

写在前面：更新补充了肿瘤学硕的题，总结了常见的实验技能原理步骤，建议大家结合B站或者网课加深记忆；专外汉英互译考的范围很广，再没时间题库的一定要牢牢背下来，此外结合肿瘤学教材词汇表，Tina 英语肿瘤医学词汇表，生化与分生词汇表；名解简答考的范围也是涵盖了肿瘤，免疫，细生，生化，分生，所以先把题库的掌握吧，这些是最有概率遇到的，此外可结合复试自用pdf的肿瘤学重点整理以及肿瘤学教材；并附上了其他学校肿瘤学学硕复试题和分子生物学的重点名解简答，时间充足的友友可以看看，分生那部分名解答案可参考九版人卫的生化与分子生物学P507的名词释义。

## 近三年肿瘤学学硕复试流程

### 线下 19 肿瘤学学硕

- 1.3 分钟以内的自我介绍（老师指定的中文自我介绍，前两天别的专业指定的英文自我介绍）。
- 2.听力：一段听力 30 秒（英语六级难度），放两遍，然后口述主要内容。
- 3.文献阅读并翻译：公屏上会共享一大段英文。然后主考老师指定你读第几句，读完之后翻

译。今年考的文献翻译很基础，基本没有专业课词汇，就是一个很简单长难句。

4.专业课问题：大家被问的都是一个开放性的专业课问题，没有标准答案，老师主要考察学生对专业课相关知识的理解和对学科方向前沿状况的了解。

5.综合提问（中文问题，中文回答）：一直是一个主问老师再问。大概的面试问题如下：

（1）你的家庭情况如何？你的父母是否支持你做科研？

（2）如果把你调剂到肿瘤学其他老师那里，你是否愿意接受？

（3）剩下的问题基本就是根据你的回答来问的，学生可以把握主导权，把老师往自己想要的方向上引导。比如我不停的跟老师说说我本科期间参加的大学生创新创业实验设计大赛，老师就会问我实验科研相关的内容。（做基础科研的困难有哪些？如何解决？/如何处理和师兄师姐的实验数据分歧问题？）

复试各项内容占比：英语口语占比 10%，专业英语占比 10%，专业知识占比 35%，能力考查占比 25%，综合素质占比 10%，报考材料占比 10%。

复试的准备：

1.提前准备复试相关的材料：《报考攻读硕士学位研究生登记表》，个人陈述登记表，身份证复印件，学历学位证书，《诚信复试承诺书》，个人简历，本科成绩单，专家推荐信等。

2.专业英语复习：《医学专业英语》，Tina 空中课堂公众号，医学专业英语术语的视频课。《肿瘤学》/《内科学》/《外科学》课后单词附录。专业方向文献综述等，英文版，通过阅读文献积累专业课相关词汇。

3.专业知识的复习：《肿瘤学概论》（北京大学医学部出版社，主编：季加孚），《哈内森内科学肿瘤分册》，《HARRISON'S PRINCIPLES OF INTERNAL MEDICINE》(Oncology and hematology 部分)

4.英语口语：日常练习读文献的摘要部分，考虫英语晨读课，英语流利说 app

5.英语听力：小程序考虫精听的六级听力部分，app 每日英语听力，扇贝听力，练习英语六级的听力真题。

6.自我介绍：中文版和英文版都要准备，在 3 分钟以内，每天对着镜子多加练习。

**7.实验操作：**MOOC 官网上有临床实验操作的视频课，在 B 站上也可以通过关键词搜索基础科研实验的操作视频。可以提前准备常考的基础实验操作，如：**1.**细菌的培养基划线接种，**2.PCR** 的原理及步骤，**3.**一定物质的量溶液的配制盐水配置，**4.**浓硫酸的稀释，**5.**血球板的计数，**6.**漏斗过滤的步骤，**7.**显微镜观察组织切片，**8.**移液管的使用及其注意事项，**9.**酵母菌计数，**10.western blot**，**11.**细胞培养。（以上均为保研或考研复试过程中考过是实验操作真题，务必认真准备。）

## **21 肿瘤学硕**

（1）实验操作：描述用显微镜观察切片的操作步骤。

（2）专业英语：英译汉三个，汉译英三个；

microsatellite instability 微卫星不稳定性；

the gastroesophageal junction 胃食管结合部

esophageal squamous cancer 食管鳞状细胞癌

免疫组化，

G 蛋白偶联受体，

免疫印迹；

(3) 名词解释：固有免疫，适应性免疫，细胞凋亡

第二场面试 (10min)

(1) 文献翻译：关于肿瘤微环境的，60 词左右，很简单，几乎没有生词。

(2) 你本科做的实验项目是关于什么的？

(3) 你在做实验的过程中有没有遇到过什么问题？如何解决的？

(4) 你做的实验项目并不是肿瘤方面的，为什么选择肿瘤学这个专业？

注意：文献翻译限时 1min，其余每个问题限时 2min

## 21 肿瘤学硕

实验技能

英语：分子生物学+肿瘤学的附录+n（老师的方向）

知识：三本肿瘤学，一本复旦出版的肿瘤学，一本北肿版肿瘤学，一本人卫的肿瘤学

综述：

hallmarks of cancer: next generation

hallmarks of cancer: new dimension

这些可以就报考意向导师的方向挑重点看

## 20 肿瘤学学硕

7:30 左右开始抽签决定今天的面试顺序。

第一天的复试内容（全部内容均口述完成，一个人大概 15 分钟左右）：

1. 专业英语：英译汉 2 个，汉译英三个。

2. 名词解释：3 个。

3. 简答题：一个（作答限时三分钟）。

4. 实验操作：一个（都是基本的实验操作，基础科研相关的，作答限时五分钟）。

复试真题：

英译汉\*2：

1. (The gastroesophageal junction) 胃食管连接处。

2. (esophageal squamous cancer) 食管鳞状细胞癌。

3. (triple negative breast cancer) 三阴乳腺癌。

4. (synthetic lethality) 合成致死。

5. (mass spectrum) 质谱。

6. (**microsatellite instability**) 微卫星不稳定: MSI (microsatellite instability) 是微卫星不稳定, MMR (mismatch repair) 是指基因错配修复功能。人类错配修复基因 (MMR 基因) 经转录翻译后可表达相应的错配修复蛋白, 如果任一 MMR 蛋白表达缺失可造成细胞的错配修复功能缺陷, 则对 DNA 复制过程中的碱基错配丧失修复功能而造成累积, 导致微卫星不稳定 (MSI) 的发生, 约 15% 的结直肠癌是经由 MSI 途径引发的。MSI 分为高度不稳定 (MSI-H)、低度不稳定 (MSI-L) 和稳定 (MS-S); MMR 分为错配修复功能缺陷 (dMMR) 和错配修复功能完整 (pMMR)。dMMR 等同于微卫星高度不稳定 (MSI-H), pMMR 则等同于微卫星低度不稳定 (MSI-L) 或微卫星稳定 (MSS)。

7. (neoadjuvant chemo/radiotherapy) 新辅助放化疗。

8. (intestinal gastric cancer) 肠型胃癌

1. proteasome 蛋白酶体

# 近五年肿瘤学学硕，直博题型分类整理汇总

汉译英\*3：

- 1.腹膜转移 (peritoneal metastasis)。
- 2.围手术期化疗 (Perioperative chemotherapy)。
- 3.胃癌根治术 (radical operation for carcinoma of stomach)。
- 4.聚合酶链式反应 (**Polymerase chain reaction**)。
- 5.始祖突变 (Founder mutations)。
- 6.杂合性缺失 (Absence of heterozygosity)。
- 7.免疫组化 (immunohistochemical)。
- 8.免疫印迹 (Western blot)。
- 9.G 蛋白偶联受体 (G protein coupled receptor)。
- 10.免疫检查点抑制剂 (Immunocheckpoint inhibitors)。
- 11.多学科联合治疗 (Multidisciplinary combination therapy)。
- 12.前瞻性临床研究 (Prospective clinical study)。
- 13.突变 (mutation)。
- 14.靶向治疗 (Targeted therapy)。
- 15.分子分型 (Molecular classification)。
- 16.检查点阻滞 (Checkpoint block)。

Mass spectrometry

胆囊炎；cholecystitis

transarterial chemosbolization；动脉化疗栓塞

thermotolerance；耐热性

portal hypertension；门静脉高压

pericardial tamponade，心包压塞

BMI；

环周切缘 (CRM)；

无病生存 (DFS)；

浸润性小叶癌；invasive lobular carcinoma

热休克蛋白；

多西他赛；

放射防护剂；radioprotectant

胰腺癌；pancreatic cancer

名词解释：

增强子，转录因子，核小体，受体，配体，主动免疫，分子分型，靶向治疗，突变，转移，肿瘤微环境，原癌基因，线粒体，组系突变，ADCC

- 1.自噬
- 2.细胞周期检查点。
- 3.第二信使。
- 4.糖异生
- 5.中心法则。
- 6.DNA 变性。

- 7.原位杂交。
- 9.能量代谢。
  - 1、糖的有氧氧化和无氧氧化
  - 2、蛋白质一级结构
  - 3、逆转录
  - 4、DNA 复性
  - 5、分子伴侣
  - 6、过氧化物酶体
  - 7、细胞分化
  - 8、缝隙连接
  - 9、细胞全能型
  - 10、应急反应
  - 11、稳态
  - 12、牵涉痛
  - 13、同工酶
- 1.酶的化学修饰调节
- 2.外显子
- 3.表观遗传学
- 4.马达蛋白质
- 5.干细胞
- 6.机会致病菌
- 7.cpe
  - 1.表观遗传学：研究基因的核苷酸序列不发生改变的情况下，基因表达的可遗传的变化的一门遗传学分支学科。
  - 2.基因编辑：
  - 3.流式细胞术：在细胞分子水平上通过单克隆抗体对单个细胞或其他生物粒子进行多参数、快速的定量分析
  - 4.糖酵解：
  - 5.酶
  - 6.凋亡
  - 7.外显子
  - 8.抗体
  - 9.纺锤体
  - 10.cancer stem cells
  - 11.telomerase 端粒酶（Telomerase），在细胞中负责端粒的延长的一种酶，是基本的核蛋白逆转录酶，可将端粒 DNA 加至真核细胞染色体末端，把 DNA 复制损失的端粒填补起来，使端粒修复延长，可以让端粒不会因细胞分裂而有所损耗，
  - 12.oncogene
  - 13.growth factor
  - 14.细胞毒性 T 淋巴细胞：为一种特异 T 细胞，专门分泌各种细胞因子参与免疫作用。对某些病毒、肿瘤细胞等抗原物质具有杀伤作用。
  - 15.细胞周期
  - 16.主要组织相容性复合体

## 简答

- 1.蛋白质为什么有两性解离性质和胶体性质
- 2.何为酶的特异性？如何分类？每一种什么意义
- 3.氨的代谢去路主要有几条？
- 4.溶酶体定义，类型，功能
- 5.细胞周期？细胞周期检查点？
- 6.何为受体？根据信号转导分类？
- 7.你了解的非编码 RNA 有哪些？
- 8.简述染色体变异的种类
- 9.简述肿瘤免疫治疗
- 10.真核细胞死亡的方式有哪些
- 3.简述酶的竞争性抑制作用，并说明其基本特点。
- 4.简述 DNA 双螺旋的基本结构。
- 5.细胞外基质的主要成分有哪些？简述其各自的作用。
- 6.决定细胞内蛋白质水平的因素。
  - 1.肿瘤免疫逃逸，及其机制
  - 2.肿瘤细胞特性
  - 3.什么是 DNA 甲基化，如何去甲基化
  - 4.适应性免疫
  - 5.侵袭转移
- 1 癌基因与抑癌基因的定义和作用
- 2 肿瘤三级预防
- 3 肿瘤遗传方式
- 4 误差的定义 分类
- 5 PCR 原理 步骤
- 6 5 种 RNA 功能
- 7 肿瘤免疫逃逸（见复试自用大题整理）
- 3.受体酪氨酸激酶的组成，抑制其活性的因素，举例说明。
- 6.自噬
- 7.泛素
- 8.细胞周期素
- 5.简述信号分子类型，特点。
- 6.为什么说线粒体是半自主性细胞器？
- 2.细胞周期的组成和检查点。
- 3.蛋白质分离纯化方法和原理。
  - 1.一个质粒 4.2kb，目的基因 1.2kb，pcr 扩增目的基因，画一个电泳的图
  - 2.人在情绪紧张的应激反应下，脂肪的代谢加快，写出相应的信号通路
  - 3.真核生物的蛋白质为什么要翻译后加工？主要有哪些加工手段？详细说明一个
  - 4.核孔复合体的结构和功能
  - 5.细胞凋亡的两条通路，以及关键分子
  - 6.dna 损伤信号的作用，详细机制，关键分子

## 线下选择题

6. CDK1 在细胞周期的哪个阶段发挥作用？
7. 鬼笔环肽抑制微丝解聚。结合到 F 肌动蛋白
8. 核膜表面连接的细胞器。

#### 实验\*1

##### 1. 微生物接种，平板划线

做好标记，菌名，操作者姓名，日期

(一)、右手持接种环，经火焰灭菌，待凉后，在火焰旁打开盛有菌液的试管棉塞，并将试管口过火焰，将以冷却的接种环伸入菌液，沾取一环菌液，将试管口过火焰并塞上棉塞。

(二)、左手斜持琼脂平板，皿盖打开一条缝，右手于火焰近处将接种环迅速伸入平板内，划三至五条平行线，盖上皿盖，接种环不应划破培养基表面。

(三)、烧灼接种环，杀灭环上残留菌液，待冷却（是否冷却，可先在培养基边缘处试触，若琼脂溶化，表示未凉，稍等再试），从第一区域划线的末端开始往第二区内划线，重复以上操作，在第三四五区内划线，注意不要将最后一区的划线与第一区相连。

(四)、将平板倒置，放入培养箱中培养，一段时间后观察是否有单个菌落的出现，并观察菌落的形状

##### 2. 浓硫酸稀释：酸入水，沿杯壁下流，并且不断用玻璃棒搅拌，等冷却后装入试剂瓶

口述 95% 的酒精配制 100 毫升 75% 的酒精

取 100mL 95 酒精， $95 \div 0.75 = 126.67$ ，需要加 26.67mL 的水，就配成了 75 度酒精。

酒精稀释，就是把高浓度的（95%）酒精（有 500 毫升包装的、95% 酒精），加一定体积水后，配制成低浓度的（例如 75%）酒精的过程。

例如配制 100 毫升 75% 酒精：计算式 求取 95% 酒精的体积  $V = (75\% \times 100\text{ml}) \div 95\% = 78.9\text{ ml}$ 。

稀释操作：在 100 毫升的干燥干净的量筒中加入 78.9 ml 的 95% 酒精，用蒸馏水稀释至 100 毫升的刻线。然后转移到试剂瓶中，贴上标签。

氯化钠溶液稀释（原理计算公式同上）

##### 3. 血球板计数：

1. 将细胞计数板及盖玻片用酒精擦拭干净，然后挥发干净酒精，并将盖玻片盖在计数板上。
2. 将细胞悬液吸出少许（10 $\mu$ l 即可），用移液枪加在盖玻片边缘，使细胞悬液自然流入盖玻片和计数板之间，注意盖玻片下不要有气泡，也不能让细胞悬液流入旁边槽中。

注：细胞悬液应先稀释至合适比例，然后充分混匀后立即加入盖玻片边缘。

3. 计算计数板四大格细胞总数，2 个压线细胞按一个计。然后按公式计算：

细胞数/mL（每 1ml 细胞悬液里有多少细胞）= 四大格细胞总数  $\div 4 \times 10^4$  个/mL

注：1、四大格中，每大格细胞总数不应差太多，如果差很多的话证明混的不匀，则应重新混匀，重新计数。

- 2、镜下偶见有两个以上细胞组成的细胞团，应按单个细胞计算，若细胞团 10% 以上，说明

分散不好，需重新制备细胞悬液。

4、计数完毕，取下盖玻片，用 75%酒精将细胞计数板和盖玻片冲洗干净，切勿用硬物洗刷或抹擦，以免损坏网格刻度。洗净后泡在 75%酒精中保存。

**4.漏斗过滤的步骤** 一贴二低三靠/简述 **5%生理盐水的过滤步骤/简述 0.5%的脱脂奶粉**，如何过滤，并说明实验操作

滤纸放入过滤漏斗,滤纸折角要与漏斗角度吻合；水润湿滤纸,使其紧贴漏斗；

滤纸的边缘要低于漏斗口，倒入漏斗的液体液面要低于滤纸边缘，

把要过滤的液体倒进漏斗时,要用玻璃棒导流，玻璃棒的下端要靠第三层滤纸折层处，漏斗下管的尖嘴要靠在烧杯内壁

## 5.溶液配置

计算

称量

溶解

转移与洗涤

定容

摇匀

装瓶

先用天秤精确称取 0.9 克的氯化钠，再用量筒量取 100 毫升的蒸馏水，将称好的氯化钠加入蒸馏水中，用玻棒搅拌，使之充分溶解就得到 100 毫升的生理盐水。

## 6.显微镜观察组织切片

1.取材：取理想生物组织薄片在薄片上滴染液染上 2-3min,然后用酒精洗去浮色

2.制成临时装片

3.观察:先在低倍镜下观察,用粗准焦螺旋进行调节找到所要观察的材料,并移到视野的中央

4.转为高倍镜观察,并用细准焦螺旋进行调节,找到所要观察的物象

## 7.PCR 的原理和步骤

一、基本原理：双链 DNA 在多种酶的作用下可以变性解旋成单链，在 DNA 聚合酶的参与下，根据碱基互补配对原则进行特定基因的复制。在实验中发现，DNA 在高温时也可以发生变性解链，当温度降低后又可以复性成为双链。因此，通过温度变化控制 DNA 的变性和复性，加入设计引物，DNA 聚合酶、dNTP 就可以完成特定基因的体外复制。

二、PCR 由变性--退火--延伸三个基本反应步骤构成：

1、模板 DNA 的变性：模板 DNA 经加热至 94℃左右一定时间后，使模板 DNA 双链解离，使之成为单链，以便它与引物结合，为下轮反应作准备。

2、模板 DNA 与引物的退火（复性）：模板 DNA 经加热变性成单链后，温度降至 55℃左右，引物与模板 DNA 单链的互补序列配对结合。

3、引物的延伸：DNA 模板--引物结合物在 72℃、DNA 聚合酶（如 TaqDNA 聚合酶）的作用下，以 dNTP 为反应原料，靶序列为模板，按碱基互补配对与半保留复制原理，合成一条新的与模板 DNA 链互补的半保留复制链。



## 8.移液管的使用

●基本原理:移液管可使液面上方容器形成局部真空,并通过选择性地调节真空体积来吸取或排出液体。其测量的准确度因种类不同而差别巨大。

### 1. 洗涤

洗涤前,应先检查移液管或吸量管的管口和尖嘴有无破损,若有破损则不能使用。

2. 吸取溶液:用移液管自容量瓶中移取溶液时,右手拇指及中指拿管颈刻线以上的地方(后面二指依次靠拢中指),将移液管插入容量瓶内液面以下 1-2cm 深度,不要插入太深,以免外壁沾带溶液过多;也不要插入太浅,以免液面下降时吸空,左手拿洗耳球,排除空气后紧按在移液管口上,借吸力使液面慢慢上升,移液管应随容量瓶中液面的下降而下降,当管中液面上升至刻线以上时,迅速用右手食指堵住管口(食指最好是潮而不湿)。

3. 调节液面:用滤纸擦去管尖外部的溶液,将移液管的流液口靠洁净小烧杯内壁,小烧杯倾斜约 30 度,管身保持直立,稍松食指,用拇指及中指轻轻捻转管身,使液面缓慢下降,直到调定零点,按紧食指,使溶液不再流出,将移液管插入准备承接溶液的容器中。

4. 放出溶液:承接溶液的器皿如是锥形瓶,应使锥形瓶倾斜成约 30 度,称液管或吸量管直立,管下紧靠锥形瓶内壁,放开食指,使溶液自由地沿壁流下,流完后管尖端接触瓶内壁约 15 秒,再将移液管或吸量管移去。残留在管末端的少量溶液,不可用外力强使其流出,因校准移液管或吸量管时已考虑了末端保留溶液的体积。

## 9.计数酵母菌

### 1. 16×25 型的计数公式为:

酵母细胞个数/1mL=100 个小方格细胞总数/100 ×100×10000×稀释倍数

### 2. 25×16 型的计数公式为:

酵母细胞个数/1mL =80 个小方格细胞总数/80 ×100×10000×稀释倍数

选择适宜的稀释度,吸取 1mL 加入平板,注入孟加拉红培养基,29 摄氏度培养 5-7 天,计数。

酵母总数/mL=平板数 X 稀释倍数

## 10.细胞培养

### 1、细胞复苏

(1) 将实验所需的移液枪、培养皿、离心管放入生物安全柜中紫外照射 30min,同时将含有 10%BI 血清的新鲜培养基、PBS、胰酶放置 37℃的水浴锅中预热。

(2) 从液氮罐中迅速的取出细胞的冻存管置于 37℃水浴锅中使其快速解冻,待其完全溶解后,用 75%的酒精擦拭管身,移置生物安全柜。

(3) 将冻存液移入含有 5ml 新鲜完全培养基的 15ml 离心管中。

(4) 1200rpm 转速,离心 4min,弃去冻存液。

(5) 在离心管中加入 1ml 培养基,轻轻吹打混匀后转移到含有 10ml 培养基、直径为 10cm 的细胞培养皿中,轻轻摇晃,让细胞均匀的分布在培养皿中。

(6) 将培养皿置于细胞培养箱中培养。

### 2、细胞的传代培养

(1) 弃去培养皿中的培养基,用事先预热的 PBS 清洗细胞两遍。

(2) 在培养皿中加入 1ml 0.25%的胰酶后,放入培养箱中消化。

(3) 2-3min 后,将培养皿从培养箱中取出,放置显微镜观察,当细胞变圆变亮、漂起时,取 3ml 含有 10%BI 血清的培养基终止消化,用移液枪反复吹打细胞,使其完全从培养皿底部脱落。

- (4) 将培养皿中的细胞悬液转移到 15ml 离心管中，1200rpm 转速，离心 4min。
- (5) 弃去上清后，加入 1ml 培养液，轻轻吹打混匀，取 300ul 的细胞混悬液均匀分至新的细胞培养皿（含有 10m 10% FBS 的 DMEM 培养液）中培养。
- (6) 将细胞培养皿放入培养箱中继续培养。

### 3、细胞冻存

- (1) 将培养皿中的细胞用胰酶消化后，1200rpm 转速，离心 4min。
- (2) 弃去上清，加入冻存液（90%FBS+10%DMSO）轻轻吹打细胞，调整细胞浓度为  $3 \times 10^6$ - $10^7$ /ml 分装至冻存管。
- (3) 将细胞冻存管移置细胞冻存盒中，放入-80℃冰箱冻存。

## 11.免疫印迹 westernblot

### 一、原理

与 Southern 或 Northern 杂交方法类似，但 Western Blot 采用的是聚丙烯酰胺凝胶电泳，被检测物是蛋白质，“探针”是抗体，“显色”用标记的二抗。经过 PAGE 分离的蛋白质样品，转移到固相载体（例如硝酸纤维素薄膜）上，固相载体以非共价键形式吸附蛋白质，且能保持电泳分离的多肽类型及其生物学活性不变。

以固相载体上的蛋白质或多肽作为抗原，与对应的抗体起免疫反应，再与酶或同位素标记的第二抗体起反应，经过底物显色或放射自显影以检测电泳分离的特异性目的基因表达的蛋白成分。该技术也广泛应用于检测蛋白水平的表达。

### 二、分类

western 显色的方法主要有以下几种：

- i. 放射自显影
- ii. 底物化学发光 ECL
- iii. 底物荧光 ECF
- iv. 底物 DAB 呈色

## 四、WB 主要步骤

**1.收集蛋白样品(Protein sample preparation)** 使用细胞裂解液，对贴壁细胞、悬浮细胞或组织样品进行裂解。然后测定每个蛋白样品的蛋白浓度。

**2. 电泳(Electrophoresis)** (1) SDS-PAGE 凝胶配制

(2) 样品处理 在收集的蛋白样品中加入适量浓缩的 SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液。

(3) 上样与电泳

**3. 转膜(Transfer)**

(1) 我们推荐在 Western 实验中选择 PVDF 膜。硝酸纤维素膜(NC 膜)也可以使用，但硝酸纤维素膜比较脆，在操作过程中特别是用镊子夹取等过程中容易裂开。膜的使用请参考生产商的推荐使用步骤。通常如果使用 Bio-Rad 的标准湿式转膜装置，可以设定转膜电流为 300-400mA，转膜时间为 30-60 分钟。也可以在 15-20mA 转膜过夜。具体的转膜时间要根据目的蛋白的大小而定，目的蛋白的分子量越大，需要的转膜时间越长，目的蛋白的分子量越小，需要的转膜时间越短。

(2) 在转膜过程中，特别是高电流快速转膜时，通常会有非常严重的发热现象，最好把转膜槽放置在冰浴中进行转膜。转膜的效果可以观察所使用的预染蛋白质分子量标准，通常分子量最大的 1-2 条带较难全部转到膜上。转膜的效果也可以用丽春红染色液对膜进行染色，以观察实际的转膜效果。也可以用考马斯亮蓝快速染色液对完成转膜的 SDS-PAGE 胶进行染色，以观察蛋白的残留情况。

**4. 封闭(Blocking)**

(1) 转膜完毕后，立即把蛋白膜放置到预先准备好的 Western 洗涤液中，漂洗 1-2 分钟，以

洗去膜上的转膜液。从转膜完毕后所有的步骤，一定要注意膜的保湿，避免膜的干燥，否则极易产生较高的背景。

(2) 用微型台式真空泵吸尽洗涤液，加入 Western 封闭液，在摇床上缓慢摇动，室温封闭 60 分钟。对于一些背景较高的抗体，可以在 4℃ 封闭过夜。

#### 5. 一抗孵育(Primary antibody incubation)

(1) 参考一抗的说明书，按照适当比例用 Western 一抗稀释液稀释一抗。

(2) 用微型台式真空泵吸尽封闭液，立即加入稀释好的一抗，室温或 4℃ 在侧摆摇床上缓慢摇动孵育一小时。如果一抗孵育一小时效果不佳，可以在 4℃ 缓慢摇动孵育过夜。

(3) 回收一抗。加入 Western 洗涤液，在侧摆摇床上缓慢摇动洗涤 5-10 分钟。吸尽洗涤液后，再加入洗涤液，洗涤 5-10 分钟。共洗涤 3 次。如果结果背景较高可以适当延长洗涤时间并增加洗涤次数。

#### 6. 二抗孵育(Secondary antibody incubation)

(1) 参考二抗的说明书，按照适当比例用 Western 二抗稀释液稀释辣根过氧化物酶(HRP) 标记的二抗。

(2) 用微型台式真空泵吸尽洗涤液，立即加入稀释好的二抗，室温或 4℃ 在侧摆摇床上缓慢摇动孵育一小时。

(3) 回收二抗。加入 Western 洗涤液，在侧摆摇床上缓慢摇动洗涤 5-10 分钟。吸尽洗涤液后，再加入洗涤液，洗涤 5-10 分钟。共洗涤 3 次。如果结果背景较高可以适当延长洗涤时间并增加洗涤次数。

#### 7. 蛋白检测(Detection of proteins)

(1) 参考相关说明书，可使用 Enlight 等超敏 ECL 发光液来检测蛋白。

(2) 洗片时可以使用 X 光片自动洗片机。如果没有自动洗片机，可以用显影定影试剂盒自行配制显影液和定影液进行手工洗片。

#### 8. 膜的重复利用(Membrane recovery)

### 12. 高压蒸汽法对生理盐水进行灭菌

(1) 在外层锅内加适量的水，将需要灭菌的物品放入内层锅，盖好锅盖并对称地扭紧螺旋。

(2) 加热使锅内产生蒸气，当压力表指针达到 33.78kPa 时，打开排气阀，将冷空气排出，此时压力表指针下降，当指针下降至零时，即将排气阀关好。

(3) 继续加热，锅内蒸气增加，压力表指针又上升，当锅内压力增加到所需压力时，将火力减小，按所灭菌物品的特点，使蒸气压力维持所需压力一定时间，然后将灭菌器断电或断火，让其自然冷后再慢慢打开排气阀以排除余气，然后才能开盖取物。

## 其他学校复试肿瘤学学硕荟萃

WB 内参的意义

凝胶电泳

紫外分光光度法测 DNA 浓度

名词解释，肿瘤细胞倍增时间

简答肿瘤多学科治疗的基本原则

谈谈对肿瘤免疫的理解

谈一谈某肿瘤的前沿进展

肿瘤的转移机制有哪些？并举例说明，什么是肿瘤干细胞？其研究意义何在？

上腔静脉阻塞综合征的临床表现和处理原则

G 蛋白的分类及其作用机制

肿瘤细胞免疫逃逸的机制

早期胃癌和进展心脉的区别

细胞周期的概念

交界性肿瘤是癌前病变吗？请举出至少 6 个癌前病变的例子并详细说明

胃癌的 TNM 分期

发病率最高的肿瘤以及死亡率最高的肿瘤是什么

遗传性肿瘤有哪些？

除了手术放化疗，你还了解哪些肿瘤治疗手段？

肿瘤的个体治疗

新冠肺炎的治疗

肿瘤免疫治疗的定义关于免疫治疗，你有什么了解？

肿瘤克隆有什么了解？

对肿瘤免疫进展有什么了解？

CAR-T 有什么难点和需要解决的问题和其他肿瘤治疗方法相比有什么优势？

对原癌基因、抑癌基因的理解，列举一些抑癌基因，

阐述一下细胞周期，某某期是什么，

肺癌的肿瘤标志物有哪些，肿瘤都有什么特征，

白血病的化疗药物有哪些，问了我自己说的一个化疗药物的治疗原理是什么，它可以用于急淋吗，如果不可以那么为什么它可以用于另一个病

靶向药物有哪些，急粒怎么治疗，我不是药神里面说的那个药是什么药、它的治疗靶点是什么

谈谈分子靶向治疗，免疫治疗

简答题:1.上腔静脉阻塞综合征及其处理原则;

2.实体瘤的疗效评价;

3.简述肺癌的病理分型。肺癌的病理分型对于病人的诊断和预后有什么参考价值?

淋巴瘤患者出现少尿的症状，考虑出现少尿的原因是什么以及如何处理?这个问题我其实没有准备好，然后我只能说，我对这个问题没有深入的了解，我会根据我所储备的知识，来尽可能的回答这个问题。

名解:三级预防，癌基因，上腔静脉阻塞压迫症，肿瘤姑息治疗。

简答:化疗药物分类，化疗药物不良反应及治疗，常见肿瘤标志物，肺癌分期及治疗原则。

名解:抑癌基因

GTV

辅助化疗

三级镇痛

问答:化疗药物分类

非小细胞肺癌分期及治疗原则

癌症的三级预防

高血压药物分类，以及靶向药物安维汀应用时如何使用高血压药物

名词解释: 1、 肿瘤标志物 2、上腔静脉阻塞综合征 3、亚临床病灶 4、肿瘤多学科综合治疗

简答: 1、胃癌的 TNM 分期，临床分期 2、肿瘤的三级预防 3、癌痛的阶梯治疗原则 4、化疗

药的分类及举例

名词解释

1.肿瘤异质性

2.多药耐药性

3.亚临床病灶

4.肿瘤多学科综合治疗

二、简答题

1.良恶性肿瘤的区别

2.肿瘤的三级预防

3.放射生物学的 4 R 原则

4 结肠癌的 TNM 分期和临床分期

抽到的病例题是前列腺癌，老师的问题有诊断，鉴别诊断，治疗方式选择等。

英文题目是 If you meet a nervous patient, what would you do.

笔试:疼痛三阶梯治疗，何为肿瘤标记物，胃癌的转移途径，肿瘤溶解综合症，微卫星不稳定性，乳腺癌内分泌治疗药物，上腔静脉综合症表现和治疗。

另外还有一篇大的文献翻译(英译汉)

名解: (1)肿瘤综合治疗 (2)副瘤综合征 (3) (4)根治性放疗(5).上腔静脉压迫综合征

简答: (1)鼻咽癌的临床表现(2)病毒感染在肿瘤发生中的作用并举例(3)化疗药物的分类(4)

放射治疗剂量四原则

论述:(1)什么是靶向治疗?非小细胞肺癌靶向治疗的药物举例

(2)为什么放疗要选择分割放疗?放射生物学的 4R 原则。

## 分子生物学名解简答重点荟萃

Operon (操纵子)

指数个功能相关的结构基因串联在一起，构成信息区，连同上游的调控区（包括启动子和操纵基因）以及下游的转录终止信号所构成的基因表达单位

DNA chip(DNA 芯片、基因芯片、Gene chip)

是指通过微阵列技术将大量已知序列的 DNA 探针按照一定次序排列、并固定在一块很小的硬质固相表面（如玻璃片）上

Probe(探针)

被标记上可检测信号的、已知序列的单链核酸片段（DNA/RNA）

实时 PCR

（real-time q-PCR）是通过对 PCR 反应中每一个循环产物荧光信号的实时检测，从而实现  
对起始模板（DNA/cDNA）浓度的定量分析

PCR

Reverse Transcription-PCR

多重 PCR (multiplex PCR) 3 次

是在同一 PCR 反应体系里加上二对以上引物, 同时扩增出多个核酸片段的 PCR 反应

SD 序列

位于 mRNA 上 AUG 的上游, 是由 6 个核苷酸组成的共有序列, 也是核糖体的结合位点

cDNA 文库

包含某一组织细胞在一定条件下所表达的全部 mRNA 经反转录形成的 cDNA 序列的克隆群体, 它以 cDNA 片段的形式贮存了全部的基因表达信息

Genomic Library (基因文库)

基因文库包括基因组文库和部分基因文库。将含有某种生物不同基因的许多 DNA 片段, 导入受体菌的群体中储存, 各个受体菌分别含有这种生物的不同基因, 称为基因文库

基因组 DNA 文库

包含某一个生物细胞或组织全部基因组 DNA 序列的随机克隆群体, 以 DNA 片段的形式贮存了所有的基因组 DNA 信息

反式作用因子

Gene Cloning (基因克隆)

是指来自不同生物的基因与有自主复制能力的载体 DNA 在体外人工连接, 构建成新的重组 DNA, 然后送入受体生物中去表达, 从而产生遗传物质转移和重新组合

克隆

亚克隆

通过无性繁殖过程所产生的与亲代完全相同的子代群体

T-A 克隆

利用 Taq 聚合酶同时具有的末端连接酶的功能, 在每条 PCR 扩增产物的 3' 端自动添加一个 3'-A 突出端

Ct value (Ct 值)

样品的荧光信号达到设定荧光阈值所经历的循环数

Transgenic animal (转基因动物)

基因敲除

RNA 干涉

RNAi(RNA 干扰)

原核表达载体

载体 (Vector)

Transfection (转染)

瞬时转染

转化

Off-targeting

选择性剪接

绝缘子

表观遗传

印记技术

DNA 环化

蓝白筛选

组成性基因表达  
阻遏蛋白  
重组 DNA 技术  
基因诊断  
细胞周期蛋白  
转基因  
转基因技术  
原癌基因  
抑癌基因  
感受态细胞  
限制性片段长度多态性  
显性负突变  
多克隆酶切位点(MCS)  
断裂基因 (spilt gene)  
启动子  
核酸分子杂交 (Nucleic acid hybridization)  
restriction fragment length polymorphism  
克隆载体

## 简答：

请列出重组 DNA 技术中常用的 7 种工具酶；各自的作用；包括哪些基本操作步骤  
简述蓝白筛选的原理及应用  
何为载体？一个理想的载体应具备哪些特点；什么是真核表达载体？它有哪些特点及基本元件  
简述基因敲除的基本程序  
全自动四色荧光 DNA 测序技术的基本原理  
RNA 干涉的机理  
如何理解 DNA 的变性和复性，哪些分子生物学技术涉及到这一基本性质  
何谓基因表达，简述分析基因表达的具体方法和原理  
简述 PCR 的原理  
简述 PCR 与 DNA 体内复制的异同点 2 次  
简述基因克隆的基本步骤  
如何应用基因克隆获得人源干扰素  
简述 P53 基因的作用机制  
简述基因治疗的基本策略  
Ada 基因缺陷的基因治疗策略、方式、步骤  
简述肿瘤癌变的“二次打击”学说  
真核基因在原核细胞中表达需要解决哪些问题  
结合 Southern Blot 的基本流程简述其基本原理  
简述 RNAi 实验常用的两种策略  
如何对重组质粒进行筛选和鉴定  
噬菌体实验如何为 DNA 是遗传物质奠定基础

简述基因表达调控的特点

简述瞬时转染和稳定转染的异同点

真核原核基因结构的异同点（至少写三个）

简答癌基因活化的机制

基因突变学说认为，癌基因与抑癌基因的致癌机制不同，为什么？

简答乳糖操纵子的调控模式

祝大家复试顺利，**2022** 一战成硕！！！！