

<<现代分子生物学实验>>

图书基本信息

书名：<<现代分子生物学实验>>

13位ISBN编号：9787040295863

10位ISBN编号：7040295865

出版时间：2010-8

出版时间：高等教育出版社

作者：郑伟娟 编

页数：243

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>

## <<现代分子生物学实验>>

### 前言

序言 多年的分子生物学教学与科研工作使我深刻认识到实验技术在这门学科中的重要地位。跟其他的生物学学科一样，分子生物学也是一门实验学科，任何理论上的突破都必须建立在坚实的实验基础上，所以对于任何一位希望真正掌握分子生物学这门学科的人来说，都需要在学习分子生物学基础理论的同时，熟悉和掌握分子生物学的基本实验技术。

实际上随着科学技术的普遍发展，生物学的各个分支学科，无论是传统的植物学、动物学、生理学、遗传学，还是新兴的生物化学、神经生物学、发育生物学；无论是宏观的生态学、进化生物学，还是微观的微生物学、细胞生物学的研究，都已经深入到分子水平，与其说分子生物学是生物学的一个新兴学科，不如说分子生物学是生物学各学科共同的基础，是生物学研究的一种先进的理念和手段。

正因为意识到这一点，现在分子生物学已经成为生物学一级学科所有学生必须掌握的一门基础核心课程。

更进一步说，分子生物学也与生命科学领域的其他相关学科，如医学、农学、林学、药学、古生物学等密切相关，甚至化学、环境科学、物理学、地质学等学科也开辟了利用分子生物学理论与技术研究自身学科科学问题的方向，出现了化学生物学、结构生物学、生物物理学、地质生物学等交叉学科，越来越多的专业人员需要分子生物学的专业知识，越来越多的专业人员希望熟悉和掌握相关的分子生物学实验技术，因此综合性院校、农林医专业院校等均开设了分子生物学课程，选修人数相当可观。

## <<现代分子生物学实验>>

### 内容概要

《现代分子生物学实验》的编写注重实用性和创新性统一，在实验内容的编排上不再按照“基础实验+综合实验”的基本模式，而是依据分子生物学研究的自身特点和一般流程，分为特定基因的克隆、克隆基因的表达和表达产物的纯化、特定基因的功能研究、蛋白质与蛋白质的相互作用、DNA与蛋白质的相互作用5个部分。

每部分整合若干实用的分子生物学研究技术，使读者对每一个实验的目的和适用领域更加明确，也便于快速地选择相关实验技术参考借鉴。

《现代分子生物学实验》除了分子生物学最为基础的实验技术外，也涵盖了目前比较先进的研究技术和研究方法，如RNA干扰、实时荧光定量PCR、流式细胞仪分析、荧光共振能量转移技术等。

在每个实验中，都特别强调操作的注意事项和实验取得成功的关键，注重实用性。

《现代分子生物学实验》适合作为高等院校生命科学类及相关专业分子生物学实验课程的教材使用，也可供相关科研及实验技术人员参考。

## &lt;&lt;现代分子生物学实验&gt;&gt;

## 书籍目录

第1章 特定基因的克隆附1.1 Bad基因介绍实验1.1 从核酸数据库中获得mBad基因编码序列实验1.2 从细胞中提取总RNA实验1.3 逆转录获得小鼠B16F10细胞的cDNA实验1.4 PCR扩增目的基因mBad附1.2 mBad基因PCR引物的设计实验1.5 PCR产物的琼脂糖凝胶电泳回收实验1.6 SDS碱裂解法提取质粒DNA实验1.7 用质粒DNA小量抽提试剂盒制备质粒DNA附1.3 克隆载体的选择实验1.8 DNA的限制性酶切和酶切产物的回收附1.4 酶切位点的选择实验1.9 连接附1.5 平端DNA的连接反应实验1.10 转化实验1.11 阳性重组子的筛选以及测序验证第2章 克隆基因的表达和表达产物的纯化实验2.1 His-tag EGFP在大肠杆菌中的表达和纯化附2.1 融合蛋白表达载体pHis-EGFP的构建及融合蛋白的亲亲和纯化结果实验2.2 GST-EBFP融合蛋白在大肠杆菌中的表达和纯化附2.2 GST-EBFP的纯化结果实验2.3 GST-EBFP在巴氏毕赤酵母中的表达附2.3 pPICZ C-GST-EBFP重组质粒的构建、鉴定实验2.4 GST-EGFP在昆虫细胞中的表达纯化附2.4 重组AcNPV-EGFP病毒的构建与筛选第3章 特定基因的功能研究实验3.1 用重叠延伸PCR法进行EGFP基因的定点突变附3.1 重叠延伸PCR法基因定点突变的实验结果实验3.2 用单管大引物PCR法进行EGFP基因的快速定点突变附3.2 单管大引物PCR法基因定点突变的实验结果实验3.3 mBad基因在293T细胞中的瞬时表达实验3.4 western blotting检测瞬时转染基因的表达实验3.5 人DNMT1基因干扰质粒shRNA真核表达载体的构建附3.3 干扰质粒的设计实验3.6 质粒DNA的大量纯化实验3.7 脂质体法转染哺乳动物细胞MCF-7附3.4 质粒转染结果实验3.8 实时荧光定量PCR法检测DNMT1基因mRNA表达水平附3.5 荧光定量PCR实验结果实验3.9 利用荧光显微镜检测细胞骨架蛋白 $\beta$ -actin在A549细胞中的定位附3.6 A549细胞中 $\beta$ -actin的荧光显微镜照片实验3.10 流式细胞仪检测紫杉醇对A549细胞周期的影响附3.7 紫杉醇处理对A549细胞周期的影响实验3.11 流式细胞仪检测脐静脉内皮细胞增殖附3.8 流式细胞仪检测脐静脉内皮细胞的增殖实验3.12 流式细胞仪检测细胞凋亡附3.9 流式细胞仪检测Jurkat淋巴瘤细胞的凋亡第4章 蛋白质与蛋白质的相互作用实验4.1 酵母双杂交体系发现FADD与Fas的相互作用实验4.2 二维电泳比较FADD和FADD<sup>-/-</sup>细胞株的蛋白质表达差异附4.1 SDS-聚丙烯酰胺凝胶的经验配方附4.2 2DE常见问题与解决办法实验4.3 GST pull-down验证FADD与Fas的相互作用附4.3 GST pull-down验证FADD与Fas相互作用的结果示意图实验4.4 免疫共沉淀分析FADD与Fas相互作用的结构域附4.4 Fas与FADD不同结构域相互作用的Co-IP结果示意图实验4.5 荧光共振能量转移技术(FRET)分析FADD与Fas相互作用实验4.6 利用噬菌体肽库展示技术筛选与链霉亲和素特异性结合的氨基酸序列第5章 DNA与蛋白质的相互作用实验5.1 EMSA分析转录因子NF- $\kappa$ B与DNA结合序列的结合实验5.2 染色质免疫沉淀(ChIP)分析NF- $\kappa$ B与TRAF1基因启动子序列的结合实验5.3 报告基因检测技术分析不同细胞中PSM\_A基因的启动子活性附录 网络资源附录 常用仪器及供应商附录 著名生物试剂公司及其特色产品附录 常用溶液配制附录 常用工具酶附录 实验室常用技术参数资料

## <<现代分子生物学实验>>

### 章节摘录

首先需要从核酸数据库中检索目的基因序列，根据不同情况通过化学合成、从基因组分离或者从mRNA逆转录获得目的基因片段，然后根据克隆要求设计PCR引物，再通过PCR扩增目的基因片段。

化学合成法比较适合于合成较短的目的基因。随着合成技术的不断进步，化学合成DNA的成本越来越低，合成的速率越来越快，长度也越来越长，但是仍然存在合成长度的限制。而如果需要根据工程菌的密码子偏爱性对目的基因的密码子进行优化，化学合成法则是唯一可行的方法。

对于没有内含子的真核基因，以及结构比较简单的原核基因，可以用基因组DNA为材料直接获取目的基因的编码片段。

由于绝大部分真核基因中存在复杂的内含子结构，因此只能以基因的转录产物为模板，通过逆转录获取编码目的基因的DNA片段。

逆转录与PCR偶联的RT-PCR技术是获得基因克隆所需的目的基因片段的最常用手段。

二、载体的选择有很多商业化的载体可供选择。用于基因克隆的载体必须具备3个基本条件：具有自主复制能力、带有多克隆位点以及可用做筛选标记的抗性基因。

三、限制性酶切用可以识别和切割特异性DNA序列的限制性酶切割载体和目的DNA片段，产生对合的黏端，使目的DNA片段可以插入到载体中。

⋯⋯

<<现代分子生物学实验>>

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>