

<<噬菌体展示>>

图书基本信息

书名：<<噬菌体展示>>

13位ISBN编号：9787122027634

10位ISBN编号：7122027635

出版时间：2008-7

出版时间：化学工业出版社

作者：（美）克拉克森，（美）洛曼 编；马岚 等译

页数：247

字数：397000

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>

<<噬菌体展示>>

前言

将肽段和蛋白展示于丝状噬菌体上（即噬菌体展示技术）是一种能够将所需性质的多肽从大量变异体中提取出来的体外筛选技术。

从1985年George Smith最初开拓性地描述这个概念以来，噬菌体展示技术逐渐发展成为发现具有新功能的多肽和改变已有多肽的性质的强大工具。

噬菌体展示技术作为一种基础研究工具，在蛋白质工程和细胞生物学中应用广泛，包括解析蛋白功能、发现受体对应的新配体和新抗体。

在制药工业和生物技术领域，噬菌体展示技术也深受欢迎，现在，由噬菌体展示技术发现或改造的一些蛋白和抗体已经被批准进入临床应用。

尽管应用很广泛，噬菌体展示技术还是由于比较复杂且在技术上具有挑战性，尚不能在大多数主流实验室得以运用。

在写《Phage Display: A Practical Approach》这本书时，我们力求使它成为一本通俗易懂的实验指南，进而使这项技术能够在大多数研究者的研究领域内得到最大范围的应用。

目的就是为了使它无论对于新手还是老手都能适用。

对于刚入行的研究者，关键性的概念和实验步骤在本书中均有详细的描述，章节中也含有与实验设计相关的足够信息，并且很多情况下都有排难解疑的内容。

而对于有经验的研究者，本书可以作为噬菌体展示技术的参考书，包括提供一些实验步骤、替代的方案和一些新应用的介绍等进展。

本书的一个特别的目的是为了广泛覆盖噬菌体展示技术的两个最为常见的应用：肽库和抗体库。

除了本书中几个章节覆盖到的这些主要的应用外，噬菌体展示技术同时作为一项主要的蛋白质工程工具广泛地应用于蛋白质改造和优化蛋白质功能。

另外，噬菌体展示实验中的每个过程（无论是库的构建，筛选，还是对于结果的分析）都可以通过很多途径完成。

其中，筛选的过程（即使表达所需性质的多肽或蛋白的噬菌体富集的过程）赋予了很大创造性的，本质上说，只局限于研究者的想象力。

我们的目标就是为了让读者能够跳出具体实验步骤的条条框框的限制，而对实验步骤加以改造使之能为自己感兴趣的蛋白或筛选系统服务。

基于此目的，本书以分子生物学的步骤为模式，逐步介绍了噬菌体库的构建、筛选和分析步骤。

第1章提供了噬菌体生物学和噬菌体技术的概述，目的是让读者对大概的原理、实验策略有个先期的了解，并简单介绍了当着手于噬菌体科研项目时应该如何做出选择。

同时，因为提供了具体实验步骤和方法的位置以及列出了在各阶段可替代实验方法，本章也可作为本书其余章节的导航工具。

第2章和第3章接着描述出了两种常见的准备多样化文库的方案：寡核苷酸定向诱导突变和DNA改组。

第4章提供了设计筛选过程的指导和实施亲和筛选的实验步骤。

第5章描述了一个通过简单的ELISA步骤，分析筛选得到的噬菌体克隆亲和性（普遍最为关注的参数）的方法。

接下来的各个章节主要集中在具体应用，包括从肽库中筛选配体（第6章），筛选酶底物肽（第7章），筛选DNA结合蛋白（第9章），通过cDNA展示克隆（第12章）和构建噬菌体抗体库以及抗体优化（第13章和第14章）。

另外一些章节介绍了不同的筛选方法，包括稳定性筛选（第8章）、体内定向筛选（第10章），以及血清定向结合筛选（第11章）。

总的来说，这些章节介绍了噬菌体展示技术中已建立或新兴的主要应用，并阐明了这些方法可能被应用的范围。

总体而言，我们尽量避免重复性描述那些可轻易在不同的载体或系统中使用的实验方案，而是在各个章节中交叉引用共同的实验方案（如电转化大肠杆菌细胞）。

但是，在有些情况下，还是包含了不同研究组中所使用的可替代的实验方案，一则是为了说明实验步

<<噬菌体展示>>

骤中哪些变化是可能的，二则是为了保持作者实验室中已建立的实验方案的完整性。我们希望本书能够成为对于所有有志于开发噬菌体展示技术潜能的读者的一本有用的实验工具书。在此，我们要感谢每个章节的作者所作出的卓越贡献，以及他们为此所付出的时间和精力。同时，我们还要感谢牛津大学出版社的编辑人员对本书的支持。

<<噬菌体展示>>

内容概要

噬菌体展示技术已成为发展新特性多肽和改造已有多肽性质的强大工具。

虽然此项技术已被广泛使用，但其仍然存在技术上的挑战，同时其新的应用和步骤也层出不穷。

本书是一本与时俱进、通俗易懂且兼容并包的噬菌体实验设计和操作指南，对于那些在生物学研究和药物开发中使用该项技术的读者，具有很高的参考价值。

本书的目的是为了使研究工作者能够设计和完成噬菌体课题中所涵盖的各方面工作——从实验策略的设计、噬菌体库的构建到筛选的实施和结果的分析。

本书提供了如下内容：

- 如何计划一个成功的噬菌体展示实验？

- 实验设备和试剂列表
- 实验步骤构建噬菌体库、进行亲和筛选、分析所筛选克隆亲和性
- 噬菌体展示常规应用 包括从肽库中筛选配体、构建和使用噬菌体抗体库以及使用cDNA库展示进行表达克隆

本书的一大特色：

- 在各章节中进行广泛的交叉引用 使得读者能够跳出所介绍的具体实验步骤的限制，而对实验步骤加以改造，使之能为自己感兴趣的蛋白或筛选提供系统的服务。

<<噬菌体展示>>

书籍目录

第1章 噬菌体生物学及噬菌体展示简介 1.1 简介 1.2 丝状噬菌体生物学 1.2.1 简介 1.2.2 噬菌体颗粒的结构 1.2.3 感染 1.2.4 复制 1.2.5 基因和基因表达 1.2.6 噬菌体装配生理学 1.2.7 噬菌体装配机制 1.3 噬菌体展示所使用的衣壳蛋白 1.3.1 p 蛋白 1.3.2 p 蛋白 1.4 着手一个噬菌体展示项目 1.4.1 展示的可行性 1.4.2 噬菌体载体还是噬菌粒载体? 1.4.3 多价展示还是单价展示? 1.4.4 辅助噬菌体 1.4.5 噬菌体制备及定量的一般实验方案 1.5 一个噬菌体展示项目的一般规则 1.5.1 一个文库的生成 1.5.2 筛选 1.5.3 克隆的分析 1.6 常见的问题 1.6.1 文库的质量 1.6.2 表达的编辑 1.6.3 过度筛选 1.7 作为替代的展示系统 1.8 噬菌体展示文库及试剂盒的商业来源 参考文献第2章 使用寡核苷酸定向诱变构建噬菌体展示文库 2.1 简介 2.2 文库设计的考虑 2.2.1 点突变 2.2.2 简并密码子的设计 2.2.3 理论的和实际的多样性 2.3 定点诱变 2.3.1 定点诱变与盒式诱变的比较 2.3.2 寡核苷酸定向诱变的化学和生物学 2.3.3 无活性模板的构建 2.4 文库的构建和保存 2.4.1 单链DNA模板的制备 2.4.2 异源双链CCC—dsDNA的体外合成 2.4.3 大肠杆菌的电转化和文库噬菌体的制备 2.4.4 文库的保存和再感染 2.5 生物试剂 参考文献第3章 体外DNA重组 3.1 引言 3.2 体外DNA重组的本底 3.2.1 体外DNA重组在定向进化中的使用 3.2.2 体外DNA重组的应用 3.2.3 重组统计学 3.3 体外DNA重组的方法 3.3.1 Stemmer法 3.3.2 来自大肠杆菌的内切核酸酶V的DNA的随机片段化 3.3.3 随机引物重组 3.3.4 交错延伸程序 3.3.5 体外异源双链的形成和体内修复(异源双链重组) 3.3.6 重组方法的选择 3.3.7 本底的消除 3.3.8 技术要点 参考文献第4章 为提高蛋白及多肽的亲及特异性的噬菌体筛选策略 4.1 简介 4.2 载体的考虑 4.2.1 单价和多价噬菌体展示 4.2.2 确保展示的成功 4.2.3 通过噬菌粒载体的蛋白质表达 4.2.4 载体的构建及噬菌粒的制备 4.3 文库的设计 4.3.1 硬随机突变 4.3.2 软随机突变 4.4 靶标的呈递 第5章 用噬菌体ELISA快速鉴定噬菌体展示蛋白的结合亲和性第6章 使用重组肽库为受体识别新配体第7章 底物噬菌体展示第8章 从噬菌体展示文库中对稳定折叠的蛋白质及蛋白质结构域进行的基于蛋白酶的筛选第9章 锌指结构与其他核酸结合性基序的噬菌体展示第10章 噬菌体展示文库在体内及体外的筛选第11章 利用血清筛选噬菌体文库第12章 使用展示在噬菌体上的cDNA文库进行相互作用克隆第13章 噬菌体抗体文库第14章 噬菌体抗体的亲和力成熟附录 普通供应商

<<噬菌体展示>>

章节摘录

第1章 噬菌体生物学及噬菌体展示简介 1.1 简介 在丝状噬菌体上展示多肽和蛋白质——噬菌体展示技术——是一种能够将所需性质的多肽从含有大量变异体的集落中提取出来的体外筛选技术。

通过将所感兴趣的基因融合到噬菌体衣壳蛋白基因中，可以使噬菌体颗粒展示该基因编码的蛋白，同时噬菌体颗粒中包含了该基因，从而提供了表型与基因型的直接联系。

这种联系使得噬菌体库可以经过一轮筛选步骤（例如亲和层析），然后通过测序鉴定所得到的克隆，并可以通过再扩增以进行更多轮的筛选。

自从mith[1]首次阐述该方法以来，噬菌体展示技术已经发展成为了一种发现新特性多肽以及改变已有多肽性质的强大工具（见参考文献〔2~5〕的综述部分）。

丝状噬菌体在用作克隆载体尤其用于展示载体的很多方面都非常理想：丝状噬菌体的基因组比较小并且允许插入外源片段到非必要区域中；库的克隆和扩增也因为能够同时分离单链和双链DNA和可利用简单的基于质粒的载体而易于进行；衣壳蛋白能够在被修改的同时保留感染能力；噬菌体可以被富集到较高滴度，因为其增殖不会破坏宿主细胞；噬菌体颗粒在可能的筛选条件下的较宽范围内能够保持稳定。

本章节的意图是为在开始噬菌体展示实验项目的提供所需的一些基本知识。

在最开始的部分中，主要是总结性地介绍噬菌体地生活周期、遗传学以及结构生物学，其中重点介绍的是与噬菌体展示相关的方面。

接下来，我们将介绍在接触一个新的噬菌体展示实验项目时所需要考虑的一些基本问题，包括展示形式的选择，实验设计和通常遇到的困难。

最后，为了使研究者能够有预先的准备，我们提供了噬菌体载体、试剂盒以及其他展示系统的商品来源。

我们也提供了包含详细实验步骤的章节间的前后对照。

<<噬菌体展示>>

编辑推荐

如何计划一个成功的噬菌体展示和实验？

噬菌体展示实验所需设备和试剂列表，实验步骤，构建噬菌体库，进行亲和筛选，分析所筛选克隆亲和性噬菌体展示常规常用。

<<噬菌体展示>>

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>