肃回族、藏族两自治州调查G6PD发病情况,共调查1千多人,G6PD发生率是零。而此地区盛产蚕豆,但却从未听说吃蚕豆患贫血者,可见蚕豆病酶缺陷有地域与种族性差异。此结果以后在论文中曾发表。G6PD在我们现今人口流动迁徙如此频繁之时,如果注意预防提倡远缘结婚,此病或可极大的减少,乃至隐退。曾有报告提到美国犹太裔人,采取预防措施,使其本民族发生率较高的家族性黑矇性痴呆(Tay-Sachs病)几近绝迹,吾等何不借鉴。

上世纪70年代现代分子遗传学在方法上有许多重大突破。基因工程、基因重组技术蓬勃开展,首先是1968年美国Britten,R核酸分子杂交技术的应用,为了寻找目的基因,限制性内切酶和运载体的发现起到不可估量的作用。80年代开始,基因扩增(PCR)、基因诊断、基因定位和基因测序逐步深入,90年代开始了人类基因组计划(HGP),近年来,临床分子遗传学进展很快,临床各杂志和各种媒体上几乎每天有报道。其进展的范围大体上包括3个方面:一是各种遗传病基因或有关基因的报道;二是肿瘤癌基因、抗癌基因以及基因有关因子的报道;三是各种致病微生物DNA或RNA基因扩增临床诊断的报道;还有其他药物基因、司法鉴定报道等。

(二)

专业学术的发展常以学术会议作为一个时代的标志(McKusick)。关于我国医学遗传学

的发展,也大致可依此分为3个阶段:第一个阶段前已述及,应从1963年开始,中间经过10年动乱后,直至1970年长沙大会。此阶段多是遗传病家系、细胞遗传、基因产物蛋白质异常表现等。第二阶段,应从1979年10月在长沙召开并成立“中国遗传学会人类与医学遗传委员会”开始。因为在这次大会上成立了8个专业学组(协作组)。除基础方面者外,与临床密切相关的有内科遗传学组,由伍汉文(湖南)、邱维勤(上海)等负责;儿科遗传学组由朱畅宁(上海)负责;神经、精神遗传学组由江三多(上海)、刘焯霖(广东)、刘协和(四川)负责;以后神经和精神又分为两个学组;产前诊断学组,由韩安国(辽宁)、周宪庭(北京)负责;韩应该是我最早的产前诊断的妇产科学者,彼于1973年创用导管吸取绒毛细胞,做细胞性别诊断(中华医学杂志,1973,9:521),这个吸取绒毛的技术,在全世界是最早的创始人之一。曾引起国际学者极大重视。细胞遗传学组由周焕庚(上海)、夏家辉(湖南)负责,我曾任该组副组长;眼科遗传学组由胡诞宁(上海)负责;分子遗传与遗传代谢病学组由杜传书(广东)负责;其它学组此处不赘述。上述这些学组以后都几乎每两年开一次全国性学术会议,交流总结遗传疾病的临床家系分析和基因产物乃至基因突变的报告。我本人当时从事临床内科血液科工作,故以白血病和血液病有关的论文多次参加内科遗传学组的活动。

这第二阶段在学术活动的外环境方面,有几个特点:一是上述那些医学遗传学术组挂靠归属中国科学院遗传研究所和中国遗传学会领导,卫生部门只是业务指导;二是学者和课题大多是国内自由协作,除从资料中学习国外新进展外,很少与国际直接联系;三是参加的临床工作者大都是50~60年代以前毕业的,几乎都没有系统学习过经典的孟德尔和摩尔根遗传规律和现代的遗传基础知识。这一阶段直至合肥会议。

第三阶段应该是从1986年10月在合肥召开中国遗传学会第三次全国代表大会暨学术研讨会,在这次大会的后两天,同时召开了中华医学会医学遗传学会第一次大会,原属中国遗传学会人类与医学遗传委员会下设的10多个分支学组便转归属于中华医学会,即就是归属国家卫生部和中华医学会领导。该委员会由吴旻(北京)、李璞(黑龙江)、罗会元(北京)先后领导。原中国遗传学会下另成立人类遗传学委员会由刘祖洞(上海复旦)、杜若甫(北京)领导。这一阶段一直延续到现在,其间每两年召开一次学术大会。

这一阶段的特点:一是进一步紧密与临床疾病的病因、诊断、治疗紧密结合起来;二是由于改革开放大批的国外学子学成归来,带回来新的科学信息,科研方法,甚至各种试剂和探针。医学遗传学会中有不少新生力量加入,如陈竺(上海)、孙开来(辽宁)、杨焕明、黄尚志(北京)等。而这一阶段恰是医学遗传学进入分子遗传学的新阶段。然而这一阶段也有人为的和体制上分离局面,基础的与临床的共同研讨的机会减少了。这一点相信随着体制改革会得到调整和发展。目前的院校合并可能有利于此。

进入90年代遗传病的诊断除对基因产物蛋白质和酶等检测外,已发展到进一步的基因诊断。细胞遗传已逐步开展细胞和染色体的FISH和微缺失(轩维存)以及DNA的染色质纤维的FISH技术(曾瑄)(中华医学遗传学杂志,1996,6:366)。已进入了分子细胞遗传学阶段,传统的细胞遗传学将相形见绌。分子遗传学采用了各种重组DNA技术,即所谓的“基因工程”,分子杂交,特别是Southern印迹杂交(DNA水平)的广泛应用,以及后来的RFLP、Northern(RNA水平)、Western(蛋白质水平)等检测手段,然而这些技术的引进也多有一段过程。曾记得约在1985年在广州召开的一次大会上刘基增(一军大)介绍了国外PCR这一先进的技术,此项技术对基因诊断起到极大地促进作用。

90年代更多的国外学子学成归来,以不同方式将国外先进技术、先进仪器,甚至许多国内没有的基因探针介绍回来。记得1992年我的研究生朱恃贵向刚从美国回国的程在玉(协和)学习小鼠 ^3H 的FISH,那时还没有人的探针。朱后为吴旻的博士生,是国内开展染色体切割技术最早的学者之一。以后至1994年另一研究生乔旭刚在朱平的实验室最早开展非放射性的生物素地高辛标记探针,成功作出了硕士毕业论文。

还记得朱平1987年从欧洲学习归来带回不少探针,为了保护怕失效,沿途费了很大的关注,以后这些探针为培养研究生起到一定作用。记得那时做PCR技术还曾采用人工费时费工地连夜转换温度,以后才有各种PCR仪相继问世。朱以后曾组织国内部分PCR学者于1992年共同撰写出版了国内较早的一本《PCR基因扩增实验操作手册》,颇受国内、外学者重视,对推动PCR在国内的开展起到一定作用。

90年代初启动的“人类基因组计划(HGP)”被誉为生命科学的“阿波罗登月计划”原定从1990-2005年完成结构基因草图的工作,然而90年代末,由于生物信息学的支撑以及多个国家多中心的共同努力,终于提前于2001年2月12日美、日、法、德、中6国科学家和塞莱拉公司联合公布人类基因组图谱及初步分析结果。然而我国参加此项工作起步较晚。90年代初,我国在得知不少国家先后成立人类基因组研究中心后,经几位科学院士和有关人士的呼吁,于1993年底启动了中国自己的人类基因组计划,第一个阶段名称为“中国不同民族基因的保存”,课题负责人是褚嘉佑(云南)。褚也是吴旻的博士后。同时我国还及时成立人类基因组多态性委员会,逐步开展各民族基因多样性研究,我国有56个已识别的民族和205种语言,已开展的工作将对不同人群和个体在疾病的易感性和抵抗力方面表现出的差异具有十分重要的意义。

值得一提的是我国经杨焕明博士等学者的努力,才最后成为参加国际人类基因组计划6个国家之一。我国科学家用半年多的时间超额完成了1%人类基因组的测序任务,拿到了3号染色体短臂上3000万对碱基对的“工作框架图”,并进一步完成基因图及基因的数量和位置。人类基因组计划已将其成果“医学化”已鉴定了4万个基因,已克隆了几十种与疾病有关的“疾病等位基因”,已产生40余种基因产品,如人胰岛素、干扰素、生长激素等。随着新技术的发展,相信越来越多的成果,将依赖我国自己的力量完成,当然仍应不断地向国外学习。

未来的医学和临床将会是什么样子?有人将人类基因图比做“人类第二张解剖图”。鄙意可否看做是人类第三张解剖图,第一为人体解剖图,第二是染色体高分辨显带图,第三张则是分子的基因图,这三张图开辟了现代医学之基础,而这第三张图将揭示人类生、老、病、死的奥秘,其功能基因组学、疾病基因组学、药物基因组学都将在此新的起点奔跑。

其次未来临床诊断将会改变从症状、体征、到病因、病源,而着重为从已知疾病基因向临床表现追踪,被称为“逆向诊断学”,可否这样考虑,为了诊断和预防未来几千种遗传病对人类的危害,从目前的产前遗传病诊断(prenatal)→植入前遗传病诊断(preimplantation)→卵泡腔前诊断(preant)和配子遗传诊断。

有人设想,未来的基因诊断可通过一张 1cm^2 基因芯片(genechips),将成千上万种疾病或不同功能的基因集于一块,对胎儿或出生后个体,一次即可作出各种的疾病预测,这是何等诱人的理想。总有一天人类不仅可以认识自己,而且可以预测未来,以至于可以能动地改造自己。当然随着这新生事物的出现,会在人们伦理、道德上产生新的问题,相信这些问题将与历史上出现新事物一样,都将迎刃而解。

最后，祝愿我校临床遗传中心逐步发展壮大，成为全国最强的中心。据知国内尚乏这样一个“临床中心”，它既为自身发展而努力，更重要的是为临床各科遗传病诊断、治疗、探索疾病病因发挥作用。当然新事物尚有许多待发展和待完善的地方，希望这本教材也在使用中不断补充提高，真正成为研究生们学习的 Senior Lecture。

李崇高

(于北京玉海园)

2001.6.14

目 录

序言

弁言	(1)
一、临床分子遗传学与基因组学基础	(1)
1. 临床分子遗传学概论	(3)
2. 从细胞遗传学到分子生物学	(10)
3. 孟德尔遗传学与遗传分析	(22)
4. 遗传与变异	(33)
5. 遗传流行病学基础与应用	(38)
6. 多因子遗传与多基因病	(46)
7. 人类基因组计划和基因图谱	(59)
8. SNP 的原理和临床应用	(65)
9. 非孟德尔遗传现象及其意义	(72)
10. 肿瘤和白血病的基因组印记	(79)
11. 免疫球蛋白和 T 细胞受体	(86)
12. 人类胚胎 T 淋巴细胞克隆谱系发生	(104)
13. TCR CDR3 基因谱型与自身免疫性疾病	(108)
14. 主要组织相容抗原复合体	(122)
二、临床分子遗传学研究策略与方法	(131)
15. 聚合酶链反应和染色体基因定位	(133)
16. 核酸水平检测常用的几种方法	(142)
17. 临床遗传咨询	(146)
18. 家系调查内容和步骤	(150)
19. 基因芯片	(155)
20. 用微卫星多态性研究肿瘤与白血病	(160)
21. 基因差异法克隆肿瘤异常基因	(167)
22. 疾病相关基因克隆的策略	(174)
23. 异基因干细胞移植后供者细胞植入的监测	(181)
24. 肿瘤的遗传方式及基础研究策略	(188)
25. 基因治疗	(194)
26. DNA 疫苗治疗低度恶性淋巴瘤	(209)
三、临床疾病的分子遗传学	(217)
27. 淋巴瘤的基因诊断	(219)
28. 白血病的分子遗传学	(226)
29. 血红蛋白病	(236)
30. 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺陷症	(250)

31. 线粒体病	(274)
32. 先天代谢异常	(284)
33. 家族性高胆固醇血症	(290)
34. 唐氏综合征	(295)
35. 脆性 X 综合征与 X 染色体失活	(299)
36. 溶酶体病	(307)
37. 过氧化物酶体病	(317)
38. 眼的分子遗传学	(322)
39. 帕金森病	(338)
40. 运动神经元病	(345)
41. 阿耳茨海默病	(348)
42. 亨廷顿舞蹈病	(352)
43. 遗传性周围神经病	(354)
44. 肌肉病	(358)
45. 乙型肝炎病毒调控机制	(363)
46. 乙型肝炎病毒基因突变与临床关系	(367)
47. 人类免疫缺陷病毒 (HIV) 基因及遗传信息传递	(373)
四、伦理学	(379)
48. 医学遗传学有关的伦理问题	(381)
49. 医学遗传和遗传咨询中伦理问题的国际准则	(385)
五、方法学	(397)
50. 分子遗传学常用计算机资源简介	(399)
51. 常用分子遗传学实验方法	(407)
实验目录	(407)
• 基因组 DNA 提取方法	(407)
• RNA 提取方法	(410)
• 逆转录多聚酶链反应 RT-PCR	(414)
• 聚丙烯酰胺凝胶电泳	(414)
• 聚丙烯酰胺凝胶银染法	(416)
• 实时定量 PCR	(417)
• PCR-SSCP	(419)
• 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳	(420)
• 异源双链形成分析	(421)
• TCR γ 基因限制性酶谱分析	(421)
• 斑点杂交	(422)
• Southern 印迹杂交	(423)
• Northern 印迹杂交	(426)
• PCR 产物直接测序	(428)
• Western 印迹法	(429)
• 生物素染色体原位杂交	(431)

·随机引物标记法	(433)
·生物素 DNA 探针的乙醇沉淀法	(434)
·代表性差异分析法	(434)
·制备感受态细胞	(437)
·质粒小量提取	(438)
·质粒大量提取	(438)
·独特型核酸疫苗制备操作规程	(439)
·PCR 产物的克隆	(441)
·单链丝状噬菌体载体 - M13 噬菌体克隆及感受态细菌的转染	(444)
·溴介导法标记荧光引物做彩色 PCR	(444)
·细胞凋亡原位末端转移酶荧光流式细胞仪分析法	(446)
·mRNA 差异显示技术	(446)
·cDNA 文库筛选	(454)
·EB 病毒转染淋巴细胞建立遗传种质库	(458)