

临床分子生物学检验标志物

一、名词解释

生物标志物：可客观的测量和评价，作为正常的生理过程、疾病过程或药物对治疗干预的响应指标

分子生物标志物：可反映机体生理、病理状态的核酸、蛋白质、代谢产物等生物分子

基因组：一个细胞或一种生物体的整套遗传物质，包括基因和非编码 DNA

质粒：细菌细胞染色体以外，能独立复制并稳定遗传的共价闭合环状分子

多基因家族：某一祖先基因经过重复和变异所产生的一组基因

动态突变：三核苷酸的重复次数可随世代交替的传递而呈现逐代递增的累加突变效应

单核苷酸多态性：在基因组水平上由单个核苷酸的变异所引起的 DNA 序列的多态性

表观遗传：DNA 序列不发生改变，基因功能出现可逆的、可遗传的变化

DNA 甲基化：生物体在 DNA 甲基转移酶的催化下，以 S-腺苷甲硫氨酸为甲基供体，将甲基转移到特定的碱基上的过程

微小 RNA：一类内源性的具有调控功能的非编码 RNA，其大小约 20~25 个核苷酸，在细胞内主要发挥基因转录水平调控作用

蛋白质组：一种基因组所表达的全套蛋白质，即包括一种细胞乃至一种生物所表达的全部蛋白质

似然比：反映真实性的一种指标，属于同时反映灵敏度和特异度的复合指标

二、简答题

5. 简述人类基因组的 DNA 多态性的形式

3 人类基因组	
核基因组 + 线粒体基因组	
单-序列	在基因组中仅存在一种或少数几种形式 绝大多数为编码基因，且非-编码区不编码
重复序列	串联重复序列 主要在线粒体区域，通常不被转录 卫星 DNA 由 10~100bp 组成的重复单位串联排列在染色体上，形成 1~1.5Mb 的超 DNA，可被酶切串联重复 微卫星 DNA 由 1~10bp 的重复单位组成，通常串联重复 (STR)
	散在重复序列 长散在核元件和短散在核元件 (非 ITR 或 polyA 区转录产物) ITR 反转录转座子，反转录病毒元件 DNA 转座子
多基因家族和假基因	多：某一祖先基因经过重复和变异所产生的一组基因

6. 简述临床分子生物标志物应具备的特征

- 1、该标志物在临床上是否有可行的检测方法
- 2、该分子生物标志物是否增加新的信息
- 3、判断生物标志物是否有有助于医生对患者的处理

7. 简述生物标志物的发现与评价“五阶段”方法。

- 1、临床前的探索性研究。

筛选的标志物要具有诊断、预后或治疗（预测性的）价值，具有潜在的临床应用价值。

- 2、建立可在临床应用的检测方法，这些检测方法应具有良好的重复性

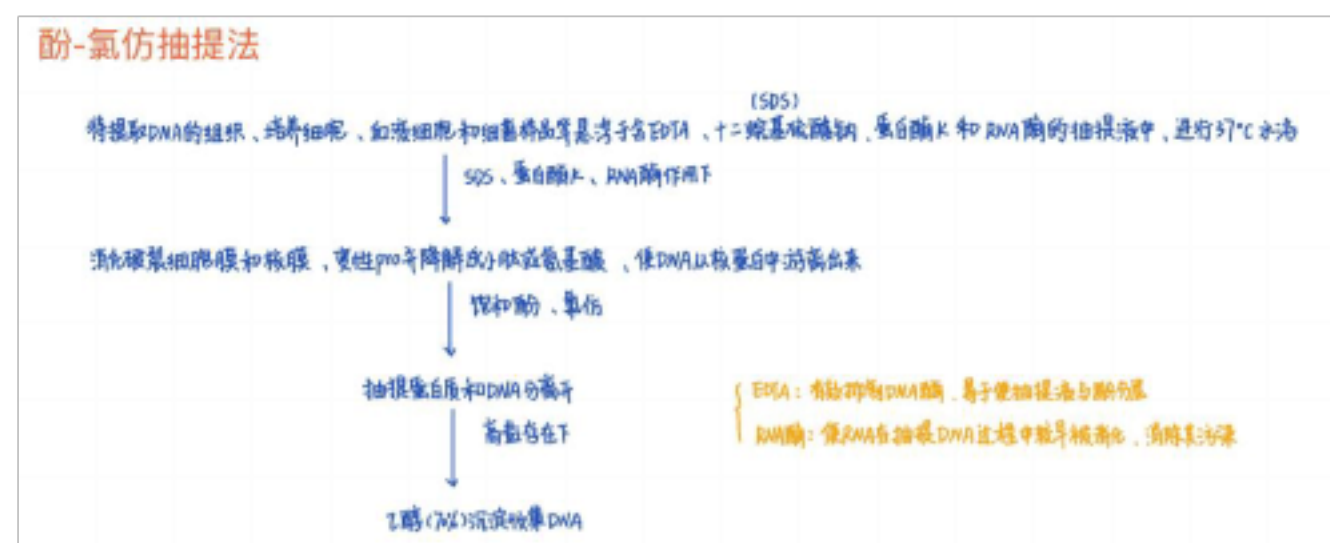
- 3、针对临床上还未能进行检测的疾病进行试验，对生物标志物的灵敏度和特异性进行评价，用于检测已经在临床上发现的疾病。
- 4、要在前瞻性队列研究中评估分子生物标志物的灵敏度和特异性。
- 5、在筛选的人群中对新的诊断方法进行效益/风险评估

第三章 临床标本处理与分离纯化技术

2 简述临床标本处理的一般原则。

- 1、标本采集的时间和注意事项
- 2、标本的类型和数量
- 3、标本采集部位的准备
- 4、标本的运送
- 5、标本的保存
- 6、标本处理中的生物安全问题

3.简述酚-氯仿抽提法的基本原理。



4.简述碱裂解法提取质粒 DNA 的原理。

在 pH 值 12~12.6 的碱性条件下，染色体 DNA 氢键断裂，双螺旋结构解开而变性。质粒 DNA 大部分氢键也断裂，但超螺旋共价闭合环状的两条互补链不会完全分离，调节其 pH 值至中性时，变性的质粒 DNA 复性，以原来的构型存在于溶液中，而染色体 DNA 不能复性而形成缠连的网状结构，离心后，染色体 DNA 与不稳定的大分子 RNA、蛋白质—SDS 复合物等一起沉淀下来而被除去。

第四章

一、名词解释

核酸分子杂交: 单链的核酸分子在合适的条件下，与具有碱基互补序列的异源核酸形成双链杂交体的过程

核酸探针: 能与靶核酸序列发生碱基互补杂交，并能由其标记被特异性检测的核酸分子

液相杂交: 待测核酸和探针都存在于杂交液中，探针与待测核酸在液体环境中按照碱基互补配对形成杂交分子的过程

原位杂交: 应用核酸探针与组织或细胞中的核酸按碱基互补配对原则进行特异性结合形成杂交体，然后应用组织化学或免疫组织化学方法在显微镜下进行细胞内定位的技术

DNA 芯片: 通过微阵列技术将大量已知序列的寡核苷酸片段或基因片段作为探针，有序地、高密度地排列固定于支持物上，然后与荧光标记的待测生物样品中的靶核酸分子根据碱基配

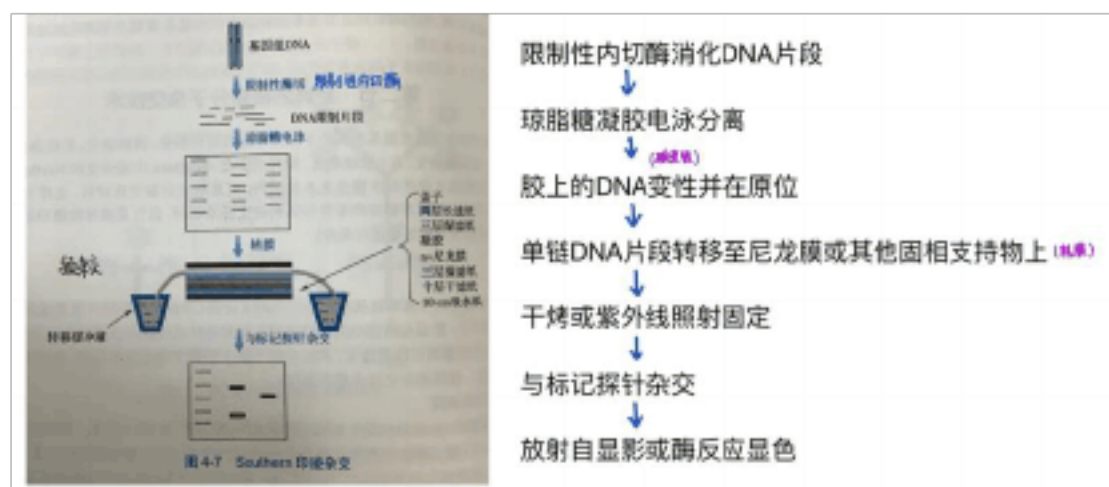
对的原则进行杂交，通过检测分析杂交信号的强度及分布，对基因序列及功能进行大规模、高通量的研究

二、简答题

2.简述探针标记方法

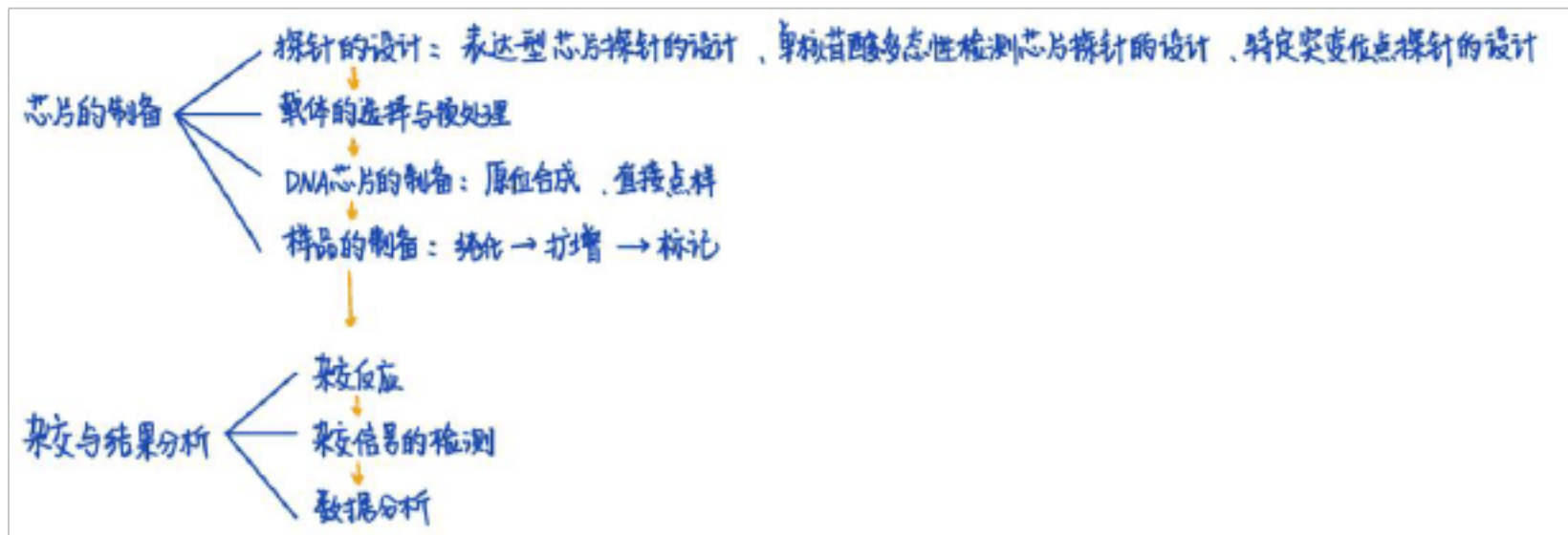
探针标记方法的选择	
随机引物标记	<p>最常用的DNA探针标记方法</p> <p>将标记物掺入与随机引物相结合的DNA中，在标记dNTP存在的情况下，DNA聚合酶I的5'→3'聚合酶活性延伸产生标记的DNA</p>
DNA末端标记	<p>DNA末端标记</p> <p>DNA聚合酶I在DNA的3'末端延伸核苷酸，利用其DNA聚合酶I的5'→3'外切酶活性以新产生的3'末端核苷酸为底物，并和DNA聚合酶I的5'→3'聚合酶活性在5'-OH末端与模板结合的核苷酸，DNA由5'端向3'端延伸</p>
全长DNA探针标记	<p>将标记物掺入到DNA的3'末端，随后在DNA聚合酶I或DNA连接酶的作用下，将标记物掺入到DNA的3'末端</p>
3'末端标记	<p>3'末端标记</p> <p>标记物 + 核苷酸 + 3'末端 → 3'末端标记</p> <p>DNA末端标记：将标记物掺入到DNA的3'末端，与标记的DNA一起延伸，可得到标记的3'末端核苷酸或dNTP (如腺嘌呤核苷酸)：标记物 + 3'末端核苷酸 → 3'末端标记</p>
5'末端标记	<p>5'末端标记</p> <p>DNA + DNA → 5'末端标记</p> <p>将标记物掺入到DNA的5'末端，与标记的DNA一起延伸，可得到标记的5'末端核苷酸</p>

4.简述 Southern 印迹杂交的原理



5.简述 DNA 芯片技术的主要步骤

DNA 芯片技术包括以下主要步骤：芯片的设计与制备、样品制备、杂交反应和信号检测以及结果分析。



6. 简述 DNA 芯片在医学中的应用

基因表达分析、基因型、基因突变和多态性分析、疾病诊断、药物筛查、指导用药及治疗方案、预防医学

第五章 酸体外扩增及定性检测技术

一、名词解释

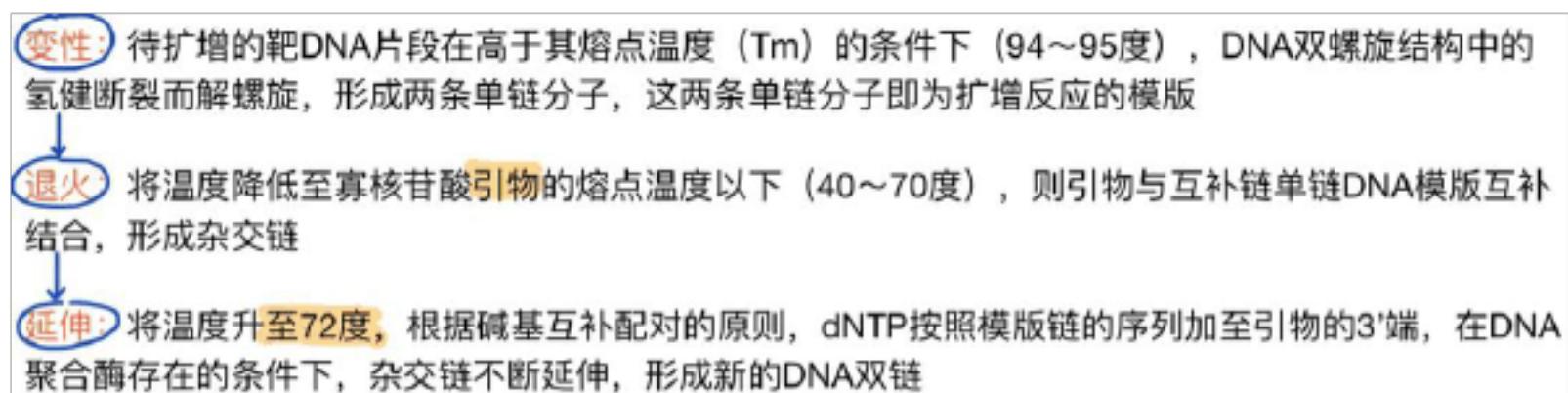
PCR: 模拟生物体内 DNA 的复制过程，在体外（试管内）通过酶促反应合成特异 DNA 片段的方法

探针序列扩增: 指靶 DNA 的数量不变，通过扩增特异结合到靶序列上的探针序列达到检测靶序列的技术

信号扩增: 通过放大与标本中的靶序列结合的信号以达到检测靶 DNA 的目的

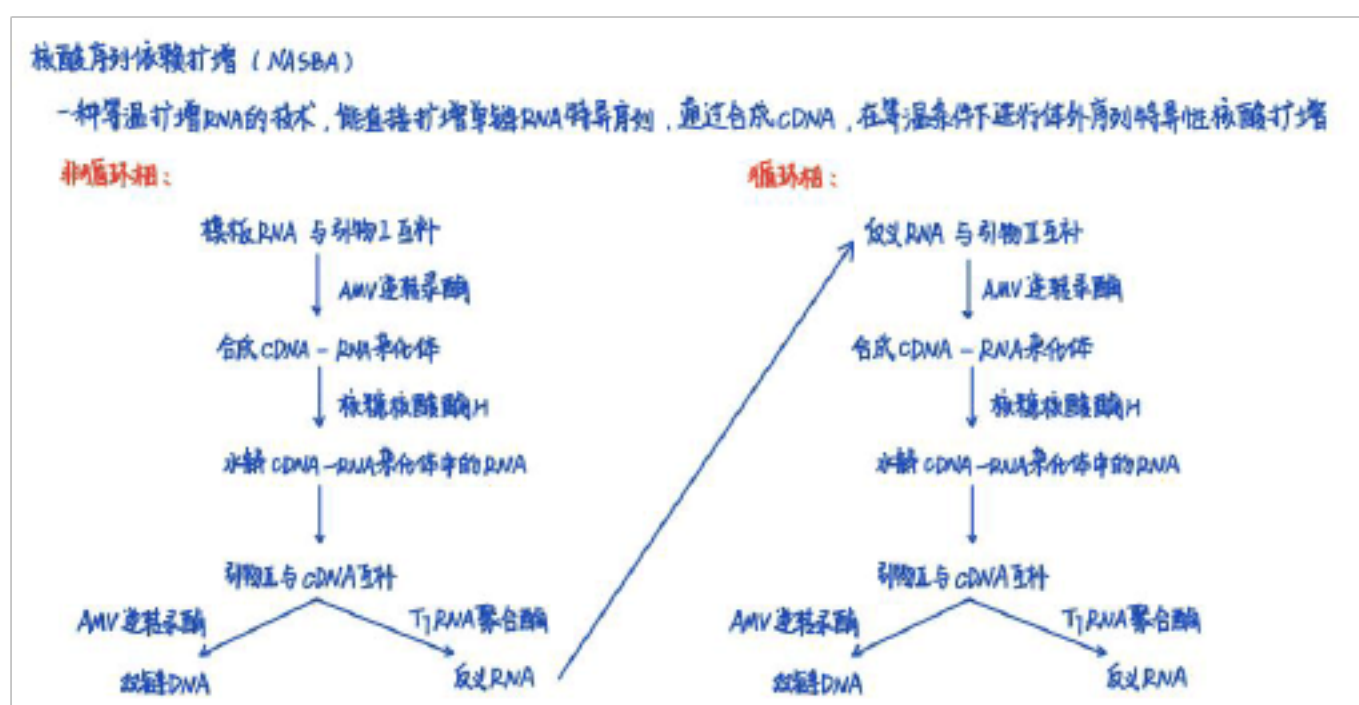
二、简答题

1. 简述 PCR 的反应体系和反应步骤。



反应体系：模板、引物、脱氧核苷三磷酸（dNTP）、DNA 聚合酶、缓冲液

4. 简述核酸序列依赖扩增的原理。

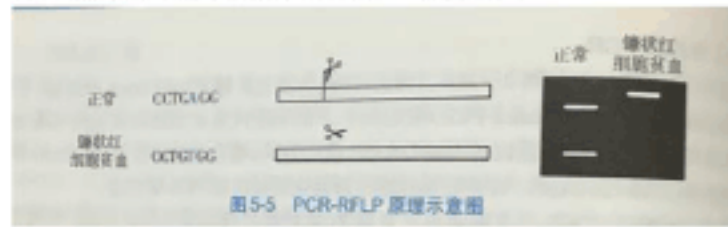


5. 简述 PCR 产物分析的主要技术及其原理。

三、PCR产物分析

1 PCR-限制性片段长度多态性 PCR-RFLP

采用特定的限制性内切酶对PCR产物进行处理，对酶切后的片段长度进行多态性分析，用以判断在酶切位点是否存在点突变的一种方法



2 PCR-等位基因特异性寡核苷酸 PCR-ASO

采用寡核苷酸探针与PCR产物杂交以检测点突变的技术

3 PCR-单链构象多态性 PCR-SSCP

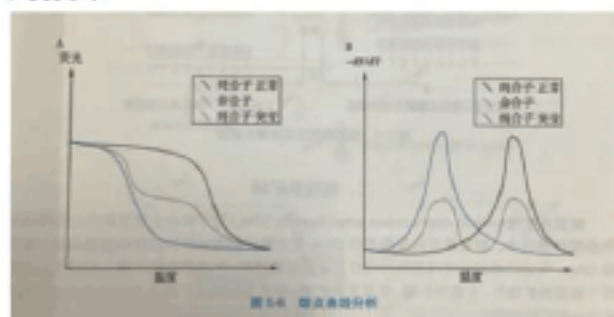
根据单链DNA分子能自发地形成二级结构，且二级结构的空构象取决于DNA分子本身的碱基组成，一个碱基的差别即可导致所形成的二级结构改变的原理发展起来的一项技术

4 变性梯度凝胶电泳 DGGE

根据DNA双链分子局部变性为单链使电泳迁移率下降的特性，采用梯度变性胶来分离DNA片段的技术
GC夹：引物的5'端加上一个30~40bp的GC结构，经PCR扩增后其产物的一侧形成一个高熔点区，而相应的感兴趣的序列在低熔点区

5 熔点曲线分析

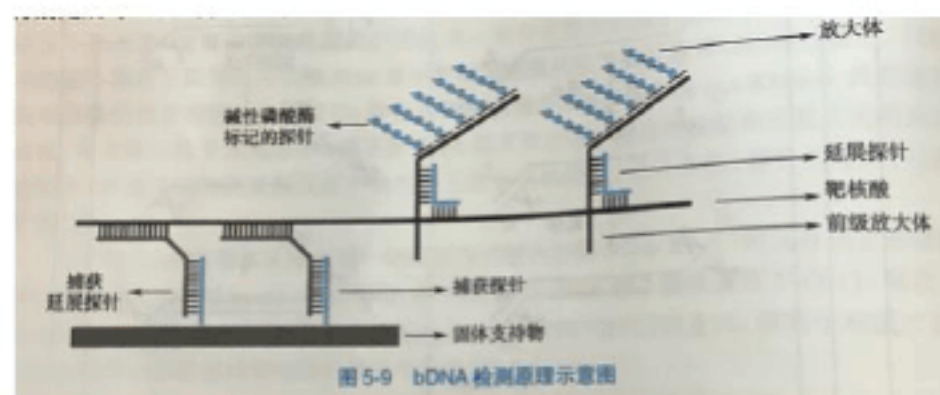
根据野生序列和突变序列的 T_m 值不同，产生的熔点曲线不同的特点设计的一种检测核酸突变和多态性的技术



6. 简述分支 DNA 的基本原理。

一、分支DNA bDNA Δ

一种不依赖PCR扩增的、基于分支探针的核酸杂交信号放大检测技术



第六章 核酸实时定量检测技术

一、名词解释

实时荧光定量 PCR 技术: 在 PCR 反应体系中加入荧光基团, 利用荧光信号累积实时监测整个 PCR 反应进程, 最后通过相关数据分析方法对目的基因进行定量分析的技术

扩增曲线: 在实时荧光 PCR 扩增的过程中, 对整个 PCR 反应扩增过程进行了实时的检测和连续地分析扩增相关的荧光信号, 随着反应时间的进行, 检测到的荧光信号的变化可以绘制成一条以循环数为横坐标, 以 PCR 反应过程中实时荧光强度为纵坐标所做的曲线

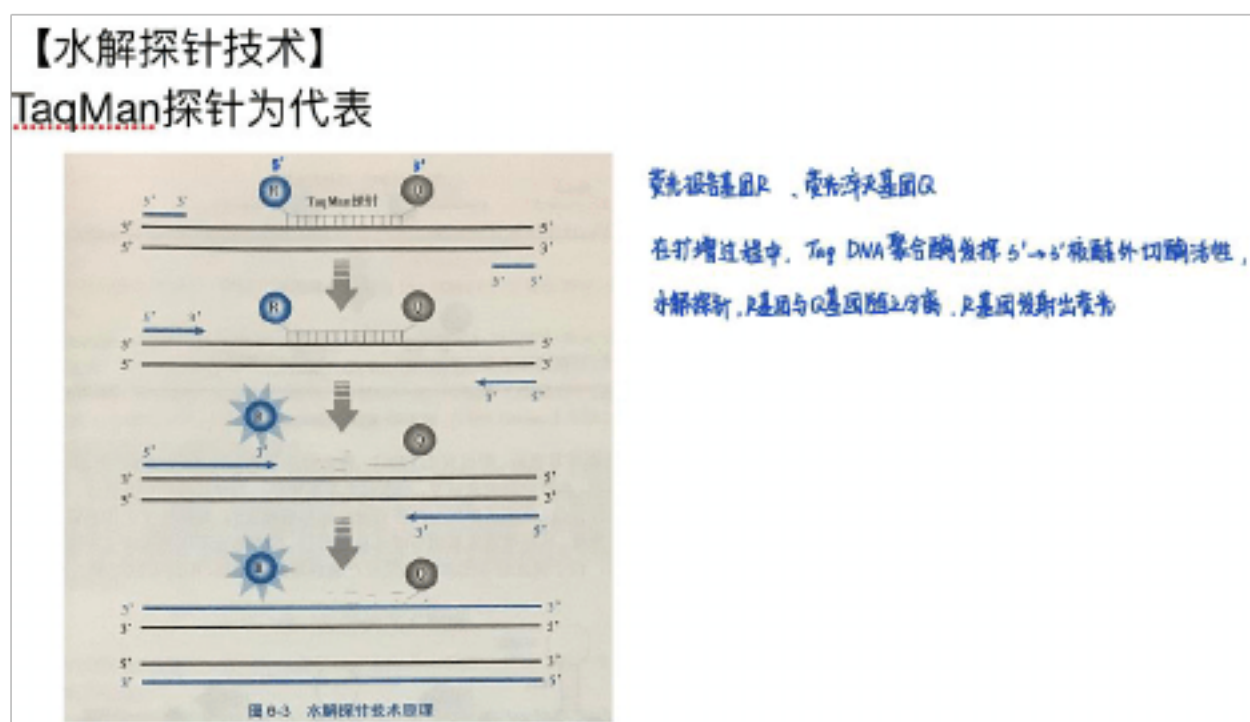
荧光阈值: 在实时荧光定量 PCR 扩增曲线上人为设定的一个值, 它可以设定在指数扩增阶段的任意位置

循环数: PCR 扩增过程中扩增产物的荧光信号达到设定的荧光阈值所经过的循环次数

扩增效率: PCR 反应一个循环后的产物增加量与这个循环的模板量的比值

二、简答题

1. 简述实时荧光定量 PCR 中水解探针技术的原理。



4. 简述实时荧光定量 PCR 探针设计的基本原则。

1. 引物的最适长度为 15~20nt, GC 含量在 20%-80%(45%-55%最佳)。
2. TaqMan 引物的 Tm 值最好应在 68~70℃, 分子信标和杂交探针相关引物的 Tm 值变化区间可大一些, 但对于同一对引物而言, 其 Tm 值应接近, 差异不要超过 2℃。
3. 为了减少非特异扩增, 引物的 3' 端最好不为 G 或/和 C。引物 3' 端的 5 个碱基不应出现 2 个 G 或/和 C。
4. 如果用 SYBR Green I 方法, 引物应尽量避免形成明显的引物二聚体。
5. 扩增片段的长度根据所采用的技术不同有所区别: SYBR Green I 技术通常要求扩增片段不大于 300bp, TaqMan 探针技术要求扩增片段应在 50~150bp, 不能超过 400bp。

5. 简述临床基因扩增实验室的设置及实验室工作的基本原则。

临床基因扩增检验实验室应设有 4 个工作区域, 包括试剂准备区、标本制备区、扩增区和扩增产物分析区。

基本原则:

1. 进入各工作区域应严格遵循单一方向顺序, 即从试剂准备区→标本制备区→扩增区→产物分析区;
2. 各工作区域有明确的标记, 仪器设备和办公用品不能混用;
3. 各工作区域有专用的工作服, 可用不同的颜色区别, 各区域的工作服不能带离该区域;

4. 清洁实验室应按试剂准备区→标本制备区→扩增区→产物分析区的方向进行。不同的实验区域用该区专用的清洁用具；
5. 实验结束后立即清洁工作台面；
6. 实验室的安全工作制度和安全操作应符合《实验室生物安全通用要求》

第七章 核酸序列分析

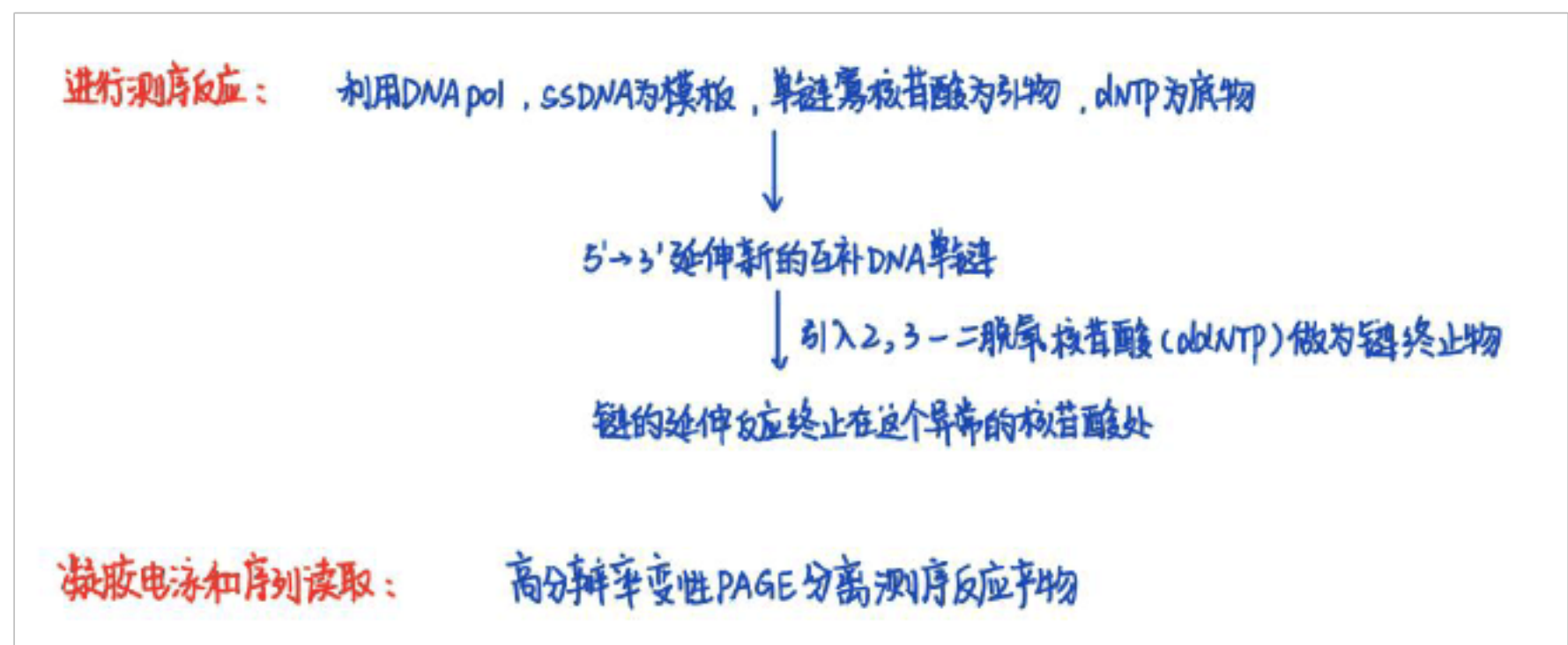
一、名词解释

边合成边测序：以四种标记不同荧光染料的碱基(dNTP)为底物，待检测样品的单链 DNA 为模板，模拟 DNA 复制过程，在复制过程中，检测与模板 DNA 链上结合的碱基上含荧光染料的信号，从而得到 DNA 模板序列的方法

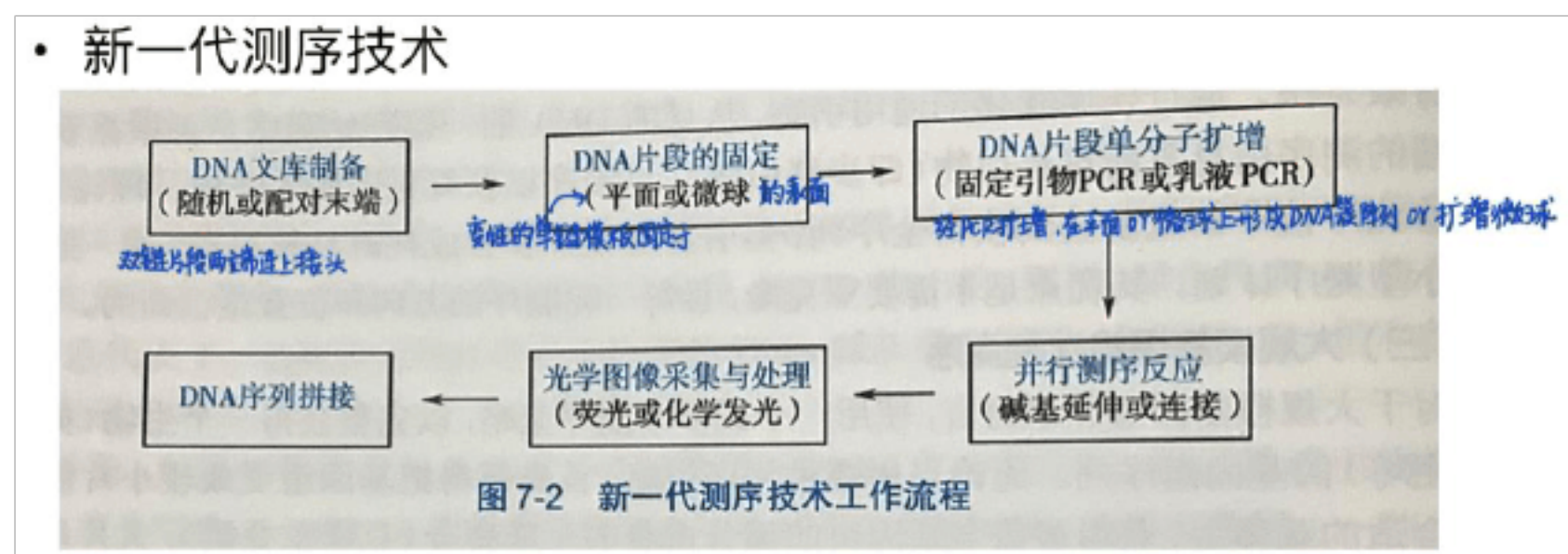
焦磷酸测序：适于对已知短序列的测序分析，重复性和精确性好，速度大大提高。读长已超过 500bp，是一种高通量、低成本新一代测序技术。

二、简答题

1. 简述双脱氧链终止法测序原理。



2. 简述第二代测序技术的基本原理。



4. 简述如何查询核算数据库的基因序列。

第二十三章 DNA 重组和重组 DNA 技术

一、名词解释

DNA 重组：DNA 分子内或分子间发生的遗传信息的重新共价组合

重组 DNA 技术：通过体外操作将不同来源的两个或两个以上的 DNA 分子重新组合，并在适当细胞中扩增形成新的功能分子的技术

转座重组：由插入序列和转座子介导的基因位移或重排

克隆：来自同一始祖的相同副本或拷贝的集合

载体：是为携带目的外源 DNA 片段、实现外源 DNA 在受体细胞内无性繁殖或表达有意义的蛋白质所采用的一些 DNA 分子

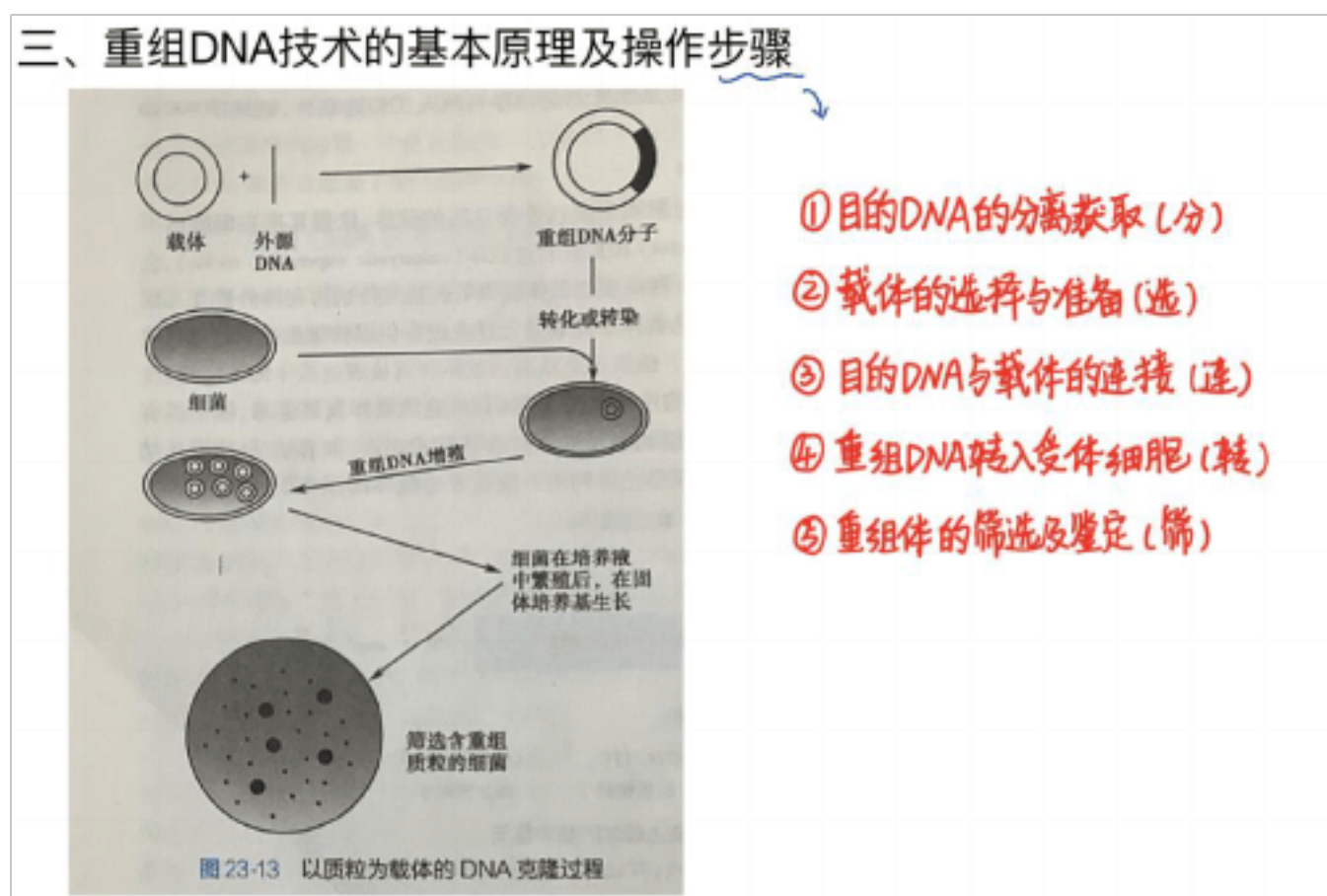
转化：指将外源 DNA 导入细菌、真菌的过程

转染：指外源 DNA 直接导入真核细胞（酵母除外）的过程

感染：指以病毒颗粒作为外源 DNA 运载体导入宿主细胞的过程

二、简答题

2、简述重组 DNA 技术基本原理及操作步骤。



3、简述分离获取目的基因的方法。

化学合成法

从基因组文库和 cDNA 文库中获取目的 DNA

PCR 法

其他方法

第二十五章 基因结构分析和疾病相关基因鉴定克隆

一、名词解释

转基因技术：是指将外源基因导入受精卵或胚胎干细胞（embryonic stem cell），即 ES 细胞，通过随机重组使外源基因插入细胞染色体 DNA，随后将受精卵或 ES 细胞植入假孕受体动物的子宫，使得外源基因能够随细胞分裂遗传给后代

转基因动物：是指应用转基因技术培育出的携带外源基因，并能稳定遗传的动物

基因敲入：是通过同源重组的方法，用某一基因替换另一基因，或将一个设计好的基因片段

插入到基因组的特定位置，使之表达并发挥作用

基因打靶：一种按预期方式准确改造生物遗传信息的实验手段

基因敲除：在 ES 细胞中定点破坏内源基因，然后利用 ES 细胞发育的全能性，获得带有预定基因缺陷的杂合子，通过遗传育种最终获得目的基因缺陷的纯合个体

RNA 干扰技术：利用 RNAi 能在短时间内高效特异地抑制靶基因表达的特点，可以很方便地研究基因的功能

miRNA 技术：通过与 mRNA 不完全互补配对结合而抑制翻译，一种 miRNA 可沉默多个靶基因

第二十六章 基因诊断和基因治疗

一、名词解释

DNA 指纹：除同卵双生的个体外，人与人之间的某些 DNA 序列特征具有高度的个体特异性和终生稳定性

基因治疗：将目的基因导入靶细胞，使之成为宿主细胞遗传物质的一部分，目的基因表达产物对疾病起治疗的作用

二、简答题

1、简述基因治疗的基本策略。

基因治疗的基本策略主要是围绕致病基因

(一) 缺陷基因精确的原位修复基因治疗的理想方法

对致病基因的突变碱基进行纠正的基因矫正 + 用正常基因通过重组原位替换致病基因的基因置换

(二) 基因增补是目前临床上使用的主要基因治疗策略

(三) 可用基因沉默或失活

(四) 自体基因

第二十七章 组学与系统生物学

一、名词解释

基因组：是指一个生命单元所拥有的全部遗传物质（包括核内和核外遗传信息），其本质就是 DNA/RNA

基因组学：是阐明整个基因组的结构、结构与功能关系以及基因之间相互作用的科学

转录组：指生命单元所能转录出来的全部转录本，包括 mRNA、rRNA、tRNA 和其它非编码 RNA 的总和

转录组学：是在整体水平上研究细胞编码基因（编码 RNA 和蛋白质）转录情况及转录调控规律的科学

蛋白质组学：以所有蛋白质为研究对象，分析细胞内动态变化的蛋白质组成、表达水平与修饰状态，了解蛋白质之间的相互作用与联系，并在整体水平上阐明蛋白质调控的活动规律，故又称为全景式蛋白质表达谱（global protein expression profile）分析

代谢组学：就是测定一个生物/细胞中所有的小分子（Mr < 1 000 d）组成，描绘其动态变化规律，建立系统代谢图谱，并确定这些变化与生物过程的联系

糖组学：侧重于糖链组成及其功能的研究，其主要研究对象为聚糖，具体内容包括研究糖与糖之间、糖与蛋白质之间、糖与核酸之间的联系和相互作用

糖组：指单个个体的全部聚糖，糖组学则对糖组（主要针对糖蛋白）进行全面的分析研究，包括结构和功能两方面内容，可为结构糖组学（**structural glycomics**）和功能糖组学（**functional glycomics**）两个分支

脂组学：就是对生物样本中脂质进行全面系统的分析，从而揭示其在生命活动和疾病中发挥的作用

系统生物学：是系统性研究一个生物系统中所有组成成分（基因、mRNA、蛋白质等）的构成以及在特定条件下这些组分间的相互关系，并分析生物系统在一定时间内的动力学过程

系统生物医学：应用系统生物学原理与方法研究人体（包括动物和细胞模型）生命活动的本质、规律以及疾病发生发展机制，实际上就是系统生物学的医学应用研究

分子医学：就是从分子水平阐述疾病状态下基因组的结构、功能及其表达调控规律，发展现代高效预测、预防、诊断和治疗手段

精准医学：全面推动个体基因组研究，依据个人基因组信息“量体裁衣”式制定最佳的个性化治疗方案，以期达到疗效最大化和副作用最小化

转化医学：强调以临床问题为导向，开展基础—临床联合攻关，将基因组学等各种分子生物学研究成果迅速有效的转化为可在临床实际应用的理论、技术、方法和药物

二、简答题

4、简述功能基因组学的主要研究内容。

结构基因组学：通过人类基因组作图和大规模序列测定，揭示基因组的全部 DNA 序列及其组成。

比较基因组学：通过模式生物基因组之间或模式生物与人类基因组之间的比较和鉴定，为研究生物进化提供依据。

功能基因组学：利用结构基因组学所提供的信息，分析和鉴定基因组中所有基因的功能。

6、简述研究蛋白质相互作用常用的方法。

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/685300324221011110>