《分子生物学及实验》教学大纲（理论）

（授课对象：临床“5+3”一体化，儿科学；临床医学+麻醉；眼视光；口腔“5+3”；智能医学工程专业）

前 言

进入21世纪以来，随着人类基因组计划的完成，医学分子生物学的发展十分迅速，使得医学院校分子生物学教学面临着新的挑战。在医学基础课中完成的生物化学与分子生物学基础知识如何在科研和临床应用中进一步理解？如何能够及时学习和应用新的分子生物学理论和技术？这些问题是学习分子生物学知识要重点解决的问题。本课程正是适应分子生物学的迅速发展，在介绍基本知识、基本理论和基本技能的基础上，尽可能包含相关领域的较新进展、新知识及其对医学的影响。内容包括四部分：分子生物学常用技术、基因结构与功能分析、基因诊断和基因治疗、分子生物学在临床中的应用。

本大纲为临床专业学科教学的指导性纲要。按照本校临床专业教学计划，本学科为32学时，理论课16学时，实验课16学时。教学内容分三级要求：第一级是学生必须掌握的内容，教师通常采用理论课讲授，要求学生理解，记忆并能融会贯通，亦为考试的重点。第二级是熟悉内容，教师应选择性讲授，未讲授部分提供相关参考书籍及文献由学生自学，并制定适当的考核范围和形式。第三级为了解内容，供学有余力的学生自学，教师亦可选择性的教授，但不应在考试范围内。在讲授过程中为了适应本学科当前的发展，可以适当介绍一些与授课内容有关的新进展，也可对教材中不妥之处加以修正或质疑。大纲后所附书目供教学参考，学时分配根据发展或具体教学实际而酌情变更。

第一章 分子生物学常用技术（4学时）

1. 教学目的
2. 掌握常见分子生物学技术的原理和方法
3. 熟悉分子生物学的概念和意义
4. 了解分子生物学技术的最新进展
5. 教学内容
6. 分子杂交和印迹技术
7. Southern Blotting
8. Northern Blotting
9. Western Blotting
10. 原位杂交、IHC/IF
11. PCR技术的原理和应用
12. PCR技术原理
13. PCR技术的方法和步骤
14. PCR技术的应用
15. 基因测序的基本原理
16. Sanger双脱氧法测序和Gilbert化学修饰降解法测序
17. 二代测序
18. 基因文库
19. 基因库的分类及其在建设中的客观意义
20. 基因组文库的构建过程和原理
21. cDNA文库的构建过程和原理
22. 基因库的筛选
23. 生物芯片技术
24. 基因芯片的原理和方法
25. 蛋白质芯片的原理和方法
26. 生物大分子相互作用的研究技术
27. Co-IP、酵母双杂交技术
28. 凝胶阻滞实验（EMSA）、染色质免疫沉淀(ChIP)
29. 教学学时安排

4.0学时

1. 教学方法

课堂讲授配合多媒体教学为主，传统板书为辅

第二章 基因结构与功能分析（4学时）

第一节 基因结构分析技术

1. 教学目的
2. 掌握原核生物基因的启动子结构分析技术及转录起始点的分析技术
3. 熟悉真核生物基因的测序技术
4. 了解基因拷贝数和编码序列的分析技术
5. 教学内容
6. 基因的一级结构解析技术
7. Sanger双脱氧末端法测定基因序列
8. 二代测序法测定基因序列
9. 基因转录起始点分析技术
10. 基因启动子结构分析技术
11. 虫荧光素酶报告质粒实验
12. 染色质免疫共沉淀实验( ChIP、qChIP、ChIP seq)
13. 电泳凝胶阻滞实验（EMSA）
14. 基因编码序列分析技术
15. 基因拷贝数分析
16. 教学学时安排

2学时

1. 教学方法

课堂讲授配合多媒体教学为主，传统板书为辅

第二节 基因表达产物分析技术

1. 教学目的
2. 熟悉常用的RNA分析技术
3. 了解多肽和蛋白的常用分析技术
4. 教学内容
5. 通过检测RNA而在转录水平分析基因表达
6. 低通量：Northern blot、RT-PCR、qPCR
7. 高通量：micro-array、RNA sequence
8. 通过蛋白质/多肽链在翻译水平分析基因表达
9. 低通量：免疫印迹（Western blot）、免疫组织化学（IHC）、免疫荧光（ IF）
10. 高通量：蛋白质芯片、二维电泳
11. 教学学时安排

1学时

1. 教学方法

课堂讲授配合多媒体教学为主，传统板书为辅

第三节 基因的生物学功能鉴定技术

1. 教学目的
2. 掌握基因敲除的经典策略和siRNA的工作原理
3. 熟悉各种功能缺失的策略
4. 了解功能获得的策略
5. 教学内容
6. 基因功能获得（DNA重组和过表达）
7. 功能缺失的策略
8. DNA层面，基因敲除：cre-loxp系统、CRISPR/CAS9系统
9. RNA层面，基因敲低：siRNA
10. 蛋白层面，基因敲低：TRIM-AWAY
11. 其它：活性抑制、中和抗体及显性负效应
12. 随机突变筛选策略
13. 教学学时安排

1学时

1. 教学方法

课堂讲授配合多媒体教学为主，传统板书为辅

第三章 基因诊断和基因治疗（4学时）

第一节 基因诊断的概念

1. 教学目的
2. 掌握基因诊断的概念
3. 熟悉基因诊断的基本步骤。
4. 了解基因诊断中的定性和定量分析
5. 教学内容
6. 概述※
7. DNA是基因诊断的主要对象※
8. 基因诊断
9. 分子诊断：分子诊断包括DNA修饰，RNA表达，蛋白表达等多方面
10. 基因诊断包括定性分析和定量分析※
11. 1. 定性分析：基因分型（序列特征分析）、基因突变分析、检测是否存在外源基因
12. 2. 定量分析：测定基因拷贝数、分析基因表达产物
13. 基因诊断操作的四个基本步骤※
14. DNA的提取（方法和步骤）
15. 目的基因碎片化与文库构建
16. 测序
17. 数据分析
18. 教学学时安排

1学时

1. 教学方法

课堂讲授配合多媒体教学为主，传统板书为辅

第二节 基因诊断技术的方法学

1. 教学目的
2. 掌握基因诊断的直接诊断中基因缺失或插入的诊断、点突变的诊断、动态突变的诊断方法
3. 掌握基因诊断间接诊断中用于连锁分析的遗传标志、连锁分析的主要方法和检测原理
4. 教学内容
5. 针对遗传病致病突变的直接诊断※
6. 基因缺失或插入的诊断
7. 点突变的诊断
8. 动态突变的诊断
9. 利用遗传标志连锁分析间接检测遗传病※
10. 用于连锁分析的遗传标志
11. 间接诊断的概念、限制性内切酶的作用
12. 连锁分析的主要方法

基于短串联重复（STR）的微卫星分析

基于SNP的单倍型分析

1. 教学学时安排

1学时

1. 教学方法

课堂讲授配合多媒体教学为主，传统板书为辅

第三节 基因诊断的医学应用

1. 教学目的
2. 掌握基因诊断在医学领域的应用
3. 教学内容
4. 采用基因检测进行疾病诊断性检测和症状前检测※
5. 遗传性疾病的诊断性检测和症状前检测
6. 多基因常见病的预测性诊断
7. 传染病病原体检测
8. 基因诊断是遗传病预防的重要技术手段※
9. 遗传筛查和产前诊断
10. 植入前遗传诊断
11. 基因诊断可用于临床用药指导和疗效评价※
12. DNA指纹鉴定是法医学个体识别的核心技术
13. 教学学时安排

0.5学时

1. 教学方法

课堂讲授配合多媒体教学为主，传统板书为辅

第四节 基因治疗的策略和基本程序

1. 教学目的
2. 掌握基因治疗的概念、方法、基本程序
3. 熟悉基因转移的载体和生物学方法
4. 了解基因转移的非生物学方法
5. 教学内容
6. 基因治疗的策略※
7. 对缺陷基因进行精确的原位修复
8. 基因矫正（gene correction）
9. 基因置换（gene replacement）
10. 基因增补（gene augmentation）
11. 基因沉默 (gene silencing)
12. 基因失活（gene inactivation）
13. 基因干预（gene interference）
14. 反义RNA技术
15. 核酶技术
16. RNA干扰
17. 基因治疗的基本程序※
18. 选择治疗基因：以正常基因代替致病基因，在细胞内产生有正常功能的蛋白质为治疗目的
19. 选择携带治疗基因的载体
20. 病毒载体系统：病毒具有靶细胞定向感染性和寄生性
21. 非病毒载体系统
22. 几种常见基因载体的优缺点
23. 选择基因治疗的靶细胞
24. 造血干细胞（hematopoietic stem cell，HSC）
25. 皮肤成纤维细胞
26. 肌细胞：Duchenne肌营养不良的基因治疗
27. 导入治疗基因
28. 间接体内疗法（ex vivo）
29. 直接体内疗法（in vivo）
30. 治疗基因表达的检测
31. 基因转移的方法※
32. 非生物学方法：较病毒载体安全，但效率低
33. 生物学方法
34. 教学学时安排

1学时

1. 教学方法

课堂讲授配合多媒体教学为主，传统板书为辅

第五节 基因治疗的临床应用现状

1. 教学目的
2. 了解基因治疗在临床中的应用
3. 教学内容
4. 用正常基因替代错误基因治疗遗传病※
5. 单基因遗传病
6. 代谢性遗传病
7. 肿瘤的基因治疗可在多个环节进行※
8. 针对癌基因的治疗
9. 针对抑癌基因的基因治疗
10. 针对免疫系统的基因治疗
11. 自杀基因治疗或酶药物前体疗法
12. 抗血管生成基因治疗
13. 心脑血管病的基因治疗※
14. HIV感染的基因治疗策略是抑制病毒复制或提高机体的免疫功能※
15. 直接干扰HIV病毒复制
16. 增强机体的免疫功能
17. 造血干细胞用于抗HIV-1基因治疗
18. 开展基因治疗必须遵守国家法规※
19. 教学学时安排

0.5学时

1. 教学方法

课堂讲授配合多媒体教学为主，传统板书为辅

第四章 分子生物学在临床中的应用（4学时）

第一节 细胞增殖的分子机制与肿瘤

1. 教学目的
2. 掌握细胞周期的概念以及细胞周期调节蛋白的种类和功能
3. 掌握细胞周期检验点的概念和重要节点控制机制
4. 掌握癌基因和抑癌基因的功能与调控
5. 熟悉肿瘤标志物在癌症诊断和疾病检测中的应用
6. 熟悉肿瘤的免疫治疗和靶向治疗的机制
7. 教学内容
8. 细胞周期的概念以及细胞周期调节蛋白的种类和功能

细胞周期是真核生物细胞所经历的固有的顺序事件，包括G0、G1、S、G2和M期。

1. 调节细胞周期的重要蛋白分子，包括Cyclin, CDK and CKI等
2. 细胞周期检验点的概念和重要节点控制机制
3. 细胞周期检验点是不同时期转换的关卡，调节细胞周期的关键环节
4. 细胞周期检验点的控制机制：调控重要节点的Cyclin, CDK 和CKI分子及功能
5. 癌基因和抑癌基因※
6. 癌基因是一类能够促使细胞异常增殖和引发癌症的基因，常见的癌基因包括RAS基因家族、HER2基因、MYC基因等。
7. 抑癌基因是一类在正常细胞中起着抑制肿瘤发生作用的基因。常见的抑癌基因包括TP53、BRCA1、BRCA2等。
8. 肿瘤标志物在癌症诊断和疾病检测中的应用

肿瘤标志物是一些在患有特定类型癌症的人组织、血液或其他体液中能够检测到的生物分子，它们可以直接或间接反映出肿瘤的存在、类型、大小以及治疗反应等信息。利用肿瘤标志物可以进行早期诊断，疾病监测与复发预测，疾病分型与分级，评估治疗效果，指导个体化治疗，筛查高风险人群。

1. 肿瘤的免疫治疗

肿瘤的免疫治疗是一种利用患者自身免疫系统来对抗肿瘤的治疗方法。包括免疫检查点抑制剂、CAR-T细胞疗法、肿瘤疫苗等。

1. 肿瘤的靶向治疗

肿瘤的靶向治疗是一种针对肿瘤细胞特定分子或信号通路的治疗方法。包括酪氨酸激酶抑制剂、抗EGFR（表皮生长因子受体）治疗、抗HER2治疗、抑制血管生成、PARP抑制剂、免疫检查点抑制剂、PI3K/AKT/mTOR通路抑制剂等。

1. 教学学时安排

2学时

1. 教学方法

课堂讲授配合多媒体教学为主，传统板书为辅

第二节 细胞分化的分子机制与干细胞在临床中的应用

1. 教学目的
2. 掌握细胞分化的概念和相关分子机制
3. 掌握干细胞的特征和种类
4. 熟悉诱导性多能干细胞的概念以及获得方式
5. 熟悉干细胞在临床中的应用
6. 教学内容
7. 细胞分化的概念和相关分子机制
8. 胚胎细胞获得不同形态、结构和功能的过程是细胞分化的过程
9. 基因表达的时空和组织特异性决定了细胞处于不同的分化状态
10. 细胞分化过程受制于细胞内外环境的调控
11. Notch、Wnt和Hedgehog信号通路调节细胞分化
12. 干细胞的特征和种类
13. 干细胞具有自我分化和增殖的能力
14. 根据来源和分化能力分为多种干细胞
15. 诱导性多能干细胞的概念以及获得方式

诱导性多能干细胞（iPSC）是一种具有与胚胎干细胞类似的多能性的细胞类型，它们可以分化为几乎所有体细胞类型。与胚胎干细胞不同的是，iPSC并不需要从胚胎中提取，而是通过成体细胞重新编程而获得。

1. 干细胞在临床上的应用

干细胞特别是iPSC具有广泛的应用前景，包括疾病模型研究、药物筛选与发现、再生医学、个体化医疗等领域。它们可以用于研究特定疾病的机制，评估药物的疗效，甚至用于修复受损组织或器官。

1. 教学学时安排

1学时

1. 教学方法

课堂讲授配合多媒体教学为主，传统板书为辅

第三节 衰老和老年退行性疾病的分子机制

1. 教学目的
2. 掌握衰老概念和特征
3. 掌握衰老和老年退行性疾病的关系
4. 熟悉衰老过程受特定的基因控制
5. 熟悉线粒体DNA与衰老
6. 熟悉老年退行性疾病的分子机制
7. 教学内容
8. 衰老概述

衰老是一个自然的生物过程，它伴随着时间的推移而发生，包括身体各系统功能的逐渐减退和器官组织的结构变化。

1. 衰老过程受特定的基因控制。基因组中存在衰老相关基因和长寿相关基因
2. 线粒体DNA与衰老
3. 线粒体DNA的损伤和突变与衰老过程密切相关。随着年龄的增长，线粒体功能可能会下降，产生更多的活性氧化物质，导致细胞内氧化应激增加。
4. 一些老年病，如阿尔茨海默病、帕金森病、2型糖尿病等，与线粒体功能障碍和线粒体DNA的突变有关。
5. 衰老和老年退行性疾病的关系
6. 生理性衰老与疾病发生的关系
7. 老年退行性疾病的发病风险与年龄相关
8. 炎症与老年退行性疾病
9. 遗传因素与老年退行性疾病
10. 老年退行性疾病相互关联
11. 老年退行性疾病的分子机制
12. 阿尔茨海默病

β淀粉样蛋白的异常积聚、Tau蛋白异常磷酸化、氧化应激和炎症、突触失功能、乙酰胆碱水平降低、遗传因素。

1. 帕金森病

多巴胺的不足、α-突触核蛋白的聚集、线粒体功能障碍、氧化应激和炎症、钙离子失调、遗传因素。

1. 教学学时安排

1学时

1. 教学方法

课堂讲授配合多媒体教学为主，传统板书为辅

附表：

教学大纲与临床执业医师资格考试大纲内容衔接梳理一览表

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **临床执业医师资格考试大纲内容** | | | **课程教学大纲** | | |
| 单元 | 细目 | 要点 | 对应章节 | 目标要求 | 是否自主学习 |
| 十三、重组DNA技术 | 2．基因工程与医学 | （3）基因诊断 | 第三章第一、二、三节 | 掌握基因诊断的概念，直接诊断中基因缺失或插入的诊断、点突变的诊断、动态突变的诊断方法，间接诊断中用于连锁分析的遗传标志、连锁分析的主要方法和检测原理，基因诊断在医学领域方面的应用 | 否 |
| 十三、重组DNA技术 | 2．基因工程与医学 | （4）基因治疗 | 第三章第四、五节 | 掌握基因治疗的概念、方法、基本程序 | 否 |
| 十四、癌基因与抑癌基因 | 1．癌基因与抑癌基因 | （1）癌基因的概念 | 第四章第一节 | 掌握癌基因的功能与调控 | 否 |
| 十四、癌基因与抑癌基因 | 1．癌基因与抑癌基因 | （2）抑癌基因的概念 | 第四章第一节 | 掌握抑癌基因的功能与调控 | 否 |

《分子生物学及实验》教学大纲（实验）

（授课对象：口腔医学“5+3”一体化、临床医学（“5+3”一体化、儿科学）、临床医学、麻醉学、眼视光医学及智能医学工程专业用）

前言

课程的主要目的是为口腔医学(“5+3”一体化)、临床医学(“5+3”一体化，儿科学)、临床医学、麻醉学、眼视光医学及智能医学工程专业学生掌握实验室分子生物学的基本技术和技能。总学时16。

实验一 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳测定蛋白质分子量

一、教学目的

（一）掌握SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳（SDS-PAGE）的基本原理和流程

（二）理解SDS-PAGE与蛋白质分子量之间的关系

（三）了解考马斯亮蓝染色鉴定蛋白质

二、实验内容

（一）介绍SDS-PAGE和考马斯亮蓝染色鉴定蛋白质样品的基本原理

（二）SDS-PAGE分离蛋白质流程

准备试剂和材料

组装SDS-PAGE装置

上样和电泳

考马斯亮蓝染色鉴定蛋白质样品

（三）分析结果以确定样品的分子量

三、教学学时安排

4学时

四、教学方法

实验教学

实验二 基因组DNA提取与鉴定

一、教学目的

（一）掌握基因组DNA提取的方法步骤

（二）了解基因组DNA制备的主要原理及意义

二、实验内容

（一）介绍基因组DNA提取的基本原理

（二）提取鉴定基因组DNA

三、教学学时安排

4学时

四、教学方法

实验教学

实验三 RNA提取与鉴定

一、教学目的

（一）掌握RNA提取的方法步骤

（二）了解RNA制备的主要原理及意义

二、实验内容

（一）介绍RNA提取的基本原理

（二）提取鉴定RNA

三、教学学时安排

4学时

四、教学方法

实验教学

实验四 聚合酶链式反应技术（PCR）

一、教学目的

（一）掌握PCR反应的原理，学习PCR的方法，熟悉PCR扩增仪的使用

（二）了解模板DNA的提取

（三）了解PCR反应条件的优化及引物设计，了解PCR产物的检测

二、实验内容

（一）介绍聚合酶链式反应（PCR）的主要原理

（二）准备PCR反应体系，并在PCR热循环仪中完成反应

（三）通过电泳验证PCR产物

三、教学学时安排

4学时

四、教学方法

实验教学