

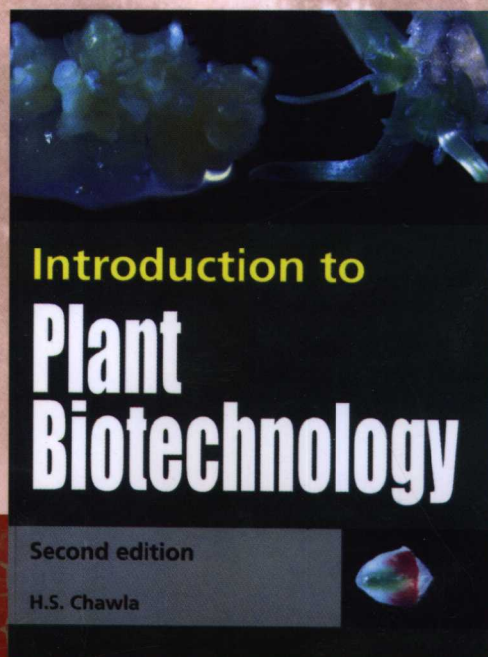
植物生物技术导论

(原著第二版)

[印] H.S. 查夫拉 编著

许亦农 麻 密 主译

Chemical Industry Press



化学工业出版社
现代生物技术与医药科技出版中心

植物生物技术导论

(原著第二版)

[印] H. S. 查夫拉 编著
许亦农 麻 密 主译



化学工业出版社
现代生物技术与医药科技出版中心

· 北 京 ·

(京) 新登字 039 号

图书在版编目 (CIP) 数据

植物生物技术导论/[印] 查夫拉 (Chawla, H. S.) 编著;
许亦农, 麻密主译. —北京: 化学工业出版社, 2005. 2

书名原文: Introduction to Plant Biotechnology,
Second edition

ISBN 7-5025-6483-7

I. 植… II. ①查… ②许… ③麻… III. 植物-
生物技术 IV. Q943

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2004) 第 136126 号

Introduction to Plant Biotechnology, Second Edition/by H. S. Chawla
ISBN 1-57808-228-5

Copyright©2002 by Science Publishers, Inc. All rights reserved.

Authorized translation from the English language edition published by Science Publishers, Inc.

本书中文简体字版由 Science Publishers, Inc. 出版公司授权化学工业出版社独家出版发行。
未经许可, 不得以任何方式复制或抄袭本书的任何部分。

北京市版权局著作权合同登记号: 01-2004-0266

植物生物技术导论

(原著第二版)

[印] H. S. 查夫拉 编著

许亦农 麻密 主译

责任编辑: 周旭 郎红旗 邵桂林

责任校对: 蒋宇

封面设计: 关飞

*

化学工业出版社 出版发行
现代生物技术与医药科技出版中心

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

发行电话: (010)64982530

<http://www.cip.com.cn>

*

新华书店北京发行所经销

大厂聚鑫印刷有限责任公司印刷

三河市延风装订厂装订

开本 787mm×1092mm 1/16 印张 29½ 彩插 1 字数 730 千字

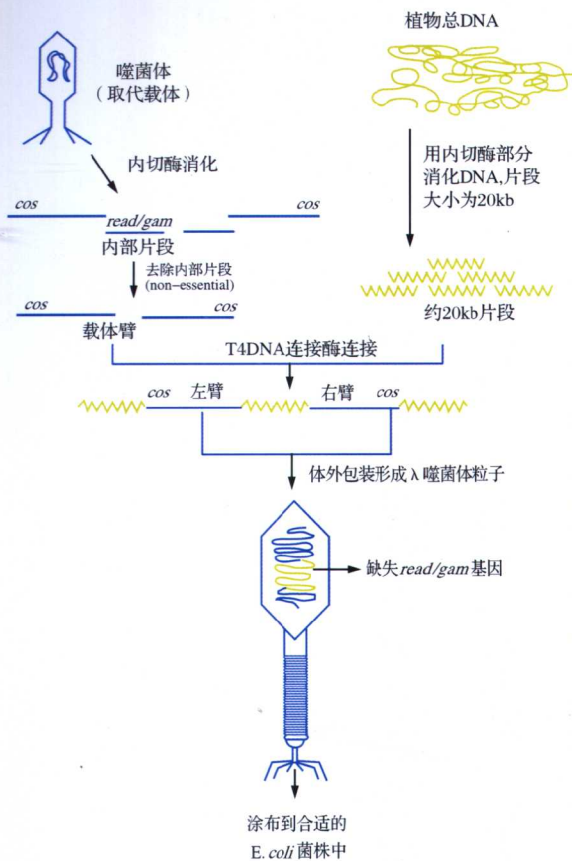
2005 年 3 月第 1 版 2005 年 3 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-6483-7/Q·131

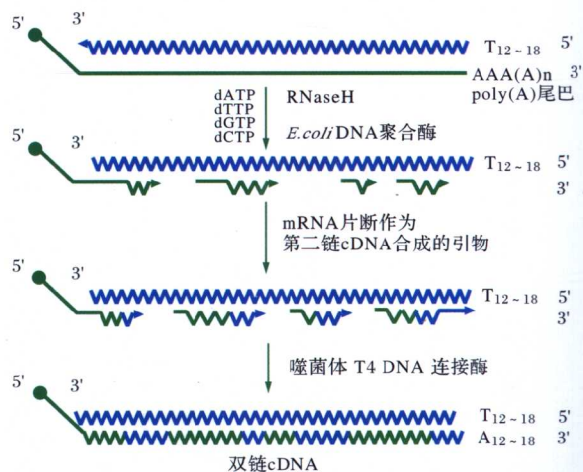
定价: 68.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换



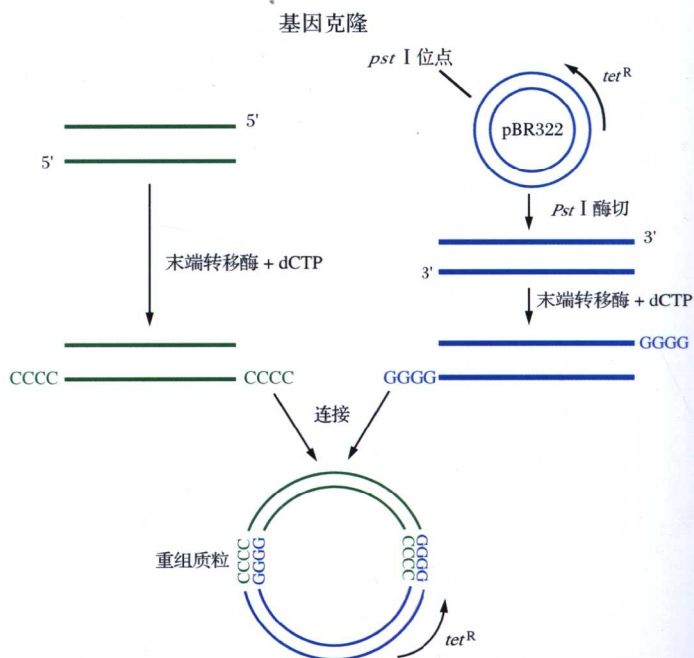
彩图 16.5 基因组DNA克隆到 λ 噬菌体中



彩图 17.4 用取代合成法合成双链cDNA

彩图 17.5 cDNA片段克隆到质粒中

pBR322含有氨苄抗性 (amp^R) 和四环素抗性 (tet^R)，插入外源DNA后，氨苄抗性基因失活，含有重组质粒的细菌克隆在抗生素中筛选



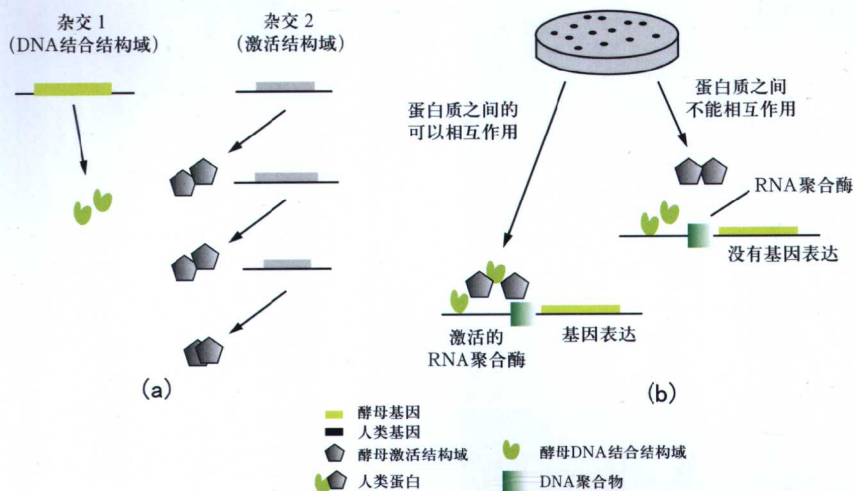


图 25.6 酵母双杂交系统

(a) 酵母双杂交系统 (将一个编码人类蛋白的基因连接到一个含有DNA结合结构域的酵母转录因子的基因上, 通过转染酵母, 这个重组可以表达出一个具有部分人类蛋白和酵母转录因子的融合蛋白。左图所示, 各种人类DNA片段连接到编码转录因子激活结构域的基因上, 从而可以表达出各种融合蛋白);

(b) 应用酵母双杂交筛选相互作用蛋白 (将两套重组载体混合, 并共同转入酵母。在报告基因能表达的酵母菌落中应该包含了与人类蛋白互相作用的融合蛋白, 由此可以使转录因子的DNA结合结构域和激活结构域靠近, 导致RNA聚合酶激活转录)

(图引自 *Genomes*, T.A.Brown, 经BIOS Scientific Publishers, Oxford, U.K. 允许)

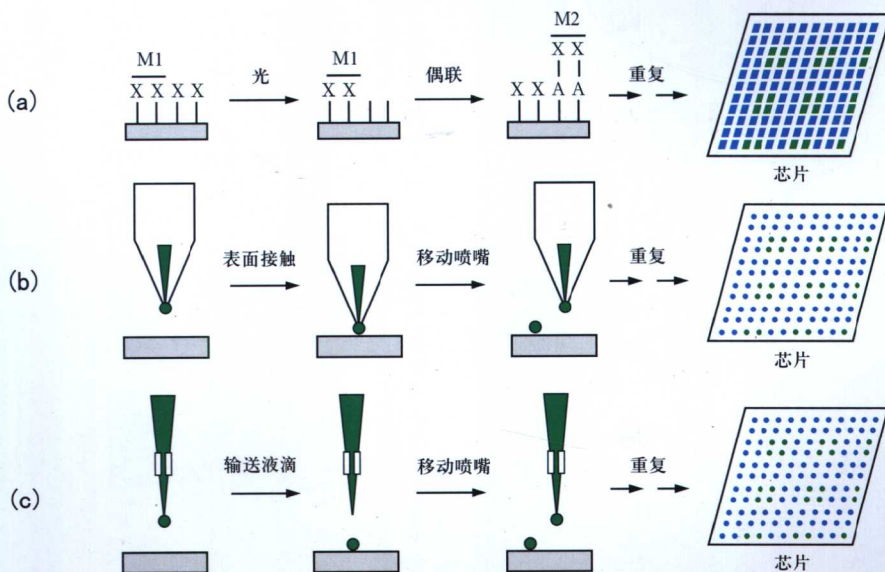


图 25.8 三种芯片制作方法

(a) 照相平版印刷法 —— 光保护物质修饰(X)的载片表面, 透过光掩膜正[M1]门的光线可选择性激活DNA表面合成。玻璃片用光保护的DNA碱基处理[A-X], 结果在芯片的表面形成固定的连接, 再将第二块光掩膜放在玻片特定的位置上进行下次连接反应, 反复多次的连接反应就可生产出高密度的寡聚核苷酸微阵列;

(b) 机械滴微 —— 滴化学样品通过毛细管的作用装载到喷头中, 并通过喷头和支撑物表面之间的物理性接触将微量样品转移至固体表面, 经第一轮滴微, 冲洗喷头, 并在相邻的位置开始下一轮的点滴;

(c) 墨水喷射 —— 生化样品亚磷酸胺要被装载到带有压电装置的细小喷嘴中, 然后用电流将液体点滴到载片表面的准确位置, 经第一轮喷射, 冲洗喷头, 并在相邻的位置开始下一轮的喷射, 如此用多喷嘴反复重复, 则可获得芯片产品

《植物生物技术导论》翻译人员名单

主 译 许亦农 麻 密

其他参译人员（按姓氏拼音排序）

陈 梅 何振艳 徐文忠 杨 文 张发云 张海燕

原著第一版前言

植物生物技术已经成为植物科学中令人瞩目的领域，它为生物系统的操作提供了前所未有的机会。我们一直关注通过新技术对众多不同生物的基因和基因组进行的研究，以便为人类造福。转基因是基因工程的关键技术之一，它包含将克隆基因转移到受体细胞以及产生转基因植株的许多不同方法。细胞和组织培养是新兴的育种技术，人们可以利用这些技术创造更多的作物新品种。组织培养技术的应用可以缩短育种时间、减少培育新品种所需要的劳动量和空间。细胞和植物组织培养以及 DNA 重组技术作为一套体系，已经成为植物生物技术领域中一个很重要的方面。此外，要理解基因工程技术，就必须了解基因本身的基本结构及其在植物细胞中的结构。

本书可作为生物技术课程的教材，是为不同年级不同专业的本科生和研究生编写的，包括植物学、遗传学、植物育种学、园艺学、植物病理学、昆虫学、植物科学、生物技术和生物科学等各个专业。在本科阶段较好地理解遗传工程和植物组织培养知识是学好生物技术的关键。虽然已有大量介绍植物组织培养、基因克隆和基因组结构等方面的专门著作，但是我认为一本专门介绍植物生物技术基础知识的书将会更有益于学生的学习。本书涵盖了植物细胞基因和基因组基本结构的基本概念、组织培养的基本技术以及基因的克隆和转化方法、分子标记等基础知识。组织培养基础课通常包括组织培养技术的发展过程、实验室结构、营养介质、微繁殖、器官培养、细胞悬浮培养、花药培养、体细胞融合、次生代谢产物和冷藏技术等。我在本书中还介绍了由组织培养引起的变异，即体细胞无性系变异的一些情况，同时介绍了与植物有关的基因克隆、转基因技术、基因图谱和分子标记等。本书还对知识产权进行了介绍，利用一章的篇幅介绍了有关专利、版权和植物育种者权利等各方面的基础知识。

植物育种学家正在通过培育具有高产、抗虫、抗病和抗杂草以及抗各种非生物胁迫的植物的途径来提高植物的产量。在本书的其中一章，我通过列举不同特性的转基因植物让学生了解到生物技术在植物改良中的作用。本书大多数章节有相应内容的实验指导。大部分章节重点强调关于生物技术的应用及其对作物改良的作用和影响。

如能收到您对本书的建议、批评及与本书观点不同的研究文献，我将不胜感激，这对在修订版中增加本书的深度将非常有帮助。页码和表述错误在所难免，恳请指正。对于您在这方面的帮助尤为感激。

感谢 Vijay Upadhaya 先生和 Fahim 先生在本书编写过程中所表现的耐心以及赞同我对制作图表的建议。在本书撰写过程中得到了众多学者的多方面的的大力支持，我对他们表示真诚的感谢。

感谢我的前辈们，这项工作的完成得益于他们长久的支持和鼓励。我很幸运拥有一

个理解并支持这项需要全身心投入的工作的家庭。非常感谢我的妻子和孩子们，Komaljit 和 Jasmit，感谢他们对我坚定不移的支持与帮助。

H. S. 查夫拉

2000 年 3 月

原著第二版前言

植物生物技术已经成为植物科学中令人瞩目的领域，它为生物系统的操作提供了前所未有的机会。迄今为止，还没有任何一个生物学分支能够像生物技术那样迅速发展。本次修订扩充了原版的内容，除了原书中的基本原理外，还增添了有关生物技术最新进展的内容。鉴于实验室操作对于本科生的重要性，书中每章都列出了具体的实验步骤。本书的重点是生物技术的应用，涉及到其对作物改良的作用和影响。

本书可作为生物技术课程的教材，供不同年级的大学生和研究生使用。本次修订对与植物组织培养和遗传材料结构有关章节中的内容进行了适当的修改，除了少量的增补内容外，基础部分与原版保持一致。本书的植物组织培养部分包括了组织培养的发展史、实验室结构、营养介质、微繁殖、器官培养、细胞悬浮培养、单倍体培养、体细胞融合、次生代谢产物、体细胞克隆变异以及冷藏。为了更好地理解 DNA 重组技术，本书对基因组 DNA 结构的内容进行了扩增，并且增加了一章介绍包括 DNA 重组在内的基本技术。在本科阶段掌握植物组织培养是学好生物技术的关键，因此，本书几乎所有章节都给出了具体的操作步骤。

在修订版中，DNA 重组技术的内容得到了较大程度的扩充。基因克隆是生物技术的一个很重要的方面，本书用三章的篇幅对这一部分内容进行了介绍。增加了植物基因分离一章，对不同的基因分离过程作了简单的介绍。考虑到转座子既应用于植物基因的分离，同时也是标记基因的主要方法之一，所以专门用一章的篇幅介绍转座子和基因标记。修订版中还增加了体外诱变一章，这将有助于学生了解如何使 DNA 发生变化、在缺少表型的情况下如何识别突变体，以及了解的这些变化对 DNA 在体外或者重新导入体内后所产生的影响。本次修订还增加了基因组学和生物信息学的内容。这些章节分别对功能基因组学、结构基因组学、蛋白质组学、对不同生物的基因测序情况以及 DNA 芯片技术进行了讨论。

本书对原稿中有关转基因方法和 PCR 技术章节中的内容进行了适当的修正，增补了遗漏的内容。植物育种学家正在通过培育具有高产、抗生物胁迫和非生物胁迫的品种等途径来提高植物的产量。我对转基因与作物改良一章进行了更新，尝试用恰当的例子来说明如何利用转基因技术培育具有不同性状的作物。另外，还就生物技术对作物改良的影响作了综述。

第二版扩充了分子标记和辅助标记选择一章中的内容，提供了更多有关分子标记和遗传指纹方面的最新信息。知识产权一章的内容也得到了扩展，主要体现在介绍了各种形式专利的基本知识、植物育种者的权利、生物多样性、一些专利的实例，以及所有可能引起争议的问题。

非常感谢本书第一版的各位校阅者，正是由于他们的帮助，才使得我能够对本书进行较大程度的修订。感谢我的同事、众多的学者和那些关心我的人，他们提出了很多建议，直接或间接地为本书修订工作的完成做出了重要贡献。如能收到您关于本书任何方面的建议或者意见，将不胜感激。

感谢我的前辈们，这项工作的完成得益于他们长久的支持和鼓励。我很幸运有一个理解并支持这项需要全身心投入的工作的家庭。非常感谢我的妻子和孩子们，Komaljit 和 Jasmit，感谢他们对我持之以恒的支持与帮助。

H. S. 查夫拉

2002年3月

缩略词表

2,4-D	2,4-二氯苯氧基乙酸(商品名 2,4 滴)
IAA	吲哚-3-乙酸
IBA	吲哚-3-丁酸
NAA	萘乙酸
PCPA	对氯苯氧乙酸
BAP 或 BA	苄氨基嘌呤或苄基腺嘌呤
ziP	2-异戊基腺嘌呤
Kin	激动素
Zea	玉米素
ABA	脱落酸
A. t.	根癌农杆菌
B5	B5 培养基
DMSO	二甲亚砜
GA	赤霉素
kb(p)	千碱基(对)
LS	LS 培养基
Mb	兆碱基
MDa	兆道尔顿
MS	MS 培养基
ng	纳克(10^{-9} 克)
PAGE	聚丙烯酰胺凝胶电泳
pg	皮克(10^{-12} 克)
Ri	发根农杆菌质粒
SH	SH 培养基
Ti	根癌农杆菌质粒

目 录

第 1 篇 植物组织培养	1
第 1 章 绪论	3
1.1 植物繁育的新技术	3
1.2 生物技术的起源	4
1.3 生物技术的发展史	4
第 2 章 组织培养室的组建	9
2.1 清洗工作区	9
2.2 普通实验室和培养介质准备区	9
2.3 材料转化工作区	10
2.4 材料培养工作区	10
2.5 光强单位	11
2.6 温室	11
2.7 实验室和工作人员的安全	11
第 3 章 营养培养基	12
3.1 器材和设备	12
3.2 溶液配制所用的单位	12
3.3 培养基组成成分	13
3.3.1 无机营养	14
3.3.2 碳源和能源	15
3.3.3 维生素	15
3.3.4 生长调节剂	15
3.3.5 有机添加物	16
3.3.6 胶凝剂	17
3.3.7 pH	17
3.4 培养基配制的一般实验方案	18
课外阅读	20
第 4 章 灭菌技术	21
4.1 无菌培养基、容器和小器件的准备	21
4.1.1 蒸汽灭菌	21
4.1.2 干燥灭菌	22
4.1.3 过滤灭菌	22
4.1.4 紫外线灭菌	22
4.2 无菌条件的保持	23
4.2.1 酒精灭菌	23
4.2.2 火焰灭菌	23
4.3 外植体的化学消毒	23
4.4 实验方案	24
4.4.1 种子消毒	24
4.4.2 芽、叶片、茎、根等组织的消毒	24
4.4.3 未成熟胚、胚珠和花药培养中 组织的消毒	24
课外阅读	25
第 5 章 培养类型	26
5.1 细胞分化	26
5.2 器官分化	27
5.3 培养类型	27
5.3.1 种子培养	27
5.3.2 胚胎培养	28
5.3.3 胚胎培养的应用	29
5.3.4 愈伤组织培养	30
5.3.5 器官培养	31
5.3.6 珠心培养及其应用	31
5.3.7 胚乳培养及其应用	32
5.4 细胞培养	33
5.5 原生质体培养	34
5.6 实验程序	34
5.6.1 种子萌发(烟草)	34
5.6.2 胚培养(谷类作物 小麦、 玉米、大麦和水稻等)	34
5.6.3 胚培养(豆类作物 绿豆、 黑豆、菜豆和大豆等)	35
5.6.4 愈伤组织的诱导(烟草)	35
5.6.5 愈伤组织的诱导(谷类作 物 小麦、水稻、玉米 和大麦等)	35
课外阅读	36
第 6 章 微繁殖	37
6.1 腋芽繁殖方法	38

6.1.1 分生组织和嫩枝顶端培养	38	7.9.2 产品释放	65
6.1.2 芽培养	40	7.10 生物转化	65
6.1.3 器官发生	42	7.11 方法	66
6.1.4 通过愈伤组织的器官发生	42	7.11.1 细胞悬浮培养方法(烟草)	66
6.1.5 不定器官的直接形成	44	7.11.2 细胞悬浮培养方法(谷类—— 小麦、水稻、玉米、大麦等)	67
6.2 胚胎发生	44	课外阅读	67
6.3 微繁殖的研究进展	47	第8章 单倍体的离体培养生产	68
6.4 与微繁殖有关的一些问题	48	8.1 雄核发育方法	68
6.5 实验方案	49	8.1.1 花药培养	69
6.5.1 马铃薯分裂组织和节点的 培养(<i>Solanum tuberosum</i>)	49	8.1.2 小孢子培养	69
6.5.2 腋芽的增殖(草莓—— <i>Fragaria chiloensis</i>)	49	8.1.3 影响雄核发育的因素	70
6.5.3 器官发生——不定芽的形成	50	8.1.4 雄核发育过程	72
6.5.4 通过愈伤形成的器官分化 (烟草)	50	8.1.5 倍数性水平和染色体加倍	72
6.5.5 通过愈伤形成的器官分化(谷 类——小麦, 大麦, 玉米, 水 稻等)	50	8.1.6 二倍化	73
6.5.6 器官形成(胡萝卜)	51	8.2 单倍体的意义和应用	73
课外阅读	52	8.3 问题	75
第7章 细胞悬浮培养与次生代谢物	53	8.4 雌核发育单倍体	76
7.1 悬浮培养的类型	54	8.5 影响单雌生殖的因素	76
7.1.1 分批培养	54	8.6 谷类单倍体生产的染色体丢失技 术(大麦和小麦)	77
7.1.2 连续培养	55	8.7 谷类(水稻、大麦、小麦等)的 花药培养方法	78
7.1.3 半连续培养	55	课外阅读	79
7.2 生长的测定	55	第9章 原生质体的游离与融合	80
7.3 悬浮培养细胞的同步化	56	9.1 原生质体游离	80
7.4 单细胞培养技术——BERGMANN 细胞平板培养技术	57	9.1.1 机械法	80
7.5 应用	57	9.1.2 酶法	80
7.6 次生代谢物的生产	58	9.2 原生质体发育	85
7.6.1 形态和化学分化	59	9.2.1 细胞壁形成	85
7.6.2 有利于次生代谢物形成的培 养基成分	59	9.2.2 生长、分裂和植株再生	85
7.6.3 生长生产模式	60	9.3 体细胞杂交	85
7.6.4 环境因子	61	9.3.1 原生质体融合	86
7.6.5 产生大量有用代谢物的细胞 系的选择	61	9.3.2 杂种细胞的鉴定和选择	88
7.6.6 产物分析	62	9.3.3 体细胞杂种的鉴定与特性	90
7.7 应用	62	9.4 体细胞杂种的染色体数	92
7.8 次生代谢化合物生产有关的问题	63	9.5 胞质杂种	92
7.9 细胞固定体系	63	9.6 体细胞杂交的应用潜力	94
7.9.1 固定细胞的多聚体	64	9.7 体细胞杂交的问题和限制	97
		9.8 方法	97
		9.8.1 原生质体分离和融合方法	97
		9.8.2 原生质体融合	99
		课外阅读	100
		第10章 细胞无性系变异	101

10.1 命名	101
10.2 获得细胞无性系变异的方法	101
10.2.1 非离体选择	102
10.2.2 离体选择	102
10.3 细胞无性系变异的应用	105
10.4 细胞无性系变异的基础	109
10.5 不利因素	110
10.6 配子克隆变异	110
课外阅读	111
第 11 章 种子资源的保存与低温	
冷藏	112
11.1 低温冷藏法	112
11.1.1 培养不育的组织培养物	113
11.1.2 添加低温保护剂和组织材料的 预处理	114
11.1.3 冷冻处理	114
11.1.4 生活力和再生力的测定	115
11.1.5 植株生长和再生	116
11.2 细胞缓慢生长保存法	116
11.3 应用	116
课外阅读	117
第 2 篇 遗传物质及其结构	119
第 12 章 遗传物质	121
12.1 糖类	122
12.2 氨基酸	122
12.3 核苷酸	123
12.3.1 核苷酸的结构式	124
12.3.2 核苷与核苷酸化合物的定义	124
12.4 多聚核苷酸	125
12.4.1 DNA 与 RNA 不同的重要性	126
12.4.2 多核苷酸结构的缩写法	127
12.5 遗传物质	127
12.5.1 DNA 的发现	128
12.5.2 双螺旋是稳定的结构	129
12.5.3 DNA 复制	129
课外阅读	130
第 13 章 DNA 组成与基因表达	131
13.1 DNA 存在的不同结构	131
13.2 DNA 超螺旋——DNA 的三级 结构	133
13.2.1 连环数	133
13.2.2 十字形构型——DNA 的三级	

结构	134
13.3 真核 DNA 组成核小体	134
13.4 DNA 组成	135
13.5 变性	137
13.6 DNA 的复性	137
13.7 复性速度和 DNA 序列复杂度—— Cot 曲线	138
13.8 遗传信息的传递：中心法则	139
13.9 DNA 分子内的基因组成	140
13.9.1 操纵子	140
13.9.2 多基因家族	140
13.10 植物的结构基因——不连续 基因	141
13.11 调控序列	141
13.11.1 TATA 盒子	142
13.11.2 AGGA 盒子	142
13.11.3 基他调控元件	142
13.12 RNA 分子的类型	143
13.12.1 信使 RNA 与作用过程	143
13.12.2 核糖体 RNA	145
13.12.3 tRNA (转运 RNA)	145
13.12.4 核内小 RNA	146
13.13 转录	146
13.13.1 核苷酸序列	147
13.13.2 原核生物的转录过程	147
13.13.3 真核生物的转录	148
13.14 遗传密码与翻译	149
13.14.1 遗传密码	149
13.14.2 翻译	151
13.14.3 翻译后修饰	152
课外阅读	153
第 3 篇 DNA 重组技术	155
第 14 章 基本技术	157
14.1 琼脂糖凝胶电泳	157
14.2 脉冲场凝胶电泳	157
14.3 聚丙烯酰胺凝胶电泳 (PAGE)	160
14.3.1 等电聚焦 (IEF)	161
14.3.2 二维凝胶电泳	162
14.3.3 蛋白质染色	162
14.4 核酸印迹	162
14.4.1 Southern 印迹分析	162
14.4.2 Northern 印迹	164

14.5	蛋白质印迹	164	16.7	酵母人工染色体 (YAC)	193
14.6	点杂交技术	165	16.8	细菌人工染色体 (BAC)	194
14.7	放射自显影	165	16.9	P1 噬菌体载体	195
14.8	<i>E. coli</i> 的转化	167	16.10	P1 人工染色体 (PAC)	196
14.9	步骤	168	16.11	穿梭载体	196
	课外阅读	168	16.12	表达载体	196
第 15 章 基因克隆: DNA 的切割和			16.13	步骤	196
	连接	169	16.13.1	质粒 DNA 的分离: 小量	
15.1	基因克隆简介	169		制备	196
15.2	切割酶——限制性内切酶	170	16.13.2	用 SDS 蛋白酶 K 方法分离	
15.2.1	I 型限制性内切酶	171		基因组 DNA	198
15.2.2	II 型限制性内切酶	171		课外阅读	198
15.2.3	III 型内切酶	173	第 17 章 基因克隆: cDNA 克隆和基		
15.2.4	其他限制性内切酶	174	因组克隆及克隆 DNA 的序		
15.3	DNA 分子的连接与 DNA 连接酶	174		列分析	199
15.4	DNA 修饰系统	175	17.1	基因文库	199
15.4.1	激酶	175	17.2	cDNA 文库及其克隆	199
15.4.2	碱性磷酸酶	175	17.2.1	mRNA 的分离提取	200
15.4.3	DNA 聚合酶	175	17.2.2	第一链 cDNA 的合成	200
15.4.4	末端转移酶	176	17.2.3	第二链 cDNA 的合成	200
15.4.5	S1 核酸酶	176	17.2.4	cDNA 的克隆	201
15.4.6	λ -外切酶	176	17.2.5	宿主细胞的介绍	201
15.4.7	外切酶 III	177	17.2.6	克隆筛选	201
15.4.8	<i>Bal</i> 31 核酸酶	177	17.3	基因组克隆	202
15.5	连接子和接头	177	17.3.1	DNA 的分离	203
15.6	质粒 DNA 的限制性酶切反应的		17.3.2	局部消化	203
	步骤	178	17.3.3	克隆载体	203
	课外阅读	179	17.3.4	片段和载体的连接	203
第 16 章 基因克隆: 载体		180	17.3.5	包装	203
16.1	克隆载体的特征	180	17.4	克隆基因的检测与分析及探针	
16.2	<i>E. coli</i> K-12 的生物学特征	180		介绍	204
16.3	质粒	181	17.5	基因的检测方法	205
16.3.1	pBR322	183	17.5.1	菌落和噬菌斑杂交	205
16.3.2	pACYC184	184	17.5.2	免疫学检测	206
16.3.3	pUC 载体	184	17.5.3	克隆基因的 Southern 印迹	
16.3.4	pUN121	185		分析	206
16.3.5	酵母质粒载体	186	17.5.4	印迹的过程	206
16.3.6	Ti 质粒	188	17.6	核酸序列的检测	206
16.4	黏粒	188	17.7	放射性标记	206
16.5	噬菌体载体	189	17.8	非放射性标记	208
16.5.1	λ 噬菌体	189	17.8.1	HRP 系统	208
16.5.2	λ 噬菌体克隆载体	190	17.8.2	DIG 系统	208
16.5.3	M13 噬菌体	191	17.8.3	生物素-链霉抗生物素标记	
16.6	噬菌粒	192		系统	209

17.9 DNA 测序	210	20.1.1 IS 因子	249
17.9.1 Sanger-Coulson 方法	210	20.1.2 复合式转座子	251
17.9.2 Maxam-Gilbert 方法	211	20.1.3 复杂的转座子—— <i>Tn3</i> 家族	252
17.9.3 大量 DNA 测序	213	20.2 真核生物中的转座因子	252
课外阅读	215	20.2.1 分类	252
第 18 章 聚合酶链式反应	216	20.2.2 I 族因子	253
18.1 PCR 反应的步骤	218	20.2.3 II 族因子	256
18.2 PCR 反应的成分	219	20.2.4 其他因子	258
18.2.1 寡聚物引物	219	20.3 转座子标签法	258
18.2.2 扩增缓冲液	219	20.3.1 转座因子的分离	259
18.2.3 脱氧核糖核苷三磷酸	219	20.3.2 基因标记	260
18.2.4 靶序列	219	20.3.3 目标基因标签法的局限性	262
18.2.5 <i>Taq</i> DNA 聚合酶	219	20.3.4 突变基因的分离	263
18.3 反向 PCR	220	20.3.5 完整基因的分离	263
18.4 反转录酶介导的 PCR (RT-PCR)	221	20.3.6 异源转座子标签法	263
18.4.1 RACE: cDNA 末端的快速 扩增	221	20.3.7 提高在目标位点的插入频率	265
18.4.2 定量 RT-PCR	223	20.3.8 基因分离	265
18.4.3 差异表达基因的扩增	224	20.3.9 转座子标签法的优点	266
18.5 PCR 产物的克隆	227	20.3.10 转座子标签法的重要性	266
18.5.1 增加限制性位点	227	课外阅读	267
18.5.2 T/A 克隆	228	第 21 章 基因分离	268
18.5.3 平端连接	228	21.1 植物基因克隆的总策略	268
18.6 PCR 的遗传工程	228	21.1.1 编码特异蛋白基因的分离	268
18.7 PCR 的应用	228	21.1.2 组织特异性的功能基因分离	268
18.8 PCR 的优点	230	21.1.3 以 DNA 插入为基础的克隆 方法	270
18.9 存在的问题	231	21.1.4 差减克隆	270
18.10 转基因的 PCR 检测的流程	231	21.1.5 图位克隆	271
课外阅读	232	21.2 染色体跳查	276
第 19 章 体外突变	233	21.3 染色体着陆	278
19.1 定位突变	233	课外阅读	279
19.1.1 缺失突变	234	第 22 章 分子标记和辅助标记选择	280
19.1.2 盒式突变	237	22.1 形态学标记	280
19.1.3 寡核苷酸定向突变	237	22.2 生物化学标记	280
19.1.4 化学突变	242	22.3 分子标记	281
19.1.5 PCR 介导的体外突变	243	22.4 不以 PCR 为基础的技术——限制 性片段长度多态性 (RFLP)	282
19.1.6 定位突变的优点	245	22.5 基于 PCR 的技术	289
19.1.7 随机突变	245	22.6 靶向 PCR 及测序	297
19.2 插入突变	246	22.7 指纹	300
19.2.1 转座子介导的插入突变	246	22.8 标记辅助筛选	302
19.2.2 T-DNA 介导的插入突变	247	22.9 RAPD 分析流程	304
课外阅读	248	课外阅读	305
第 20 章 转座子遗传因子和基因标签	249	第 23 章 植物基因转移	306
20.1 细菌中的转座子	249		