

<<基因操作技术>>

图书基本信息

书名：<<基因操作技术>>

13位ISBN编号：9787122078605

10位ISBN编号：7122078604

出版时间：2010-9

出版时间：化学工业出版社

作者：张虎成 编

页数：210

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>

<<基因操作技术>>

内容概要

本书为国家示范性高职院校一线教师和企业专家共同开发的教改成果教材。

本书按照DNA重组技术的操作程序来安排实验，即从核酸的提取 目的基因的制备 体外DNA的重组(酶切与连接) 重组DNA分子引入受体细胞 转化子的筛选 重组DNA分子的鉴定等步骤编排成一个综合性大实验。

在这个综合性实验中，每一步实验既相对独立又与下一步实验紧密相连。

通过这些实验，学生可以熟练掌握分子生物学最基本的技术，并对DNA重组技术有一个比较全面而系统的概念。

书中同时穿插了分子生物学其他必备的实验，以便培养学生比较全面的分子生物学实验技能。

本书分为6个项目，每个项目由若干个任务组成，并且有“必备知识”作为任务的理论补充，“拓展知识”可以扩展学生的知识面，“项目思考”中设计的问题有助于培养学生独立思考能力和创新意识。

本书可作为高职高专生物技术相关专业的教材，也可供相关技术人员参考。

<<基因操作技术>>

书籍目录

项目一 质粒pMD18-T-EGFP的分离、纯化和鉴定 一、项目介绍 二、学习目标 三、项目实施 任务一 创建和谐包容性的工作环境 任务二 清洗、包扎常用玻璃器皿和耗材 任务三 配制并灭菌各种浓度单位的溶液 任务四 创建遗传信息流示意图 任务五 碱裂解法分离提取质粒pMD18-T-EGFP及浓度测定 任务六 琼脂糖凝胶电泳鉴定质粒pMD18-T-EGFP 任务七 细菌基因组DNA提取及质量检测 四、项目思考 五、必备知识 (一) 基因工程的发展简史 (二) 基因工程实验规范 (三) 溶液浓度的计算与换算 (四) 生物学遗传信息流 (五) DNA的结构 (六) 核酸的理化性质 (七) 乳糖操纵元 (八) 载体 (一) 六、拓展知识 (一) 基因组大小与基因数量 (二) 基因操作对人类生存环境的影响 (三) 真核生物DNA的提取 (四) 真核基因组DNA的制备技术

项目二 绿色荧光蛋白基因(egfp)转录产物RNA的提取 一、项目介绍 二、学习目标 三、项目实施 任务一 总RNA的提取及含量测定 任务二 mRNA的提取与纯化 任务三 RNA琼脂糖凝胶电泳 任务四 Northern blot 四、项目思考 五、必备知识 (一)RNA操作注意事项 (二)RNA的空间结构和功能 (三)mRNA的合成与加工 六、拓展知识 (一)植物病毒的RNA提取 (二)动植物组织mRNA提取 (三)兔肝RNA的制备 (四)人体细胞总RNA和mRNA的提取

项目三 体外扩增目的基因——绿色荧光蛋白基因(egfp) 一、项目介绍 二、学习目标 三、项目实施 任务一 以DNA为模板扩增绿色荧光蛋白基因(egfp)——PCR 任务二 以mRNA为模板反转录扩增绿色荧光蛋白基因——RT-PCR 任务三 实时荧光系统通过反转录定量(RT-qPCR)对基因表达进行分析 任务四 cDNA文库构建技术(一)——磁珠法提纯mRNA 任务五 cDNA文库构建技术(二)——cDNA链的反转合成 四、项目思考 五、必备知识 (一)DNA的生物合成 (二)RNA的生物合成 (三)DNA聚合酶的类别和性质 (四)其他工具酶 (五)PCR技术及其在基因克隆中的应用 (六)PCR产物的克隆 六、拓展知识 (一)巢式PCR (二)cDNA文库构建技术

项目四 将绿色荧光蛋白基因(egfp)克隆到载体上 一、项目介绍 二、学习目标 三、项目实施 任务一 利用内切酶对载体和基因(egfp)进行酶切 任务二 酶切片段的脱磷技术 任务三 DNA片段的回收技术 任务四 基因的重组连接技术 任务五 cDNA文库构建技术(三)——cDNA的连接、包装及转染 任务六 RACE技术扩增构建全长cDNA文库 四、项目思考 五、必备知识 (一)限制性内切酶分类和催化机制 (二)DNA甲基化酶 (三)DNA连接酶 (四)其他工具酶的催化机制 (五)载体(二) 六、拓展知识 (一)分子标记 (二)RFLP技术 (三)RAPD技术 (四)AFLP技术 (五)SSR技术

项目五 将含有egfp基因的质粒转化到E.coli中 一、项目介绍 二、学习目标 三、项目实施 任务一 准备溶液及器皿 任务二 感受态细胞的制备及热激法将质粒转化到E.coli中 任务三 感受态细胞的制备及电击法将质粒转化到E.coli中 任务四 农杆菌转化植物细胞 任务五 磷酸钙转染动物细胞 四、项目思考 五、必备知识 (一)感受态细胞 (二)外源基因导入真核细胞的方法 (三)目的基因的筛选策略 六、拓展知识 (一)基因打靶技术 (二)从基因到基因组

项目六 基因(egfp)及基因产物(EGFP)检测参考文献

<<基因操作技术>>

章节摘录

(5) 玻璃和塑料器皿的干燥实验中用到的玻璃和塑料器皿经常需要干燥，通常都是用烘箱或烘干机在110~120℃：进行干燥，而不要用丙酮荡洗再吹干的方法来干燥，因为那样会有残留的有机物覆盖在器皿的内表面。

硝酸纤维素的塑料离心管加热时会发生爆炸，所以绝不能放在烘箱中干燥，只能用冷风吹干。

2。

洗液的配制 (1) 常用洗液的配制如遇玻璃器皿用上述方法不能洗净者，可用下列清洗液浸泡后洗刷。

因已确定铬有致癌作用，因此配制和使用洗液时要极为小心，常用的两种配制方法如下。

取100mL工业浓硫酸置于烧杯内，小心加热，然后慢慢加入5g重铬酸钾粉末，边加边搅拌，待全部溶解并缓慢冷却后，储存在磨口玻璃塞的细口瓶内。

称取5g重铬酸钾粉末，置于250mL烧杯中，加5mL水使其溶解，然后慢慢加入100mL浓硫酸，溶液温度将达80℃，待其冷却后储存于磨口玻璃瓶内。

(2) 其他洗液 工业浓盐酸：可洗去水垢或某些无机盐沉淀。

5%草酸溶液：用数滴硫酸酸化，可洗去高锰酸钾的痕迹。

5%~10%磷酸三钠 ($\text{Na}_3\text{P}_0_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) 溶液：可洗涤油污。

30%硝酸溶液：洗涤二氧化碳测定仪及微量滴管。

5%~10%乙二胺四乙酸二钠 (EDTA- Na_2) 溶液：加热煮沸可洗脱玻璃仪器内壁的白色沉淀物。

。

尿素洗涤液：为蛋白质的良好溶剂，适用于洗涤盛过蛋白质制剂及血样的容器。

有机溶剂：如丙酮、乙醚、乙醇等可用于洗脱油脂、脂溶性染料污痕等，二甲苯可洗脱油漆的污垢。

氢氧化钾的乙醇溶液和含有高锰酸钾的氢氧化钠溶液：这是两种强碱性的洗涤液，对玻璃仪器的侵蚀性很强，可清除容器内壁污垢，洗涤时间不宜过长，使用时应小心慎重。

重铬酸钾 (工业用) 80g、粗硫酸100mL、水1000mL配成的洗液：将玻璃器皿浸泡24h后取出用水冲刷干净。

清洁液经反复使用变黑，重换新液。

此液腐蚀性强，用时切勿触及皮肤或衣服等，可戴上橡胶手套和穿上橡胶围裙操作。

3。

玻璃器皿的包装 (1) 培养皿将合适的底、盖配对，装入金属盒内或用报纸5~8个一擦包成一包。

(2) 试管、三角烧瓶等于开口处塞上大小适合的棉塞或纱布塞 (也可用各种型号的软木塞、胶塞等)，并在棉塞、瓶口之外，包以牛皮纸，用细绳扎紧即可。

制作棉塞时，要求棉花紧贴玻璃壁，没有皱纹和缝隙，松紧适宜。

过紧易挤破管口和不易塞入；过松易掉落和污染。

棉塞长度不小于管口直径的2倍，约2/3塞进管口 (见图1-1)。

另一穗比较简单的棉塞制作方法：取一适当大小纱布，将其中心铺于管口任其自然下垂至管外壁，将试管上端与纱布一并握住，用一小木棒将纱布中心向管内推进，至该棉塞所需长度后握紧试管上端，用木棒将适量棉花向管内填塞并压紧充实后将纱布尾端敛紧，抽出约1/3长度，散开纱布将棉塞尾部加适量棉花并压紧使之略大于试管，再敛紧尾部纱布并用棉线扎紧，剪去多余线头纱布，一大一小和松紧适宜的棉塞制作完毕 (见图1-2)。

.....

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>