

<<丝状真菌分子细胞生物学与实验技术>>

图书基本信息

书名：<<丝状真菌分子细胞生物学与实验技术>>

13位ISBN编号：9787030290106

10位ISBN编号：7030290100

出版时间：2010-10

出版时间：科学出版社

作者：林福呈，王洪凯 著

页数：250

版权说明：本站所提供下载的PDF图书仅提供预览和简介，请支持正版图书。

更多资源请访问：<http://www.tushu007.com>

## 前言

作为生态系统的重要组成部分，真菌在物质循环和能量循环过程中都有重要的作用。虽然人类对真菌的应用历史悠久，但直到最近人们才认识到真菌是重要的生物资源，在医药、轻工、环保、食品、农业等领域应用广泛，开发前景非常广阔。真菌是真核生物，具有结构简单、生活史短、易于培养的特点，使真菌成为研究真核生物的重要研究模式。

近年来，以真菌为研究对象，以克隆和分析基因功能为目的的研究进展非常迅速，极大地促进了真菌分子细胞生物学的发展，在阐明细胞周期的调控、顶端生长机制、细胞分化调节及真菌致病机制等生物学基本机制方面提供了很有意义的信息。

虽然许多真菌分子生物学的技术和原理与其他生物的分子生物学原理基本相同，但是，许多在动物和植物等其他真核生物上应用的方法技术，需要经过一定的调整才能在真菌生物学研究中顺利应用。

因此，真菌细胞分子生物学研究技术还是面临许多挑战。

于是编者在几年前便有了对应用于真菌分子细胞生物学技术与原理进行汇集整理的想法，为高校开展真菌学的教学和科研提供教材，同时也为从事真菌细胞分子生物学研究的科研工作者提供技术参考。

在国家自然科学基金委杰出青年基金、水稻生物学国家重点实验室的支持、资助下，本书得以顺利完成。

编者在此表示感谢！

同时，对关心、帮助过此书编写的专家、学者表示衷心感谢！

本书将丝状真菌研究领域中的分子细胞学研究技术进行了总结，根据不同研究目的提供了可能的研究方案。

本书可以作为高等院校和科研机构的教材，也可以为环境、医药、生物资源、植物病理、微生物等领域的本科生、硕士和博士研究生及相关研究人员提供理论和实验技术指导。

由于编者水平和条件的限制，不足之处在所难免，望多提宝贵建议。

## 内容概要

真菌是真核生物的重要研究模式，广泛应用于真核细胞生命活动机制的基础研究中。

真菌也是生态系统中的重要组成部分，还是重要的生物资源，在医药、轻工、环保、食品、农业等领域应用广泛，开发前景广阔。

本书在总结近年来真菌分子细胞生物学的最新成果基础上，着重介绍真菌分子细胞生物学研究中的常用技术，有针对性地提出了真菌分子细胞生物学研究的技术原理和方案。

全书分为14章，主要内容包括：真菌基因型的鉴定与特征分析、核酸的分析、真菌遗传转化、功能基因组学、生化与免疫方法、分子系统学及生物信息学常用软件等。

本书可以作为高等院校真菌学相关课程的教材，也可以作为高等院校和科研院所真菌研究者在分子细胞生物学研究方面的参考书。

## 书籍目录

前言第一章 丝状真菌基因型特征的鉴定 1 概述 2 基因组变异的主要特征 3 确定研究目的 4 用于基因组分析的技术 5 假设 6 选择最佳策略 方案1 链格孢真菌的RAPD分析 7 AFLP技术的原理及其应用 方案2 丝状真菌的AFLP分析 方案3 丝状真菌的cDNA-AFLP 8 变性梯度凝胶电泳(DGGE) 方案4 土壤中真菌的DGGE分析 9 重要的数据库和互联网资源第二章 丝状真菌核酸的提取与分析 1 概述 2 基因组DNA的分离 方案1 CTAB法提取真菌基因组DNA 方案2 氯化苄(benzyl chloride)法提取真菌基因组DNA 方案3 丝状真菌总DNA的分离 方案4 固体平板上菌小量DNA的块速提取(以稻瘟病菌为例) 方案5 真菌小量DNA的快速提取 3 丝状真菌RNA的提取 4 RNA的操作 方案6 Trizol法提取丝状真菌总RNA 方案7 丝状真菌总RNA的提取 方案8 真菌总RNA的小量提取(Trizol法)第三章 丝状真菌的DNA转化 1 概述 2 选择性标记和转化载体 3 待转化DNA的质量 4 DNA的进入 5 REMI转化 方案1 稻瘟病菌(*Magnaporthe oryzae*)原生质体的制备及转化 方案2 毛壳菌原生质体的制备 6 真菌ATMT转化 方案3 感受态农杆菌细胞的制备与转化 方案4 利用农杆菌转化真菌 7 电击转化 方案5 *Tapesia yallundae*的电击转化 8 转化DNA的命运 方案6 丝状真菌中的质粒拯救 方案7 农杆菌电击转化感受态的制备与转化第四章 丝状真菌的遗传分析 1 子囊菌遗传分析 方案1 对真菌孢子进行化学诱变 方案2 对真菌的孢子进行紫外诱变 方案3 营养缺陷型突变体的筛选与鉴定 方案4 温度敏感型突变群体的制备 方案5 单孢分离 方案6 构巢曲霉的八分体分析 方案7 通过准性重配确定里连锁群 方案8 稻瘟病菌温度敏感型突变体的筛选 2 担子菌遗传分析 方案9 鬼伞菌在人工培养条件下实体和担孢子的产生 方案10 通过CHEF凝胶电泳分离*C. cinereus*的染色体 方案11 *C. cinereus*的四分体分离 方案12 *C. cinereus*孢子的紫外诱变 方案13 利用NT、G(MNNG)/EMS对担子菌进行诱变 方案14 平板印迹 附:担子菌研究中的标准培养基第五章 丝状真菌的基因组分析 1 概述 2 遗传图谱 方案1 克隆固定大小的基因组DNA作为RFLP探针 方案2 RAPD操作要点 3 电泳核型分析 方案3 琼脂糖柱中制备完整染色体DNA 方案4 琼脂糖柱电泳 方案5 钳位均匀电场电泳 4 物理图谱 方案6 染色体DNA的RecA-AC 方案7 准备BAC载体DNA 方案8 准备BAC插入DNA 方案9 BAC插入DNA大小的选择, 恢复和克隆 方案10 将文库克隆排列到杂交膜上 方案11 收集克隆文库 5 筛选文库 方案12 Southern杂交分析混合文库和克隆阵列文库 6 染色体步移(chromosome walking) 方案13 BAC或者黏粒末端RNA探针的合成 方案14 根据插入片段末端序列制备的探针 7 真菌基因组分析相关数字资源第六章 真菌发育过程的细胞学分析 1 概述 2 丝状真菌生长的测定 方案1 菌丝顶端生长的测定 方案2 菌落生长速度的测定 方案3 直线生长速率的测定 3 丝状真菌孢子的萌发 方案4 真菌孢子的萌发测定 4 稻瘟病菌细胞生物学分析 方案5 稻瘟病菌产孢培养、孢子收集和附着胞诱导培养 方案6 稻瘟病菌侵染过程的组织病理学观察 方案7 稻瘟病菌孢子、附着胞内脂质体、糖原的观察 方案8 细胞自噬现象的观察 方案9 酒精氧化酶活性测定 方案10 冷冻替代用于电子显微镜观察 方案11 细胞核, 细胞壁和隔膜的染色第七章 丝状真菌的信号传导 1 概述 2 蛋白抽提 方案1 构巢曲霉(*Aspergillus nidulans*)蛋白激酶的抽提 3 蛋白免疫沉淀反应 方案2 NIMA在大肠埃希菌(*E. coli*)中的表达和His-tag亲和纯化 方案3 蛋白质免疫沉淀(IP) 4 凝胶阻滞试验(gel-shift assay)检测蛋白的磷酸化状态 方案4 NIMA磷酸化状态的凝胶阻滞试验 5 蛋白激酶的底物特异性分析 方案5 NIMA激酶分析第八章 丝状真菌的细胞生物学技术 1 电子显微镜工作原理及其应用 2 扫描电子显微镜样品制备的原理与方法 3 透射电子显微镜样品制备的原理与方法 4 电镜细胞化学技术 5 免疫组化技术第九章 丝状真菌的生化研究方法 1 概述 2 抽提物的准备 方案1 菌丝的摇瓶培养 方案2 疏水蛋白的分离 3 细胞组分的准备 方案3 细胞膜的分离 方案4 脉孢霉的液泡分离 方案5 线粒体的分离 方案6 细胞核的分离 方案7 细胞核的抽提 方案8 微体的分离 4 蛋白分析 方案9 孢子和菌丝的小量的蛋白质抽提 方案10 从固体培养物中分离胞外酶(*N. crassa*的脂肪酶) 方案11 从新鲜菌丝分离细胞内蛋白, 适用于蛋白水解敏感蛋白的方法 方案12 从新鲜菌丝分离细胞内蛋白 方案13 从冻干菌丝分离细胞内蛋白 方案14 酶学分析的代谢物抽提第十章 真菌研究中的免疫学方法 1 概述 2 免疫原分子的特性 方案1 免疫抗原的准备 3 制备多克隆抗血清 方案2 用辛酸和硫酸铵沉淀法纯化抗体 方案3 用ELISA测定pAb的滴度和检验上清液中的mAb 4 制备单克隆抗体 方案4 通过B细胞-骨髓瘤细胞融合制取鼠科杂种瘤细胞 方案5 荧光免疫检测 方案6 限制性稀释法亚克隆 方案7 冷冻法长期储存的杂交瘤细胞 方案8

<<丝状真菌分子细胞生物学与实验技术>>

应用抗原介导ELISA鉴定Ig类别/亚类 5 蛋白质和糖类抗原决定簇的特性 方案9 通过化学和酶学修饰确定的抗原决定簇的特性 6 其他经常使用的免疫学分析方法 方案10 间接DAS-ELISA 7 抗体的提供及其商业发展第十一章 丝状真菌的功能基因组分析 1 构建稻瘟病菌突变子库 2 目标突变技术 3 cDNA文库构建及测序分析 方案1 构建附着胞cDNA文库的cDNA的合成 4 cDNA文库构建及筛选 方案2 cDNA文库构建 方案3 质粒pTriplEx2的插入片段的验证 5 抑制差减杂交技术 方案4 稻瘟病菌附着胞SSF{差减文库的构建 6 丝状真菌细胞自噬及其研究方法 方案5 稻瘟病菌中细胞自噬研究方法 方案6 稻瘟病菌细胞自噬研究中的其他相关显微观察 方案7 双分子荧光互补技术 方案8 蛋白质电泳(Tricine-SDS-PAGE)及蛋白质印迹杂交 方案9 酵母双杂交系统研究蛋白互作 方案10 细胞表达目的蛋白 7 真菌中结合PCR(Double-Joint PCR)基因融合片段操作 8 真菌RNAi技术的应用第十二章 丝状真菌分子进化与系统发育分析 1 概述 2 系统发育分析方法 方案1 木霉菌的ITS rDNA的PCR扩增 方案2 木霉菌的tef 1- 基因的PCR扩增 方案3 木霉菌进行RAPD研究 方案4 AFLP技术 3 构建系统发育树第十三章 丝状真菌群体遗传分析 1 纯培养条件下真菌群体遗传分析 方案1 Pot2-rep-PCR 方案2 MGR586-RFLP 2 免培养技术用于环境中真菌群体的遗传结构分析 方案3 土壤真菌DNA的直接提取 方案4 土壤样品中真菌总DNA的提取第十四章 真菌分子生物信息学常用软件的使用 1 概述 2 文件格式 3 FASTA格式 4 Tab(或其他分隔符)分隔的行文件 5 BLAST 6 Primer Premier 5 7 e-PCR 8 Clustal 9 BioEdit 10 Staden Package参考文献

章节摘录

组氨酸激酶的结构与丝氨酸 / 苏氨酸激酶或酪氨酸激酶的相关性不大。

组氨酸激酶运用一个磷酸基依赖系统将磷酸残基从一个组氨酸磷酸化介体转移到靶基质是一个天冬氨酸残基的氨基酸残基上，因此，组氨酸激酶也称为双组分系统。

尽管双组分信号系统是细菌对外界刺激发生反应的主要机制，在真菌中这类激酶家族并不是广泛应用的信号途径，虽然一般认为这个系统在调节渗透压的过程中起作用。

这样，在真菌中，信号传导途径主要通过丝氨酸 / 苏氨酸激酶介导。

根据稳定的和保守的蛋白残基的特征，所有蛋白激酶的催化结构域可以分为12个亚结构域。

而且，丝氨酸 / 苏氨酸和酪氨酸激酶在其激酶结构域中含有特异性的不同保守残基。

因此，一个不明的蛋白激酶根据其已知蛋白酶的相似性，可以很确实的预测是丝氨酸 / 苏氨酸蛋白激酶还是酪氨酸蛋白激酶。

在结构拓扑学、调节及基物特异性方面，蛋白激酶催化结构域的相似性已经证明是很好的相似性指标。

这样，对数据库中已知蛋白激酶的快速序列相似性检索是一个界定真菌新蛋白激酶的很好的研究开端。

真菌信号传导的主要研究内容是蛋白激酶的调节功能。

本章节主要描述应用于丝状真菌蛋白激酶的实验方法。

2 蛋白抽提 蛋白激酶通过调节激酶的磷酸化状态，进而调控细胞的生理功能，在细胞信号传导过程中起着关键的作用。

蛋白激酶的磷酸化可以使蛋白处于活化或抑制状态。

因此，激酶抽提过程中需要保持蛋白的磷酸化状态，提取使用的缓冲液应该包含有蛋白磷酸酶抑制剂。

版权说明

本站所提供下载的PDF图书仅提供预览和简介，请支持正版图书。

更多资源请访问:<http://www.tushu007.com>